

Lyme-Borreliose und Granulozytäre Anaplasmosis bei Pferden Teil 2 – Klinische Relevanz (Tierarztbefragung)

Heidrun Gehlen¹, Katharina S. Inerle¹, Sebastian Ulrich², Beatrice Briese¹ und Reinhard K. Straubinger²

¹ Klinik für Pferde, Allgemeine Chirurgie und Radiologie, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin

² Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie, Institut für Infektionsmedizin und Zoonosen, Tierärztliche Fakultät, LMU München

Zusammenfassung: Mit dieser Arbeit sollte die klinische Relevanz von Infektionen mit *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*Bbsl*) sowie *Anaplasma phagocytophilum* (*Ap*) bei Pferden in Deutschland untersucht und mögliche Assoziationen zwischen typischen klinischen Veränderungen und spezifischen erhöhten Serumantikörperspiegeln gefunden werden. Hierfür wurden Pferde mit dem Verdacht auf eine klinisch manifeste Lyme-Borreliose (LB) deutschlandweit untersucht. Die Tierärzte wurden zudem gebeten, einen Befund- bzw. Fragebogen auszufüllen. Neben einer Blutprobe von dem LB-erkrankten bzw. -verdächtigen Pferd wurde immer auch eine Blutprobe eines gesunden Kontrollpferdes aus dem gleichen Bestand entnommen. Die Blutproben wurden mittels ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) und Line-Immunoassay auf spezifische Antikörper (Ak) gegen *Bbsl* und zusätzlich mittels eines validierten SNAP-Tests (SNAP® 4Dx Plus® ELISA) auf spezifische Ak für *Bbsl* und *Anaplasma phagocytophilum* (*Ap*) untersucht. Zudem wurde ein manueller Ausstrich auf Einschlusskörperchen in den Granulozyten, die auf eine *Ap*-Infektion hindeuten, untersucht. Insgesamt wurden 123 LB-Verdachts- und 113 Kontrollpferde an der Studie aufgenommen. 114 Tierarztfragebögen und Blutproben lagen vollständig vor und gingen in die statistische Auswertung ein. Die häufigsten Vorstellungsgründe der LB-Verdachtstiere waren Lahmheit ($n = 36$; $n_{ges} = 79$; 45,6%), Leistungsschwäche ($n = 19$; 24,1%) und Apathie ($n = 12$; 15,2%). Bei fast der Hälfte der Patienten wurden die klinischen Veränderungen bereits seit über sechs Monaten beobachtet ($n = 48$; $n_{ges} = 112$; 42,9%). Zahlreiche Tiere zeigten mehrere, oftmals unspezifische klinische Veränderungen ($n = 104$; $n_{ges} = 114$; 92,2%) und/oder litten zusätzlich unter einer chronischen Erkrankung ($n = 48$; $n_{ges} = 114$; 42,5%). Obwohl in vielen Fällen schon eine weiterführende Infektionsdiagnostik ($n = 64$ von $n_{ges} = 114$; 56,1%) durchgeführt worden war, wurden einige Pferde bislang noch nicht weitergehend labordiagnostisch untersucht ($n = 14$; $n_{ges} = 114$; 12,3%). Bei 15% der Probanden ($n = 29$; $n_{ges} = 112$) war zudem bislang noch keine eingehende Untersuchung einzelner Organsysteme erfolgt. Auf Basis der eigenen serologischen Befunde wurden 51% ($n = 63$) der LB Verdachtspferde negativ (49% der Verdachtspferde; $n = 55$), 28% ($n = 34$) wurden grenzwertig (35% der Kontrollpferde; $n = 40$) und 21% ($n = 26$) positiv (16% der Kontrollpferde; $n = 18$) auf spezifische Ak gegen *Bbsl* getestet. Ein positiver *Ap*-spezifischer Ak-Nachweis lag bei 19,5% der Verdachtspferde (16,8% der Kontrollpferde) vor. Ein Hinweis auf eine Coinfektion mit *Bbsl* und *Ap* konnte bei sieben Verdachtstieren (5,7%; 2 Kontrollpferde, 1,8%) gefunden werden. Die Blutausstriche waren bei allen Verdachts- und Kontrolltieren, bei denen sie auswertbar waren ($n = 98$), ohne besonderen Befund. Die hohe Zahl klinisch inapparenter Verläufe von Infektionen mit *Bbsl* konnte durch die hohe Zahl seropositiver Probanden ($n = 18$; $n_{ges} = 112$; 16%) in der gesunden Kontrollgruppe (KG) bestätigt werden. Insgesamt ergab sich ein kaum differierender Serostatus von Verdachts- und Kontrollpferden ($p = 0,887$). Es konnten mit dem gewonnenen Datenmaterial keine pathognomonisch definierten, klinischen Veränderungen für die LB bei Pferden herausgearbeitet werden. Weder das gehäufte Auftreten unspezifischer Störungen des Allgemeinbefindens ($p = 0,043$), noch Lahmheiten ($p = 0,782$) oder Gelenkschwellungen ($p = 0,013$) konnten statistisch signifikant im Zusammenhang mit positivem *Bbsl*-Ak-Nachweis beobachtet werden. Die Chance für einen positiven *Ap*-Ak-Nachweis war bei Fieber (OR = 3,54 (1,28–9,73)) und Inappetenz (OR = 4,54 (1,44–14,29)) erhöht. Bei Coinfektionen (*Bbsl* + *Ap*) wurden zudem auffallend häufig neurologische Veränderungen, wie Kopfnervenausfälle ($p = 0,030$) und Hinweise auf eine Meningoenzephalitis ($p = 0,003$) diagnostiziert, wobei letztere Korrelation aufgrund der geringen Anzahl an betroffenen Patienten mit einer Unsicherheit hinsichtlich der Praxisrelevanz behaftet ist.

Schlüsselwörter: Equine Lyme-Borreliose, Equine Granulozytäre Anaplasmosis, Seroprävalenz, Coinfektion

Equine Lyme borreliosis and equine granulocytic anaplasmosis Part 2 – Clinical relevance (Vet survey)

This study aimed to investigate the clinical relevance of infections with *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*Bbsl*) and *Anaplasma phagocytophilum* (*Ap*) in horses in Germany and to identify possible associations between clinical signs and elevated specific serum antibody levels. Therefore, horses from all parts of Germany with suspicious clinical signs of Lyme borreliosis were evaluated. The veterinarians were asked to fill out a report/questionnaire. Blood samples from all participating horses were tested for specific antibodies (Ak) against *Bbsl* using an ELISA and line immunoassay and for antibodies against *Bbsl* and *Ap* using a validated SNAP test (SNAP® 4Dx Plus® ELISA), whereby the serological test methods used correspond to the current gold standard for LB-diagnostics in the sense of a two-tier procedure with a sensitive screening test and a specific confirmation test. A total of 123 horses were included in the study. One hundred and twelve questionnaires and blood samples were available for statistical analysis. The most common clinical signs were lameness ($n = 36$; $n_{total} = 79$; 45.6%), poor performance ($n = 19$; 24.1%) and apathy ($n = 12$; 15.2%). In almost half of the patients, the clinical changes had already been observed for more than six months ($n = 48$; $n_{total} = 112$; 42.9%). Numerous animals showed several, often non-specific clinical signs ($n = 104$; $n_{total} = 114$; 92.2%) and/or also suffered from a chronic disease ($n = 48$; $n_{total} = 114$; 42.5%). Although in many cases further diagnostics for infections had already been carried out ($n = 64$ of $n_{total} = 114$; 56.1%), some horses had not yet been subjected to further laboratory diagnostics ($n = 14$; $n_{total} = 114$; 12.3%). In 15% of the test subjects ($n = 29$; $n_{total} = 112$) no detailed examination of individual organ systems had yet been carried out. Based on the serological *Bbsl* results, 51% ($n = 63$) of the horses were negative, 28% ($n = 34$) were borderline and 21% ($n = 26$) were positive for specific antibodies against *Bbsl*. *Ap*-specific antibodies Ak were detected in 19.5% of the horses. Evidence of coinfection with *Bb* and *Ap* was found in seven animals (5.7%). The blood smears were without any special findings in all animals that were evaluated ($n_{VT} = 98$). No pathognomonically defined clinical changes for LB in horses were identified based on the data obtained. In addition, neither the unspecific clinical signs ($p = 0.043$) nor lameness ($p = 0.782$) or joint swelling ($p = 0.013$) were statistically correlated with the detection of specific antibodies

against *Bbsl*. As expected, the probability of an elevated *Ap*-specific antibody level was higher when fever (OR = 3.54 (1.28–9.73)) and inappetence (OR = 4.54 (1.44–14.29)) were observed. In addition, in the case of coinfections (*Bbsl* + *Ap*), neurological clinical signs such as cranial nerve deficits ($p = 0.030$) and signs of meningoencephalitis ($p = 0.003$) were also diagnosed with an increased frequency, whereby the latter correlation was associated with a degree of uncertainty regarding the relevance for practice due to the small number of affected patients.

Keywords: equine Lyme borreliosis, equine granulocytic Anaplasmosis, seroprevalence, coinfection

Zitation: Gehlen H., Inerle K. S., Ulrich S., Briese B., Straubinger R. K. (2022) Lyme-Borreliose und Granulozytäre Anaplasmosose bei Pferden Teil 2 – Klinische Relevanz (Tierarztbefragung). *Pferdeheilkunde* 38, 544–553; DOI 10.21836/PEM20220606

Korrespondenz: Prof. Dr. Heidrun Gehlen, Klinik für Pferde der FU Berlin, Oertzenweg 19b, 14163 Berlin; heidrun.gehlen@fu-berlin.de

Eingereicht: 6. Juni 2022 | **Angenommen:** 16. Oktober 2022

Einleitung

Obwohl es bislang nicht gelang, ein charakteristisches Krankheitsbild der equinen Lyme-Borreliose (LB) zu definieren (Divers 2013), existieren Fallberichte, bei denen eine Borrelieninfektion für die beschriebenen klinischen Veränderungen verantwortlich sein könnte. Eine Borrelieninfektion in Pferden wurde erstmals 1986 bei einer zwölfjährigen Shetlandpony-Stute aus Wisconsin, USA postuliert. Die Stute zeigte eine sich in einer Lahmheit äußernde degenerative Entzündung des Karpalgelenks, sowie eine Keratitis und Konjunktivitis. Die untersuchten Serum- und Synovialproben ergaben im Immunfluoreszenz-Assay-Test (IFAT) einen *Bbsl*-Ak-Titer von 1:1.024. *Post mortem* wurden in der linken vorderen Augenkammer mikroskopisch Spirochäten nachgewiesen, die in der direkten Immunfluoreszenz als Borrelien klassifiziert wurden (Burgess et al. 1986). Auf Grund der mangelhaften Spezifität der damals angewendeten Untersuchungsmethoden sollten die Ergebnisse skeptisch interpretiert werden.

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

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

Menschen beschrieben sind, werden bei den Pferden selten beobachtet (Divers 2013). Am häufigsten scheint die Diagnose LB im Sportpferdebereich gestellt zu werden. Dies kann damit zusammenhängen, dass subtile Änderungen wie Steifheit und Hyperästhesie bei diesen Pferden schneller und leichter bemerkt werden (Divers 2013).

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

Variationen des klinischen Bildes, insbesondere hohes Fieber und Gliedmaßenödeme, die teilweise im Zusammenhang mit positiven *Bbsl*-Antikörperspiegeln beobachtet wurden, dürften meist die Folge einer Coinfektion mit *Ap* sein (Chang et al. 2000, Magnarelli et al. 2000, Butler et al. 2005). Eine schwedische Studie fand bei 4,5% der im Jahr 2001 untersuchten Pferde spezifische Antikörper gegen beide Erreger (Egenvall et al. 2001). Als Differentialdiagnosen zur LB sollten neben der equinen granulozytären Anaplasmosose (EGA), auch eine Vaskulitis, immunmedierte Arthritiden und andere Ursachen neurologischer Erkrankungen in Betracht gezogen werden (Reed et al. 2017).

Aufgrund des sehr heterogenen klinischen Bildes der LB und einer unklaren klinischen Relevanz eines erhöhten spezifischen Ak-Spiegels, war das Ziel der Studie, mögliche pathogenomische Veränderungen für eine LB zu detektieren und die klinische Relevanz erhöhter spezifischer Ak-Spiegel zu bewerten. Zudem sollte die klinische Relevanz einer Coinfektion mit *Ap* untersucht werden.

Material und Methoden

Patienten und Tierarzt-Fragebogen

Der Einschluss in die Studie setzte voraus, dass die Verdachtsdiagnose LB durch den Tierarzt/die Tierärztin (TA) gestellt

wurde und diese/r angab, dass der Patient aufgrund seiner Nutzung und Haltung einer Zeckenexposition ausgesetzt war. Zudem sollte ein Befund- bzw. Fragebogen ausgefüllt werden. Dieser wurde per E-Mail in PDF-Form zugestellt. Zudem wurde eine Online-Version der Fragebögen mittels der von der Firma LimeSurvey GmbH (Version 2.56.1+161118, Hamburg) bereitgestellten Umfragedienste zur Verfügung gestellt. Der Fragebogen diente der Detektion potenzieller klinisch pathognomonischer Veränderungen hinsichtlich positiver spezifischer Ak gegen Bbsl oder Ap. Er erfragte Krankheitsbild und Gesundheitszustand, bisherige Diagnostik- und eingeleitete Therapiemaßnahmen sowie deren Erfolg.

Labordiagnostik

Für die serologischen (Bbsl-, Ap-Diagnostik) Untersuchungen wurden Blutproben (ca. 5 mL EDTA-Blut und 10 mL Serum) des Patienten (Verdachtstier) benötigt. Zudem wurde immer ein gesundes Kontrollpferd aus dem gleichen Bestand beprobt. Alle eingesandten Blutproben wurden im Institut für Infektionsmedizin und Zoonosen der Ludwig-Maximilians-Universität München serologisch auf spezifische Ak gegen Bbsl und Ap untersucht, wobei die serologische Untersuchung einen quantitativen kinetischen ELISA (KELA, Cornell University, Ithaca, New York, USA), einen SNAP® 4Dx Test (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA) sowie ein Line-Immunoblot-Testsystem (LIA) (Borrelia Veterinary plus OspA LINE, Sekisui Virotech GmbH, Rüsselsheim, Germany) beinhaltete. Im LIA wurden die Bbsl-spezifischen Antigene DbpA Mix, Osp A Mix, OspC Mix, p39 (BmpA), p58, p83 und VlsE Mix horse für die serologischen Untersuchungen verwendet. Im hauseigenen Labor der Pferdekllinik der FU Berlin wurden zudem manuell Blutausstriche angefertigt und ausgewertet. Die Studie wurde beim Landesamt für Gesundheit und Soziales (Lageso) in Berlin angemeldet (A 0284/17).

Statistik

Die erhobenen Daten wurden unter Zuhilfenahme des Programms „IBM SPSS Statistics“ (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, Version 25) ausgewertet. Mehrfachantworten waren bei den meisten Fragen möglich. Bei Fragen mit mehreren möglichen Antworten wurden Mehrfachantwortsets nach der Methode multipler Dichotomien definiert. Es wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt.

Zur Überprüfung auf Normalverteilung der Angaben zum Alter der Probanden wurden Schiefe und Kurtosis und deren Standardfehler, Median und Mittelwert sowie Grafiken (Histogramme, Q-Q-Plots) und statistische Testverfahren wie der Shapiro-Wilk- und Kolmogorov-Smirnov-Test zu Rate gezogen. Für die deskriptive Analyse wurden Häufigkeitstabellen, Balken- und Kreisdiagramme ausgegeben, außerdem kamen Angaben zu den Lagemaßen zum Einsatz.

Im Rahmen der Assoziationsanalysen wurde der Chi-Quadrat-Test verwendet oder, wenn die Voraussetzungen für den Chi-Quadrat-Test nicht gegeben waren, auch der exakte Test nach Fisher. Auch die Odds-Ratio wurde mit ausgegeben. Das Lebensalter wurde mittels einfaktorier ANOVA bezüglich der serologischen Bbsl-Ak-Befunde untersucht.

Ergebnisse

Insgesamt wurden 123 Pferde mit der Verdachtsdiagnose einer LB in die Studie aufgenommen. Bei 114 Verdachtstieren lagen sowohl die Tierärztebefundbögen sowie entsprechende Blutproben des Verdachts- und eines Kontrolltieres aus dem gleichen Stall vor (vollständiges Datenset).

Angaben zu klinischen Erscheinungen/Vorstellungsgrund

Im Fragebogen wurden die Tierärzte (TÄ) um Angaben zur Klinik, Vorabdiagnostik und Therapie gebeten. Zum Zeitpunkt der Probennahme zeigten die Pferde im Mittel schon seit $26,0 \pm 15,8$ Monaten (0–199 Monate) LB-verdächtige, klinische Veränderungen, respektive das aktuelle Krankheitsbild. Der Schweregrad der Erkrankung wurde am häufigsten als mittelgradig eingestuft (49,1%). 38 TÄ (33,3%) stufen ihn als geringgradig, 18 TÄ (15,8%) dagegen als hochgradig ein. Über hochgradige hinausgehende klinische Veränderungen sahen lediglich zwei TÄ (1,8%).

Darüber hinaus wurde das Wesen der Erkrankung vorwiegend als schubweiser Verlauf (64%) beschrieben. Keiner der Patienten wies laut TA einen sehr schlechten Allgemeinzustand auf. Der durchschnittliche Allgemeinzustand lag bei 2,04 (1 = sehr gut bis 5 = sehr schlecht), der durchschnittliche Ernährungszustand bei 1,99 (1 = sehr gut bis 5 = sehr schlecht) und der durchschnittliche Pflegezustand bei 1,53 (1 = sehr gut bis 5 = sehr schlecht).

Bei den von den 59 Tierärzten beobachteten Lahmheiten handelte es sich in 70,4% der Fälle ($n = 38$) um Lahmheiten, bei denen mehrere Gliedmaßen betroffen zu sein schienen. Was das Wesen der Lahmheit betrifft, so waren es oft intermittierend auftretende Lahmheiten (78,2%, $n = 43$) und seltener permanent zu beobachtende Gangauffälligkeiten (21,8%, $n = 12$). Gelenkschwellungen wurden häufiger an den Hintergliedmaßen (77,1%, $n = 27$) als an den Vordergliedmaßen (22,9%, $n = 8$) beobachtet, wobei auf die Frage nach den betroffenen Gelenken vor allem die Fesselgelenke (45,8%, $n = 11$) und Tarsalgelenke (33,3%, $n = 8$) genannt wurden.

Bei sieben Fällen wurden ophthalmologische Veränderungen beobachtet. Dabei handelte es sich bei fünf Patienten um eine Konjunktivitis (71,4%) und in zwei Fällen (28,6%) um eine equine rezidivierende Uveitis.

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

Diagnostik

Bei 75 Patienten (70%; $n_{\text{ges}} = 107$) war bereits eine eingehende orthopädische Untersuchung, bei 41 (36,6%) eine neurologische und bei 15 Patienten (13,4%) eine dermatologische

Untersuchung durchgeführt worden (Mehrfachantworten möglich). Bislang keine speziellen klinischen Untersuchungen waren bei 29 Patienten (25,9%) zu verzeichnen.

Weiterführende Labordiagnostik war in 100 Fällen (87,7%) erfolgt, wobei bei 79 Pferden (69,3%) ein Differentialblutbild angefertigt worden war und bei 74 Pferden (64,9%) eine umfassende klinisch-chemische Blutuntersuchung. Bei 64 Pferden (56,1%) waren auch schon Untersuchungen aus dem Bereich der Infektionsdiagnostik eingeleitet worden. Hierbei war bei 31 Pferden (47,0%) das große Blutbild ohne besonderen Befund. Eine Erythrozytopenie zeigten neun Pferde (13,6%), eine Leukozytose, Monozytose und/oder Eosinophilie dagegen acht Pferde (12,1%).

Etwas weniger als die Hälfte der an der Studie aufgenommenen Probanden (57,9%) waren bislang keiner Diagnostik im Hinblick auf Erkrankungen durch Erreger des *Bbsl*-Komplexes unterzogen worden. Der Rest wurde primär mittels indirektem Erregernachweis untersucht (37,7%) und nur zu einem geringen Teil mittels direktem Erregernachweis (3,5%). Bei einem Patienten waren sowohl der AK-, als auch der direkte Erregernachweis zum Einsatz gekommen (0,9%). Laut den TÄ fielen die Ergebnisse 32-mal positiv (69,5%), 11-mal grenzwertig (23,9%) und 3-mal (6,5%) negativ aus.

In 26 Fällen wurde die Frage nach der Durchführung einer Verlaufskontrolle zu den spezifischen Ak gegen *Bbsl* nach durchgeführter Therapie beantwortet. Dabei gaben 62% der TÄ ($n = 16$) an, dass keine erneute Untersuchung zu den *Bbsl*-spezifischen Ak stattgefunden hatte. Ein Abfall der spezifischen Ak-Spiegel konnte laut TÄ bei vier Pferden (15%) beobachtet werden, ein persistierender hoher Ak-Spiegel bzw. -anstieg war bei sechs Pferden (23%) auffällig.

Bis zu fünf verschiedene bzw. aufeinanderfolgende diagnostische Tests wurden eingesetzt, um die LB zu diagnostizieren. Am häufigsten ($n = 18$) wurden IgG-ELISAs, insbesondere als Screeningtests, eingesetzt. Bei sechs Patienten wurden diese Untersuchungen im Sinne einer Kontrolle der spezifischen Ak-Spiegel wiederholt, wodurch sich eine Gesamtzahl von 29 durchgeführten Tests ergibt. Auch IgG-Immunoblots wurden re-

gelmäßig durchgeführt ($n = 13$), wobei diese häufiger der Bestätigung dienten ($n = 9$). Die vorliegenden Unterlagen zeigen acht positive Befunde basierend auf IgG gegen *Bbsl*, einen negativen und sechs grenzwertige, wobei ein Patient zweimal untersucht wurde. Ein *Bbsl*-IgM-recomBlot wurde in Kombination mit einem *Bbsl*-IgG-recomBlot bei vier Patienten durchgeführt, bei zweien sogar noch einmal wiederholt. Die Untersuchung fiel in allen sechs Untersuchungsgängen negativ aus. Qualitative C6-Ak-Nachweise wurden in neun Fällen angewandt, sowohl als Primär- ($n = 4$), als auch als Sekundärtests ($n = 5$). In acht Fällen (88,9%) ergaben die Untersuchungen positive Ergebnisse, in einem Fall (11,1%) fiel sie negativ aus.

Immunfluoreszenz-Ak-Tests (IFATs) wurden ebenfalls häufiger, oftmals als erste Screeningmethode, eingesetzt ($n = 6$). Selten kam der Test zur Bestätigung ($n = 2$) zum Einsatz. Der IFAT fiel bei allen acht Patienten laut PB bzw. TÄ positiv aus; bei sieben Pferden lagen die Titer der IgG-IFATs zum Nachweis von *Bbsl*-Ak bei 1:64 bis 1:256 (Tab. 1).

Daneben wurden PCR-Untersuchungen ($n = 3$), kulturelle Nachweisverfahren ($n = 2$) und der ELISpot Assay ($n = 1$) verwendet (Tab. 1). Bei drei Fällen, für welche aus den Hautbiopsien PCR-Untersuchungen zu *Bbsl* eingeleitet wurden, fielen diese bei zwei Patienten positiv und bei einem negativ aus. In einem Fall lag das Ergebnis einer Hautbiopsie mit Bakterienkultur und positivem *Bbsl*-Befund vor; einmal fehlte der Befund. Der Befund des ELISpot Assay war positiv, ebenso eine weitere PCR-Untersuchung, diesmal auf *Bbsl*-DNA direkt in einer Zecke. Im Durchschnitt lag der Zeitpunkt der LB-Diagnostik $11,8 \pm 11,3$ (0–55) Monate zurück (Tab. 1).

Insgesamt lagen in 15 Fällen Befunde zur EGA-Diagnostik vor und hiervon waren acht positiv (53,3%) und sieben negativ (46,7%). Für die EGA-Diagnostik wurden Immunfluoreszenztests (IFAT) und PCR eingesetzt (Tab. 2).

Immunfluoreszenz-Ak-Tests (IFATs)

Sechs Pferde wurden zusätzlich auf spezifische Ak gegen Borreliose untersucht, wobei drei positiv (einmalig Titer $> 1:600$)

Tab. 1	Angewandte Methoden der LB-Diagnostik.		Applied methods of LB diagnostics.			
Methodik	1.1 ($n = 48$)	1.2 ($n = 15$)	1.3 ($n = 3$)	2.1 ($n = 5$)	2.2 ($n = 1$)	GESAMT
IgG-ELISA	16 (26)			2 (3)		18 (29)
IgG-Immunoblot/recomBlot	3 (3)	6 (6)	2 (3)	1 (1)	1 (1)	13 (14)
C6 qualitativ	4 (4)	5 (5)				9 (9)
IFAT	6 (6)	2 (2)				8 (8)
IgM/IgG Immunoblot/recomBlot	3 (4)	1 (2)				4 (6)
Hautstanze PCR	2 (2)		1 (1)			3 (3)
Hautstanze Kultur	1 (7)	1 (1)				2 (8)
ELISPOT				1 (1)		1 (1)
k.A.	13 (13)			1 (1)		14 (14)

Anzahl bzw. Wiederholungen der durchgeführten Untersuchungen in Klammern; PCR = polymerase chain reaction; IFAT = immunfluorescence antibody test; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; k.A. = keine Angabe; „Methode 1.1 bis 1.3“ und „Methode 2.1–2.2“ beziehen sich auf Pferde mit Mehrfachuntersuchungen in der Vorabdiagnostik (Laboruntersuchungen zu zwei verschiedenen Zeitpunkten)

und zweimal 1:160), zwei negativ (Titer < 1:10) und ein Pferd grenzwertig positiv (Titer < 1:40) waren. Bei zwei Pferden wurden Untersuchungen zur Babesiose und bei einem davon zusätzlich zur Piroplasmose eingeleitet, wobei der Patient mit der alleinigen Untersuchung positiv auf Babesien und der andere Patient mit der doppelten Untersuchung negativ hinsichtlich *Babesia caballi*, aber positiv auf *Theileria equi* war.

Therapie

Bei 42 Pferden wurde keine Therapie eingeleitet. 45 Pferde hatten bereits Antibiotika erhalten. Hierbei wurde in 44,4% der Fälle Doxycyclin (n = 20) verabreicht, wobei 20% der Patienten sogar schon mehr als ein Antibiotikum erhalten hatten. Auch nichtsteroidale Antiphlogistika waren häufig eingesetzt worden (n = 28; 42,4%) und beinahe ein Drittel der Patienten/Verdachtstiere aus der Studienpopulation wurde mittels komplementärer Behandlungsverfahren (Homöopathie und Phytotherapie) vorbehandelt (n = 20; 20,3%). Einen kleineren Anteil machten mit steroidal Antiphlogistika vorbehandelte Pferde aus (n = 9; 13,6%). Der Mittelwert der Dauer des Einsatzes von Antibiotika lag bei 21,0 ± 17,1 Tagen (1–84 Tage). In den meisten Fällen wurden die Pferde drei (n = 11 von n_{ges} = 35) bis vier (n = 22) Wochen behandelt. Eine Besserung unter Therapie trat bei einer knappen Mehrheit der Patienten ein (51%), aber nur wenige gesunden vollständig (16%). Beim Rest trat keine Besserung ein (33%).

Prophylaxe

39% der TÄ (n = 25) gaben an, keine Impfung gegen LB in ihrer Praxis in Erwägung zu ziehen; bei 20% (n = 13) wurde die Impfung noch nicht eingesetzt, aber auch nicht kategorisch abgelehnt und 41% (n = 26) führten schon regelmäßig Impfungen gegen LB in ihrer Praxis durch. 86,4% der TÄ (n = 57 von n_{ges} = 66) gaben an, sich an den Impfeempfehlungen der StIKo Vet (Ständige Impfkommision Veterinär) zu orientieren; 13,6% (n = 9) dagegen nicht. Von den Pferden waren 4,4% (n = 5 von n_{ges} = 103) gegen LB geimpft.

Als Gründe für den Nichteinsatz der Impfung gaben die Tierärzte im freien Text u.a. folgendes an: „Die Impfung gegen LB wurde wegen mangelnder Nachfrage/Impfbereitschaft eingestellt.“ „Laut Vertreter ist eine Impfung nur sinnvoll im Absetz-/

Jungpferdealter.“ „Die Akzeptanz der Besitzer bei der Borreliose-Impfung ist sehr schlecht.“

54,2% (n = 39 von n_{ges} = 72) der Tierärzte empfehlen ihren Kunden generell die Verwendung einer Zeckenprophylaxe, 29,2% (n = 21) in seltenen Fällen und 16,7% (n = 12) empfehlen keine. Als Grund wurden im freien Text u.a. folgendes angegeben: „Die Wirkung der für Pferde zugelassenen Präparate ist vor allem bei Offenstallhaltung nicht zufriedenstellend, ebenso verhält es sich mit der Dauer der Wirkung.“

Wenn Repellentien empfohlen wurden, dann folgende Präparate: Wellcare® (n = 51), BUTOX® (n = 27), Centaura® (n = 14), Equirepell® (n = 10), Sebacil® (n = 5) und Bayofly® (n = 2).

Serologische Blutuntersuchung (eigene Ergebnisse und Ergebnisse der TÄ)

Der SNAP® 4Dx Schnell-Test diente bei den Pferden der Studie zum semiquantitativen Nachweis von spezifischen Ak gegen *Bbsl* und *Ap*. Ein positiver C6-Ak-Nachweis (Hinweis auf Infektion mit *Bbsl*) gelang bei 46,3% der Tiere, ein positiver *Ap*-Ak-Nachweis bei 19,5% der Pferde.

Im LIA waren 51% (n = 63) der Verdachtstiere (VT) und 49% (n = 55) der Kontrolltiere (KT) negativ, 28% (n = 34) der VT und 35% (n = 40) der KT wurden grenzwertig und 21% (n = 26) der VT und 16% (n = 18) der KT wurden positiv auf *Bbsl*-Ak getestet. Ein Hinweis auf Coinfektion mit *Bbsl* und *Ap* lag bei sieben (5,7%) der VT und zwei (1,8%) der KT vor.

Vergleich der serologischen Befunde

Fast die Hälfte der Tiere war seronegativ hinsichtlich spezifischer Ak gegen *Bbsl* (VT: 49,1%, n = 56; KT: 47,7%, n = 51), bei den Verdachtstieren waren allerdings 22,8% (n = 26) *Bbsl*-seropositiv, während es bei den Kontrolltieren nur 16,8%

Tab. 2 EGA-Untersuchungsmethoden, gegliedert nach Ergebnis. | EGA diagnostic method, broken down by result.

EGA-Diagnostik Ergebnis	Methode	n (% von n _{ges} = 114)
positiv (n = 8; 7,0%)	Methode unbekannt	5 (4,4)
	Ap-Ak IFAT 1:200	1 (0,9)
	Ap PCR	1 (0,9)
negativ (n = 7; 6,1%)	Methode unbekannt	6 (5,3)
	Ap-Ak IFAT < 1:50	1 (0,9)

Immunfluoreszenz-Ak-Tests (IFATs)

Tab. 3 Serologische Babesien- und Anaplasmen-Befunde (*Bbsl*, *Ap*, Coinfektionen) bei den Verdachts- und Kontrolltieren (VT & KT). | Serological findings (*Bbsl*, *Ap*, coinfections) in VT & KT.

	<i>Bbsl</i>			p (Chi ²)
	-	+/-	+	
VT (n = 114)	56 (49,1%)	32 (28,1%)	26 (22,8%)	0,371
KT (n = 107)	51 (47,7%)	38 (35,5%)	18 (16,8%)	
	<i>Ap</i>			p (Chi ²)
	-	+		
VT (n = 114)	91 (79,8%)	23 (20,2%)		0,408
KT (n = 107)	90 (84,1%)	17 (15,9%)		
	Coinfektion			p (Chi ²)
	-	+		
VT (n = 114)	107 (93,9%)	7 (6,1%)		0,108
KT (n = 107)	105 (98,1%)	2 (1,9%)		

(n = 18) waren. Beim Rest wurden lediglich Hinweise auf Erregerkontakt gefunden, deren klinische Relevanz fraglich ist (VT: 28,1%, n = 32; KT: 35,5%, n = 38). Die Zahl der Ap-seropositiven Tiere (VT: 20,2%, n = 32; KT: 15,9%, n = 17) und der Tiere mit Hinweis auf Coinfektion (VT: 6,1%, n = 7; KT: 1,9%, n = 2) war in der Verdachtstierpopulation ebenfalls höher als in der Kontrolltierpopulation, wenn auch nicht in dem Maße, dass statistisch signifikante Gruppenunterschiede festgestellt werden konnten (Tab. 3).

39,3% (n = 42) der teilnehmenden Pferde mit LB-Verdacht hatten denselben serologischen Status wie die als Kontrollen dienenden Partnertiere. Die Konstellation VT positiv und KT negativ bzw. VT negativ und KT positiv kam nur in 17,8% (n = 19) der Fälle vor (Tab. 4).

Eingeleitete diagnostische Maßnahmen vor Studienteilnahme

Die Befunde der vom Haustierarzt durchgeführten Untersuchungen zum Nachweis spezifischer Ak gegen Bbsl (n = 43) wurden mit den Befunden dieser Studie verglichen (Tab. 5). Eine Übereinstimmung der Befunde (Zahl hervorgehoben) lag in 18,6% der Fälle vor: fünf Pferde, die im Vorfeld bereits positiv getestet worden waren, wurden erneut positiv befundet, 12 nur grenzwertig und 16 negativ. Bei zwei Pferden bestätigte sich der grenzwertige Befund, während zwei Pferde bei grenzwertigem Befund in der Vorabdiagnostik in unserer Studie einen positiven Befund erhielten und vier Pferde in dieser Studie negativ befundet wurden. Ein Pferd, das bereits vorab negativ getestet wurde, wurde erneut negativ bewertet und eines grenzwertig.

Für die im Vorfeld durchgeführten Untersuchungen wurden indirekte und direkte Erregernachweise bezüglich Bbsl-Infektionen eingesetzt (Tab. 5). Die Chronizität der Erkrankung hatte laut unseren Erhebungen keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die eingesetzten Erregernachweisverfahren (p = 0,787). Am häufigsten (84 % der Fälle) wurden Ak-Nachweise eingesetzt (n_{AK} = 41).

Therapieerfolg der vorangegangenen Behandlung

Für die Gruppe, die vorab mittels Antibiotika vorbehandelt worden war (n_{ges} = 45), trat in bei 28 Pferden eine signifikante (p = 0,039) Besserung oder gar Genesung (n = 8) ein, während in weniger Fällen als zu erwarten gewesen wäre, keine

Besserung (n = 9) unter Therapie zu verzeichnen war. Die beobachteten klinischen Veränderungen zeigten jedoch keine Assoziation mit den Ergebnissen der Therapie.

Nachweis spezifischer Ak gegen Bbsl

Statistisch signifikante Gruppenunterschiede konnten lediglich bei den Angaben für die Gruppe der „sonstigen klinischen Veränderungen“ (p = 0,043) mit den dermatologischen Veränderungen (p = 0,020) und Hautknötchen bzw. Papeln (p = 0,020) und außerdem für die klinischen Veränderungen wie Lethargie (p = 0,028) und Gelenkschwellung (p = 0,013), insbesondere der Fesselgelenke (p = 0,015) gefunden werden. Sonstige klinische Veränderungen, insbesondere dermatologische Veränderungen wie Hautknötchen und Papeln, traten nach TÄ-Angaben seltener bei Bbsl-Ak-positiven und grenzwertigen und häufiger bei Bbsl-Ak-negativen Pferden auf. Eine Lethargie beobachteten die TÄ häufiger sowohl bei der Bbsl-Ak-positiven als auch bei der Bbsl-Ak-negativen Gruppe und selten bei den Bbsl-Ak-grenzwertigen Pferden. Gelenkschwellungen und auch Gelenkschwellungen der Fesselgelenke im Speziellen wurden häufiger als erwartet bei den negativ auf Bbsl-Ak befundeten Pferden von den TÄ beobachtet.

Nachweis spezifischer Ak gegen Ap

Statistisch signifikante Gruppenunterschiede konnten für die Gruppe der „unspezifischen klinischen Veränderungen“ (p = 0,043) sowie für die klinischen Veränderungen wie Fieber (p = 0,019) bzw. hohes Fieber (p = 0,012), Inappetenz (p = 0,012), Hinweise auf Meningoencephalitis (p = 0,039) und Hautrötung (p = 0,039) festgestellt werden. Insbesondere bei Fieber war die Chance eines positiven Ap-Ak-Befundes 3,54-mal (1,28–9,73) höher als wenn keine Körpertemperaturerhöhung beobachtet wurde. Auch bei Inappetenz lag eine 4,54-mal (1,44–14,29) höhere Chance für einen positiven Ap-Ak-Nachweis vor. Auch Hinweise auf Meningoencephalitis wurden häufiger als erwartet bei Ap-Ak-positiven Tieren gefunden, ebenso Hautrötungen. Kopfnervenausfälle (p = 0,030) und Hinweise auf Meningoencephalitis (p = 0,003) wurden signifikant häufiger als erwartet bei coinfizierten (Bbsl + Ap) Tieren gefunden.

Dauer der Erkrankung im Hinblick auf die serologischen Befunde (Bbsl)

56 Pferde (53,8%) waren akut und 48 (46,2%) chronisch erkrankt. Akut erkrankte Pferde zeigten signifikant häufiger

Tab. 4 Serologische Befunde (Bbsl) Verdachts- & Kontrolltiere im Vergleich. | Serological findings (Bbsl) in comparison of suspect and control animals.

Bb-Ak-Befund*	KT (n = 107)			
	+	+/-	-	Σ
+	6	8	12	26
VT (n=107)	+/-	11	14	30
	-	7	25	51
	Σ	18	38	51

* Bbsl + = positiver serologischer Befund, Hinweis auf Infektion;
 Bbsl +/- = grenzwertiger serologischer Befund, fragliche klinische Relevanz;
 Bbsl - = negativer serologischer Befund, kein Hinweis auf Erregerkontakt.

Tab. 5 Vergleich Studienbefund und Befund Vorabdiagnostik (Bbsl). | Comparison of study findings and preliminary diagnostic findings (Bbsl).

	Ergebnis in der Studie	Ergebnis in der Studie		
		positiv	grenzwertig	negativ
Ergebnis Diagnostik Haustierarzt	positiv*	5*	12*	16*
	grenzwertig	2	2	4
	negativ	0	1	1

negative und chronisch erkrankte Pferde seltener negative Befunde zu spezifischen Ak gegen Bbsl als erwartet ($p = 0,009$).

Diskussion

Pferde werden mit einer Vielzahl relativ unspezifischer klinischer Veränderungen wie wechselnden Lahmheiten, Abgeschlagenheit, Arthritiden, Hufproblemen, Widersetzlichkeit beim Reiten usw. auf das Vorhandensein spezifischer Ak gegen Bbsl und Ap untersucht. Im Falle eines positiven Befundes wird allzu gerne angenommen, die klinischen Veränderungen rührten von einer Infektion mit einem dieser Erreger her (Straubinger 2017). Auch wird immer wieder geschlussfolgert, dass persistierende Ak-Spiegel auf chronische Stadien einer LB oder EGA hinweisen (Egenvall et al. 2001). Inwiefern klinische Veränderungen jedoch der Präsenz spezifischer Ak vorangegangen waren, lässt sich im Nachhinein aufgrund der langen Ak-Persistenz nicht feststellen (Zöller et al. 1989).

Werden einzig Probleme des muskuloskelettalen Systems beobachtet, ist eine weitergehende differentialdiagnostische Aufarbeitung sinnvoll (Reed et al. 2017, Divers et al. 2018). Vor allem bei Pferden mittleren bis höheren Alters können, in Abhängigkeit von der Nutzung und Rasse, vermehrt Verschleißerscheinungen am Bewegungsapparat auftreten, die keine infektiöse Ursache als Auslöser haben (Brosnahan und Paradis 2003, Straubinger 2017). Das Auftreten einer Kombination unspezifischer Veränderungen kann ebenso nicht als verlässliches Merkmal für einen Hinweis auf eine Bbsl-Infektion herangezogen werden (Divers 2013). Ein Großteil der in der Literatur beschriebenen klinischen Veränderungen ist aufgrund der geringen Validität der verwendeten Testverfahren (v.a. des IFAT) als unsicher und unspezifisch zu bewerten (Venner und Deegen 1996).

In dieser Studie zeigten 42,9% der untersuchten Pferde die LB-verdächtigen klinischen Veränderungen zum Zeitpunkt der Studienteilnahme schon seit über sechs Monaten (im Mittel ein Jahr und vier Monate). Sie waren also chronisch erkrankt. Die TÄ betreuten die Pferde durchschnittlich seit etwa drei Jahren. Möglicherweise konnten sie dadurch nicht die gesamte Krankengeschichte nachverfolgen (Welsh et al. 2016). Manion et al. (2001) hatten in ihrer epidemiologischen Fall-Kontroll-Studie zur LB eine Krankheitsdauer von unter sechs Monaten bei 86% (19/22) und über sechs Monaten bei 14% (3/22) der Pferde beobachtet.

Es konnten Unterschiede bei Betrachtung der spezifischen Bbsl-Ak-Befunde im Hinblick auf die Chronizität festgestellt werden ($p = 0,009$). Akut erkrankte Pferde zeigten häufiger negative und chronisch erkrankte Pferde seltener negative Bbsl-Ak-Befunde als erwartet. Akut erkrankte Pferde könnten gegebenenfalls in einem Stadium, in dem noch keine Ak-Bildung stattgefunden hatte, untersucht worden sein (Craft et al. 1984, Frey und Rao 1995).

Ein Großteil der Probanden zeigte Krankheitsbilder, die durch schubweises Auftreten der Veränderungen geprägt waren (64,0%). Auch dies könnte die Einschätzung des Schweregrads durch die TÄ, die die Patienten in einem vergleichsweise guten Zustand vorfinden, erschweren (Ballou et al. 2020). Ein

geringer Schweregrad wurde häufiger als erwartet bei Bbsl-Ak-negativen und ein mittlerer Schweregrad seltener als erwartet bei Bbsl-Ak-positiven Pferden angegeben und deckt sich mit der Annahme, dass die Mehrheit der Bbsl-Infektionen beim Pferd klinisch unauffällig verläuft (Venner und Deegen 1996).

Zusammenhang zwischen klinischen Befunden und Bbsl-Ak-Nachweisen

Lediglich für „dermatologische Veränderungen“ ($p = 0,020$), „Lethargie“ ($p = 0,028$) sowie „Gelenkschwellung“ ($p = 0,013$) konnte eine Korrelation zwischen einem Ak-Nachweis und klinischen Veränderungen beobachtet werden. Dermatologische Veränderungen traten seltener bei Bbsl-Ak-positiven und grenzwertigen Pferden auf, waren dagegen aber häufiger als erwartet bei Bbsl-Ak-negativen Pferden (negative Korrelation). In keinem Fall konnte ein sog. Bbsl-assoziiertes Pseudolymphom der Haut im Zusammenhang mit positivem Bbsl-Ak-Nachweis, wie es von Sears et al. (2012) beschrieben wurde, beobachtet werden.

Lethargie beobachteten die TÄ häufiger als erwartet sowohl bei der Bbsl-Ak-positiven als auch bei der Bbsl-Ak-negativen Gruppe und seltener als erwartet bei den Bbsl-Ak-grenzwertigen Pferden, was die Relevanz dieser statistischen Beobachtung für den Praktiker einschränkt. Ohnedies wird die Lethargie als Leitveränderung laut Reed et al. (2017) als ungeeignet eingestuft.

Gelenkschwellungen wurden häufiger als erwartet bei den Bbsl-Ak-negativen Pferden beobachtet. Auch hier kann lediglich geschlussfolgert werden, dass den beobachteten Veränderungen eher andere Ursachen zugrunde liegen und keine pathognomonische klinische Veränderung für die LB darstellt. Dennoch existieren durchaus Fallbeschreibungen im Zusammenhang mit klinisch-manifesten LB beim Pferd, die mit Gelenkschwellungen einhergehen (Burgess et al. 1986, Hahn et al. 1996, Sommerauer et al. 2019).

Zusammenhang zwischen klinischen Befunden und Ap-Ak-Nachweisen

Hier konnten statistisch signifikante Unterschiede für die klinischen Veränderungen „hohes Fieber“ ($p = 0,012$), Inappetenz ($p = 0,012$), „Hinweise auf Meningoenzephalitis“ ($p = 0,039$) und „Hautrötung“ ($p = 0,039$) festgestellt werden. Insbesondere bei Fieber ist die Chance eines positiven Ap-Ak-Befundes 3,54-mal (1,28–9,73) höher, als wenn keine Temperaturerhöhung beobachtet wurde. Auch bei Inappetenz liegt eine 4,54-mal (1,44–14,29) höhere Chance für einen positiven Ap-Ak-Nachweis vor. Hinweise auf Meningoenzephalitis sowie auf Hautrötungen wurden häufiger als erwartet bei Ap-Ak-positiven Tieren gefunden. Dabei stellt Fieber keine typische klinische Veränderung der EGA dar; die EGA geht häufig mit Inappetenz einher (Gribble 1969, Madigan und Pusterla 2000, Schusser et al. 2007). Auch ein epileptiformes Anfallsgeschehen mit akuter Paralyse (Nolen-Walston et al. 2004), ebenso wie breitbeiniger Stand und Ataxie (Pusterla und Madigan 2014) wurden bei EGA beschrieben. Von einem Zusammenhang mit dermatologischen Veränderungen ist in der Literatur jedoch nichts bekannt.

Klinische Befunde bei Coinfektionen

Statistisch signifikante klinische Befunde im Zusammenhang mit positiven AK-Nachweisen gegen beide Erreger konnten für die klinische Veränderungen „Kopfnervenausfälle“ ($p = 0,030$) und „Hinweise auf Meningoenzephalitis“ ($p = 0,003$) bei je zwei coinfizierten Tieren festgestellt werden, was sich mit den in der Literatur beschriebenen Fällen deckt (Burgess und Mattison 1987, Imai et al. 2011, Johnstone et al. 2016), aber aufgrund der geringen Fallzahl in seiner Aussagekraft vorsichtig zu interpretieren ist.

Diagnostik und Therapie

Diagnostik der LB bei Pferden stellt sich als diffizil dar, da Vorberichte oft unvollständig, Krankheitsverläufe unspezifisch und Prophylaxemaßnahmen ungenügend sind (Bartol 2013). Serologischen Nachweisverfahren, die in der Lage sind, aktive Infektionen mit hochspezifischen Markern zuverlässig zu erfassen und deren klinische Relevanz einzuordnen, kommt deshalb eine große Bedeutung zu (Krupka et al. 2012). Bei 25,9% der Patienten war bislang keine spezielle Untersuchung einzelner Organsysteme erfolgt, bei 12,3% darüber hinaus auch keine Labordiagnostik eingeleitet worden. Die mit 70% am häufigsten durchgeführte spezielle Untersuchung war die orthopädische Untersuchung. Bei 69,3% war bereits ein Differentialblutbild erstellt worden, bei 64,9% eine eingehende klinisch-chemische Blutuntersuchung erfolgt und bei 56,1% eine weiterführende Infektionsdiagnostik eingeleitet. Dabei lag bei 35,5% bereits eine Verlaufskontrolle der spezifischen Bbsl-Ak-Spiegel vor. Positive IgG-Immunoblot-Ergebnisse waren oft gegen unspezifische Antigene wie p41 (Flagellin), p53, p83/100, aber nur teilweise gegen spezifische Antigene wie VlsE, DbpA, p39 (BmpA) und C6 gerichtet (Krupka et al. 2012). Die Validität der eingesetzten Untersuchungsverfahren ist hierbei z.T. als gering zu beurteilen (Zöller et al. 1991).

Nur in wenigen Fällen (18,6%) konnten die Befunde zu den Bbsl-Ak-Spiegeln der im Vorfeld durchgeführten Infektionsdiagnostik bestätigt werden. Bei den in der Vorabdiagnostik positiv getesteten, aber in der vorliegenden Studie grenzwertig oder negativ befundenen Probanden handelte es sich vermutlich vornehmlich um Pferde, bei denen der Erregerkontakt schon länger zurücklag oder keine ausgeprägte Antikörperbildung stattgefunden hatte, was sich in den relativ niedrigen KELA-Werten widerspiegelte. Bei Probanden, die zuvor bereits positive Bbsl-Ak-Spiegel zeigten, könnte eine Verzerrung der Wahrnehmung („perception bias“) hinsichtlich der potentiellen Risikoexposition („information bias“) stattgefunden haben (Wacholder et al. 1992). Dies wurde im Rahmen der Studie nicht weiter untersucht, kann aber nicht restlos ausgeschlossen werden.

Von den in die Studie aufgenommenen Pferde waren 62,3% bereits vorbehandelt. Innerhalb der Gruppe der vorbehandelten Pferde erhielten 68,2% der Pferde Antibiotika, vornehmlich Doxycyclin (37,0%) und dies im Mittelwert über 21 Tage hinweg. Auch nichtsteroidale Antiphlogistika waren in einigen Fällen (42,4%) eingesetzt worden, am häufigsten Flunixin-Meglumin (41,7%). Bei 30,3% der vorbehandelten Proban-

den waren komplementärmedizinische Therapiemethoden, wie Homöopathie (37,0%) und Phytotherapie (25,9%) eingesetzt worden. Für das Pferd ist derzeit in Deutschland weder ein zugelassenes Doxycyclin zur oralen Anwendung noch Oxytetracyclin zur intravenösen Anwendung auf dem Markt. Um diese Antibiotika beim Pferd zu verwenden, muss ein Präparat, das für andere Tiere zugelassen wurde, gemäß der Umwidnungskaskade (§ 56a Abs. 2 AMG) eingesetzt werden. Nichtsdestotrotz entspricht eine Doxycyclin-Gabe den aktuellen Therapieempfehlungen zur equinen LB (Divers 2013).

Bei der Mehrheit der vorbehandelten Pferde war auch eine Besserung unter der Therapie (51%) eingetreten, bei einigen sogar die vollständige Genesung (16%). Dabei waren einzig für die Gruppe der Patienten, die vorab mittels Gabe von Antibiotika vorbehandelt worden waren, ein statistisch signifikanter Unterschied hinsichtlich des Therapieerfolgs zu verzeichnen ($p = 0,039$). In mehr als den zu erwartenden Fällen trat eine Besserung oder gar Genesung auf. Ob es sich hierbei um den Erfolg der Antibiose oder um die, beim Doxycyclin ebenso beschriebene, entzündungshemmende Wirkung handelte (Yu Jr. et al. 1992, Davis et al. 2006), kann abschließend nicht beurteilt werden. Auch ein Placeboeffekt ist möglich.

Die hohe Zahl an Kontrollpferden mit positiven Bbsl-Ak-Spiegeln (16%) und der nahezu identische Serostatus hinsichtlich Bbsl der Verdachts- und Kontrollpferde zeigt deutlich, dass der alleinige Nachweis spezifischer Bbsl-Antikörper nicht als Rechtfertigung für eine Therapie genügt. Gleiches gilt für einen spezifischen Ap-Ak-Nachweis. Kommt es innerhalb weniger Tage zu einer deutlichen klinischen Verbesserung unter einer Antibiotikagabe, kann diese fortgeführt werden. Tritt keine Besserung ein, sollte die Diagnose überdacht werden (Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, persönliche Kommunikation, 21.10.2020).

Schlussfolgerung und Ausblick

Eine Exposition gegenüber zeckenübertragenen Erregern lässt sich beim Pferd in den meisten Fällen mit Hilfe serologischer Untersuchungen leicht nachweisen. Dabei ist die Präsenz spezifischer Antikörper gegen Bbsl oder Ap aber nicht generell mit klinischen Veränderungen assoziiert. Dagegen erweist sich der Versuch, zu bestimmen, ob die Exposition auch zu Infektion und klinischer Erkrankung geführt hat, beim Pferd ungleich schwieriger (Bartol 2013), da die klinischen Veränderungen, die im Rahmen der LB auftreten, sehr heterogen und unspezifisch sind. Ein eindeutiges Krankheitsbild konnte auch im Rahmen der vorliegenden Untersuchung nicht bestimmt werden. Die antibiotische Behandlung allein aufgrund erhöhter, spezifischer Ak-Spiegel gegen Bbsl entbehrt jeder klinischen Grundlage. Auch das Zusammentreffen ungeklärter Lahmheiten mit anderen unspezifischen klinischen Veränderungen bei erhöhten Ak-Spiegeln gegen Bbsl stellt keine Indikation für eine Behandlung mit Antibiotika dar und sollte vielmehr Anlass für eine differenzierte Diagnostik sein. Zu hoffen bleibt, dass diese Information zu einem kritischen Umgang mit Antibiotika sowohl bei der LB (insbesondere bei Bbsl-Ak-Nachweis) als auch bei der Granulozytären Anaplasmosen bei Pferden führen möge.

Literatur

- Ballou M. E., Mueller M. K., Dowling-Guyer S. (2020) Aging equines: Understanding the experience of caring for a geriatric horse with a chronic condition. *J. Equine Vet. Sci.* 90, 102993; DOI 10.1016/j.jevs.2020.102993
- Bartol J. (2013) Is Lyme disease overdiagnosed in horses? *Equine Vet. J.* 45, 529–530; DOI 10.1111/evj.12122
- Brosnahan M. M., Paradis M. R. (2003) Demographic and clinical characteristics of geriatric horses: 467 cases (1989–1999). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 223, 93–98; DOI 10.2460/javma.2003.223.93
- Browning A., Carter S. D., Barnes A., May C., Bennett D. (1993) Lameness associated with *Borrelia burgdorferi* infection in the horse. *Vet. Rec.* 132, 610–611
- Burgess E., Gendron-Fitzpatrick A. (Hrsg.) (1990) Experimental infection of equines with *Borrelia burgdorferi*. Lyme Borreliosis 1990, Stockholm (Sweden), 18–21 Jun 1990
- Burgess E. C. (1988) *Borrelia burgdorferi* infection in Wisconsin Horses and Cows. *Ann. NY Acad. Sci.*, 235–243
- Burgess E. C., Gendron-Fitzpatrick A., Mattison M. (1988) Foal mortality associated with natural infection of pregnant mares with *Borrelia burgdorferi*. *Equine Infectious Diseases V. Proceedings of the Fifth International Conference*. University Press of Kentucky, Lexington, 217–220
- Burgess E. C., Gillette D., Pickett J. P. (1986) Arthritis and panuveitis as manifestations of *Borrelia burgdorferi* infection in a Wisconsin pony. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 189, 1340–1342
- Burgess E. C., Mattison M. (1987) Encephalitis associated with *Borrelia burgdorferi* infection in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 191, 1457–1458
- Butler C. M., Houwers D. J., Jongejan F., van der Kolk, J. H. (2005) *Borrelia burgdorferi* infections with special reference to horses. *A review. Vet Q* 27, 146–156; DOI 10.1080/01652176.2002.9695196
- Chang Y.-F., McDonough S. P., Chang C.-F., Shin K.-S., Yen W., Divers T. J. (2000) Human Granulocytic Ehrlichiosis agent infection in a pony vaccinated with a *Borrelia burgdorferi* recombinant OspA vaccine and challenged by exposure to naturally infected ticks. *Clin. Vaccine Immunol.* 7, 68–71; DOI 10.1128/CDLI.7.1.68-71.2000
- Cohen D., Bosler E. M., Bernard W., Meirs II. D., Eisner R., Schulze T. L. (1988) Epidemiologic studies of Lyme disease in horses and their public health significance. *Ann. NY Acad. Sci.* 539, 244–257
- Cohen N. D., Heck F. C., Heim B., Flad D. M., Bosler E. M., Cohen D. (1992) Seroprevalence of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in a population of horses in central Texas. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201, 1030–1034
- Craft J. E., Grodzicki R. L., Shrestha M., Fischer D. K., Garcia-Blanco M., Steere A. C. (1984) The antibody response in Lyme disease. *Yale J. Biol. Med.* 57, 561–565
- Davis J. L., Salmon J. H., Papich M. G. (2006) Pharmacokinetics and tissue distribution of doxycycline after oral administration of single and multiple doses in horses. *Am. J. Vet. Res.* 67, 310–316; DOI 10.2460/ajvr.67.2.310
- DeVilbiss B. A., Mohammed H. O., Divers T. J. (2009) Perception of equine practitioners regarding the occurrence of selected equine neurologic diseases in the Northeast over a 10-year period. *J. Equine Vet. Sci.* 29, 237–246; DOI 10.1016/j.jevs.2009.03.002
- Divers T. J. (2013) Equine Lyme disease. *J. Equine Vet. Sci.* 33, 488–492; DOI 10.1016/j.jevs.2013.03.187
- Divers T. J., Gardner R. B., Madigan J. E., Witosky S. G., Bertone J. J., Swinebroad E. L., Schutzer S. E., Johnson A. L. (2018) *Borrelia burgdorferi* infection and Lyme Disease in North American horses: a consensus statement. *J. Vet. Intern. Med.* 32, 617–632; DOI 10.1111/jvim.15042
- 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. *Prev. Vet. Med.* 49, 191–208; DOI 10.1016/S0167-5877(01)00187-8
- Eisner R., Meirs D., Ralston S. (1994) Lack of correlation between exposure to Lyme disease (*Borrelia burgdorferi*) and pregnancy loss in mares. *J. Equine Vet. Sci.* 14, 102–105
- Frey A. B., Rao T. D. (1995) Single exposure of mice to *Borrelia burgdorferi* elicits Immunoglobulin G antibodies characteristic of secondary immune response without production of Interleukin-4 by immune T cells. *Infect. Immun.* 63, 2596–2603
- Gerhards H., Wollanke B. (1996) Antibody titers against *Borrelia* in horses in serum and in eyes and occurrence of equine recurrent uveitis. *Berl. Munch. Tierärztl. Wochenschr.* 109, 273–278
- Gribble D. H. (1969) Equine ehrlichiosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 155, 462–469
- Hahn C. N., Mayhew I. G., Whitwell K. E., Smith K. C., Carey D., Carter S. D., Read R. A. (1996) A possible case of Lyme borreliosis in a horse in the UK. *Equine Vet. J.* 28, 84–88; DOI 10.1111/j.2042-3306.1996.tb01595.x
- Imai D. M., Barr B. C., Daft B., Bertone J. J., Feng S., Hodzic E., Johnston J. M., Olsen K. J., Barthold S. W. (2011) Lyme neuroborreliosis in 2 horses. *Vet. Pathol.* 48, 1151–1157; DOI 10.1177/0300985811398246
- James F. M., Engiles J. B., Beech J. (2010) Meningitis, cranial neuritis, and radiculoneuritis associated with *Borrelia burgdorferi* infection in a horse. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 237, 1180–1185
- Johnstone L. K., Engiles J. B., Aceto H., Buechner-Maxwell V., Divers T. J., Gardner R. B., Levine R., Scherrer N., Tewari D., Tomlinson J., Johnson A. L. (2016) Retrospective evaluation of horses diagnosed with neuroborreliosis on postmortem examination: 16 Cases (2004–2015). *J. Vet. Intern. Med.* 30, 1305–1312; DOI 10.1111/jvim.14369
- Krupka I., Bechtel M., Loehnert-Thiel U., Eppendorf R., Straubinger R. K. (2012) Borreliose: Möglichkeiten und Perspektiven der Diagnostik. *Leipziger Blaue Hefte*, 319
- Liebisch G., Assmann G., Liebisch A. (1999) Infektion mit *Borrelia burgdorferi* s.l. als Krankheitsursache der Lyme-Borreliose bei Pferden in Deutschland. *Prakt. Tierarztl.* 80, 498–516
- Madigan J. E., Pusterla N. (2000) Ehrlichial diseases. *Vet Clin North Am Equine Pract* 16, 487–499
- Magnarelli L. A., Anderson J. F., Shaw E., Post J. E., Palka F. C. (1988) Borreliosis in equids in northeastern United States. *Am. J. Vet. Res.* 49, 359–362
- 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. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 217, 1045–1050
- Manion T. B., Bushmich S. L., Khan M., Dinger J., Werner H., Mittel L., Laurendeau M., Reilly M. (2001) Suspected clinical Lyme disease in horses: Serological and antigen testing differences between clinically ill and clinically normal horses from an endemic region. *J. Equine Vet. Sci.* 21, 229–234
- 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. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 224, 1964–1966
- Passamonti F., Veronesi F., Cappelli K., Capomaccio S., Reginato A., Miglio A., Vardi D. M., Stefanetti V., Coletti M., Bazzica C., Pepe M. (2015) Polysynovitis in a horse due to *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection. Case study. *Ann. Agric. Environ. Med.* 22, 247–250; DOI 10.5604/12321966.1152074
- Priest H. L., Irby N. L., Schlafer D. H., Divers T. J., Wagner B., Glaser A. L., Chang Y.-F., Smith M. C. (2012) Diagnosis of *Borrelia*-associated uveitis in two horses. *Vet. Ophthalmol.* 15, 398–405; DOI 10.1111/j.1463-5224.2012.01000.x

- Pusterla N., Madigan J. E. (2014) *Anaplasma phagocytophilum* infection. In: Sellon D. C., Long M. T. (Hrsg.): Equine Infectious Diseases. Saunders, Philadelphia, USA, 344–347
- Reed S. M., Bayly W. M., Sellon D. C. (Hrsg.) (2017) Equine Internal Medicine, 4. Aufl. Saunders, Philadelphia, USA
- Salinas-Meléndez J. A., Galván de la Garza, S., Riojas-Valdés V. M., Wong González A., Ávalos-Ramírez R. (2001) Antibody detection against *Borrelia burgdorferi* in horses located in the suburban areas of Monterrey, Nuevo León. Rev. Latinoam. Microbiol. 43, 161–164
- Schönert S., Gall Y., Grabner A. (2008) Lyme-Borreliose beim Pferd - Vergleichende Diagnostik und Fallbeispiel eines Ponys mit Meningitis. Tierärztl. Prax. 36, S49-S53
- 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
- Sears K. P., Divers T. J., Neff R. T., Miller W. H., Jr. und McDonough S. P. (2012) A case of *Borrelia*-associated cutaneous pseudolymphoma in a horse. Vet. Dermatol. 23, 153–156; DOI 10.1111/j.1365-3164.2011.01013.x
- Sommerauer S., Blohm K.-O., Spergser J., Buchner H. H. F. (2019) Arthritis, panuveitis and hyperaesthesia associated with *Borrelia afzelii* infection in a warmblood gelding. Vet. Rec. Case Rep 7; DOI 10.1136/vetreccr-2019-000911
- Sorensen K., Neely D., Grappell P., Read W. (1990) Lyme disease antibodies in Thoroughbred broodmares. Correlation to Early Pregnancy Failure. J. Equine Vet. Sci. 10, 166–168
- Straubinger R. K. (2017) „Nicht jede unerklärbare Lahmheit ist eine Borreliose“. ps.interview mit Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger. Pferdespiegel 20, 15–17; DOI 10.1055/s-0042-118824
- Venner M., Deegen E. (1996) Interpretation von *Borrelia burgdorferi* Antikörpertitern beim Pferd unter Berücksichtigung der Kenntnisse zur Borreliose beim Menschen - eine Literaturübersicht. Pferdeheilkunde - Equine Medicine 12, 865–873
- Wacholder S., Silverman D. T., McLaughlin J. K., Mandel J. S. (1992) Selection of controls in case-control studies. III. Design options. Asian Am. J. Psychol. 135, 1029–1040
- Wagner B., Glaser A., Bartol J., Mahar O., Johnson A., Divers T. J. (2011) A new sensitive Lyme Multiplex Assay to confirm neuroborreliosis in horses. A Case Report. AAEP Proceedings 57, 70–75
- Welsh C. E., Duz M., Parkin T. D. H., Marshall J. F. (2016) Prevalence, survival analysis and multimorbidity of chronic diseases in the general veterinarian-attended horse population of the UK. Prev. Vet. Med. 131, 137–145; DOI 10.1016/j.prevetmed.2016.07.011
- Yu L. P. Jr., Smith R. P. Jr., Brandt K. D., Myers S. L., O'Connor B. L., Brandt D. A. (1992) Reduction of the severity of canine osteoarthritis by prophylactic treatment with oral doxycycline. Arthritis & Rheumatism 35, 1150–1159
- Zöller L., Burkard S., Schäfer H. (1991) Validity of western immunoblot band patterns in the serodiagnosis of Lyme borreliosis. J Clin. Microbiol. 29, 174–182
- Zöller L., Haude M., Hassler D., Burkard S., Sonntag H. G. (1989) Spontaneous and post-treatment antibody kinetics in late Lyme borreliosis. Serodiagnosis and Immunotherapy in Infectious Disease 3, 345–353; DOI 10.1016/0888-0786(89)90043-7