

Aus dem Department/Universitätsklinik für Kleintiere und Pferde

Klinische Abteilung für Interne Medizin Pferde

(Leiterin: Univ.Prof. Dr.med.vet. Jessika-M. Cavalleri)

und

dem Department für Pathobiologie

der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Institut für Parasitologie

(Leiterin: Univ.Prof. Dr.med.vet. Anja Joachim)

## **Equine Granulozytäre Anaplasiose in Österreich – retrospektive Fallanalysen und Literaturstudie**

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von

Melanie Rauchegger

Wien, im Februar 2022

Betreuerinnen: Dr.med.vet. Sonja Berger

Klinische Abteilung für Interne Medizin Pferde

Universitätsklinik für Pferde

Department/Universitätsklinik für Kleintiere und Pferde

Veterinärmedizinische Universität Wien

und

Univ.Prof. Dr.med.vet. Anja Joachim

Institut für Parasitologie

Department für Pathobiologie

Veterinärmedizinische Universität Wien

BegutachterIn:

## INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG .....	1
1.1.	MOTIVATION UND FRAGESTELLUNG .....	1
2.	LITERATURÜBERSICHT .....	2
2.1.	ÄTIOLOGIE DER EQUINEN GRANULOZYTÄREN ANAPLASMOSE .....	2
2.1.1.	Taxonomie .....	2
2.1.2.	Morphologie .....	3
2.2.	EPIDEMIOLOGIE .....	4
2.3.	ÜBERTRAGUNG .....	6
2.3.2.	Saisonalität .....	7
2.3.3.	Hauptvektor <i>Ixodes ricinus</i> .....	7
2.3.4.	Wirte .....	23
2.3.5.	Reservoir .....	24
2.4.	PATHOGENESE .....	25
2.4.1.	Ausbreitung im Wirt .....	25
2.4.2.	Mechanismen auf zellulärer Ebene .....	26
2.4.3.	Mechanismen auf Organebene .....	28
2.5.	KLINIK .....	28
2.5.1.	Klinische Symptome .....	28
2.5.2.	Labordiagnostische Befunde .....	32
2.5.3.	Pathologie .....	33
2.5.4.	Diagnostik .....	34
2.5.5.	Differentialdiagnosen .....	42
2.6.	THERAPIE UND PROPHYLAXE .....	42
2.6.1.	Antibiotika .....	42
2.6.2.	Unterstützende Therapie .....	45
2.6.3.	Prophylaxe .....	45
2.7.	PERSISTENZ UND IMMUNITÄTSBILDUNG .....	47

2.7.1.	Persistenz .....	47
2.7.2.	Immunität .....	48
3.	TIERE, MATERIAL UND METHODIK .....	49
3.1.	LITERATURRECHERCHE .....	49
3.2.	PATIENTENDATEN, UNTERSUCHUNGSZEITRAUM.....	49
3.3.	UNTERSUCHUNGSMETHODIK.....	49
3.4.	STATISTIK.....	51
4.	ERGEBNISSE.....	52
4.1.	ERREGERNACHWEIS.....	52
4.2.	NATIONALE UND ANAMNESE.....	53
4.3.	AUFENTHALTSDAUER UND JAHRESZEIT.....	55
4.4.	KLINISCHE SYMPTOME .....	56
4.5.	BLUTBILD UND BLUTCHEMIE.....	58
4.6.	THERAPIE .....	68
4.7.	VERLAUF .....	69
5.	DISKUSSION.....	70
5.1.	ERREGERNACHWEIS.....	70
5.2.	ERFASSTE STUDIENPOPULATION.....	71
5.3.	SYMPTOME UND VERLAUF .....	72
5.4.	BLUTBEFUNDE .....	74
5.5.	THERAPIE .....	76
5.6.	SCHLUSSFOLGERUNGEN UND AUSBLICK.....	78
6.	ZUSAMMENFASSUNG.....	79
7.	SUMMARY.....	81
8.	LITERATURVERZEICHNIS.....	83
9.	ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS.....	115

## Abkürzungen

<i>A. phagocytophilum</i>	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>
Abb.	Abbildung
Ak	Antikörper
<i>B.</i>	<i>Babesia</i>
BMMCs	Bone marrow-derived mast cells
DNA	Desoxyribonukleinsäure
<i>E. equi</i>	<i>Ehrlichia equi</i>
EGA	Equine Granulozytäre Anaplasrose
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FSME	Frühsommer-Meningoenzephalitis
HGA	Humane Granulozytäre Anaplasrose
<i>I.</i>	<i>Ixodes</i>
Ig	Immunglobulin
IIFT	Indirekter Immunfluoreszenztest
IL	Interleukin
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
LMI	Leukozytenmigration-Inhibition
LPS	Lipopolysaccharide
PCR	Polymerasekettenreaktion
p.o.	per os
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
sp.	<i>species singularis</i>
Tab.	Tabelle
TBF	Tick-borne fever
TNF	Tumornekrosefaktor
VUW	Veterinärmedizinische Universität Wien
ZAMG	Zentralanstalt für Meteorologie und Geodynamik

## 1. Einleitung

### 1.1. Motivation und Fragestellung

Die Equine Granulozytäre Anaplasiose (EGA) ist eine durch das intrazelluläre Bakterium *Anaplasma phagocytophilum* verursachte fieberhafte Erkrankung bei Pferden (Gribble, 1969). Sie gehört neben der Piroplasmose und der Borreliose zu den saisonal auftretenden, von Zecken übertragenen Erkrankungen, die beim Pferd zunehmend an Bedeutung gewinnen (Grenager, 2013; Saleem et al., 2018a). In der wissenschaftlichen Literatur wird ein Anstieg dieser zeckenassoziierten Krankheiten, vor allem im Zusammenhang mit klimatischen Veränderungen, häufig diskutiert. Ein milderes Klima kann es Zecken ermöglichen, ihre Aktivitätsphase zu verlängern und sich in neuen bisher nicht endemischen Regionen zu etablieren. Damit steigt auch das Risiko für die befallenen Wirte, an sogenannten „tick-borne diseases“ zu erkranken. Diese Entwicklung zeigt sich laut aktueller Literatur in vielen verschiedenen Ländern der Welt. Auch in Mitteleuropa scheint sich mit der Ausbreitung und Häufung von *Ixodes ricinus*, dem Vektor von *A. phagocytophilum*, das Auftreten der EGA zu häufen (Medlock et al., 2013; Saleem et al., 2018a).

Diese retrospektive Arbeit befasste sich mit der Zusammenfassung und vergleichenden Darstellung der auf der Veterinärmedizinischen Universität Wien (VUW) über 17 Jahre, seit der Etablierung des Tierspitalinformationssystems (TIS), aufgezeichneten EGA-Fällen und der aktuellen Literatur zu diesem Thema. Das Ziel dieser Arbeit war es, anhand der an der VUW bisher diagnostizierten Fälle das Vorkommen und die Bedeutung dieser Infektion für Pferde in Österreich darzustellen. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass die EGA in Österreich regelmäßig vorkommt und als Krankheitserreger berücksichtigt werden sollte.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Ätiologie der Equinen Granulozytären Anaplasmosse

#### 2.1.1. Taxonomie

Der Erreger der Equinen Granulozytären Anaplasmosse, früher auch Equine Granulozytäre Ehrlichiose genannt, ist ein obligat intrazelluläres Bakterium, welches von Zecken übertragen wird und als *Anaplasma phagocytophilum* bekannt ist (früher *Ehrlichia (E.) equi*). Es gehört seit der taxonomischen Neuordnung der Rickettsien durch DUMLER et al. (2001) zur Ordnung der *Rickettsiales* und ist in der Familie *Anaplasmataceae* einzuordnen. Diese Familie umfasst die vier Genera *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Neorickettsia* und *Wolbachia* (Dumler et al., 2001; Selbitz et al., 2015).

Anaplasmataceae parasitieren hauptsächlich in Zellen des Blutes. Durch ihren sehr spezifischen Zelltropismus unterscheiden sich die einzelnen Genera voneinander. Die Vertreter der Gattung *Ehrlichia* infizieren hauptsächlich Monozyten und Makrophagen. Ausnahmen bilden dabei *E. ewingii* und *E. ruminantium* (früher *Cowdria ruminatum*), da sie nur neutrophile Granulozyten und Gefäßendothelzellen befallen. *Anaplasma*-Arten hingegen befallen Granulozyten, Thrombozyten, Erythrozyten oder Endothelzellen. Die Gattung *Neorickettsia* infiziert speziell Monozyten und Makrophagen (Dumler et al., 2001; Rikihisa, 1991).

In der Familie *Anaplasmataceae* gibt es zwei Erreger, die als pferdepathogen gelten, *A. phagocytophilum* als Erreger der EGA und *Neorickettsia risticii* (früher *Ehrlichia risticii*) als Auslöser des Potomac horse fevers, das früher auch als equine monozytäre Ehrlichiose bezeichnet wurde (Dumler et al., 2001; Holland et al., 1985; Madigan & Pusterla, 2000; Rikihisa, 1991).

Die früheren getrennt beschriebenen Erreger *Ehrlichia phagocytophila*, Erreger des Zeckenbissfiebers („tick-borne fever“) bei den Wiederkäuern (Foggie, 1951; Gordon et al., 1932, 1940), *Ehrlichia equi* (Gribble, 1969) und das Agens der humanen granulozytären Ehrlichiose (HGE) (Bakken et al., 1994; Chen et al., 1994) werden heute unter der Spezies *A. phagocytophilum* zusammengefasst (Dumler et al., 2001). Weitere Vertreter des Genus *Anaplasma* sind (*Anaplasma bovis* (früher *Ehrlichia bovis*) und *Anaplasma platys* (früher: *Ehrlichia platys*) (Dumler et al., 2001).

DUMLER et al. (2001) führte die Neuordnung aufgrund molekularer und phylogenetischer Ähnlichkeiten durch, die sich besser zur Einteilung und Charakterisierung auf familiärer Ebene eigneten als die bisherige Einordnung, die auf subjektiven klinischen und phänotypischen Parametern basierte. Als molekulare Grundlage für ein auf Genetik basierendes taxonomisches Klassifikationssystem wurden Sequenzierungen des 16S rRNA-Gens und des groESL Hitzeschock-Operons der betrachteten Bakterien durchgeführt (Dumler et al., 2001; Polin et al., 2004). Des Weiteren wurden objektive phänotypische Charakteristika, wie zum Beispiel Analysen der Aminosäure- oder Nukleotidsequenz des Außenmembranproteingens, antigenetische Analysen, biologische Charakteristika wie Wirtszelltyp und potentielle Vektoren für die Einteilung herangezogen (Dumler et al., 2001).

*Ehrlichia phagocytophila*, *E. equi* und der Erreger der HGE zeigen eine Ähnlichkeit von mindestens 99,1% in ihrem 16S rRNA Gen und weisen in dieser Gensequenz nur maximal drei Basen Abweichungen auf. Sie lösen in den verschiedenen Säugetierwirten ähnliche klinische Symptomatik aus. Deshalb werden sie als einzelne Varianten oder Stämme von *A. phagocytophilum* angeführt (Dumler et al., 2001).

### 2.1.2. Morphologie

Als Vertreter der Ordnung *Rickettsiales* sind Anaplasmen gramnegative, intrazelluläre, unbewegliche, kleine, meist pleomorphe, kokkoide bis ellipsoide Bakterien. Die Größe der Bakterien kann von 0,2 µm bis 5 µm im Durchmesser variieren (Gribble, 1969; Selbitz et al., 2015).

Sie parasitieren einzeln oder öfters kompakt als sogenannte Morulae in membranumhüllten zytoplasmatischen Vakuolen der eukaryotischen Wirtszelle. Im Unterschied zur zweiten Familie innerhalb der *Rickettsiales*, den *Rickettsiaceae*, die aus den zwei Genera *Rickettsia* und *Orientia* besteht, vermehren sich die *Anaplasmataceae* in der Wirtszelle nur in Vakuolen und nicht frei im Zytoplasma oder im Nucleus. Die Vermehrung findet dabei intrazellulär durch Zweiteilung statt. Als Initialkörper werden einzelne Anaplasmenzellen bezeichnet, die sich dann durch intrazelluläre Teilung in der Wirtszelle in die sogenannten Elementarkörper verwandeln, welche wiederum aus mehreren Zellen bestehen. Diese Einschlusskörperchen (Morulae) von Anaplasmen werden in reifen oder unreifen hämatopoetischen Zellen vor allem der myeloiden Zellreihe, einschließlich neutrophiler und eosinophiler Granulozyten, sowie Endothelzellen und Erythrozyten von Vertebraten und Zellen von Arthropoden gebildet. Dabei

können Arthropoden sowohl als Vektoren als auch als primäre Wirte agieren (Gribble, 1969; Selbitz et al., 2015).

Die Morulae von *A. phagocytophilum* in eosinophilen und neutrophilen Granulozyten lassen sich mit Hilfe verschiedener Färbemethoden, wie Giemsa-, Romanowsky-, Wright-Leishman- oder Diff-Quick-Färbung, im Blutausstrich anfärben. Sie stellen sich dabei als dunkelviolette, runde Pünktchen im Zytoplasma der neutrophilen Granulozyten dar (Abb. 1) (Dumler et al., 2001; Gribble, 1969; Rikihisa, 1991; Selbitz et al., 2015).

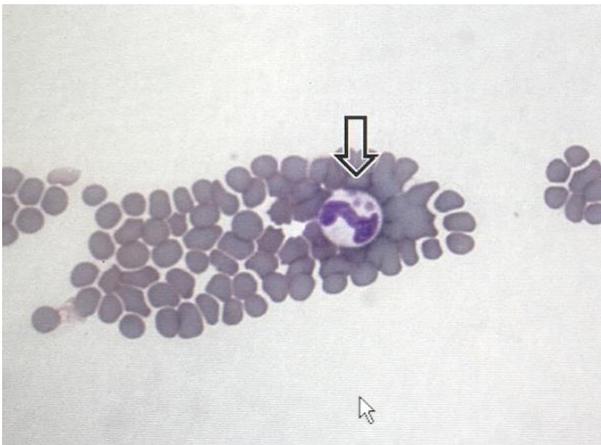


Abbildung 1: *A. phagocytophilum* Morulae in einem neutrophilen Granulozyten (Pfeil) (Copyright: Plattform Labordiagnostik, VetMedUni Vienna)

## 2.2. Epidemiologie

Die EGA wurde erstmals 1969 im amerikanischen Bundestaat Kalifornien beschrieben (Gribble, 1969; Stannard et al., 1969). Sie ist eine saisonale, endemisch auftretende Krankheit und kommt in unterschiedlichsten Ländern rund um den Globus vor (Abb. 2). Bis jetzt sind besonders Nordamerika und weite Teile Europas betroffen (Saleem et al., 2018a).

In den USA wurden weitere Fälle unter anderem in Kalifornien (Madigan & Gribble, 1987), Florida (Brewer et al., 1984), Colorado (Madigan, 1993), New Jersey (Ziemer et al., 1987), Connecticut (Madigan et al., 1996) beschrieben. Die Erkrankung gilt entsprechend als endemisch in manchen Gebieten der USA, während sie in anderen gar nicht vorkommt (Madigan et al., 1990).

Einige Jahre nach dem Auftreten der Krankheit in Amerika kam es auch zu Erstbeschreibungen von EGA in Europa, wie in Deutschland (Büscher et al., 1984), der

Schweiz (Hermann et al., 1985), Schweden (Bjöersdorff et al., 1990), Großbritannien (Korbutiak & Schneiders, 1994), Dänemark (Eriksen et al., 1997), Österreich (Fröhlich & Edelhofer, 1998), Frankreich (Bermann et al., 2002), Italien (Lillini et al., 2006), Holland (Butler et al., 2008), Polen (Adaszek et al., 2009), Tschechien (Jahn et al., 2010) und vor kurzem auch in Kroatien (Gotić et al., 2017). Basierend auf molekularen Detektionsmethoden von *A. phagocytophilum* in Zecken scheint *A. phagocytophilum* in allen Ländern Europas vorzukommen (Stuen, et al., 2013a). Außerdem wurde auch in Asien (Chan et al., 2010; Saleem et al., 2018b), Afrika (M'ghirbi et al., 2012), Südamerika (Salvagni et al., 2010; Teglas et al., 2006) und im Nahen Osten (Levi et al., 2006) davon berichtet (Abb. 1).

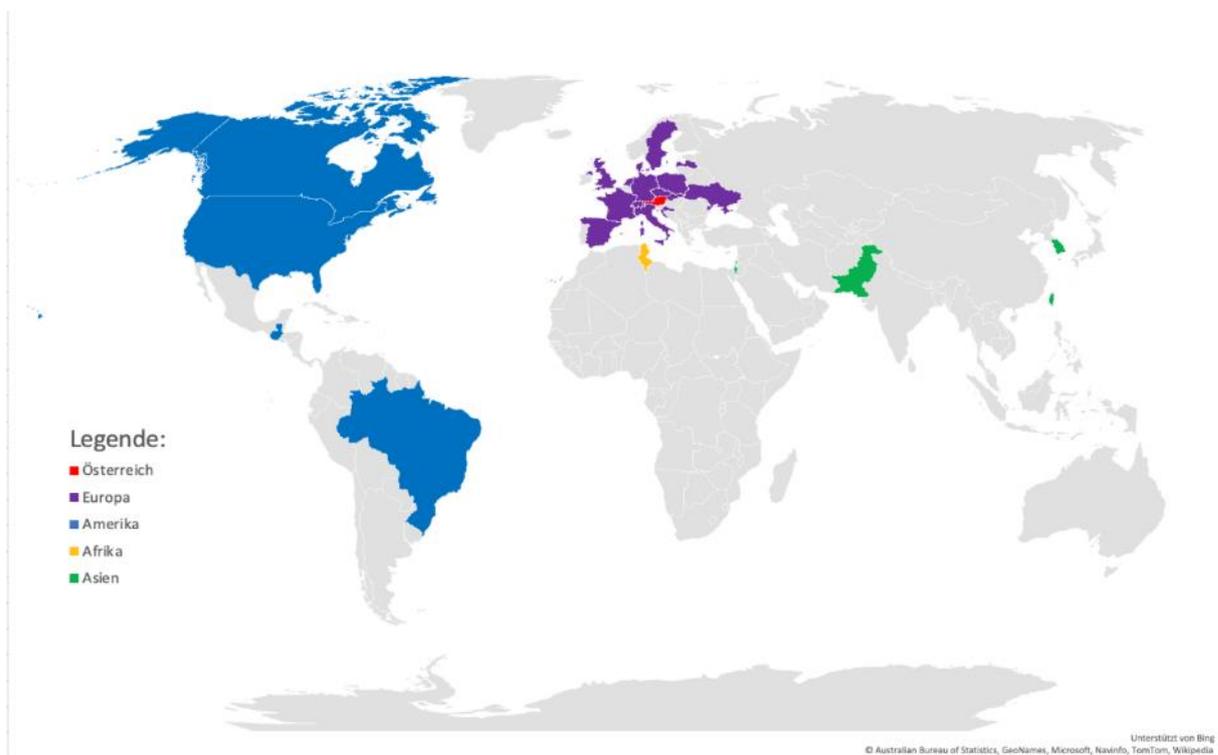


Abbildung 2: Darstellung weltweit beschriebener Fälle von EGA im Zeitraum von 1990-2018. Zu den Literaturangaben s. Text (Copyright: M. Rauchegger).

Die Verbreitung der EGA ist vor allem an passende Habitate für die Vektoren und Wirte gebunden. Als Vektoren gelten je nach Kontinent verschiedene Vertreter der Zeckengattung *Ixodes* (Stuen et al., 2013a; Woldehiwet, 2010). In Folge der voranschreitenden Klimaerwärmung vergrößern sich die Verbreitungsgebiete von Zecken sowie auch der Aktivitätszeitraum, in dem die Krankheitsübertragung stattfindet. Dadurch kommt es zu einer

Weiterverbreitung von Zecken übertragenen Krankheiten in bisher noch nicht betroffene Gebiete (Gray et al., 2009; Medlock et al., 2013).

### 2.3. Übertragung

Die EGA ist eine nicht kontagiöse Erkrankung, sie kann nicht direkt von Pferd zu Pferd übertragen werden und tritt häufig nur bei Einzeltieren innerhalb einer Herde auf. Es wird ein Vektor benötigt, um die Krankheit zu übertragen. Als Vektoren fungieren Zecken (Madigan et al., 1990; Madigan & Gribble, 1987).

Experimentell ließen sich Anaplasmen nur über intravenöse Applikation von Blut oder Organ-Homogenaten übertragen (Lewis, 1976). Zur Übertragung von EGA genügten schon 20 ml Blut eines akut infizierten Pferdes aus, wobei das Blut in der Rekonvaleszenzphase als nicht-infektiös gilt (Madigan & Gribble, 1987; Nyindo et al., 1978; Pusterla & Madigan, 2013b). Dabei ließ sich EGA nicht nur durch den Transfer von infiziertem Pferdeblut hervorrufen, sondern auch durch die Applikation von menschlichem Blut mit HGA infizierter Patienten. Dadurch wurde bei den Pferden ein Krankheitsbild ausgelöst, welches klinisch dem der EGA entsprach. Dies ließ bereits früher vermuten, dass die Erreger der beiden Erkrankungen sehr ähnlich, wenn nicht sogar identisch sind. Außerdem entwickelten die infizierten Pferde nach Infektion mit HGA-Erregern auch einen Schutz gegen den EGA-Erreger (Barlough et al., 1995; Chang et al., 1998; Madigan et al., 1995).

Das HGA-Agens kann neben Pferden auch bei Hunden eine klinische Erkrankung auslösen (Pusterla et al., 2001).

Jene Variante von *A. phagocytophilum*, die das „Tick-borne fever“ (TBF) in Wiederkäuern verursacht (früher *E. phagocytophila*), löste in Pferden wiederum keine klinische Symptomatik aus (Pusterla et al., 1998b). Auch andersherum, wenn das EGA-Agens (früher *E. equi*) Lämmern oder Rindern injiziert wurde, wurde keine klinische Erkrankung ausgelöst, obwohl beide Isolate zu einer Serokonversion führten (Pusterla et al., 2001; Stuenkel et al., 1998).

#### 2.3.1. Varianten

Es wird angenommen, dass *A. phagocytophilum* in verschiedenen Regionen der Welt in unterschiedlichen genetischen Varianten vorkommt. Diese Varianten unterscheiden sich in Bezug auf Pathogenität und Wirtsspezifität (Woldehiwet, 2010).

Es wurden bereits genetische Variationen von *A. phagocytophilum* in Zecken und Tieren basierend auf Amplifikation und anschließender Sequenzierung von 16rRNA-, groEL-, msp2-,

msp4- und dem ankA-Genen festgestellt. Jedoch konnten diese Varianten nicht bestimmten Wirtstieren oder geographischen Herkunftsgebieten zugeordnet werden (Alberti et al., 2005; De la Fuente et al., 2005a; Scharf et al., 2011; Silaghi et al., 2008, 2011a, 2011b; Von Loewenich et al., 2003). Deshalb wird angenommen, dass auch *A. phagocytophilum*, welches natürlicherweise Pferde infiziert und EGA auslöst, in genetischer Heterogenität vorliegt (Silaghi et al., 2011b; Woldehiwet, 2010).

In der Studie von Silaghi et al. (2011) wurde in Deutschland mehr als eine Variante von *A. phagocytophilum* in Pferden festgestellt. Es handelt sich dabei um jeweils vier verschiedene Varianten des partiellen 16S rRNA, groEL und msp2 Gens sowie drei Varianten des msp4 Gens. Die Variante, die am häufigsten EGA in Pferden verursachte, wies eine Ähnlichkeit von 100 % im amplifizierten Teil des partiellen 16S rRNA-Gens zur pathogenen Variante des Menschen auf. Die Hauptvariante des 16S rRNA-Gens, die Erkrankungen in Menschen, Pferde, sowie Hunden auslöst, ist etwa die B-Variante. Die A-Variante hingegen kommt am häufigsten in Zecken vor, jedoch löst sie keine Erkrankung in Pferden aus. Die amerikanische Variante Ap-V1 hingegen scheint apathogen zu sein und wurde bisher nicht in Hunden, Menschen oder Pferden nachgewiesen (Silaghi et al., 2008, 2011b).

### **2.3.2. Saisonalität**

Die Übertragung von *A. phagocytophilum* ist abhängig von den Aktivitätsphasen der Zecken. Somit tritt die Krankheit nur saisonal auf. In den USA treten Fälle von EGA gehäuft im späten Herbst über den Winter bis ins Frühjahr hinein auf (Madigan & Gribble, 1987). In Europa sind diese Aktivitätsphasen vor allem auf Frühling bis Herbst beschränkt. Mildere Winter und wärmere, feuchtere Sommer können zu einer Verlängerung der Aktivitätsphasen von *I. ricinus* führen und dadurch das Übertragungsrisiko von Krankheiten auf potentielle Wirte erhöhen (Gray et al., 2009).

### **2.3.3. Hauptvektor *Ixodes ricinus***

Da EGA nicht infektiös ist und *A. phagocytophilum* ein obligat intrazelluläres Bakterium ist, wird zur Weiterverbreitung des Bakteriums ein Vektor benötigt. Da Anaplasmen Zellen des Blutes befallen, werden sie unter natürlichen Bedingungen über blutsaugende Arthropoden übertragen (Rikihisa, 1991).

### 2.3.3.1. Allgemeines zu Schildzecken

Zecken haben große Vektorkapazität da sie als Hauptvektoren für eine Vielzahl von zoonotischen Erkrankungen weltweit gelten. Neben Bakterien können sie auch Viren, Protozoen und Nematoden, sowohl auf unterschiedliche Tiere als auch auf den Menschen speziesübergreifend übertragen. In Mitteleuropa steht vor allem das Virus der Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) im Vordergrund, aber auch Borrelien, Rickettsien, Ehrlichien, Anaplasmen und Babesien (Dantas-Torres et al., 2012; Estrada-Peña & Jongejan, 1999; Parola & Raoult, 2001).

Als Überträger von *A. phagocytophilum* gelten verschiedene Zeckenarten aus der Familie der Schildzecken (Ixodidae). Anaplasmen werden durch die Gattung *Ixodes* übertragen. Je nach Kontinent gibt es verschiedene Hauptvektoren (Dumler et al., 2001; Stuen, 2007; Stuen et al., 2013a; Woldehiwet, 2010). In Europa gilt *I. ricinus*, der gemeine Holzbock, als einziger nachgewiesener Vektor (Cińco et al., 1997; Guy et al., 1998; Oteo et al., 2001; Pusterla et al., 1999b; Schouls et al., 1999; Stuen, 2007). Im Vereinigten Königreich ist zusätzlich *Ixodes trianguliceps* als Vektor von *A. phagocytophilum* beschrieben (Ogden et al., 1998). In Nordamerika hingegen sind *Ixodes pacificus* im Westen und *Ixodes scapularis* im Osten die häufigsten Überträger (Barlough et al., 1996, 1997; Des Vignes et al., 1999; Levin & Fish, 2001; Pancholi et al., 1995; Rejmanek et al., 2011; Richter Jr et al., 1996; Teglas & Foley, 2006; Telford III et al., 1996). Zusätzlich zu den eben genannten Zecken kann auch *Ixodes spinipalpis* *A. phagocytophilum* in Nordamerika übertragen (Burkot et al., 2001; DeNatale et al., 2002; Zeidner et al., 2000). Des Weiteren gilt auch *Ixodes persulcatus* als Vektor, der vor allem in Osteuropa und im nördlichen Asien verbreitet ist (Alekseev et al., 2001b; Cao et al., 2000; Dumler et al., 2001; Woldehiwet, 2010).

Der Nachweis von DNA von *A. phagocytophilum* gelang darüber hinaus auch in anderen Zeckengattungen, wie *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Hyalomma* und *Haemaphysalis* (Abb. 3). Deren Vektorkompetenz ist jedoch nicht nachgewiesen. (Dziegiel et al., 2013; Paulauskas et al., 2012; Stuen et al., 2013a; Tomanović et al., 2013).

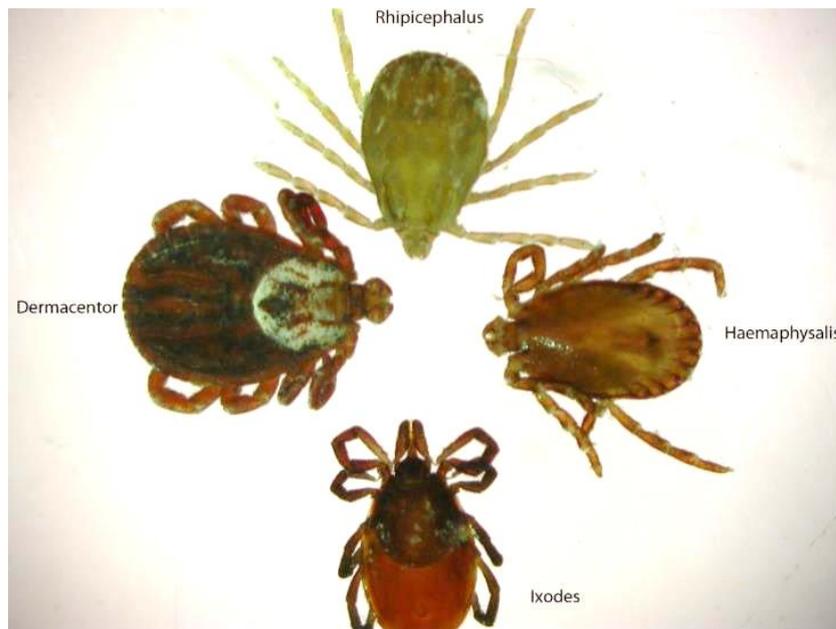


Abbildung 3: Darstellung ausgewählter Schildzecken: *Dermacentor* sp., *Rhipicephalus* sp., *Hyalomma* sp., *Haemaphysalis* sp. (Copyright: Institut für Parasitologie, Veterinärmedizinische Universität Wien).

Die Häufigkeit von *A. phagocytophilum* Infektionen in Zecken ist je nach Region sehr unterschiedlich. Laut Stuen et al. (2013) beträgt die durchschnittliche Prävalenz von *A. phagocytophilum* in *I. ricinus* in Europa von < 1 % bis etwa 20 % (Stuen et al., 2013a). In Österreich wurden auch mehrere Studien zur Prävalenz von *A. phagocytophilum* in *I. ricinus* durchgeführt. Die Studie von Sixl et al. (2003) zeigte eine Prävalenz von 5,1% in 235 Zecken, welche in den Jahren 2000-2001 gesammelt wurden (Sixl et al., 2003). Eine Prävalenz von 8,7% zeigte sich in der Studie von Polin et al. (2004) mit insgesamt 880 Zecken. In beiden Studien wurden zur Detektion von *A. phagocytophilum* in den Zecken PCR-Methoden verwendet (Polin et al., 2004; Sixl et al., 2003).

Da das Hauptaugenmerk dieser Arbeit auf dem Überträger der EGA in Europa bzw. Österreich liegt, wird im folgenden Abschnitt genauer auf den häufigsten Vektor in diesem Gebiet, den gemeinen Holzbock (*I. ricinus*), eingegangen (Stuen, 2013a).

### 2.3.3.2. Taxonomie

*Ixodes ricinus* gehört zur Ordnung der Metastigmata (Ixodida, Zecken) der Klasse der Spinnentiere (Arachnidae) und ist ein wichtiger Vertreter der Unterklasse der Milben (Acari). Die Metastigmata sind obligat blutsaugende Arthropoden und werden in drei Familien

eingeteilt, die Ixodidae (Schildzecken), die Argasidae (Lederzecken) und die Nuttalliellidae. Letztere stellt eine Übergangsform zwischen Schild- und Lederzecken dar und beinhaltet nur eine bekannte Spezies (Dantas-Torres et al., 2012; Deplazes et al., 2021; Guglielmone et al., 2020; Latif et al., 2012; Lucius et al., 2017).

Insgesamt gibt es weltweit etwa 900 verschiedene Zeckenarten (Guglielmone et al., 2010, 2020; Lucius et al., 2017). Die Gattung *Ixodes* stellt die größte Zeckengattung dar und umfasst 246 Arten, welche weltweit vorkommen, wobei in Mitteleuropa 15 Arten vertreten sind. Die bedeutendste und häufigste davon ist *I. ricinus* (Deplazes et al., 2021; Guglielmone et al., 2020; Lucius et al., 2017).

### **2.3.3.3. Morphologie**

Die Zecken weisen wie alle Acari einen ungegliederten, ovalen Körper (Idiosoma) auf, welcher im nüchternen Zustand dorsoventral abgeflacht ist (Deplazes et al., 2021). Larven besitzen sechs Beine, Adulte und Nymphen hingegen acht. Die Schildzecken besitzen, wie ihr Name sagt, einen dorsal gelegenen Rückenschild (Scutum) aus hartem Chitin, der in allen Entwicklungsstadien in unterschiedlicher Größe vorhanden ist und beim Saugakt nicht gedehnt wird. Das sogenannte Alloscutum beschreibt den Teil der Dorsalfläche, welcher nicht vom Scutum bedeckt wird und beim Saugakt auf ein Vielfaches seiner eigentlichen Größe anschwellen kann (Deplazes et al., 2021; Hiepe et al., 2006; Mehlhorn & Piekarski, 2002).

Adulte Weibchen (Abb. 4) sind im nüchternen Zustand 3,0-3,6 mm lang und besitzen ein schwarzes Scutum und ein oranges Alloscutum. Sie können im vollgesogenen Zustand eine Größe von etwa 1 cm erreichen und sind dann von stahlblauer Farbe. Die adulten Männchen (Abb. 4) sind etwa 2,4-2,8 mm lang mit ebenfalls einem schwarzen Scutum, welches die gesamte Dorsalfläche bedeckt. Nüchterne Nymphen und Larven sind um einiges kleiner mit einer Größe von 1,3-1,5 mm bei den Nymphen und 0,5 mm bei den Larven. Sie besitzen beide ein kleines, schwarzes Scutum, sowie ein graues Alloscutum (Deplazes et al., 2021; Lucius et al., 2017).



Abbildung 4: *Ixodes*-Adulte: Weibchen (links), Männchen (rechts) (Copyright: Institut für Parasitologie, Veterinärmedizinische Universität Wien).

An den Tarsen (Abb. 5), welche das letzte Glied der Beine darstellen, befindet sich eine Doppelkralle mit gut ausgebildeten Haftlappen (Pulvillen), welche die Zecke dazu befähigen sich auch auf glatter Haut und vertikalen Flächen fortbewegen zu können (Deplazes et al., 2021; Lucius et al., 2017).

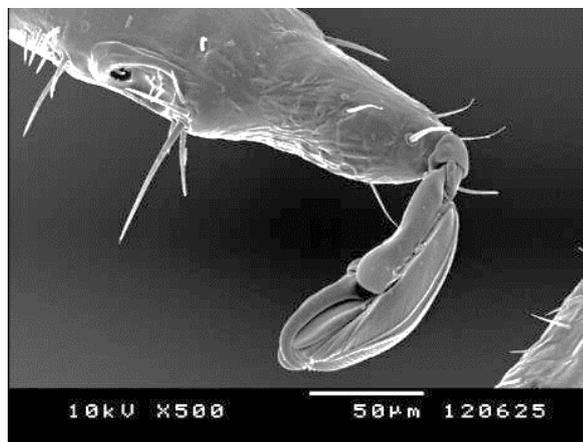


Abbildung 5: Elektronenmikroskopische Aufnahme des Tarsus einer *I. ricinus*-Nymphe (Copyright: Institut für Parasitologie, Veterinärmedizinische Universität Wien).

Ventral, meistens zwischen den Coxae des 2. Beinpaars liegend, befindet sich bei den adulten Weibchen und Männchen die Genitalöffnung (Porus genitalis) (Abb. 6). Der Anus, welcher von einer Analfurche umgeben wird, liegt ventral nahe dem kaudalen Rand des Hinterleibes (Opisthosoma) der Zecke. Der Verlauf jener Analfurche ist ein charakteristisches

taxonomisches Merkmal (Deplazes et al., 2021; Lucius et al., 2017; Mehlhorn & Piekarski, 2002; Sonenshine, 2014).

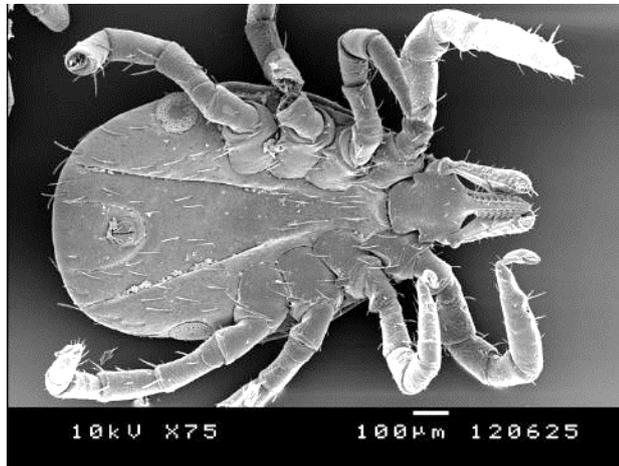


Abbildung 6: Elektronenmikroskopische Aufnahme einer *I. ricinus*-Nymphe von ventral (Copyright: Institut für Parasitologie, Veterinärmedizinische Universität Wien).

Eine einzigartige Struktur der Arthropoden ist das sogenannte Genésche-Organ. Es befindet sich bei weiblichen Zecken am proximalen Rand des Scutum. Die Funktion dieses Organs ist es, die Eier während der Eiablage mit einer Schutzschicht zu überziehen damit sie vor Austrocknung in der Umwelt geschützt sind (Lucius et al., 2017).

Vom restlichen Körper abgesetzt befindet sich kranial das Capitulum (Gnathosoma) (Abb. 7), welches den Kopf der Zecke bildet und aus der Basis capituli und den Mundwerkzeugen besteht. Zu den Mundwerkzeugen der Zecken gehören viergliedrige Palpen (Pedipalpen), die Cheliceren, sowie das Hypostom. Die Pedipalpen, welche auch Kiefertaster genannt werden, dienen mit ihren Sensillen vorwiegend der Orientierung an der Wirtsoberfläche. (Deplazes et al., 2021; Hiepe et al., 2006; Lucius et al., 2017; Mehlhorn & Piekarski, 2002; Sonenshine, 2014).

Die Cheliceren sind paarig angelegt und Teil des Stechapparates. Bei der Blutmahlzeit am Wirt werden die Cheliceren mit ihren scharfen, gezähnten Scheren (Chelae) am Vorderende in die Haut des Wirts eingestochen und wie eine Zugsäge vor- und zurückbewegt. Dadurch wird die Haut aufgeschnitten. Danach kommt ein weiterer Mundwerkzeug, das Hypostom, zum Einsatz. Es ist ein starrer, unbeweglicher Stechrüssel mit nach kaudal gerichteten Zähnen, welches ventral am Capitulum unter den Cheliceren liegt. Dieser Stechrüssel wird in den von den

Cheliceren aufgeschnittenen Bereich eingestochen, wo sich nun eine Lakune aus Blut, Lymph- und Zellflüssigkeit gebildet hat. Die am Hypostom und an den Cheliceren vorhandenen Zähne oder Haken dienen der festen Verankerung im Wirt. Somit ist die Zecke während des Saugaktes nur schwer vom Wirt zu lösen (Lucius et al., 2017; Richter et al., 2013).

Aufgrund des eben geschilderten Vorgangs ist die zutreffendere Bezeichnung „Zeckenstich“ gegenüber „Zeckenbiss“ zu bevorzugen (Deplazes et al., 2021).

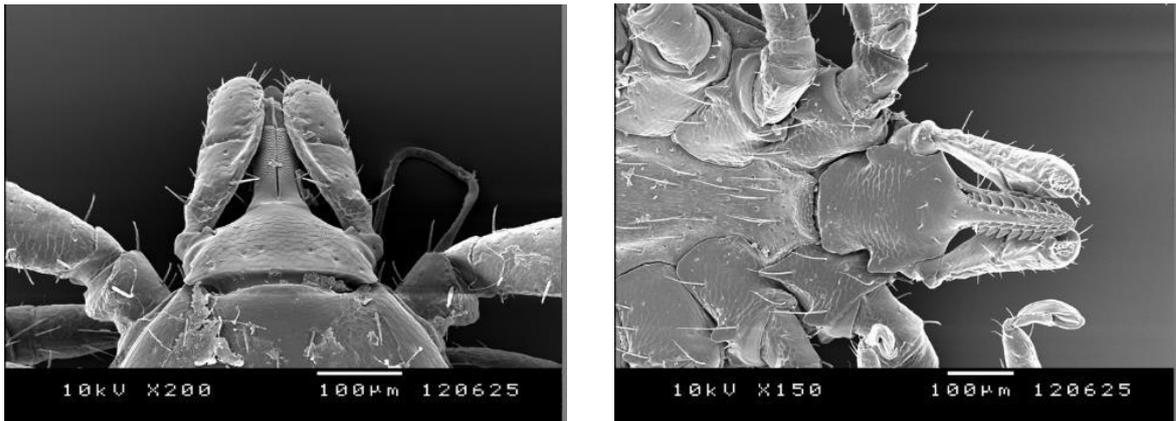


Abbildung 7: Elektronenmikroskopische Aufnahmen des Capitulum einer *I. ricinus*-Nymphe von dorsal (links) und von ventral (rechts) (Copyright: Institut für Parasitologie, Veterinärmedizinische Universität Wien).

Die hinter den Coxen den vierten Beinpaaren befindliche Stigmenplatte bildet den Eingang zum Atmungstrakt der Zecke. Es wird von einem dicht verzweigten Tracheensystem gebildet, welches nur bei Adulten und Nymphen vorhanden ist (Mehlhorn & Piekarski, 2002). Larven hingegen haben weder Stigmen noch ein Tracheensystem, da sie über die Haut atmen (Deplazes et al., 2021; Lucius et al., 2017).

#### 2.3.3.4. Wirtssuche

Schildzecken der Gattung *Ixodes* haben keine Augen, verfügen aber über Photosensillen, mit Hilfe derer sie Lichtintensitäten wahrnehmen können (Deplazes et al., 2021; Mehlhorn & Piekarski, 2002; Sonenshine, 2014).

Des Weiteren besitzen Zecken das Hallersche Organ (Abb. 8), ein einzigartiges Sinnesorgan der Zecken. Es befindet sich in den Tarsen des ersten Beinpaars und ist, sowohl bei allen wirtssuchenden Stadien (Adulten, Nymphen und Larven) angelegt und dient vor allem der Wirtsfindung. Es nimmt Informationen über vom Wirt ausgesendete Signale wie Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Duftstoffe auf (Lucius et al., 2017; Mehlhorn & Piekarski, 2002).

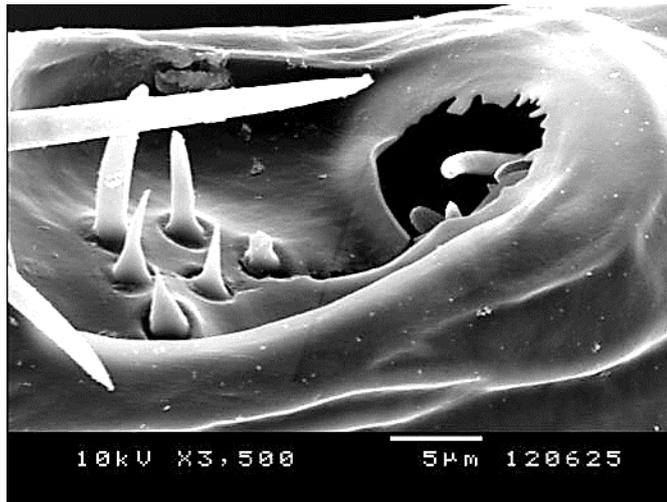


Abbildung 8: Elektronenmikroskopische Aufnahme des Hallerschen Organs einer *I. ricinus*-Nympe (Copyright: Institut für Parasitologie, Veterinärmedizinische Universität Wien).

### 2.3.3.5. Lebenszyklus

Zecken sind obligate, temporäre Ektoparasiten von landlebenden Vertebraten. Sie benötigen also für ihre Lebensweise einen Wirt, den sie zur Blutmahlzeit aufsuchen. Insgesamt verbringt die Zecke weniger als 10 % ihrer Lebenszeit parasitisch auf dem Wirt. Den Rest ihres Lebens verbringen sie nicht-parasitisch in der Umwelt (Deplazes et al., 2021; Lucius et al., 2017; Needham & Teel, 1991).

Die Entwicklung besteht insgesamt aus vier Phasen: dem Ei, der Larve, der Nymphe und der Adulten. Um sich von einem Stadium ins nächste weiterentwickeln zu können, saugen die Zecken des jeweiligen Stadiums an einem Wirt Blut und häuten sich anschließend (Estrada-Peña et al., 2012; Hiepe et al., 2006; Lucius et al., 2017; Mehlhorn & Piekarski, 2002).

Bei *I. ricinus* handelt es sich, wie bei den meisten Zecken Mitteleuropas, um eine dreiwirtige Zecke. Das bedeutet, dass die Zecke, um ihren gesamten Entwicklungszyklus vollständig zu vollziehen, insgesamt drei Wirte benötigt. Die aus dem Ei geschlüpfte sechsbeinige Larve befällt den ersten Wirt, nimmt dort Blut auf und fällt, sobald sie vollgesogen ist, wieder vom Wirt ab. Anschließend häutet sie sich zur achtbeinigen Nymphe. Im Nympfenstadium sucht sich die Zecke zur Blutmahlzeit einen zweiten Wirt, fällt ab, häutet sich danach wiederum und entwickelt sich zur adulten Zecke. Das adulte Weibchen legt nach Beendigung der Blutmahlzeit auf dem dritten Wirt und anschließender Kopulation ihre Eier (ca. 3000 Stück) in der Umwelt ab (Hiepe et al., 2006; Lucius et al., 2017; Mehlhorn & Piekarski, 2002). Die adulten

Männchen hingegen saugen für gewöhnlich nur für kurze Zeit Blut, um die Spermatogenese abzuschließen und dann im Anschluss das Weibchen am Wirt zu begatten (Hiepe et al., 2006). Der Saugakt dauert je nach Stadium zwei bis zwölf Tage. Bei Larven sind es zwei bis drei Tage, bei Nymphen bis zu fünf Tage und bei adulten Weibchen etwa sieben bis zwölf Tage. Das Häuten und das Schlüpfen der Larven aus den Eiern geschieht in der Umwelt und benötigt optimale mikroklimatische Bedingungen. Nüchterne Stadien können mindestens ein Jahr lang überleben (Deplazes et al., 2021; Lucius et al., 2017).

Der gesamte Entwicklungszyklus kann mehrere Jahre beanspruchen, beträgt aber im Durchschnitt zwei bis drei Jahre. Für die Schnelligkeit, in der dieser Entwicklungszyklus durchlaufen wird, spielen die Umweltbedingungen, wie Lebensraum, Vegetation und Klima eine bedeutende Rolle (Deplazes et al., 2021; Lucius et al., 2017; Parola & Raoult, 2001).

#### **2.3.3.6. Befall des Wirtes und Nahrungsaufnahme**

Der Befall des Wirtes wird laut Deplazes et al. (2020) grob in vier Abschnitte eingeteilt: 1. Die Aktivierung der Zecke und Ortung des Wirtes, 2. Das Appetenzverhalten der Zecke, 3. Der Kontakt der Zecke mit dem Wirt, 4. Das Ansetzen der Zecke am Wirt (Deplazes et al., 2021).

Zecken sind saisonal aktive Arthropoden und werden durch Veränderungen der Temperatur und Luftfeuchtigkeit in den optimalen Bereich aktiviert. Dies ist besonders von Jahreszeit und Tageszeit abhängig (Gray et al., 2009). Die Zecke verfolgt bei der Suche nach einem Wirt eine spezielle Strategie, die sogenannte „ambush strategy“. Wenn die Umgebungsbedingungen günstig sind, verlassen sie ihre Verstecke am Boden und wandern an der Vegetation, wie etwa Grashalme, hoch, um von dort aus ihrem potenziellen Wirt aufzulauern und ihn dann beim Vorbeigehen zu überfallen (Gray, 1998). Dabei können Larven bis zu 20 cm hoch klettern, Nymphen bis zu 50 cm und Adulte bis zu 80 cm. Die Annahme, dass Zecken hoch hinauf auf Bäume klettern und dann auf ihren Wirt herabfallen, ist somit falsch. Zur Mittagszeit nimmt die Luftfeuchtigkeit ab und die Zecken verstecken sich in der wesentlich feuchteren Detritusschicht am Boden (Deplazes et al., 2021). Auf Grashalmen in der Vegetation lauernd, strecken die Zecken ihre Vorderbeine in die Luft aus und können mit Hilfe ihrer Sinnesorgane, insbesondere dem Hallerschen Organ, vom nahenden Wirt ausgesendete physikalische und chemische Reize wahrnehmen (Gray, 1998; Lees, 1948). Sie reagieren v.a. auf unspezifische Stimuli, wie CO<sub>2</sub>-Gradienten, Vibrationen, plötzlich auftretende Schatten und lokale Temperaturanstiege (Lees, 1948). Dabei beschränkt sich die Reichweite der Reizwahrnehmung bei Adulten auf etwa 5 m (Deplazes et al., 2021).

Durch die von den Sinnesorganen aufgenommenen Informationen können die Zecken einen geeigneten Wirt ausfindig machen und bereiten sich daraufhin auf die Kontaktaufnahme mit diesem vor. Schon ab diesem Stadium können sich infektiöse Stadien des Erregers in den Speicheldrüsen der Zecke entwickeln (Deplazes et al., 2021). Wenn sich die Zecke nun auf ihrem Zielwirt befindet, sucht sie die Körperoberfläche nach der idealen Stelle zur Blutaufnahme ab. Dies geschieht mit Hilfe der Sensillen an den Cheliceren und Pedipalpen. Es kann mehrere Stunden lang dauern, bis die Prädilektionsstelle gefunden wurde (Deplazes et al., 2021).

Wurde die Prädilektionsstelle gefunden, wird nun die Epidermis und Teile der Dermis mit Hilfe der Mundwerkzeuge eröffnet und das Hypostom an dieser Stelle tief eingestochen. Durch das Zerschneiden der Haut mit den Cheliceren bildet sich subdermal durch Freisetzung vasoaktiver Mediatoren und Cytolysine eine blutgefüllte Lakune. Die Zecke verankert sich mittels der „Zähne“ des Hypostoms, sowie auch durch Bildung von „Zement“ im Wirt. Die Pedipalpen der Zecke werden beim Ansetzen seitlich weggestreckt, damit die Zecke flach auf der Haut zu liegen kommt (Deplazes et al., 2021; Lucius et al., 2017).

Der sogenannte „Zement“ ist eine proteinreiche Kittsubstanz, die in den Speicheldrüsen der Zecken hergestellt und rund um Hypostom und Cheliceren platziert wird. Der ausgehärtete Zement bildet eine Art schützenden Trichter um die Mundwerkzeuge und verhindert zusätzlich das Abfallen der Zecke. Zement wird von einigen Vertretern der Gattung *Ixodes* gebildet, jedoch ist die Bildung von Zement durch *I. ricinus* umstritten (Richter et al., 2013; Šimo et al., 2017).

Nachdem sich die Zecke fest im Wirt verankert hat und die Vorbereitungsphase von maximal einem Tag abgeschlossen ist, beginnt die eigentliche Nahrungsaufnahme, welche aus einen zweiphasigem Saugakt besteht (Mehlhorn & Piekarski, 2002). Wie schon erwähnt ist die Zecke je nach Entwicklungsstadium insgesamt mehrere Tage lang zur Blutmahlzeit am Wirt. In der ersten Phase, der Phase des langsamen Saugens, wird das Wirtsgewebe extra-intestinal verdaut, sowie Gewebeflüssigkeit, Lymphe, Blut und Zellen aus der gebildeten Lakune aufgenommen und anschließend verdaut. Zecken werden deshalb auch „poolfeeder“ genannt, da sie nicht wie manche andere hämatophage Arthropoden, z.B. Gelsen, direkt kleine Blutgefäße anstechen, sondern das Blut über eine blutgefüllte Lakune aufnehmen. Infolgedessen nimmt die Zecke allmählich an Größe zu bis sie etwa das Zehnfache ihres nüchternen Körpergewichts erreicht hat. Diese Phase dauert bei präadulten Stadien zwei bis fünf Tage und bei adulten Weibchen ca. fünf bis 14 Tage. Die zweite Phase hingegen ist

wesentlich kürzer mit nur 12-24 Stunden und ist gekennzeichnet durch eine schnelle Aufnahme von großen Blutmengen. Sie wird deswegen auch als Phase des schnellen Saugens bezeichnet. Das aufgenommene Blut wird unter Ausscheidung von Flüssigkeit durch die Speicheldrüsen konzentriert. Dabei kommt es zu einer Gewichtszunahme um das 70-120-fache, welches deutlich erkennbar wird durch eine starke Dehnung des Idiosomas, vor allem bei Weibchen. Der Abschluss dieser Phase ist gekennzeichnet durch das enzyminduzierte Ablösen der vollgesogenen Zecke vom Wirt. Nach dem Abfallen der Zecke vom Wirt beginnt sie, das aufgenommene Blut zu verdauen (Deplazes et al., 2021; Lucius et al., 2017; Mehlhorn & Piekarski, 2002).

#### **2.3.3.7. Zeckenspeichel**

Der Zeckenspeichel enthält, neben möglichen Krankheitserregern, verschiedene Stoffe, die bei der Blutmahlzeit in großen Mengen in den Wirt eingebracht werden. Diese Wirkstoffe helfen der Zecke dabei, unbemerkt am Wirt viel Blut zu saugen. Ein Großteil dieser Wirkstoffe richtet sich gegen die Abwehrmechanismen des Wirtes, verhindern Abstoßungsreaktionen gegen die Zecke und begünstigen somit auch die Erregerübertragung (Nuttall, 2019; Šimo et al., 2017).

Der Wirtsorganismus versucht den Blutfluss beim Saugakt der Zecke durch verschiedene Mechanismen zu unterbinden, wie etwa durch Vasokonstriktion, Thrombozytenaggregation und Blutgerinnung (Wikel, 2013). Der Zeckenspeichel enthält verschiedene Inhaltstoffe, wie Apyrase, Prostaglandine und Antikoagulanzen, die den Blutfluss stabilisieren sollen durch vasodilatatorische und gerinnungshemmende Effekte oder durch Hemmung der Thrombozytenaggregation (Nuttall, 2019).

Als weitere Reaktion auf den Zeckenstich kommt es zu einer Entzündungsreaktion im Wirt. Dabei wird die Komplementkaskade aktiviert, Entzündungszellen strömen in das betroffene Areal ein, Histamin und Bradykinin werden ausgeschüttet und verursachen Schmerzen sowie Juckreiz. Zusätzlich wird die Wundheilung eingeleitet (Wikel, 2013). Der Zeckenspeichel wirkt dem mit Hilfe entzündungshemmender Substanzen entgegen, da eine Entzündung zur unerwünschten Vereiterung oder Isolierung der Mundwerkzeuge führen kann (Deplazes et al., 2021; Nuttall, 2019). Durch Inhaltstoffe des Zeckenspeichels wird die Fähigkeit des Wirtes, neutrophile Granulozyten und Makrophagen zur Stichstelle zu rekrutieren, vermindert. Substanzen des Wirtes zur Aktivierung der Komplementkaskade sowie wichtige proinflammatorische Faktoren wie Histamin und Serotonin werden durch die im Speichel enthaltenen Inhaltsstoffe neutralisiert. Weiters enthält der Speichel auch noch lokal

betäubende Wirkstoffe, die ein unbemerktes Saugen am Wirt ermöglichen (Brossard & Wikel, 2004; Nuttall, 2019; Šimo et al., 2017; Wikel, 2013).

Zusätzlich wird auch das Immunsystem durch immunsuppressive Wirkstoffe beeinträchtigt, was dem Schutz der Zecke beim langen Saugakt sowie der erfolgreichen Übertragung von Krankheitserregern dient. Um jenes Ergebnis zu erzielen, wird die T-Zell-Proliferation, die Bildung von Zytokinen, Interleukinen und Interferon-Gamma unterdrückt, sowie die Interleukin (IL)-1 und Tumornekrosefaktor-Produktion von Makrophagen und die Antikörperantwort vermindert (Nuttall, 2019; Šimo et al., 2017). Die antiinflammatorische Th2-Polarisation von T-Helferzellen und die verminderte lokale Immunantwort an der Stelle des Zeckenstichs scheinen eine wichtige Rolle für die effektive Übertragung von Pathogenen zu sein (Glatz et al., 2017; Gray et al., 2021).

Dies ist notwendig, da der Wirt eine relative Immunität gegen im Zeckenspeichel enthaltene Produkte und somit gegen Zecken entwickeln kann. Die Entwicklung einer protektiven Immunität in Folge eines Zeckenstichs ist für so genannte „unnatürlichen“ Wirte der Zecken, wie etwa Schafe, Kaninchen und Meerschweinchen, beschrieben (Abdul-Amir & Gray, 1987; Brossard & Fivaz, 1982; Randolph, 1979). Die genannten Inhaltsstoffe des Zeckenspeichels sind auch wichtige Angriffsstellen für die Entwicklung von Impfstoffen (Knorr et al., 2018; Liu & Bonnet, 2014; Wikel, 2013).

#### **2.3.3.8. Erregerübertragung und Vektorfunktion**

Die Übertragung von Krankheitserregern via Zecke erfolgt meist zyklisch, also mit Vermehrung des Erregers im Vektor. Mittels Inokulation werden Krankheitserreger wie Anaplasmen in den Wirtsorganismus eingebracht (Deplazes et al., 2021). Die Erregerübertragung erfolgt vor allem transstadial (Ogden et al., 1998). Das heißt, ein Stadium der Zecke, wie etwa eine Larve, kommt zur Blutmahlzeit auf den Wirt und infiziert sich mit dem Krankheitserreger, entwickelt sich weiter zum nächsten Stadium, in diesem Fall zur Nymphe, und überträgt den Erreger bei der nächsten Blutmahlzeit auf einen anderen Wirt (Deplazes et al., 2021). Das Pathogen ist dabei im Speichel der Zecke enthalten (Nuttall & Labuda, 2004). Eine transovariale bzw. vertikale Übertragung, von adulten Weibchen auf ihre Nachkommen ist für *A. phagocytophilum* nicht beschrieben. (Deplazes et al., 2021; Ogden et al., 1998). Die Infektionsraten in adulten Zecken sind laut vielen Studien höher als in Nymphen. Der Grund dafür ist, dass adulte Zecken im Vergleich zu Nymphen eine zusätzliche Blutmahlzeit aufgenommen haben und dadurch die

Chancen einer Infektion höher sind. Larven hingegen sind als frei von *A. phagocytophilum* anzunehmen, da keine transovariale Übertragung stattfindet (Stuen et al., 2013a).

Die Prävalenz von *A. phagocytophilum* in Zecken ist von weiteren Faktoren abhängig, wie etwa von der Suszeptibilität der individuellen Zecke und der Zeckenpopulation, der Vektorkompetenz der jeweiligen Zeckenspezies, der Übertragbarkeit der *A. phagocytophilum*-Variante, der Empfänglichkeit der Wirtsspezies, der Empfänglichkeit des individuellen Wirtes und der Population, sowie von der Reservoirkompetenz des Wirtes (Stuen et al., 2013a).

*Ixodes ricinus* gilt als Hauptvektor vieler Krankheitserreger in Mitteleuropa. Neben *A. phagocytophilum*, dem Erreger der EGA, werden durch *I. ricinus* noch weitere zoonotische Bakterien übertragen, wie etwa die Erreger der Lyme-Borreliose, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Rickettsia helvetica* und *Francisella tularensis*. Zu den übertragenen Protozoen gehören *Babesia (B.) divergens*, *B. capreoli*, *B. venatorum* und *B. microti*. Außerdem kann neben dem FSME-Virus auch das Louping-ill-Virus übertragen werden (Burgdorfer et al., 1983; Gray, 1991; Labuda & Nuttall, 2004; Milutinović et al., 2008; Nuttall & Labuda, 1994; Pawełczyk et al., 2021; Rampas & Gallia, 1949; Wilhelmsson et al., 2021).

#### **2.3.3.9. Lebensraum**

Die Eignung eines Lebensraums zum Habitat für *I. ricinus* ist wesentlich von Temperatur und Luftfeuchtigkeit abhängig, da die Zecke einen Großteil ihrer Lebenszeit abseits vom Wirt in der Umgebung verbringt und relativ empfindlich gegenüber Austrocknung ist (Gray et al., 2021; Parola & Raoult, 2001; Perret et al., 2000, 2003). Der gemeine Holzbock ist angepasst an humide Lebensräume mit einer hohen relativen Luftfeuchtigkeit von mindestens 80 % (Gray, 1991; Lucius et al., 2017). Adäquate Habitate sind somit auf Regionen beschränkt, welche eine mittlere bis hohe Niederschlagsmenge aufweisen, sowie einen gut durch Pflanzen bedeckten Boden, damit es in den heißen Jahreszeiten nicht zum Austrocknen des Bodens kommt (Gray, 1984, 1991). Diesen Vorgaben entsprechen Laub- und Mischwälder mit einer Kraut- und Strauchzone, die eine dichte, permanent feuchte Detritusschicht vorweisen mit einer relativen Luftfeuchtigkeit von 95-100 % (Deplazes et al., 2021). Bevorzugt werden Biotope am Waldrand mit Sträuchern oder dichter Vegetation aus Kräutern, aber auch andere Habitate mit ähnlich dichter Vegetation, die genügend Beschattung bietet, eignen sich für *I. ricinus*, wie etwa Moore, Heiden, Extensivweiden, sowie Parks und Hausgärten mit vielen Sträuchern, Bäumen und altem, hohem Gras (Gassner et al., 2011; Medlock et al., 2013; Milne, 1949). Die *I. ricinus*-Population entwickelt sich umso besser, je dichter und dicker die Schicht

aus verrottenden Blättern und anderen Pflanzenresten ist (Deplazes et al., 2021; Gray, 1991; Lucius et al., 2017).

#### **2.3.3.10. Wirtsspektrum**

Neben den genannten optimalen klimatischen Bedingungen müssen im Zeckenhabitat auch ausreichend potenzielle Wirte vorhanden sein. *Ixodes ricinus* gilt als euryxene Zeckenart, das bedeutet, dass die Zecken viele verschiedene Wirtstierarten befällt (Deplazes et al., 2021). Zum breiten Wirtsspektrum des gemeinen Holzbocks gehören eine Vielzahl von Säugetieren, aber auch Vögel und Reptilien. Der Mensch ist ebenso inbegriffen (Anderson & Magnarelli, 1993). Somit können sie etwaige Krankheitserreger speziesübergreifend übertragen und haben sowohl in der Veterinärmedizin als auch in der Humanmedizin wegen ihrer Vektorkapazität eine große Bedeutung (Dantas-Torres et al., 2012).

Je nach Entwicklungsstadium zeigt *I. ricinus* jedoch eine Bevorzugung bestimmter Wirte (Gray et al., 2021; Hofmeester et al., 2016). Da Larven eher in Bodennähe bleiben, befallen sie vor allem kleine Nagetiere, wie etwa Rötelmäuse (*Clethrionomys glareolus*), Gelbhalsmäuse (*Apodemus flavicollis*) und Waldmäuse (*Apodemus sylvaticus*). Nymphen sind gehäuft auf mittelgroßen Säugetieren, Reptilien und Vögeln zu finden. Adulte hingegen haben einen größeren vertikalen und horizontalen Bewegungsradius und lauern sowohl kleinen als auch vermehrt großen Säugetieren auf (Anderson & Magnarelli, 1993; Hofmeester et al., 2016). Zu den natürlichen oder reproduktiven Wirten von adulten *I. ricinus*-Zecken zählen v.a. Rehe und Rotwild. Sie sind essenziell zur Erhaltung der Zeckenpopulation in Europa, da adulte Zecken sie für ihre finale Blutmahlzeit bevorzugen, bevor sie ihre Eier ablegen. Schafe und andere Nutztiere hingegen sind keine natürlichen Wirte, jedoch sind sie in jenen Regionen wichtig für den Erhalt der Zeckenpopulation, wo Wildtiere als Wirte fehlen (Gray, 1998; Gray et al., 1992).

#### **2.3.3.11. Saisonalität**

Zecken weisen ein saisonales Aktivitätsmuster auf. Ab einer Lufttemperatur von konstanten 7-10 °C werden die *I. ricinus* Zecken aktiv. Dies kann je nach Herkunftsregion der Zeckenpopulation etwas variieren (Dantas-Torres & Otranto, 2013a, 2013b; Deplazes et al., 2021; Gilbert et al., 2014; Randolph et al., 2002). Das entspricht in Mitteleuropa einer Aktivitätsphase, die im März beginnt und bis in den November andauert. Dabei gibt es zwei Aktivitätshöhepunkte, der erste findet von Mai bis Juni statt und der etwas kleinere Zweite im September (Duscher et al., 2013; Gray, 1991; Gray et al., 2009).

Im Hochsommer, wenn die Temperaturen die 30 °C übersteigen nehmen die Aktivität und die Überlebensfähigkeit der Zecken ab. Dieser Effekt verstärkt sich noch zusätzlich unter trockenen Bedingungen, wenn die Niederschlagsmengen sehr gering sind (Dantas-Torres & Otranto, 2013a; Gray et al., 2009; Perret et al., 2000, 2003). Solange im Sommer jedoch genügend Vegetation vorhanden ist, die den Boden feucht hält, den Zecken die Möglichkeit bietet, sich zu rehydrieren und sie somit vor dem Austrocknen schützt, sind die Zecken auch in trockenen und heißen Sommern aktiv (Gray, 1984, 2008).

Der Winter bildet in der Regel die inaktive Phase von *I. ricinus*, die sogenannte Diapause (Deplazes et al., 2021). Jedoch kann es bei sehr milden Temperaturen im Winter auch zur Aktivierung der Zecken kommen (Gray et al., 2009). Ist der Winter hingegen lang und frostig, kann es im Frühjahr zu einem nahezu explosionsartigen Einsetzen der Aktivitätsphase führen (Deplazes et al., 2021)

Generell werden Temperaturen unter der 0 °C-Marke von *I. ricinus* meist sehr gut überstanden (Dautel & Knülle, 1996, 1997; Medlock et al., 2013). Das Überleben der Zecken über den Winter wird auch vom Vorhandensein einer Schneedecke beeinflusst (Dautel et al., 2016; Gray, 1981).

Der wichtigste Faktor, der den Eintritt der Diapause reguliert ist, die Tageslänge, aber auch die Temperatur hat einen Einfluss. Die Zeitspanne der Diapause kann also je nach Region variieren (Belozarov, 1982; Gray, 1998).

Als Folge der voranschreitenden globalen Klimaerwärmung kommt es in Europa vermehrt zu milderen Wintermonaten, somit werden die Dauer des frostigen Winters verkürzt und Übergangsjahreszeiten, Frühling und Herbst, verlängert. Dies wiederum hat großen Einfluss auf das saisonale Aktivitätsmuster von Zecken. Die Zecken sind sehr anpassungsfähig und haben einen flexiblen Lebenszyklus, somit können sie ihr saisonales Aktivitätsmuster an die jeweiligen Gegebenheiten gut anpassen. Dadurch ist es ihnen möglich, die gemäßigteren Temperaturen gut auszunutzen, und sie werden somit im Frühling früher, im Herbst länger und mitunter auch im Winter häufiger aktiv. Das führt insgesamt zu einer Verlängerung der Aktivitätsphase. Unter anderem kommt es durch mildere Wintertemperaturen auch zur erhöhten Überlebenschance von potenziellen Wirten. Das alles trägt wahrscheinlich zum Wachstum der Zeckenpopulationen bei und erhöht damit auch das Risiko der Übertragung von Krankheiten (Dantas-Torres, 2015; Gray, 1998; Gray et al., 2009).

### 2.3.3.12. Verbreitung

Das Verbreitungsgebiet von *I. ricinus* erstreckt sich über ganz Europa, von Skandinavien im Norden bis nach Nordafrika im Süden, im Westen von Portugal bis östlich zum Kaspischen Meer (Gray, 1991; Hvidsten et al., 2020; Medlock et al., 2013). Zecken sind in manchen Regionen bis in eine Höhe von bis zu 2.000 m auffindbar (De Pelsmaeker et al., 2021; Materna et al., 2005; Medlock et al., 2013). Besonders in waldreichen Gebieten Mitteleuropas sind die Zeckenhabitate sehr dicht gesät (Gray, 1991).

Der gemeine Holzbock breitet sich aufgrund der Klimaerwärmung in immer nördlichere und höher gelegene Regionen aus (De Pelsmaeker et al., 2021; Garcia-Vozmediano et al., 2020; Jaenson et al., 2012; Jore et al., 2014; Materna et al., 2008; Medlock et al., 2013). Der Grund dafür ist, dass sich den Zecken nun neue, zuvor unpassende Habitate erschließen, die durch die steigenden Temperaturen ihren Habitatsanforderungen entsprechen. Zecken benötigen für ihre Entwicklung innerhalb einer Saison eine bestimmte Mindestanzahl an Tagen, an denen die Durchschnittstemperatur 5°C überschreitet. Erst dann kann sich eine Zeckenpopulation in einer neuen Region etablieren (Hvidsten et al., 2020; Jaenson & Lindgren, 2011). Das hat zur Folge, dass sich auch das Vorkommen von über *I. ricinus* übertragbaren Krankheiten stetig weiter über den Globus ausbreitet. Diese Weiterverbreitung und Dichte einer Zeckenpopulation in einem bestimmten Gebiet ist jedoch nicht nur maßgeblich von den passenden klimatischen Bedingungen, sondern auch vom Vorhandensein von adäquater Vegetation, sowie von der Verfügbarkeit von Wirten abhängig (Dantas-Torres, 2015; Deplazes et al., 2021; Porretta et al., 2013; Stuen et al., 2013a).

All diese Faktoren beeinflussen die Zecke in all ihren Lebensbereichen. Sie bestimmen das Aktivitätsmuster, die Reproduktion und das Überleben der Zecke (Estrada-Peña et al., 2013; Jore et al., 2014; Lauterbach et al., 2013; Léger et al., 2013; Medlock et al., 2013). In Schweden hat sich die nördliche Grenze des Verbreitungsgebiets von *I. ricinus* seit 1980 um fünf Breitengrade nach Norden verschoben von 61 °N auf 66 °N (Jaenson et al., 1994; Lindgren et al., 2000; Tälleklint & Jaenson, 1998). Außerdem hat sich die Zeckenpopulation in diesen nördlichen Arealen mehr als verdoppelt (Jaenson et al., 2012). Auch ein gehäuftes Vorkommen des gemeinen Holzbocks im Osten seines Verbreitungsgebietes in Russland wurde beschrieben (Korotkov et al., 2015). In Zentraleuropa, wie etwa in Tschechien, hat sich gezeigt, dass *I. ricinus* sich stetig weiter in höher gelegene Regionen ausbreitet (Daniel et al., 2003, 2004; Materna et al., 2005).

Es gibt eine Vielzahl von Modellen, die entwickelt wurden, um den Einfluss des Klimawandels auf die Populationsdynamik und Verbreitung verschiedener Zeckenarten, sowie die damit verbundenen Einflüsse auf die Weiterverbreitung von zeckenübertragenen Krankheiten, zu prognostizieren (Gray et al., 2009; Porretta et al., 2013).

Das Modell einer ökologischen Nische für *I. ricinus* in Europa von Boeckmann & Joyner (2014) beschreibt eine zukünftige Ausweitung von potentiellen *I. ricinus*-Habitaten in ganz Europa von 3,8 % unter Einfluss des Klimawandels. Jedoch wird es dabei in manchen Regionen, wie etwa in Skandinavien, im Baltikum oder in Belarus, zu einer Vergrößerung der Habitate und in anderen Regionen, wie in den Alpen, Pyrenäen, in Mittelitalien oder im Nordwesten Polens zu einer Verkleinerung der Habitate kommen (Boeckmann & Joyner, 2014).

In Regionen, wo es zu weniger Niederschlag und gleichzeitig höheren Temperaturen im Sommer kommt, wird sich die *I. ricinus*-Population aufgrund von Austrocknung tendenziell reduzieren und weitere Ausbreitung der Zecke limitieren (Gray et al., 2009).

Insgesamt kann man annehmen, dass es durch den Klimawandel und die damit verbundene Erweiterung des Verbreitungsgebiets von Zecken, zu einer Erhöhung der Inzidenz von Zeckenübertragenen Krankheiten kommt (Gray et al., 2009).

#### **2.3.4. Wirte**

Das Wirtsspektrum von *A. phagocytophilum* entspricht dem von *I. ricinus* und variiert je nach geographischer Region. Auch die die Inzidenz und die Schwere der Erkrankung in einem bestimmten Wirt unterscheiden sich je nach Region. Diese Unterschiede kommen dadurch zustande, dass weltweit verschiedene Varianten von *A. phagocytophilum* mit unterschiedlichen Eigenschaften wie etwa Wirtspräferenz existieren. Außerdem spielen noch das Vorhandensein und die Dichte von Reservoir- und Fehlwirten sowie die Häufigkeit von Vektoren vor Ort eine wichtige Rolle (Ogden et al., 2002; Teglas & Foley, 2006; Tuomi, 1967).

Die *Anaplasmataceae* können eine Vielzahl von Wirten befallen, dabei unterscheidet man experimentelle von natürlichen Wirten (Deplazes et al., 2021; Selbitz et al., 2015). Als Hauptwirte gelten Wiederkäuer, Pferde, Hunde, Katzen und Menschen. In diesen Wirtsspezies lösen sie die typischen Krankheitsbilder aus, wie das Zeckenbissfieber oder „tick-borne fever“ der Wiederkäuer, die EGA bei den Pferden, die kanine granulozytäre Anaplasmosose beim Hund, die feline granulozytäre Anaplasmosose bei den Katzen und die HGA beim Menschen (Bakken & Dumler, 2008; Bjöersdorff et al., 1999; Chen et al., 1994; Foggie, 1951; Gordon et al., 1932; Gribble, 1969; Madewell & Gribble, 1982).

Anaplasmen werden als wirtsspezifisch angesehen, können aber über experimentelle Infektionen auch andere Wirte befallen und eine klinische Erkrankung auslösen (Rikihisa, 1991). *A. phagocytophilum* kann experimentell Wirte wie Maultiere, Schafe, Ziegen, Hunde, Katzen, Rhesusaffen und Paviane infizieren (Lewis, 1976; Lewis et al., 1975; Stuen et al., 1998).

Zu den natürlichen Wirten zählen neben den Pferden auch Menschen, domestizierte Wiederkäuer wie Schafe, Ziegen und Rinder, Lamas, Wildtiere wie Rotwild, Rehwild, Weißwedelhirsche, Nagetiere, Elche und Bisons (Dumler et al., 2001; Foggie, 1951; Goodman et al., 1996; Gribble, 1969; Massung et al., 2007; Munderloh et al., 1996; Silaghi et al., 2011a; Stuen et al., 2010, 2013a; Woldehiwet et al., 2002).

Fatale Verläufe der Erkrankung wurden bisher bei Schafen, Rindern, Pferden, Rentieren, Elchen, Rehwild, Hunden und Menschen beschrieben (Franzén et al., 2007; Heine et al., 2007; Jenkins et al., 2001; Stuen, 2003).

### **2.3.5. Reservoir**

Ein Wirt muss entsprechende Voraussetzungen erfüllen, um als Reservoirwirt in Frage zu kommen. Er muss von der infizierten Zecke befallen werden, eine bestimmte Menge an Erreger in seinen Organismus aufnehmen, der Erreger muss in ihm eine bestimmte Zeit lang überleben und sich vermehren können und zu guter Letzt müssen sich andere Zecken, die ihn befallen mit dem Erreger infizieren können (Kahl et al., 2002; Stuen et al., 2013a).

Im Vergleich zu den Hauptwirten scheinen die Reservoirwirte eine nicht so starke Bakteriämie zu entwickeln und die Erreger im Blut scheinen einen kürzeren Lebenszyklus zu haben (Woldehiwet, 2010).

Da der Erreger in Pferden kaum persistiert und das Pferd daher als Fehlwirt für *A. phagocytophilum* gilt, müssen andere Tiere als Reservoir für *A. phagocytophilum* in Betracht gezogen werden (Franzén et al., 2009; Gribble, 1969). Das Reservoir besteht aus domestizierten und wildlebenden Tieren, wie zum Beispiel Wildwiederkäuer und Nager (Adaszek et al., 2012; Ogden et al., 1998; Stuen, 2007). Nagetiere, wie die Waldmaus (*Apodemus sylvaticus*), die Gelbhalsmaus (*Apodemus flavicollis*), die Erdmaus (*Microtus agrestis*), die Rötelmaus (*Clethrionomys glareolus*), die Weißfußmaus (*Peromyscus leucopus*) und verschiedene Eichhörnchenarten, aber auch andere kleine wildlebende Säugetiere sind als die wichtigsten Reservoirwirte anzusehen (Aeschlimann, 1967; Bown et al., 2003, 2006; Liz et al., 2000; Nieto & Foley, 2008; Ogden et al., 1998). In Europa können

auch Rehwild und Schafe maßgeblich zum Infektionszyklus beitragen (Ogden et al., 1998; Stuen et al., 2013b). Bei den Wildwiederkäuern in Europa spielt vor allem Rehwild eine wichtige Rolle als Reservoirwirt, aber auch Rotwild, Damwild und Sikawild können effektive Reservoirs sein (Bown et al., 2009; De la Fuente et al., 2008; Hapunik et al., 2011; Overzier et al., 2013; Polin et al., 2004; Robinson et al., 2009; Silaghi et al., 2011a; Stuen, 2007; Stuen et al., 2013; Veronesi et al., 2011; Zeman & Pecha, 2008).

Natürliche Reservoirs für die HGE-Variante in Nordamerika bilden unter anderem Weißfußmäuse (*Peromyscus leucopus*), Streifen-Backenhörnchen (*Tamias striatus*), nordamerikanische Rötelmäuse (*Clethrionomys gapperi*) und insektenfressende Spitzmäuse (Massung et al., 2003; Telford III et al., 1996; Walls et al., 1997).

Die Rolle von Vögeln als Reservoirwirte ist noch nicht ganz geklärt, aber es wurden schon Infektionen mit *A. phagocytophilum* bei Zugvögeln in Schweden sowie in Spanien und Russland nachgewiesen (Alekseev et al., 2001a; Bjöersdorff et al., 2001; De la Fuente et al., 2005b). Sie könnten zur Verbreitung von infizierten Zecken in neue Regionen beitragen, in denen die Erkrankung bisher nicht aufgetreten ist. Dort könnten sich die infizierten Zecken ansiedeln und neben *A. phagocytophilum* auch andere Pathogene übertragen (De la Fuente et al., 2015; Geller et al., 2013; Hasle, 2013; Mărcuțan et al., 2016; Pedersen et al., 2020).

## **2.4. Pathogenese**

### **2.4.1. Ausbreitung im Wirt**

Die Pathogenese der EGA konnte bis jetzt noch nicht vollständig geklärt werden (Madigan & Pusterla, 2015). Von der Zeckenstichstelle ausgehend gelangt das Bakterium zuerst in die Dermis und breitet sich dann über Lymph- und Blutbahnen im Organismus aus. Wo sich das Bakterium vor der Entstehung der Bakteriämie, die sich vier bis sieben Tage nach dem Zeckenstich ereignet, repliziert, ist noch unklar. Auch bei experimentell per intravenöser Inokulation infizierten Tieren lässt sich eine Bakteriämie erst nach 72-96 Stunden nachweisen. Dies lässt vermuten, dass sich das Pathogen vor der Bakteriämie noch in anderen Zellen vermehrt, bis im Blut eine minimale Erregerkonzentration erreicht wird, die mittels unterschiedlicher Detektionsmethoden nachweisbar ist (Woldehiwet, 2010).

Die Anaplasmen befallen nach dem Eindringen in den Wirt und der Verbreitung im Organismus über Lymph- und Blutbahnen ihre Zielzellen des hämopoetischen und lymphoretikulären Systems, die neutrophilen und eosinophilen Granulozyten. Dies geschieht über Bindung von

sialinisierten Glykoproteinen, die sich an der Oberfläche der Granulozyten befinden (Madigan & Gribble, 1987; Ojogun et al., 2012).

*Anaplasma phagocytophilum* kann in mehreren Zelllinien proliferieren, einerseits in Ovarienzellen des chinesischen Zwerghamsters (*Cricetulus griseus*), in humanen myeloiden Leukämie-Zellen (THP- $\alpha$ , HL-60, KG-1) und auch in Zelllinien von Zecken (IDE8). Dies erlaubt eine *in vitro*-Kultivierung des Erregers in den genannten Zelllinien (Dumler et al., 2001; Munderloh et al., 1996). Rickettsien können prinzipiell Vorläuferzellen des Endothels und des Knochenmarks, menschliche Hautzellen und aus dem Knochenmark stammende Mastzellen (BMMCs) infizieren (Herron et al., 2005; Klein et al., 1997a; Ojogun et al., 2011). Aufgrund dessen steht weiterhin zur Diskussion, ob die Anaplasmen nicht auch Mastzellen in der Haut in der Nähe der Einstichstelle befallen können (Ojogun et al., 2011).

#### **2.4.2. Mechanismen auf zellulärer Ebene**

Haben die Anaplasmen ihr Wirtstier infiziert, kommen verschiedene Pathogenitätsmechanismen zum Tragen, die maßgeblich für die klinische Symptomatik und labordiagnostische Veränderungen sind. Allgemein können Anaplasmen Zellyse, Gewebnekrosen und schwerwiegende Entzündungsreaktionen im Wirt hervorrufen (Rikihisa, 1991).

##### **2.4.2.1. Neutrophile Granulozyten**

In ihren Zielzellen angelangt können Anaplasmen die Funktionen und das Verhalten der Wirtszelle maßgeblich modulieren. Funktionen wie die Apoptose werden inhibiert und Mechanismen zur Energiegewinnung und Signaltransduktion der Zelle werden modifiziert (Lin et al., 2011; Ojogun et al., 2011).

Neutrophile Granulozyten spielen eine bedeutende Rolle als „first-line-defence“ in der Abwehr und Bekämpfung von bakteriellen Infektionen (Selbitz et al., 2015). Wichtige antimikrobielle Mechanismen werden durch den Erreger *A. phagocytophilum* außer Kraft gesetzt, geschwächt oder zugunsten des Erregers ausgenutzt. Anaplasmen lassen sich „absichtlich“ von neutrophilen Granulozyten internalisieren, um sie dann zu modulieren. Sie verhindern unter anderem die phagolysosomale Fusion, den oxidativen Burst und die Apoptose der infizierten Zelle (Carlyon et al., 2004; Carlyon & Fikrig, 2003; Choi et al., 2005; Trott, 2005). Außerdem werden die Fähigkeit zur endothelialen Zelladhäsion und Transmigration gestört, sowie die Möglichkeit der Degranulation und Chemokinsynthese erhöht. All diese Mechanismen dienen

dazu, dass sich die Anaplasmen ungestört in den neutrophilen Granulozyten vermehren und anschließend im Wirt weiterverbreiten können. Das fördert wiederum die Erkrankung des Wirtes. Die Zirkulation von infizierten neutrophilen Granulozyten und Entzündungen werden gefördert, antimikrobielle Prozesse werden gestört (Garyu et al., 2005).

Nachdem sich der Erreger derartig oft in der Wirtszelle vermehrt hat, dass sie vollgepackt mit Bakterien ist, kommt es zur Freisetzung der infektiösen Erregerzellen und in weiterer Folge zur Infektion weiterer Zellen. Das geschieht entweder durch das Zerbersten der Zelle oder über Exozytose und Fusion der Vakuolenmembran mit der Plasmamembran, wobei die Wirtszelle nicht zerstört wird. Die Transmission des Pathogens zwischen benachbarten Zellen kann durch Verknüpfung von Exozytose und Endozytose erfolgen (Rikihisa, 1991).

#### **2.4.2.2. Entzündungsreaktion**

Zu Beginn der Infektion, in der akuten Phase, entsteht durch die Bakteriämie und die damit verbundene Zytokin-Freisetzung eine Entzündungsreaktion. Es werden Zytokine wie IL-1 und IL-6, Prostaglandine, sowie TNF- $\alpha$  als Reaktion auf das Pathogen freigesetzt, die unter anderem eine erhöhte Gefäßpermeabilität und Symptome wie Fieber im Wirt hervorrufen (Choi et al., 2004; Gehlen et al., 2021; Rikihisa, 1991).

Der Erreger jedoch blockiert bzw. verzögert die Freisetzung von Zytokinen wie TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-13 in den von ihm infizierten Zellen. Außerdem wird die IgE-abhängige Aktivierung von Mastzellen reduziert (Choi et al., 2004; Ojogun et al., 2011).

#### **2.4.2.3. Immunsystem**

Als Folge der Infektion mit *A. phagocytophilum* werden die Abwehrmechanismen des Wirtes geschwächt. Davon ist sowohl die humorale als auch die T-Zell-vermittelte Immunabwehr betroffen. Das Ziel dieser Modulation ist es, die im Kreislauf zirkulierende Wirtszelle länger am Leben zu erhalten und somit so lange wie möglich selbst darin zu überleben. Dabei werden die Entzündung gefördert und Abwehrmechanismen des Wirtstieres geschwächt. Durch die Schwächung des Immunsystems kommt es zum gehäuftem Auftreten opportunistischer Infektionen und Sekundärinfektionen, wie etwa Bronchopneumonie, Arthritis, Perikarditis, Lymphadenitis und Cellulitis (Garyu et al., 2005; Gribble, 1969).

*A. phagocytophilum* besitzt die Besonderheit gegenüber anderen gramnegativen Bakterien, dass es weder Lipopolysaccharide (LPS) noch Peptidoglykane in der äußeren Zellmembran

besitzt. Stattdessen ist Cholesterol ein wichtiger Bestandteil dieser Membran. Das hat zur Folge, dass der Erreger durch die Toll-like-Rezeptoren des angeborenen Immunsystems nicht erkannt wird (Lin & Rikihisa, 2003a, 2003b; Xiong et al., 2007).

### **2.4.3. Mechanismen auf Organebene**

Während sich der Erreger im ganzen Körper ausbreitet, schädigt er dabei innere Organe. Vor allem das Knochenmark wird in Mitleidenschaft gezogen, was zu einer Panzytopenie mit massiver Thrombozytopenie führt. Die genauen Mechanismen, wie der Erreger die Anzahl an Thrombozyten reduziert, ohne sie direkt zu befallen, ist noch weitgehend ungeklärt. Jedoch vermutet man, dass das Immunsystem maßgeblich an der Zerstörung von Thrombozyten beteiligt ist und eine erhöhte Phagozytoseaktivität der Makrophagen und eine Desintegration von Blutplättchen in der Milz dazu beiträgt. Auch eine Schädigung oder Hypoplasie des Knochenmarks führt zu einer Reduktion der Anzahl an Thrombozyten im Blut. In vielen Organen treten bei EGA entzündliche Läsionen auf, vor allem in Milz, Leber, Lunge, Nieren und Herz (Dumler et al., 2001; Gribble, 1969; Lepidi et al., 2000; Reubel et al., 1998).

## **2.5. Klinik**

### **2.5.1. Klinische Symptome**

Es handelt sich bei der EGA um eine fieberhafte Erkrankung, die beim Pferd meistens mild und akut oder subklinisch verläuft (Madigan & Gribble, 1987).

Typische Symptome der Erkrankung sind hohes Fieber, partielle oder komplette Anorexie, Apathie, Ödeme an den distalen Gliedmaßen, petechiale Blutungen auf den Schleimhäuten, Ataxie und Bewegungsunlust, sowie Ikterus (Brewer et al., 1984; Gribble, 1969; Madigan & Gribble, 1987; Schusser et al., 2007; Telford III et al., 1996).

#### **2.5.1.1. Initiale Symptome**

Das erste klinisch sichtbare Symptom, das etwa ein bis neun Tage nach Infektion mit dem Erreger auftritt, ist ein abrupter Anstieg der inneren Körpertemperatur (IKT). Diese febrile Phase der Erkrankung beträgt durchschnittlich fünf oder sechs Tage und kann je nach Schwere des Verlaufs ein bis zwölf Tage lang dauern (Gribble, 1969). Der Höhepunkt des Fiebers wird gewöhnlich am zweiten Tag der febrilen Phase erreicht und kann 39,4-41,3 °C betragen. In den folgenden Tagen fluktuiert die IKT und sinkt dann wieder in den physiologischen Bereich ab (Gribble, 1969; Madigan & Gribble, 1987).

Die nächsten Symptome, die je nach Schwere und Dauer der Erkrankung unterschiedlich stark auftreten, sind Apathie und folglich auch Anorexie. Sie treten ab dem zweiten bis dritten Tag der febrilen Phase auf und halten rund ein bis zehn Tage an. Die betroffenen Tiere zeigen verminderte Aufmerksamkeit gegenüber der Umwelt und eine Verminderung oder einen kompletten Verlust der Fresslust. Manche Tiere zeigen in schweren Fällen ein sogenanntes „Dummy“-Verhalten, also keinerlei Reaktion auf Umweltreize (Gribble, 1969).

Ein weiteres charakteristisches Symptom der EGA ist die Entwicklung von subkutanen Ödemen. Auch die Ausbreitung und das zeitliche Ausmaß des Bestehens dieser Ödeme sind wiederum sehr variabel. Die Ödeme treten erstmals ab dem zweiten bis sechsten Tag der febrilen Phase. Die Lokalisation der Ödeme beschränkt sich typischerweise meist auf die distalen Gliedmaßen, aber wird auch manchmal an der ventralen Bauchwand und, bei männlichen Tieren, am Präputium beschrieben. Meistens sind die Hintergliedmaßen von stärkeren Schwellungen betroffen, die sich dann auch langsamer zurückbilden als an der Vordergliedmaße. Nach drei bis sechs Tagen beginnen die Schwellungen rückläufig zu werden, können aber bis zu 15 Tage bestehen bleiben (Gribble, 1969; Schusser et al., 2007).

Die Bewegungsunlust der erkrankten Tiere ist assoziiert mit dem allgemein geschwächten Zustand des Tieres. Außerdem ist in Bewegung auch häufig ein gewisses Maß an Inkoordination zu sehen. Es wurden Pferde mit hypermetrischem sowie schwankendem Gangbild beschrieben. Zusätzlich nehmen die Pferde des Öfteren einen breiten Stand ein, welches in Summe auf propriozeptive Defizite hindeutet. Ataxie zusammen mit einer allgemeinen Schwäche des Tieres kann das Risiko einer Verletzung in Folge der Erkrankung erhöhen und einen schwerwiegenderen bis fatalen Verlauf nach sich ziehen. Mögliche dadurch bedingte Traumata wie Frakturen können zum Tod des Tieres führen (Gribble, 1969; Madigan & Gribble, 1987).

In der initialen Krankheitsphase erhöhen sich für gewöhnlich parallel zur IKT auch die Herz- und Atemfrequenz auf etwa 50-60 Schläge pro Minute und bis zu 30 Atemzüge pro Minute (Madigan & Gribble, 1987; Pusterla & Madigan, 2013b). Eine Beteiligung des Herzens am Krankheitsgeschehen ist nur selten der Fall, aber ventrikuläre Tachykardie und ventrikuläre Extrasystolen können auftreten (Pusterla & Madigan, 2013b).

#### **2.5.1.2. Seltene Symptome**

Vereinzelt auftretende Symptome sind Lymphadenopathie, milde Koliksymptome und Durchfall, Rhabdomyolyse, Gelenksentzündung, Körperhöhlenergüsse, ventrikuläre

Extrasystolen und neurologische Veränderungen, wie epileptiforme Anfälle und Paralysen. Außerdem wurden auch respiratorische Symptome, Dysphagie und geschwollene Lymphknoten bei zwei Pferden infolge einer *A. phagocytophilum*-Infektion beschrieben (Adaszek et al., 2009; Burgess et al., 2012; Deane et al., 2021; Gussmann et al., 2014; Hilton et al., 2008; Nolen-Walston et al., 2004; Pusterla & Madigan, 2013b; Reubel et al., 1998; Uehlinger et al., 2011).

Bei Hengsten kann es zur Schwellung der Hoden ohne Beteiligung des Skrotums oder des Präputiums kommen (Gribble, 1969).

Bei trächtigen Stuten kann die klinische Ausprägung der Erkrankung sehr stark variieren und alle bereits genannten Symptome können in verschiedenen Schweregraden auftreten, jedoch konnte bisher noch nie ein Abort infolge der experimentellen Infektion mit *A. phagocytophilum* festgestellt werden (Madigan & Gribble, 1987; Rikihisa, 2004).

Im Gegensatz zum Potomac Horse Fever, das durch die Infektion mit *Neorickettsia risticii* auftritt, gibt es beim Krankheitsbild von EGA keine Berichte von Hufrehe (Madigan & Gribble, 1987).

### **2.5.1.3. Beeinflussende Faktoren**

Der Schweregrad der klinischen Erkrankung bei der EGA ist abhängig vom Alter des Tieres und der Dauer der Erkrankung. Adulte Pferde ab einem Alter von vier Jahren entwickeln die charakteristischen progressiven Symptome der EGA wie Fieber, Apathie, partielle oder komplette Anorexie, Bewegungsunlust, Ödeme an den Gliedmaßen, Hämorrhagien auf den Schleimhäuten, Ikterus und Ataxie. Es müssen jedoch nicht alle der genannten Symptome zusammen auftreten (Gribble, 1969; Madigan & Gribble, 1987).

Jüngere Pferde unter vier Jahren weisen generell eine eher mildere Symptomatik auf. Sie entwickeln meist nur moderates Fieber, Apathie, geringgradige Gliedmaßenödeme und Ataxie (Gribble, 1969; Madigan & Gribble, 1987).

Bei Pferden, die jünger als ein Jahr sind, kann es oft schwierig sein, die EGA als solche zu erkennen, weil sich die Erkrankung bei ihnen klinisch nur durch das Vorhandensein von Fieber äußerlich zu erkennen gibt. Das Allgemeinbefinden und die Fresslust bleiben weitgehend unverändert (Gribble, 1969; Madigan & Gribble, 1987).

#### **2.5.1.4. Verlauf**

Bei der EGA handelt sich in der Regel um eine selbstlimitierende Erkrankung, die auch ohne Behandlung meist von selbst ausheilt. Die klinischen Symptome sind durchschnittlich für sieben bis 14 Tage präsent, wobei es im Laufe der Erkrankung zu einer stetigen Verbesserung der Symptomatik kommt. Schwerere Symptome, sowie die Bildung von Ödemen an den Gliedmaßen, entwickeln sich meist erst ab dem dritten bis fünften Tag der Erkrankung und werden weiterhin begleitet von Fieber und allgemeiner Schwäche (Gribble, 1969; Madigan & Gribble, 1987; Pusterla & Madigan, 2013a).

Die Letalität ist im Allgemeinen gering. Nur in Ausnahmefällen, wie zum Beispiel durch sekundäre bakterielle Infektionen oder schweren Verletzungen infolge starker Schwäche oder Inkoordination, kommt es zum fatalen Verlauf der Erkrankung (Madigan, 1993; Madigan & Gribble, 1987; Rikihisa, 2004). Butler et al (2008) beschrieb jedoch einen Fall von EGA, bei der ein vier Jahre altes Pferd trotz adäquater Behandlung infolge der Infektion verstarb (Butler et al., 2008). Ein weiterer fataler Fall von EGA wurde von Franzén et al. (2007) beschrieben, bei der die pathologischen Befunde auf disseminierte intravasale Gerinnungen als Todesursache hindeuteten (Franzén et al., 2007).

#### **2.5.1.5. Subklinische Infektion**

Studien zeigen, dass Pferde aus endemischen Regionen eine höhere Prävalenz an seropositiven Pferden (10,4 %) haben als Pferde aus nicht-endemischen Gebieten (3,1 %). Dies wurde bei einer Serumantikörperbestimmung mit Hilfe von indirekter Immunfluoreszenz getestet. Daraus wurde abgeleitet, dass es in endemischen Gebieten zur Entwicklung subklinischer Infektionen kommen kann (Madigan et al., 1990).

#### **2.5.1.6. Chronische Form der Erkrankung**

Chang et al. (1998) konnte mittels PCR 38 Tage nach einer experimentellen Infektion in schlecht durchblutetem Gewebe DNA von *A. phagocytophilum* detektieren.

Bis jetzt gibt es keine Hinweise auf chronische Verläufe der EGA (Stuen et al., 2013a). Jedoch konnte Erregermaterial noch 38 Tage nach experimenteller Infektion (Chang et al., 1998) bzw. 129 Tage nach der akuten Infektion ohne typische klinische, labordiagnostische oder pathologischen Veränderungen festgestellt werden (Franzén et al., 2009).

## 2.5.2. Labordiagnostische Befunde

Die EGA geht auch mit charakteristischen labordiagnostischen Veränderungen einher, dabei ist vor allem das Blutbild verändert. Typischerweise treten Leukopenie, Thrombozytopenie, Anämie und Ikterus auf. Zusätzlich werden im Blutausstrich in neutrophilen und eosinophilen Granulozyten intrazytoplasmatische Einschlusskörperchen sichtbar (s.a. Kapitel „Diagnostik“) (Madigan & Gribble, 1987).

Auftretende Veränderungen in der Blutchemie beinhalten unter anderem Hyperbilirubinämie, Hyperfibrinogenämie, Hypalbuminämie und Azotämie (Franzén et al., 2005; Madigan & Gribble, 1987; Schusser et al., 2007).

### 2.5.2.1. Hämatologie

Zunächst sinken die Lymphozyten in den ersten zwei Tagen der febrilen Phase abrupt ab und bleiben dann für fünf bis sechs Tage auf niedrigem Niveau. Die Anzahl der neutrophilen Granulozyten verringert sich auch, aber dies geschieht um einiges langsamer als bei den Lymphozyten. Ihren Tiefpunkt erreichen die Neutrophilen am vierten bis sechsten Tag der Erkrankung. Manchmal kommt es auch vor, dass sich in den ersten zwei Tagen der Erkrankung vor der Neutropenie eine Neutrophilie entwickelt (Gribble, 1969). Die Leukopenie ist wahrscheinlich eine Folge der Schädigung des Knochenmarks und der Sequestration infizierter Granulozyten (Lepidi et al., 2000; Madigan, 1993).

Eine Thrombozytopenie entwickelt sich meist am vierten Tag und bleibt dann bis zum 12. Tag erhalten. Dabei geht die Erniedrigung der Thrombozytenzahl der Entwicklung eines Ödems um ungefähr einen Tag voraus. Die Rückbildung des Ödems wiederum geht dem Ansteigen der Thrombozyten in den physiologischen Referenzbereich um einen Tag voraus (Gribble, 1969). Der Mangel an Thrombozyten führt zu einem äußerlich erkennbaren Symptom, nämlich zur Entstehung von Einblutungen in die Schleimhaut. Dabei handelt es sich hauptsächlich um Petechien und Ekchymosen an der Nasenscheidewand, den inneren Schleimhäuten der Lippen sowie am Zahnfleisch (Dziegiel et al., 2013).

Der Hämatokrit sinkt bei einer Infektion mit *A. phagocytophilum* häufig unter den physiologischen Referenzbereich. Dabei handelt es sich wahrscheinlich um eine aregenerative Form der Anämie, da es durch die Pathogenitätsmechanismen des Erregers zur Knochenmarkshypoplasie kommt (Madigan et al., 1996; Madigan & Gribble, 1987). Die

verminderte Anzahl an roten Blutkörperchen im Blut korreliert stark mit dem Anstieg von Bilirubin im Blut (Gribble, 1969).

#### **2.5.2.2. Blutchemie**

Das Bilirubin im Blutserum ist für gewöhnlich um den dritten bis sechsten Tag im Blut erhöht und sinkt ab dem neunten Tag wieder in den physiologischen Referenzbereich ab (Gribble, 1969). Die Erhöhung der Bilirubinkonzentration im Blut könnte einerseits infolge der Anorexie als Inanitionsikterus auftreten oder infolge der zahlreichenden Hämorrhagien und Blutungen (Schusser et al., 2007).

Harnstoff- und Kreatinin-Werte im Serum sind bei EGA typischerweise erhöht (Adaszek et al., 2009; Lepidi et al., 2000; Reubel et al., 1998; Silaghi et al., 2011).

Die Konzentration von Fibrinogen im Plasma kann erhöht sein (Adaszek et al., 2009; Berrington et al., 1996; Franzén et al., 2005; Schusser et al., 2007), aber in vielen Fällen bleibt sie im physiologischen Referenzbereich (Pusterla et al., 1998b).

Zusätzlich tritt manchmal auch eine Proteinurie auf (Lepidi et al., 2000). Zu den beobachteten Veränderungen bei Patienten mit HGA gehören eine Erhöhung der ALT und AST, Kreatinin, Laktatdehydrogenase (Li et al., 2011).

#### **2.5.3. Pathologie**

Bei der pathologischen Untersuchung gibt es eine Reihe von Befunden, die auf eine Erkrankung im Sinne der EGA hinweisend sind (Gribble, 1969).

##### **2.5.3.1. Makroskopische Untersuchungen**

Charakteristische pathologische Läsionen, die makroskopisch ins Auge fallen, sind Ödeme und Hämorrhagien. Ödeme sind am häufigsten an den distalen Gliedmaßen zu finden, aber auch an der ventralen Bauchwand und am Präputium. Sie spiegeln in Ausprägungsgrad und Lokalisation die Verhältnisse *ante mortem* wider. Das Ausmaß der Ödeme reicht von leichter Nässe des Gewebes bis zu Abfließen von Flüssigkeit aus dem Gewebe bei Inzision durch Haut und Faszie. Hämorrhagien treten häufig in Form von Ekchymosen und Petechien auf. Diese können schon bei der klinischen Untersuchung erkennbar auf Schleimhäuten oder dann bei der Sektion auf den serösen Häuten zu finden sein. Bei der pathologischen Befundung

sind die Blutungen hauptsächlich im subkutanem Gewebe, in Faszien und im Epimysium der distalen Gliedmaßen aufzufinden (Franzén et al., 2007; Gribble, 1969; Lepidi et al., 2000).

Weitere möglicherweise auftretende pathologische Befunde sind vermehrte Peritoneal- oder Perikardialflüssigkeit, ikterische Verfärbung des Kadavers und bei Hengsten, nahezu immer auftretend, Orchitis. Außerdem kann es bei Pferden durch eine chronische bakterielle Sekundärinfektion zu einer Verschlimmerung der schon zuvor bestehenden Läsionen kommen, die zu Bronchopneumonie, Arthritis, Perikarditis, Lymphadenitis oder Zellulitis führen kann (Gribble, 1969).

### **2.5.3.2. Histologische Untersuchungen**

Bei genauerer histologischer Betrachtung sind Entzündungen der kleinen Blutgefäße in Subkutis, Faszien und Nerven der Gliedmaßen erkennbar. Auch in Ovarien, Hoden und im Plexus pampiniformis kann man derartige Läsionen finden. Die auftretende Vaskulitis wird als proliferativ und nekrotisierend beschrieben. Sie geht mit Schwellungen der Endothel- und glatten Muskelzellen, sowie mit zellulären Thrombosen einher. Um die entzündeten Gefäßstrukturen kommt es zu perivaskulären Ansammlungen primär von Monozyten und Lymphozyten, aber auch neutrophile und eosinophile Granulozyten sind in einem geringeren Ausmaß daran beteiligt (Gribble, 1969). In manchen Fällen wurde von solchen milden entzündlichen vaskulären oder interstitiellen Läsionen auch in inneren Organen wie in den Nieren, in der Milz, Leber, im Gehirn, im Herzen oder in den Lungen berichtet. Dies lässt vermuten, dass es bei einem schweren generalisierten Geschehen zu einer Entwicklung von multiplen Organversagen kommen könnte (Franzén et al., 2007; Lepidi et al., 2000).

Es wird angenommen, dass myokardiale Vaskulitis für das Auftreten von ventrikulärer Tachykardie und ventrikulären Extrasystolen im Zuge einer Erkrankung mit EGA in manchen Fällen verantwortlich ist (Gribble, 1969).

Die Ausprägung der Pathologien ist, analog zum klinischen Verlauf (s. oben), bei Pferden jünger als fünf Jahre milder als bei älteren Pferden (Ziemer et al., 1987).

### **2.5.4. Diagnostik**

Um zur richtigen Diagnose zu kommen, ist das korrekte Vorgehen unabdingbar. In der Humanmedizin wurde ein eigenes Schema für die Diagnostik von HGA entwickelt, welches durchaus auch als Leitfaden für die EGA Anwendung findet (Bakken & Dumler, 2008):

1. Es müssen charakteristische, in der Literatur für diese Erkrankung beschriebene, klinische und labordiagnostische Veränderungen auftreten,

UND

2. es müssen mikroskopisch Einschlusskörperchen in den neutrophilen und eosinophilen Granulozyten nachgewiesen werden, sowie ein einmalig positiver Antikörperspiegel für *A. phagocytophilum* nachweisbar sein,

ODER

3. es muss ein vierfacher Antikörpertiter-Anstieg mittels einer gepaarten Serumprobe im Abstand von 4 Wochen nachgewiesen werden,

ODER

4. der PCR-Nachweis auf *A. phagocytophilum* ist positiv,

ODER

5. aus dem Blut des Patienten wird (mittels Zellkultur) erfolgreich *A. phagocytophilum* isoliert.

In der Veterinärmedizin ist aber oft eine so umfangreiche Diagnostik nicht verfügbar oder aus Kostengründen nicht durchführbar.

Auch Silaghi und Koautor:innen haben diese Vorgehensweise für die Diagnostik der EGA beschrieben, welche in den folgenden Kapiteln noch ausführlicher beschrieben wird (Silaghi et al., 2017).

#### **2.5.4.1. Anamnese und Klinik**

Zuerst wird eine epizootische Anamnese erhoben. Dabei werden Aspekte wie jahreszeitliches, regionales typisches Auftreten der Erkrankung und mögliche vorangegangene Zeckenexposition berücksichtigt (Amusátegui et al., 2006; Gehlen et al., 2021).

Hinweisend sind dabei ein Aufenthalt in einem endemischen Gebiet oder Ausritte in diesen Gebieten in den letzten 10 bis 14 Tagen, Zeckenexposition und danach auftretendes Fieber (Madigan, 2021). Des Weiteren werden klinische und labordiagnostische Veränderungen befundet (Amusátegui et al., 2006).

Um den Erreger im lebenden Tier nachweisen zu können, unterscheidet man direkte und indirekte Arten des Erregernachweises. Bei den direkten Erregernachweisarten unterscheidet man zwischen dem mikroskopischen Nachweis im Blutaussstrich, PCR und Kultivierung des

Erregers in Zelllinien. Zu den indirekten Erregernachweisarten gehören verschiedene Antikörpernachweise wie Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA), sowie der Indirekte Immunofluoreszenztest (IIFT) (Gehlen et al., 2021; Madigan & Pusterla, 2015).

#### **2.5.4.2. Direkter Erregernachweis**

Die direkten Erregernachweisverfahren werden gegenüber den indirekten Methoden bevorzugt, da man nur so bei einer akuten Erkrankung den Erreger sofort identifizieren und zeitgerecht eine adäquate Behandlung einleiten kann (Pusterla & Madigan, 2013a).

##### **Blutausstrich**

Die mikroskopische Untersuchung eines Blutausstriches mittels Lichtmikroskop ist die bevorzugte Methode, um in der akuten Phase der Erkrankung eine Infektion mit *A. phagocytophilum* nachzuweisen. Dies galt früher als Goldstandard der EGA-Diagnostik, wurde aber mittlerweile von der Diagnose mittels PCR abgelöst (Gribble, 1969; Pusterla et al., 1998a; Sells et al., 1976; Silaghi et al., 2017).

Das Auftreten von intrazytoplasmatischen Einschlusskörperchen in neutrophilen und eosinophilen Granulozyten korreliert sehr nahe mit dem Beginn der akuten oder febrilen Phase der Erkrankung. Diese beginnt etwa zwei bis vier Tage nach der Infektion (Adaszek & Winiarczyk, 2011; Barlough et al., 1995; Gribble, 1969).

Die Einschlusskörperchen können über einen Zeitraum von ein bis 15 Tagen festgestellt werden. Durchschnittlich sind sie 9,4 Tage im Blut nachweisbar. Der Anteil an infizierten Granulozyten bewegt sich zwischen 0,5-73,0 %; meist sind rund ein Drittel der Granulozyten infiziert. In den ersten Tagen *post infectionem* beträgt der Anteil unter 1 %, aber steigt dann rapide an und am 3. bis 5. Tag erreicht der Anteil an infizierten Granulozyten ihren Höhepunkt mit 20-50 % (Berrington et al., 1996; Franzén et al., 2005; Gribble, 1969; Pusterla & Madigan, 2013a; Uehlinger et al., 2011). Um die Morulae im Blutausstrich nachweisen zu können, muss der Blutausstrich vor dem Mikroskopieren gefärbt werden. Bevorzugte Färbemethoden sind die Giemsa-, Wright-Leishman-, Romanowsky- und Diff-Quick-Färbungen. Gefärbt lassen sich die in den intrazytoplasmatischen Vakuolen parasitierenden Erreger als dunkelblaue-violette bis blass blau-graue, kokkoide bis pleomorphe Bakterien darstellen. Die Organismen können eine Größe von 0,2 - 5 µm im Durchmesser annehmen. Sie sind entweder einzeln oder in großen granulären Strukturen angeordnet, in membranumhüllten Vakuolen (Morulae) sichtbar

(Gribble, 1969; Madigan & Gribble, 1987; Pusterla et al., 1998a; Selbitz et al., 2015a; Sells et al., 1976).

Da die Patienten in der akuten Erkrankungsphase eine deutliche Leukopenie aufweisen, kann es mitunter schwierig sein, infizierte Granulozyten zu finden. Um die Trefferquote zu erhöhen, kann man auch einen Ausstrich des Buffycoats anfertigen. Da sich im Buffycoat die Leukozyten konzentrieren, erhöht man bei solch einem Ausstrich die Chance, infizierte Granulozyten zu erkennen (Madigan & Gribble, 1987; Madigan & Pusterla, 2015; Silaghi et al., 2017).

Der Nachweis kann als positiv gewertet werden, wenn mehr als drei charakteristische Einschlusskörperchen in den Granulozyten im Blutausstrich gefunden werden. Damit ist die Diagnose eindeutig (Gribble, 1969; Madigan & Gribble, 1987; Pusterla & Madigan, 2013a).

Diese Nachweismethode ist nicht geeignet für den sehr frühen Erregernachweis in den ersten zwei Tagen *post infectionem*, sowie nach der akuten Phase. Außerdem können bei diesem Nachweisverfahren subjektive Fehler auftreten, welche sowohl zu einem falsch-positiven als auch zu einem falsch-negativen Ergebnis führen können (Engvall et al., 1996; Schotthoefler et al., 2013). Außerdem ist auch der Erregernachweis direkt nach Therapiebeginn mit dieser Methode schwierig. Schon 48 bis 72 Stunden nach der ersten Antibiotikagabe sind die Morulae im Blut komplett verschwunden (Madigan & Gribble, 1987; Pusterla & Madigan, 2013a).

Aufgrund der eben genannten begrenzten zeitlichen Anwendungsmöglichkeiten, sowie der geringen Anzahl an im Blut zirkulierenden infizierten Zellen und subjektiv auftretenden Fehler bei der mikroskopischen Diagnostik, gilt der Nachweis mittels Blutausstrich als weniger sensitiv und spezifisch als der PCR-Nachweis (Schotthoefler et al., 2013; Silaghi et al., 2017).

### **PCR**

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wird zum derzeitigen Stand als Goldstandard der EGA-Diagnostik angesehen, da diese Methode eine sehr hohe Sensitivität und Spezifität aufweist (Barlough et al., 1996; Drazenovich et al., 2006; Pusterla et al., 1999a; Silaghi et al., 2017).

Außerdem ist der PCR-Test fähig, über einen längeren Zeitraum eine Infektion mit *A. phagocytophilum* nachzuweisen als andere Verfahren (Schotthoefler et al., 2013). Sie wird gegenüber dem direkt mikroskopischen Nachweis im Blutausstrich vor allem in sehr frühen Phasen der Erkrankung, bevor Morulae im Blut sichtbar werden, und in Endstadien, wenn die Morulae größtenteils schon wieder aus dem Blut verschwunden sind, bevorzugt angewendet (Franzén et al., 2005; Pusterla & Madigan, 2013a).

Mit dieser Methode lassen sich also auch retrospektiv Infektionen mit *A. phagocytophilum* in einem gewissen Zeitraum nach der akuten Erkrankung und auch subklinische Infektionen nachweisen (Adaszek et al., 2009, 2013; Chang et al., 1998; Franzén et al., 2009; Madigan et al., 1996).

Laut Schotthoefler et al (2013) ist der zuverlässige Detektionszeitraum mittels PCR auf maximal 30 Tage beschränkt und damit deutlich größer als der für den positiven Nachweis mittels Blutaussstrich, der sich auf maximal 14 Tage beläuft (Schotthoefler et al., 2013). Franzén et al (2009) gelang es jedoch eine *A. phagocytophilum*-Infektion weit außerhalb dieses Zeitrahmens in einem Pferd zu detektieren, und zwar bis zu vier Monate *post infectionem* (Franzén et al., 2009).

Das Prinzip der PCR-Diagnostik basiert auf der Vervielfältigung einer bestimmten Nukleinsäuresequenz der DNA eines Erregers, die für diesen Erreger charakteristisch ist. Zuerst wird die doppelsträngige DNA des Probenmaterials mittels Erhitzung in Einzelstränge aufgebrochen. Für die Durchführung einer PCR werden spezifische Primer für den jeweils zu identifizierende Erreger benötigt. Diese binden an das zu amplifizierende Genfragment, damit die Polymerase dort ansetzen und folglich auch arbeiten kann. Dieser Vorgang wird mehrere Male wiederholt, bis eine ausreichende Menge des amplifizierten DNA-Segments vorhanden ist, das detektiert werden kann. Danach wird das Produkt der PCR mittels Gelelektrophorese nach Größe im Vergleich zu einem Marker aufgetrennt. Dies geschieht, indem das PCR-Produkt auf ein Agarosegel aufgetragen und unter Spannung gesetzt wird. Die negativ geladenen DNA-Fragmente wandern dabei Richtung Anode, wobei kleine Teilchen schneller wandern als große. Durch die Auftrennung entstehen charakteristische Banden, welche dann mittels fluoreszierender Farbstoffe gefärbt und unter UV-Licht sichtbar gemacht werden. Dieses Endprodukt dient, dann zur Identifikation des Erregers (Alberts et al., 2017).

Durch die PCR-Methode und die anschließende Sequenzierung lassen sich wichtige epidemiologische und taxonomische Informationen gewinnen. Man kann mittels PCR z.B. beim Hund eine Infektion mit *A. phagocytophilum* von einer mit *Ehrlichia ewingii* (Erreger der kaninen granulozytären Ehrlichiose) unterscheiden, was wegen der Bildung von identischen Morulae beider Pathogene in neutrophilen Granulozyten im Blutaussstrich nicht gelingt (Łukaszewska, 2008). Auch beim Pferd lassen sich bei ähnlichem klinischen Erscheinungsbild oder ähnlichen Einschlusskörperchen im Blut verschiedene Erreger via PCR-Methode unterscheiden bzw. eindeutig nachweisen (Engvall et al., 1996).

Ein weiterer Vorteil dieser Methode gegenüber den anderen ist, dass man gleichzeitig auf mehrere Erreger untersuchen kann und somit Coinfektionen oder Infektionen mit ähnlichen Pathogenen detektieren kann (Schotthoefer et al., 2013).

Im Bereich der PCR-Diagnostik wurden mehrere verschiedene Assays entwickelt, die sich alle gut eignen, um in verschiedenen Wirten eine Infektion mit *A. phagocytophilum* nachzuweisen. Dazu zählen die konventionelle PCR, die Nested-PCR und die quantitative Real-Time-PCRs (Barlough et al., 1996; Drazenovich et al., 2006; Pusterla et al., 1999a). Diese basieren hauptsächlich auf Grundlage von 16S rRNA, groEL, und p44 Genen (Alberti et al., 2005; Chen et al., 1994; Courtney et al., 2004; Silaghi et al., 2017).

Bei der Nested-PCR wird ein Teil des Produktes aus der PCR in eine zweite PCR-Reaktion überführt, wobei die Primer dann innerhalb des ersten Zielsequenz binden. Somit entsteht ein weiteres, kleineres Amplikon und diese Methode ist aufgrund der Doppelamplifikation sensitiver und spezifischer als die kommerzielle PCR, jedoch weist sie auch ein höheres Kontaminationsrisiko auf (Selbitz et al., 2015). Mit der Nested-PCR kann das 16S rRNA-Gen von *A. phagocytophilum* sowohl in Pferdeblut als auch in infizierten Zecken detektiert werden. Barlough et al. (1996) gelang es mittels der Nested-PCR, genetisches Material von *A. phagocytophilum* im Blut eines Pferdes neun Tage nach der Infektion, einen Tag nach dem Einsetzen von Fieber und zwei Tage vor der ersten Sichtung von Morulae im Blutaussstrich zu detektieren. Somit ist diese Methode die bisher sensitivste aller diagnostischen Verfahren (Barlough et al., 1996).

Die Real-Time-PCR ist eine weiterentwickelte Form der PCR. Bei dieser Form der PCR entsteht das fluoreszierende Signal schon bei der Amplifikation des DNA-Segments durch spezifisch ansetzende, fluoreszenzmarkierte Sonden. Dies hat den Vorteil, dass es gegenüber der klassische PCR zeiteffizienter ist und dass nicht nur ein qualitativer, sondern auch ein quantitativer Erregernachweis möglich ist (Moritz et al., 2014). Im Vergleich zur Nested-PCR erzielt sie ebenso eine hohe Sensitivität und Spezifität, jedoch ist die Kontaminationsgefahr wesentlich geringer (Selbitz et al., 2015).

Neben Vollblut eignen sich auch Leukozytenanreicherungen (Buffycoat), Knochenmark und Milzgewebe als Untersuchungsmaterial (Dziegiel et al., 2013).

### **In vitro Kultivierung**

Anaplasmen können, da sie obligat intrazelluläre Bakterien sind, nur in zellbasierten Nährmedien kultiviert werden. Zu den speziellen Zelllinien, in denen sich *A. phagocytophilum*

kultivieren lässt, zählen unter anderem humane myeloide Leukämie-Zellen (THP-alpha, HL-60, KG-1), Ovarienzellen vom Chinesischen Zwerghamstern (*Cricetulus griseus*) sowie sehr langsam wachsende Zeckenzelllinien (IDE8) (Dumler et al., 2001; Goodman et al., 1996; Munderloh et al., 1996).

Diese *in vitro* Kultivierung ist mit sehr hohen Kosten und Zeitaufwand verbunden, wird nur von speziell dafür ausgestatteten Labors durchgeführt und ist in der Praxis nur von geringem diagnostischem Nutzen. Deswegen wird sie kaum in der veterinärmedizinischen Routinediagnostik verwendet (Goodman et al., 1996; Munderloh et al., 1996). In der Humanmedizin hingegen wird diese Art des Erregernachweises sehr wohl routinemäßig eingesetzt (Engvall et al., 1996; Rikihisa, 2004).

#### **2.5.4.3. Indirekter Erregernachweis**

Zu den geläufigsten indirekten Nachweisverfahren zählen der Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), sowie der Indirekte Immunfluoreszenz-Antikörpertest (IIFT) (Gehlen et al., 2021; Magnarelli et al., 2001).

Diese Nachweismethoden eignen sich am besten in der Rekonvaleszenzphase der Erkrankung, um eine stattgefunden Infektion festzustellen (Amusátegui et al., 2006; Magnarelli et al., 2000; Schotthoefler et al., 2013).

Das Prinzip der indirekten Erregernachweisverfahren beruht auf der Detektion von spezifischen Antikörpern gegen den Erreger im Blutserum. Die Detektion geschieht mittels Antigen-Antikörper-Reaktion (Selbitz et al., 2015). Die Bildung von Antikörpern beginnt etwa 14 Tage nach Infektion. Somit ist ein positiver Antikörpernachweis erst ab dem 14. Tag, danach aber bis zu zwei Jahre nach einer *A. phagocytophilum*-Infektion möglich (Franzén et al., 2005; Madigan & Gribble, 1987). Laut der Studie von Van Andel et al. (1998) steigt die Konzentration von Antikörpern im Blut ab dem 19. bis zum 81. Tag *post infectionem* an, ist davor niedrig und erreicht ihren Spitzenwert um den 46. Tag herum (Van Andel et al., 1998).

Der alleinige, einmalige Nachweis von Antikörpern ist nicht ausreichend für eine eindeutige Diagnosestellung einer akuten Erkrankung mit *A. phagocytophilum* und hat somit nur eine geringe diagnostische Bedeutung (Engvall et al., 1996; Rikihisa, 1991). Der indirekte Erregernachweis gilt erst dann als eindeutig positiv, wenn der Antikörpertiter bei gepaarten Serumproben im Abstand von vier Wochen einen signifikanten Anstieg um das Vierfache oder mehr zeigt (Madigan et al., 1990).

Das Einsatzgebiet der indirekten Erregernachweismethoden beschränkt sich also fast ausschließlich auf retrospektive Diagnostik in Form eines Krankheits-Überwachungsprogramms und ist für die Therapieentscheidung in der akuten Phase der Erkrankung eher unbedeutend (Madigan et al., 1990; Pusterla & Madigan, 2013a; Schotthoefer et al., 2013; Van Andel et al., 1998). Es wird auch eher auf Herdenebene verwendet als für die Einzeltierdiagnostik (Selbitz et al., 2015).

Auch bei dieser Untersuchungsmethode sind falsch negative Ergebnisse möglich, wenn man den Untersuchungszeitpunkt zu früh wählt und noch keine Serokonversion stattgefunden hat und somit noch keine oder nicht ausreichend Antikörper gebildet wurden. In diesem Fall wäre die PCR die Methode der Wahl (Engvall et al., 1996). Außerdem kann es bei einer Infektion mit anderen Anaplasmataceae zu einer Kreuzreaktivität der Antikörper kommen (Nicholson et al., 1997).

Im Bereich der serologischen Diagnostik gilt der IIFT als Goldstandard zum Nachweis von Antikörpern gegen *A. phagocytophilum* bei Pferden (Nyindo et al., 1978; Rikihisa, 1991). Zur Herstellung von Antigen wird zuerst eine Zellkultur mit *A. phagocytophilum*, infiziert. Danach werden die untersuchenden Seren auf jene Zellen gegeben. Nach einem Waschschrift wird ein Sekundärantikörper, der mit Fluoreszenzfarbstoff markiert ist, zugegeben. Dieser soll an die gebundenen Antikörper aus dem untersuchten Serum binden. Anschließend wird das Ergebnis dann unter dem Fluoreszenzmikroskop mikroskopisch beurteilt (Selbitz et al., 2015).

Der (indirekte) ELISA ist auch ein häufig verwendetes Verfahren, um Antikörper gegen verschiedenste Erreger nachzuweisen. Das Prinzip des ELISAs ist ähnlich dem des IIFT. Auch hier kommt es wieder zu einer Antigen-Antikörper-Bindung sowie eine damit verbunden Farbreaktion. Es werden hierbei jedoch mit Antigen beschickte Mikrotiterplatten verwendet. Als Antigen werden die Zellen des Buffycoats verwendet (Nyindo et al., 1978). Hier ist eine Automatisierung dieses Verfahrens möglich, was die Untersuchung großer Mengen zu testenden Blutest erlaubt. Die Auswertung der Farbsignale geschieht fotometrisch (Selbitz et al., 2015).

Im Vergleich zum IIFT weisen kommerziell erhältliche ELISAs eine teilweise etwas geringere relative Sensitivität, aber eine gleich hohe relative Spezifität auf (Veronesi et al., 2014).

Es wurden eine Vielzahl unterschiedlicher ELISA-Tests entwickelt (Alleman et al., 2006; Magnarelli et al., 2001; Ravyn et al., 1998; Woldehiwet & Yavari, 2012). Kommerziell erhältliche ELISAs wie der Snap 4Dx<sup>®</sup>-Test sind schnell in der Ordination durchzuführen und

sind für das Monitoring von Pferdepopulationen im Sinne einer epidemiologischen Untersuchung gut anwendbar, aber für die akute Diagnostik der EGA in der Pferdepraxis nur von geringer Relevanz (Hansen et al., 2010; Veronesi et al., 2014).

Als weitere Möglichkeit des indirekten Erregernachweises gibt es noch den Leukozytenmigration-Inhibitions-Test (LMI-Test), der aber selten zur Anwendung kommt. Mit dessen Hilfe kann auch die zellvermittelte Immunabwehr gemessen werden (Nyindo et al., 1978).

### **2.5.5. Differentialdiagnosen**

Da die klinischen Symptome eher unspezifisch sind, kann die Diagnose der EGA nicht allein aufgrund der klinischen Befunde gestellt werden, sondern es müssen noch weitere diagnostische Schritte erfolgen. Differentialdiagnostisch müssen Erkrankungen mit einem ähnlichen Krankheitsbild ausgeschlossen werden. Zu den Krankheiten, die in Betracht gezogen werden müssen, gehören vor allem Viruserkrankungen. Auszuschließen sind Lebererkrankungen, Purpura haemorrhagica, Morbus maculosus, Equine Lyme-Borreliose, Piroplasmose, Potomac Horse Fever, Equine Infektiöse Anämie, Equine Virale Arteriitis und virale Enzephalitiden verschiedener Genese (Lepidi et al., 2000; Lewis et al., 2009; Madigan & Gribble, 1987; Pusterla & Madigan, 2013a; Silaghi et al., 2011b).

## **2.6. Therapie und Prophylaxe**

### **2.6.1. Antibiotika**

Obwohl es sich bei der EGA in der Regel um eine selbstlimitierende Erkrankung handelt, ist die zeitgerechte Einleitung einer adäquaten Therapie notwendig, um die Schwere der Symptome und die Erkrankungsdauer zu verringern. Ohne Therapie würden die Pferde innerhalb von zwei bis drei Wochen genesen, jedoch sind Gewichtsverlust, Ödeme und Ataxie bei unbehandelten Patienten stärker ausgeprägt und von längerer Dauer (Madigan & Gribble, 1987; Madigan & Pusterla, 2015).

Eine signifikante Verkürzung der Erkrankungsdauer und Milderung der Symptome kann mittels Antibiotikatherapie erreicht werden (Gehlen et al., 2021). Die Antibiotikagruppe der Wahl sind Tetrazykline, da diese auch intrazellulär wirksam sind, somit lassen sich obligat intrazelluläre Bakterien wie Anaplasmen zielführend behandeln. Ihr Wirkmechanismus basiert darauf, die Proteinsynthese der Bakterien zu blockieren, indem sie an die 30S-Untereinheit der bakteriellen Ribosomen binden (Madigan, 1993; Maurin et al., 2003).

In Folge der Behandlung mit Tetrazyklinen kann es zu verschiedenen Nebenwirkungen kommen. Es können perivaskuläre Schwellungen im Bereich der Einstichstelle sowie hepato- und neurotoxische Effekte infolge einer Langzeittherapie auftreten. Des Weiteren haben antibiotische Behandlungen eine immunsuppressive Wirkung und können zu gastrointestinalen Problemen wie Durchfall oder zu Verfärbungen des Zahnschmelzes führen (Fatro, 2020; Klein et al., 1997b; Lewis et al., 2009; Maurin et al., 2003).

Bei Jungtieren im Wachstum kann es zu Verfärbungen von Knochen und Zähnen kommen, und bei hohen Dosierungen oder Verabreichung über längere Zeit können Knochenwachstum oder -heilung verzögert werden. Auch bei Föten kann es zu Zahnverfärbungen und Entwicklungsstörungen des fetalen Skelettes kommen. Deshalb sollten Tetrazykline nur in der zweiten Hälfte der Trächtigkeit an Stuten verabreicht werden. In sehr seltenen Fällen kann es zu einer Überempfindlichkeitsreaktion im Sinne einer Allergie kommen (Fatro, 2020; Plumb, 1999).

#### **2.6.1.1. Oxytetracyclin**

Aus der Gruppe der Tetrazykline wird bevorzugt Oxytetracyclin verwendet (Adaszek et al., 2009; Adaszek & Winiarczyk, 2011; Butler et al., 2008; Jahn et al., 2010; Lewis et al., 2009; Madigan & Gribble, 1987; Pusterla et al., 1998a, 1999a; Scarpulla et al., 2003). Es gibt mehrere verschiedene Behandlungsregimes, die sich laut verschiedenen Studien als wirksam erwiesen haben. Pusterla et al. (1998) verwendete bei einer zwölf Jahre alten Stute Oxytetracyclin in einer Dosierung von 10 mg/kg einmal täglich i. v. für eine Behandlungsdauer von fünf Tagen (Pusterla et al., 1998a). Auch Adaszek et al. (2009) bestätigte die Effektivität des Antibiotikums in der von Pusterla et al. (1998) gewählten Dosierung. Adaszek et al. (2009) behandelte Stuten im Alter von vier bis fünf Jahren mit Oxytetracyclin mit dieser Dosierung zehn Tage lang erfolgreich (Adaszek et al., 2009). Weitere Studien von derselben Forschungsgruppe behandelten einen siebenjährigen Wallach mit 8 mg/kg Oxytetracyclin für sieben Tage und zusätzlich noch 20 mg/Pferd Dexamethason i.m. für drei Tage. Es kam dabei zum schrittweisen Zurückerlangen des Appetits und nach der Behandlung waren die Gliedmaßenödeme und Bewegungsprobleme verschwunden. Nach weiteren zwei Tagen waren keine neurologische Symptome mehr vorhanden und nach insgesamt zehn Tagen war das Pferd wieder vollständig genesen (Adaszek et al., 2009).

Die Behandlung einer akuten EGA mit einer intravenösen Applikation von 7 mg Oxytetracyclin /kg Körpergewicht einmal täglich über einen Zeitraum von fünf bis sieben Tagen hat sich als

äußerst effektiv erwiesen und wird allgemein als Behandlungsempfehlung angesehen (Hermann et al., 1985; Madigan & Gribble, 1987). Auch eine Behandlung mit 6,6 mg/kg alle zwölf bis 24 Stunden gilt als Dosierungsempfehlung (Van Erck & Lekeux, 2005).

Schon zwölf Stunden nach der ersten Applikation des Antibiotikums kommt es zur Besserung der klinischen Symptome und zur Steigerung der Fresslust. Innerhalb von 24 Stunden nach Behandlungsbeginn kommt es zu einer deutlichen Reduktion des Fiebers (Adaszek & Winiarczyk, 2011; Madigan & Gribble, 1987; Pusterla et al., 1998a). Falls das nicht der Fall ist und das Fieber immer noch unverändert hoch ist, sollte die Diagnose von *A. phagocytophilum* nochmals evaluiert werden, es könnte auch eine zusätzliche oder sekundäre Infektion vorhanden sein (Madigan & Gribble, 1987; Pusterla & Madigan, 2013a).

Klinische Symptome wie Ataxie verschwinden nach zwei bis drei Tagen, Ödeme jedoch brauchen einige Tage länger, um sich zurückzubilden. Einschlusskörperchen sind 48-72 Stunden nach Therapiebeginn komplett aus dem Blut verschwunden (Madigan & Gribble, 1987; Pusterla & Madigan, 2013a). Eine Verkürzung der Behandlungsdauer auf nur drei bis fünf Tage kann zu einem Rückfall der behandelten Pferde innerhalb von 30 Tagen führen. Deshalb wird eine Behandlungsdauer von sieben Tagen empfohlen (Madigan, 2021; Pusterla & Madigan, 2013a).

#### **2.6.1.2. Doxycyclin**

Ein weiteres Antibiotikum, das bei der Behandlung von EGA alternativ noch zur Anwendung kommen kann, ist Doxycyclin. *In vitro* zeigte sich Doxycyclin als äußerst effektiv gegen *A. phagocytophilum* (Maurin et al., 2003). Es wird in einer Dosierung von 10 mg/kg alle zwölf Stunden p. o. für eine Dauer von zehn bis 14 Tagen verabreicht (Lewis et al., 2009). In der Humanmedizin wird Doxycyclin vorrangig für die Behandlung von HGA eingesetzt, da es sich vor allem bei Behandlung von Menschen als sehr wirksam erwiesen hat (Bakken & Dumler, 2006; Maurin et al., 2003). Jedoch wird bei Equiden Oxytetracyclin gegenüber Doxycyclin bevorzugt, da es bei i. v. Applikation von Doxycyclin zu einer akuten toxischen Reaktion kommen kann, die in weiterer Folge zum Tod führen kann. Deshalb darf Doxycyclin bei Equiden nie parenteral angewendet werden (Rikihisa, 1991; Riviere & Spoo, 1995).

Auch eine Kombination beider Antibiotika ist möglich. Dabei wird zuerst zwei Tage lang einmal täglich Oxytetracyclin (7 mg/kg, i. v.) appliziert und danach für sieben bis zehn Tage Doxycyclin (10 mg/kg, p. o.) alle zwölf Stunden verabreicht (Pusterla & Madigan, 2013b).

Weitere *In-vitro*-Studien zeigen eine Sensibilität von *A. phagocytophilum* gegenüber Fluorchinolonen der neuen Generation und gegenüber Rifampicin (Klein et al., 1997b). Fluorchinolone können möglicherweise in Zukunft eine weitere Behandlungsalternative darstellen. Rifampicin zeigte neben Doxycyclin *in vitro* die stärkste bakteriostatische Wirkung und kann somit als weitere alternative Behandlungsmöglichkeit neben den bereits genannten Antibiotika gezählt werden (Maurin et al., 2003). Jedoch sollte dieses Antibiotikum nur als letzte Option in der Praxis zur Anwendung kommen, da bereits bei mehreren Ehrlichien-Populationen Resistenzen beschrieben wurden (Enright et al., 1998; Heep et al., 1999).

### 2.6.2. Unterstützende Therapie

Unterstützende Therapie ist bei schweren Fällen indiziert. Dies beinhaltet unter anderem Flüssigkeits- und Elektrolyttherapie, sowie Boxenruhe mit Stallgamaschen für schwer ataktische Patienten, bei denen Verletzungsgefahr besteht (Madigan & Gribble, 1987). Medikamentös können nicht-steroidale Antiphlogistika (NSAIDs) zur Fiebersenkung beisteuern (Adaszek et al., 2009; Dziegiel et al., 2013; Pusterla & Madigan, 2013a). Corticosteroide können zusätzlich zur Kontrolle einer hochgradigen autoimmun-hämolytischen Anämie appliziert werden, da sie die Produktion von roten Blutkörperchen im Knochenmark stimulieren und deren Membran stabilisieren (Peek, 2009). Dexamethason mindert durch seine anti-inflammatorische Wirkung Pathologien wie Vaskulitis und in weiterer Folge auch Ataxien und Gliedmaßenödeme, aber bei alleiniger Gabe kann es zur Verlängerung der Erkrankungsdauer kommen, deshalb sollte es immer nur in Kombination mit einem spezifisch wirksamen Antibiotikum gegeben werden (Davies et al., 2011; Madigan & Gribble, 1987; Madigan & Pusterla, 2015).

### 2.6.3. Prophylaxe

Der effektivste Weg, um eine Erkrankung durch *A. phagocytophilum* zu verhindern, wäre wohl eine Impfung, die jedoch nicht verfügbar ist. Es wird an einigen Impfstoffkandidaten geforscht, aber es ist bislang noch keine effektive Vakzine entwickelt worden (Dark et al., 2011; Ge & Rikihisa, 2006; Herron et al., 2005; Ijdo et al., 1998; Palmer et al., 2012). Prophylaktische Maßnahmen beschränken sich daher derzeit auf die Zeckenkontrolle und die Reduktion des Zeckenbefalls (Parola & Raoult, 2001).

Als Kontrollmaßnahmen gegen Zeckenbefall eignen sich grundsätzlich verschiedene Repellentien / Insektizide wie Pyrethroid-Produkte oder etwa Icaridin (Abdel-Ghaffar et al., 2015; Blagburn et al., 2004). Icaridin kommt vor allem im humanmedizinischen Bereich zum

Einsatz, kann jedoch unter Beachtung der arzneimittelrechtlichen Regelungen des jeweiligen Landes auch beim Pferd angewendet werden. Es bietet einen guten Schutz gegen verschiedenste Insekten, unter anderem gegen Zecken. Wegen der kurzen Wirksamkeit von maximal sechs Stunden ist der dauerhafte Schutz von Pferden in Weidehaltung nur schwierig zu erreichen (Abdel-Ghaffar et al., 2015; Dirks et al., 2021).

Pyrethroide haben eine systemische Wirkung und werden kutan angewendet, in Form von Bade-, Wasch-, Sprühlösungen, sowie als Spot-on oder Pour-on. Der Wirkstoff kann auch in Halsbändern für Hunde und Katzen oder in Ohrmarken für Nutztiere enthalten sein (Deplazes et al., 2021). In Deutschland sind Waschlösungen mit Permethrin fürs Pferd erhältlich, welche zum Schutz vor Fliegen angewendet werden, dennoch ist bis jetzt noch keine ausreichende Wirksamkeit gegen Zecken aufgezeigt worden. Ob ein Permethrin-Präparat gegen Zecken wirksam ist oder nicht, wird durch Expositionsdauer und Konzentration des jeweiligen Präparats bestimmt (Buczek et al., 2014; Intervet Deutschland GmbH, 2019; Pfister & Armstrong, 2016). Eine ausreichende Wirkung gegen Zecken bei Pferden ist jedoch für kein derzeit in der EU zugelassenes Pyrethroid-Produkt nachgewiesen. Es sind auch Pferdedecken mit Permethrin-Imprägnierung erhältlich. Zum jetzigen Zeitpunkt ist kein Pyrethroidpräparat in Österreich für Pferde zugelassen. Eine Umwidmung oder ein Import aus anderen EU-Ländern wäre daher erforderlich. Mit Phoxim-Waschlösungen (0,05%ig) können Pferde (nach Umwidmung eines Präparats für Wiederkäuer und Schweine) in einem Intervall von sieben Tagen gewaschen werden. Diese Anwendung soll einen gewissen Schutz vor Zeckenbefall bieten (Deplazes et al., 2021).

Weitere vorgeschlagene Maßnahmen wären das Eindecken von Pferden, die auf zeckenexponierten Weiden stehen, oder das Aufstallen von Pferden in endemischen Gebieten zur Zeckensaison (Parola & Raoult, 2001). Als Zeckenhabitate bietet sich vor allem dichte, buschige Vegetation an. Pferde sollte davon ferngehalten werden. Mögliche Zeckenhabitate sollten vernichtet werden, indem unnötige Pflanzen und Büsche in der Nähe von Pferdeweiden entfernt werden (Lewis et al., 2009; Saleem et al., 2018a).

#### **2.6.3.1. Zeckenentfernung**

Pferde, die auf zeckenexponierten Weiden stehen, sollten regelmäßig auf Zeckenbefall untersucht werden. Bei Feststellung einer Zecke am Tier sollte die Zecke umgehend mittels einer Pinzette oder Zeckenzange entfernt werden, da die Übertragung von potenziell in Zecken vorhandenen Pathogenen auf den Wirt schon wenige Stunden nach Beginn der Blutmahlzeit

erfolgen kann. Je nach Erreger kann die Übertragungsgeschwindigkeit variieren (Des Vignes et al., 2001; Fourie et al., 2019; Parola & Raoult, 2001). Arten der Gattung *Babesia* etwa benötigen mindestens 36-48 Stunden um transferiert zu werden (Piesman & Spielman, 1980). Dahingegen ist der Transfer von *E. canis* deutlich schneller mit einer Übertragung innerhalb von drei Stunden beschrieben (Fourie et al., 2013). Bei *A. phagocytophilum* beginnt die Erregerübertragung bereits wenige Stunden nach dem Ansaugen am Wirt, jedoch wird für die Etablierung einer Infektion eine bestimmte minimale Inokulationsdosis benötigt. Diese wird zum Beispiel bei Hunden erst nach mindestens 48 Stunden erreicht (Fourie et al., 2019).

Generell gilt jedoch: je schneller die Zecke entfernt wird, desto geringer das Risiko eines erfolgreichen Erregertransfers. Die entfernte Zecke sollte dann unverzüglich zerstört werden (Des Vignes et al., 2001). Bei der Entfernung ist darauf zu achten, die Zecke vollständig mit einer drehenden Bewegung zu entfernen. In der Haut verbleibende Mundwerkzeuge der Zecke werden vom Körper selbst meist ohne weitere Reaktion beseitigt. Andere Methoden um eine Zecke vom Wirt zu entfernen, wie das Entfernen mit den Fingern, oder Gebrauch von brennenden Zigaretten, Vaseline oder Bräunungsöl um die Zecke zu töten, sollten vermieden werden, da diese Methoden durch Regurgitation der Zecke das Risiko einer Erregerübertragung erhöhen können (Parola & Raoult, 2001).

## **2.7. Persistenz und Immunitätsbildung**

### **2.7.1. Persistenz**

*Anaplasma phagocytophilum* infiziert eine Vielzahl von Tieren, aber nicht in allen kann der Erreger auch persistieren. Bis jetzt wurde eine persistierende Infektion bei Schafen, Hunden und Kälbern nachgewiesen. In der konvaleszenten Phase zeigt die persistierende Infektion bei den eben genannten Tierarten keine klinischen Symptome und die Tiere sind somit stille Träger des Erregers (Egenvall et al., 2000). In Lämmern hingegen kann ein Persistieren des Erregers einhergehen mit verminderter Gewichtszunahme und einem gesteigerten Risiko für sekundäre Erkrankungen wie Pneumonie (Stuen, 2007; Stuen et al., 2002). Die subklinische Persistenz von *A. phagocytophilum* kann nicht nur bei domestizierten Wiederkäuern sondern auch in Wildwiederkäuern auftreten (Belongia et al., 1997; Foggie, 1951; Foley et al., 1998; Magnarelli et al., 1999; Walls et al., 1998).

Die beiden Genotypen von *A. phagocytophilum*, die beim Mensch HGA und beim Pferd die EGA auslösen, sind auf molekularer Ebene nahezu identisch (Dumler et al., 2001). Weder beim Pferd noch beim Mensch ist diese Erkrankung jedoch als chronische bzw. persistierende

Erkrankung beschrieben (Bakken & Dumler, 2000; Madigan & Pusterla, 2000). In manchen Fällen kann der Erreger in erkrankten Pferden bis zu vier Monate nach der Infektion mittels PCR nachgewiesen werden, jedoch wurden keine Hinweise auf eine chronische Form der Erkrankung beim Pferd gefunden. Pferde mit persistierender Infektion sind somit stille Träger des Pathogens ohne klinische Symptomatik (Carrier) (Franzén et al., 2009).

### **2.7.2. Immunität**

Pferde, die eine Infektion mit *A. phagocytophilum* überstanden haben entwickeln im Zuge der Heilung einen belastbaren Schutz gegen eine erneute Infektion, der mindestens zwei Jahre lang hält, welcher unabhängig von einer latenten Infektion oder einem Trägerstatus zu sein scheint (Madigan & Gribble, 1987; Nyindo et al., 1978; Van Andel et al., 1998). Dabei wird der Schutz gegen den Erreger sowohl von humoralen wie von zellvermittelten Komponenten des Immunsystems gebildet (Nyindo et al., 1978). Diese Immunantwort entwickelt sich 21 Tage nach der Infektion mit dem Erreger als wichtiger Bestandteil des Heilungsprozesses (Artursson et al., 1999). Der höchste Antikörpertiter bei natürlich infizierten Pferden wird 19 bis 81 Tage nach dem Auftreten der ersten klinischen Symptome gemessen (Nyindo et al., 1978; Van Andel et al., 1998). Eine belastbare Immunität bildet sich nicht nur bei der Infektion mit dem EGA-Stamm von *A. phagocytophilum*, sondern wegen der hohen genetischen Ähnlichkeit auch bei einer Infektion mit dem Erreger der HGA (Barlough et al., 1995; Chang et al., 1998).

Wenn die Erkrankung überstanden ist, wird das Blut der ehemals infizierten Pferde als nicht infektiös angesehen (Nyindo et al., 1978), was z.B. für eine Verwendung als Spenderblut von Bedeutung ist.

### **2.8. Prognose**

Die Prognose bei herkömmlichen Fällen ohne Sekundärinfektionen oder Verletzungen infolge der Erkrankung, gilt generell als hervorragend (Madigan & Gribble, 1987; Pusterla & Madigan, 2013a).

### **3. Tiere, Material und Methodik**

#### **3.1. Literaturrecherche**

Die in dieser Arbeit verwendete wissenschaftliche Literatur wurde mittels online Datenbanken wie Scopus, Pubmed sowie mit Hilfe des Vetmedseekers ausfindig gemacht. Für die Recherche dienten folgende Schlagwörter: „Equine Granulozytäre Anaplasiose“ und „Equine Granulozytäre Ehrlichiose“ bzw. deren englisches Pendant. Bücher und Fachzeitschriftenartikel wurden von der Bibliothek der VUW bezogen. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf Therapiemöglichkeiten, Diagnostik, Differentialdiagnostik und Risikofaktoren für Infektion und Erkrankung in der jeweiligen Literatur gelegt.

#### **3.2. Patientendaten, Untersuchungszeitraum**

Für diese retrospektive Arbeit wurden alle an der VUW aufgezeichneten Fälle von EGA der letzten 20 Jahre untersucht. Die Patienten sind im Zeitraum vom 22.07.2004 bis zum 15.11.2021 an der Pferdeklinik der VUW vorstellig geworden.

Die betroffenen Patienten wurden mit Hilfe des elektronisches Tierspitalinformationssystems (TIS) ausfindig gemacht, indem nach der Diagnose und Verdachtsdiagnose „Equine granulozytäre Anaplasiose“ gesucht wurde. Die jeweiligen Patientendaten wurden dem TIS entnommen und anschließend in das Tabellenkalkulationssystem Microsoft-Excel übertragen. Unter Zuhilfenahme von Excel wurden die Daten erfasst, aufgelistet, miteinander verglichen und anschließend ausgewertet.

#### **3.3. Untersuchungsmethodik**

Die erfassten Fälle wurden in Bezug auf saisonales Auftreten, Klinik, Laborveränderungen, Diagnostik, Behandlungsregime und Verlauf im Zusammenhang mit individuellen Parametern, wie Geschlecht, Alter, Rasse, Herkunft und Nutzungsart miteinander verglichen.

Die Patienten wurden in bestätigte und verdächtige EGA-Fälle unterteilt. Zu den bestätigten Fällen wurden jene Patienten gezählt, welche mindestens einen positiven Anaplasmen-Nachweis aufwiesen. Als verdächtige Fälle galten all jene, bei denen ein Anaplasmen-Nachweis negativ ausfiel, die aber EGA-typische Symptome und labordiagnostische Veränderungen zeigten.

Bei den aufgenommenen Pferden kamen drei verschiedenen Nachweismethoden zur Diagnose von EGA zum Einsatz: der mikroskopische Nachweis im Blutaussstrich, der PCR-Nachweis und

die Serologie. Mit dem Blutausschrieb und dem PCR-Nachweis werden akute Anaplasmeninfektionen nachgewiesen. Die Serologie hingegen weist Antikörper nach, welche bei einer vergangenen Infektion gebildet wurden. Mit der Serologie werden jene Pferde identifiziert, die irgendwann schon mal eine Anaplasmeninfektion hatten, welche aber nicht mehr akut ist. Somit beinhaltet die Gruppe der bestätigten Fälle in dieser Arbeit sowohl akut erkrankte Tiere als auch ehemals erkrankte Tiere.

Um die Herkunft der Patienten zu erheben, wurde die Postleitzahl der angegebenen Besitzeranschrift herangezogen. Das Alter der Patienten, wurden in Bezug auf den Zeitpunkt der Diagnosestellung bei den bestätigten EGA-Fällen errechnet. Bei den verdächtigten EGA-Fällen wurde dazu das Einstelldatum herangezogen. Für die jahreszeitliche Verteilung wurde das Einstelldatum verwendet.

Zu den aufgetretenen klinischen Symptomen wurden sowohl die während des Klinikaufenthalts beobachteten Symptome als auch vorberichtliche Auffälligkeiten gezählt. Die aufgetretenen Abweichungen vom jeweiligen physiologischen Zustand wurden dann als Symptome gewertet, wenn von dieser zumindest einmal berichtet wurde. Unter dem Begriff Anorexie werden komplette, partielle und intermittierende Fressunlust zusammengefasst. Zur Beurteilung des Fiebers und des gemessenen Maximalwerts der IKT der Patienten, wurden sowohl an der Klinik gemessene als auch von Besitzer und Haustierarzt gemessene Werte herangezogen. Der Grund für dieses Vorgehen ist die Vorbehandlung mancher Patienten mit fiebersenkenden Medikamenten durch die Haustierärztin/den Haustierarzt vor der Klinikeinweisung. Dadurch zeigten manche Patienten keine erhöhte IKT bei Vorstellung an der Klinik. Jeglicher Bericht von einem steifen oder klammen Gangbild wurde als Bewegungsunlust gewertet.

Zur Beurteilung labordiagnostischer Veränderungen wurden alle durchgeführten Blutuntersuchungen des jeweiligen Patienten herangezogen. Die Blutuntersuchungen, sowie jegliche Untersuchungen zum Nachweis von *A. phagocytophilum*, wurden entweder im Zentrallabor der VUW oder im klinikeigenen Labor durchgeführt. Vereinzelt wurden Blutwerte und Nachweise auch vom Haustierarzt kurz vor der Überweisung erhoben und dann an die Pferdeambulanz der VUW übermittelt. Für die erfassten Blutwerte wurden die Referenzwerte des verwendeten labordiagnostischen Blutgerätes der Pferdeambulanz der VUW herangezogen. Es wurden nur in Bezug auf die EGA relevante Blutparameter in der Auswertung inkludiert und in Hinblick auf typische oder häufige Veränderungen betrachtet.

Für die Bewertung und Interpretation der erfassten Ergebnisse wurden diese mit Fallberichten aus aktueller wissenschaftlicher Literatur verglichen.

### **3.4. Statistik**

Da sich die Anzahl der seit Einführung des TIS an der veterinärmedizinische Universität Wien bestätigten und verdächtigten Anaplasrose-Fälle auf 34 Individuen beschränkte, wurde eine deskriptive statistische Analyse im Microsoft Excel durchgeführt.

## 4. Ergebnisse

Insgesamt sind über 17 Jahre, im Zeitraum vom 22.07.2004 bis zum 15.11.2021, 34 EGA-Fälle an der Pferdeklinik der VUW vorstellig geworden. Die verzeichneten Fälle pro Jahr beliefen sich meist auf ein bis zwei, maximal vier (2013). Von diesen 34 Patienten wurde die Diagnose bei 26 (76 %) Pferden bestätigt und acht (24 %) Pferde gelten als verdächtige EGA-Fälle.

### 4.1. Erregernachweis

Bei 26 der 34 Patienten (76 %) gelang der Nachweis von *A. phagocytophilum*, dabei ist mindestens eine der durchgeführten Nachweismethoden positiv ausgefallen. Bei allen Pferden wurde eine mikroskopische Untersuchung des Blutausstrichs durchgeführt, wobei dieser bei 19 Pferden (56 %) positiv ausgefallen ist (Abb. 9). In drei dieser positiven Fälle wurde die mikroskopische Untersuchung des Blutausstrichs an einem anderen Tag wiederholt, nachdem er bei der ersten Untersuchung negativ befundet wurde. Zwei von diesen Tieren wurden zusätzlich am Wiederholungstag einer PCR-Untersuchung unterzogen, welche auch positiv ausfiel. Die PCR-Diagnostik wurde bei 17 Pferden durchgeführt und wurde bei zwölf Tieren (71 %) positiv gewertet. Am seltensten wurde die Serologie durchgeführt. Bei den vier Pferden, bei denen die serologische Untersuchung angewendet wurde, hatte nur eines einen Antikörpertiter, welcher über dem Grenzwert lag. Bei diesem Pferd war der Blutausstrich negativ. Ein PCR-Nachweis wurde nicht vorgenommen.

Häufig wurde die Untersuchung des Blutausstrichs mit einer PCR kombiniert. Dabei kann man beobachten, dass jeweils sieben der 17 Tieren, egal ob mit positiven oder negativen Blutausstrich, ein positives PCR-Ergebnis hatten. Im Gegensatz dazu zeigte nur ein Pferd mit einem positiven Ergebnis des Blutausstrichs ein negatives PCR-Ergebnis. Die Serologie in Kombination mit dem Blutausstrich wurde bei insgesamt vier Tieren durchgeführt. Bei einem Pferd war der Blutausstrich negativ und die Serologie positiv und bei einem anderen Tier verhielt es sich genau umgekehrt.

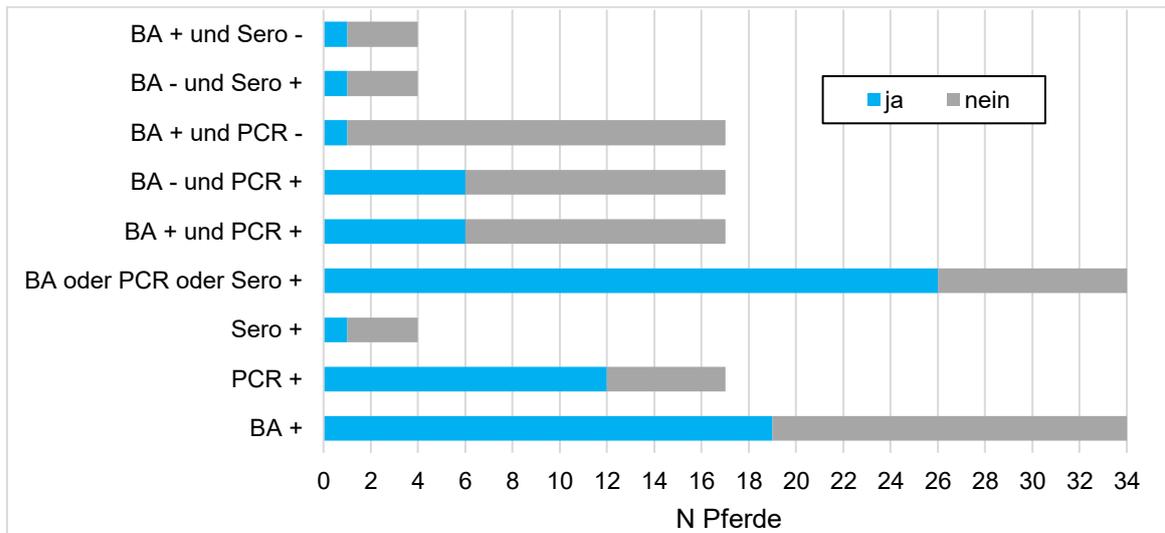


Abbildung 9: Bei allen aufgenommenen EGA-Fällen durchgeführte labordiagnostische Nachweismethoden für *A. phagocytophilum*.

#### 4.2. Nationale und Anamnese

Die Mehrheit der Patienten bestand aus männlichen Individuen. Unter den erfassten Patienten befinden sich insgesamt 19 (56 %) Wallache, 14 Stuten (41 %) und ein (3 %) Hengst.

Die meisten Patienten (19; 56 %) wurden im Alter von neun bis 16 Jahren vorgestellt. Acht Pferde (24 %) waren im Alter von einem Jahr bis acht Jahren und weitere sieben Pferde (21%) sind zwischen 17 und 24 Jahre alt. Der jüngste Patient war zum Zeitpunkt des Klinikaufenthalts zwei Jahre alt und der älteste 24 (Abb. 10).

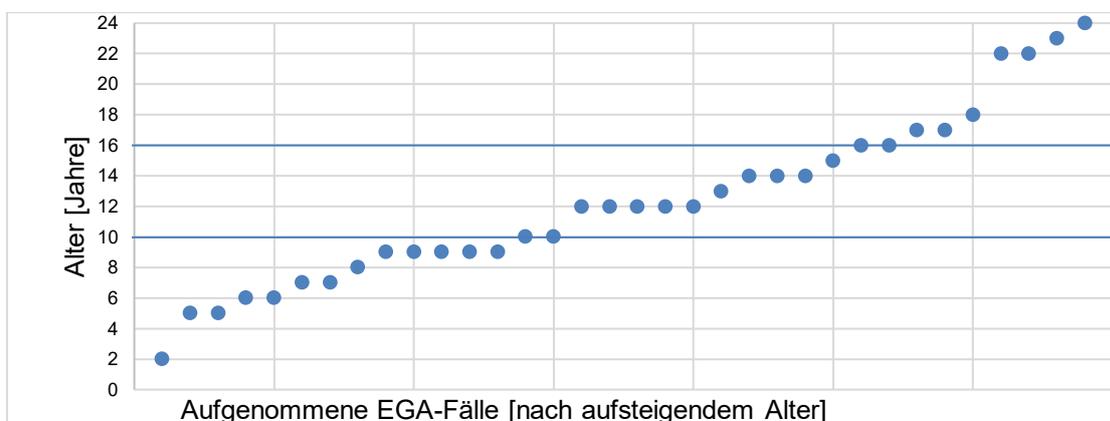


Abbildung 10: Altersverteilung aller aufgenommenen EGA-Fälle. Linien begrenzen die größte Gruppe (neun bis 16 Jahre).

Es waren viele verschiedene Rassen unter den aufgenommenen Patienten vertreten; die Mehrheit der Patienten waren Warmblüter. Unter dieser Kategorie wurden unter anderem belgische, tschechische, deutsche, bayrische und österreichische Warmblüter zusammengefasst (Tab. 1).

Tabelle 1: Rasseverteilung aller aufgenommenen EGA-Fälle (n=34).

<b>Rasse</b>	<b>N [%]</b>
Warmblut	10 [29]
Traber	3 [9]
Quarter Horse	2 [6]
Lusitano	2 [6]
Hannoveraner	2 [6]
Haflinger	2 [6]
Holstein	2 [6]
Trakehner	2 [6]
Westfale	2 [6]
Tinker	1 [3]
Friese	1 [3]
Brandenburger	1 [3]
Oldenburger	1 [3]
Isländer	1 [3]
Pony	1 [3]
ungarisches Halbblut	1 [3]

Die meisten (29 %) der aufgenommenen Pferde wurden als Freizeitpferd verwendet. Des Weiteren waren auch Sport-, Zucht- und Showpferde sowie Jungpferde vertreten. Bei drei Pferden (9 %) war der Verwendungszweck nicht bekannt (Tab. 2).

Tabelle 2: Verwendungszweck aller aufgenommenen EGA-Fälle.

<b>Verwendungszweck</b>	<b>N [%]</b>
Freizeitpferd	10 [29]
Dressurpferd	8 [24]
Springpferd	5 [15]
Trabrennpferd	3 [9]
Westernpferd	1 [3]
Showpferd	1 [3]
Zuchtpferd	2 [6]
Jungpferd	1 [3]
Nicht angegeben	3 [9]

Die Untersuchung der Herkunft der Patiententiere zeigt, dass die Hälfte der Pferde (17; 50 %) aus Niederösterreich stammte. Aus den Bundesländern Salzburg, Kärnten, Tirol oder Vorarlberg stammten keine Patienten (Abb. 11).

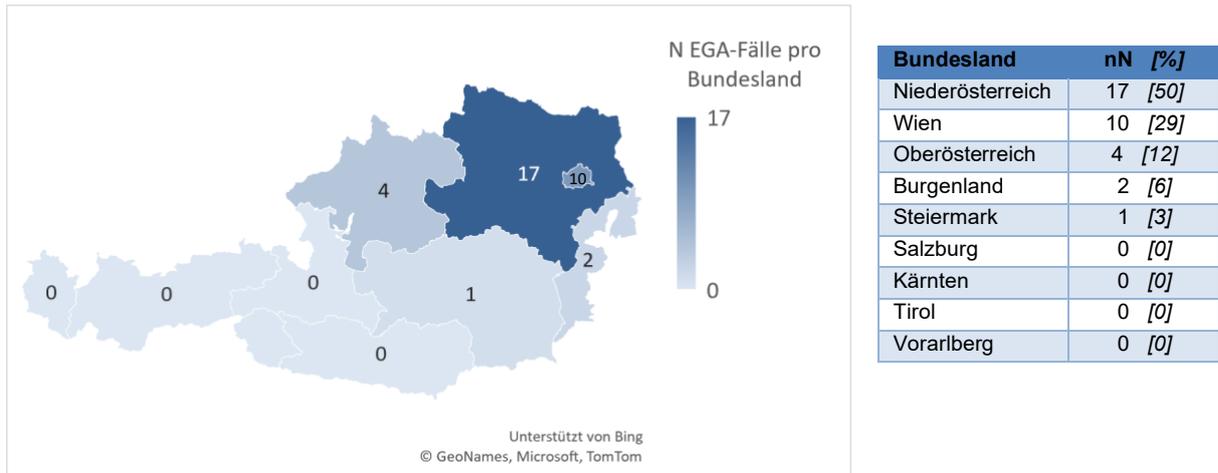


Abbildung 11: Herkunft der aufgenommenen EGA-Fälle nach Bundesländern.

#### 4.3. Aufenthaltsdauer und Jahreszeit

Die mittlere Aufenthaltsdauer der Patienten an der Pferdeklinik der VUW betrug rund sechs Tage. Der kürzeste erfasste Aufenthalt war einen Tag und der längste 25 Tage lang. Bezogen auf die Jahreszeit wurden mehr als die Hälfte der EGA-Fälle (19; 56 %) im Frühling vorstellig, die wenigsten (1; 3 %) im Winter (Abb. 12).

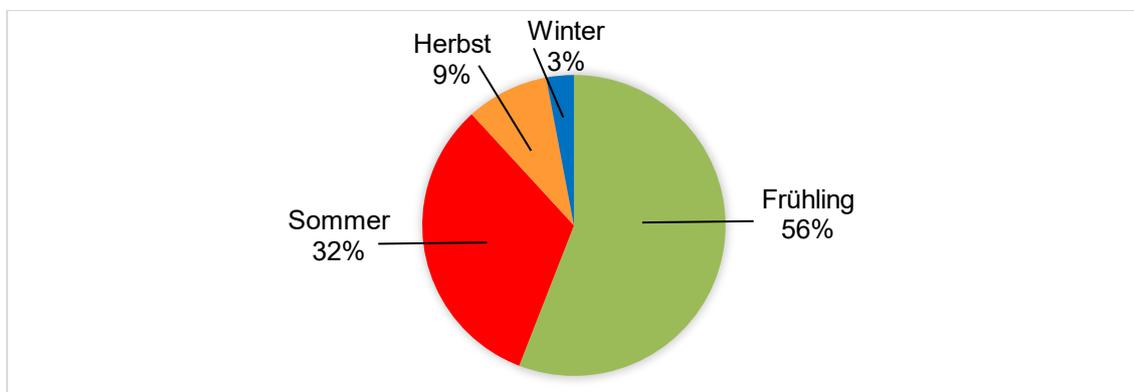


Abbildung 12: Jahreszeitliche Verteilung aller aufgenommenen EGA-Fälle.

#### 4.4. Klinische Symptome

Die Patienten zeigten eine Vielzahl an klinischen Symptomen, wobei Apathie (34; 100 %), Fieber (34; 100 %) und Anorexie (30; 100 %) bei allen untersuchten Tieren auftrat (Abb. 13). Weitere häufig beobachtete Symptome bei den untersuchten Tieren waren Ikterus, Bewegungsunlust und Gliedmaßenödeme. Seltener aufgetretene Symptome waren Ataxie, Koliksymptome und Petechien an den Schleimhäuten. Die Gliedmaßenödeme wurden allesamt im distalen Gliedmaßenbereich verzeichnet.

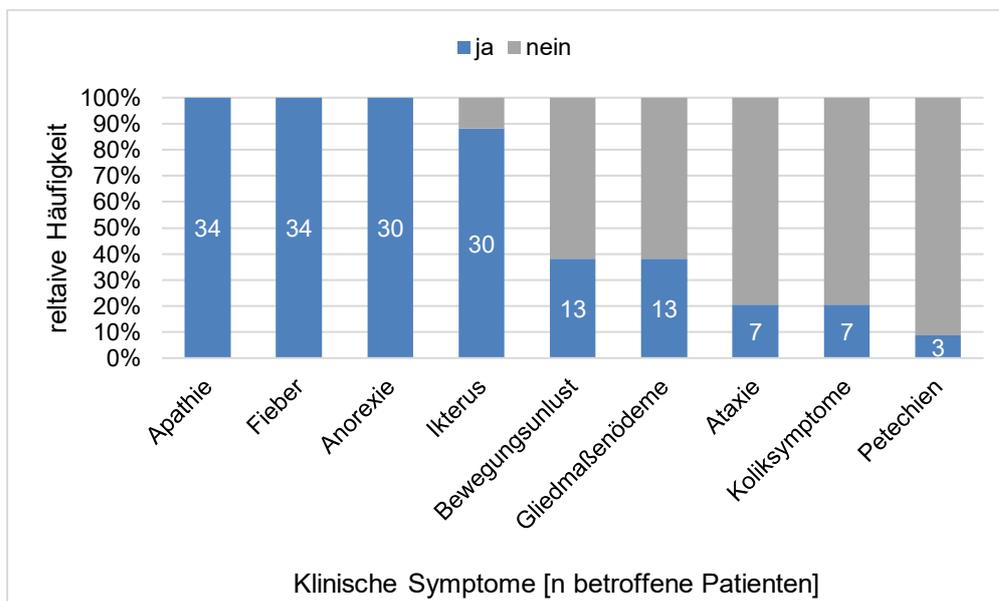


Abbildung 13: relative Häufigkeit klinischer Symptome in Bezug auf die Anzahl der jeweils untersuchten EGA-Fälle.

Im Vergleich der aufgetretenen klinischen Symptome bei bestätigten und verdächtigen EGA-Fällen war die relative Verteilung der klinischen Anzeichen ähnlich. Ikterische Veränderungen wurden bei beiden Gruppen mit einer gleichen relativen Häufigkeit von 88 % beobachtet. Bewegungsunlust wurde bei den verdächtigen EGA-Fällen relativ häufiger (63 %) festgestellt als bei den bestätigten EGA-Fällen (31 %). Bei beiden Gruppen wurden seltener Symptome wie Ödeme im distalen Gliedmaßenbereich, Ataxie, Koliksymptome und Petechien an den Schleimhäuten verzeichnet, wobei Gliedmaßenödeme fast doppelt so häufig bei den bestätigten Fällen aufgetreten ist und weniger häufig bei den verdächtigen Fällen (Abb. 14).

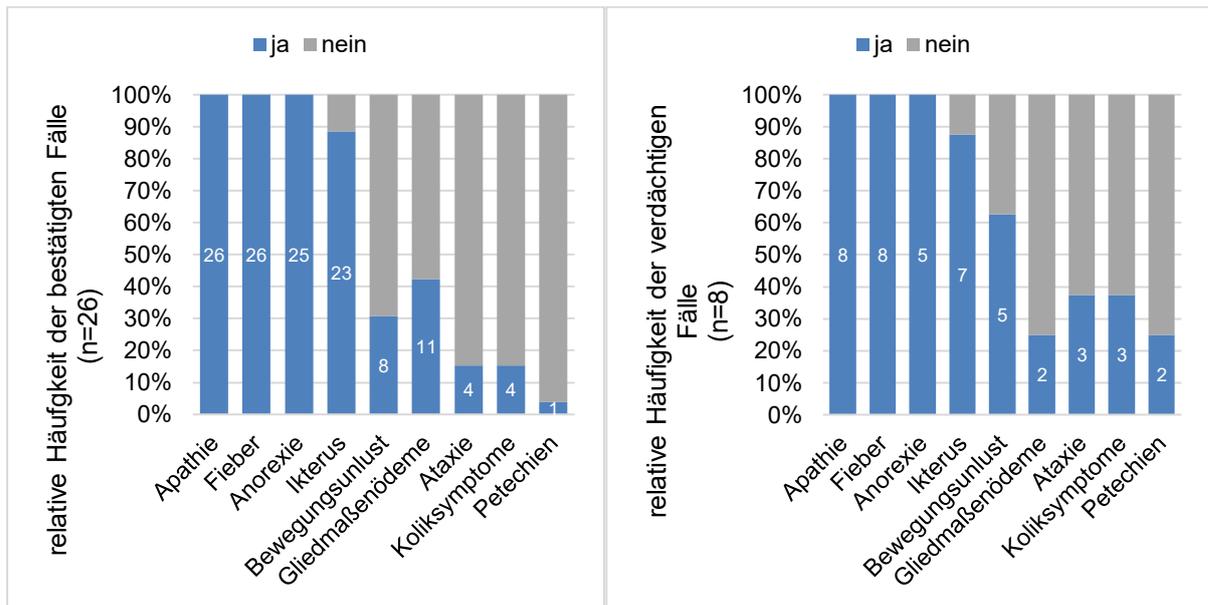


Abbildung 14: Vergleich relativer Häufigkeit klinischer Symptome bei bestätigten (links; n=26) und verdächtigen (rechts; n=8) EGA-Fälle. Die absolute Häufigkeit ist der jeweiligen Säule zu entnehmen.

Da eine erhöhte IKT bei allen Pferden auftrat, wurde noch die Höhe des Fiebers verglichen. Die durchschnittliche Höchsttemperatur aller 34 Pferde betrug rund  $40,3\text{ °C}$  ( $\pm 0,7\text{ °C}$ ). Die höchste gemessene Temperatur war  $41,5\text{ °C}$ . Insgesamt wurde bei 79 % mindestens einmal eine IKT von  $40,0\text{ °C}$  oder höher und bei 18 % eine Temperatur von  $41,0\text{ °C}$  oder höher festgestellt (Abb. 15).

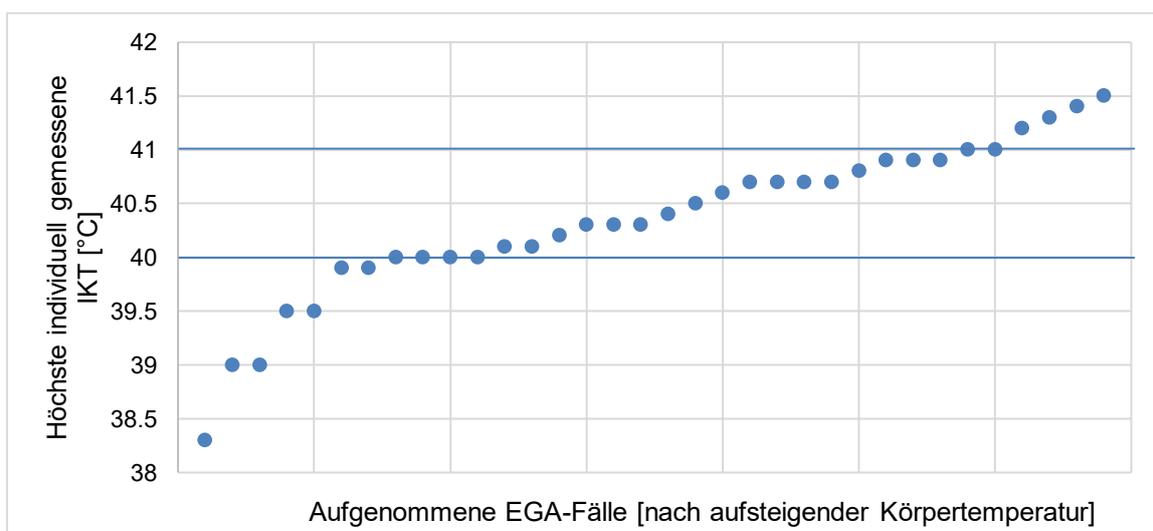


Abbildung 15: Höchste individuelle IKT aller aufgenommenen EGA-Fälle.

Bezogen auf die bestätigten verglichen mit den verdächtigen Fällen betrug die durchschnittliche IKT bei den bestätigten Fällen (n=26)  $40,5 \pm 0,7$  °C, bei den verdächtigen (n=8)  $39,9 \pm 0,7$  °C. Hohes Fieber von 40,0 °C und höher war bei der ersten Gruppe bei 84,6 % der Tiere festzustellen, in der zweiten Gruppe bei 62,5 % der Tiere. Sehr hohes Fieber (41 °C und höher) war nur in der Gruppe der bestätigten Fälle bei 23,1 % dieser Pferde zu beobachten, aber nicht bei den verdächtigen Fällen.

Zecken wurden bei insgesamt fünf der 34 Pferde (15 %) gefunden. Laut den Besitzer:innen von vier der Pferde wurden Zecken in den vorangegangenen Wochen am Pferd entdeckt und entfernt. Bei einem Pferd wurde in Zuge der klinischen Erstuntersuchung an der VUW eine Zecke im Angesicht gefunden. Bei vier von diesen fünf Patienten konnte die Infektion mit *A. phagocytophilum* bestätigt werden.

#### 4.5. Blutbild und Blutchemie

Es wurden bei den Patienten vielfältige Abweichungen der Blutparameter von der Norm festgestellt. Die dafür verwendeten Referenzwerte werden in der folgenden Tabelle dargestellt (Tab. 3).

Tabelle 3: Referenzwerte des labordiagnostischen Blutgerätes der VUW für Blutuntersuchungen beim Pferd.

Blutparameter	Referenzbereich	Einheit
Erythrozyten	6,50 - 11,00	$10^6/\mu\text{l}$
Thrombozyten	90-300	$10^3/\mu\text{l}$
Leukozyten	5.000 - 10.000	$/\mu\text{l}$
Neutrophile Granulozyten	2.500 - 6.900	$/\mu\text{l}$
Lymphozyten	<4.500	$/\mu\text{l}$
Monozyten	< 500	$/\mu\text{l}$
Kreatinin (Crea)	< 2	mg/dl
Harnstoff (Urea)	20 - 40	mg/dl
Bilirubin	0,7 - 3,1	mg/dl
Fibrinogen	150 - 220	mg/dl
SAA	< 10	mg/l
Eisen	80 - 240	$\mu\text{g}/\text{dl}$

Bei den Pferden wurden unterschiedliche Blutparameter bestimmt. Das bedeutet die Anzahl an untersuchten Pferden variiert je nach Blutparameter. Die Untersuchung des weißen sowie

des roten Blutbilds wurde bei allen Tieren durchgeführt, mit Ausnahme eines Tieres (Nr. 21). Bei diesem Pferd wurden keinerlei Blutuntersuchungen vorgenommen. Die Bestimmung der Thrombozytenkonzentration hingegen wurde deutlich seltener durchgeführt. Biochemische Untersuchungen wurden je nach gemessenem Parameter unterschiedlich häufig durchgeführt.

Als Entzündungsparameter wurde entweder SAA oder Fibrinogen im Blutserum bestimmt. Bei den Pferden, bei denen die Serumkonzentration von SAA bestimmt wurde (n=19, wobei pro Pferd mindestens einmal, maximal fünfmal, gemessen wurde), war diese stark erhöht (Mittelwert aller Messungen:  $834,0 \pm 1469,6$  mg/ml; n=35 Messungen, wobei eine oberhalb des messbaren Bereichs lag). Die Fibrinogenkonzentration im Serum war dagegen nur bei 53 % der Pferde, bei denen diese Messung durchgeführt wurde (n=21), erhöht (Mittelwert:  $282 \pm 132,2$  mg/dl).

Häufig veränderte Blutparameter (Abb. 16) waren die Thrombozytenkonzentration im Sinne einer Thrombozytopenie (70 %; n=23 Tiere), die Monozytenkonzentration im Rahmen einer Monozytose (61 %; n=33 Tiere), die Bilirubinkonzentration im Sinne einer Hyperbilirubinämie (60 %; n=10 Tiere), die Lymphozytenkonzentration in Form einer Lymphopenie (55 %; n=33 Tiere), der Serum-Eisengehalt im Ausmaß einer Erniedrigung (50 %; n=16 Tiere) und die Erythrozytenkonzentration in Form einer Anämie (42 %; n=33 Tiere). Seltener beobachtete Veränderungen waren Leukopenien (36 %; n=33 Tiere) und Neutropenien (21%; n=33 Tiere). Bei keinem der Pferde war eine Azotämie feststellbar (0 %; n=31 Tiere). Zur Beurteilung einer Azotämie wurden Kreatinin- und Harnstoffkonzentrationen herangezogen. Kreatinin wurde bei fast allen Pferden (n=30) gemessen, jedoch Harnstoff eher selten (n=12). Die gemessenen Kreatinin- und Harnstoffwerte waren bei allen untersuchten Pferden im Referenzbereich.

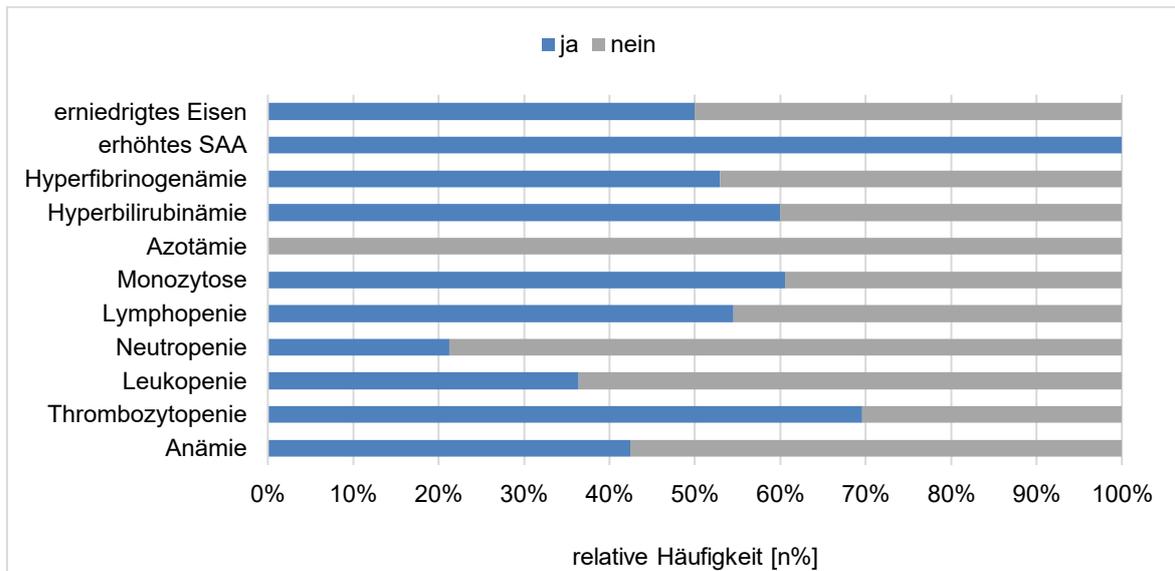


Abbildung 16: Relative Häufigkeit von EGA-typischen Veränderungen des Blutbilds in Bezug auf die untersuchten Blutparameter der Pferde. In dieser graphischen Darstellung der hämatologischen und blutchemische Veränderungen wird die relative Häufigkeit der jeweiligen Abweichung in Bezug auf jene Pferde, bei denen dieser Wert bestimmt wurde, dargestellt. Das bedeutet, nicht bei allen Pferden wurden alle dargestellten Blutparameter gemessen. War der betrachtete Blutparameter bei mindestens einer Messung außerhalb der Norm, wurde er als verändert verzeichnet.

Neben den 14 anämischen von insgesamt 33 Pferden, bei denen die Gesamterthrozytenzahl erhoben wurde, wurde bei weiteren zehn Pferden (30 %) eine erniedrigte Erythrozytenzahl festgestellt, die jedoch noch nicht unterhalb des physiologischen Normbereichs lag (Abb. 17).

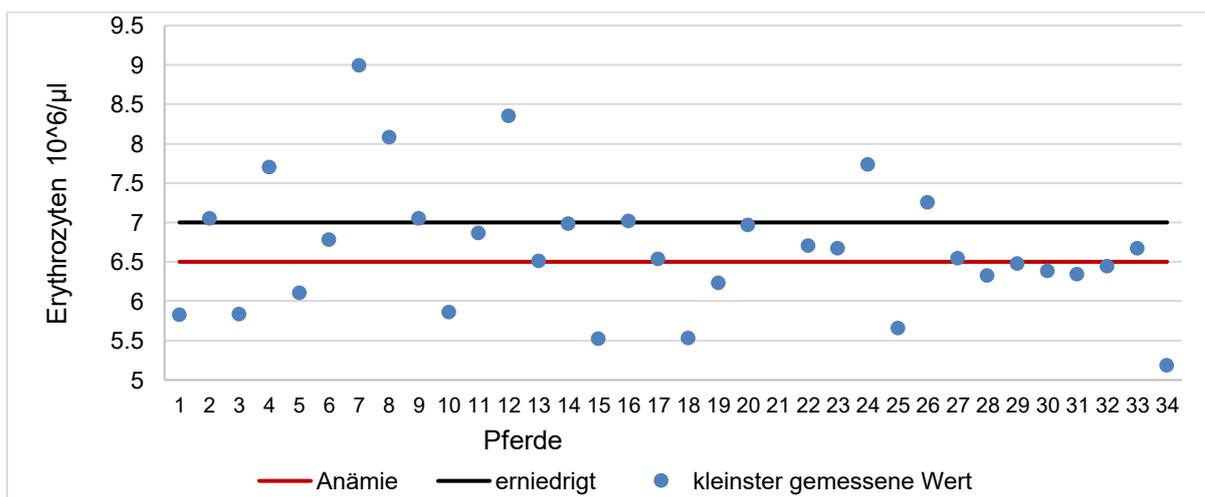


Abbildung 97: Niedrigste gemessene Erythrozytenkonzentration der untersuchten Patienten. Jene Pferde, welche eine Erythrozytenkonzentration unter  $6,5 \times 10^6/\mu\text{l}$  aufweisen (rote Linie), wurden als anämisch betrachtet. Pferde mit einem Wert zwischen  $6,5$  (rote Linie) und  $7,0 \times 10^6/\mu\text{l}$  (schwarze Linie) hatten eine erniedrigte, grenzwertige Erythrozytenkonzentration, welcher sich aber noch im physiologische Normbereich befindet. Es wurden 33 Pferde untersucht. Bei Pferd Nr. 21 ist kein Punkt verzeichnet, da bei diesem Pferd keine Erythrozytenkonzentration erhoben wurde.

Wenn man nun die relativen Häufigkeiten des Auftretens von verschiedenen Blutveränderungen zwischen den beiden Gruppen, der Gruppe der bestätigten und der Gruppe der verdächtigen Fälle, bezogen auf die jeweils untersuchte Anzahl an Pferden vergleicht, treten einige Veränderungen mit unterschiedlicher Häufigkeit auf (Tab. 4, Abb. 18). In der Gruppe der bestätigten Fälle wurden häufiger Erniedrigungen des Eisens und Hyperfibrinogenämien festgestellt als in der Gruppe der verdächtigen Fälle. Diese beiden Blutparameter wurden in der Gruppe der bestätigten Fälle bei weniger als der Hälfte untersucht. Bei den verdächtigen Fällen hingegen bei einem größeren Anteil der Gruppe. Eine Hyperbilirubinämie wurde bei beiden Gruppen gleich oft (60 %) beobachtet. Der Bilirubinwert wurde bei jeweils fünf Pferden der Gruppe untersucht. Veränderungen des weißen Blutbilds sowie Abweichungen der Thrombozyten und Erythrozyten wurden relativ gesehen öfter bei den verdächtigen Fällen verzeichnet als bei den bestätigten. Dabei ist die Thrombozytopenie die am häufigsten aufgetretene Veränderung der Hämatologie bei beiden Gruppen mit einer relativen Häufigkeit von 71 % bei den bestätigten und 67 % bei den verdächtigen Fällen.

Tabelle 4: Vergleich Häufigkeit veränderter Blutwerte zwischen bestätigten (n=26) und verdächtigen (n=8) EGA-Fällen in Bezug auf die Anzahl der Tiere, bei denen jener Blutparameter untersucht wurde.

Klinische Symptome	Bestätigt (N=26)		Verdächtig (N=8)	
	N Messungen	N pos. [%]	N Messungen	N pos. [%]
Anämie	25	8 [32]	8	6 [75]
Thrombozytopenie	17	12 [71]	6	4 [67]
Leukopenie	25	7 [28]	8	5 [63]
Neutropenie	25	2 [8]	8	5 [63]
Lymphopenie	25	13 [52]	8	5 [63]
Monozytose	25	14 [56]	8	6 [75]
Azotämie	23	0 [0]	8	0 [0]
Hyperbilirubinämie	5	3 [60]	5	3 [60]
Hyperfibrinogenämie	12	8 [67]	5	1 [20]
SAA erhöht	14	14 [100]	5	5 [100]
Eisen erniedrigt	11	7 [64]	5	1 [20]

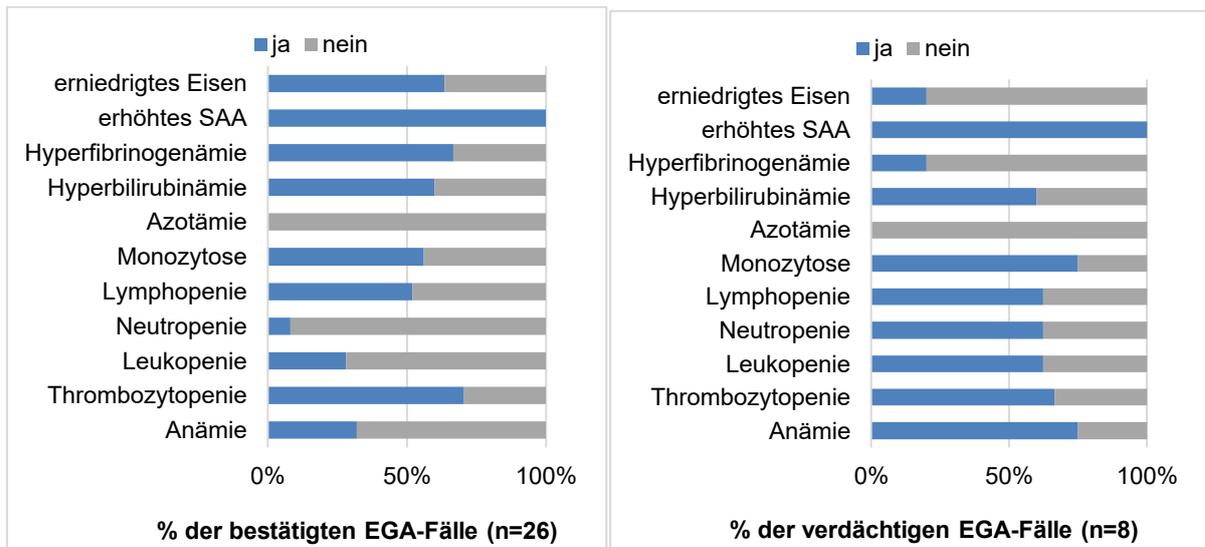


Abbildung 18: Vergleich relativer Häufigkeit hämatologischer und biochemischer Veränderungen bei bestätigten (links) und verdächtigen (rechts) EGA-Fällen in Bezug auf die Anzahl untersuchter Tiere.

Anhand der folgenden Abbildungen (Abb. 19-24) wird sichtbar, dass manche Blutparameter sehr häufig bei den Patienten erhoben wurden und manche eher seltener. Pferde mit längerem Aufenthalt an der Pferdeklunik der VUW wurden mehrmaligen Blutuntersuchungen unterzogen. Die erste Blutuntersuchung fand meist im Rahmen der Erstuntersuchung statt, welche sich vor allem auf die Hämatologie beschränkte. Blutchemische Parameter wurden häufig erst bei Folgeuntersuchungen und nur einmalig bestimmt. Ausnahmen davon bilden Entzündungsparameter wie SAA, welche auch durchaus mehrmals pro Pferd bestimmt wurden.

Insgesamt zeigten 14 der 33 untersuchten Tiere mindestens einmal während des gesamten Klinikaufenthalts eine reduzierte Erythrozytenkonzentration in Form einer Anämie auf (Abb. 19). Bei sechs Tieren wurde bereits bei der ersten Blutuntersuchung eine Anämie entdeckt. Von diesen sechs Pferde hatten vier auch im weiteren Verlauf erniedrigte Werte, eines (Nr. 10) Werte im Normbereich und bei einem (Nr. 30) wurden keine Folge Untersuchungen durchgeführt. Zusätzlich zu diesen Tieren entwickelten neun weitere Tiere im Laufe des Aufenthalts eine Anämie, welche sich erst bei der zweiten oder einer folgenden Blutuntersuchung darstellen ließ. Bei der zweiten Blutuntersuchung wurden am häufigsten erniedrigte Erythrozytenkonzentrationen gemessen mit insgesamt acht betroffenen Patienten. Die niedrigste gemessene Konzentration liegt bei  $5,18 \times 10^6$  Erythrozyten/ $\mu\text{l}$  (Nr. 34). Es handelt sich dabei um einen verdächtigen EGA-Fall. Die Werte der verdächtigen EGA-Patienten liegen häufiger unter dem Grenzwert als die der bestätigten EGA-Fälle.

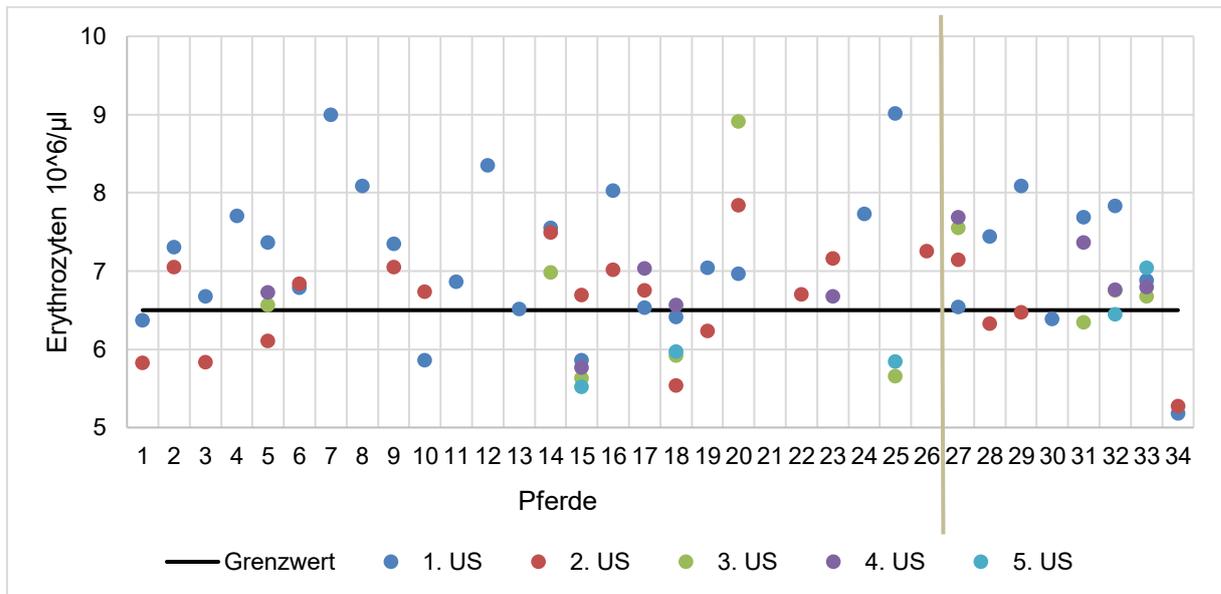


Abbildung 19: Verlauf gemessene Erythrozytenkonzentrationen nach Pferdepatient und Untersuchung (US). Alle Pferde, welche einen Wert unter dem Grenzwert von  $6,5 \times 10^6$  Erythrozyten/ $\mu\text{l}$  (schwarze Linie) aufweisen, haben eine Anämie. Die Werte oberhalb der Linie befinden sich im physiologischen Normbereich. Der gemessene Blutwert des jeweils untersuchten Blutparameters eines Patienten wird in den Grafiken als Punkt dargestellt. Bei den Pferden wurden unterschiedlich viele Blutuntersuchungen gemacht (max. 5), deshalb werden die Punkte je nach Zahl der Untersuchung in anderen Farben dargestellt. Die horizontale Linie stellt den jeweiligen Grenzwert dar. In jenen Grafiken in denen zwei horizontale Linien sichtbar sind, grenzen diese als oberer und unterer Grenzwert den Normbereich ein. Die senkrechte Linie trennt die bestätigten Fälle (Pferd Nr. 1-26) von den verdächtigen Fällen (Pferd Nr. 27-34). Da bei Pferd Nr. 21 keinerlei Blutuntersuchungen durchgeführt wurden, sind bei diesem Tier auch keine Werte dargestellt.

Von den insgesamt 16 Tieren bei denen eine Thrombozytopenie festgestellt wurde, geschah dies zumeist bei der ersten oder zweiten Blutuntersuchung (Abb. 20). Von den neun Pferden, welche bei der ersten Blutuntersuchung eine Thrombozytopenie aufwiesen, wurden sieben einer weiteren Blutuntersuchung unterzogen, von denen alle sieben weiterhin Thrombozytenwerte unter dem Grenzwert aufzeigten. Bei vier Patienten lagen die Werte bei der ersten Untersuchung noch in der Norm, jedoch sanken sie bei den Folgeuntersuchungen unter den Grenzwert ab. Bei weiteren drei Pferden wurde die Thrombozytenkonzentration nicht quantitativ gemessen, dennoch konnte anhand mikroskopischer Differenzierung eine Thrombozytopenie festgestellt werden. Diese Tiere sind somit in folgender Grafik nicht ersichtlich. Bei Pferd Nr. 14 wurde die niedrigste Thrombozytenkonzentration mit  $1 \times 10^3$  Thrombozyten/ $\mu\text{l}$  gemessen.

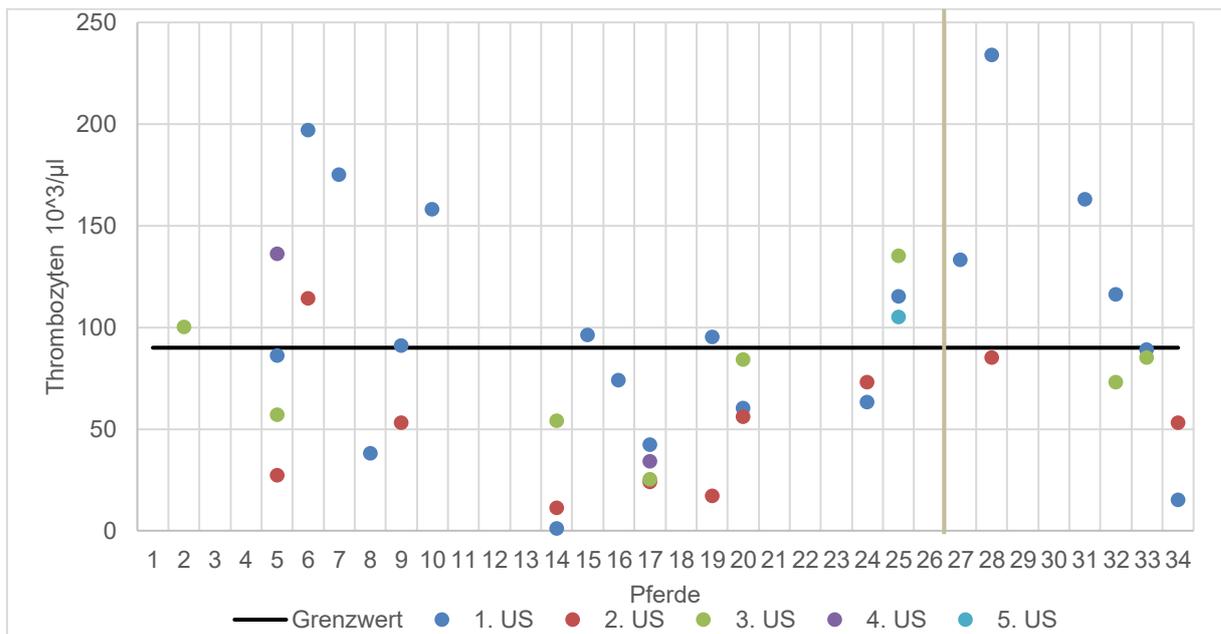


Abbildung 20: Verlauf gemessene Thrombozytenkonzentrationen nach Pferdepatient und Untersuchung (US). Alle Pferde, welche einen Wert unter dem Grenzwert von  $90 \times 10^3$  Thrombozyten/ $\mu\text{l}$  aufweisen, haben eine Thrombozytopenie. Die Werte oberhalb der Linie befinden sich im physiologischen Normbereich. Der gemessene Blutwert des jeweils untersuchten Blutparameters eines Patienten wird in den Grafiken als Punkt dargestellt. Bei den Pferden wurden unterschiedlich viele Blutuntersuchungen gemacht (max. 5), deshalb werden die Punkte je nach Zahl der Untersuchung in anderen Farben dargestellt. Die horizontale Linie stellt den jeweiligen Grenzwert dar. In jenen Grafiken in denen zwei horizontale Linien sichtbar sind, grenzen diese als oberer und unterer Grenzwert den Normbereich ein. Die senkrechte Linie trennt die bestätigten Fälle (Pferd Nr. 1-26) von den verdächtigen Fällen (Pferd Nr. 27-34). Da bei Pferd Nr. 21 keinerlei Blutuntersuchungen durchgeführt wurden, sind bei diesem Tier auch keine Werte dargestellt.

In den Abbildungen 21 und 22 wird ersichtlich, dass sich die Konzentration der Leukozyten und neutrophilen Granulozyten bei einer Vielzahl der durchgeführten Untersuchungen im Normbereich befindet. Die Messungen der beiden Blutparameter stellen sich bei den Patienten ähnlich dar. Es werden vermehrt Abweichungen dieser beiden Blutparameter nach oben und nach unten bei den verdächtigen Fällen verzeichnet.

Zwölf der untersuchten Pferde zeigen mindestens einmal eine Leukopenie und neun eine Leukozytose auf (Abb. 21). Bei vier jener Pferde, bei denen zuerst eine Leukopenie festgestellt wurde, wurde im weiteren Verlauf eine Leukozytose detektiert. Die Leukozytenkonzentration außerhalb der Grenzwerte wurde meist nur bei einer der bis zu fünf Blutuntersuchung festgestellt. Lediglich bei den verdächtigen EGA-Fällen waren die Werte häufiger bei mehreren Untersuchungen hintereinander außerhalb der Norm. Die höchste gemessene Leukozytenkonzentration liegt bei  $17.850$  Leukozyten/ $\mu\text{l}$  (Nr. 2) und die niedrigste bei  $1.310$  Leukozyten/ $\mu\text{l}$  (Nr. 27).

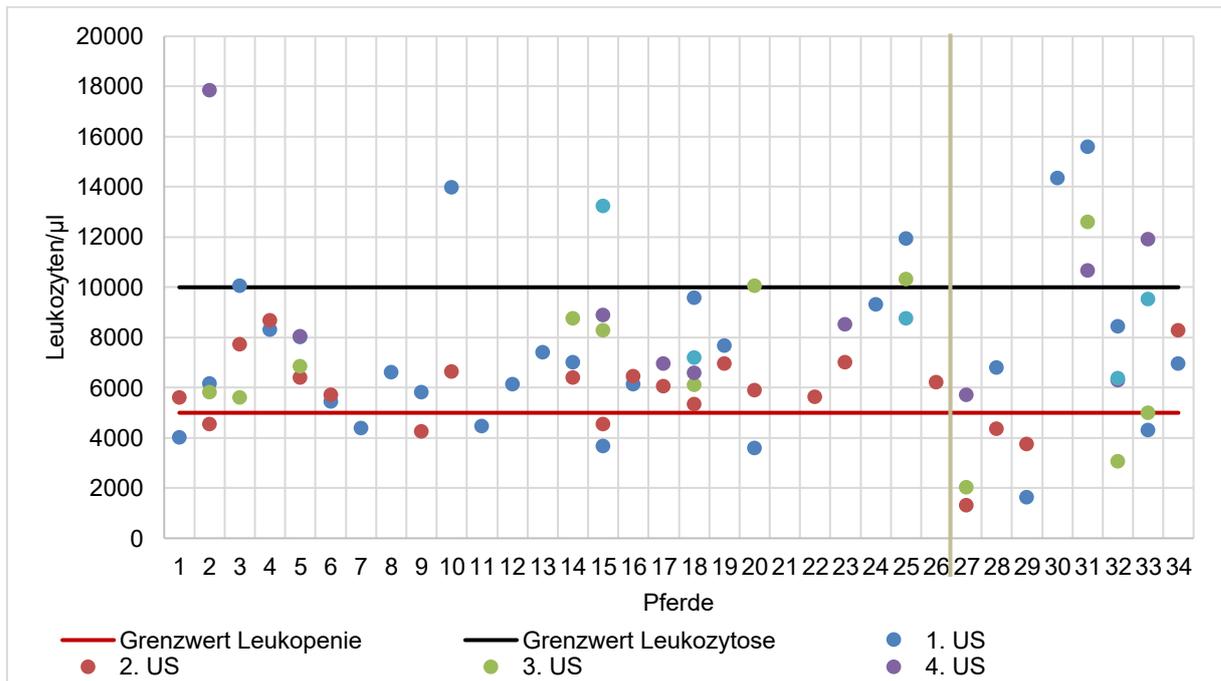


Abbildung 21: Verlauf gemessener Leukozytenkonzentration nach Pferdepatient und Untersuchung (US). Alle Pferde, welche einen Wert unter dem Grenzwert von 5.000 Leukozyten/ $\mu$ l (rote Linie) aufweisen, haben eine Leukopenie. Alle Pferde, welche einen Wert oberhalb des Grenzwertes von 10.000 Leukozyten/ $\mu$ l (schwarze Linie) aufweisen, haben eine Leukozytose. Die Werte, die sich zwischen den beiden Linien befinden, sind im physiologischen Normbereich. Der gemessene Blutwert des jeweils untersuchten Blutparameters eines Patienten wird in den Grafiken als Punkt dargestellt. Bei den Pferden wurden unterschiedlich viele Blutuntersuchungen gemacht (max. 5), deshalb werden die Punkte je nach Zahl der Untersuchung in anderen Farben dargestellt. Die horizontale Linie stellt den jeweiligen Grenzwert dar. In jenen Grafiken in denen zwei horizontale Linien sichtbar sind, grenzen diese als oberer und unterer Grenzwert den Normbereich ein. Die senkrechte Linie trennt die bestätigten Fälle (Pferd Nr. 1-26) von den verdächtigen Fällen (Pferd Nr. 27-34). Da bei Pferd Nr. 21 keinerlei Blutuntersuchungen durchgeführt wurden, sind bei diesem Tier auch keine Werte dargestellt.

Im Vergleich zur Messung der Leukozytenkonzentration wurden bei der Konzentration der neutrophilen Granulozyten seltener Abweichungen nach unten festgestellt (Abb. 22). Eine Neutropenie wurde bei insgesamt acht und eine Neutrophilie bei neun Pferden ermittelt. Eine Veränderung im Sinne einer Neutrophilie wurde häufiger bei den bestätigten Fällen nachgewiesen. Im Gegensatz dazu war bei den verdächtigen Fällen häufiger eine Neutropenie ersichtlich. Nur bei einem Pferd (Nr. 2) folgte auf eine Neutropenie eine Neutrophilie. Auch hier zeigten sich die Abweichungen meist nur einmalig. Ausnahme bildet hier wiederum die Gruppe der verdächtigen Fälle, welche abweichende Werte häufiger bei mehreren Blutuntersuchungen hintereinander aufwiesen. Die höchste gemessene Neutrophilenkonzentration liegt bei 13.994 neutrophilen Granulozyten/ $\mu$ l (Nr. 2) und die niedrigste bei 636 neutrophilen Granulozyten/ $\mu$ l (Nr. 29).

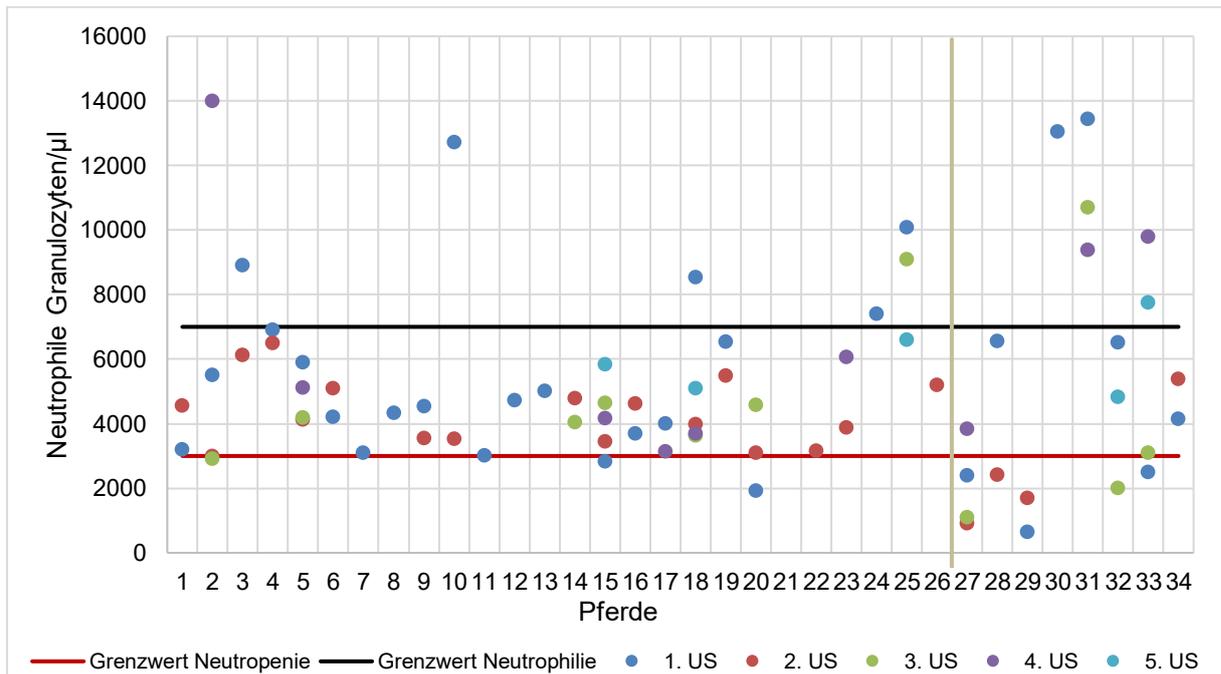


Abbildung 22: Verlauf gemessene Neutrophilenkonzentration nach Pferdepatient und Untersuchung (US). Alle Pferde, welche einen Wert unter dem Grenzwert von 3.000 neutrophilen Granulozyten/µl (rote Linie) aufweisen, haben eine Neutropenie. Alle Pferde, welche einen Wert oberhalb des Grenzwertes von 7.000 neutrophilen Granulozyten/µl (schwarze Linie) aufweisen, haben eine Neutrophilie. Die Werte, die sich zwischen den beiden Linien befinden, sind im physiologischen Normbereich. Der gemessene Blutwert des jeweils untersuchten Blutparameters eines Patienten wird in den Grafiken als Punkt dargestellt. Bei den Pferden wurden unterschiedlich viele Blutuntersuchungen gemacht (max. 5), deshalb werden die Punkte je nach Zahl der Untersuchung in anderen Farben dargestellt. Die horizontale Linie stellt den jeweiligen Grenzwert dar. In jenen Grafiken in denen zwei horizontale Linien sichtbar sind, grenzen diese als oberer und unterer Grenzwert den Normbereich ein. Die senkrechte Linie trennt die bestätigten Fälle (Pferd Nr. 1-26) von den verdächtigen Fällen (Pferd Nr. 27-34). Da bei Pferd Nr. 21 keinerlei Blutuntersuchungen durchgeführt wurden, sind bei diesem Tier auch keine Werte dargestellt.

Eine Lymphopenie wurde bei insgesamt 18 Patienten diagnostiziert (Abb. 23). Dies wurde in der Gruppe der bestätigten EGA-Fälle, mit Ausnahme eines Individuums (Nr. 25), bei der ersten oder zweiten Blutuntersuchung festgestellt. In der Gruppe der verdächtigen Fälle zeigt das Auftreten einer Lymphopenie keine eindeutige Tendenz. Sieben der 18 lymphopenischen Pferde wiesen diese Abweichung bei mehr als einer Blutuntersuchung auf. Bei drei der untersuchten Tiere wurde eine Erhöhung der Lymphozyten im Sinne einer Lymphozytose detektiert. Ein Tier (Nr. 15) entwickelte eine Lymphozytose im Laufe der Erkrankung nach einer Lymphopenie und bei einem anderen Tier (Nr. 27) wurde die Lymphozytose vor einer folgenden Lymphopenie festgestellt. Die höchste gemessene Lymphozytenkonzentration liegt bei 7.200 Lymphozyten/µl (Nr. 27) und die niedrigste bei 272 Lymphozyten/µl (Nr. 27).

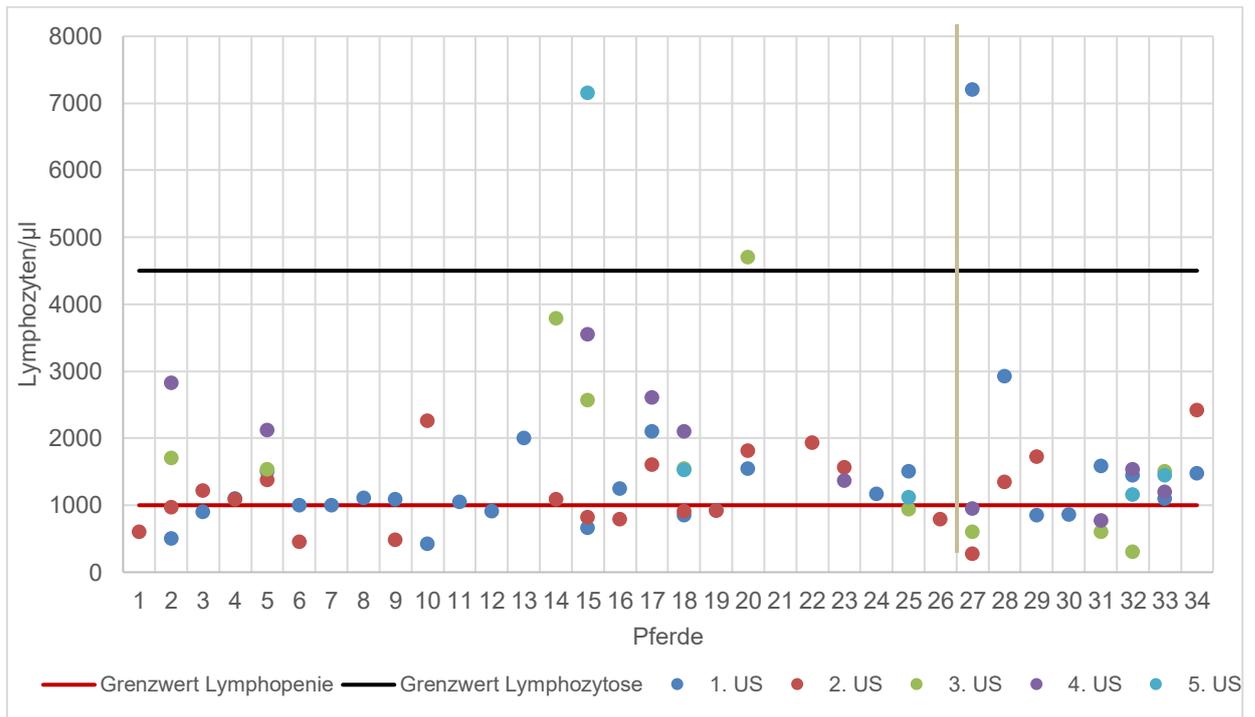


Abbildung 23: Verlauf gemessene Lymphozytenkonzentration nach Pferdepatient und Untersuchung (US). Alle Pferde, welche einen Wert unter dem Grenzwert von 1.000 Lymphozyten/µl (rote Linie) aufweisen, haben eine Lymphopenie. Alle Pferde, welche einen Wert oberhalb des Grenzwertes von 4.500 Lymphozyten/µl (schwarze Linie) aufweisen, haben eine Lymphozytose. Die Werte, die sich zwischen den beiden Linien befinden, sind im physiologischen Normbereich. Der gemessene Blutwert des jeweils untersuchten Blutparameters eines Patienten wird in den Grafiken als Punkt dargestellt. Bei den Pferden wurden unterschiedlich viele Blutuntersuchungen gemacht (max. 5), deshalb werden die Punkte je nach Zahl der Untersuchung in anderen Farben dargestellt. Die horizontale Linie stellt den jeweiligen Grenzwert dar. In jenen Grafiken in denen zwei horizontale Linien sichtbar sind, grenzen diese als oberer und unterer Grenzwert den Normbereich ein. Die senkrechte Linie trennt die bestätigten Fälle (Pferd Nr. 1-26) von den verdächtigen Fällen (Pferd Nr. 27-34). Da bei Pferd Nr. 21 keinerlei Blutuntersuchungen durchgeführt wurden, sind bei diesem Tier auch keine Werte dargestellt.

Eine Monozytose wurde insgesamt bei 20 der untersuchten Patienten festgestellt, wobei diese Abweichung meist erst bei der zweiten, dritten oder vierten Blutuntersuchung entdeckt wurde (Abb. 24). Nur fünf der 20 Pferde hatten schon bei der ersten Untersuchung eine Monozytenkonzentration über dem Grenzwert von 500 Monozyten/µl. Bei sechs Pferden war die Monozytenkonzentration bei mehreren Untersuchungen hintereinander erhöht. Ein Pferd (Nr. 33) zeigte bei der ersten Untersuchung eine erhöhte Monozytenkonzentration, welche bei der folgenden wieder in der Norm war, jedoch daraufhin wieder über den Grenzwert anstieg. Die höchste Monozytenkonzentration liegt bei 1.433 Thrombozyten/µl (Nr. 23).

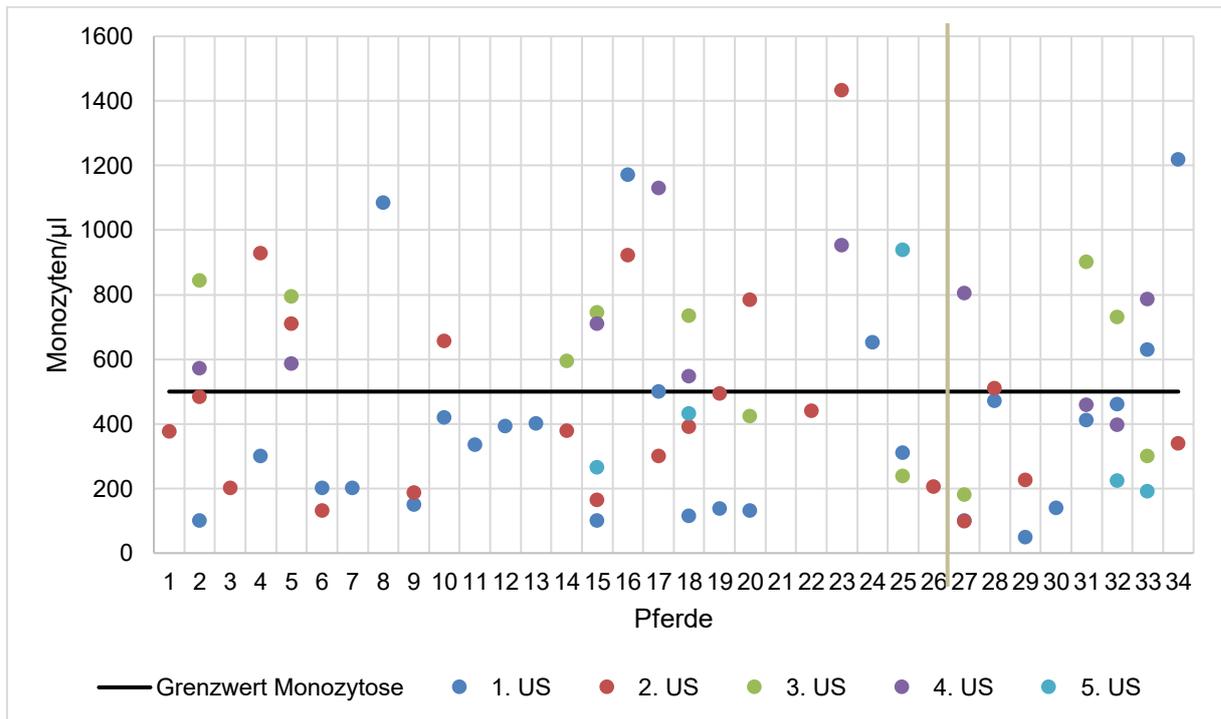


Abbildung 24: Verlauf gemessene Monozytenkonzentration nach Pferdepatient und Untersuchung (US). Alle Pferde, welche einen Wert oberhalb des Grenzwertes von 500 Lymphozyten/ $\mu\text{l}$  (schwarze Linie) aufweisen, haben eine Monozytose. Die Werte, die sich darunter befinden, sind im physiologischen Normbereich. Der gemessene Blutwert des jeweils untersuchten Blutparameters eines Patienten wird in den Grafiken als Punkt dargestellt. Bei den Pferden wurden unterschiedlich viele Blutuntersuchungen gemacht (max. 5), deshalb werden die Punkte je nach Zahl der Untersuchung in anderen Farben dargestellt. Die horizontale Linie stellt den jeweiligen Grenzwert dar. In jenen Grafiken in denen zwei horizontale Linien sichtbar sind, grenzen diese als oberer und unterer Grenzwert den Normbereich ein. Die senkrechte Linie trennt die bestätigten Fälle (Pferd Nr. 1-26) von den verdächtigen Fällen (Pferd Nr. 27-34). Da bei Pferd Nr. 21 keinerlei Blutuntersuchungen durchgeführt wurden, sind bei diesem Tier auch keine Werte dargestellt.

#### 4.6. Therapie

Von den 34 aufgenommenen EGA-Fällen wurden 31 (91 %) mit Antibiotika behandelt und drei (9 %) nicht. Von den behandelten Patienten wurden 30 (97 %) mit Tetrazyklin-Präparaten therapiert und ein Pferd (3 %) wurde mit anderen Antibiotika behandelt. Dieses Pferd wurde mit einer Kombination aus Penicillin und Gentamicin behandelt. Am häufigsten wurden die Tetrazykline in einer Dosierung von 6,6 mg/kg verabreicht (n=12). Die zweithäufigste Dosierung war 7 mg/kg (n=7). Bei einigen Pferden war die verabreichte Medikamentenmenge pro kg Körpergewicht anhand der aufgezeichneten Daten nicht ersichtlich. Die Antibiotikatherapie wurde bei acht Pferden (26 %) für mehrere Tage fortgeführt. Im Durchschnitt wurde die Therapie bei diesen Tieren 4,5 Tage lang durchgeführt mit einer Mindestdauer von drei und einer Maximaldauer von acht Tagen. Dabei beläuft sich der Median

auf vier Tage. Bei den anderen 23 Patienten (74 %) beschränkte sich die Antibiotikatherapie auf eine einmalige Gabe. Oxytetracyclin wurde den Patienten entweder direkt i.v. injiziert oder in Form einer Dauertropfinfusion in 500 ml NaCl verabreicht.

Keines der aufgenommenen Pferde wurde zusätzlich zur antibiotischen Therapie mit Corticosteroiden behandelt.

#### **4.7. Verlauf**

Bei drei der 34 Pferde traten nach der Therapie mit Oxytetracyclin Komplikationen auf. Zwei dieser Pferde zeigten eine milde Hautreaktion nach der Injektion. Es bildeten sich Quaddeln, welche aber nach kurzer Zeit wieder verschwanden. Zusätzlich dazu zeigte eines dieser beiden Pferde nach der Therapie weichen, kuhfladenartigen Kot. Das dritte Pferd zeigte eine Verschlechterung des Allgemeinzustandes nach der Oxytetracyclingabe. Es entwickelte geringgradige Koliksymptome, Muskelzittern, Schweißausbruch, eine kalte Körperoberfläche, breiigen Kot und blasse Schleimhäute. Das Tier wurde mit einer Infusion stabilisiert. Der Zustand des Patienten verbesserte sich daraufhin rapide und auch die EGA-Symptome klangen nach einigen Tagen ab.

Die restlichen Patienten sprachen gut auf die Antibiotikatherapie an, sowohl Tiere der verdächtigen als auch der bestätigten Gruppe. Sie zeigten innerhalb von 24 Stunden nach der Antibiotikagabe eine deutliche Reduktion des Fiebers, sowie eine Verbesserung des Allgemeinbefindens und der Fresslust. Etwaig vorhandene Gliedmaßenödeme, Ataxien verringerten sich langsam von Tag zu Tag bis sie nach einigen Tagen komplett verschwanden. Veränderungen des Blutbilds näherten sich bei den Pferden, bei denen ein paar Tage nach Einleitung der Therapie ein Kontrollblutbild gemacht wurde, wieder den Normwerten an, waren aber häufig noch nicht komplett in der Norm.

Jene Pferde, bei denen man sich gegen eine Antibiotikatherapie entschieden hatte, zeigten seit Anfang an eher mildere Symptome, welche sich unter engmaschiger Kontrolle nicht weiter verschlechterten. Da sich der Zustand stetig besserte wurden sie nach wenigen Tagen wieder entlassen.

## 5. Diskussion

### 5.1. Erregernachweis

Über den Zeitraum von 21 Jahren wurden an der Universitätsklinik für Pferde der VUW 34 Pferde (jährlich bis zu vier Fälle) mit Verdacht auf EGA aufgenommen. Bei 26 der aufgenommenen Fälle konnte *A. phagocytophilum* nachgewiesen werden. Diese wurden meist mit dem Blutaussstrich oder der PCR-Methode oder mittels einer Kombination von beiden diagnostiziert. Auffällig dabei war, dass die PCR-Untersuchung bei gleich vielen im Blutaussstrich positiven wie negativen Patienten positiv ausfiel. Jedoch war bei einem positiven Blutaussstrich nur bei einem Tier die PCR negativ. Daraus kann man schließen, dass sich diese beiden labordiagnostischen Methoden gut zum Nachweis von *A. phagocytophilum* eignen, jedoch können die Morulae im Blutaussstrich nur in einem bestimmten Zeitraum der Infektion festgestellt werden. Ob der PCR-negative Blutaussstrich aufgrund eines Fehlers wegen subjektiver Beurteilung des Ausstrichs oder aufgrund eines falsch negativen PCR-Ergebnisses abweichend war, konnte jedoch nicht festgestellt werden. Deshalb wird eine Kombination empfohlen. Die Kombination beider Diagnoseverfahren ermöglicht ein erkranktes Tier mit einer höheren Wahrscheinlichkeit zu erfassen. Vor allem bei unklaren Fällen sollten mehrere Methoden zur Anwendung kommen (Silaghi et al., 2017).

Im Blutaussstrich von Pferd Nr. 1 waren keine Morulae zu finden, jedoch wies es Antikörper gegen *A. phagocytophilum* auf. Das spricht für eine stattgefundene Infektion, die aber nicht mehr akut war, da keine Parasiten mehr im Blut sichtbar waren und sich schon Antikörper gebildet hatten. Mit Hilfe der serologischen Blutuntersuchung werden Antikörper im Serum der Patienten nachgewiesen. Antikörper werden im Zuge einer Infektion gebildet. Ab dem etwa 14. Tag einer Infektion beginnt die Antikörperbildung, wobei die gebildeten Antikörper dann mehrere Jahre bestehen bleiben können. Laut Franzén et al. (2005) ist ein positiver Antikörpernachweis bis zu zwei Jahre nach der Infektion möglich. Jedoch wäre es auch möglich, dass einige Pferde auch länger einen genügend hohen Antikörpertiter aufweisen, dazu fehlen derzeit jedoch ausreichend Studien. Da die Serologie lediglich Antikörper im Blut nachweist und nicht direkt den Erreger, eignet sie sich nicht zur Diagnose einer akuten Anaplasmeninfektion, jedoch kommt sie zur Diagnose einer stattgefundenen Infektion nach dem Ende der akuten Phase der Bakteriämie zum Einsatz. Blutaussstrich und PCR können dabei negativ ausfallen. Daher wird die Serologie eher als Screening-Methode zur Erfassung

der (Sero-)Prävalenz verwendet (Franzén et al., 2005; Madigan et al., 1990; Pusterla & Madigan, 2013a; Schotthoefler et al., 2013; Selbitz et al., 2015; Van Andel et al., 1998).

Das bedeutet nun, dass sich jene Tiere mit einem positiven Serologieergebnis, schon vor langer Zeit mit dem Erreger infiziert haben könnten. Patient Nr. 1 hat nachweislich in der Vergangenheit eine Anaplasmeninfektion überstanden, jedoch kann allein aufgrund dessen nicht darauf zurückgeschlossen werden, ob die aktuellen Symptome im Zusammenhang mit dieser Infektion stehen oder ob es dafür einen anderen Auslöser gibt. Deshalb hätte dieses Tier womöglich aus der Gruppe der bestätigten Fälle, welche ansonsten nur aus akut erkrankten Tieren besteht, ausgenommen werden sollen und einer eigenen Gruppe von Antikörper-positiven Tieren zugeordnet werden sollen. Jedoch ist der Patientenumfang dieser Arbeit für eine sinnvolle Auswertung nach diesem Schema zu gering.

## **5.2. Erfasste Studienpopulation**

Der Zeitraum der verzeichneten Fälle wurde auf die letzten 20 Jahre eingeschränkt, da das TIS erst im Jahr 2001 an der Pferdeklinik der VUW etabliert wurde und die Aufzeichnungen der Fälle vor diesem Zeitraum nicht zugänglich waren. Deshalb wurden alle aufgenommenen EGA-Fälle ab diesem Zeitpunkt bis zum Oktober 2021 in dieser Studie inkludiert. Da anzunehmen ist, dass nicht alle EGA-Patienten an die VUW verweisen werden, kann über die Häufigkeit der Erkrankung bei Pferden in Österreich im Rahmen dieser Studie keine Aussage getroffen werden. Es ist anzunehmen, dass der größere Teil der österreichischen EGA-Fälle nicht an der Universitätsklinik sondern vielmehr ambulant am Betrieb behandelt werden und entsprechend von wesentlich höheren Infektionszahlen in der Pferdepopulation auszugehen ist (S. Berger, pers. Mitt. 2022).

Laut Literatur sind bis jetzt keine Geschlechts-, Rasse- oder Altersprädispositionen für die EGA bekannt (Gehlen et al., 2021; Madigan & Pusterla, 2015). In dieser Studie zeigten sich vermehrt Wallache, Warmblüter und Pferde im Alter von neun bis 16 Jahren betroffen. Ob es sich dabei um eine für die gesamte exponierte Pferdepopulation Österreichs repräsentative Subpopulation handelt oder eine Disposition konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht ermittelt werden, es kann aber angenommen werden, dass diese Gruppen auch den Großteil der Patienten der Universitätsklinik für Pferde ausmachen. Das Alter des Tieres soll jedoch einen Einfluss auf den Schweregrad des Krankheitsverlaufs haben. Pferde über vier Jahre sollen typische klinische Symptome zeigen, während jüngere Pferde eher mildere Symptome entwickeln (Gehlen et al., 2021; Madigan & Pusterla, 2015). Die meisten in dieser Studie

aufgenommenen Pferde waren im Alter von neun bis 16 Jahren. Da aber nur eines der Pferde (Nr. 20) unter vier Jahre alt war konnte eine mildere Symptomatik, wie in der Literatur beschrieben, in diesem Fall nicht verifiziert werden. Dieses Tier zeigte ebenso typische Symptome, wie Fieber, Apathie, Anorexie, ikterische Schleimhäute und Gliedmaßenödeme. Es gab keinen Hinweis darauf, dass der Verlauf deutlich milder als bei den älteren Tieren war.

Des Weiteren waren gehäuft Freizeit- und Dressurpferde an EGA erkrankt und seltener Trabrennpferde und anders verwendete Gruppen (Tab. 2). Ein möglicherweise vermehrtes Auftreten bei Freizeitpferden könnte sich durch die unterschiedlichen Haltungsbedingungen im Gegensatz zu kommerziell genutzten Pferden erklären. Es ist anzunehmen, dass Freizeitpferde tendenziell mehr Zeit auf Weide verbringen und häufiger Ausritte unternehmen, wodurch das Zeckenexpositionsrisiko erhöht ist. Jedoch fehlten ausreichend Informationen zur Haltung der untersuchten Pferde, sodass eine tieferegehende Analyse der Haltungsbedingungen nicht möglich war.

Als Herkunftsgebiet der in dieser Studie inkludierten Pferde zeigte sich der Nordosten Österreichs (Abb. 11). Dieser Sachverhalt lässt sich vermutlich durch die Nähe der Herkunftsgebiete zur Universitätsklinik erklären.

Das Auftreten der EGA-Fälle konzentriert sich vor allem auf die Frühlings- und Sommermonate (Abb. 12). Dies überschneidet sich mit der Aktivitätsphase des Vektors *I. ricinus*, welche sich in Europa auf Frühling bis Herbst beschränkt (Gray et al., 2009). Ein einziger Fall (Nr. 28) wurde im Winter verzeichnet, und zwar Anfang Februar 2011 in Niederösterreich. Laut Wetteraufzeichnungen der Zentralanstalt für Meteorologie und Geodynamik (ZAMG) des Jahres 2010/11 wurden Mitte Jänner bis Anfang Februar in Österreich außergewöhnlich hohe Temperaturen verzeichnet. Diese frühlingshaften Temperaturen führten zum Einsetzen von Tauwetter. In Niederösterreich wurden am 7.2.2011 in Pottschach und in Reichenau an der Rax die Höchsttemperatur dieses Winters von 20,6 °C gemessen (ZAMG, 2011a, 2011b). Dermaßen erhöhte Wintertemperaturen können zum verfrühten Einsetzen der Aktivitätsphase der Zecken geführt haben (Gray et al., 2009).

### **5.3. Symptome und Verlauf**

Alle aufgenommenen Pferde zeigten an der Klinik oder anamnestisch eine erhöhte innere Körpertemperatur. Therapieresistentes rezidivierendes Fieber unbekannter Genese war der häufigste Vorstellungsgrund. Das entspricht auch den Angaben in anderen Studien, dass Fieber als initiales Symptom auftritt und nach dem Höhepunkt des Fiebers in der Regel für

einige Tage fluktuiert (Deane et al., 202; Gribble, 1969; Gussmann et al., 2014; Madigan & Gribble, 1987; Nolen-Walston et al., 2004). Einige Tiere waren mit fiebersenkenden Medikamenten vorbehandelt, weshalb sie bei Vorstellung an der Klinik kein Fieber mehr aufwiesen. Bei den meisten Patienten fluktuierte das Fieber im Laufe der Erkrankung und sank deutlich innerhalb von 24 Stunden nach der Oxytetracyclinadministration ab. Auch die verdächtigen Fälle zeigten eine deutliche Besserung auf die Therapie mit Tetracyclinen, was für eine stattgefundene Anaplasmeninfektion spricht (Madigan & Gribble, 1987; Pusterla & Madigan, 2013a).

Sieben Pferde wurden aufgrund von milden Koliksymptomen mit oder ohne Fieber an der Klinik vorstellig. Bei einigen dieser Pferde wurden weitere typische klinische EGA-Symptome und labordiagnostische Veränderungen erst im Laufe des Klinikaufenthalts sichtbar. Deshalb verzögerte sich der ganze Prozess der Diagnosestellung bis zur adäquaten Behandlung etwas, was die Dauer des Klinikaufenthalts entsprechend verlängerte.

Der Patient Nr. 18 war wegen einer Trächtigkeitsuntersuchung und in weiterer Folge zur künstlichen Besamung auf der Klinik für Gynäkologie und Neonatologie der VUW. Im Laufe des Aufenthalts entwickelten sich Fieber und weitere Symptome. Daraufhin wurde das Pferd in die Pferdeklinik überstellt und dort weiter untersucht und behandelt. Die Stute war mit 25 Tagen am längsten an der VUW.

Bewegungsunlust trat bei einigen Tieren wahrscheinlich eher infolge anderer Erkrankungen, wie etwas Hufrehe (Nr. 29) oder multipler Wunden im distalen Gliedmaßenbereich (Nr. 33) auf. Laut Madigan und Gribble (1987) verläuft die EGA in den meisten Fällen mild (Madigan & Gribble, 1987). Auch in dieser Studie zeigten sich meist mildere Formen der EGA. Diese sprachen allesamt sehr gut auf die Therapie an und erholten sich nach wenigen Tage von der Infektion. Schwerwiegende Komplikationen oder sogar Todesfälle infolge der Infektion wurden nicht verzeichnet.

Generell waren der Verlauf und der Schweregrad der Erkrankung mithilfe des TIS nicht einfach rekonstruierbar. Außerdem wurden einige der Patienten schon frühzeitig nach oder vor der Therapie entlassen und infolgedessen vom Haustierarzt weiter betreut, so dass Informationen über den Verlauf nicht verfügbar waren.

#### 5.4. Blutbefunde

Die Interpretation der Blutbefunde erwies sich aus mehreren Gründen als schwierig. Erstens wurden bei den aufgenommenen Patienten unterschiedlich viele Blutuntersuchungen gemacht und bei einem Pferd (Nr. 21) lagen gar keine vor. Außerdem wurden bei den Pferden unterschiedliche Blutparameter gemessen. Zum Beispiel wurde Bilirubin nur bei zehn Pferden (29 %) untersucht. Auch Fibrinogen, SAA und Eisen wurde nur bei knapp der Hälfte der Pferde gemessen. Hinweise auf Azotämie gab es, in den vorliegenden Fällen nicht, allerdings lagen auch nicht für alle Pferde vollständige Harnstoff- und Kreatininwerte vor. Zur Früherkennung von Nierenfunktionsstörungen wird in neuerer Zeit vermehrt Symmetrisches Dimethylarginin (SDMA) verwendet, das auch beim Pferd als sensitiver Marker gilt (Siwinska et al., 2021), dieser wurde aber bei der vorliegenden Studienpopulation nicht untersucht.

Zusätzlich waren die Abweichungen der Blutwerte schwer zu beurteilen, da der Zeitpunkt der Infektion unbekannt war. Manche Blutwerte könnten deshalb bereits früher abweichend und danach bereits bei der ersten aufgezeichneten Untersuchung wieder in der Norm gewesen sein. Umgekehrt konnten Abweichungen der Werte auch erst in Entwicklung sein, was aber bei einmaligen Untersuchungen nicht erfasst werden kann.

Der erhöhte SAA-Wert bei allen Tieren ist ein Indikator für eine akute Infektion. Es gilt als Akut-Phase-Protein (Moritz et al., 2014). Auch Fibrinogen wird aus demselben Grund häufig gemessen, jedoch war dieser Wert bei den Patiententieren dieser Studie seltener verändert. Bei jenen Tieren, bei denen sowohl das SAA als auch das Fibrinogen gemessen wurde, zeigten drei der Patienten bei einem erhöhten SAA-Wert auch eine Erhöhung des Fibrinogenwerts. Bei sechs anderen Pferden war jedoch keine Hyperfibrinogenämie feststellbar, obwohl der SAA-Wert erhöht war. Für diese Beobachtung wurden jeweils nur Untersuchungen herangezogen, bei denen beide Blutparameter gleichzeitig gemessen wurden. Das entspricht der Feststellung, dass die Fibrinogenwerte zwar erhöht sein können, jedoch häufig im Normbereich bleiben (Pusterla et al., 1998b). Des Weiteren gilt eine Erniedrigung des Eisengehalts auch als sensibler Indikator einer systemischen Infektion beim Pferd (Brehm et al., 2017). Acht der Pferde wiesen eine solche Veränderung auf, jedoch wurde der Eisenwert auch nur bei insgesamt 16 der Tiere gemessen.

Eine Hyperbilirubinämie zeigt sich klinisch in Form eines Ikterus mit gelblich verfärbten Schleimhäuten (Moritz et al., 2014). Bei 30 Patienten wurden ikterische Schleimhäute beobachtet, jedoch konnte nur bei fünf dieser Pferde labordiagnostisch eine

Hyperbilirubinämie festgestellt werden. Drei weitere zeigten physiologische Bilirubinwerte. Möglicherweise haben sich die Bilirubinwerte zum Zeitpunkt der Messung schon wieder normalisiert. Insgesamt wurde Bilirubin nur bei zehn Individuen gemessen. Hyperbilirubinämie könnte infolge einer hämolytischen Anämie oder infolge der Anorexie, welche die Patiententiere zeigten, in Form eines Inanitionsikterus entstehen (Brehm et al., 2017). Drei der Pferde mit einer Hyperbilirubinämie zeigten gleichzeitig auch eine Anämie, die anderen drei zeigte keine Anämie. Jene vier Patienten, bei denen das Bilirubin in der Norm war, prägten alle eine Anämie aus. Jedoch wurde bei einem dieser Fälle das Bilirubin schon vor der Manifestation einer Anämie gemessen.

Die Ausprägung einer Anämie wurde bei insgesamt 14 Pferden verzeichnet (Abb. 17) und bei weiteren zehn Pferde befand sich die Erythrozytenzahl noch im Referenzbereich, jedoch an der unteren Grenze ( $6,5-7,0 \times 10^6/\mu\text{l}$ ). Einige Patienten entwickelten erst im Laufe des Aufenthalts eine voll ausgeprägte Anämie (Abb. 19). Aufgrund dessen, dass bei manchen Patienten nur eine einmalige Messung der Erythrozytenkonzentration durchgeführt wurde, konnte der Verlauf nicht weiter untersucht werden. Für die Diagnose einer Anämie wurden allein die gemessene Gesamterthrozytenzahl herangezogen und nicht der notierte Hämatokrit, da es da teilweise große Differenzen gab. Dies lässt sich eventuell auf Unterschiede in der Bestimmungsgenauigkeit verschiedener verwendeter Geräte zurückführen.

Infolge einer Thrombozytopenie treten Gerinnungsstörungen auf, welche sich in Form von Schleimhautblutungen äußern (Moritz et al., 2014). Bei drei Patienten entdeckte man Petechien unter der Nasenflügelfalte, jedoch wurde nur bei einem eine Thrombozytopenie nachgewiesen. Eine bestehende Thrombozytopenie wurde sehr häufig bei den Patienten dieser Studie diagnostiziert. Siebzig Prozent der Pferde wiesen diese Veränderung auf. Die Thrombozytenkonzentration wurde bei 23 Tieren gemessen. Hätte man diese Parameter auch bei den restlichen elf Patienten gemessen, hätten sehr wahrscheinlich weitere Tiere mit reduzierter Blutplättchenkonzentration festgestellt werden können.

Ein weißes Blutbild wurde bei 33 von 34 Pferden zumindest einmal erstellt. Laut Madigan und Gribble (1987) ist eine Leukopenie eine typische labordiagnostische Veränderung der EGA (Madigan & Gribble, 1987). Jedoch zeigte sich in dieser Studie nur bei 36 % der Patienten eine Leukopenie. Eine Abweichung in die andere Richtung im Sinne einer Leukozytose ist ähnlich häufig mit 27 % aufgetreten. Insgesamt wurde bei vier Patienten im Verlauf des Klinikaufenthalts zuerst eine Leukopenie und darauffolgend eine Leukozytose festgestellt

(Abb. 21). Dies kann als Zeichen einer leicht überschießenden, aber physiologische Reaktion des Körpers auf die Leukopenie aufgefasst werden.

Obwohl in der Literatur eine Abweichung der neutrophilen Granulozyten häufiger in Form einer Neutropenie beschrieben wird (Franzén et al., 2005; Gribble, 1969), zeigten sich in dieser Studie häufiger Neutrophilien (27 %) als Neutropenien (24 %). Auffällig ist, dass eine Neutropenie deutlich häufiger bei den verdächtigen (63 %) als bei den bestätigten Fällen (12 %) verzeichnet wurde (Abb. 22). Dahingegen sind bei den bestätigten EGA-Fällen doppelt so viele Neutrophilien (24 %) wie Neutropenien (12 %) aufgetreten. Es ist beschrieben, dass in der febrilen Phase vor Entwicklung einer Neutropenie eine Neutrophilie auftreten kann (Gribble, 1969). In dieser Studie wurden jedoch nur zwei umgekehrte Verläufe festgestellt. Jene Tiere entwickelten zuerst eine Neutropenie und dann eine Neutrophilie. Die Aussagekraft dieser Ergebnisse ist aufgrund der geringen Probandenzahl und der großen Abweichungen als vorsichtig zu bewerten.

Die Lymphozyten zeigen bei 55 % der Patienten eine typische Erniedrigung. Lediglich drei Patienten wiesen eine Lymphozytose im Verlauf der Erkrankung auf (Abb. 23). Obwohl die Monozytose nicht als typische Begleiterscheinung einer EGA-Erkrankung erwähnt wird, wird diese Veränderung des Blutbilds mit einer relativen Häufigkeit von 61 % vergleichsweise häufig beobachtet. Meist war eine Monozytose erst bei den Folgeuntersuchungen vorhanden und wurde seltener schon bei der ersten Blutuntersuchung beobachtet (Abb. 24). Eine Monozytose tritt im Zuge der Heilung von einer akuten Infektionserkrankung auf, was den Verlauf erklären würde (Moritz et al., 2014).

## **5.5. Therapie**

Das Tetrazyklin der Wahl war in dieser Studie Oxytetracyclin. Nur bei einem einzigen Pferd wurde Doxycyclin verwendet. Eines der behandelten Pferde wurde nicht mit Tetrazyklinen behandelt, sondern mit einer Kombination aus Penicillin mit Gentamicin über mehrere Tage. Der Grund für die Entscheidung gegen eine Tetrazyklintherapie dieses Patienten, war das Vorliegen einer Trächtigkeit. Die Stute war im zehnten Monat tragend und das Risiko einer Problemgeburt war aufgrund des Fiebers und der Leukozytose erhöht. Obwohl laut Literatur Tetrazykline in der zweiten Hälfte der Trächtigkeit angewandt werden können, da die Gefahr von Störungen der fetalen Skelettentwicklung nur in der ersten Hälfte der Trächtigkeit besteht (Fatro, 2020; Plumb, 1999), wurde bei diesem Patienten davon abgesehen.

Neben den bestätigten zeigten auch die verdächtigen Fälle eine deutliche Besserung auf die Therapie mit Tetracyklinen, was für eine stattgefundene Anaplasmeninfektion spricht (Adaszek & Winiarczyk, 2011; Madigan & Gribble, 1987; Pusterla et al., 1998a).

Ein Patient (Nr. 30) zeigte eine stärkere Reaktion auf die Oxytetracyklininfusion. Dies war höchstwahrscheinlich eine Herxheimer-Reaktion. Der Körper reagierte auf die plötzlich freiwerdende hohe Dosis an Bakterientoxine, durch die therapieinduzierte Zerstörung der Anaplasmen, mit der Freisetzung proinflammatorischer Mediatoren. Als Folge davon kommt es zu einer Gefäßverengung, die sich in Form von blassen Schleimhäuten und Schüttelfrost zeigt. Außerdem wird der Darm dabei weniger durchblutet, was zur spastischen Kolik führen kann (Dhakal & Sbar, 2021). Alle soeben beschriebenen Symptome wurden bei diesem Patienten festgestellt.

Die Konzentration in der Oxytetracyklin gegeben wurde ist nicht bei allen aufgenommenen Pferden nachvollziehbar. Die am häufigsten verwendeten Dosierungen von 6,6 und 7 mg/kg entsprechen der allgemeinen Empfehlung der Literatur (Hermann et al., 1985; Madigan & Gribble, 1987; Van Erck & Lekeux, 2005).

Zwei der aufgenommenen Pferde (Nr. 7 und 31) wurden vom Haustierarzt vorbehandelt. Pferd Nr. 31 wurden schon vor der Überweisung auf die Klinik mit Oxytetracyklin therapiert. Nach dem kurzen Aufenthalt an der Klinik zur Diagnostik von EGA wurde der Patient wieder entlassen und weiters vom Haustierarzt betreut. Der Patient Nr. 7 wurde mit einer Empfehlung einer Behandlung mit Oxytetracyklin an den Haustierarzt entlassen, jedoch ist nicht ersichtlich, ob diese Therapie auch durchgeführt wurde.

Bei weiteren zwei Patienten (Nr. 24 und 26) entschied man sich gegen eine antibiotische Therapie, da diese Tiere zum Zeitpunkt der Vorstellung nur minimale Symptome zeigten. Bei beiden gelang der Erregernachweis. Anhand des klinischen Erscheinungsbilds wurde angenommen, dass die Symptome schon am Abklingen waren. Beide Patienten wurden engmaschig überwacht und nach einigen Tagen wieder entlassen. Dies weist auf eine Selbstlimitierung der EGA-Erkrankung, wie in der Literatur beschrieben, hin (Madigan & Gribble, 1987).

Da *A. phagocytophilum* ein breites Wirtsspektrum hat, das viele Wildtiere einschließt (Woldehiwet, 2010) und nur von Zecken und nicht direkt über Kontakt übertragen werden kann (Madigan et al., 1990; Madigan & Gribble, 1987) spielen asymptomatisch infizierte Träger als Infektionsquelle für andere Haustiere und den Menschen nur eine untergeordnete Rolle, so

dass eine Behandlung ausschließlich zum Zweck der Erregerelimination als nicht notwendig angesehen werden kann.

#### **5.6. Schlussfolgerungen und Ausblick**

Es konnte festgestellt werden, dass die EGA in Österreich wiederkehrend und vor allem im Frühjahr und Sommer auftritt. Die Hypothese der Arbeit konnte somit bestätigt werden. Sie ist daher als Differentialdiagnose bei fieberhaften Erkrankungen auch hierzulande zu berücksichtigen, wobei die große Spanne weiterer möglicher Symptome klinisch nicht immer Hinweise auf eine mögliche EGA gibt und Risikofaktoren wie Jahreszeit oder Zeckenkontakt, insbesondere bei erhöhter Zeckenaktivität im Zusammenhang mit hohen Frühjahrstemperaturen, mit zu berücksichtigen sind.

In zukünftigen prospektiv durchgeführten Studien sollten die zu untersuchenden Parameter vorab festgelegt und das Therapieschema vereinheitlicht werden. Außerdem sollten wiederholte Messungen in regelmäßigen Abständen durchgeführt werden, damit der Verlauf der Erkrankung besser beurteilt werden kann. Dadurch könnte das Diagnostik- und Therapieschema für die EGA weiter verbessert werden.

## 6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Daten von im Zeitraum 2004 bis 2021 an der Universitätsklinik für Pferde der Veterinärmedizinischen Universität Wien aufgenommenen EGA-Fälle erfasst, vergleichend dargestellt, retrospektiv ausgewertet und in Bezugnahme auf aktuelle Literatur diskutiert, um das Vorkommen und die Bedeutung dieser Infektion beim Pferd in Österreich aufzuzeigen. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass die EGA in Österreich regelmäßig vorkommt und differentialdiagnostisch berücksichtigt werden sollte. Im untersuchten Zeitraum wurden 34 EGA-(Verdachts-)Fälle an der Klinik erfasst, wobei bei 26 Patienten die Verdachtsdiagnose mittels labordiagnostischer Nachweisverfahren bestätigt werden konnte. In dieser Studie stellte eine Kombination aus den beiden Methoden der mikroskopischen Untersuchung des Blutausstrichs und der PCR das Verfahren der Wahl dar, um die Infektion erkrankter Tiere zu erfassen. Des Weiteren wurden Patientendaten bezüglich Rasse, Alter, Geschlecht, Nutzungsart und Herkunft der Patienten miteinander verglichen und ausgewertet. Obwohl laut Literatur keine Prädispositionen für bestimmte Rassen, Nutzungsrichtung, Geschlechter oder Altersgruppen bekannt sind, zeigen sich in dieser Studie vermehrt Warmblüter, Freizeit- und Dressurpferde, Wallache und Pferde im Alter von neun bis 16 Jahren von EGA betroffen. Die Herkunft der Patienten konzentrierte sich vor allem auf den Nordosten Österreichs. Überwiegend in den Frühlings- und Sommermonaten wurden die Patienten an der Pferdeklinik vorstellig, was den Aktivitätsphasen des Vektors *I. ricinus* entspricht. Ein einzelner Fall wurde im Winter vorstellig, wobei die Wetteraufzeichnungen mildere Temperaturen in diesem Zeitraum verzeichneten. Die Patienten zeigten alle, unabhängig davon, ob die EGA diagnostisch bestätigt wurde oder nicht, einen milden Verlauf der Erkrankung mit typischen klinischen Symptomen, wie rezidivierendes Fieber, Apathie, Anorexie und Ikterus. Seltener traten Gliedmaßenödeme, Bewegungsunlust, Ataxie, Koliksymptome und Petechien auf. In der Hämatologie und Blutchemie zeigte sich besonders häufig eine erhöhte SAA-Konzentration, eine Thrombozytopenie, eine Hyperbilirubinämie und eine Monozytose. Unterschiedlich häufiges Auftreten von klinischen und labordiagnostischen Abweichungen zwischen den beiden Gruppen der verdächtigen und bestätigten Fälle dieser Studie haben aufgrund der geringen Gruppengröße nur eingeschränkte Aussagekraft. Da der Infektionszeitpunkt der untersuchten Patienten unbekannt war und kein einheitliches Untersuchungsregime angewendet wurde, können Verläufe verschiedener Parameter nur schwer beurteilt und zwischen den Patienten verglichen werden. Die Therapie der Patienten erfolgte überwiegend mit einer einmaligen Oxytetracyklingabe in einer Dosierung von 6,6 oder

7,0 mg/kg Körpergewicht. Innerhalb von 24 Stunden begann sich der klinische Zustand der Patienten deutlich zu verbessern, und nach wenigen Tagen waren die Pferde wieder völlig hergestellt. Zwei Patienten wurden aufgrund ihrer milden Symptomatik bei der Vorstellung nicht behandelt. In diesen Fällen konnte eine Selbstlimitierung der EGA beobachtet werden. Diese Studie konnte zeigen, dass, wie auch in anderen Ländern Europas, die EGA eine regelmäßig in Österreich vorkommende Infektionserkrankung bei Pferden ist, die, vor allem vor dem Hintergrund der klimabedingten Ausbreitung und Häufung der Überträgerzecke *Ixodes ricinus*, differentialdiagnostisch berücksichtigt werden sollte.

## 7. Summary

### **Equine granulocytic anaplasmosis in Austria – retrospective case analyses and literature review**

In the present work data on cases of equine granulocytic anaplasmosis (EGA) which were presented at the Equine University Clinic of the University of Veterinary Medicine Vienna from 2004 until 2021, were collected, compared, retrospectively evaluated and discussed in relation to the current literature to show the incidence and importance of this infection in horses in Austria. It was hypothesized that EGA occurs regularly in Austria and should therefore be considered as differential diagnosis. In total, 34 cases of (suspected) EGA were presented at the clinic during the study period, and in 26 of those cases the diagnosis of EGA was confirmed by laboratory testing. In this study a combination of microscopic examination of blood smears and PCR were the method of choice to detect infections in diseases. Moreover, data concerning breed, age, gender, purpose of use and origin of the patients were compared and analyzed. Even though there are no predispositions are described in literature concerning particular breeds, purpose of use, gender or age, this study shows that warmblood breeds, leisure and dressage horses, geldings and horses aged between nine and 16 years, were primarily affected by EGA. The origin of the patients was focused on the northwest of Austria. The patients were mainly presented at the hospital in spring and summer which correlates with the active phases of the vector *I. ricinus*. A single case appeared in winter, during a period when meteorological records show mild temperatures. Regardless of a confirmation of EGA, all patients showed a mild course of disease with typical clinical symptoms such as recurrent fever, apathy, anorexia, and icterus. Less often limb edemas, reluctance to move, ataxia, colic symptoms and petechiae were observed. Hematological and biochemical findings frequently showed an increased concentration of SAA and bilirubin as well as thrombocytopenia and monocytosis. Differences in the occurrence of clinical and laboratory deviations between the two groups of suspected and confirmed EGA cases only had a limited validity because of the small group size. Since the time point of infection of the examined patients was unknown and no standardized examination strategy was implemented, the course of various parameters can only be evaluated and compared between the patients with difficulties. Therapy usually consisted of a single application of oxytetracycline at a dose rate of 6.6 or 7.0 mg/kg of body weight. Within 24 hours the clinical condition of the patients improved significantly and after some days the horses were fully recovered. Two patients were not treated due to mild symptoms at the time point of presentation. In these cases, a self-limitation of EGA could be

observed. This study shows that, as in other countries of Europe, EGA is a regularly occurring equine infectious disease in Austria, which should be considered as differential diagnosis especially against the background of the climate-induced spread and increasing abundance of the vector tick *Ixodes ricinus*.

## 8. Literaturverzeichnis

- Abdel-Ghaffar, F., Al-Quraishy, S., & Mehlhorn, H. (2015). Length of tick repellency depends on formulation of the repellent compound (icaridin = Saltidin®): tests on *Ixodes persulcatus* and *Ixodes ricinus* placed on hands and clothes. *Parasitology Research*, *114*(8), 3041–3045. <https://doi.org/10.1007/S00436-015-4506-Z>
- Abdul-Amir, I. M., & Gray, J. S. (1987). Resistance of sheep to laboratory infestations of the tick, *Ixodes ricinus*. *Research in Veterinary Science*, *43*(2), 266–267. [https://doi.org/10.1016/s0034-5288\(18\)30786-0](https://doi.org/10.1016/s0034-5288(18)30786-0)
- Adaszek, Ł., & Winiarczyk, S. (2011). Identification of *Anaplasma* spp. rickettsia Isolated from horses from clinical disease cases in Poland. *Zoonoses and Public Health*, *58*(7), 514–518. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2011.01394.x>
- Adaszek, Ł., Winiarczyk, S., & Tukaszewska, J. (2009). A first case of ehrlichiosis in a horse in Poland. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, *116*(9), 330–334. <https://doi.org/10.2376/0341-6593-116-330>
- Adaszek, Ł., Klimiuk, P., Skrzypczak, M. I., Górna, M., Zietek, J., & Winiarczyk, S. (2012). The identification of *Anaplasma* spp. isolated from fallow deer (*Dama dama*) on a free-range farm in eastern Poland. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, *15*(2), 393–394. <https://doi.org/10.2478/v10181-012-0060-0>
- Adaszek, Ł., Górna, M., Skrzypczak, M., Buczek, K., Balicki, I., & Winiarczyk, S. (2013). Three clinical cases of *Anaplasma phagocytophilum* infection in cats in Poland. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, *15*(4), 333–337. <https://doi.org/10.1177/1098612X12466552>
- Aeschlimann, A. A. (1967). Biology and ecology of ticks (Ixodoidea) of the Ivory Coast | Biologie et écologie des tiques (Ixodoidea) de Côte d'Ivoire. *Acta Tropica*, *24*(4), 281–405.
- Alberti, A., Zobba, R., Chessa, B., Addis, M. F., Sparagano, O., Parpaglia, M. L. P., Cubeddu, T., Pintori, G., & Pittau, M. (2005). Equine and canine *Anaplasma phagocytophilum* strains isolated on the island of Sardinia (Italy) are phylogenetically related to pathogenic strains from the United States. *Applied and Environmental Microbiology*, *71*(10), 6418–6422. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.10.6418-6422.2005>
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2017). *Molekularbiologie der Zelle* (6. Auflage.). Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.

KGaA.

- Alekseev, A. N., Dubinina, H. V., Semenov, A. V., & Bolshakov, C. V. (2001a). Evidence of ehrlichiosis agents found in ticks (Acari: Ixodidae) collected from migratory birds. *Journal of Medical Entomology*, *38*(4), 471–474. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.4.471>
- Alekseev, A. N., Dubinina, H. V., Van De Pol, I., & Schouls, L. M. (2001b). Identification of *Ehrlichia* spp. and *Borrelia burgdorferi* in *Ixodes* ticks in the Baltic Regions of Russia. *Journal of Clinical Microbiology*, *39*(6), 2237–2242. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.6.2237-2242.2001>
- Alleman, A. R., Barbet, A. F., Sorenson, H. L., Strik, N. I., Wamsley, H. L., Wong, S. J., Chandrashaker, R., Gaschen, F. P., Luckschander, N., & Bjöersdorff, A. I. (2006). Cloning and expression of the gene encoding the major surface protein 5 (MSP5) of *Anaplasma phagocytophilum* and potential application for serodiagnosis. *Veterinary Clinical Pathology*, *35*(4), 418–425. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00158.x>
- Amusátegui, I., Sainz, Á., & Tesouro, M. Á. (2006). Serological evaluation of *Anaplasma phagocytophilum* infection in livestock in northwestern Spain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1078*, 487–490. <https://doi.org/10.1196/annals.1374.091>
- Anderson, J. F., & Magnarelli, L. A. (1993). Epizootiology of Lyme disease-causing borreliae. *Clinics in Dermatology*, *11*(3), 339–351. [https://doi.org/10.1016/0738-081X\(93\)90088-T](https://doi.org/10.1016/0738-081X(93)90088-T)
- Artursson, K., Gunnarsson, A., Wikström, U.-B., & Engvall, E. O. (1999). A serological and clinical follow-up in horses with confirmed equine granulocytic ehrlichiosis. *Equine Veterinary Journal*, *31*(6), 473–477. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1999.tb03853.x>
- Bakken, J. S., & Dumler, J. S. (2000). Human granulocytic ehrlichiosis. *Clinical Infectious Diseases*, *31*(2), 554–560. <https://doi.org/10.1086/313948>
- Bakken, J. S., & Dumler, J. S. (2006). Clinical diagnosis and treatment of human granulocytotropic anaplasmosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1078*, 236–247. <https://doi.org/10.1196/annals.1374.042>
- Bakken, J. S., & Dumler, J. S. (2008). Human granulocytic anaplasmosis. *Infectious Disease Clinics of North America*, *22*(3), 433–448. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2008.03.011>
- Bakken, J. S., Dumler, J. S., Chen, S. M., Eckman, M. R., Van Etta, L. L., & Walker, D. H. (1994). Human granulocytic ehrlichiosis in the upper midwest United States: A new species emerging? *The Journal of the American Medical Association*, *272*(3), 212–218.

<https://doi.org/10.1001/jama.1994.03520030054028>

- Barlough, J. E., Madigan, J. E., DeRock, E., Dumler, J. S., & Bakken, J. S. (1995). Protection against *Ehrlichia equi* is conferred by prior infection with the human granulocytotropic ehrlichia (HGE agent). *Journal of Clinical Microbiology*, 33(12), 3333–3334. <https://doi.org/10.1128/JCM.33.12.3333-3334.1995>
- 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(3–4), 319–329. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(95\)00904-3](https://doi.org/10.1016/0304-4017(95)00904-3)
- Barlough, J. E., Madigan, J. E., Kramer, V. L., Clover, J. R., Hui, L. T., Webb, J. P., & Vredevoe, L. K. (1997). *Ehrlichia phagocytophila* genogroup rickettsiae in ixodid ticks from California collected in 1995 and 1996. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(8), 2018–2021. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.8.2018-2021.1997>
- Belongia, E. A., Reed, K. D., Mitchell, P. D., Kolbert, C. P., Persing, D. H., Gill, J. S., & Kazmierczak, J. J. (1997). Prevalence of granulocytic *Ehrlichia* infection among White-Tailed Deer in Wisconsin. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(6), 1465–1468. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.6.1465-1468.1997>
- Belozerov, V. N. (1982). Diapause and biological rhythms in ticks. In F. D. Obenchain & R. Galun (Eds.), *Physiology of Ticks: Current Themes in Tropical Science* (1st ed., Vol. 1, pp. 469–500). Pergamon Press. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-03261-6>
- Bermann, F., Davoust, B., Fournier, P. É., Brisou-Lapointe, A. V., & Brouqui, P. (2002). *Ehrlichia equi* (*Anaplasma phagocytophila*) infection in an adult horse in France. *The Veterinary Record*, 150(25), 787–788. <https://doi.org/10.1136/VR.150.25.787>
- Berrington, A., Moats, R., & Lester, S. J. (1996). A case of *Ehrlichia equi* in an adult horse in British Columbia. *Canadian Veterinary Journal*, 37(3), 174–175.
- Bjöersdorff, A. I., Christenson, D., Johnsson, A., Sjöström, A. C., & Madigan, J. E. (1990). *Ehrlichia equi* infection diagnosed in horses. *Svensk Veterinärtidning*, 42, 357–360.
- Bjöersdorff, A. I., Svendenius, L., Owens, J. H., & Massung, R. F. (1999). Feline granulocytic ehrlichiosis - A report of a new clinical entity and characterisation of the infectious agent. *Journal of Small Animal Practice*, 40(1), 20–24. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1999.tb03249.x>

- Bjöersdorff, A. I., Bergström, S., Massung, R. F., Haemig, P. D., & Olsen, B. (2001). Ehrlichia-infected ticks on migrating birds. *Emerging Infectious Diseases*, 7(5), 877–879. <https://doi.org/10.3201/eid0705.017517>
- Blagburn, B. L., Spencer, J. A., Billeter, S. A., Drazenovich, N. L., Butler, J. M., Land, T. M., Dykstra, C. C., Stafford III, K. C., Pough, M. B., Levy, S. A., & Bledsoe, D. L. (2004). Use of imidacloprid-permethrin to prevent transmission of *Anaplasma phagocytophilum* from naturally infected *Ixodes scapularis* ticks to dogs. *Veterinary Therapeutics*, 5(3), 2–7.
- Boeckmann, M., & Joyner, T. A. (2014). Old health risks in new places? An ecological niche model for *I. ricinus* tick distribution in Europe under a changing climate. *Health and Place*, 30, 70–77. <https://doi.org/10.1016/j.healthplace.2014.08.004>
- Bown, K. J., Begon, M. E., Bennett, M. J., Woldehiwet, Z., & Ogden, N. H. (2003). Seasonal dynamics of *Anaplasma phagocytophila* in a rodent-tick (*Ixodes trianguliceps*) system, United Kingdom. *Emerging Infectious Diseases*, 9(1), 63–70. <https://doi.org/10.3201/eid0901.020169>
- Bown, K. J., Begon, M. E., Bennett, M. J., Birtles, R. J., Burthe, S. J., Lambin, X., Telfer, S. E., Woldehiwet, Z., & Ogden, N. H. (2006). Sympatric *Ixodes trianguliceps* and *Ixodes ricinus* ticks feeding on field voles (*Microtus agrestis*): Potential for increased risk of *Anaplasma phagocytophilum* in the United Kingdom? *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 6(4), 404–410. <https://doi.org/10.1089/vbz.2006.6.404>
- Bown, K. J., Lambin, X., Ogden, N. H., Begon, M. E., Telford, G. R., Woldehiwet, Z., & Birtles, R. J. (2009). Delineating *Anaplasma phagocytophilum* ecotypes in coexisting, discrete enzootic cycles. *Emerging Infectious Diseases*, 15(12), 1948–1954. <https://doi.org/10.3201/eid1512.090178>
- Brehm, W., Gehlen, H., Ohnesorge, B., Wehrend, A., Bartmann, C. P., Dietz, O., & Huskamp, B. (2017). *Handbuch Pferdepraxis* (4.). Enke Verlag.
- 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(4), 446–447.
- Brossard, M., & Fivaz, V. (1982). *Ixodes ricinus* L.: mast cells, basophils and eosinophils in the sequence of cellular events in the skin of infested or re-infested rabbits. *Parasitology*, 85(3), 583–592. <https://doi.org/10.1017/S0031182000056365>
- Brossard, M., & Wikel, S. K. (2004). Tick immunobiology. *Parasitology*, 129(SUPPL.), S161–S176. <https://doi.org/10.1017/S0031182004004834>

- Buczek, A., Bartosik, K., & Kuczyński, P. (2014). Sensitivity to permethrin in a *Dermacentor reticulatus* population from eastern Poland in laboratory study. *Parasites & Vectors*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-18>
- Burgdorfer, W., Barbour, A. G., Hayes, S. F., Péter, O., & Aeschlimann, A. A. (1983). Erythema chronicum migrans - a tickborne spirochetosis. *Acta Tropica*, 40(1), 79–83.
- Burgess, H. J., Chilton, N. B., Krakowetz, C. N., Williams, C., & Lohmann, K. L. (2012). Granulocytic anaplasmosis in a horse from Saskatchewan. *Canadian Veterinary Journal*, 53(8), 886–888.
- Burkot, T. R., Maupin, G. O., Schneider, B. S., DeNatale, C. E., Happ, C. M., Rutherford, J. S., & Zeidner, N. S. (2001). Use of a sentinel host system to study the questing behavior of *Ixodes spinipalpis* and its role in the transmission of *Borrelia bissettii*, human granulocytic ehrlichiosis, and *Babesia microti*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 65(4), 293–299. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2001.65.293>
- Büscher, G., Gandras, R., Apel, G., & Friedhoff, K. T. (1984). The 1st case of ehrlichiosis in a horse in Germany (Brief report) | Der erste Fall von Ehrlichiosis beim Pferd in Deutschland (Kurzmitteilung). *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 91(11–12), 408–409.
- Butler, C. M., Nijhof, A. M., Jongejan, F., & Van Der Kolk, J. H. (2008). *Anaplasma phagocytophilum* infection in horses in the Netherlands. *Veterinary Record*, 162(7), 216–218. <https://doi.org/10.1136/vr.162.7.216>
- Cao, W.-C., Zhao, Q.-M., Zhang, P.-H., Dumler, J. S., Zhang, X.-T., Fang, L.-Q., & Yang, H. (2000). Granulocytic ehrlichiae in *Ixodes persulcatus* ticks from an area in China where Lyme disease is endemic. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(11), 4208–4210. <https://doi.org/10.1128/jcm.38.11.4208-4210.2000>
- Carlyon, J. A., & Fikrig, E. (2003). Invasion and survival strategies of *Anaplasma phagocytophilum*. *Cellular Microbiology*, 5(11), 743–754. <https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.2003.00323.x>
- Carlyon, J. A., Latif, D. A., 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(8), 4772–4783. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.8.4772-4783.2004>
- Chan, K. Y., Wang, C. H., & Wu, Y. L. (2010). Serological survey of equine piroplasmiasis,

- equine granulocytic anaplasmosis, and equine Lyme disease in Taiwan. *Taiwan Vet J*, 36, 261–267.
- Chang, Y.-F., Novosel, V., Dubovi, E. J., Wong, S. J., Chu, F. K., Chang, C.-F., Del Piero, F., Shin, S., & Lein, D. H. (1998). Experimental infection of the human granulocytic ehrlichiosis agent in horses. *Veterinary Parasitology*, 78(2), 137–145. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00133-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00133-2)
- Chen, S.-M., Dumler, J. S., Bakken, J. S., & Walker, D. H. (1994). Identification of a granulocytotropic *Ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(3), 589–595. <https://doi.org/10.1128/jcm.32.3.589-595.1994>
- Choi, K.-S., Grab, D. J., & Dumler, J. S. (2004). *Anaplasma phagocytophilum* infection induces protracted neutrophil degranulation. *Infection and Immunity*, 72(6), 3680–3683. <https://doi.org/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(12), 8209–8218. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.12.8209-8218.2005>
- Cińco, M., Padovan, D., Murgia, R., Maroll, M., Frusteri, L., Heldtander, M. U. K., Johansson, K. E. V., & Engvall, E. O. (1997). Coexistence of *Ehrlichia phagocytophila* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks from Italy as determined by 16S rRNA gene sequencing [4]. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(12), 3365–3366. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.12.3365-3366.1997>
- Courtney, J. W., Kostelnik, L. M., Zeidner, N. S., & Massung, R. F. (2004). Multiplex real-time PCR for detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi*. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(7), 3164–3168. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.7.3164-3168.2004>
- Daniel, M., Danielová, V., Kříž, B., Jirsa, A., & Nožička, J. (2003). Shift of the tick *Ixodes ricinus* and tick-borne encephalitis to higher altitudes in Central Europe. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Disease*, 22(5), 327–328. <https://doi.org/10.1007/s10096-003-0918-2>
- Daniel, M., Danielová, V., Kříž, B., & Kott, I. (2004). An attempt to elucidate the increased incidence of tick-borne encephalitis and its spread to higher altitudes in the Czech

- Republic. *International Journal of Medical Microbiology, Supplement*, 293(37), 55–62. [https://doi.org/10.1016/S1433-1128\(04\)80009-3](https://doi.org/10.1016/S1433-1128(04)80009-3)
- Dantas-Torres, F. (2015). Climate change, biodiversity, ticks and tick-borne diseases: The butterfly effect. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 4(3), 452–461. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.07.001>
- Dantas-Torres, F., & Otranto, D. (2013a). Seasonal dynamics of *Ixodes ricinus* on ground level and higher vegetation in a preserved wooded area in southern Europe. *Veterinary Parasitology*, 192(1–3), 253–258. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.034>
- Dantas-Torres, F., & Otranto, D. (2013b). Species diversity and abundance of ticks in three habitats in southern Italy. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 4(3), 251–255. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.11.004>
- Dantas-Torres, F., Chomel, B. B., & Otranto, D. (2012). Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. *Trends in Parasitology*, 28(10), 437–446. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2012.07.003>
- Dark, M. J., Al-Khedery, B., & Barbet, A. F. (2011). Multistrain genome analysis identifies candidate vaccine antigens of *Anaplasma marginale*. *Vaccine*, 29(31), 4923–4932. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.04.131>
- Dautel, H., & Knülle, W. (1996). The supercooling ability of ticks (Acari, Ixodoidea). *Journal of Comparative Physiology - B Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 166(8), 517–524. <https://doi.org/10.1007/s003600050040>
- Dautel, H., & Knülle, W. (1997). Cold hardiness, supercooling ability and causes of low-temperature mortality in the soft tick, *Argas reflexus*, and the hard tick, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodoidea) from central Europe. *Journal of Insect Physiology*, 43(9), 843–854. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(97\)00025-5](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(97)00025-5)
- Dautel, H., Kämmer, D., & Kahl, O. (2016). How an extreme weather spell in winter can influence vector tick abundance and tick-borne disease incidence. *Ecology and Prevention of Lyme Borreliosis.*, 335–349.
- Davies, R. S., Madigan, J. E., Hodzic, E., Borjesson, D. L., & Dumler, J. S. (2011). Dexamethasone-induced cytokine changes associated with diminished disease severity in horses infected with *Anaplasma phagocytophilum*. *Clinical and Vaccine Immunology*, 18(11), 1962–1968. <https://doi.org/10.1128/CVI.05034-11>

- de la Fuente, J., Massung, R. F., Wong, S. J., Chu, F. K., Lutz, H., Meli, M., Von Loewenich, F. D., Grzeszczuk, A., Torina, A., Caracappa, S., Mangold, A. J., Naranjo, V., Stuen, S., & Kocan, K. M. (2005a). Sequence analysis of the *msp4* gene of *Anaplasma phagocytophilum* strains. *Journal of Clinical Microbiology*, *43*(3), 1309–1317. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.3.1309-1317.2005>
- de la Fuente, J., Naranjo, V., Ruiz-Fons, J. F., Höfle, U., Fernández de Mera, I. G., Villanúa, D., Almazán, C., Torina, A., Caracappa, S., Kocan, K. M., & Gortázar, C. (2005b). Potential vertebrate reservoir hosts and invertebrate vectors of *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* in central Spain. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *5*(4), 390–401. <https://doi.org/10.1089/vbz.2005.5.390>
- de la Fuente, J., Ruiz-Fons, F., Naranjo, V., Torina, A., Rodríguez, O., & Gortázar, C. (2008). Evidence of *Anaplasma* infections in European roe deer (*Capreolus capreolus*) from southern Spain. *Research in Veterinary Science*, *84*(3), 382–386. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.05.018>
- de la Fuente, J., Estrada-Peña, A., Cabezas-Cruz, A., & Brey, R. (2015). Flying ticks: anciently evolved associations that constitute a risk of infectious disease spread. *Parasites & Vectors*, *8*(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1154-1>
- de Pelsmaeker, N., Korslund, L., & Steifetten, Ø. (2021). High-elevation occurrence of two tick species, *Ixodes ricinus* and *I. trianguliceps*, at their northern distribution range. *Parasites & Vectors*, *14*(1), 161. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04604-w>
- Deane, E. L., Fielding, C. L., Rhodes, D. M., & Howard, E. J. (2021). Upper respiratory signs associated with *Anaplasma phagocytophilum* infection in two horses. *Equine Veterinary Education*, *33*(3), e58–e61. <https://doi.org/10.1111/eve.13128>
- DeNatale, C. E., Burkot, T. R., Schneider, B. S., & Zeidner, N. S. (2002). Novel potential reservoirs for *Borrelia* sp. and the agent of Human Granulocytic Ehrlichiosis in Colorado. *Journal of Wildlife Diseases*, *38*(2), 478–482. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-38.2.478>
- Deplazes, P., Joachim, A., Mathis, A., Strube, C., Taubert, A., Von Samson-Himmelstjerna, G., & Zahner, H. (2021). *Parasitologie für die Tiermedizin* (4. auflage), Georg Thieme Verlag Stuttgart. <https://doi.org/10.1055/b-006-163221>
- des Vignes, F., Levin, M. L., & Fish, D. (1999). Comparative vector competence of *Dermacentor variabilis* and *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) for the agent of human

- granulocytic ehrlichiosis. *Journal of Medical Entomology*, 36(2), 182–185.  
<https://doi.org/10.1093/jmedent/36.2.182>
- Des Vignes, F., Piesman, J., Heffernan, R., Schulze, T. L., Stafford III, K. C., & Fish, D. (2001). Effect of tick removal on transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scapularis* nymphs. *Journal of Infectious Diseases*, 183(5), 773–778.  
<https://doi.org/10.1086/318818>
- Dhakal, A., & Sbar, E. (2021). Jarisch Herxheimer Reaction. *StatPearls*.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557820/>
- Dirks, E., Werner, G., Schwarz, B. C., Trübenbach, L., Schwendenwein, I., Joachim, A., & Cavalleri, J.-M. V. (2021). Die equine Piroplasmose im deutschsprachigen Raum – eine unterdiagnostizierte Krankheit? . *Der Praktische Tierarzt*, 102, 1078–1088.  
<https://doi.org/10.2376/0032-681X-2150>
- Drazenovich, N. L., Foley, J. E., & 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 and Zoonotic Diseases*, 6(1), 83–90.  
<https://doi.org/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(6), 2145–2165.
- Duscher, G. G., Feiler, A., Leschnik, M. W., & Joachim, A. (2013). Seasonal and spatial distribution of ixodid tick species feeding on naturally infested dogs from Eastern Austria and the influence of acaricides/repellents on these parameters. *Parasites & Vectors*, 6(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-76>
- Dziegiel, B., Adaszek, Ł., Kalinowski, M., & Winiarczyk, S. (2013). Equine granulocytic anaplasmosis. *Research in Veterinary Science*, 95(2), 316–320.  
<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.05.010>
- Egenvall, A., Lilliehöök, I. E., Bjöersdorff, A. I., Engvall, E. O., Karlstam, E., Artursson, K., Heldtander, M. U. K., & Gunnarsson, A. (2000). Detection of granulocytic *Ehrlichia*

- species DNA by PCR in persistently infected dogs. *Veterinary Record*, 146(7), 186–190. <https://doi.org/10.1136/vr.146.7.186>
- Engvall, E. O., Pettersson, B., Persson, M., Artursson, K., & Johansson, K.-E. (1996). A 16S rRNA-based PCR assay for detection and identification of granulocytic *Ehrlichia* species in dogs, horses, and cattle. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(9), 2170–2174. <https://doi.org/10.1128/JCM.34.9.2170-2174.1996>
- Enright, M. C., Zawadski, P., Pickerill, P., & Dowson, C. G. (1998). Molecular evolution of rifampicin resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Microbial Drug Resistance*, 4(1), 65–70. <https://doi.org/10.1089/mdr.1998.4.65>
- Eriksen, L., Hansen, J. F., Abildtrup, E., & Engvall, E. O. (1997). Equine granulocytic ehrlichiosis diagnosed in Denmark. *Dansk Veterinærtidsskrift Den Danske Dyrlaegeforeningens Medlemsblad*, 80, 231–234.
- Estrada-Peña, A., & Jongejan, F. (1999). Ticks feeding on humans: A review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. *Experimental and Applied Acarology*, 23(9), 685–715. <https://doi.org/10.1023/A:1006241108739>
- Estrada-Peña, A., Ayllón, N., & de la Fuente, J. (2012). Impact of climate trends on tick-borne pathogen transmission. *Frontiers in Physiology*, 3 MAR. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00064>
- Estrada-Peña, A., Gray, J. S., Kahl, O., Lane, R. S., & Nijhof, A. M. (2013). Research on the ecology of ticks and tick-borne pathogens - methodological principles and caveats. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4(AUG). <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00029>
- Fatro, S. p A. (2020). Oxytetracyclin: *Fachinformation in Form der Zusammenfassung der Merkmale des Tierarzneimittels (Summary of Product Characteristics)*.
- Foggie, A. (1951). Studies on the infectious agent of tick-borne fever in sheep. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 63(1), 1–15. <https://doi.org/10.1002/path.1700630103>
- Foley, J. E., Barlough, J. E., Kimsey, R. B., Madigan, J. E., DeRock, E., & Poland, A. (1998). *Ehrlichia* spp. in cervids from California. *Journal of Wildlife Diseases*, 34(4), 731–737. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-34.4.731>
- Fourie, J. J., Stanneck, D., Luus, H. G., Beugnet, F., Wijnveld, M., & Jongejan, F. (2013). Transmission of *Ehrlichia canis* by *Rhipicephalus sanguineus* ticks feeding on dogs and

- on artificial membranes. *Veterinary Parasitology*, 197(3–4), 595–603. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.07.026>
- Fourie, J. J., Evans, A., Labuschagne, M., Crafford, D., Madder, M., Pollmeier, M., & Schunack, B. (2019). Transmission of *Anaplasma phagocytophilum* (Foggie, 1949) by *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) ticks feeding on dogs and artificial membranes. *Parasites & Vectors*, 12(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/S13071-019-3396-9>
- Franzén, P., Aspán, A., Egenvall, A., Gunnarsson, A., Åberg, L., & Pringle, J. K. (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(2), 232–239. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2005\)19<232:ACHSAP>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2005)19<232:ACHSAP>2.0.CO;2)
- Franzén, P., Berg, A.-L., Aspán, A., Gunnarsson, A., & Pringle, J. K. (2007). Death of a horse infected experimentally with *Anaplasma phagocytophilum*. *Veterinary Record*, 160(4), 122–125. <https://doi.org/10.1136/vr.160.4.122>
- Franzén, P., Aspán, A., Egenvall, A., Gunnarsson, A., Karlstam, E., & Pringle, J. K. (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(3), 636–642. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0317.x>
- Fröhlich, W., & Edelhofer, R. (1998). The first case of equine granulocytic ehrlichiosis (EGE) in an Austrian horse | Erstbeschreibung der equinen granulozytären Ehrlichiose (EGE) bei einem Pferd in Österreich. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 85(11), 389–394.
- Garcia-Vozmediano, A., Krawczyk, A. I., Sprong, H., Rossi, L., Ramassa, E., & Tomassone, L. (2020). Ticks climb the mountains: ixodid tick infestation and infection by tick-borne pathogens in the Western Alps. *Ticks and Tick-Borne Disease*, 11(5). <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101489>
- 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(2), 1187–1190. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.2.1187-1190.2005>
- Gassner, F., Van Vliet, A. J. H., Burgers, S. L. G. E., Jacobs, F. H. H., Verbaarschot, P., Hovius, E. K. E., Mulder, S., Verhulst, N. O., Van Overbeek, L. S., & Takken, W. (2011).

- Geographic and temporal variations in population dynamics of *Ixodes ricinus* and associated *Borrelia* infections in the Netherlands. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11(5), 523–532. <https://doi.org/10.1089/vbz.2010.0026>
- Ge, Y., & Rikihisa, Y. (2006). *Anaplasma phagocytophilum* delays spontaneous human neutrophil apoptosis by modulation of multiple apoptotic pathways. *Cellular Microbiology*, 8(9), 1406–1416. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00720.x>
- Gehlen, H., Inerte, K., Ulrich, S., Lehmann, B., & Straubinger, R. K. (2021). Anaplasmosis in the horse - a review of the literature focusing on the diagnosis, therapy, and prevention | Anapiasmose beim Pferd - Ein Literaturreview unter Berücksichtigung aktueller Diagnose - und Therapieverfahren sowie möglicher Präventionsmaßnahmen. *Pferdeheilkunde*, 37(1), 25–33. <https://doi.org/10.21836/PEM20210104>
- Geller, J., Nazarova, L., Katargina, O., Leivits, A., Järvekülg, L., & Golovljova, I. (2013). Tick-borne pathogens in ticks feeding on migratory passerines in western part of Estonia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 13(7), 443–448. <https://doi.org/10.1089/vbz.2012.1054>
- Gilbert, L., Aungier, J., & Tomkins, J. L. (2014). Climate of origin affects tick (*Ixodes ricinus*) host-seeking behavior in response to temperature: implications for resilience to climate change? *Ecology and Evolution*, 4(7), 1186–1198. <https://doi.org/10.1002/ece3.1014>
- Glatz, M., Means, T., Haas, J., Steere, A. C., & Müllegger, R. R. (2017). Characterization of the early local immune response to *Ixodes ricinus* tick bites in human skin. *Experimental Dermatology*, 26(3), 263–269. <https://doi.org/10.1111/exd.13207>
- Goodman, J. L., Nelson, C. M., 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. <https://doi.org/10.1056/NEJM199601253340401>
- Gordon, W. S., Brownlee, A., Wilson, D. R., & Macleod, J. (1932). “Tick-borne fever” (a hitherto undescribed disease of sheep). *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, 45, 301–812.
- Gordon, W. S., Brownlee, A., & Wilson, D. R. (1940). Studies in louping-ill, tick-borne fever and scrapie. *Program and Abstracts of the 3rd International Conference on Microbiology*, 362–363.

- Gotić, J., Brkljača Bottegaro, N., Kiš, I., Crnogaj, M., Mrljak, V., & Beck, R. (2017). A first case of equine granulocytic anaplasmosis in Croatia - a case report. *Veterinarski Arhiv*, *87*(1), 113–120.
- Gray, J. S. (1981). The fecundity of *Ixodes ricinus* (L.) (Acarina: Ixodidae) and the mortality of its developmental stages under field conditions. *Bulletin of Entomological Research*, *71*(3), 533–542. <https://doi.org/10.1017/S0007485300008543>
- Gray, J. S. (1984). Studies on the dynamics of active populations of the sheep tick, *Ixodes ricinus* L. in Co. Wicklow, Ireland. *Acarologia*, *25*(2), 167–178.
- Gray, J. S. (1991). The development and seasonal activity of the tick *Ixodes ricinus*: a vector of Lyme borreliosis. *Review of Medical and Veterinary Entomology*, *79*(6), 323–333.
- Gray, J. S. (1998). The ecology of ticks transmitting Lyme borreliosis. *Experimental and Applied Acarology*, *22*(5), 249–258. <https://doi.org/10.1023/A:1006070416135>
- Gray, J. S. (2008). *Ixodes ricinus* seasonal activity: Implications of global warming indicated by revisiting tick and weather data. *International Journal of Medical Microbiology*, *298*(SUPPL. 1), 19–24. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2007.09.005>
- Gray, J. S., Kahl, O., Janetzki, C., & Stein, J. (1992). Studies on the ecology of Lyme disease in a deer forest in County Galway, Ireland. *Journal of Medical Entomology*, *29*(6), 915–920. <https://doi.org/10.1093/jmedent/29.6.915>
- Gray, J. S., Dautel, H., Estrada-Peña, A., Kahl, O., & Lindgren, P. E. (2009). Effects of Climate Change on Ticks and Tick-Borne Diseases in Europe. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, *2009*, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2009/593232>
- Gray, J. S., Kahl, O., & Zintl, A. (2021). What do we still need to know about *Ixodes ricinus*? *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *12*(3), 101682. <https://doi.org/10.1016/J.TTBDIS.2021.101682>
- Gribble, D. H. (1969). Equine ehrlichiosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *155*(2), 462–469.
- Guglielmone, A. A., Robbins, R. G., Apanaskevich, D. A., Petney, T. N., Estrada-Peña, A., Horak, I. G., Shao, R., & Barker, S. C. (2010). The argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: A list of valid species names. *Zootaxa*, *2528*, 1–28. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.2528.1.1>

- Guglielmo, A. A., Petney, T. N., & Robbins, R. G. (2020). Ixodidae (Acari: Ixodoidea): Descriptions and redescriptions of all known species from 1758 to December 31, 2019. *Zootaxa*, 4871(1), 1–32. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4871.1.1>
- Gussmann, K., Czech, C., Hermann, M., Schaarschmidt-Kiener, D., & von Loewenich, F. D. (2014). *Anaplasma phagocytophilum* infection in a horse from Switzerland with severe neurological symptoms. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 156(7), 345–348. <https://doi.org/10.1024/0036-7281/a000605>
- Guy, E. C., Tasker, S., & Joynson, D. H. M. (1998). Detection of the agent of human granulocytic ehrlichiosis (HGE) in UK ticks using polymerase chain reaction. *Epidemiology and Infection*, 121(3), 681–683. <https://doi.org/10.1017/S0950268898001708>
- Hansen, M. G. B., Christoffersen, M., Thuesen, L. R., Petersen, M. R., & Bojesen, A. M. (2010). Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in Danish horses. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52(1), 49. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-52-49>
- Hapunik, J., Víchová, B., Karbowski, G., Wita, I., Bogdaszewski, M., & Peťko, B. (2011). Wild and farm breeding cervids infections with *Anaplasma phagocytophilum*. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 18(1), 73–77.
- Hasle, G. (2013). Transport of ixodid ticks and tick-borne pathogens by migratory birds. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3, 48. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00048>
- Heep, M., Beck, D., Bayerdörffer, E., & Lehn, N. (1999). Rifampin and rifabutin resistance mechanism in *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 43(6), 1497–1499. <https://doi.org/10.1128/aac.43.6.1497>
- Heine, S., Thiet, W., & Liebisch, G. (2007). Tick-borne infections: anaplasmosis in dogs | Zeckenübertragene Infektionen: Anaplasrose beim Hund Fallbericht. *Der Praktische Tierarzt*, 88 (SUPPL. 1), 20–27.
- Hermann, M., Baumann, D., Lutz, H., & Wikd, P. (1985). Erster diagnostizierter Fall von equiner Ehrlichiose in der Schweiz. *Pferdeheilkunde*, 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.  
<https://doi.org/10.1196/ANNALS.1355.090>
- Hiepe, T., Lucius, R., & Gottstein, B. (2006). *Allgemeine Parasitologie : mit den Grundz gen der Immunologie, Diagnostik und Bekämpfung* (1. Aufl., Issue ISBN: 3830441010). Parey.
- Hilton, H. G., Madigan, I. E., & Alemán, M. R. (2008). Rhabdomyolysis associated with *Anaplasma phagocytophilum* infection in a horse. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22(4), 1061–1064. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0115.x>
- Hofmeester, T. R., Coipan, E. C., Van Wieren, S. E., Prins, H. H. T., Takken, W., & Sprong, H. (2016). Few vertebrate species dominate the *Borrelia burgdorferi* s.l. life cycle. *Environmental Research Letters*, 11(4). <https://doi.org/10.1088/1748-9326/11/4/043001>
- Holland, C. J., Weiss, E., Burgdorfer, W., Cole, A. I., & Ibulaimu, K. (1985). *Ehrlichia risticii* sp. nov.: etiological agent of equine monocytic ehrlichiosis (Synonym, Potomac Horse Fever). *International Journal of Systematic Bacteriology*, 35(4), 524–526. <https://doi.org/10.1099/00207713-35-4-524>
- Hvidsten, D., Frafjord, K., Gray, J. S., Henningsson, A. J., Jenkins, A., Kristiansen, B. E., Lager, M., Rognerud, B., Slåtsve, A. M., Stordal, F., Stuen, S., & Wilhelmsson, P. (2020). The distribution limit of the common tick, *Ixodes ricinus*, and some associated pathogens in north-western Europe. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 11(4). <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101388>
- Ijdo, J. W., Sun, W., Zhang, Y., Magnarelli, L. A., & Fikrig, E. (1998). Cloning of the gene encoding the 44-kilodalton antigen of the agent of human granulocytic ehrlichiosis and characterization of the humoral response. *Infection and Immunity*, 66(7), 3264–3269. <https://doi.org/10.1128/iai.66.7.3264-3269.1998>
- Intervet Deutschland GmbH. (2019). *Gebrauchsanweisung: Wellcare® Emulsion 10,5 mg/ml*. <https://www.apotheken-umschau.de/medikamente/beipackzettel/wellcare-emulsion-fpferde-55892.html> (Zugriff 19.11.2021)
- Jaenson, T. G. T., & Lindgren, E. (2011). The range of *Ixodes ricinus* and the risk of contracting Lyme borreliosis will increase northwards when the vegetation period becomes longer. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 2(1), 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2010.10.006>
- Jaenson, T. G. T., Tälleklint, L., Lundqvist, L., Olsen, B., Chirico, J., & Mejlön, H. A. (1994).

- Geographical distribution, host associations, and vector roles of ticks (Acari: Ixodidae, Argasidae) in Sweden. *Journal of Medical Entomology*, 31(2), 240–256. <https://doi.org/10.1093/jmedent/31.2.240>
- Jaenson, T. G. T., Hjertqvist, M., Bergström, T. B., & Lundkvist, Å. K. (2012). Why is tick-borne encephalitis increasing? A review of the key factors causing the increasing incidence of human TBE in Sweden. *Parasites & Vectors*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-184>
- Jahn, P., Zeman, P., Bezděková, B., & Praskova, I. (2010). Equine granulocytic anaplasmosis in the Czech Republic. *Veterinary Record*, 166(21), 646–649. <https://doi.org/10.1136/vr.4852>
- Jenkins, A., Kristiansen, B.-E., Allum, A.-G., Aakre, R. K., Strand, L., Kleveland, E. J., Van de Pol, I., & Schouls, L. M. (2001). *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Ehrlichia* spp. in *Ixodes* ticks from southern Norway. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(10), 3666–3671. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.10.3666-3671.2001>
- Jore, S., Vanwambeke, S. O., Viljugrein, H., Isaksen, K., Kristoffersen, A. B., Woldehiwet, Z., Johansen, B., Brun, E., Brun-Hansen, H., Westermann, S., Larsen, I.-L., Ytrehus, B., & Hofshagen, M. (2014). Climate and environmental change drives *Ixodes ricinus* geographical expansion at the northern range margin. *Parasites & Vectors*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-11>
- Kahl, O., Gern, L., Eisen, L., Lane, R.S. (2002). Ecological research on *Borrelia burgdorferi* sensu lato: terminology and some methodological pitfalls. In: Gray, J. S., Kahl, O., Lane, R. S., & Stanek, G. Lyme Borreliosis: Biology, Epidemiology and Control. In 29-46. Oxon: CABI Publishing. <https://doi.org/10.1079/9780851996325.0029>
- Klein, M. B., Miller, J. S., Nelson, C. M., & Goodman, J. L. (1997a). 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(5), 1405–1409. <https://doi.org/10.1086/517332>
- Klein, M. B., Nelson, C. M., & Goodman, J. L. (1997b). Antibiotic susceptibility of the newly cultivated agent of human granulocytic ehrlichiosis: Promising activity of quinolones and rifamycins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(1), 76–79. <https://doi.org/10.1128/aac.41.1.76>

- Knorr, S., Anguita, J., Cortazar, J. T., Hajdusek, O., Kopáček, P., Trentelman, J. J., Kershaw, O., Hovius, J. W., & Nijhof, A. M. (2018). Preliminary evaluation of tick protein extracts and recombinant ferritin 2 as anti-tick vaccines targeting *Ixodes ricinus* in cattle. *Frontiers in Physiology*, 9, 1696. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01696>
- Korbutiak, E., & Schneiders, D. H. (1994). First confirmed case of equine ehrlichiosis in Great Britain. *Equine Veterinary Education*, 6(6), 303–304. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.1994.tb01158.x>
- Korotkov, Y. S., Kozlova, T., & Kozlovskaya, L. I. (2015). Observations on changes in abundance of questing *Ixodes ricinus*, castor bean tick, over a 35-year period in the eastern part of its range (Russia, Tula region). *Medical and Veterinary Entomology*, 29(2), 129–136. <https://doi.org/10.1111/mve.12101>
- Labuda, M., & Nuttall, P. A. (2004). Tick-borne viruses. *Parasitology*, 129(SUPPL.), 221–245. <https://doi.org/10.1017/S0031182004005220>
- Latif, A. A., Putterill, J. F., De Klerk, D. G., Pienaar, R., & Mans, B. J. (2012). *Nuttalliella namaqua* (Ixodoidea: Nuttalliellidae): First description of the male, immature stages and re-description of the female. *PLoS ONE*, 7(7), 41651. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041651>
- Lauterbach, R., Wells, K., O'Hara, R. B., Kalko, E. K. V., & Renner, S. C. (2013). Variable strength of forest stand attributes and weather conditions on the questing activity of *Ixodes ricinus* ticks over years in managed forests. *PLoS ONE*, 8(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055365>
- Lees, A. D. (1948). The sensory physiology of the sheep tick, *Ixodes ricinus* L. *Journal of Experimental Biology*, 25(2), 145–207.
- Léger, E., Vourc'h, G. I., Vial, L., Chevillon, C., & McCoy, K. D. (2013). Changing distributions of ticks: causes and consequences. *Experimental and Applied Acarology*, 59(1–2), 219–244. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9615-0>
- 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. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 62(1), 29–37. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2000.62.29>
- Levi, O., Waner, T. T., Baneth, G., Keysary, A., Bruchim, Y., Silverman, J., & Harrus, S. (2006).

- Seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* among healthy dogs and horses in Israel. *Journal of Veterinary Medicine Series B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 53(2), 78–80. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2006.00911.x>
- Levin, M. L., & Fish, D. (2001). Interference between the agents of Lyme disease and human granulocytic ehrlichiosis in a natural reservoir host. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 1(2), 139–148. <https://doi.org/10.1089/153036601316977741>
- Lewis, G. E. (1976). Equine ehrlichiosis: A comparison between *E. equi* and other pathogenic species of *Ehrlichia*. *Veterinary Parasitology*, 2(1), 61–74. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(76\)90053-4](https://doi.org/10.1016/0304-4017(76)90053-4)
- Lewis, G. E., Huxsoll, D. L., Ristic, M. R., & 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(1), 85–88.
- Lewis, S. R., Zimmerman, K., Dascanio, J. J., Pleasant, R. S., & Witonsky, S. G. (2009). Equine Granulocytic Anaplasmosis: a case report and review. *Journal of Equine Veterinary Science*, 29(3), 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2009.01.002>
- Li, H., Zhou, Y., Wang, W., Guo, D., Huang, S., & Jie, S. (2011). The clinical characteristics and outcomes of patients with human granulocytic anaplasmosis in China. *International Journal of Infectious Diseases*, 15(12). <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.09.008>
- Lillini, E., Macrì, G., Proietti, G., & Scarpulla, M. (2006). New findings on anaplasmosis caused by infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1081, 360–370. <https://doi.org/10.1196/annals.1373.053>
- Lin, M., & Rikihisa, Y. (2003a). *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophilum* Lack genes for lipid a biosynthesis and incorporate cholesterol for their survival. *Infection and Immunity*, 71(9), 5324–5331. <https://doi.org/10.1128/IAI.71.9.5324-5331.2003>
- Lin, M., & Rikihisa, Y. (2003b). Obligatory intracellular parasitism by *Ehrlichia chaffeensis* and *Anaplasma phagocytophilum* involves caveolae and glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins. *Cellular Microbiology*, 5(11), 809–820. <https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.2003.00322.x>
- Lin, M., Kikuchi, T., Brewer, H. M., Norbeck, A. D., & Rikihisa, Y. (2011). Global proteomic analysis of two tick-borne emerging zoonotic agents: *Anaplasma phagocytophilum* and *Ehrlichia chaffeensis*. *Frontiers in Microbiology*, 2, 24.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00024>

- Lindgren, E., Tällektint, L., & Polfeldt, T. (2000). Impact of climatic change on the northern latitude limit and population density of the disease-transmitting European tick *Ixodes ricinus*. *Environmental Health Perspectives*, 108(2), 119–123. <https://doi.org/10.2307/3454509>
- Liu, X. Y., & Bonnet, S. I. (2014). Hard tick factors implicated in pathogen transmission. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(1), 5. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002566>
- 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(3), 1002–1007. <https://doi.org/10.1128/jcm.38.3.1002-1007.2000>
- Lucius, R., Loos-Frank, B., Lane, R. P., Poulin, R., Roberts, C. W., & Grencis, R. K. (2017). *The Biology of Parasites* (2. Auflage). Wiley-VCH Verlag, London.
- Łukaszewska, J. (2008). Hematological changes in granulocytic anaplasmosis in dogs and horses. *Zycie Wet.*, 83, 827–831.
- M'ghirbi, Y., Yach, H., Ghorbel, A., & Bouattour, A. (2012). *Anaplasma phagocytophilum* in horses and ticks in Tunisia. *Parasites & Vectors*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-180>
- Madewell, B. R., & Gribble, D. H. (1982). Infection in two dogs with an agent resembling *Ehrlichia equi*. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 180(5), 512–514.
- Madigan, J. E. (1993). Equine ehrlichiosis. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 9(2), 423–428. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30408-X](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30408-X)
- Madigan, J. E. (2021). *Anaplasma phagocytophilum* (*Ehrlichia equi*) 50 years later. *Equine Veterinary Education*, 33(3), 126–128. <https://doi.org/10.1111/eve.13153>
- Madigan, J. E., & Gribble, D. H. (1987). Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968-1981). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 190(4), 445–448.
- Madigan, J. E., & Pusterla, N. (2000). Ehrlichial diseases. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 16(3), 487–499.
- Madigan, J. E., & Pusterla, N. (2015). Equine Granulocytic Anaplasmosis (formerly ehrlichiosis). In *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine* (Seventh Edition, pp.

- 193–195). Saunders Elsevier, St. Louis, MO, USA, <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4555-5.00046-7>
- Madigan, J. E., Hietala, S. K., Chalmers, S., & DeRock, E. (1990). Seroepidemiologic survey of antibodies to *Ehrlichia equi* in horses of northern California. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *196*(12), 1962–1964.
- Madigan, J. E., Richter, P. J., 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*(4), 1141–1144. <https://doi.org/10.1093/infdis/172.4.1141>
- Madigan, J. E., Barlough, J. E., Dumler, J. S., Schankman, N. S., & DeRock, E. (1996). Equine granulocytic ehrlichiosis in Connecticut caused by an agent resembling the human granulocytotropic ehrlichia. *Journal of Clinical Microbiology*, *34*(2), 434–435. <https://doi.org/10.1128/jcm.34.2.434-435.1996>
- Magnarelli, L. A., Ijdo, J. W., Stafford III, K. C., & Fikrig, E. (1999). Infections of granulocytic ehrlichiae and *Borrelia burgdorferi* in white-tailed deer in Connecticut. *Journal of Wildlife Diseases*, *35*(2), 266–274. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-35.2.266>
- 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*(7), 1045–1050. <https://doi.org/10.2460/javma.2000.217.1045>
- Magnarelli, L. A., Ijdo, J. W., Van Andel, A. E., Wu, C., & Fikrig, E. (2001). Evaluation of a polyvalent enzyme-linked immunosorbent assay incorporating a recombinant p44 antigen for diagnosis of granulocytic ehrlichiosis in dogs and horses. *American Journal of Veterinary Research*, *62*(1), 29–32. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.29>
- Mărcuțan, I.-D., Kalmár, Z., Ionică, A. M., D'amico, G., Mihalca, A. D., Vasile, C., & Sándor, A. D. (2016). Spotted fever group rickettsiae in ticks of migratory birds in Romania. *Parasites & Vectors*, *9*(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1565-7>
- Massung, R. F., Priestley, R. A., Miller, N. J., Mather, T. N., & Levin, M. L. (2003). Inability of a variant strain of *Anaplasma phagocytophilum* to infect mice. *Journal of Infectious Diseases*, *188*(11), 1757–1763. <https://doi.org/10.1086/379725>
- Massung, R. F., Levin, M. L., Munderloh, U. G., Silverman, D. J., Lynch, M. J., Gaywee, J. K.,

- & Kurtti, T. J. (2007). Isolation and propagation of the Ap-variant 1 strain of *Anaplasma phagocytophilum* in a tick cell line. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(7), 2138–2143. <https://doi.org/10.1128/JCM.00478-07>
- Materna, J., Daniel, M., & Danielová, V. (2005). Altitudinal distribution limit of the tick *Ixodes ricinus* shifted considerably towards higher altitudes in Central Europe: Results of three years monitoring in the Krkonoše Mts. (Czech Republic). *Central European Journal of Public Health*, 13(1), 24–28.
- Materna, J., Daniel, M., Metelka, L., & Harčarik, J. (2008). The vertical distribution, density and the development of the tick *Ixodes ricinus* in mountain areas influenced by climate changes (The Krkonoše Mts., Czech Republic). *International Journal of Medical Microbiology*, 298(SUPPL. 1), 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2008.05.004>
- 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(1), 413–415. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.1.413-415.2003>
- Medlock, J. M., Hansford, K. M., Bormane, A., Derdakova, M., Estrada-Peña, A., George, J.-C., Golovljova, I., Jaenson, T. G. T., Jensen, J.-K., Jensen, P. M., Kazimirova, M., Oteo, J. A., Papa, A., Pfister, K., Plantard, O., Randolph, S. E., Rizzoli, A., Santos-Silva, M. M., Sprong, H., Vial, L., Hendrickx, G., Zeller, H., & Van Bortel, W. (2013). Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe. *Parasites & Vectors*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-1>
- Mehlhorn, H., & Piekarski, G. (2002). *Grundriß der Parasitenkunde: Parasiten des Menschen und der Nutztiere* (6. auflage). Spektrum Akademischer Verlag, Berlin.
- Milne, A. (1949). The ecology of the sheep tick, *Ixodes ricinus* L. host relationships of the tick: Part 2. observations on hill and moorland grazings in northern England. *Parasitology*, 39(3–4), 173–197. <https://doi.org/10.1017/S0031182000083736>
- Milutinović, M., Masuzawa, T., Tomanović, S., Radulović, Ž., Fukui, T., & Okamoto, Y. (2008). *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma phagocytophilum*, *Francisella tularensis* and their co-infections in host-seeking *Ixodes ricinus* ticks collected in Serbia. *Experimental and Applied Acarology*, 45(3–4), 171–183. <https://doi.org/10.1007/s10493-008-9166-6>
- Moritz, A., Kraft, W., & Dürr, U. M. (2014). *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin* (A.

Moritz (7. Aufl.). Schattauer.

- 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(3), 664–670. <https://doi.org/10.1128/jcm.34.3.664-670.1996>
- Needham, G. R., & Teel, P. D. (1991). Off-host physiological ecology of ixodid ticks. *Annual Review of Entomology*, 36(1), 659–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.36.010191.003303>
- 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(6), 1510–1516. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.6.1510-1516.1997>
- Nieto, N. C., & Foley, J. E. (2008). Evaluation of squirrels (Rodentia: Sciuridae) as ecologically significant hosts for *Anaplasma phagocytophilum* in California. *Journal of Medical Entomology*, 45(4), 763–769. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2008\)45\[763:EOSRSA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2008)45[763:EOSRSA]2.0.CO;2)
- 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(12), 1964–1966. <https://doi.org/10.2460/javma.2004.224.1964>
- Nuttall, P. A. (2019). Wonders of tick saliva. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 10(2), 470–481. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.11.005>
- Nuttall, P. A., & Labuda, M. (1994). Tick-borne encephalitis subgroup. In: D. E. Sonenshine & T. N. Mather: *Ecological Dynamics of Tick-Borne Zoonoses*. Oxford University Press (New York), 351–391..
- Nuttall, P. A., & Labuda, M. (2004). Tick-host interactions: saliva-activated transmission. *Parasitology*, 129(SUPPL.), 177–189. <https://doi.org/10.1017/S0031182004005633>
- Nyindo, M. B. A., Ristic, M. R., Lewis Jr, G. E., Huxsoll, D. L., & Stephenson, E. H. (1978). Immune response of ponies to experimental infection with *Ehrlichia equi*. *American Journal of Veterinary Research*, 39(1), 15–18.

- Ogden, N. H., Bown, K. J., Horrocks, B. K., Woldehiwet, Z., & Bennett, M. J. (1998). Granulocytic *Ehrlichia* infection in Ixodid ticks and mammals in woodlands and uplands of the U.K. *Medical and Veterinary Entomology*, 12(4), 423–429. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.1998.00133.x>
- Ogden, N. H., Casey, A. N. J., French, N. P., & Woldehiwet, Z. (2002). A review of studies on the transmission of *Anaplasma phagocytophilum* from sheep: Implications for the force of infection in endemic cycles. *Experimental and Applied Acarology*, 28(1–4), 195–202. <https://doi.org/10.1023/A:1025394315915>
- Ojogun, N., Barnstein, B., Huang, B., Oskeritzian, C. A., Homeister, J. W., Miller, D., Ryan, J. J., & Carlyon, J. A. (2011). *Anaplasma phagocytophilum* infects mast cells via  $\alpha$ 1,3-fucosylated but not sialylated glycans and inhibits IgE-mediated cytokine production and histamine release. *Infection and Immunity*, 79(7), 2717–2726. <https://doi.org/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(11), 3748–3760. <https://doi.org/10.1128/IAI.00654-12>
- Oteo, J. A., Gil, H., Barral, M., Pérez, A., Jiménez, S., Blanco, J. R., Martínez de Artola, V., García-Pérez, A. L., & Juste, R. A. (2001). Presence of granulocytic *Ehrlichia* in ticks and serological evidence of human infection in La Rioja, Spain. *Epidemiology and Infection*, 127(2), 353–358. <https://doi.org/10.1017/s0950268801005878>
- Overzier, E., Pfister, K., Herb, I., Mahling, M., Böck, G., & Silaghi, C. (2013). Detection of tick-borne pathogens in roe deer (*Capreolus capreolus*), in questing ticks (*Ixodes ricinus*), and in ticks infesting roe deer in southern Germany. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 4(4), 320–328. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.01.004>
- Palmer, G. H., Brown, W. C., Noh, S. M., & Brayton, K. A. (2012). Genome-wide screening and identification of antigens for rickettsial vaccine development. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 64(1), 115–119. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00878.x>
- Pancholi, P. M., Kolbert, C. P., Mitchell, P. D., Reed, K. D., Dumler, J. S., Bakken, J. S., Telford III, S. R., & Persing, D. H. (1995). *Ixodes dammini* as a potential vector of human granulocytic ehrlichiosis. *Journal of Infectious Diseases*, 172(4), 1007–1012.

<https://doi.org/10.1093/infdis/172.4.1007>

- Parola, P., & Raoult, D. (2001). Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: An emerging infectious threat. *Clinical Infectious Diseases*, 32(6), 897–928. <https://doi.org/10.1086/319347>
- Paulauskas, A., Radzijeuskaja, J., & Rosef, O. (2012). Molecular detection and characterization of *Anaplasma phagocytophilum* strains. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 35(2), 187–195. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2012.01.001>
- Pawelczyk, A., Bednarska, M., Hamera, A., Religa, E., Poryszewska, M., Mierzejewska, E. J., & Welc-Fałęciak, R. (2021). Long-term study of *Borrelia* and *Babesia* prevalence and co-infection in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks removed from humans in Poland, 2016–2019. *Parasites & Vectors*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04849-5>
- Pedersen, B. N., Jenkins, A., & Kjelland, V. (2020). Tick-borne pathogens in *Ixodes ricinus* ticks collected from migratory birds in southern Norway. *PLoS ONE*, 15(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230579>
- Peek, S. F. (2009). Icterus. In: N.E. Robinson, K.A. Sprayberry (Eds.), *Current Therapy in Equine Medicine*. Saunders Elsevier, St. Louis, MO, USA, pp. 456-460.
- Perret, J.-L., Guigoz, E., Rais, O., & Gern, L. E. (2000). Influence of saturation deficit and temperature on *Ixodes ricinus* tick questing activity in a Lyme borreliosis-endemic area (Switzerland). *Parasitology Research*, 86(7), 554–557. <https://doi.org/10.1007/s004360000209>
- Perret, J.-L., Guerin, P. M., Diehl, P. M., Vlimant, M., & Gern, L. (2003). Darkness induces mobility, and saturation deficit limits questing duration, in the tick *Ixodes ricinus*. *Journal of Experimental Biology*, 206(11), 1809–1815. <https://doi.org/10.1242/jeb.00345>
- Pfister, K., & Armstrong, R. (2016). Systemically and cutaneously distributed ectoparasitocides: A review of the efficacy against ticks and fleas on dogs. *Parasites & Vectors*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/S13071-016-1719-7>
- Piesman, J. F., & Spielman, A. (1980). Human babesiosis on Nantucket island: Prevalence of *Babesia microti* in ticks. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 29(5), 1.
- Plumb, D. C. (1999). *Veterinary Drug Handbook* (3.). Iowa State University Press.

- Polin, H., Hufnagl, P., Haunschmid, R., Gruber, F., & Ladurner, G. (2004). Molecular evidence of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks and wild animals in Austria. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(5), 2285–2286. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.5.2285-2286.2004>
- Porretta, D., Mastrantonio, V., Amendolia, S., Gaiarsa, S., Epis, S., Genchi, C., Bandi, C., Otranto, D., & Urbanelli, S. (2013). Effects of global changes on the climatic niche of the tick *Ixodes ricinus* inferred by species distribution modelling. *Parasites & Vectors*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-271>
- Pusterla, N., & Madigan, J. E. (2013a). *Anaplasma phagocytophilum* infection. In D. C. Sellon & M. Long (Eds.), *Equine Infectious Diseases*. Saunders Elsevier, St. Louis, MO, USA (2. Aufl.), 344–347.
- Pusterla, N., & Madigan, J. E. (2013b). Equine granulocytic anaplasmosis. *Journal of Equine Veterinary Science*, 33(7), 493–496. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2013.03.188>
- Pusterla, N., Huder, J. B., Feige, K., & Lutz, H. (1998a). 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(7), 2035–2037. <https://doi.org/10.1128/jcm.36.7.2035-2037.1998>
- Pusterla, N., Lutz, H., & Braun, U. (1998b). Experimental infection of four horses with *Ehrlichia phagocytophila*. *Veterinary Record*, 143(11), 303–305. <https://doi.org/10.1136/vr.143.11.303>
- 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(5), 1329–1331. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.5.1329-1331.1999>
- Pusterla, N., Leutenegger, C. M., Huder, J. B., Weber, R., Braun, U., & Lutz, H. (1999b). Evidence of the human granulocytic ehrlichiosis agent in *Ixodes ricinus* ticks in Switzerland. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(5), 1332–1334. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.5.1332-1334.1999>
- Pusterla, N., Anderson, R. J., House, J. K., Berger Pusterla, J., DeRock, E., & Madigan, J. E. (2001). Susceptibility of cattle to infection with *Ehrlichia equi* and the agent of human granulocytic ehrlichiosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(7),

- 1160–1162. <https://doi.org/10.2460/javma.2001.218.1160>
- Rampas, J., & Gallia, F. (1949). Isolation of encephalitis virus from *Ixodes ricinus* ticks. *Čas. Lék. Čes.*, *88*, 1179–1180.
- Randolph, S. E. (1979). Population regulation in ticks: The role of acquired resistance in natural and unnatural hosts. *Parasitology*, *79*(1), 141–156. <https://doi.org/10.1017/S0031182000052033>
- Randolph, S. E., Green, R. M., Hoodless, A. N., & Peacey, M. F. (2002). An empirical quantitative framework for the seasonal population dynamics of the tick *Ixodes ricinus*. *International Journal for Parasitology*, *32*(8), 979–989. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(02\)00030-9](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(02)00030-9)
- Ravyn, M. D., Goodman, J. L., Kodner, C. B., Westad, D. K., Coleman, L. A., Engstrom, S. M., Nelson, C. M., & Johnson, R. C. (1998). Immunodiagnosis of human granulocytic ehrlichiosis by using culture-derived human isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, *36*(6), 1480–1488. <https://doi.org/10.1128/jcm.36.6.1480-1488.1998>
- Rejmanek, D. D., Nieto, N. C., Barash, N. R., & Foley, J. E. (2011). Temporal patterns of tick-borne granulocytic anaplasmosis in California. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *2*(2), 81–87. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2010.12.003>
- 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*(7), 2131–2134. <https://doi.org/10.1128/JCM.36.7.2131-2134.1998>
- Richter, D., Matuschka, F.-R., Spielman, A., & Mahadevan, L. (2013). How ticks get under your skin: insertion mechanics of the feeding apparatus of *Ixodes ricinus* ticks. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *280*(1773), 20131758. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1758>
- Richter, P. J., Kimsey, R. B., Madigan, J. E., Barlough, J. E., Dumler, J. S., & Brooks, D. L. (1996). *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae) as a Vector of *Ehrlichia equi* (Rickettsiales: Ehrlichieae). *Journal of Medical Entomology*, *33*(1), 1–5. <https://doi.org/10.1093/jmedent/33.1.1>
- Rikihisa, Y. (1991). The tribe Ehrlichieae and ehrlichial diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, *4*(3), 286–308. <https://doi.org/10.1128/CMR.4.3.286>

- Rikihisa, Y. (2004). Rickettsial diseases. In *Equine Internal Medicine* (pp. 96–109).
- Riviere, J. E., & Spoo, J. W. (1995). Tetracycline antibiotics. In H. R. Adams, *Veterinary Pharmacology and Therapeutics* (7. Aufl), Iowa State University Press. 784–769.
- Robinson, M. T., Shaw, S. E., & Morgan, E. R. (2009). *Anaplasma phagocytophilum* infection in a multi-species deer community in the New Forest, England. *European Journal of Wildlife Research*, 55(4), 439–442. <https://doi.org/10.1007/s10344-009-0261-8>
- Saleem, S., Ijaz, M., Farooqi, S. H., Ghaffar, A., Ali, A., Iqbal, K., Mehmood, K., & Zhang, H. (2018a). Equine Granulocytic Anaplasmosis 28 years later. *Microbial Pathogenesis*, 119, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.04.001>
- Saleem, S., Ijaz, M., Farooqi, S. H., Rashid, M. I., Khan, A. Y., Masud, A., Aqib, A. I., Hussain, K., Mehmood, K., & Zhang, H. (2018b). First molecular evidence of equine granulocytic anaplasmosis in Pakistan. *Acta Tropica*, 180, 18–25. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.12.032>
- 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 | Evidência sorológica de anaplasmoze granulocítica equina em equinos do centro-oeste Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 19(3), 135–140. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612010000300002>
- Scarpulla, M., Caristo, M. E., Macri, G., & Lillini, E. (2003). Equine ehrlichiosis in Italy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 990, 259–263. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb07374.x>
- 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(3), 790–796. <https://doi.org/10.1128/JCM.02051-10>
- Schotthoefler, 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(7), 2147–2153. <https://doi.org/10.1128/JCM.00347-13>

- Schouls, L. M., Van de Pol, I., Rijpkema, S. G. T., & Schot, C. S. (1999). Detection and identification of *Ehrlichia*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *Bartonella* species in Dutch *Ixodes ricinus* ticks. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(7), 2215–2222. <https://doi.org/10.1128/jcm.37.7.2215-2222.1999>
- 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*, 23(4), 351–356. <https://doi.org/10.21836/PEM20070405>
- Selbitz, H.-J., Truyen, U., & Valentin-Weigand, P. (2015). *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre* (10. Aufl.). Enke. <https://doi.org/10.1055/b-003-127007>
- Sells, D. M., Hildebrandt, P. K., Lewis Jr, G. E., & Nyindo, M. B. A. (1976). Ultrastructural observations on *Ehrlichia equi* organisms in equine granulocytes. *Infection and Immunity*, 13(1), 273–280. <https://doi.org/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(6), 972–974. <https://doi.org/10.3201/eid1406.071095>
- Silaghi, C., Hamel, D., Thiel, C., Pfister, K., Passos, L. M. F., & Rehbein, S. (2011 a). Genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum* in wild caprine and cervid ungulates from the Alps in Tyrol, Austria. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11(4), 355–362. <https://doi.org/10.1089/vbz.2010.0051>
- Silaghi, C., Liebisch, G., & Pfister, K. (2011b). Genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum* from 14 equine granulocytic anaplasmosis cases. *Parasites & Vectors*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-161>
- Silaghi, C., Scheuerle, M. C., Friche, P. L. M., Thiel, C., & Pfister, K. (2011c). PCR detection of *Anaplasma phagocytophilum* in goat flocks in an area endemic for tick-borne fever in Switzerland. *Parasite*, 18(1), 57–62. <https://doi.org/10.1051/parasite/2011181057>
- Silaghi, C., Santos, A. S., Gomes, J., Christova, I., Matei, I. A., Walder, G., Domingos, A., Bell-Sakyi, L., Sprong, H., Von Loewenich, F. D., Oteo, J. A., De la Fuente, J., & Dumler, J. S. (2017). Guidelines for the direct detection of *Anaplasma* spp. in diagnosis and epidemiological studies. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 17(1), 12–22. <https://doi.org/10.1089/VBZ.2016.1960>
- Šimo, L., Kazimirova, M., Richardson, J., & Bonnet, S. I. (2017). The essential role of tick

- salivary glands and saliva in tick feeding and pathogen transmission. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7, 281. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00281>
- Siwinska, N., Zak, A., & Paslawska, U. (2021). Detecting acute kidney injury in horses by measuring the concentration of symmetric dimethylarginine in serum. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 63(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s13028-021-00568-0>
- Sixl, W. D., Petrovec, M., Marth, E., Wüst, G., Stünzner, D., Schweiger, R., & Avšič-Županc, T. (2003). Investigation of *Anaplasma phagocytophila* infections in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks in Austria. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 990, 94–97. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb07343.x>
- Sonenshine, D. E. & Roe M. R (2014). *The biology of ticks*. Oxford University Press.
- Trott, D.J. (2005). The genus *Brucella*. In: Songer, J. G., & Post, K. W. *Veterinary Microbiology: Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease*, Saunders Elsevier, St. Louis, MO, USA 200–207.
- Stannard, A. A., Gribble, D. H., & Smith, R. S. (1969). Equine ehrlichiosis: a disease with similarities to tick-borne fever and bovine petechial fever. *The Veterinary Record*, 84(6), 149–150. <https://doi.org/10.1136/vr.84.6.149>
- Stuen, S. (2003). *Anaplasma phagocytophilum* (formerly *Ehrlichia phagocytophila*) infection in sheep and wild ruminants in Norway. In *PhD thesis*. University of Oslo.
- Stuen, S. (2007). *Anaplasma phagocytophilum* - The most widespread tick-borne infection in animals in Europe. *Veterinary Research Communications*, 31(SUPPL. 1), 79–84. <https://doi.org/10.1007/s11259-007-0071-y>
- Stuen, S., Artursson, K., & Engvall, E. O. (1998). Experimental infection of lambs with an Equine Granulocytic *Ehrlichia* species resembling the agent that Causes Human Granulocytic Ehrlichiosis (HGE). *Acta Veterinaria Scandinavica*, 39(4), 491–497. <https://doi.org/10.1186/BF03547775>
- Stuen, S., Bergström, K. E., & Palmér, E. (2002). Reduced weight gain due to subclinical *Anaplasma phagocytophilum* (formerly *Ehrlichia phagocytophila*) infection. *Experimental and Applied Acarology*, 28(1–4), 209–215. <https://doi.org/10.1023/A:1025350517733>
- Stuen, S., Scharf, W., Schauer, S., Freyburger, F., Bergström, K., & Von Loewenich, F. D. (2010). Experimental infection in lambs with a red deer (*Cervus elaphus*) isolate of *Anaplasma phagocytophilum*. *Journal of Wildlife Diseases*, 46(3), 803–809.

<https://doi.org/10.7589/0090-3558-46.3.803>

- Stuen, S., Granquist, E. G., & Silaghi, C. (2013a). *Anaplasma phagocytophilum* - a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 3, 31. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00031>
- Stuen, S., Pettersen, K. S., Granquist, E. G., Bergström, K., Bown, K. J., & Birtles, R. J. (2013b). *Anaplasma phagocytophilum* variants in sympatric red deer (*Cervus elaphus*) and sheep in southern Norway. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 4(3), 197–201. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.11.014>
- Tälleklint, L., & Jaenson, T. G. T. (1998). Increasing geographical distribution and density of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in central and northern Sweden. *Journal of Medical Entomology*, 35(4), 521–526. <https://doi.org/10.1093/jmedent/35.4.521>
- Teglas, M. B., & Foley, J. E. (2006). Differences in the transmissibility of two *Anaplasma phagocytophilum* strains by the North American tick vector species, *Ixodes pacificus* and *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*, 38(1), 47–58. <https://doi.org/10.1007/s10493-005-5293-5>
- Telford III, 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 of the United States of America*, 93(12), 6209–6214. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.12.6209>
- Tomanović, S., Chochlakis, D., Radulović, Ž. M., Milutinović, M. J., Čakić, S., Mihaljica, D., Tselentis, Y. J., & Psaroulaki, A. (2013). Analysis of pathogen co-occurrence in host-seeking adult hard ticks from Serbia. *Experimental and Applied Acarology*, 59(3), 367–376. <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9597-y>
- Tuomi, J. (1967). Experimental studies on bovine tick-borne fever: 3. Immunological strain differences. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica*, 71(1), 89–100. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1967.tb05146.x>
- Uehlinger, F. D., Clancey, N. P., & Lofstedt, J. (2011). Granulocytic anaplasmosis in a horse from Nova Scotia caused by infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Canadian Veterinary Journal*, 52(5), 537–540.
- Van Erck, E., & Lekeux, P. (2005, March 2). *Doses of Common Drugs*. International Veterinary Information Service. <https://www.ivis.org/library/equine-respiratory-diseases/doses-of-common-drugs> (Zugriff 30.11.2021)

- Veronesi, F., Galuppi, R., Tampieri, M. P., Bonoli, C., Mammoli, R., & Piergili Fioretti, D. (2011). Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in fallow deer (*Dama dama*) and feeding ticks from an Italy preserve. *Research in Veterinary Science*, 90(1), 40–43. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.05.019>
- 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 and Zoonotic Diseases*, 14(5), 317–323. <https://doi.org/10.1089/vbz.2013.1424>
- von Loewenich, F. D., Baumgarten, B. U., Schröppel, K., Geißdörfer, W., Röllinghoff, M., & Bogdan, C. (2003). High diversity of ankA sequences of *Anaplasma phagocytophilum* among *Ixodes ricinus* ticks in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(11), 5033–5040. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.11.5033-5040.2003>
- Walls, J. J., Greig, B., Neitzel, D. F., & Dumler, J. S. (1997). Natural infection of small mammal species in Minnesota with the agent of Human Granulocytic Ehrlichiosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(4), 853–855. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.4.853-855.1997>
- Walls, J. J., Asanovich, K. M., Bakken, J. S., & Dumler, J. S. (1998). Serologic evidence of a natural infection of white-tailed deer with the agent of human granulocytic ehrlichiosis in Wisconsin and Maryland. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 5(6), 762–765. <https://doi.org/10.1128/cdli.5.6.762-765.1998>
- Wikel, S. (2013). Ticks and tick-borne pathogens at the cutaneous interface: Host defenses, tick countermeasures, and a suitable environment for pathogen establishment. *Frontiers in Microbiology*, 4, 337. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00337>
- Wilhelmsson, P., Pawełczyk, O., Jaenson, T. G. T., Waldenström, J., Olsen, B., Forsberg, P., & Lindgren, P.-E. (2021). Three *Babesia* species in *Ixodes ricinus* ticks from migratory birds in Sweden. *Parasites & Vectors*, 14(1), 183. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04684-8>
- Woldehiwet, Z. (2010). The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. *Veterinary Parasitology*, 167(2–4), 108–122. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.09.013>
- Woldehiwet, Z., & Yavari, C. A. (2012). Evaluation of an Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for the detection of antibodies against *Anaplasma*

- phagocytophilum* in sheep. *Journal of Comparative Pathology*, 146(2–3), 116–121. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2011.04.004>
- Woldehiwet, Z., Horrocks, B. K., Scaife, H. R., Ross, G., Munderloh, U. G., Bown, K. J., Edwards, S. W., & Hart, C. A. (2002). Cultivation of an ovine strain of *Ehrlichia phagocytophila* in tick cell cultures. *Journal of Comparative Pathology*, 127(2–3), 142–149. <https://doi.org/10.1053/jcpa.2002.0574>
- Xiong, Q., Wang, X., & Rikihisa, Y. (2007). High-cholesterol diet facilitates *Anaplasma phagocytophilum* infection and up-regulates macrophage inflammatory protein-2 and CXCR2 expression in apolipoprotein E-deficient mice. *Journal of Infectious Diseases*, 195(10), 1497–1503. <https://doi.org/10.1086/514819>
- ZAMG. (2011a). *Witterungsübersicht Jänner 2011*. <https://www.zamg.ac.at/fix/klima/wiewars01-11.pdf> (Zugriff 01.12.2021)
- ZAMG. (2011b). *Witterungsübersicht Februar 2011*. <https://www.zamg.ac.at/fix/klima/wiewars02-11.pdf> (Zugriff 01.12.2021)
- Zeidner, N. S., Burkot, T. R., Massung, R., Nicholson, W. L., Dolan, M. C., Rutherford, J. S., Biggerstaff, B. J., & Maupin, G. O. (2000). Transmission of the agent of human granulocytic ehrlichiosis by *Ixodes spinipalpis* ticks: evidence of an enzootic cycle of dual infection with *Borrelia burgdorferi* in Northern Colorado. *Journal of Infectious Diseases*, 182(2), 616–619. <https://doi.org/10.1086/315715>
- Zeman, P., & Pecha, M. (2008). Segregation of genetic variants of *Anaplasma phagocytophilum* circulating among wild ruminants within a Bohemian forest (Czech Republic). *International Journal of Medical Microbiology*, 298(SUPPL. 1), 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2008.03.003>
- Ziemer, E. L., Keenan, D. P., & Madigan, J. E. (1987). *Ehrlichia equi* infection in a foal. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 190(2), 199–200.

## 9. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

ABBILDUNG 1: A. PHAGOCYTOPHILUM MORULAE IN EINEM NEUTROPHILEN GRANULOZYTEN (PFEIL)..	4
ABBILDUNG 2: DARSTELLUNG WELTWEIT BESCHRIEBENER FÄLLE VON EGA IM ZEITRAUM VON 1990-2018.....	5
ABBILDUNG 3: DARSTELLUNG AUSGEWÄHLTER SCHILDZECKEN: DERMACENTOR SP., RHIPICEPHALUS SP., HYALOMMA SP., HAEMAPHYSALIS SP.....	9
ABBILDUNG 4: IXODES-ADULTE: WEIBCHEN (LINKS), MÄNNCHEN (RECHTS).....	11
ABBILDUNG 5: ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE AUFNAHME DES TARSUS EINER IXODES RICINUS-NYMPHE. ....	11
ABBILDUNG 6: ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE AUFNAHME EINER IXODES RICINUS-NYMPHE VON VENTRAL. ....	12
ABBILDUNG 7: ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE AUFNAHMEN DES CAPITULUMS EINER IXODES RICINUS-NYMPHE VON DORSAL (LINKS) UND VON VENTRAL (RECHTS).....	13
ABBILDUNG 8: ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE AUFNAHME DES HALLERSCHEN ORGANS EINER IXODES RICINUS-NYMPHE.....	14
ABBILDUNG 9: BEI ALLEN AUFGENOMMENEN EGA-FÄLLEN DURCHGEFÜHRTE LABORDIAGNOSTISCHE NACHWEISMETHODEN FÜR A. PHAGOCYTOPHILUM. ....	53
ABBILDUNG 10: ALTERSVERTEILUNG ALLER AUFGENOMMENEN EGA-FÄLLE.....	53
TABELLE 1: RASSEVERTEILUNG ALLER AUFGENOMMENEN EGA-FÄLLE.....	54
TABELLE 2: VERWENDUNGSZWECK ALLER AUFGENOMMENEN EGA-FÄLLE.....	54
ABBILDUNG 11: HERKUNFT DER AUFGENOMMENEN EGA-FÄLLE NACH BUNDESLÄNDERN.....	55
ABBILDUNG 12: JAHRESZEITLICHE VERTEILUNG ALLER AUFGENOMMENEN EGA-FÄLLE.....	55
ABBILDUNG 13: RELATIVE HÄUFIGKEIT KLINISCHER SYMPTOME IN BEZUG AUF DIE ANZAHL DER JEWEILS UNTERSUCHTEN EGA-FÄLLE.....	56
ABBILDUNG 14: VERGLEICH RELATIVER HÄUFIGKEIT KLINISCHER SYMPTOME BEI BESTÄTIGTEN (LINKS; N=26) UND VERDÄCHTIGEN (RECHTS; N=8) EGA-FÄLLE.....	57
ABBILDUNG 15: HÖCHSTE INDIVIDUELLE IKT ALLER AUFGENOMMENEN EGA-FÄLLE.....	57
TABELLE 3: REFERENZWERTE DES LABORDIAGNOSTISCHEN BLUTGERÄTES DER VUW FÜR BLUTUNTERSUCHUNGEN BEIM PFERD.....	58
ABBILDUNG 16: RELATIVE HÄUFIGKEIT VON EGA-TYPISCHEN VERÄNDERUNGEN DES BLUTBILDS IN BEZUG AUF DIE UNTERSUCHTEN BLUTPARAMETER DER PFERDE.....	60

ABBILDUNG 17: NIEDRIGSTE GEMESSENE ERYTHROZYTENKONZENTRATION DER UNTERSUCHTEN PATIENTEN.....	60
TABELLE 4: VERGLEICH HÄUFIGKEIT VERÄNDERTER BLUTWERTE ZWISCHEN BESTÄTIGTEN (N=26) UND VERDÄCHTIGEN (N=8) EGA-FÄLLEN IN BEZUG AUF DIE ANZAHL DER TIERE, BEI DENEN JENER BLUTPARAMETER UNTERSUCHT WURDE.....	61
ABBILDUNG 18: VERGLEICH RELATIVER HÄUFIGKEIT HÄMATOLOGISCHER UND BIOCHEMISCHER VERÄNDERUNGEN BEI BESTÄTIGTEN (LINKS) UND VERDÄCHTIGEN (RECHTS) EGA-FÄLLEN IN BEZUG AUF DIE ANZAHL UNTERSUCHTER TIERE.....	62
ABBILDUNG19: VERLAUF GEMESSENE ERYTHROZYTENKONZENTRATIONEN NACH PFERDEPATIENT UND UNTERSUCHUNG (US).....	63
ABBILDUNG 20: VERLAUF GEMESSENE THROMBOZYTENKONZENTRATIONEN NACH PFERDEPATIENT UND UNTERSUCHUNG (US).....	64
ABBILDUNG 21: VERLAUF GEMESSEN LEUKOZYTENKONZENTRATION NACH PATIENT UND UNTERSUCHUNG (US).....	65
ABBILDUNG 22: VERLAUF GEMESSENE NEUTROPHILENKONZENTRATION NACH PATIENT UND UNTERSUCHUNG (US).....	66
ABBILDUNG 23: VERLAUF GEMESSENE LYMPHOZYTENKONZENTRATION NACH PATIENT UND UNTERSUCHUNG (US).....	67
ABBILDUNG 24: VERLAUF GEMESSENE MONOZYTENKONZENTRATION NACH PATIENT UND UNTERSUCHUNG (US).....	68

### **Danksagung**

Hiermit danke ich meinen Eltern, die mir dieses Studium ermöglicht haben und mich immer unterstützt haben. Auch meinen Geschwistern und meiner Tante möchte ich von ganzen Herzen danken, da sie mir immer zur Seite gestanden sind und mich auch in den schwersten Zeiten ermuntert und zum Lachen gebracht haben. Herzlichsten Dank gilt auch meinen Großeltern.

Des Weiteren bedanke ich mich bei meinen Freunden, die ich durch dieses Studium kennengelernt habe. Mit ihnen habe ich viele unvergessliche Momente erlebt und auch die schwierigsten Prüfungen und Dienste überstanden.

Besonderes möchte ich mich bei meinen beiden Betreuerinnen Univ.Prof. Dr.med.vet. Anja Joachim und Dr.med.vet. Sonja Berger für die gute Zusammenarbeit und Betreuung bedanken.

Nicht zuletzt möchte ich mich noch bei dem Personal der Bibliothek bedanken, da sie mir unzählige Male weitergeholfen haben.