

Die granulozytäre Anaplasmosose des Pferdes: ein Fallbericht und die epidemiologische Situation mit Fokus auf Deutschland

Equine granulocytic anaplasmosis (EGA): Case description and overview of the epidemiological situation with focus on Germany



Autorinnen/Autoren

Carla Wiebke Axt¹, Andrea Springer², Arno Besse³, Torsten J. Naucke¹, Elisabeth Müller¹, Christina Strube², Ingo Schäfer¹

Institute

- 1 Laboklin GmbH and Co. KG, Bad Kissingen
- 2 Institut für Parasitologie, Zentrum für Infektionsmedizin, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover
- 3 Tierarztpraxis Dr. Arno Besse, Lebach

Schlüsselwörter

Anaplasma phagocytophilum, Klinik, Behandlung, Prävalenz

Keywords

Anaplasma phagocytophilum, clinical signs, therapy, prevalence

eingereicht 04.09.2024

akzeptiert 11.09.2024

Bibliografie

Tierärztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere 2024; 52: 352–360

DOI 10.1055/a-2418-6540

ISSN 1434-1220

© 2024. The Author(s).

This is an open access article published by Thieme under the terms of the Creative Commons Attribution-NonDerivative-NonCommercial-License, permitting copying and reproduction so long as the original work is given appropriate credit. Contents may not be used for commercial purposes, or adapted, remixed, transformed or built upon. (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Georg Thieme Verlag KG, Oswald-Hesse-Straße 50, 70469 Stuttgart, Germany

Korrespondenzadresse

Ingo Schäfer
Laboklin GmbH & Co. KG
Steubenstraße 4
97688 Bad Kissingen
Deutschland
i.schaefer@laboklin.com

ZUSAMMENFASSUNG

Die equine granulozytäre Anaplasmosose (EGA) ist eine zeckenübertragene Infektionserkrankung und wird durch den Erreger *Anaplasma (A.) phagocytophilum* ausgelöst. Als Vektoren gelten Zecken des sogenannten *Ixodes (I.) ricinus/I. persulcatus*-Komplexes in Zentral-, Nord-, West- und Osteuropa, in Deutschland überwiegend der Gemeine Holzbock, *I. ricinus*. Die Frühjahrs- und Sommermonate, insbesondere April bis Juli, stellen die Hochphase der Aktivität von *I. ricinus* in Zentraleuropa dar. Aufgrund der Veränderung klimatischer Bedingungen besteht mittlerweile ganzjährig das Risiko einer Zeckenexposition und damit auch einer Infektion mit *A. phagocytophilum*. Der beschriebene klinische Fall unterstreicht die saisonale Hochphase des Infektionsrisikos mit Vorstellung des Pferdes im Juni. Die klinische Symptomatik ist mit Fieber häufig unspezifisch und eine Thrombozytopenie ist der bedeutendste hämatologische Befund. Zur Diagnosestellung einer Infektion bzw. eines Erregerkontaktes sind direkte und indirekte Nachweisverfahren verfügbar. Eine positive PCR bestätigt wie im dargestellten Fall eine akute Infektion, positive Antikörperspiegel sprechen für einen Erregerkontakt in der (jüngeren) Vergangenheit. Einschlusskörperchen, sogenannte Morulae, können schnell und kostengünstig in Ausstrichen aus dem peripheren Blut nachgewiesen werden und finden sich bevorzugt in neutrophilen Granulozyten, seltener in eosinophilen Granulozyten. Die Mikroskopie weist jedoch eine geringere Sensitivität im Vergleich zur PCR-Diagnostik auf. Bei dem beschriebenen Pferd gelang der Nachweis von Morulae im EDTA-Blut trotz positiver PCR nicht. Intrazellulär wirksame Antibiotika wie z. B. Oxytetracyclin und/oder Doxycyclin gelten als Therapie der Wahl und führen wie im beschriebenen Fall meist zu einer schnellen klinischen Besserung an EGA erkrankter Pferde. Eine Therapiekontrolle mittels PCR wird 5–8 Tage nach Abschluss der Behandlung empfohlen, um eine Elimination des Erregers zu bestätigen. Ob bzw. wie lange Antikörper gegen *A. phagocytophilum* möglicherweise protektiv gegenüber einer erneuten Infektion sein könnten, ist bisher unbekannt. In der Humanmedizin wird *A.*

phagocytophilum in der nördlichen Hemisphäre als „emerging human pathogen“ mit steigender klinischer Bedeutung eingestuft.

ABSTRACT

Equine granulocytic anaplasmosis (EGA) is a tick-borne disease caused by *Anaplasma (A.) phagocytophilum*. In Central, Northern, Western, and Eastern Europe, ticks of the *Ixodes (I.) ricinus*/*I. persulcatus* complex, in Germany mainly *I. ricinus*, are considered as vectors. *Ixodes ricinus* ticks show peaks of activity during the spring and summer months, particularly April to July. Changing climatic conditions, however, have meanwhile led to a year-round risk of tick exposure and thus infections with *A. phagocytophilum*. The presented case report underlines the seasonal peak phase of the infection risk in that the presentation of the horse to the veterinarian occurred in June. Additionally, clinical signs – including fever – are mostly unspecific and thrombocytopenia represents the most significant hematological abnormality. Direct and indirect detection methods

are available for the diagnosis of an infection or contact with the pathogen. A positive PCR confirms an acute infection, as in the presented case, while positive antibody levels indicate contact with the pathogen in the (recent) past. Additionally, inclusion bodies, so called morulae, may be detected rapidly and inexpensively in smears derived from the peripheral blood and are predominantly found in neutrophilic granulocytes, less frequently in eosinophilic granulocytes. However, microscopy has a lower sensitivity compared to PCR-testing. In the presented case, morulae could not be detected in EDTA blood despite positive PCR. Antibiotics with intracellular activity, such as oxytetracycline and/or doxycycline are the treatment of choice and, as in the described case, often result in rapid clinical improvement in horses suffering from EGA. The elimination of the pathogen should be confirmed by PCR-testing 5–8 days after the completion of the antibiotic therapy. Whether and how long antibodies against *A. phagocytophilum* could possibly be protective against reinfection remains unknown. In humans, *A. phagocytophilum* is classified as an emerging pathogen of increasing clinical importance in the northern hemisphere.

Einleitung

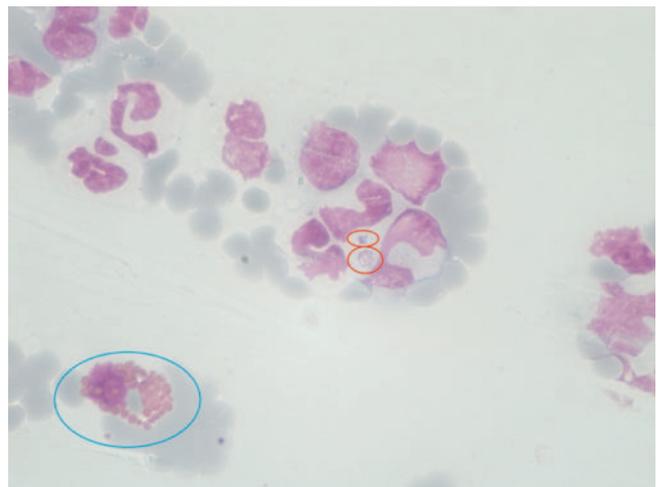
Die equine granulozytäre Anaplasmose (EGA) wird durch das obligat intrazelluläre, gram-negative Bakterium *Anaplasma (A.) phagocytophilum* ausgelöst. Vor dem Jahr 2001 wurde der Erreger als *Ehrlichia (E.) equi* bezeichnet und gemeinsam mit dem Erreger der granulozytären Anaplasmose des Menschen in die *E. phagocytophilum*-Gruppe eingeordnet [1]. Mittlerweile ist bekannt, dass *A. phagocytophilum* sich in verschiedene Ökotypen unterteilen lässt, wobei von Menschen sowie von Pferden und Hunden gewonnene Isolate der sogenannten zoonotischen Gruppe innerhalb des Ökotyps I zugeordnet werden [2]. Der Erreger wird durch Schildzecken des *Ixodes (I.) ricinus*/*I. persulcatus* Komplexes übertragen, in Deutschland hauptsächlich durch *I. ricinus* [3]. Deutlich seltener sind experimentelle diaplazentare Infektionen bei Pferden [4] sowie Infektionen über Bluttransfusionen bei Pferden [5, 6], Hunden [7] und Menschen [7] beschrieben.

Hohe Nachweisraten von *A. phagocytophilum* werden vor allem aus nordeuropäischen Ländern wie Schweden (Polymerase Kettenreaktion [PCR]: 17–69 %) [8–10] und Dänemark (Schnelltest zum Antikörpernachweis: 22 %) [11] sowie zentraleuropäischen Ländern wie Deutschland (PCR: 15 %, Immunfluoreszenz-Antikörpertest [IFAT]: 27 %) [12], Tschechien (PCR: 5 %, IFAT: 5–73 %) [13, 14], den Niederlanden (PCR: 10 %) [15] und der Schweiz (IFAT: 4 %) [16] berichtet. In Deutschland ist die Nachweisrate von *A. phagocytophilum* mittels PCR bei Pferden (15 %) [12] im Vergleich zu anderen Tierarten wie Katzen (0,3–3 %) [17–20] oder Hunden (4–6 %) [21–24] vergleichsweise hoch, mit jedoch teilweise deutlichen regionalen Unterschieden. Die serologischen Nachweisraten von Antikörpern sind hingegen zwischen Pferden (27 %) [12], Katzen (9–23 %) [17, 18] und Hunden (19–50 %) [21, 22, 25–27] vergleichbar.

Die Diagnostik mittels PCR gilt als Goldstandard zum Nachweis akuter Infektionen in der Human- und Veterinärmedizin mit einer

hohen Sensitivität und Spezifität [28, 29]. Der Nachweis von Einschlusskörperchen, sogenannten Morulae (► **Abb. 1**), in überwiegend neutrophilen Granulozyten und seltener eosinophilen Granulozyten hat im Vergleich zur PCR-Diagnostik eine geringere Sensitivität. Morulae können ab einem Zeitraum von 2–4 Tagen nach Infektion im peripheren Blut nachgewiesen werden [4, 30].

Bei Pferden wird der IFAT zum Nachweis von Antikörpern gegen *A. phagocytophilum* empfohlen [5]. Ein einzelner positiver Antikör-



► **Abb. 1** Blutausstrich eines Pferdes mit einer akuten *Anaplasma phagocytophilum*-Infektion (rote Kreise: Morulae in neutrophilen Granulozyten; blauer Kreis: eosinophiler Granulozyt; 1000 x Vergrößerung). Quelle: T. J. Naucke.

► **Fig. 1** Peripheral blood smear of a horse with an acute *Anaplasma phagocytophilum* infection (red circles: morulae in neutrophilic granulocytes; blue circle: eosinophilic granulocyte; 1000 x magnification). Source: T. J. Naucke.

pernachweis kann als Erregerkontakt in der (jüngeren) Vergangenheit interpretiert werden und ist insbesondere aus epidemiologischer, weniger jedoch aus klinischer Sicht, relevant. Bei akuten Infektionen beginnt die Produktion von Antikörpern frühestens 2–5 Tage nach dem Auftreten von Morulae im peripheren Blut [31]. Bei Hunden und Menschen können positive Antikörperspiegel über Monate bis Jahre persistieren [22, 32, 33], bei Pferden ist ein Zeitraum von bis zu 2 Jahren bekannt [34, 35].

Infektionen mit *A. phagocytophilum* bei Pferden können subklinisch oder unter Ausprägung klinischer Symptome verlaufen. Die Inkubationszeit bei natürlichen Infektionen beträgt 1–3 Wochen [34]. Als häufigste klinische Symptome werden Fieber, Lethargie, Anorexie, Ataxie und Ikterus beschrieben, während vor allem Thrombozytopenie, aber auch Anämie und Leukopenie als die wichtigsten hämatologischen Veränderungen bekannt sind [12, 35–37]. Das Serum-Amyloid-A (SAA) gilt als Akute-Phase-Protein und war bei Pferden mit *A. phagocytophilum*-Infektionen häufig erhöht [12].

Anaplasma phagocytophilum ist ein Erreger mit zoonotischem Potenzial. In der Humanmedizin wird die Erkrankung als Humane Granulozytäre Anaplasmose (HGA) bezeichnet, die Infektion verläuft bei immunkompetenten Personen jedoch häufig subklinisch und/oder selbstlimitierend. Vor allem bei immunsupprimierten Personen treten jedoch auch schwere Krankheitsverläufe, teilweise mit tödlichem Ausgang, auf [38, 39]. Die klinische Symptomatik und die hämatologischen Veränderungen sind bei Menschen, Pferden, Katzen und Hunden vergleichbar. *Anaplasma phagocytophilum* ist daher auch im Sinne des One-Health-Konzeptes von Bedeutung und wird in der nördlichen Hemisphäre humanmedizinisch aktuell als „emerging pathogen“ mit steigender klinischer Bedeutung eingestuft [1, 40].

Fallbericht

Signalement und Anamnese

Ein 10 Jahre alter Wallach (Morgan Horse x Mustang) mit einem Körpergewicht von 450 kg wurde in Hessen in einem Aktivstall mit täglichem Weidegang gehalten. Geführt wurde er als Freizeitpferd mit regelmäßigen Ausritten ins Gelände. Auslandsaufenthalte waren nicht bekannt. Der Wallach wurde regelmäßig geimpft (Tetanus und Herpes) und entwurmt. Grunderkrankungen waren nicht bekannt.

Klinische Untersuchung

Zum Zeitpunkt der Erstvorstellung im Juni zeigte das Pferd ein reduziertes Allgemeinbefinden sowie Fieber mit einer inneren Körpertemperatur von 39,7 °C. Schleimhäute und kapilläre Rückfüllungszeit waren unauffällig. In der rechten Leiste, lateral am Präputium, zeigte sich eine etwa erbsengroße Schwellung, die möglicherweise durch einen Zeckenstich verursacht worden sein könnte. Husten, Nasenausfluss oder gastrointestinale Symptome waren nicht feststellbar. Dem Wallach wurde lokal Dermamycinsalbe (Dermamycin Hautcreme 50 g Tube; almapharm GmbH & Co. KG) auf die beschriebene Verdickung aufgetragen. Zudem wurde er oral mit Equibactinpulver (250 mg/g Equibactin + 50 mg/g Sulfadiazin/Trimethoprim Pulver zum Eingeben für Pferde; Dechra Veterinary Products Deutschland GmbH; Dosierung: 25 mg Sulfadia-

zin und 5 mg Trimethoprim pro kg KGW) an Tag 1, Tag 3 und Tag 4 nach Erstvorstellung behandelt. Weiterhin wurde das Pferd am Tag der Erstvorstellung (Tag 0) sowie an Tag 2 mittels intramuskulärer Injektion von Benzylpenicillin-Procaïne (Procpen WDT 300 mg/ml Injektionssuspension für Pferde, Rinder, Schafe, Ziegen, Hunde und Katzen; Wirtschaftsgenossenschaft Deutscher Tierärzte eG; Dosierung: 22000 IE/kg KGW/Tag) und intravenöser Injektion von Metamizol (Novaminsulfon 500 mg/ml Injektionslösung für Pferde, Rinder, Schweine und Hunde; Dechra Veterinary Products Deutschland GmbH; Dosierung: 33 mg/kg KGW intravenös) symptomatisch behandelt. Das Pferd wurde aufgrund des Fiebers bereits am Tag der Erstvorstellung von der Herde isoliert, zeigte jedoch trotz symptomatischer Behandlung an Tag 2 erneut Fieber mit einer Körpertemperatur von 39,7 °C.

Weiterführende Untersuchungen

Aufgrund der ausbleibenden Besserung des Wallachs erfolgte an Tag 2 nach Erstvorstellung eine Blutprobenentnahme. Die Ergebnisse der hämatologischen (Sysmex XN-V analyzer, Sysmex Deutschland, Norderstedt, Deutschland) und biochemischen (Cobas 8000 analyser series module c701, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) Untersuchung sind ▶ **Tab. 1** zu entnehmen.

Initial zeigte sich an Tag 2 hämatologisch eine Panzytopenie mit einer mittelgradigen Thrombozytopenie, einer gering- bis mittelgradigen Anämie und einer geringgradigen Leukopenie sowie ein Stressblutbild mit Lymphopenie und Eosinopenie (▶ **Tab. 1**). Die Thrombozytopenie an Tag 2 und Tag 10 wurde jeweils mikroskopisch bestätigt. Biochemisch waren ein hochgradig erhöhtes SAA, eine mittelgradige Hyperbilirubinämie, eine geringgradige Hypophosphatämie, eine geringgradige Hyperglykämie, ein erniedrigter Zink-Wert und ein geringgradig erniedrigter Selen-Wert auffällig (▶ **Tab. 1**).

Zur Abklärung einer infektiösen Ursache erfolgten im Labor Laboklin (Bad Kissingen) weiterführende Untersuchungen. Die *A. phagocytophilum*-PCR aus dem EDTA-Blut (TaqMan real-time PCR, Applied Biosystems/Life Technologies, Ziel-Gen: 60-kDa heat shock protein) war positiv. Im Institut für Parasitologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover wurde zu späterer Zeit das *groEL*-Chaperon-Gen von *A. phagocytophilum* mittels einer PCR nach Alberti et al. [41] amplifiziert, um über eine nachfolgende Sequenzanalyse den Ökotyp zu bestimmen. Die 473 Basenpaare umfassende Sequenz (NCBI GenBank Accession-Nr. PQ248927) zeigte eine 100 %-ige Übereinstimmung mit *A. phagocytophilum*-Isolaten von Menschen, Hunden und Pferden (z. B. NCBI GenBank Accession-Nrn. AF482760, AF033101, KF836094), die der zoonotischen Gruppe innerhalb des Ökotyps I zugeordnet werden [2] (▶ **Abb. 2**).

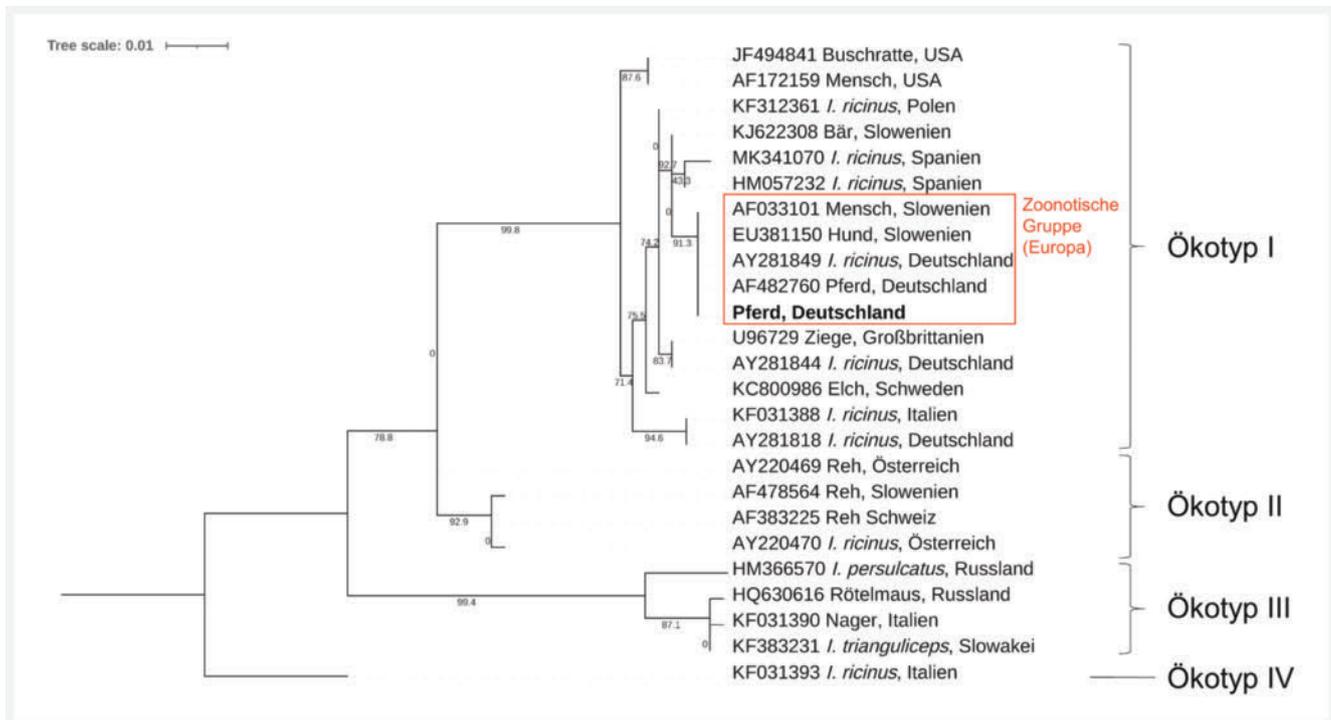
Zur Abklärung weiterer Differentialdiagnosen wurde ein serologischer Test auf Antikörper gegen das West-Nil-Virus (kompetitiver Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA, ID Screen Flavivirus Competition): IgG 77,0 %, Normwert > 50,0 %; IgM 12,7 %, Normwert < 35,0 %) durchgeführt, wobei der Wallach sich seronegativ zeigte. Ebenso lieferte der PCR-Nachweis für das Equine Herpesvirus 1 und das Equine Herpesvirus 4 (nested PCR mit Gel nach Van Devanter et al. [42]; Ziel-Gen: DNA polymerase gene) ein jeweils negatives Ergebnis.

► **Tab. 1** Hämatologische und biochemische Befunde bei einem 10 Jahre alten Wallach mit einer *Anaplasma phagocytophilum*-Infektion 2 und 10 Tage nach Erstvorstellung (Labor Laboklin, Bad Kissingen, Deutschland). Vom Referenzbereich abweichende Werte sind fett gedruckt.

► **Table 1** Hematologic and biochemistry findings in a 10-year-old gelding infected with *Anaplasma phagocytophilum* on days 2 and 10 after first presentation (laboratory Laboklin, Bad Kissingen, Germany). Values outside the reference range are printed in bold.

Parameter	Referenzbereich	Tag 2	Tag 10
Hämatologische Untersuchungen¹			
Erythrozyten (x 10 ¹² /l)	6,0–12,0	5,83	8,53
Hämatokrit (l/l)	0,30–0,50	0,26	0,38
Hämoglobin (g/l)	110–170	96	129
Leukozyten (x 10 ⁹ /l)	5,0–10,0	4,9	10,3
Neutrophile (x 10 ⁹ /l)	3,0–7,0	3,8	6,4
Lymphozyten (x 10 ⁹ /l)	1,5–4,0	0,7	3,0
Monozyten (x 10 ⁹ /l)	0,04–0,4	0,3	0,6
Eosinophile (x 10 ⁹ /l)	0,04–0,3	0,0	0,2
Basophile (x 10 ⁹ /l)	0,0–0,15	0,1	0,1
Thrombozyten (x 10 ⁹ /l)	90–300	53	75
Biochemische Untersuchungen²			
Natrium (mmol/l)	125–150	128	140
Kalium (mmol/l)	2,8–4,5	2,9	4,8
Glukose (mmol/l)	3,1–5,0	6,0	4,8
Kreatinin (µmol/l)	71–159	125	116
Harnstoff (mmol/l)	3,3–6,7	4,2	6,4
Kalzium (mmol/l)	2,5–3,4	2,7	3,2
Phosphor (mmol/l)	0,7–1,5	0,5	1,4
Magnesium (mmol/l)	0,5–0,9	0,5	0,8
Triglyzeride (mmol/l)	<0,97	0,49	0,32
Cholesterin (mmol/l)	1,8–4,7	2,2	1,6
Glutamat-Dehydrogenase (U/l)	<13	0,8	1,7
Gamma-Glutamyl-Transferase (U/l)	<44	14,5	13,6
Alkalische Phosphatase (U/l)	<352	182	180
Aspartat-Aminotransferase (U/l)	<568	296,7	230,4
Laktatdehydrogenase (U/l)	<455	233,3	295
Kreatin-Kinase (U/l)	<452	115	198
Bilirubin (µmol/l)	8,6–59,9	81,7	10,5
Protein (g/l)	55–75	67,2	68,7
Albumin (g/l)	25–54	32,0	32,7
Globuline (g/l)	<51	35,2	36
Serum-Amyloid-A (µg/ml)	<7,0	365,13	16,93
Selen (µg/l)	100–200	96,9	114,2
Kupfer (µmol/l)	7,9–21,0	14,9	13,3
Zink (µmol/l)	9,2–19,9	3,3	9,6
Eisen (µmol/l)	17,9–64,5	30,3	18,7

¹System XN-V analyzer, Sysmex Deutschland, Norderstedt, Deutschland; ²Cobas 8000 analyser series module c701, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland.



► **Abb. 2** Phylogenetischer Baum von *Anaplasma phagocytophilum* basierend auf einem 473 Basenpaare umfassenden Abschnitt des *groEL*-Chaperon-Gens. Die in dieser Studie generierte Sequenz ist fett gedruckt. Die phylogenetische Maximum-Likelihood-Analyse wurde mittels IQ-TREE v. 1.6.12 (<http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/>) mit 1000 Ultrafast-Bootstrap-Replikaten durchgeführt. Die Visualisierung erfolgte mittels Interactive Tree of Life v. 6 (<https://itol.embl.de>). Quelle: A. Springer, C. Strube.

► **Fig. 2** Phylogenetic tree of *Anaplasma phagocytophilum* based on a 473 base pair section of the *groEL* chaperone gene. The sequence generated in this study is shown in bold. The phylogenetic maximum likelihood analysis was performed using IQ-TREE v. 1.6.12 (<http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/>) with 1000 Ultrafast bootstrap replicates. The tree was visualized using Interactive Tree of Life v. 6 (<https://itol.embl.de>). Source: A. Springer, C. Strube.

Diagnose

Aufgrund der positiven *A. phagocytophilum*-PCR wurde eine akute Infektion mit *A. phagocytophilum* diagnostiziert. Koinfektionen mit viralen Erregern wie dem West-Nil-Virus oder Equinen Herpesviren wurden nicht festgestellt.

Therapieverlauf

In den ersten beiden Tagen nach Diagnosestellung wurde der Wallach intravenös mit Oxytetracyclin (OXTRA DD 100 mg/ml Injektionslösung für Rinder, Schafe, Schweine, Pferde, Hunde und Katzen; Selectavet Dr. Otto Fischer GmbH; Dosierung 7 mg/kg KGW langsam intravenös einmal täglich) behandelt. Die Therapie wurde in den nächsten 7 Tagen mit Doxycyclin (Doxycycline EG 200 mg Eurogeneric; Dosierung 10 mg/kg KGW oral zweimal täglich) fortgesetzt. Das Allgemeinbefinden des Pferdes besserte sich schnell, die Antibiose wurde nach der PCR-Kontrolle auf *A. phagocytophilum* mit negativem Ergebnis abgesetzt.

Diskussion

Fallbasierte Diskussion

Bei einer EGA als mögliche Differentialdiagnose bei einer akuten Infektion mit unspezifischen klinischen Symptomen sollten in der Anamnese Offenstallhaltung bzw. Weidegang und damit eine Zeckenexposition sowie hämatologische Veränderungen berücksichtigt werden. Die Hauptaktivitätszeit von *I. ricinus* liegt in Deutschland im Frühling und Frühsommer [43], was sich mit der Vorstellung des Pferdes mit einer akuten *A. phagocytophilum*-Infektion im Juni deckt. Durch die mittlerweile ganzjährige Aktivität von *I. ricinus* im Zuge milderer Winter als Folge des Klimawandels [44] müssen jedoch *A. phagocytophilum*-Infektionen auch in den kühlen Monaten des Jahres zunehmend berücksichtigt werden. Regelmäßige Ausritte ins Gelände erhöhen, wie im vorgestellten Fall, das Risiko für eine Zeckeninfestation.

Bei 134/189 Pferden (71 %) wurden in einem Literaturreview klinische Symptome bei einer akuten Infektion mit *A. phagocytophilum* beschrieben [45]. In Übereinstimmung mit dem vorgestellten Fallbericht gilt sowohl in der Human- [39] als auch in der Veterinärmedizin bei Pferden [35, 45], Katzen [46] und Hunden [47] Fieber als das Leitsymptom bei akuten Infektionen mit *A. phagocytophilum*. Als weitere häufige klinische Symptome sind bei Pferden Le-

thargie, Anorexie, Gliedmaßen- und Unterbrustödeme, Ikterus, Pechien und Ekchymosen sowie Bewegungsunlust beschrieben [45]. Auch Ataxien sind bekannt, die höchstwahrscheinlich durch entzündliche Läsionen im Gehirn mit Flüssigkeitsansammlungen in den Ventrikeln ausgelöst werden [34], die im beschriebenen Fall jedoch nicht feststellbar waren. Seltener tritt eine myokardiale Vasculitis auf, die zu transienten ventrikulären Arrhythmien führen kann. Bei Pferden können Infektionen mit *A. phagocytophilum* selbstlimitierend sein mit einer klinischen Symptomatik über 1–2 Wochen [4]. Die Letalität gilt allgemein als gering, außer bei Sekundärinfektionen oder Stürzen aufgrund von Ataxien.

Die hämatologischen Veränderungen bei einer akuten EGA sind meist gering- bis mittelgradig ausgeprägt [48], was auch bei dem beschriebenen Pferd mit Panzytopenie und mittelgradiger Thrombozytopenie sowie geringgradiger Anämie und Leukopenie der Fall war. Allgemein sind am häufigsten Thrombozytopenien beschrieben, beispielsweise bei 84/93 erkrankten Pferden (90 %) im Rahmen von Mono-, Bi- oder Panzytopenien [45]. Die Panzytopenie kann die Folge einer peripheren Sequestration, eines vermehrten Verbrauchs durch das Entzündungsgeschehen, eines vermehrten Abbaus bzw. der Zerstörung von Blutzellen durch den Erreger sowie einer Schädigung des Knochenmarks sein [1, 4, 36]. Im Differentialblutbild tritt häufig eine Lymphopenie und/oder Neutropenie auf [45]. Bei dem beschriebenen Pferd war eine Lymphopenie und Eosinopenie nachweisbar, was auf ein Stressblutbild als Folge der akuten *A. phagocytophilum*-Infektion hinweist. Die neutrophilen Granulozyten lagen im unteren Referenzbereich und stiegen unter Therapie an.

Bei der biochemischen Untersuchung sind Hyperbilirubinämie (20/29 Pferde, 69 %) und eine erhöhte Fibrinogenkonzentration (13/15 Pferde, 87 %) die häufigsten Befunde [45]. Auch bei dem beschriebenen Pferd lag eine Hyperbilirubinämie vor. Das SAA als Akute-Phase-Protein war zunächst mittelgradig erhöht, fiel aber im Laufe der Therapie schnell ab, was den Nutzen dieses Parameters zur Verlaufskontrolle unterstreicht. Unter Therapie ist eine schnelle Verbesserung der klinischen Symptomatik und der Blutbefunde bekannt, was auch bei dem beschriebenen Pferd zutraf. Die Prognose wird allgemein als günstig eingeschätzt [6].

Neben der PCR aus dem peripheren Blut kommen als Untersuchungsmaterial eine Leukozytenanreicherung, das Knochenmark und Milzgewebe in Betracht [30]. Die PCR zur Amplifikation des *msp-2*-Gens gilt als Goldstandard für die Diagnose akuter Infektionen mit *A. phagocytophilum*, da diese die höchste Sensitivität aufweist [8, 49]. Morulae in peripheren Blutaussstrichen wurden bei 57/91 Pferden (63 %) aus Deutschland [12] und 115/153 Pferden (75 %) weltweit [45] nachgewiesen, die zuvor mittels PCR positiv auf *A. phagocytophilum* getestet wurden. Morulae treten erstmalig etwa 2–4 Tage nach der Infektion auf [4, 30]. Im Initialstadium der Erkrankung sind diese zunächst in weniger als 1 % der neutrophilen Granulozyten zu finden, nach 3–5 Tagen erfolgt ein Anstieg auf bis zu 60 % [35, 50, 51]. Verschiedene Färbemethoden wie DiffQuick-, Wright- oder Giemsa-Färbungen sind zum Nachweis geeignet [4, 52, 53]. Bereits am Tag nach Therapiebeginn sind Morulae jedoch nur noch selten nachweisbar und nach 48–72 Stunden nicht mehr vorhanden [6]. Die Sensitivität und Spezifität des mikroskopischen Nachweises ist jedoch auch von der Erfahrung des Untersuchers abhängig und kann entsprechend sowohl zu falsch-positi-

ven (Färbe- und Kernreste, basophile Präzipitate) als auch falsch-negativen Befunderhebungen führen [54].

Der Nachweis von Antikörpern mittels IFAT belegt einen Erregerkontakt und ist vor allem von epidemiologischer und weniger von klinischer Relevanz [10, 55]. Bei akuten *A. phagocytophilum*-Infektionen wurde eine Serokonversion ca. 12–16 Tage nach Erregerkontakt nachgewiesen [56]. Die Bedeutung von Serumpaaren im Abstand von 2–4 Wochen ist bei Pferden im Gegensatz zu Hunden [24] und Katzen [46] nach Wissen der Autoren unbekannt.

Nach experimentellen *A. phagocytophilum*-Infektionen erhielten sich alle Studienpferde innerhalb von 21 Tagen auch ohne Therapie, und der Erreger war ab Tag 22 nicht mehr mittels PCR nachweisbar [57]. Jedoch verkürzt eine Therapie den Erkrankungsverlauf. Sowohl nach experimentellen als auch natürlichen Infektionen erfolgte eine schnelle Besserung der klinischen Symptomatik und eine klinische Heilung 3–7 Tage nach Therapiebeginn [57–59], was sich mit dem beschriebenen Fall deckt. Therapie der Wahl bei Pferden mit einer akuten EGA sind Tetrazykline, die gegen den intrazellulär in Granulozyten vorliegenden Erreger wirksam sind [60]. Allgemein wird Oxytetracyclin in einer Dosierung von 7 mg/kg Körpergewicht einmal täglich intravenös über 5–7 Tage empfohlen (34). Alternativ ist auch Doxycyclin in der Dosierung von 10 mg/kg Körpergewicht zweimal täglich oral über 10–14 Tage beschrieben [58]. Weiterhin sind, wie im beschriebenen Fall erfolgt, Kombinationstherapien zweier intravenöser Applikationen von Oxytetracyclin und nachfolgend Doxycyclin oral über 7–10 Tage in oben genannten Dosierungen beschrieben [6]. Weiterhin wurden bei Pferden mit akuter EGA zusätzlich nicht steroidale Antiphlogistika zur Fiebersenkung, Infusionstherapien und Stallruhe, eventuell unter Verwendung von Stallgamaschen zur Senkung einer Verletzungsgefahr, eingesetzt [6, 30, 61].

Die Prophylaxe ist auf die weitestgehende Verhinderung bzw. Verminderung einer Zeckenexposition beschränkt. Aktuell sind keine Nachweise von chronischen oder persistierenden Infektionen nach natürlichen Infektionen mit *A. phagocytophilum* bei Pferden in Europa beschrieben [6]. Dennoch empfehlen die Autoren, die Erregerelimination mittels PCR 5–8 Tage nach Abschluss der Therapie zu überprüfen.

Epidemiologische Diskussion

In einer Studie aus Deutschland wurde *A. phagocytophilum* bei 15 % der Pferde mittels PCR detektiert (12), was eine deutlich höhere Nachweisrate im Vergleich zu Hunden mit 4–6 % [21–23] und Katzen mit 0,3–3 % [17–20] darstellt. Allerdings waren die Gründe für die Einsendungen in das Diagnostiklabor sowohl bei den Pferden als auch den Hunden und Katzen unbekannt. Pferde könnten einem höheren Risiko ausgesetzt sein, da die Zeckenprophylaxe durch einen Mangel an zugelassenen Präparaten erschwert ist und durch Weidegang bzw. Offenstallhaltung sowie Ausritten ins Gelände gleichzeitig ein hohes Expositionsrisiko von oft langer Zeitdauer vorliegt, wie es auch im vorliegenden Fallbericht gegeben war. Die Prävalenzunterschiede zwischen Pferden im Vergleich zu Hunden und Katzen könnten darüber hinaus auf Unterschiede in den jeweiligen Studienpopulationen zurückzuführen sein, beispielsweise einer Selektion auf klinische *A. phagocytophilum*-Verdachtsfälle vs. breiter gefächerter Populationen von Hund und Katze, ggf. unter Einschluss von Tieren ohne Auslauf im Freien. Für eine solche ein-

geschränkte Vergleichbarkeit der oben genannten Studien spricht, dass die *A. phagocytophilum*-Seroprävalenzen zwischen Pferden mit 27 % [12], Hunden mit 19–50 % [21, 22, 25–27] und Katzen mit 9–23 % [17, 18] annähernd vergleichbar sind, was ein ähnliches Risiko eines Erregerkontakts bzw. eine ähnliche Infektionsempfänglichkeit bei den verschiedenen Spezies widerspiegeln könnte. Bei Pferden aus Deutschland wurde weiterhin eine über 2-fach erhöhte Odds Ratio (OR) für einen positiven PCR-Test in nördlichen im Vergleich zu südlichen Bundesländern festgestellt [12]. Allgemein zeigt sich ein Trend für höhere Nachweisraten mittels PCR in Nord-europa, beispielsweise bei 17–69 % der Pferde in Schweden [8–10]. Weiterhin wurde bei Pferden in Deutschland eine steigende OR für eine positive PCR im Zeitraum von 2008 bis 2021 nachgewiesen, mit einem pro Jahr um 7 % steigenden Risiko [12]. Ähnliches ist auch aus der Humanmedizin bekannt, wo in den USA 348 HGA-Fälle im Jahr 2000 dokumentiert wurden, im Jahr 2019 jedoch bereits 5655 Fälle [39]. Als Risikofaktor hierfür werden Veränderungen der klimatischen Bedingungen mit Ausbreitung potenzieller Vektoren und Reservoirwirte diskutiert [39], jedoch muss auch eine höhere Nachweisrate als Folge einer höheren Awareness berücksichtigt werden.

Die mittels PCR ermittelte *A. phagocytophilum*-Prävalenz bei *I. ricinus* beträgt in Deutschland zwischen 1–13 % mit einer höheren Nachweisrate bei adulten Zecken im Vergleich zu Nymphen, wobei sich jedoch die Nachweisraten regional teilweise deutlich unterscheiden [62–68]. Im Zeitraum von 2009–2010 wurden 1 % der *I. ricinus*-Exemplare von 7 deutschen Standorten PCR-positiv auf *A. phagocytophilum* getestet, im Jahr 2019 waren es 2 % [69]. Vergleichbar dazu konnte in einer systematischen Langzeitstudie in der Stadt Hannover zwischen 2005 und 2020 mit Werten von 3,0–3,8 % ebenfalls kein statistisch signifikanter Anstieg der *A. phagocytophilum*-Prävalenz ermittelt werden [70]. Mittlerweile ist ein Zeckenbefall mit *I. ricinus* in Deutschland ganzjährig, also auch in den Wintermonaten, möglich [44, 71].

Phylogenetisch wird *A. phagocytophilum* in mehrere Ökotypen eingeteilt, welche sich hinsichtlich ihrer Wirts- und Vektorassoziation sowie ihrer Pathogenität für den Menschen und Haustiere unterscheiden. Innerhalb des Ökotyps I gilt eine Subklade als zoonotisch, in die auch die bei Hunden und Pferden pathogenen Isolate fallen [2]. Auch die im beschriebenen Fall generierte Sequenz konnte dieser zoonotischen Gruppe zugeordnet werden. Die Verteilung der unterschiedlichen *A. phagocytophilum*-Ökotypen wurde bislang in der deutschen Vektorpopulation nicht systematisch untersucht, sodass künftige Studien zeigen müssen, wie häufig diese Subklade vorkommt.

FAZIT FÜR DIE PRAXIS

Eine akute Infektion mit *A. phagocytophilum* sollte bei Pferden als eine mögliche Differentialdiagnose bei vorberichtlichem Zeckenbefall oder entsprechender Haltung (Offenstallhaltung, Weidegänge, Ausritte), bei Fieber und bei entsprechenden hämatologischen Veränderungen, insbesondere einer Thrombozytopenie, berücksichtigt werden. Das Auftreten der genannten Krankheitsanzeichen

im Frühjahr und Frühsommer ist zusätzlich hinweisend, jedoch ist zu bedenken, dass *A. phagocytophilum*-Infektionen aufgrund der veränderten klimatischen Bedingungen und der dadurch veränderten Aktivität von *I. ricinus* mittlerweile ganzjährig auftreten können. Die Diagnosestellung sollte mittels PCR erfolgen. Die Analyse eines peripheren Blutausschnitts zum Nachweis von Morulae ist ein schnelles und kostengünstiges Verfahren, ein negatives Ergebnis schließt eine Infektion jedoch nicht aus. Intrazellulär wirksame Antibiotika wie Doxycyclin und/oder Oxytetracyclin sind zur Therapie der EGA geeignet. Im Fall von Doxycyclin muss eine Umwidmung erfolgen, da kein entsprechendes Präparat für Pferde zugelassen ist. Gewöhnlich tritt eine schnelle klinische Besserung ein, dennoch sollte die Therapie bis zum Ende fortgeführt werden, um eine Rezidivierung der Infektion zu vermeiden und einer Resistenzentwicklung vorzubeugen. Sowohl die PCR als auch die serologischen Nachweisraten können regional deutlich variieren, auch innerhalb eines Landes bzw. Bundeslandes. *Anaplasma phagocytophilum* ist ein Erreger mit zoonotischem Potenzial und daher auch im Sinne des One-Health-Konzepts bedeutend.

Interessenkonflikt

Carla Wiebke Axt, Torsten J. Naucke und Ingo Schäfer sind Angestellte der Laboklin GmbH & Co. KG. Elisabeth Müller ist Geschäftsführerin der Laboklin GmbH & Co. KG. Christina Strube hat für diagnostische und (veterinär-)pharmazeutische Unternehmen Vorträge gehalten sowie diese beraten und in der Vergangenheit wie auch gegenwärtig wissenschaftlich zusammengearbeitet. Andrea Springer und Arno Besse deklarieren keinen potenziellen Interessenkonflikt.

Literatur

Das Literaturverzeichnis findet sich online unter <http://dx.doi.org/10.1055/a-2418-6540>.

Punkte sammeln auf CME.thieme.de



Diese ATF-erkannte Fortbildungseinheit ist in der Regel online 12 Monate für die Teilnahme von Abonnent*innen dieser Zeitschrift verfügbar. Einsendeschluss für diese Fortbildungseinheit ist der **15.12.2025**. Sollten Sie Fragen zur Online-Teilnahme haben, finden Sie unter <https://cme.thieme.de/hilfe> eine ausführliche Anleitung. Wir wünschen viel Erfolg beim Beantworten der Fragen!

Unter <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/html/10.1055/a-2418-6540> oder über den QR-Code kommen Sie direkt zum Artikel.



Frage 1

Welcher Vektor gilt in Deutschland überwiegend als Überträger der equinen granulozytären Anaplasmosose?

- A *Dermacentor reticulatus* (Wiesenzecke)
- B *Ixodes ricinus* (Gemeiner Holzbock)
- C *Phlebotomus perniciosus* (Sandmücke)
- D *Culicidae* (Fliegen)
- E *Rhipicephalus sanguineus* (Braune Hundezecke)

Frage 2

Welche hämatologische Veränderung ist die häufigste bei Infektionen mit *Anaplasma phagocytophilum*?

- A Regenerative Anämie
- B Leukozytose
- C Nicht-regenerative Anämie
- D Thrombozytopenie
- E Leukopenie

Frage 3

In welchen Zellen finden sich mikroskopisch die sogenannten Morulae von *Anaplasma phagocytophilum*?

- A Neutrophile Granulozyten
- B Lymphozyten
- C Makrophagen
- D Erythrozyten
- E Thrombozyten

Frage 4

Welche diagnostische Methode gilt als Goldstandard zum Nachweis einer akuten *Anaplasma phagocytophilum*-Infektion?

- A Antigen-ELISA
- B Kultur
- C Antikörper-IFAT
- D Antikörper-ELISA
- E PCR

Frage 5

Was ist das häufigste klinische Symptom bei einer akuten equinen granulozytären Anaplasmosose?

- A Dermatologische Symptome
- B Blutungen
- C Kolik
- D Fieber
- E Festliegen

Frage 6

Welches Akute-Phase-Protein ist bei Infektionen mit *Anaplasma phagocytophilum* häufig erhöht?

- A Das Serum-Amyloid-A (SAA)
- B Das C-reaktive Protein (CRP)
- C Albumin
- D Apolipoprotein A
- E Globuline

Frage 7

Welche Antibiotika gelten als Therapie der Wahl bei der equinen granulozytären Anaplasmosose?

- A Beta-Laktame
- B Sulfonamide
- C Tetrazykline
- D Makrolide
- E Chinolone

Frage 8

Wann sollte bei einer equinen granulozytären Anaplasmosose der Therapieerfolg mittels PCR überprüft werden?

- A 2 Tage nach Therapiebeginn
- B Bei Abschluss der Therapie
- C 5–8 Tage nach Abschluss der Therapie
- D 14 Tage nach Abschluss der Therapie
- E 21 Tage nach Abschluss der Therapie

Punkte sammeln auf CME.thieme.de

Fortsetzung ...

Frage 9

Zu welchem Zeitpunkt finden sich am meisten Morulae im Blutausstrich nach Beginn der Erkrankung?

- A Unmittelbar zum Infektionszeitpunkt
- B Nach 1 Tag
- C Nach 2 Tagen
- D Nach 3–5 Tagen
- E Nach 7 Tagen

Frage 10

Welche diagnostische Methode eignet sich zum Monitoring eines Therapieerfolges bei der equinen granulozytären Anaplasiose?

- A PCR
- B Antikörper-ELISA
- C Antikörper-IFAT
- D Westernblot
- E Antigen-ELISA

Zusatzmaterial

Literatur

- [1] Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP et al. 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*. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; 51: 2145–2165. DOI: 10.1099/00207713-51-6-2145
- [2] Rar V, Tkachev S, Tikunova N. Genetic diversity of *Anaplasma* bacteria: Twenty years later. *Infect Genet Evol* 2021; 91: 104833. DOI: 10.1016/j.meegid.2021.104833
- [3] Katavolos P, Armstrong PM, Dawson JE et al. Duration of tick attachment required for transmission of granulocytic ehrlichiosis. *J Infect Dis* 1998; 177: 1422–1425. DOI: 10.1086/517829
- [4] Gribble DH. Equine ehrlichiosis. *J Am Vet Med Assoc* 1969; 155: 462–469
- [5] Nyindo MB, Ristic M, Lewis GE Jr. et al. Immune response of ponies to experimental infection with *Ehrlichia equi*. *Am J Vet Res* 1978; 39: 15–18
- [6] Pusterla N, Madigan JE. Equine Granulocytic Anaplasmosis. *J Equine Vet Sci* 2013; 33: 493–496. DOI: 10.1016/j.jevs.2013.03.188
- [7] Kemperman M, Neitzel D, Jensen K et al. *Anaplasma phagocytophilum* transmitted through blood transfusion-Minnesota, 2007 (Reprinted from *MMWR*, vol 57, pg 1145-1148, 2008). *Jama-J Am Med Assoc* 2008; 300: 2718–2720
- [8] Engvall EO, Pettersson B, Persson M et al. A 16S rRNA-based PCR assay for detection and identification of granulocytic *Ehrlichia* species in dogs, horses, and cattle. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2170–2174. DOI: 10.1128/jcm.34.9.2170-2174.1996
- [9] Egenvall A, Franzen P, Gunnarsson A et al. Cross-sectional study of the seroprevalence to *Borrelia burgdorferi* sensu lato and granulocytic *Ehrlichia* spp. and demographic, clinical and tick-exposure factors in Swedish horses. *Prev Vet Med* 2001; 49: 191–208. DOI: 10.1016/S0167-5877(01)00187-8
- [10] Janzen T, Pettersson M, Hammer M et al. Equine Granulocytic Anaplasmosis in Southern Sweden: Associations with coniferous forest, water bodies and landscape heterogeneity. *Agric Ecosyst Environ* 2019; 285: 106626
- [11] Hansen MG, Christoffersen M, Thuesen LR et al. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in Danish horses. *Acta Vet Scand* 2010; 52: 3. DOI: 10.1186/1751-0147-52-3
- [12] Schäfer I, Silaghi C, Fischer S et al. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in horses from Germany by molecular and serological testing (2008–2021). *Vet Parasitol* 2022; 312: 109840. DOI: 10.1016/j.vetpar.2022.109840
- [13] Hulinska D, Langrova K, Pejcoch M et al. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in animals by real-time polymerase chain reaction. *APMIS* 2004; 112: 239–247. DOI: 10.1111/j.1600-0463.2004.apm11204-0503.x
- [14] Praskova I, Bezdekova B, Zeman P et al. Seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in horses in the Czech Republic. *Ticks Tick Borne Dis* 2011; 2: 111–115. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2011.01.002
- [15] Butler CM, Nijhof AM, Jongejan F et al. *Anaplasma phagocytophilum* infection in horses in the Netherlands. *Vet Rec* 2008; 162: 216–217. DOI: 10.1136/vr.162.7.216
- [16] Bretscher R. Serologische Untersuchungen zur Häufigkeit und Verbreitung der equinen Ehrlichiose in der Schweiz. *Schweiz Arch Tierheilkd* 1991; 133: 185
- [17] Hamel D, Bondarenko A, Silaghi C et al. Seroprevalence and bacteremia [corrected] of *Anaplasma phagocytophilum* in cats from Bavaria and Lower Saxony (Germany). *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2012; 125: 163–167. In German
- [18] Morgenthal D, Hamel D, Arndt G et al. Prevalence of haemotropic *Mycoplasma* spp., *Bartonella* spp. and *Anaplasma phagocytophilum* in cats in Berlin/Brandenburg (Northeast Germany). *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. 2012; 125: 418–427. In German
- [19] Bergmann M, Englert T, Stuetzer B et al. Prevalence of selected rickettsial infections in cats in Southern Germany. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2015; 42: 33–36. DOI: 10.1016/j.cimid.2015.08.003
- [20] Schäfer I, Kohn B, Müller E. *Anaplasma phagocytophilum* in domestic cats from Germany, Austria and Switzerland and clinical/laboratory findings in 18 PCR-positive cats (2008–2020). *J Feline Med Surg* 2022; 24: 290–297. DOI: 10.1177/1098612X211017459
- [21] Jensen J, Simon D, Murua Escobar H et al. *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Germany. *Zoonoses Public Health* 2007; 54: 94–101. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2007.01028.x
- [22] Kohn B, Silaghi C, Galke D et al. Infections with *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Germany. *Res Vet Sci* 2011; 91: 71–76. DOI: 10.1016/j.rvsc.2010.08.008
- [23] Chirek A, Silaghi C, Pfister K et al. The occurrence of *Anaplasma phagocytophilum* in canine blood donors in Berlin/Brandenburg (2006–2012): retrospective analysis of clinical data and relevance for transfusion medicine. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2017; 131: 124–130
- [24] Schäfer I, Kohn B, Silaghi C et al. Molecular and serological detection of *Anaplasma phagocytophilum* in dogs from Germany (2008–2020). *Animals (Basel)* 2023; 13: DOI: 10.3390/ani13040720
- [25] Barutzki D, De Nicola A, Zeziola M et al. Seroprevalence of *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs in Germany. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2006; 119: 342–347
- [26] Schaarschmidt-Kiener D, Müller W. Labordiagnostische und klinische Aspekte der kaninen Anaplasmose und Ehrlichiose. *Tierärztl Prax* 2007; 35: 129–136
- [27] Preyß-Jageler C, Müller E, Straubinger RK et al. Prevalence of antibodies against *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Leptospira interrogans* serovars in Bernese Mountain Dogs. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 2016; 44: 77–85. DOI: 10.15654/TPK-140962
- [28] Courtney JW, Kostelnik LM, Zeidner NS et al. Multiplex real-time PCR for detection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi*. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3164–3168. DOI: 10.1128/JCM.42.7.3164-3168.2004
- [29] Bakken JS, Dumler JS. Clinical diagnosis and treatment of human granulocytotropic anaplasmosis. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1078: 236–247. DOI: 10.1196/annals.1374.042
- [30] Dziegiel B, Adaszek L, Kalinowski M et al. Equine granulocytic anaplasmosis. *Res Vet Sci* 2013; 95: 316–320. DOI: 10.1016/j.rvsc.2013.05.010
- [31] Granick J, Lappin M. *Anaplasma phagocytophilum* infection. In: Greene CE, editor. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 5. St. Louis. Missouri: Elsevier; 2023: 542–549
- [32] Klein MB, Nelson CM, Goodman JL. Antibiotic susceptibility of the newly cultivated agent of human granulocytic ehrlichiosis: promising activity of quinolones and rifamycins. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 76–79. DOI: 10.1128/AAC.41.1.76
- [33] Egenvall A, Bonnett BN, Gunnarsson A et al. Sero-prevalence of granulocytic *Ehrlichia* spp. and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Swedish dogs 1991–94. *Scand J Infect Dis* 2000; 32: 19–25. DOI: 10.1080/00365540050164164

- [34] Madigan JE, Gribble D. Equine ehrlichiosis in northern California: 49 cases (1968–1981). *J Am Vet Med Assoc* 1987; 190: 445–448
- [35] Franzen P, Aspan A, Egenvall A et al. Acute clinical, hematologic, serologic, and polymerase chain reaction findings in horses experimentally infected with a European strain of *Anaplasma phagocytophilum*. *J Vet Intern Med* 2005; 19: 232–239. DOI: 10.1892/0891-6640(2005)19<232:achsap>2.0.co;2
- [36] Reubel GH, Kimsey RB, Barlough JE et al. Experimental transmission of *Ehrlichia equi* to horses through naturally infected ticks (*Ixodes pacificus*) from Northern California. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2131–2134. DOI: 10.1128/JCM.36.7.2131-2134.1998
- [37] Bermann F, Davoust B, Fournier PE et al. *Ehrlichia equi* (*Anaplasma phagocytophila*) infection in an adult horse in France. *Vet Rec* 2002; 150: 787–788. DOI: 10.1136/vr.150.25.787
- [38] Hoepfer W, Markowicz M, Schoetta AM et al. Molecular diagnosis of autochthonous human anaplasmosis in Austria – an infectious diseases case report. *BMC Infect Dis* 2020; 20: 288. DOI: 10.1186/s12879-020-04993-w
- [39] Dumic I, Jevtic D, Veselinovic M et al. Human Granulocytic Anaplasmosis-A systematic review of published cases. *Microorganisms* 2022; 10: DOI: 10.3390/microorganisms10071433
- [40] Stuen S, Granquist EG, Silaghi C. *Anaplasma phagocytophilum* – a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Front Cell Infect Microbiol* 2013; 3: 31. DOI: 10.3389/fcimb.2013.00031
- [41] Alberti A, Addis MF, Sparagano O et al. *Anaplasma phagocytophilum*, Sardinia, Italy. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1322–1324. DOI: 10.3201/eid1108.050085
- [42] VanDevanter DR, Warrener P, Bennett L et al. Detection and analysis of diverse herpesviral species by consensus primer PCR. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 1666–1671. DOI: 10.1128/JCM.34.7.1666-1671.1996
- [43] Gethmann J, Hoffmann B, Kasbohm E et al. Research paper on abiotic factors and their influence on *Ixodes ricinus* activity-observations over a two-year period at several tick collection sites in Germany. *Parasitol Res* 2020; 119: 1455–1466. DOI: 10.1007/s00436-020-06666-8
- [44] Probst J, Springer A, Topp AK et al. Winter activity of questing ticks (*Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus*) in Germany – Evidence from quasi-natural tick plots, field studies and a tick submission study. *Ticks Tick Borne Dis* 2023; 14: 102225. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2023.102225
- [45] Bogdan AM, Mitrea IL, Ionita M. Equine granulocytic anaplasmosis: a systematic review and meta-analysis on clinico-pathological findings, diagnosis, and therapeutic management. *Vet Sci* 2024; 11: DOI: 10.3390/vetsci11060269
- [46] Schäfer I, Kohn B. *Anaplasma phagocytophilum* infection in cats: A literature review to raise clinical awareness. *J Feline Med Surg* 2020; 22: 428–441. DOI: 10.1177/1098612X20917600
- [47] Chirek A, Silaghi C, Pfister K et al. Granulocytic anaplasmosis in 63 dogs: clinical signs, laboratory results, therapy and course of disease. *J Small Anim Pract* 2018b 59: 112–120. DOI: 10.1111/jsap.12787
- [48] Joachim A, Cavalleri JMV, Berger S. Equine anaplasmosis and equine piroplasmiasis in Germany, Austria and Switzerland – previously anecdotal, now relevant? *Schweiz Arch Tierheilkd* 2022; 164: 35–50. in German. DOI: 10.17236/sat00335
- [49] Huhn C, Winter C, Wolfspurger T et al. Analysis of the population structure of *Anaplasma phagocytophilum* using multilocus sequence typing. *PLoS One* 2014; 9: e93725. DOI: 10.1371/journal.pone.0093725
- [50] Berrington A, Moats R, Lester S. A case of *Ehrlichia equi* in an adult horse in British Columbia. *Can Vet J* 1996; 37: 174–175
- [51] Uehlinger FD, Clancey NP, Lofstedt J. Granulocytic anaplasmosis in a horse from Nova Scotia caused by infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Can Vet J* 2011; 52: 537–540
- [52] Sells DM, Hildebrandt PK, Lewis GE Jr. et al. Ultrastructural observations on *Ehrlichia equi* organisms in equine granulocytes. *Infect Immun* 1976; 13: 273–280. DOI: 10.1128/iai.13.1.273-280.1976
- [53] Pusterla N, Huder JB, Feige K et al. Identification of a granulocytic *Ehrlichia* strain isolated from a horse in Switzerland and comparison with other rickettsiae of the *Ehrlichia phagocytophila* genogroup. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2035–2037. DOI: 10.1128/JCM.36.7.2035-2037.1998
- [54] Schotthoefer AM, Meece JK, Ivacic LC et al. 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. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 2147–2153. DOI: 10.1128/JCM.00347-13
- [55] Laus F, Veronesi F, Passamonti F et al. Prevalence of tick borne pathogens in horses from Italy. *J Vet Med Sci* 2013; 75: 715–720. DOI: 10.1292/jvms.12-0449
- [56] Artursson K, Gunnarsson A, Wikstrom UB et al. A serological and clinical follow-up in horses with confirmed equine granulocytic ehrlichiosis. *Equine Vet J* 1999; 31: 473–477. DOI: 10.1111/j.2042-3306.1999.tb03853.x
- [57] Franzen P, Aspan A, Egenvall A et al. Molecular evidence for persistence of *Anaplasma phagocytophilum* in the absence of clinical abnormalities in horses after recovery from acute experimental infection. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 636–642. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2009.0317.x
- [58] Lewis SR, Zimmerman K, Dascanio JJ et al. Equine Granulocytic Anaplasmosis: a case report and review. *J Equine Vet Sci* 2009; 29: 160–166. DOI: 10.1016/j.jevs.2009.01.002
- [59] Boni M, Rolain JM, Portelli C et al. Isolated fever in horses: a new case of equine anaplasmosis in France. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15: 64–65. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2008.02181.x
- [60] Maurin M, Bakken JS, Dumler JS. Antibiotic susceptibilities of *Anaplasma* (*Ehrlichia*) *phagocytophilum* strains from various geographic areas in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 413–415. DOI: 10.1128/AAC.47.1.413-415.2003
- [61] Adaszek L, Winiarczyk S, Lukaszewska J. A first case of ehrlichiosis in a horse in Poland. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 2009; 116: 330–334
- [62] Fingerle V, Goodman JL, Johnson RC et al. Human granulocytic ehrlichiosis in southern Germany: increased seroprevalence in high-risk groups. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3244–3247
- [63] Baumgarten BU, Rollinghoff M, Bogdan C. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* and granulocytic and monocytic ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks from southern Germany. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3448–3451
- [64] Silaghi C, Gilles J, Hohle M et al. *Anaplasma phagocytophilum* infection in *Ixodes ricinus*, Bavaria, Germany. *Emerg Infect Dis* 2008; 14: 972–974. DOI: 10.3201/eid1406.061513
- [65] Leonhard S. Untersuchungen zur Häufigkeit von *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma phagocytophilum* und *Babesia* spp. in *Ixodes ricinus* aus Bayern und Baden-Württemberg. Munich: Ludwig-Maximilians-Universität, Munich, Diss; 2005
- [66] Hartelt K, Oehme R, Frank H et al. Pathogens and symbionts in ticks: prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* (*Ehrlichia* sp.), *Wolbachia* sp., *Rickettsia* sp., and *Babesia* sp. in Southern Germany. *Int J Med Microbiol* 2004; 293: 86–92. DOI: 10.1016/S1433-1128(04)80013-5
- [67] Schorn S, Pfister K, Reulen H et al. Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* in Bavarian public parks, Germany. *Ticks Tick Borne Dis* 2011; 2: 196–203. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2011.09.009
- [68] Schreiber C, Krücken J, Beck S et al. Pathogens in ticks collected from dogs in Berlin/Brandenburg, Germany. *Parasit Vectors* 2014; 7: 535. DOI: 10.1186/s13071-014-0535-1

- [69] Mertens-Scholz K, Hoffmann B, Gethmann JM et al. Prevalence of tick-borne bacterial pathogens in Germany – has the situation changed after a decade? *Front Cell Infect Microbiol* 2024; 14: 1429667. DOI: 10.3389/fcimb.2024.1429667
- [70] Glass A, Springer A, Strube C. A 15-year monitoring of Rickettsiales (*Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia* spp.) in questing ticks in the city of Hanover, Germany. *Ticks Tick Borne Dis* 2022; 13: 101975. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2022.101975
- [71] Probst J, Springer A, Strube C. Year-round tick exposure of dogs and cats in Germany and Austria: results from a tick collection study. *Parasit Vectors* 2023; 16: 70. DOI: 10.1186/s13071-023-05693-5