

Open Access

Berl Münch Tierärztl Wochenschr 129,
202–208 (2016)
DOI 10.2376/0005-9366-129-15079

© 2016 Schlütersche
Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG
ISSN 0005-9366

Korrespondenzadresse:
tasat@vetmed.uni-leipzig.de

Eingegangen: 13.07.2015
Angenommen: 24.11.2015

Online first: 23.03.2016
[http://vetline.de/open-access/
158/3216](http://vetline.de/open-access/158/3216)

Zusammenfassung

Summary

U.S. Copyright Clearance Center
Code Statement:
0005-9366/2016/12905-202 \$ 15.00/0

Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES),
Institut für veterinärmedizinische Untersuchungen, Mödling, Österreich¹
Medizinische Tierklinik – Klinik für innere Krankheiten der Pferde,
Wiederkäuer und Schweine der Veterinärmedizinischen Fakultät Leipzig²
Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES),
Fachbereich Integrative Risikobewertung, Daten und Statistik, Graz, Österreich³

Vorkommen von Antikörpern gegen Leptospiren bei Pferden im mitteldeutschen Raum

Occurance of antibodies against Leptospira in horses in Middle Germany

Jutta Pikalo¹, Tatjana Sattler^{1,2}, Michaela Eichinger¹, Angelika Loitsch¹, Hao Sun³,
Friedrich Schmoll¹, Gerald Fritz Schusser²

Ziel dieser explorativen Studie war es, das Vorkommen von Antikörpern und potenzielle Risikofaktoren für eine Infektion mit Leptospiren bei Pferden im mitteldeutschen Raum zu ermitteln. Es wurden 314 Pferdeseren mittels Mikroagglutinationstest auf Antikörper gegen acht Leptospiren-Serovare untersucht. Insgesamt waren 17,2 % (n = 54) der Pferde gegen eines oder mehrere Serovare positiv. Das häufigste Serovar war Icterohaemorrhagiae mit einem Auftreten bei 11,1 % der untersuchten Pferde gefolgt von Bratislava (9,6 %) und Grippotyphosa (1,9 %). Stuten wiesen signifikant häufiger Antikörper (p < 0,05) auf als Hengste oder Wallache. In der Zucht gibt es signifikant weniger positive Tiere (p < 0,05) als bei der Verwendung im Sport oder in der Freizeit. Zudem war der Nachweis von Antikörpern im Sommer signifikant häufiger (p < 0,05) als in den anderen Jahreszeiten. Die Haltung, die Rasse und das Alter hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Vorkommenshäufigkeit von Antikörpern. (p > 0,05). Die klinisch-chemischen Parameter von Pferden mit positivem Leptospiren-Antikörper-Befund unterschieden sich nicht signifikant von Pferden mit negativem Befund (p > 0,05).

Schlüsselwörter: Leptospirose, Seroprävalenz, Risikofaktoren, Mitteldeutschland

Aim of the study was to detect antibodies and potential risk factors for an infection with *Leptospira* in horses in Middle Germany. Serum samples of 314 horses were examined retrospectively by microscopic agglutination test for the presence of antibodies against eight *Leptospira* serovars. In total, 17.2% (n = 54) of the horses were positive for one or more of the serovars analyzed. The most prevalent serovar was Icterohaemorrhagiae (11.1%), followed by serovar Bratislava (9.6 %) and Grippotyphosa (1.9%). Mares showed a significantly higher occurrence of antibodies (p < 0.05) than geldings or stallions. Horses used for breeding have a significantly lower risk than horses used in sport or horses used for leisure activity. There was also a significantly higher prevalence (p < 0.05) in summer than in the other seasons. No significant influence of breed, husbandry conditions and age on the antibody occurrence was observed (p > 0.05). The clinical chemical parameters did not differ significantly between horses with positive or negative *Leptospira* antibody result (p > 0.05). It became apparent that horses can be infected with *Leptospira* without developing of clinical symptoms.

Keywords: Leptospirosis, seroprevalence, risk factors, Middle Germany

Einleitung

Die Leptospirose ist eine durch pathogene *Leptospira* spp. verursachte zoonotische Infektionskrankheit, die weltweit vorkommt (Blatti et al., 2011; Vinetz, 2001).

Leptospiren werden leicht über die Umwelt verbreitet. Neben vielen verschiedenen Tierspezies kann auch der Mensch an Leptospirose erkranken (Cerri et al., 2003). Leptospiren gehören zum Genus *Leptospira*, zur Familie der Leptospiraceae, zur Ordnung der Spirochaetales

und zur Klasse der Spirochaetes. Die pathogene Spezies *L. interrogans* sensu lato besteht aus mindestens acht pathogenen Leptospiren-Arten, besitzt ca. 230 Serovare, welche wiederum in 25 Serogruppen unterteilt werden (www.pasteur.fr, 2015; Jansen et al., 2005; Vinetz, 2001). Prinzipiell kann jede Tierart von jedem Leptospiren-Serovar infiziert werden. Aufgrund der Adaption einzelner Serovare werden Tierarten in Hauptwirte und Nebenwirte unterteilt (Cerri et al., 2003; Adler und de la Pena Moctezuma, 2010).

Ratten sind Hauptwirte für Erreger der Serogruppen Icterohaemorrhagiae und Ballum, Mäuse für die Serogruppen Ballum und Grippotyphosa. Andere wirtsspezifische Serovare sind Pomona (Schwein), Hardjo (Rinder) und Canicola (Hunde) (Jansen und Stark, 2006). Laut Adler und de la Pena Moctezuma (2010) sind Pferde Hauptwirte für das Serovar Bratislava.

Bei Pferden gibt es akute, chronische und subklinische Infektionen mit Leptospiren. Klinische Leptospirose wird in Zusammenhang mit rezidivierender Uveitis, Nieren- und Leberdysfunktion, Totgeburten und Aborten gebracht (Blatti et al., 2011; Barwick et al., 1997). Infizierte Pferde können zu Langzeiträgern werden und die Bakterien über den Urin ausscheiden und so wiederum Menschen und Tiere infizieren (Blatti et al., 2011). Daher haben exponierte Menschen wie Tierärzte oder Landwirte ein höheres Risiko an einer autochthonen Leptospirose zu erkranken (Dupouney et al., 2014; Hoengl et al., 2014; Wasinski und Dutkiewicz, 2013).

Geografische Variationen in der Seroprävalenz besonderer Serovare sind bekannt (Adler und de la Pena Moctezuma, 2010; Blatti et al., 2011). Die Kenntnis über die Prävalenz eines Serovars in einer bestimmten Region ist wichtig, um die Epidemiologie besser zu verstehen und das entsprechende Serovar gegebenenfalls in die Routinediagnostik aufzunehmen (Blatti et al., 2011). In Deutschland wurde erstmalig 1987 eine Studie zur Erhebung der bei verschiedenen Haustierarten vorkommenden Leptospiren-Serovare durchgeführt und veröffentlicht. Dabei wurden flächendeckend 0,1 % des Rinderbestandes in sämtlichen Bundesländern sowie Stichproben von Schweinen, Schafen, Ziegen, Pferden und Hunden untersucht. Beim Pferd ergab die Untersuchung, dass das Serovar Grippotyphosa am häufigsten vorkommt. Beim Rind und beim Schaf waren die meisten positiven Befunde durch das Serovar Hardjo bedingt (Schönberg et al., 1987). Von Jansen et al. (2005) wurde eine Studie über die epidemiologischen Trends der humanen Leptospirose in den letzten 41 Jahren in Deutschland veröffentlicht. Das am häufigsten identifizierte Serovar Icterohaemorrhagiae hatte die höchste Inzidenz in den östlichen Teilen Deutschlands. Laut Robert Koch-Institut (2015) und Bundesinstitut für Risikobewertung (2015) ist die Zahl der Fälle von humaner Leptospirose in Deutschland in den letzten Jahren gestiegen. Im Jahr 2014 wurden 160 humane Erkrankungen verzeichnet. Mehr als die Hälfte der humanen Fälle wurde zwischen Juli und Oktober ermittelt. Das am häufigsten nachgewiesene Serovar war Icterohaemorrhagiae.

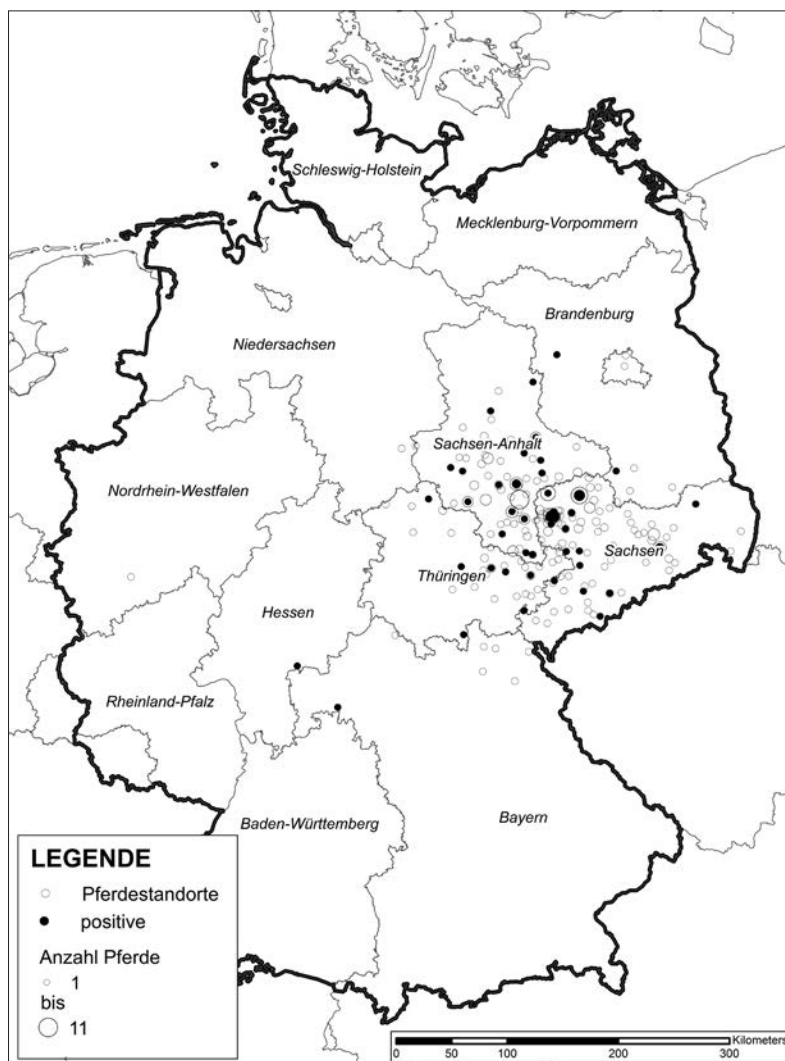


ABBILDUNG 1: Karte von Deutschland mit den Standorten der untersuchten Pferde (Leptospiren-seropositive Tiere in schwarz). Kartenerstellung mittels Geografiesystem (GIS) ESRI® ArcGISTM 10.2. Quelle: AGES, Abteilung Datenmanagement

Ziel unserer explorativen Studie war es, das Vorkommen von Leptospiren-Antikörpern bei einer Auswahl von Pferden aus dem mitteldeutschen Raum, die aus dem Patientengut der Medizinischen Tierklinik Leipzig stammen, zu bestimmen und potenzielle Risikofaktoren zu ermitteln.

Material und Methode

Tiere und Proben

Es wurden 314 Seren von Pferden, welche in der Medizinischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig stationär aufgenommen und aufgrund unterschiedlichster Diagnosen behandelt wurden, untersucht. Die Tiere stammten aus den Regionen Sachsen, Sachsen-Anhalt und Thüringen, sowie vereinzelt aus anderen Bundesländern Deutschlands (Abb. 1). Die Tiere wurden nach der Grunderkrankung in sieben Gruppen wie folgt eingeteilt: i) Begleittier, ii) ohne Angaben, iii) orthopädische Erkrankungen, iv) Stoffwechselerkrankungen, v) gastrointestinale Erkrankungen, vi) Infektionen wie Druse etc. und vii) Sonstige wie Herz-Kreislaufprobleme, zentralnervöse Erkrankungen und ophthalmologische Erkrankungen (Tab. 3).

Das Alter der Pferde lag zwischen einem Monat und 34 Jahren. Die Pferde wurden nach Alter in vier Gruppen unterteilt: unter einem Jahr, ein bis drei Jahre, vier bis zehn Jahre und älter als zehn Jahre. Die Haltungsformen wurden in Robusthaltung, konventionelle Haltung mit Koppel/Paddock und reine Boxenhaltung unterteilt. Bei der Verwendung der Pferde wurde die Einteilung in Freizeit, Zucht und Sport gewählt. Die Pferde wurden nach dem Zeitpunkt der Blutabnahme den Jahreszeiten entsprechend in vier Gruppen unterteilt: Winter: Dezember bis Februar, Frühling: März bis Mai, Sommer: Juni bis August und Herbst: September bis November. Die untersuchten Risikofaktoren sowie die Anzahl der Pferde in den einzelnen Gruppen sind in Tabelle 3 aufgelistet. Die Seren wurden über einen Zeitraum von Mai 2012 bis November 2013 gesammelt und bis zur Analyse bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert.

Mikroagglutinationstest (MAT)

Alle Seren wurden mithilfe des MAT, welcher laut Office International des Epizooties (OIE) als am weitesten verbreitete Methode in der serologischen Leptospiren-diagnostik gilt, getestet. Der Test wurde nach Vorgabe des Standard-Protokolls von 2008 der OIE (Langsamagglutination) durchgeführt. Von Schlichting et al. (2015) wurde für den MAT eine Sensitivität von 65,6 % (95 % Konfidenzintervall 58,7 %; 72,1 %) und eine Spezifität von 97,7 % (96,5 %; 98,6 %) ermittelt.

Lebendkulturen von acht Leptospiren-Serovaren wurden als Antigen verwendet. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die verwendeten Leptospiren-Serovar-Referenzstämme. Die Kulturen wurden fünf bis sechs Tage im Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH)-Medium (Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA) bis zu einem Trübungsstandard von 0,5–1 Mc Farland gezogen. Die Trübung entspricht einer Leptospiren Dichte von $1,5\text{--}2 \times 10^8$ Leptospiren pro Milliliter. Bei allen Proben erfolgte zuerst ein Screening gegen Antikörper der acht Serovare mit einer Verdünnung von 1:50. Die Beurteilung erfolgte mikroskopisch im Dunkelfeld. Jede Serumprobe, die, verglichen mit der Positiv- und Negativ-Kontrolle, eine Agglutination von 50 % oder mehr ergab, wurde weiter für die quantitative MAT mit Verdünnungen von 1:50 bis 1:6400 verwendet. Die höchste Verdünnung, bei der 50 % Agglutination beobachtet wurden, entspricht dem Antikörper-Titer gegen das jeweilige Serovar. Titer $\geq 1:400$ wurden als positiv beurteilt.

Klinisch-chemische Parameter

Die Aspartat-Aminotransferase (AST) wurde mittels einer optimierten Standardmethode nach den Empfehlungen der International Federation of Clinical Chemi-

stry (IFCC) bestimmt. Die Alkalische Phosphatase (AP) sowie die Gamma-Glutamyltransferase (GGT) wurden mittels enzymatischem Farbttest, optimiert nach den Empfehlungen der IFCC gemessen. Die Bestimmung der klinisch-chemischen Parameter erfolgte am Analyseautomaten Cobac C311 (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland).

Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Microsoft Office Excel Version 2010. Für das Vorkommen von Antikörper gegen die einzelnen Serovare und die insgesamt ermittelten Häufigkeiten von Leptospiren-Antikörpern bezogen auf die verschiedenen Risikofaktoren wurde ein 95 % Konfidenzintervall (95 % KI) nach Clopper-Pearson berechnet. Der Chi-Quadrat Test nach Preacher wurde zur Ermittlung eines Zusammenhangs zwischen seropositiven Tieren und einem potenziellen Risikofaktor herangezogen. Bei signifikantem Zusammenhang wurde zusätzlich die Odds ratio im Bezug zur Referenzkategorie errechnet. Um den kombinierten Einfluss der Risikofaktoren auf das Auftreten von Leptospiren-Antikörper zu analysieren, wurde ein logistisches Regressionsmodell angepasst. Dabei wurden die signifikanten Parameter des Chi-Quadrat Tests (Geschlecht und Jahreszeit) auf einen signifikanten Zusammenhang anhand einer forward selection untersucht. Werte mit $p < 0,05$ wurden als statistisch signifikant bewertet.

Ergebnisse

Vorkommen von Antikörpern

Von 314 getesteten Pferden wiesen 54 Leptospiren-Antikörpertiter auf. Das entspricht einer Vorkommenshäufigkeit von 17,2 %. Von den positiv getesteten Pferden ($n = 54$) waren bei 35 Tieren (64,8 %) Antikörper gegen nur ein Serovar nachweisbar. Die restlichen 35,2 % ($n = 19$) hatten Antikörper gegen mindestens zwei oder mehr Serovare.

Bei den Pferden, die Antikörper gegen nur ein Serovar hatten, war das am meisten vorkommende Serovar Icterohaemorrhagiae, welches bei 18 Tieren zu finden war, gefolgt von Bratislava bei 13 Pferden und Grippotyphosa bei zwei Pferden. Antikörper gegen die Serovare Hebdomadis und Hardjo konnten jeweils bei einem Tier nachgewiesen werden. Bei keinem Tier konnten Antikörper gegen die Serovare Sejroe und Autumnalis festgestellt werden.

Bei den Pferden mit Antikörpern gegen zwei oder mehrere Serovare war die Kombination Icterohaemorrhagiae und Bratislava bei zwölf Tieren zu finden. Die Kombinationen Icterohaemorrhagiae und Hardjo, Icterohaemorrhagiae und Grippotyphosa sowie Bratislava und Grippotyphosa kamen bei je einem Tier vor. Bei vier Pferden waren Antikörper gegen mehr als zwei Serovare zu finden. Das erste dieser Pferde wies Antikörper gegen die Serovare Bratislava, Hardjo und Icterohaemorrhagiae auf. Das zweite Pferd hatte positive Titer gegen die Serovare Bratislava, Grippotyphosa und Hardjo. Beim dritten Pferd wurden Antikörper gegen die Serovare Bratislava, Grippotyphosa und Icterohaemorrhagiae festgestellt. Das vierte Pferd wies Antikörper gegen die Serovare Bratislava, Canicola, Hardjo und Icterohaemorrhagiae auf. Der

TABELLE 1: Im Mikroagglutinationstest verwendete Leptospiren-Referenzstämme. Alle Referenzstämme stammen vom Nationalen Veterinärservice Labor in Ames, Iowa, USA

Leptospira Spezies	Serogruppe	Serovar	Stamm
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	Ictero 1
	Autumnalis	Autumnalis	Akiyami A
	Australis	Bratislava	Jez-Bratislava
	Canicola	Canicola	Hond Utrecht IV
	Hebdomadis	Hebdomadis	Hebdomadis
<i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa	Moskva V
<i>L. borgpetersenii</i>	Sejroe	Hardjo	T20
	Sejroe	Sejroe	M84

höchste gemessene Titer betrug 1:1600 und war gegen das Serovar Bratislava gerichtet.

In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der einzelnen Serovare (Einzel- und Mischtitel) und deren Vorkommen dargestellt. Daraus ergibt sich, dass Antikörper gegen das Serovar Icterohaemorrhagiae am häufigsten vorkommen, gefolgt von Antikörpern gegen das Serovar Bratislava.

Risikofaktoren

Das Vorkommen von Leptospiren-Antikörpern bei Pferden aus dem mitteldeutschen Raum in Bezug auf potenzielle Risikofaktoren ist in Tabelle 3 dargestellt. Bei dem Risikofaktor Geschlecht gab es signifikante Unterschiede im Auftreten von Antikörpern. Stuten wiesen im Vergleich zu Hengsten und Wallachen signifikant häufiger Antikörper auf ($p < 0,05$). Das Risiko, dass Stuten mit Leptospiren in Kontakt kommen und entsprechende Antikörper ausbilden ist laut Odds ratio 2,7-fach (95 % Konfidenzintervall 1,4-fach bis 5,6-fach) höher als bei männlichen Tieren. Es gab keinen signifikanten Unterschied in der Prävalenz zwischen Hengsten und Wallachen ($p > 0,05$).

Der Vergleich der unterschiedlichen Altersgruppen ergab keinen signifikanten Unterschied ($p > 0,05$), jedoch zeigte keines der 19 getesteten Pferde unter einem Jahr Antikörper. Zwischen den Rassen wurde kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$) in der Nachweishäufigkeit von Antikörpern beobachtet. Ebenso gab es zwischen den Haltungsformen keinen signifikanten Unterschied ($p > 0,05$). Zur Zucht genutzte Tiere wiesen eine signifikant ($p < 0,05$) niedrigere Seroprävalenz im Vergleich zu den anderen Nutzungsrichtungen auf.

In den Sommermonaten wurden prozentual signifikant ($p < 0,05$) mehr Pferde mit Leptospiren-Antikörpern festgestellt als in den anderen Jahreszeiten. Gemäß Odds ratio ist das Risiko, dass Pferde mit Leptospiren in Kontakt kommen und entsprechende Antikörper ausbilden im Sommer 4,4-fach (95 % Konfidenzintervall 1,9-fach bis 10,5-fach) höher als im Frühling. Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen Frühling und Herbst oder Winter gefunden.

In Bezug auf die klinisch-chemischen Blutparameter Alkalische Phosphatase, Aspartat-Aminotransferase und Gamma-Glutamyltransferase sowie in Bezug auf die Grunderkrankung der untersuchten Pferde ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Antikörperpositiven und negativen Pferden ($p > 0,05$).

Regressionsmodell

Als signifikante Einflussfaktoren auf das Auftreten von Leptospiren-Antikörper ($p < 0,05$) konnten die Jahreszeit und das Geschlecht identifiziert werden. Mithilfe des logistischen Regressionsmodells konnte der Sommer als signifikanter ($p < 0,05$) Risikofaktor ermittelt werden. Die Tabelle 4 stellt die Wahrscheinlichkeit dar, mit der sich die Pferde in den einzelnen Risikogruppen mit Leptospiren infizieren und Antikörper bilden. Es wurde kein signifikanter Unterschied im Auftreten von Antikörpern zwischen Frühling und Herbst bzw. Winter gefunden.

Diskussion

In dieser Studie wurde das Vorkommen von Antikörpern gegen acht Leptospiren-Serovare bei Pferden im

TABELLE 2: Prävalenz von Antikörpern gegen acht verschiedene Leptospiren Serovare bei 314 Pferden im mitteldeutschen Raum

Serovar	Anzahl positive Proben	Prozent positiver Proben	Seroprävalenz in % bezogen auf 314 Pferde
Icterohaemorrhagiae	35	64,8	11,1
Bratislava	30	55,6	9,6
Grippotyphosa	6	11,1	1,9
Hardjo	5	9,3	1,6
Canicola	1	1,9	0,3
Hebdomadis	1	1,9	0,3
Sejroe	0	0	0
Autumnalis	0	0	0

TABELLE 3: Auftreten von Leptospiren-Antikörpern bei 314 Pferden in Mitteldeutschland in Bezug zu potenziellen Risikofaktoren

Potenzielle Risikofaktoren	Getestet	Davon positiv	Seroprävalenz %	95 % KI
Geschlecht				
Stute	164	37	22,6	[16,4; 29,7]
Wallach	107	15	14,0	[8,1; 22,1]
Hengst	42	2	4,8	[0,6; 16,2]
Ohne Angabe	1	0	0	[0,0; 95,0]
Alter				
< 1 Jahr	19	0	0	[0,0; 14,6]
1–3 Jahre	40	6	15,0	[5,7; 29,8]
4–10 Jahre	120	21	17,5	[11,2; 25,5]
> 10 Jahre	128	26	20,3	[13,7; 28,3]
Ohne Angabe	7	1	14,3	[0,4; 57,9]
Jahreszeit				
Winter (Dez. bis Feb.)	52	6	11,5	[4,4; 23,4]
Frühling (März bis Mai)	92	12	13,0	[6,9; 21,7]
Sommer (Juni bis Aug.)	71	26	36,6	[25,5; 48,9]
Herbst (Sept. bis Nov.)	99	10	10,1	[5,0; 17,8]
Verwendung				
Freizeit	153	32	20,9	[14,8; 28,2]
Zucht/Aufzucht	67	5	7,5	[2,5; 16,6]
Sport	68	15	22,1	[12,9; 33,8]
Sonstige	6	0	0,0	[0,0; 39,3]
Ohne Angabe	20	2	10,0	[1,2; 31,7]
Haltung				
Robust	71	9	12,7	[6,0; 22,7]
Konventionell	189	37	19,6	[14,2; 26,0]
Nur Box	26	5	19,2	[6,6; 39,4]
Ohne Angabe	28	3	10,7	[2,3; 28,2]
Rasse				
Pony	59	8	13,6	[6,0; 25,0]
Warmblut	169	37	21,9	[15,9; 28,9]
Kaltblut	41	6	14,6	[5,6; 29,2]
Vollblut	32	3	9,4	[2,0; 25,0]
Sonstige	12	0	0,0	[0,0; 22,1]
Ohne Angabe	1	0	0,0	[0,0; 95,0]
Erkrankung				
Begleitier	5	1	20,0	[0,5; 71,6]
Ohne Angabe	5	0	0,0	[0,0; 45,1]
Orthopädisch	14	5	35,7	[12,8; 64,9]
Stoffwechsel	15	2	13,3	[1,7; 40,5]
Infektion	43	11	25,6	[13,5; 41,2]
Gastrointestinal	175	25	14,3	[9,5; 20,4]
Sonstige	57	10	17,5	[8,8; 29,9]

95 % KI: 95 % Konfidenzintervall

mitteldeutschen Raum untersucht und potenzielle Risikofaktoren für deren Auftreten ermittelt. Es muss dabei allerdings berücksichtigt werden, dass die Proben keine zufällig ausgewählte Stichprobe der Gesamtpopulation

TABELLE 4: *Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Leptospiren-Antikörpern bei Pferden in Bezug zu Jahreszeit und Geschlecht (Ergebnisse der logistischen Regression)*

	Jahreszeit	Weiblich	Männlich
Wahrscheinlichkeit (%)	Frühling	18,6	7,9
95 % Konfidenzintervall		[8,5; 28,7]	[1,8; 13,9]
Wahrscheinlichkeit (%)	Sommer	49,9	27,1
95 % Konfidenzintervall		[34,1; 65,7]	[14,8; 39,4]
Wahrscheinlichkeit (%)	Herbst	14,0	5,7
95 % Konfidenzintervall		[5,4; 22,7]	[1,0; 10,5]
Wahrscheinlichkeit (%)	Winter	17,7	7,4
95 % Konfidenzintervall		[4,8; 30,6]	[0,5; 14,4]

darstellen, da es sich um eine retrospektive Studie handelt. Da es keinen zugelassenen Impfstoff für Pferde gegen Leptospiren gibt, sind keine mit der Impfung assoziierten Antikörpertiter zu erwarten.

In unserer Studie ließen sich im mitteldeutschen Raum keine lokalen Unterschiede im Vorkommen von Leptospiren-Antikörpern bei Pferden darstellen. Das lässt sich dadurch erklären, dass es sich um eine klimatisch und geografisch einheitliche Region handelt, in der daher auch das Infektionsrisiko gleichmäßig verteilt ist. Dies deckt sich auch mit den Angaben aus der Studie von Wangdi et al. (2013), in der in Nord-Queensland (Australien) kein Unterschied zwischen den zwei untersuchten Regionen gefunden wurde.

In der vorliegenden Studie waren 17,2 % der Pferde seropositiv gegen ein oder mehrere Leptospiren Serovare. Diese Zahl deckte sich mit den Ergebnissen einer Studie aus der Schweiz, bei der 20,3 % der untersuchten Pferde Leptospiren-Antikörper mit Titern über 1:400 hatten (Blatti et al., 2011). In einer italienischen Studie betrug die Seroprävalenz bei 938 untersuchten Pferden 11,4 % (Cerri et al., 2003). In einigen Studien wurden bereits Titer von 1:100 als positiv bewertet, wodurch sich eine höhere Seroprävalenz im Vergleich zu Studien, in denen Titer erst ab 1:400 als positiv gewertet werden, ergibt (Hathaway et al., 1981; Ellis et al., 1983; Blatti et al., 2011; Wangdi et al., 2013). So wurde in England bei 500 untersuchten Pferden eine Seroprävalenz von 36,6 % ermittelt (Hathaway et al., 1981). In Nord-Irland wurden 650 Blutproben von Stuten auf Leptospiren-Antikörper untersucht. Die Seroprävalenz der Pferde lag bei 72,2 %, wobei in dieser Studie bereits Titer von 1:100 als positiv gewertet wurden (Ellis et al., 1983). In der Schweiz ergibt sich eine Seroprävalenz von 58,5 % bei 615 getesteten Pferden, wobei auch hier mit einem Grenztiter von 1:100 gerechnet wurde (Blatti et al., 2011). Wangdi et al. (2013) untersuchten 429 Pferde in Northern Queensland, Australien, und wiesen bei 35 % der Tiere Antikörper nach, bei einem Grenztiter von 1:100. Da nicht in allen Ländern vom gleichen Grenztiter bei der Bewertung ausgegangen wird, ist ein Vergleich zwischen den unterschiedlichen Studien schwierig. Hinzu kommt, dass aufgrund des unterschiedlichen geografischen Vorkommens von Leptospiren unterschiedliche Serovare im MAT zum Einsatz kommen.

Gegen sechs der acht in dieser Studie eingesetzten Leptospiren-Serovare konnten Antikörper bei den untersuchten Pferden festgestellt werden. Im mitteldeutschen Raum ist bei den hier untersuchten Pferden das Serovar Icterohaemorrhagiae mit 64,8 % vorherrschend, gefolgt von Bratislava mit 55,6 %. Da Ratten die Hauptwirte des Serovars Icterohaemorrhagiae sind, könnten diese bei

der Übertragung eine Rolle spielen (Faine et al., 1999). Bei den Fällen von humaner Leptospirose in Deutschland ist ebenfalls das Serovar Icterohaemorrhagiae vorherrschend (RKI, 2015; BfR, 2015). Um das Infektionsrisiko bei Menschen zu reduzieren sollten folgende Präventivmaßnahmen gezielt umgesetzt werden: i) die Reduktion von bestimmten tierischen Reservoir-Populationen, z. B. Ratten, ii) Vermeidung von Kontakt mit Tierurin, iii) Vermeidung von Kontakt mit infizierter Umgebung, ggf. Anlegen von Schutzkleidung und Schutzhandschuhen (WHO, 2003). Da es sich bei der vorliegenden Studie um eine retrospektive Analyse handelt, konnte nicht untersucht werden, ob die Antikörper-positiven Pferde Leptospiren-Ausscheider waren.

In einer großangelegten Studie der Bundesrepublik Deutschland von 1984 ergab sich eine Seroprävalenz von 4,5 % bei 2002 untersuchten Pferden bei einem Grenztiter von $\geq 1:400$ (Schönberg et al., 1987). Somit scheint das Vorkommen von Antikörpern gegen Leptospiren in den letzten Jahren in Deutschland gestiegen zu sein. Dies deckt sich auch mit den Fallzahlen in der Humanmedizin in Deutschland (RKI, 2015; BfR, 2015). Ob es einen Zusammenhang zwischen dem Anstieg der Seroprävalenz in der Humanmedizin und bei Pferden gibt, konnte zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht geklärt werden. 1987 zeigten Schönberg und Kollegen, dass das Serovar Grippotyphosa die höchste Zahl an Antikörperreaktionen beim Pferd hervorrief. In unserer Studie dagegen wurden Antikörper gegen das Serovar Icterohaemorrhagiae gefolgt von Bratislava am häufigsten nachgewiesen. Das Serovar Grippotyphosa ist nur an dritter Stelle zu finden. In Alberta (Lees und Gale, 1994) und Londrina, Brasilien (Hashimoto et al., 2007) wurden, wie in unserer Studie, am häufigsten Antikörper gegen das Serovar Icterohaemorrhagiae gefunden. Das Serovar Bratislava tritt in England (Hathaway et al., 1981), Nordirland (Ellis et al., 1983), Irland (Egan und Yearsley, 1986), Ontario (Kitson-Piggot und Prescott, 1987), Ohio (Park et al., 1992), Italien (Cerri et al., 2003) und Schweden (Baverud et al., 2009) bei Pferden am häufigsten auf. In Deutschland (Schönberg et al.) war 1987 das Serovar Grippotyphosa ebenso wie in Polen (Arent und Kedzierska-Mieszkowska, 2013) vorherrschend. In der Schweiz fanden sich am häufigsten Antikörper gegen das Serovar Pyrogenes (Blatti et al., 2011). Jung et al. (2010) fanden, dass in Korea das Serovar Sejroe in der Pferdepopulation am häufigsten vertreten war.

In der vorliegenden Studie gab es keinen signifikanten Unterschied in der Seroprävalenz zwischen den Altersgruppen. Dies deckt sich mit Studien von Jung et al. (2010) und Wangdi et al. (2013). Im Gegensatz dazu beschreiben Studien von Kitson-Piggot und Prescott (1987), Park et al. (1992), Lees und Gale (1994), Baverud et al. (2009) und Blatti et al. (2011) einen signifikanten Anstieg der Seroprävalenz mit dem Alter. Dies erklären die Autoren damit, dass die Wahrscheinlichkeit, mit Leptospiren in Kontakt zu kommen, im Laufe des Lebens steigt.

Da eine Infektion mit Leptospiren bei Pferden selten klinische Symptome hervorruft (Hathaway et al., 1981), ist es möglich, dass sich die Tiere mit Leptospiren aus der Umwelt oder durch den Urin anderer Tiere infizieren, dies jedoch unbemerkt bleibt (Blatti et al., 2011). Die Antikörper können über Jahre oder ein Leben lang persistieren (Levett, 2001; Terpstra, 2003). In einer akuten Phase sind die Antikörpertiter wesentlich höher

und vom Vorkommen von IgM geprägt. Eine Aussage über das Stadium der Infektion der Pferde in der vorliegenden Studie war nicht möglich, da nicht zwischen IgM- und IgG-Antikörpern unterschieden wurde.

In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass in den Sommermonaten gewonnene Proben häufiger Antikörper aufwiesen als Proben, welche in den übrigen Jahreszeiten genommen wurden. Das bestätigen auch Studien von Blatti et al. (2011) in der Schweiz sowie Jung et al. (2010) in Korea. Baverud et al. (2009) in Schweden beschreiben eine höhere Seroprävalenz in den Monaten April bis Juni und Oktober bis Dezember. Leptospiren können bei mildem und feuchtem Klima über lange Zeit in der Umwelt und im Wasser überleben (Verma et al., 2013).

Stuten wiesen in der vorliegenden Studie eine höhere Seroprävalenz als Hengste oder Wallache auf. Dies deckt sich auch mit der Studie von Blatti et al. (2011) und Baverud et al. (2009). Wangdi et al. (2013) hingegen berichten, dass im Norden von Queensland Wallache eine höhere Seroprävalenz als Stuten zeigen. In einer Studie von Jung et al. (2010) war kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Geschlechtern zu erkennen. Park et al. (1992) schreiben, dass Stuten in der Altersklasse acht bis elf Jahre mit 52,6 % die höchste Seroprävalenz aufweisen. Wie das Geschlecht die Seroprävalenz beeinflusst und warum Stuten häufiger betroffen sind, konnte bisher nicht erklärt werden.

Baverud et al. (2009) berichten in ihrer Studie von einer höheren Leptospiren-Seroprävalenz bei Stuten, die Zugang zu einem Paddock hatten. Pferde, welche mehr als zwölf Stunden pro Tag auf der Koppel waren, wiesen eine signifikant höhere Seroprävalenz auf als Pferde, die nur vier Stunden Zugang zur Koppel hatten (Blatti et al., 2011). In der vorliegenden Studie konnte kein signifikanter Einfluss der Haltung auf die Seroprävalenz festgestellt werden. Einerseits kommen Leptospiren in der Umwelt vor, andererseits können sie auch über Nagetiere wie Mäuse und Ratten übertragen werden (Jansen und Stark, 2006). Daher ist eine Infektion auch bei reiner Boxenhaltung möglich.

In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass es in der Zucht bzw. Aufzucht signifikant weniger Leptospiren-Antikörper-positive Pferde gibt als im Bereich Sport und Freizeit. Über einen Zusammenhang zwischen der Vorkommenshäufigkeit von Leptospiren-Antikörpern bei Pferden und deren Verwendung gibt es nicht viele Studien. Lees und Gale (1994) berichten, dass Pferde, welche für das Rodeo verwendet wurden, eine dreifach höhere Seroprävalenz aufwiesen als Pferde, die nicht im Rodeo eingesetzt wurden. Die Autoren erklären dies damit, dass die Pferde, welche im Rodeo starten, in Gruppen gehalten werden und damit das Risiko einer Infektion steigt. Dies hängt wiederum mit der Haltung und nicht mit der Verwendung zusammen. Baverud et al. fanden 2009 heraus, dass Freizeitpferde häufiger Titer gegen das Serovar Bratislava aufwiesen als Rennpferde. Um eine Aussage über die Verwendung als Risikofaktor zu treffen bedarf es noch weiterer Studien.

Die Rasse hatte in dieser Studie keinen signifikanten Einfluss auf die Seroprävalenz. Dies deckt sich mit den Ergebnissen aus Studien von Wangdi et al. (2013) und Park et al. (1992). Blatti et al. (2011) berichten von einer signifikant höheren Seroprävalenz bei Ponys gegenüber anderen Pferden. Baverud et al. (2009), beschreiben, dass Ponys und Kaltblutpferde im Vergleich zu anderen Ras-

sen eine niedrige Odds ratio und damit ein geringeres Risiko für die Seropositivität gegen das Serovar Ictero-haemorrhagiae besitzen. Die Seroprävalenz bei Ponys in Korea war in einer Studie von Jung et al. (2010) im Vergleich zu Vollblütern signifikant höher. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass Ponys oder Kaltblutpferde eher robust gehalten werden, wohingegen Vollblutpferde oftmals eine individuellere Betreuung erhalten.

Die Grunderkrankung spielte in der vorliegenden Studie als Risikofaktor bei der Seroprävalenz keine Rolle, da kein Zusammenhang zwischen einem positiven Titer und einer Erkrankung festgestellt werden konnte. Ein Pferd mit Equiner rezidivierender Uveitis als mögliches Symptom einer Leptospireninfektion wies keine Antikörper gegen Leptospiren auf. Baverud et al. (2009) berichten, dass gesunde Pferde niedrigere Leptospiren-Antikörpertiter als kranke haben. Die Autoren begründen dies damit, dass das Immunsystem bei kranken Tieren bereits sensibilisiert ist und dadurch die Leptospiren eine stärkere Immunreaktion hervorrufen. Bei gesunden Pferden verläuft eine Infektion mit Leptospiren oft subklinisch. Dadurch ist der Antikörpertiter niedriger. In der vorliegenden Studie konnte auch bei den Pferden mit hohem Antikörpertiter kein Zusammenhang zur Grunderkrankung festgestellt werden. Hamond et al. (2012) stellten fest, dass eine subklinische Infektion mit Leptospiren einen negativen Einfluss auf die Rennleistung hat.

Eine klinische Leptospirose mit Cholangitis und Ikterus kann bei Fohlen auftreten, bei gesunden adulten Pferden kommt diese Form sehr selten vor. Meist läuft eine Infektion mit Leptospiren subklinisch ab (Verma et al., 2013). Yan et al. (2010) berichten von einer milden Anämie bei einer experimentellen Infektion von Pferden mit Leptospiren in der akuten klinischen Phase. In der Studie von Yan et al. (2010) blieben die restlichen Blutwerte und biochemischen Blutparameter unverändert. Die in der vorliegenden Studie untersuchten klinisch-chemischen Blutparameter standen in keinem erkennbaren Zusammenhang mit der Prävalenz von Leptospiren-Antikörpern.

Schlussfolgerungen

Die Leptospirose ist eine durch pathogene *Leptospira* spp. verursachte zoonotische Infektionskrankheit, die weltweit vorkommt. Durch die vorliegende Studie konnte eine erste Einschätzung über die Vorkommenshäufigkeit von Antikörpern gegen Leptospiren bei Pferden in Mitteleuropa getroffen werden, wobei die häufigsten positiven Befunde bei Stuten in den Sommermonaten gefunden wurden. Um eine genaue Aussage über die tatsächliche Seroprävalenz treffen zu können, sollten gezielt Studien nach Stichprobenplan und mit repräsentativer Stichprobengröße durchgeführt werden.

Danksagung

Die Autoren danken den Mitarbeiterinnen der Abteilung Serologie des Institutes für veterinärmedizinische Untersuchungen Mödling, besonders Frau Maria Müller und Frau Isabel Hentschel, für die technische Unterstützung. Des Weiteren danken die Autoren Herrn Michael Schwarz aus der Abteilung Datenmanagement der AGES Spargelfeld für die Erstellung der GIS-Karte.

Conflict of interest

Es bestehen keine geschützten, finanziellen, beruflichen oder andere persönliche Interessen an einem Produkt und/oder einer Firma, welche die in der vorliegenden Arbeit dargestellten Inhalte oder Meinungen beeinflussen könnten.

Literatur

- Adler B, de la Pena Moctezuma A (2010):** Leptospira and leptospirosis. *Vet Microbiol* 140: 287–296.
- Arent ZJ, Kedzierska-Mieszkowska S (2013):** Seroprevalence study of leptospirosis in horses in northern Poland. *Vet Rec* 172: 269.
- Barwick RS, Mohammed HO, Mc Donough PL, White ME (1997):** Risk factors associated with the likelihood of leptospiral seropositivity in horses in the state of New York. *Am J Vet Res* 58: 1097–1103.
- Baverud V, Gunnarsson A, Olsson Engvall E, Franzén P, Egenvall A (2009):** Leptospira seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. *Acta Vet Scand* 51: 15.
- Blatti S, Overesch G, Gerber V, Frey J, Hüsey D (2011):** Seroprevalence of *Leptospira* spp. in clinically healthy horses in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilk* 153: 449–456.
- Bundesinstitut für Risikobewertung (2015):** Mitteilung Nr. 040/2014 des BfR und des RKI vom 28. Oktober 2014. <http://www.bfr.bund.de/cm/343/leptospirose-eine-seltene-aber-immer-haeufiger-auftretende-erkrankung.pdf>
- Cerri D, Ebani V, Fratini F, Pinzauti P, Andreani E (2003):** Epidemiology of Leptospirosis: observations on serological data obtained by a “diagnostic laboratory for leptospirosis” from 1995 to 2001. *New Microbiol* 26: 383–389.
- Dupouey J, Faucher B, Edouard S, Richet H, Kodjo A, Drancourt M, Davoust B (2014):** Human leptospirosis: An emerging risk in Europe? *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 37: 77–83.
- Egan J, Yearsley D (1986):** A serological survey of leptospiral infection in horses on the Republic of Ireland. *Vet Rec* 119: 306.
- Ellis WA, O'Brien JJ, Cassells JA, Montgomery J (1983):** Leptospiral infection in horses in Northern Ireland: Serological and microbiological findings. *Equine Vet J* 15: 317–320.
- Faine S, Adler B, Bolin C, Perolat P (1999):** Leptospira and leptospirosis. *MediSci*, 2nd Edition, Melbourne Australia.
- Hamond C, Martins G, Lilenbaum W (2012):** Subclinical leptospirosis may impair athletic performance in racing horses. *Trop Anim Health Prod* 44: 1927–1930.
- Hashimoto VY, Goncalves DD, da Silva FG, de Oliveira RC, Alves LA, Eichmann P, Muller EE, Freitas JC (2007):** Occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in horses of the urban area of Londrina, Parana, Brazil. *Rev Inst Med trop S Paulo* 49: 327–330.
- Hathaway SC, Little TWA, Finch SM, Stevens AE (1981):** Leptospiral infection in horses in England: A serological study. *Vet Rec* 108: 396–398.
- Hoenigl M, Wallner C, Allerberger F, Schmolz F, Seeber K, Wagner J, Valentin T, Zollner-Schwetz I, Flick H, Krause R (2014):** Autochthonous leptospirosis in South-East Austria, 2004–2012. *PLoS One* 9: e85974.
- Jansen A, Stark K (2006):** Leptospire. In: Hofmann F (Hrsg) *Handbuch der Infektionskrankheiten*. Band 2, Ecomed Medizin, 17. Ergänzungslieferung (11/06), Landsberg/Lech. Kap. VIII – 1.25, 1–13
- Jansen A, Schöneberg I, Frank C, Alpers K, Schneider T, Stark K (2005):** Leptospirosis in Germany, 1962–2003. *Emerg Infect Dis* 11: 1048–1054.
- Jung BY, Lee KW, Ha TY (2010):** Seroprevalence of *Leptospira* spp. in clinically healthy racing horses in Korea. *J Vet Med Sci* 72: 197–201.
- Kitson-Piggot AW, Prescott JF (1987):** Leptospirosis in horses in Ontario. *Can J Vet Res* 51: 448–451.
- Lees VW, Gale SP (1994):** Titers to *Leptospira* species in horses in Alberta. *Can Vet J* 35: 636–640.
- Levett PN (2001):** Leptospirosis. *Clin Microbiol Rev* 14: 296–326.
- Office International des Epizooties (2008):** Leptospirosis, Manual for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Office Intl Des Epizooties, Paris, Chapter 2.1.9., 251–264.
- Park YG, Gordon JC, Bech-Nielsen S, Slemmons RD (1992):** Factors for seropositivity to leptospirosis in horses. *Prev Vet Med* 49: 121–127.
- Pasteur Institut (2015):** <http://www.pasteur.fr/recherche/Leptospira/Interrogans.html> (letzter Zugriff: 16.09.2015)
- Robert Koch-Institut (2015):** Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2014 (Datenstand: 01.03.2015). http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch_2014.pdf
- Schlichting D, Nöckler K, Bahn P, Luge E, Greiner M, Müller-Graf C, Mayer-Scholl A (2015):** Estimation of the sensitivity and specificity of a *Leptospira* spp. in-house ELISA through Bayesian modelling. *Int J Med Microbiol*. 305: 756–761.
- Schönberg A, Staak Ch, Kämpe U (1987):** Leptospire in der Bundesrepublik Deutschland – Ergebnisse eines Untersuchungsprogrammes auf Leptospire bei Tieren im Jahre 1984. *J Vet Med B* 34: 98–108.
- Terpstra WJ (2003):** World Health Organization WHO, International Leptospirosis Society ILS: Human leptospirosis: Guidance for diagnosis, surveillance and control. 2003.
- Vinetz JM (2001):** Leptospirosis. *Curr Opin Infect Dis* 14: 527–538.
- Verma A, Stevenson B, Adler B (2013):** Leptospirosis in horses. *Vet Microbiol* 167: 61–66.
- Wangdi C, Picard J, Tan R, Condon F, Dowling B, Gummow B (2013):** Equine leptospirosis in tropical Northern Queensland. *Aust Vet J* 91: 190–197.
- Wasinski B, Dutkiewicz J (2013):** Leptospirosis-current risk factors connected with human activity and the environment. *Ann Agric Environ Med* 20: 239–44.
- World Health Organization (WHO) (2003):** Human leptospirosis: guidance for diagnostic, surveillance and control. Malta, 23.
- Yan W, Faisal SM, Divers T, Mc Donough SP, Akey B, Chang YF (2010):** Experimental *Leptospira interrogans* Serovar Kennewick infection of horses. *J Vet Intern Med* 24: 912–917.

Korrespondenzadresse:

Dr. Tatjana Sattler
 Universität Leipzig, Medizinische Tierklinik
 An den Tierkliniken 11
 04103 Leipzig
 tasat@vetmed.uni-leipzig.de