

Untersuchungen zum Vorkommen von Meningoenzephalitis
und *Brucella canis*-Diskospondylitis beim Hund

von Gesine Buhmann

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Untersuchungen zum Vorkommen von Meningoenzephalitis
und *Brucella canis*-Diskospondylitis beim Hund

von Gesine Buhmann

aus Recklinghausen

München 2020

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen
Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Innere Medizin der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Prof. Dr. Andrea Fischer

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Prof. Dr. Andrea Fischer

Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Tag der Promotion: 08. Februar 2020

Für meine Familie und Jonas

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATUR	2
1.	Nicht-infektiöse Meningoenzephalitis beim Hund	2
1.1.	Meningoenzephalitis unbekannter Ursache	2
1.1.1.	Granulomatöse Meningoenzephalitis	7
1.1.2.	Nekrotisierende Meningoenzephalitis	9
1.1.3.	Nekrotisierende Leukoenzephalitis	12
1.2.	Steroid-Responsive Meningitis-Arteriitis	13
1.3.	Idiopathische Eosinophile Meningoenzephalitis	16
1.4.	Meningoenzephalitis der Greyhounds	17
1.5.	Idiopathisches generalisiertes Tremorsyndrom	18
2.	Infektionskrankheiten als Ätiologie einer Meningoenzephalitis beim Hund	19
2.1.	Überblick	19
2.2.	Staupevirus	21
2.3.	FSME-Virus	22
2.4.	Bakterielle Meningoenzephalitiden/Intrakranielles Empyem	25
2.5.	<i>Toxoplasma gondii</i> und <i>Neospora caninum</i>	26
2.6.	<i>Angiostrongylus vasorum</i>	29
3.	Diskospondylitis beim Hund	30
4.	<i>Brucella canis</i>: Vorkommen, Klinik, Diagnostik und Therapie.....	32
III.	ERGEBNISSE	36
1.	Publikationen	36
1.1.	Meningoenzephalitis und Meningitis beim Hund: Retrospektive Analyse einer Klinikpopulation	36
1.2.	Canine brucellosis: Insights into the epidemiologic situation in Europe ...	73
2.	Ergänzende Ergebnisse	101
2.1.	Material und Methoden	101
2.1.1.	Untersuchungen zu Überlebenszeiten bei Meningoenzephalitis	101

2.1.2. Retrospektive Analyse zum Vorkommen von Diskospondylitis an der Medizinischen Kleintierklinik.....	101
2.2. Ergebnisse	102
2.2.1. Meningoenzephalitis	102
2.2.2. Diskospondylitis.....	103
IV. DISKUSSION	108
1. Meningoenzephalitis.....	108
2. Ausblick Meningoenzephalitis	115
3. Diskospondylitis durch <i>Brucella canis</i>.....	116
4. Ausblick <i>Brucella canis</i>	124
V. ZUSAMMENFASSUNG	126
VI. SUMMARY	130
VII. LITERATURVERZEICHNIS	134
VIII. DANKSAGUNGEN	160

Abkürzungsverzeichnis

APP	Akute-Phase-Protein
<i>B. canis</i>	<i>Brucella canis</i>
CDV	canine distemper virus
COP	Cyclophosphamid und Vincristin
CSF	cerebrospinal fluid
CT	Computertomographie
DIC	disseminierte intravasale Koagulopathie
DL	demyelinisierenden Leukoenzephalomyelitis
EIN	eosinophil-induced-neurotoxicity
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EME	Eosinophile Meningoenzephalitis
FLAIR	fluid attenuated inversion recovery
FSME	Frühsommer-Meningoenzephalitis
GFAP	glial fibrillary acidic protein
GME	Granulomatöse Meningoenzephalitis
i. v.	intravenös
IFAT	Immun-Fluoreszenz-Antikörper-Test
Ig	Immunglobulin
IMHA	immunmedierten hämolytischen Anämie
LPS	Lipopolysaccharid
ME/M	Meningoenzephalitis/Meningitis
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
MUO	meningoencephalitis of unknown origin
NE	Nekrotisierende Enzephalitis
NLE	Nekrotisierende Leukoenzephalitis
NMDAR	N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor
PCR	polymerase chain reaction
s. c.	subkutan
SAA	Serum-Amyloid A
SRMA	Steroid-Responsive Meningitis-Arteriitis
TBE	tick-borne encephalitis
ZNS	Zentrales Nervensystem

I. EINLEITUNG

„Anschauung ist das Fundament aller Erkenntnis.“

(Johann Heinrich Pestalozzi, 1746-1827)

In der Neurologie sind Entzündungen des Zentralen Nervensystems (ZNS) beim Hund wie Meningitis, Enzephalitis und Myelitis keine Seltenheit. Als Krankheitsursache unterscheidet man infektiöse von nicht-infektiösen Ursachen. Hunde mit Meningoenzephalitis werden häufig als neurologische Notfälle in der Klinik vorgestellt, die eine schnelle Diagnostik und Einleitung der Therapie benötigen.

Die diagnostischen Schritte zur Aufklärung einer ZNS-Entzündung sind sehr aufwendig und belastend für den betroffenen Hund, gerade hinsichtlich der benötigten Anästhesie. Die nicht-infektiösen Entzündungen sind eine Ausschlussdiagnose und beinhalten in der Regel eine klinische und neurologische Untersuchung, Untersuchungen des Blutes und des Liquor cerebrospinalis sowie die Anwendung eines bildgebenden Verfahrens wie Kernspin- oder Computertomographie.

Die umfassende Diagnostik, die in vielen Fällen lebenslange Therapie sowie die unklare Prognose des erkrankten Hundes sind auch für die Besitzer mit erheblichen psychischen wie auch finanziellen Belastungen verbunden. Hinzukommt, dass nicht selten gerade jüngere Tiere betroffen sind.

Die vorliegende Arbeit soll die Ätiologie und das regionale Vorkommen von Meningoenzephalitis beim Hund untersuchen. Als Grundlage für die Untersuchungen dienten retrospektiv erfasste Patientendaten.

In der Klinik lassen sich Meningitiden schwer von Diskospondylitiden abgrenzen, weshalb ein weiteres Ziel dieser Arbeit ist, das Vorkommen von Diskospondylitis beim Hund zu untersuchen. Hauptaugenmerk liegt hier auf der durch *Brucella canis* (*B. canis*) bedingten Diskospondylitis, da dieses Bakterium aufgrund chronischer Infektionen und des Zoonosepotentials eine besondere Vorgehensweise verlangt. In diesem Zusammenhang soll auch das regionale Vorkommen von *B. canis* und die epidemiologische Situation in Europa untersucht werden.

II. LITERATUR

1. Nicht-infektiöse Meningoenzephalitis beim Hund

1.1. Meningoenzephalitis unbekannter Ursache

Unter dem Begriff Meningoenzephalitis unbekannter Ursache, im Englischen Meningoencephalitis of unknown origin (MUO), versteht man eine idiopathische, nicht-infektiöse Entzündung des Zentralen Nervensystems (COATES & JEFFERY, 2014). Die genaue Pathogenese ist bisher nicht geklärt. Es werden sowohl genetische als auch immunmedierte Prozesse sowie Umweltfaktoren als Grundlage der Entstehung von nicht-infektiösen ZNS-Entzündungen diskutiert (COATES & JEFFERY, 2014; TALARICO & SCHATZBERG, 2010). Sogenannte „Trigger“ wie eine vorangegangene virale Infektion oder eine Vakzination könnten Auslöser einer MUO sein (CHARALAMBOUS et al., 2013; FLEGEL et al., 2011; UCHIDA et al., 2016).

Unter dem Begriff MUO werden verschiedene nicht-infektiöse ZNS-Entzündungen zusammengefasst, die sich histologisch voneinander unterscheiden lassen. Darunter fallen die Granulomatöse Meningoenzephalitis (GME) und die Nekrotisierende Enzephalitis (NE). Bei der NE werden die Nekrotisierende Meningoenzephalitis (NME) und die Nekrotisierende Leukoenzephalitis (NLE) voneinander unterschieden (COATES & JEFFERY, 2014).

Die Steroid-Responsive Meningitis-Arteriitis (SRMA) und die Eosinophile Meningoenzephalitis (EME) sind als Sonderformen der nicht-infektiösen ZNS-Entzündungen zu betrachten, da sie klinisch bzw. anhand des Liquorzellbildes eindeutig von den anderen Entzündungstypen abgrenzbar sind, und fallen somit nicht unter die Bezeichnung MUO (COATES & JEFFERY, 2014).

Die Symptome des an einer MUO erkrankten Hundes hängen von der betroffenen ZNS-Region ab (COATES & JEFFERY, 2014). Häufig gibt die neurologische Untersuchung Hinweise auf multifokale Läsionen, aber auch das alleinige Symptom einer transversalen Myelopathie wie Parese oder Plegie ist möglich (GRANGER et al., 2010). Grundsätzlich kann jede Rasse, auch Mischlinge, jeden Alters an einer MUO erkranken (COATES & JEFFERY, 2014). Allerdings sind

junge bis mittelalte, kleine Hündinnen (6 Monate bis 8 Jahre) häufiger betroffen (GRANGER et al., 2010).

Die Diagnose einer MUO wird mittels einer neurologischen Untersuchung, einem bildgebenden Verfahren (Computertomographie (CT), Magnetresonanztomographie (MRT)), einer Liquoruntersuchung sowie der Ausschlussdiagnostik von Infektionen gestellt (COATES & JEFFERY, 2014; ZARFOSS et al., 2006). Die Differenzierung zwischen infektiöser oder nicht-infektiöser Ätiologie der Entzündung ist die größte Herausforderung, da falsch-positive bzw. falsch-negative Ergebnisse der Untersuchungen auf Infektionskrankheiten möglich sind (COATES & JEFFERY, 2014). Auch die Kernspintomographie alleine zur Diagnosestellung eines entzündlichen Prozesses im ZNS ist nicht immer möglich, da bis zu 24 % der Hunde mit entzündlichem Liquor einen unauffälligen Befund in der Bildgebung haben (LAMB et al., 2005). Differentialdiagnosen für multifokale intrakranielle Läsionen in der Bildgebung sind infektiöse Entzündungen, zerebrovaskuläre Läsionen, ZNS-Lymphosarkome, Gliazelltumoren sowie Metastasen (COATES & JEFFERY, 2014). Die Grenzwerte für einen unauffälligen Liquor sind: 3–5 Leukozyten/mm³ und 0,25–0,30 g/L Proteinkonzentration (BATHEN-NOETHEN et al., 2008a; DEWEY & DA COSTA, 2015; DOYLE & SOLANO-GALLEGO, 2009). Hunde mit einer MUO haben typischerweise eine mononukleäre Pleozytose und eine erhöhte Proteinkonzentration im Liquor, beide Parameter können im Schweregrad deutlich variieren (COATES & JEFFERY, 2014).

Eine definitive Diagnose ist nur mithilfe einer Histopathologie des betroffenen Gewebes möglich (TALARICO & SCHATZBERG, 2010). In einer retrospektiven Analyse von Flegel et al. waren 82 % der entnommenen Hirnproben diagnostisch für eine spezifische Entzündung (FLEGEL et al., 2012), in einer anderen Studie 91 % der Proben (KOBLIK et al., 1999). Sekundärläsionen wie Ödeme oder Nekrosen sowie Probenanzahl können den diagnostischen Erfolg der Biopsien beeinflussen (COATES & JEFFERY, 2014). Die Sterblichkeitsrate durch die Hirnbiospie bei Flegel et al. betrug 6 %, die Morbidität (u.a. Stupor, epileptische Anfälle, Hemi-/Tetraparese) 29 % (FLEGEL et al., 2012).

Grundlage der Therapie einer MUO bildet die Immunsuppression (CORNELIS et al., 2016a). Wenn notwendig, findet begleitend eine symptomatische Therapie wie eine ausreichende Sauerstoffzufuhr, Infusion, antiepileptische und

hirndrucksenkende Therapie statt. Kortikosteroide stellen die Hauptsäule der immunsuppressiven Therapie dar. Häufig werden sie zu Beginn in entzündungshemmender Dosis (z. B. Prednisolon 0,25–0,5 mg/kg/Tag) oral verabreicht, bis alle Untersuchungen auf Infektionserreger negativ getestet sind. Anschließend wird die Dosis für 2–4 Wochen auf eine immunsuppressive Dosis (z. B. Prednisolon 2–4 mg/kg/Tag) erhöht, um dann im 4-Wochen-Rhythmus je nach Klinik kontinuierlich reduziert zu werden (COATES & JEFFERY, 2014). Studien und einzelne Fallberichte zur medianen Überlebenszeit bei Kortikosteroidtherapie als Monotherapie zeigen unterschiedlichste Resultate (GRANGER et al., 2010) und variieren von 27 Tagen (7 Hunde) (FLEGEL et al., 2011) bis 357 Tagen (10 Hunde) (PAKOZDY et al., 2009). Die Therapiedauer und die Dosierungen des Kortikosteroids sind nicht immer bekannt gewesen. Häufig sprechen die Hunde initial gut auf die Kortisontherapie an, Rückfälle sind jedoch häufig (COATES & JEFFERY, 2014). Verschiedene Kombinationstherapien mit anderen immunsuppressiv-wirkenden Medikamenten sind beschrieben (GRANGER et al., 2010).

Leflunomid kontrolliert immunmedierte Erkrankungen. Fünf Hunde, die an einer nicht-eitrigen Enzephalitis/Meningomyelitis erkrankt waren, zeigten eine deutliche Verbesserung im neurologischen Status nach Therapiebeginn mit Leflunomid (GREGORY et al., 1998). Die Patienten wurden mit einer Initialdosis von 4 mg/kg/Tag Leflunomid therapiert. Die Erhaltungsdosis lag zwischen 2–3 mg/kg/Tag. Die Behandlung erfolgte über vier bis elf Monate. Bei drei Hunden konnte die Dosis des Prednisolons reduziert werden, bei zwei Hunden wurde Leflunomid als Monotherapie fortgeführt. Verminderter Appetit, Lethargie, milde Anämie sowie blutiger Vomit und Diarrhö sind als unerwünschte Nebenwirkungen beschrieben (GREGORY et al., 1998). Bei Sturges et. al (1998) lag die mediane Überlebenszeit von drei an einer MUO erkrankten Hunden mit der Kombinationstherapie Prednisolon und Leflunomid bei 365 Tagen (GRANGER et al., 2010).

Ein weiteres zur Behandlung der MUO eingesetztes Medikament ist Procarbazin. Die mediane Überlebenszeit in der Untersuchung von Coates et al. (2007) betrug 14 Monate, die gleichzeitige Therapie mit Glukokortikoiden konnte bei 17 von 21 Hunde reduziert bzw. abgesetzt werden. Zehn der 21 Hunde zeigten Nebenwirkungen wie Myelosuppression und blutige Diarrhö und Vomit. Die oral

verabreichte Dosis von Procarbazin war 25–50 mg/m²/Tag (COATES et al., 2007). Lomustin wird ebenfalls zur Therapie der MUO eingesetzt. Flegel et al. zeigten allerdings, dass eine Kombinationstherapie aus Lomustin und Prednisolon im Vergleich zur Monotherapie Prednisolon den gleichen Effekt auf die Überlebenszeit hat (FLEGEL et al., 2011). Bei einigen Hunden konnte die Prednisolondosis jedoch reduziert oder abgesetzt werden. Vorteile von Lomustin sind der große Verabreichungsintervall (6 Wochen-Rhythmus, 60,3 mg/m²) sowie die orale Gabe. Die Hunde entwickeln häufig eine Leukopenie, sodass eine Blutbildkontrolle sieben bis zehn Tage nach Verabreichung, sowie alle drei Monate zusammen mit Nierenwert- und Leberenzymkontrollen angezeigt sind (FLEGEL et al., 2011). Auch Mycophenolat-Mofetil wird in der Kombinationstherapie mit Prednisolon eingesetzt. Die retrospektive Analyse von Barnoon et al. ergab eine mediane Überlebenszeit von 250 Tagen, wobei 40 % der Hunde zum Zeitpunkt des Studienendes noch lebten. Die mediane Überlebenszeit betroffener Möpfe (4/20) betrug nur 14 Tage. 20 % der Hunde zeigten in den ersten zwei Wochen gastrointestinale Symptome (BARNOON et al., 2016).

Die mediane Überlebenszeit der Hunde mit einer Kombinationstherapie aus Azathioprin und Prednisolon ist mit 1834 Tagen (40 Hunde; Bereich 50–2469 Tagen) angegeben. Die häufigsten Nebenwirkungen sind Gewichtszunahme, Ausbildung eines dünnen Haarkleides und erhöhte Leberenzyme (WONG et al., 2010). Auch Cyclosporin wird in Kombination mit Prednisolon als immunsuppressives Medikament zur Behandlung einer MUO angewendet. Die mediane Überlebenszeit ($305,7 \pm 94,7$ Tage) bei Jung et al. war länger als mit alleiniger Prednisolontherapie. Die Nebenwirkungen des Cyclosporins bei einer Langzeittherapie sind Polyphagie, Polyurie/Polydipsie, Gewichtszunahme, Hepatopathien, iatrogenes Cushing sowie Lethargie (JUNG et al., 2007). In einem anderen Fallbericht ist die Überlebenszeit mit Cyclosporin-Prednisolon-Therapie deutlich kürzer (170, 70, 21 Tage). Vermutet wird die Abhängigkeit des Therapieerfolges mit Cyclosporin von der Zeit des Therapiebeginns, der Frequenz der Arzneimittelverabreichung sowie der Konzentration (JUNG et al., 2013). Eine prospektive, randomisierte, klinische Blindstudie verglich den Einsatz von Cyclophosphamid und Vincristin (COP) mit dem Einsatz von Cytosinarabinosid (AraC Gruppe) bei der Behandlung einer MUO. Grundlage der Therapie bildete in beiden Gruppen Prednisolon. In der COP-Gruppe lebten noch 50 % der Hunde 12

Monate nach Diagnosestellung, in der AraC-Gruppe 71 %. Wegen der starken Nebenwirkungen von COP raten die Autoren von dieser Therapie ab und sehen keinen Vorteil gegenüber der Therapie mit Cytosinarabinosid (SMITH et al., 2009). Die Cytosinarabinosid-Prednisolon-Therapie ist eine sichere Behandlung der Meningoenzephalomyelitis unbekannter Ursache und kann die Überlebenszeit der betroffenen Hunde verlängern (ZARFOSS et al., 2006). Verschiedene Verabreichungsprotokolle (subkutane (s. c) Injektion und intravenöse (i. v) Infusion) sind beschrieben. Lowrie et al. verglichen die s. c. Injektion des Cytosinarabinosids in der Dosierung 50 mg/m² alle 12 Stunden über 48 Stunden mit der i. v. Infusionsgabe in der Dosierung 100 mg/m² über 24 Stunden. Nach drei Monaten lebten 40 % der s. c.-Gruppe und 90 % der i. v.-Gruppe. Die i. v.-Gabe scheint vorteilhaft gegenüber der s. c.-Gabe zu sein ohne klinisch bedeutsame Toxizität (LOWRIE et al., 2016).

Generell lassen sich die verschiedenen medikamentösen Therapieansätze einer MUO nur schwer vergleichen, es gibt hauptsächlich retrospektive Studien, unterschiedliche Selektionskriterien der Patienten, kleine Falldaten sowie nur selten eine gesicherte Diagnose mittels Histopathologie (BARNOON et al., 2016). Des Weiteren wird die Strahlentherapie zur Behandlung der fokalen und multifokalen Form der MUO eingesetzt. In der Studie von Beckmann et al. wurde gezeigt, dass sich der neurologische Status bessern kann, bis hin zur normalen neurologischen Kondition, ohne Nebenwirkungen der Bestrahlung festzustellen (BECKMANN et al., 2015). Der Erfolg der gewählten Therapie wird klinisch und neurologisch kontrolliert sowie gewöhnlich durch eine Wiederholung der Liquor- und Kernspintomographie bestätigt. Eine zu frühzeitige Beendigung der Therapie, insbesondere bevor alle Läsionen im MRT verschwunden sind, kann einen Rückfall bedingen (COATES & JEFFERY, 2014). Ebenfalls sind abnormale Liquorbefunde bei einer dreimonatigen Kontrolle nach Therapiebeginn mit einem erhöhten Risiko eines Rückfalls – auch bei einem unauffälligen MRT-Ergebnis dieser Tiere – assoziiert (LOWRIE et al., 2013). Die Prognose einer dauerhaften Genesung ist schlecht (GREGORY et al., 1998). Es gibt verschiedene Faktoren, die den Krankheitsverlauf und die Überlebenszeit beeinflussen. Betroffene Hunde, die den ersten Monat überleben, haben eine gute Prognose, mehrere Jahre mit der Erkrankung zu leben (SMITH et al., 2009). Gleichmaßen stellen Lowrie et al. fest, dass Hunde, die die ersten drei Monate überleben, ein geringes Risiko haben,

an einer MUO zu sterben. Bestimmte MRT-Veränderungen wirken sich prognostisch auf die Überlebenszeit aus. Beispielsweise gehen eine Foramenmagnum-Herniation, der Verlust der Zerebralsulci sowie ein Masseneffekt mit einer verkürzten Lebenszeit einher (LOWRIE et al., 2013). Patienten mit fokalen Vorderhirnläsionen scheinen länger zu leben, als diejenigen mit multifokalen Läsionen (COATES et al., 2007) oder Hirnstammläsionen (MUNANA et al., 1998). Ein „midline brain shift“ wird nicht mit einer kürzeren Überlebenszeit assoziiert. Jedoch wirken sich Alter und die Gesamtleukozytenzahl im Liquor auf die Überlebenszeit aus, ältere betroffene Hunde sowie Patienten mit einer hohen Zellzahl sterben früher (OLIPHANT et al., 2017). Ferner zeigen Hunde, die mit epileptischen Anfällen vorgestellt werden, einen schlechteren Krankheitsverlauf (BATEMAN & PARENT, 1999; CORNELIS et al., 2016a). Cornelis et al. stellt außerdem fest, dass ein reduziertes Bewusstsein und eine erhöhte Prozentzahl an neutrophilen Granulozyten in der Liquorzytologie signifikant mit einer schlechteren Prognose assoziiert sind (CORNELIS et al., 2016a). Insgesamt bleibt die Aussage zur Prognose aufgrund der schwierigen Diagnostik, der unterschiedlichen Behandlungsprotokolle und kleiner Gruppenanzahlen problematisch (CORNELIS et al., 2016a; GRIFFIN et al., 2008).

1.1.1. Granulomatöse Meningoenzephalitis

Die Granulomatöse Meningoenzephalitis (GME) macht in einer retrospektiven Analyse von Tipold et al. ca. 8 % der entzündlichen ZNS-Erkrankungen aus und ca. 30 % der nicht-infektiösen Entzündungen (TIPOLD, 1995). Die Ätiologie ist bisher ungeklärt (PARK et al., 2012). Man geht auf der Basis immunohistochemischer Eigenschaften von einer Immunreaktion gegen das ZNS-Gewebe aus (PARK et al., 2012; SUZUKI et al., 2003). Es wird eine T-Zellen-vermittelte allergische Reaktion vom verzögerten Typ vermutet, dennoch konnte bisher das ursächliche Antigen nicht identifiziert werden. Genetische Grundlagen und/oder Infektionen sowie Vakzinationen könnten Auslöser einer solchen Reaktion sein (UCHIDA et al., 2016). Barber et al. konnten in ihrer Studie keine viralen Erreger nachweisen. Die viralen „polymerase chain reaction“ (PCR)-Untersuchungen von Hirngewebe betroffener Hunde verliefen negativ für das Adenovirus, Bunyavirus, Coronavirus, Enterovirus, Flavivirus, Herpesvirus, Paramyxovirus und das Parechovirus. Allerdings wurde bei einigen Tieren *Mycoplasma canis* entdeckt, die Bedeutung dessen ist ungeklärt (BARBER et al.,

2012). Die makroskopischen Veränderungen des ZNS sind milder als bei der Nekrotisierenden Meningoenzephalitis, mit Ausnahme der sichtbaren Granulombildungen. Mikroskopisch zeigen sich die Veränderungen insbesondere in der weißen Substanz des Zerebrums, im Zerebellum und Hirnstamm (SUZUKI et al., 2003). Die Veränderungen sind charakterisiert durch die Anhäufung von Lymphozyten und Makrophagen mit epithelioider Morphologie und formen so perivaskuläre Granulome (UCHIDA et al., 2016). Es wird angenommen, dass jede Rasse jeden Alters und Geschlechts an einer GME erkranken kann (BARNOON et al., 2016; COATES & JEFFERY, 2014). Dennoch scheinen mittelalte Hündinnen der Toy- und Terrierrassen überrepräsentiert zu sein (MUNANA et al., 1998; TALARICO & SCHATZBERG, 2010). Die Erkrankung betrifft insbesondere Hunde im Alter zwischen 4–8 Jahren (GRANGER et al., 2010). Cornelis et al. stellen fest, dass in ihrer Studie 25 % der erkrankten Hunde einer großen Rasse (definiert als Hunde > 15 kg) angehörten und damit bei diesen die GME als Differentialdiagnose bei zentralen neurologischen Störungen in Betracht gezogen werden muss (CORNELIS et al., 2016b). Der neurologische Status des betroffenen Tieres korreliert mit der pathologischen Verteilung der entzündlichen Läsionen (O'NEILL et al., 2005). Es werden drei Formen der GME unterschieden: multifokal (disseminiert), fokal und okular (BRAUND, 1985). Bei der multifokalen Form zeigen die Hunde zwei oder mehrere Dysfunktionen folgender ZNS-Strukturen: Zerebrum, Zerebellum, Hirnstamm, Hirnhäute, Optikusnerven (O'NEILL et al., 2005). In der Auswertung von Granger et al. zeigten 33 % der an GME-erkrankten Hunde multifokale neurologische Störungen (GRANGER et al., 2010). Die multifokale GME ist durch einen akuten Beginn und schnelles Fortschreiten der Symptomatik gekennzeichnet (BRAUND, 1985; COATES et al., 2007; MUNANA et al., 1998). Im Gegensatz dazu wird der Verlauf der fokalen Form eher als langsam progressiv beschrieben (O'NEILL et al., 2005). Die Hauptdifferentialdiagnose der fokalen GME ist eine Neoplasie (COATES & JEFFERY, 2014). Die Augenform der GME ist in den publizierten Fallberichten selten beschrieben (KITAGAWA et al., 2009; MAEHARA et al., 2009). Betroffene Hunde erblinden häufig akut. Der Pupillarreflex ist meistens fehlend, bedingt durch eine uni- oder bilaterale Optikusneuritis und geht gewöhnlich mit einer Uveitis, Retinablutungen und Retinaablösungen einher (MAEHARA et al., 2009). Die

okulare Form kann sich zu einer ZNS-übergreifenden Form entwickeln (MUNANA et al., 1998) bzw. Teil der multifokalen (disseminierten) Form sein (GNIRS, 2006). Die Kernspintomographie wird als Bildgebung zur Diagnosestellung von ZNS-Entzündungen bei Hunden empfohlen (COATES & JEFFERY, 2014). Die Läsionen der GME stellen sich in der Kernspintomographie häufig multifokal dar, aber auch fokale Läsionen und unauffällige Befunde sind möglich. Die Läsionen können im Vorderhirn, Kleinhirn, Hirnstamm und Rückenmark sichtbar sein und sowohl in der weißen als auch in der grauen Substanz vorkommen (CHERUBINI et al., 2006). Typisch sind hyperintense Areale in der T-2-gewichteten Sequenz und in der fluid-attenuation-inversion-recovery (FLAIR) mit unregelmäßiger, infiltrativer Begrenzung (CHERUBINI et al., 2006). Bei der okularen Form können die Sehnervenbahnen Kontrastmittel anreichern. Des Weiteren ist es möglich, dass sich die Sehnerven und/oder das Chiasma opticum in der Kernspintomographie geschwollen darstellen (KITAGAWA et al., 2009).

Die Zytologie des Liquor cerebrospinalis bei einer granulomtösen Meningoenzephalitis ist typischerweise durch eine mononukleäre Pleozytose gekennzeichnet (MUNANA et al., 1998). Bei Granger et al. haben 42 % der GME-Fälle Lymphozyten als vorherrschenden Zelltypen, ca. 20 % der Hunde Monozyten, unter 10 % neutrophile Granulozyten sowie über 10 % eine gemischtzellige (Lymphozyten/Monozyten) Population als vorherrschende Zelltypen (GRANGER et al., 2010). Obwohl Liquor cerebrospinalis sensitiver als die Kernspintomographie bezüglich der Aufdeckung entzündlicher Prozesse ist (COATES & JEFFERY, 2014), sind in der Literatur auch unauffällige Liquorbefunde bei der GME beschrieben (GRANGER et al., 2010).

Die Prognose der GME gilt als schlecht („poor prognosis“). Manche Autoren nehmen jedoch an, dass die Prognose bei Ansprechen des Hundes auf adäquate Therapie vorsichtig sein kann („guarded prognosis“) (O’NEILL et al., 2005). Die multifokale und okulare Form haben eine schlechtere Prognose als die fokale Form (KITAGAWA et al., 2009; O’NEILL et al., 2005). In der Auswertung von Granger et al. sind ungefähr 15 % der erkrankten Hunde bereits vor Therapiebeginn verstorben (GRANGER et al., 2010).

1.1.2. Nekrotisierende Meningoenzephalitis

Die Nekrotisierende Meningoenzephalitis wurde ursprünglich für eine rassespezifische Erkrankung des Mops gehalten (CORDY & HOLLIDAY, 1989),

deshalb ist diese Erkrankung auch geläufig unter dem Synonym Mopsenzephalitis („pug dog encephalitis“). Mittlerweile gibt es jedoch einige Fallberichte von anderen betroffenen Hunderassen wie beispielsweise Chihuahua (HIGGINS et al., 2008), Malteser (SCHRAUWEN et al., 2014), Papillon, Shih Tzu, Coton de Tulear, Brussels Griffon (COOPER et al., 2014), Pekingese (CANTILE et al., 2001) und West Highland White Terrier (ARESU et al., 2007). Es sind häufig weibliche Tiere betroffen. Auch bei anderen autoimmunen Enzephalopathien ist das weibliche Geschlecht vermehrt erkrankt (LEVINE et al., 2008).

Die NME scheint eine sehr häufige Ursache für zentral-neurologische Störungen beim Mops zu sein. Diese Annahme basiert auf der Auswertung einer Mopspopulation und zahlreichen Fallberichten (LEVINE et al., 2008). Erkrankte Hunde sind meistens unter 4 Jahre alt (GRANGER et al., 2010). In einer Untersuchung von 60 Möpsen betrug das mediane Alter zum Zeitpunkt des Krankheitsausbruchs 18 Monate (LEVINE et al., 2008).

Eine ausgeprägte familiäre Vererbung wird angenommen (GREER et al., 2009). Es wird vermutet, dass es sich um eine Autoimmunerkrankung gerichtet gegen die Astrozyten des caninen Zentralen Nervengewebes handelt (UCHIDA et al., 2016), die sogenannten Anti-Astrozyten-Autoantikörper (SHIBUYA et al., 2007). Das „glial fibrillary acidic protein“ (GFAP), wird als ein fungierendes Antigen angenommen. GFAP ist ein großes, zytoplasmatisches Protein in reifen Astrozyten (SHIBUYA et al., 2007). Forscher haben sich damit befasst, inwieweit das GFAP als diagnostischer Marker für eine NME beim Mops genutzt werden kann. Untersuchungen des Liquor cerebrospinalis haben gezeigt, dass erhöhte GFAP-Konzentrationen bei einer NME vorkommen, allerdings auch bei anderen ZNS-Erkrankungen wie Tumoren (SHIBUYA et al., 2007). Auch in Sera von betroffenen Möpsen kommen erhöhte GFAP Konzentrationen vor und werden als sehr spezifisch für diese Erkrankung angenommen. Interessanterweise ist dies bei anderen betroffenen Hunderassen nicht bestätigt (MIYAKE et al., 2013).

Mithilfe molekularer Untersuchungen wurden genetische Risikofaktoren für eine NME beim Mops (Chromosom 8, 12 und 15) (BARBER et al., 2011), Malteser (Chromosom 4 und 15) und Chihuahua (Chromosom 15) identifiziert. Beim Mops ist ein Gentest verfügbar (SCHRAUWEN et al., 2014). Betroffene Möpse sind eher homozygot für die spezifischen Allele auf jedem einzelnen Genlocus (GREER et al., 2010b; PEDERSEN et al., 2011). Die NME wird mit einer atypischen Form der

Multiplen Sklerose (MS) des Menschen (Marburg Variante) verglichen, die mit einem spezifischen humanen Leukozyten-Antigen Klasse II assoziiert wird (GREER et al., 2010b). Dennoch unterscheiden sich die beiden Erkrankungen in den pathologischen Veränderungen voneinander. Die MS geht häufig mit einer Demyelinisierung einher, diese ist bei der NME bisher nicht erwiesen (UCHIDA et al., 2016).

Die Läsionen befinden sich vor allem im Zerebrum, aber auch das Zerebellum und/oder Hirnstamm können beteiligt sein (LEVINE et al., 2008).

Makroskopisch zeigen sich in typischen Fällen multifokale, asymmetrische Nekrosen tief in der Großhirnrinde (UCHIDA et al., 2016) und der subkortikalen weißen Substanz (CORDY & HOLLIDAY, 1989) sowie Veränderungen im Thalamus und Hippocampus (PARK et al., 2012). Die Nekroseherde variieren in ihrer Ausprägung von neuronaler Nekrose und Gliose in den frühen Stadien bis hin zur ausgeprägten Kavitationsbildung in chronischem Krankheitsstadium (CORDY & HOLLIDAY, 1989). So finden sich in der akuten Phase Herde mit milder Infiltration von Entzündungszellen im Neuroparenchym, in der subakuten Phase der Erkrankung mäßige Malazien und hochgradige Entzündungsreaktionen und in dem chronischen Stadium wiederum großflächige Malazien (PARK et al., 2012). In der Histologie stellen sich die Hauptläsionen in der tiefen Kortex angrenzend zur weißen Substanz mit perivaskulärer und parenchymaler Infiltration von Lymphozyten und Makrophagen dar (UCHIDA et al., 2016).

Die erkrankten Hunde haben sehr häufig epileptische Anfälle (ARESU et al., 2007; COOPER et al., 2014; HIGGINS et al., 2008; KITAGAWA et al., 2007; LEVINE et al., 2008), sind lethargisch und zeigen reduziertes Bewusstsein sowie Verhaltensänderungen (COOPER et al., 2014; HIGGINS et al., 2008). Des Weiteren können die Hunde blind sein, im Kreis laufen, Kopfschiefhaltung und einen ataktischen Gang zeigen (JUNG et al., 2013).

In der Kernspintomographie des Kopfes stellen sich die Veränderungen meist diffus, asymmetrisch in der weißen und grauen Substanz verteilt dar und befinden sich häufig im Großhirn (FLEGEL et al., 2008). Die Kontrastmittelanreicherung ist variabel. Eine Mittellinienverlagerung ist nicht selten. Die Veränderungen sind hyperintens in der T2-gewichteten Sequenz sowie iso- bis hypointens in der T1-gewichteten Darstellung (FLEGEL et al., 2008). Das Ausmaß der Läsionen

korreliert zwar mit der Dauer der Erkrankung, jedoch nicht mit der Prognose (YOUNG et al., 2009).

In der Zytologie des Liquors ist eine lymphozytäre Pleozytose gewöhnlich. Aber auch Normalbefunde in der Zellzahl und Zytologie sind möglich (GRANGER et al., 2010; GRIFFIN et al., 2008). Bei der Untersuchung von Granger et al. waren Lymphozyten und Monozyten als vorherrschender Zelltyp in der Liquorzytologie gleichermaßen vorhanden (je 40 % der erkrankten Tiere), in ca. 10 % der Fälle lag eine gemischtzellige Zytologie vor und in weniger als 10 % der Patienten bildeten neutrophile Granulozyten den vorherrschenden Zelltypen (GRANGER et al., 2010).

Eine antiepileptische Therapie wirkt sich günstig auf die Überlebenszeit aus (LEVINE et al., 2008). Auch eine Kombinationstherapie aus immunsuppressiven Medikamenten ist in Bezug auf die Überlebenszeit vorteilhafter als eine Monotherapie mit Prednisolon (JUNG et al., 2007).

1.1.3. Nekrotisierende Leukoenzephalitis

Die NLE scheint ebenfalls eine eher rassespezifische Erkrankung zu sein und kommt insbesondere beim Yorkshire Terrier vor, sie wird deshalb manchmal auch „Nekrotisierende Enzephalitis des Yorkshire Terriers“ genannt (TALARICO & SCHATZBERG, 2010). Aber auch andere Rassen wie die Französischen Bulldogge (TIMMANN et al., 2007), der Shi Tzu (JUNG et al., 2013) oder Mops (PARK et al., 2012) können erkranken. Es gibt auch einen Fallbericht eines betroffenen Labrador Retrievers (CORNELIS et al., 2016b). Die Läsionen befinden sich hauptsächlich in der zerebralen weißen Substanz, im Thalamus (PARK et al., 2012) sowie im Hirnstamm und teilweise im Rückenmark (KUWAMURA et al., 2002). In der Histopathologie zeigen sich ausgedehnte Nekroseherde mit milder Infiltration von Makrophagen. In den Meningen sowie perivaskulär kommen moderate bis starke Infiltrationen von mononukleären Zellen vor. Die nekrotischen Gebiete sind im Vergleich zur NME stärker ausgeprägt (COATES & JEFFERY, 2014). Es ist noch nicht geklärt, ob die NME und NLE unterschiedliche Erkrankungen sind oder ob sie eine gemeinsame Pathogenese haben (UCHIDA et al., 2016).

Betroffene Tiere sind häufig junge adulte Hündinnen oder Rüden (LEZMI et al., 2007). Klinisch zeigen die erkrankten Hunde unter anderem ein reduziertes Bewusstsein, zentrale Blindheit, epileptische Anfälle, „head pressing“, Kreislaufen

und Nystagmus (KUWAMURA et al., 2002; LOTTI et al., 1999; VON PRAUN et al., 2006). Die Erkrankung verläuft chronisch-progressiv. Die Liquoruntersuchung ergibt gewöhnlich eine mononukleäre Pleozytose (Monozyten und Lymphozyten) sowie erhöhtes Protein (KUWAMURA et al., 2002).

In der Kernspintomographie stellen sich die erkrankten ZNS-Regionen meistens unilateral oder asymmetrisch bilateral dar, in der T2-gewichteten Sequenz sind die Läsionen hyperintens, in der T1-gewichteten Aufnahme hingegen hypo- oder isointens. Der Grad der Kontrastmittelanreicherungen ist unterschiedlich. Histologische Untersuchungen lassen vermuten, dass der Grad der Kontrastmittelanreicherung abhängig von der Intensität der lymphohistiozytären Entzündung ist (VON PRAUN et al., 2006). In einem Fallbericht stellte sich das Gehirn eines betroffenen Yorkshire Terriers in der Kernspintomographie nur mit einem unilateral dilatiertem Ventrikel dar, ansonsten zeigten sich keine weiteren Auffälligkeiten (KUWAMURA et al., 2002).

Grundlage der Therapie bilden immunsuppressive Medikamente. Generell hat auch diese Enzephalitis eine schlechte Langzeitprognose (VON PRAUN et al., 2006), wobei manche Kliniker den Eindruck haben, dass die NLE besser auf immunsuppressive Therapie anspricht als die NME (TIMMANN et al., 2007).

Die NLE darf nicht mit der „leigh-like“ Subakuten Nekrotisierenden Enzephalopathie des Yorkshire Terriers verwechselt werden. Dies ist eine neurodegenerative Erkrankung (BAIKER & MATIASEK, 2013).

1.2. Steroid-Responsive Meningitis-Arteriitis

Die SRMA wird auch nekrotisierende Vaskulitis, Polyarteriitis, juveniles Arteriitissyndrom, Panarteriitis, steril eitrige Meningitis, aseptisch eitrige Meningitis, Kortikosteroid-responsive Meningitis oder auch „Beagle pain syndrome“ genannt (TIPOLD & SCHATZBERG, 2010).

De Lahunta et al. definieren die SRMA als eine systemische Immunerkrankung, die durch entzündliche Läsionen in den Leptomeningen und den damit assoziierten Arterien charakterisiert ist und die typischerweise auf eine Kortikosteroidtherapie anspricht (DE LAHUNTA et al., 2014). Die Vaskulitis tritt insbesondere in den Gefäßen der Leptomeningen des Rückenmarks auf und weniger im Bereich des Gehirns. Gewöhnlich finden sich in der Pathologie ebenfalls Läsionen in den Gefäßen des Herzens, des Mediastinums und der Thyroidea (TIPOLD & SCHATZBERG, 2010). Die genaue Ätiopathogenese ist ungeklärt. Aber die

Tatsache, dass keine Erreger nachgewiesen werden können und dass die klinischen Symptome nach Steroidtherapie verschwinden sowie erhöhte Immunglobulin(Ig)A-Konzentrationen im Serum und Liquor vorkommen, sprechen für ein immunmediertes Geschehen (LOWRIE et al., 2009; MAIOLINI et al., 2012). In der Untersuchung von Rose et al. konnten durch Screening-Tests, die normalerweise für die Detektion von infektiösen bzw. neoplastischen Auslösern der immunmedierten hämolytischen Anämie (IMHA) angewandt werden, keine „Trigger“ für die SRMA gefunden werden (ROSE & HARCOURT-BROWN, 2013).

Meistens tritt die SRMA-Erkrankung bei jungen Hunden unter 2 Jahren auf (CIZINAUSKAS et al., 2000; TIPOLD, 1995). Generell kann jede Rasse, auch Mischlinge, erkranken, allerdings sind Beagle, Berner Sennenhunde, Boxer, Nova Scotia Duck Tolling Retriever und Weimaraner überrepräsentiert (BEHR & CAUZINILLE, 2006; CIZINAUSKAS et al., 2000; ROSE et al., 2014; TIPOLD, 1995; WRZOSEK et al., 2009). In einer Studie aus England hatten außerdem der Border Collie, Jack Russel Terrier und Whippet ein höheres Risiko an einer SRMA zu erkranken (ROSE et al., 2014).

Betroffene Hunde werden in der akuten Krankheitsphase häufig mit zervikaler Hyperästhesie, Apathie und Fieber vorgestellt (TIPOLD & JAGGY, 1994). Die Hunde können teilweise so schmerzhaft sein, dass jegliche Manipulation zu einer Schmerzreaktion führt (TIPOLD & SCHATZBERG, 2010). Im Blut kann eine Leukozytose mit Linksverschiebung festgestellt werden, bei der Auswertung von Tipold zeigten diese Blutbildveränderungen 63 % der an SRMA erkrankten Tiere (TIPOLD, 1995). Eine chronische Verlaufsform kann nach Rückfällen der akuten Form und/oder bei inadäquater Therapie beobachtet werden (TIPOLD & JAGGY, 1994). Durch Fibrose der Meningen, sekundär durch die Entzündungsreaktionen, kann es zu Liquorabflussstörungen und Gefäßverschlüssen kommen. Als Folge davon ist die Entstehung eines Hydrozephalus oder das Auftreten von Ischämien im ZNS möglich (TIPOLD, 1995). Hunde mit einer chronischen Verlaufsform können sich klinisch auch mit Ataxie, Para-/Tetraparese und sehr selten mit epileptischen Anfällen oder anderen zentralnervösen Störungen zeigen (CIZINAUSKAS et al., 2000; MAIOLINI et al., 2012; WRZOSEK et al., 2009). Die SRMA kann außerdem gleichzeitig mit einer idiopathischen immunmedierten Polyarthrititis auftreten (WEBB et al., 2002).

In der akuten Phase sind im Liquor cerebrospinalis eine deutliche polymorphnukleäre Pleozytose und deutlich erhöhtes Protein feststellbar (TIPOLD, 1995). Bei schwer betroffenen Hunden können sowohl segmentkernige als auch stabkernige neutrophile Granulozyten im Liquor beobachtet werden (TIPOLD & SCHATZBERG, 2010). Die Veränderungen des Liquor cerebrospinalis im chronischen Stadium können variieren, so ist eine vorwiegend mononukleäre Pleozytose (Lymphozyten, Plasmazellen, Makrophagen, Monozyten) oder eine gemischte Zellpopulation (mononukleäre Zellen, neutrophile und eosinophile Granulozyten) mit normalem oder nur geringgradig erhöhtem Protein möglich (TIPOLD & JAGGY, 1994).

In der Bildgebung kann sich eine Kontrastmittelanreicherung der Meningen zeigen (FUCHS et al., 2000). Seltener sind Blutungen in der Kernspintomographie darstellbar. In einem chronischen Krankheitsstadium eines Fallberichts wurden Hämorrhagien im Zentralkanal auf Höhe des Halsrückenmarks diagnostiziert (HUGHES et al., 2015). Ein weiterer Fallbericht ergab bei einem akut erkrankten Tier eine intradurale-extramedulläre kompressive Blutung ebenfalls auf Höhe des Halsrückenmarks (WANG-LEANDRO et al., 2017).

Die Diagnose einer SRMA wird anhand der Symptome, Laboruntersuchungen (Liquor) und ergänzender Bildgebung zum Ausschluss anderer Erkrankungen gestellt (MAIOLINI et al., 2012). Die Bestimmung der IgA Konzentrationen im Serum und Liquor cerebrospinalis wird zur Diagnosesicherung bei vermuteten SRMA-Patienten empfohlen. Diese sind typischerweise erhöht. Maiolini et al. geben die Sensitivität der IgA-Bestimmung aus Serum und Liquor mit 91 % und die Spezifität mit 78 % an. Die Rolle des IgA im ZNS ist noch nicht geklärt, aber seine Produktion scheint nicht spezifisch für einen bestimmten antigenetischen Stimulus zu sein (MAIOLINI et al., 2012). Bei anderen entzündlichen ZNS-Erkrankungen und auch bei Neoplasien im ZNS können die IgA-Konzentrationen im Liquor cerebrospinalis ebenfalls erhöht sein, hingegen im Serum nicht (TIPOLD, 1995). Des Weiteren kann ein erhöhtes C-reaktives Protein, ein sogenanntes Akute-Phase-Protein (APP), eine Verdachtsdiagnose der SRMA bestärken und auch als Verlaufsparemeter für die Beurteilung des Therapieerfolges genutzt werden (BATHEN-NOETHEN et al., 2008a). Lowrie et al. bestätigen dies und geben das Serum-Amyloid A (SAA) als ein weiteres APP zur Detektion von Rückfällen an (LOWRIE et al., 2009). In der Studie von Biedermann et al. zeigten

32,4 % der Hunde einen Rückfall, 55,4 % blieben symptomlos und bei 12,2 % war der „Relapse“-Status unbekannt. Es konnte kein prädiktiver Indikator für Rückfälle eruiert werden (BIEDERMANN et al., 2016).

Die Therapie der SRMA besteht aus einer Langzeitbehandlung mit anti-entzündlichen und/oder immunsuppressiven Medikamenten. Prednisolon führt oft zu einer erfolgreichen Behandlung. Die Prognose bei adäquater Therapie und insbesondere im akuten Stadium ist gut (TIPOLD & SCHATZBERG, 2010). Die Nebenwirkungen der Kortisontherapie sind meistens nur mild und reversible nach Beendigung der Kortisongabe. Ältere erkrankte Hunde mit häufigen Rückfällen scheinen eine längere Behandlungsdauer zu benötigen und eine weniger gute Langzeitprognose zu haben (CIZINAUSKAS et al., 2000).

1.3. Idiopathische Eosinophile Meningoenzephalitis

Die Eosinophile Meningoenzephalitis scheint eine seltene Erkrankung in der Tiermedizin zu sein (OLIVIER et al., 2010). Es gibt nur wenige Fallberichte der idiopathischen Form der EME beim Hund (HENKE et al., 2009; WINDSOR et al., 2009). Bis 2008 sind erst zehn Fälle beschrieben (WILLIAMS et al., 2008). Allerdings ist die idiopathische EME eine häufige Ursache einer eosinophilen Pleozytose beim Hund (WINDSOR et al., 2009). Rottweiler und Golden Retriever sind häufiger betroffen, sodass eine Rasseprädisposition angenommen werden kann (OLIVIER et al., 2010). In einer Studie waren 34 % der Hunde Rottweiler (LILLIEHÖÖK et al., 2000). Die Symptome der erkrankten Hunde sind mit Läsionen sowohl im Gehirn als auch Rückenmark vereinbar. Unter anderem können diese Paraparesen, Tetraparesen, Ataxien, Anisokorie und verändertes Verhalten und Bewusstsein zeigen (OLIVIER et al., 2010; SMITH-MAXIE et al., 1989). Betroffene Hund sind jung bis mittelalt und meistens große Rassen (WILLIAMS et al., 2008; WINDSOR et al., 2009). Wenige Hunde zeigen auch systemische Symptome wie Vomitus und Diarrhö (WINDSOR et al., 2009). Es wird ein Zusammenhang mit dem sogenannten Hypereosinophilen Syndrom diskutiert (OLIVIER et al., 2010; SYKES et al., 2001). Bei der idiopathischen EME weist der Liquor eine eosinophile Pleozytose auf, definiert als > 20 % eosinophile Granulozyten im Punktat (WINDSOR et al., 2009). Auch die Proteinkonzentration kann erhöht sein. Es besteht kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Anzahl der eosinophilen Granulozyten im Liquor cerebrospinalis und dem Schweregrad der Erkrankung (OLIVIER et al., 2010). Aufgrund der Liquorveränderungen kann

die EME eindeutig von der GME, NME und NLE unterschieden werden (COATES & JEFFERY, 2014). Erkrankte Hunde können ebenfalls eine Eosinophilie im Blut haben (OLIVIER et al., 2010). Jedoch ist dies kein verlässlicher Indikator (SMITH-MAXIE et al., 1989), da viele Hunde keine Auffälligkeiten im peripheren Blut haben (WINDSOR et al., 2009). Die Veränderung in der Bildgebung (MRT/CT) können variieren. Es besteht keine Korrelation zwischen MRT-Veränderungen und klinischem Outcome (WINDSOR et al., 2009). Salvadori et al. beschreiben die Läsionen als diffuse, hypointense Signale in der grauen Substanz des Zerebrums mit erweiterten Sulci in der T1-gewichteten Sequenz und der FLAIR. Dies interpretiert er als diffuse Nekroseherde und Atrophie der kortikalen grauen Substanz (SALVADORI et al., 2007). In der Pathologie weisen Gehirn und Rückenmark Infiltrationen von eosinophilen Granulozyten auf, bei manchen Tieren kommen diese Infiltrationen auch in Leber und Dünndarm vor (OLIVIER et al., 2010). Bei Windsor et al. fanden sich in der Großhirnrinde und im Hirnstamm eines erkrankten Hundes multifokale Nekroseherde sowie Malazie (WINDSOR et al., 2009). Eosinophile haben die Fähigkeit, starke Gewebsschädigungen zu verursachen (SYKES et al., 2001). Man weiß, dass Neurone und myelinisierte Axone im Gehirn anfällig für das sogenannte „eosinophil-induced-neurotoxicity“ (EIN)-Phänomen sind. Verantwortlich dafür sind neurotoxische Proteine der eosinophilen Granula. In der Humanmedizin ist Demenz eine Folge des EIN-Phänomens (SMITH-MAXIE et al., 1989). Als Differentialdiagnosen für eine eosinophile Pleozytose müssen Protozoen, Helminthen, Pilzinfektionen sowie Bakterien in Betracht gezogen werden (OLIVIER et al., 2010; SMITH-MAXIE et al., 1989). Bei Windsor et al. sind 75% der Hunde (12/16) mit einer Prednisolontherapie wieder genesen. Zwei Hunde haben sich sogar ohne Therapie erholt. Er fasst zusammen, dass die Mehrheit der Hunde mit antientzündlicher oder immunsuppressiver Kortikosteroidtherapie wieder symptomfrei wird. Die Langzeitprognose ist besser als bei Hunden mit infektiöser Ätiologie (WINDSOR et al., 2009). Generell bleiben die Aussagen über den Behandlungserfolg sowie die Prognose schwierig. Es gibt derzeit keine Studien mit größerer Fallzahl.

1.4. Meningoenzephalitis der Greyhounds

Die Meningoenzephalitis der Greyhounds wird als eine idiopathische, rassespezifische, nicht-eitrige Entzündung charakterisiert, die insbesondere das vordere Zerebrum und den vorderen Hirnstamm betrifft (CALLANAN et al., 2002;

SHIEL et al., 2010; TERZO et al., 2012). Eine besondere Stellung bei diesem Krankheitsbild nehmen irische Zuchten ein. Dort stammen die ersten und die meisten Fallberichte her (CALLANAN et al., 2002; SHIEL et al., 2010). Studien zeigten, dass häufig mehrere Wurfgeschwister betroffen sind, sodass eine genetische oder infektiöse Ätiologie oder Komponente stark angenommen wird (SHIEL et al., 2010). Untersuchungen der Genexpression aus Gehirnbiospien verdeutlichten ebenfalls Unterschiede zwischen gesunden und erkrankten Greyhounds; die detektierten Gene mit hochregulierter Expression spielen eine Rolle sowohl bei viralen Infektionen als auch bei Autoimmunerkrankungen (GREER et al., 2010a). Bisherige Untersuchungen auf mögliche Erreger als Ätiologie verliefen immer negativ (DALY et al., 2006).

Die besondere Verteilung der Läsionen unterscheidet die Greyhound-ME in histopathologischen Untersuchungen eindeutig von anderen Gehirnerkrankungen wie GME oder NME (TERZO et al., 2012). Histopathologisch zeigen sich fokale und diffuse Gliose mit perivaskulären Infiltraten mononukleärer Zellen im Nucleus caudatus und der grauen Substanz des Zerebrums und des vorderen Hirnstamms (CALLANAN et al., 2002; SHIEL et al., 2010). Erkrankte Greyhounds sind zwischen fünf und 18 Monate alt. Sie sind häufig lethargisch, zeigen ein verändertes Verhalten, Defizite in den Haltungs- und Stellreaktionen, Kreislaufen, Ataxie, Hyporexie und Gewichtsverlust. Die Erkrankung hat einen progressiven Verlauf. In der Studie von Shiel et al. (2010) verbesserten sich drei Hunde nur kurzzeitig unter Kortikosteroidgabe (SHIEL et al., 2010).

1.5. Idiopathisches generalisiertes Tremorsyndrom

Das Little-White-Shaker-Syndrom wird auch idiopathisches generalisiertes Tremorsyndrom oder auch Steroid-responsives Tremorsyndrom genannt (YAMAYA et al., 2004). Gewöhnlich erkranken jung-adulte (1 bis 5 Jahre) Hunde kleiner bis mittelgroßer Rassen (< 15 kg) mit weißer Fellfarbe (BURACKER & ROBERTSON, 2004; CHAVES et al., 2015). Hunde mit anderer Fellfarbe können jedoch ebenfalls an diesem Syndrom erkranken, dies erklärt auch die Namensvielfalt (HAZELL et al., 2011; WAGNER et al., 1997; YAMAYA et al., 2004). Betroffene Hunde zeigen einen akut beginnenden lokalisierten oder generalisierten Tremor, der häufig bei Aufregung an Stärke zunimmt (HAZELL et al., 2011). Die Ätiologie dieser Erkrankung ist bisher nicht bekannt, jedoch wird eine Assoziation des Syndroms zu einer milden Meningoenzephalitis, die

insbesondere das Zerebellum betrifft, angenommen (BURACKER & ROBERTSON, 2004). Im Liquor cerebrospinalis kann eine milde lymphozytäre Pleozytose nachweisbar sein, es gibt allerdings auch Hunde mit unverändertem Liquor. Untersuchungen auf mögliche Infektionserreger verlaufen immer negativ (SMITH & THACKER, 2004). Erkrankte Hunde sprechen meistens innerhalb weniger Tage auf eine immunsuppressive Therapie mit Glukokortikoiden an. Die Langzeitprognose wird als gut bis exzellent beschrieben, sodass sich dieses Syndrom deutlich von den Meningoenzephalitiden, die unter die Bezeichnung MUO fallen, differenziert (BURACKER & ROBERTSON, 2004; CHAVES et al., 2015; HAZELL et al., 2011; SMITH & THACKER, 2004).

2. Infektionskrankheiten als Ätiologie einer Meningoenzephalitis beim Hund

2.1. Überblick

Es gibt zahlreiche Erreger, die ursächlich für infektiöse Meningoenzephalitiden bei Hunden sein können. Eine frühzeitige adäquate Therapie, insbesondere bei bakteriellen Infektionen, ist essentiell für die Prognose des erkrankten Tieres, sodass die Diagnose von möglichen Pathogenen als Ätiologie eine zentrale Rolle in der neurologischen Diagnostik einnimmt (HAN et al., 2015). Aufgrund der vielen verschiedenen Krankheitsursachen für canine Meningoenzephalitiden sind Diagnostik und Therapie eine große Herausforderung. Eine spezifische Diagnose kann bei mindestens einem Drittel der Hunde nicht gestellt werden (TIPOLD, 1995).

Viren mit regional unterschiedlichem Auftreten wie das Canine Staupevirus („canine distemper virus“ (CDV)), das Frühsommermeningoenzephalitis-Virus (FSME, Flavivirus), West-Nile-Flavivirus (BOSCO-LAUTH & BOWEN, 2019), Aujeszky-Virus oder Tollwut-Virus (BARNES et al., 2003; KOTNIK et al., 2006; READ et al., 2005), können ursächlich für eine Meningoenzephalitis beim Hund sein. Des Weiteren können auch in Einzelfällen das Bornavirus (WEISSENBOCK et al., 1998), insbesondere bei Welpen auch das Canine Herpesvirus (JAGER et al., 2017), Canine Parainfluenzavirus (BAUMGÄRTNER et al., 1982) und das Parvovirus (MARENZONI et al., 2019) eine Rolle bei Meningoenzephalitiden spielen.

Auch bakterielle Meningoenzephalitiden und das Auftreten von intrakraniellen Empyemen beim Hund durch Erreger wie *Streptococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, anaerobe Bakterien, *Nocardia* spp., *Actinomyces* spp. oder *Brucella* spp. sind beschrieben (COSFORD, 2018; FORWARD et al., 2019; RADAELLI & PLATT, 2002). Bakterien können hämatogen als Folge einer Bakteriämie oder fortgeleitet von Infektions- und Eiterherden in der Umgebung (z. B. Bissverletzungen, Fremdkörper, sinunasale Infektionen, Otitis media und/oder interna) in das ZNS gelangen (BATHEN-NOETHEN et al., 2008b; DENNIS et al., 2005; DOW et al., 1988; RADAELLI & PLATT, 2002; RUDD et al., 2010). Meningoenzephalitiden sind vereinzelt auch bei Infektionen mit *Rickettsia* spp., *Ehrlichia canis*, *Babesia* spp., berichtet (BAJER et al., 2013; KAEWMONGKOL et al., 2016). Es gibt Fallberichte über an Anaplasmose erkrankte Hunde mit neurologischen Symptomen, jedoch werden Anaplasmen ebenso wie Borrelien als Ätiologie neurologischer Erkrankungen beim Hund sehr kontrovers diskutiert (BARTNER et al., 2018; EBERTS et al., 2011; JÄDERLUND et al., 2009).

Außerdem können verschiedenste Parasiten wie *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Angiostrongylus vasorum* verantwortlich für eine Meningoenzephalitis und neurologische Symptome beim Hund sein (DUBEY, 2003; GAROSI et al., 2010; GREDAL et al., 2011; GRIFFIN et al., 2008; LEPRI et al., 2011; LUNN et al., 2012). *Leishmania infantum* und *Hepatozoon* spp. kommen ebenfalls in Einzelfällen als Ätiologie einer Meningoenzephalitis in Betracht (DA COSTA OLIVEIRA et al., 2017; MARCHETTI et al., 2009). Parasitäre Meningoenzephalomyelitiden beim Hund sind u. a. auch durch *Encephalitozoon cuniculi* (SNOWDEN et al., 2009), *Trypanosoma* spp. (OGBU et al., 2017) und *Sarcocystis neurona* (DUBEY et al., 2015) beschrieben.

Pilzinfektionen durch z. B. *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatides*, *Aspergillus* spp., *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Cladophialophora bantiana*, *Sporobolomyces roseus*, *Fusarium* spp. sowie Prototheca-Infektionen des ZNS sind möglich (EVANS et al., 2004; KERL, 2003; LAVELY & LIPSITZ, 2005; MÁRQUEZ et al., 2012; O'TOOLE et al., 2003; SAEY et al., 2011; SALVADORI et al., 2008).

Im weiteren Verlauf des Literaturteils werden hier relevante Infektionskrankheiten als Ätiologie einer Meningoenzephalitis beim Hund näher erläutert.

2.2. Staupevirus

Das Staupevirus ist ein Morbillivirus aus der Familie der *Paramyxoviridae*. Der Erreger ist weltweit verbreitet und Karnivore gehören zum natürlichen Wirtsspektrum (BEINEKE et al., 2009; TIPOLD et al., 1992). Beim Hund verursacht das Staupevirus eine multisystemische Erkrankung (TIPOLD et al., 1992). Erkrankte Hunde zeigen gewöhnlich respiratorische sowie gastrointestinale Symptome und Hyperkeratose der Zehenballen (BURAGOHAİN et al., 2017). Sie sind immunsupprimiert und können an einer demyelinisierenden Leukoenzephalomyelitis (DL) erkranken (BEINEKE et al., 2009). Bei Letzterer können Hunde Krampfanfälle, Kreislaufen, Ataxien, Muskelzittern und Paralyse (BURAGOHAİN et al., 2017) sowie Myoklonien und ein Vestibularsyndrom entwickeln (MARCONDES et al., 2017). Der Myoklonus ist nahezu pathognomonisch für die Staupeerkrankung (TIPOLD et al., 1992). Die Dauer, der Schweregrad und die Klinik einer Staupevirusinfektion variieren in Abhängigkeit von Virulenz, Alter und Immunkompetenz stark (TIPOLD et al., 1992). Bei Hunden mit einer intakten humoralen und zellassozierten Immunantwort ist eine Elimination ohne schwere klinische Symptome möglich, sollte jedoch eine adäquate Immunabwehr fehlen, sind akute, häufig fatale Verlaufsformen die Regel. Bei der DL unterscheidet man die akute Phase von einer chronischen Phase. In der Frühphase kommt es direkt durch das Virus zu Zellschädigungen und zur Infiltration von CD8+-zytotoxischen T-Zellen. Dies geht mit einer Hochregulation von proinflammatorischen Zytokinen und gleichzeitig fehlender Antwort von immunmodulierenden Zytokinen einher. In der späten, chronischen Phase führen eine CD4+-abhängige Hypersensitivitätsreaktion vom verzögerten Typ sowie CD8+-T-Zellen zu einem Verlust von Myelin (BEINEKE et al., 2009). Morphologisch zeigen diese Vorgänge Ähnlichkeiten zu humanen demyelinisierenden Erkrankungen wie MS (BAUMGÄRTNER & ALLDINGER, 2005). In der Studie von Bathen-Nöthen et al. stellten sich in der Kernspintomographie in T2-gewichteter Sequenz hyperintense Läsionen und Kontrastverlust zwischen Weißer und Grauer Substanz im Zerebellum und/oder Hirnstamm dar. Diese Veränderungen bestätigten sich in der histopathologischen Untersuchung als Demyelinisierungen (BATHEN-NOETHEN et al., 2008b). Die PCR gilt als Goldstandardverfahren zur Diagnosestellung von Staupe (ATHANASIOU et al., 2018). Urin, Tonsillen, Konjunktivalabstriche und Vollblut

haben eine hohe Viruslast, sodass sich derartige Proben besonders gut für die Detektion von Staupevirus-RNA eignen (ELIA et al., 2006). Bei Hunden mit Staupevirusinfektion können, wahrscheinlich bedingt durch die Immunsuppression, häufig Koinfektionen wie Neosporose, Toxoplasmose, canines Adenovirus oder canines Parvovirus diagnostiziert werden (HEADLEY et al., 2018; TIPOLD et al., 1992). Die Therapie erfolgt rein symptomatisch (TIPOLD et al., 1992). In einer In-vitro-Studie von Wu et al. konnte ein antiviraler Effekt von Kaffeesäure gegen das Morbillivirus gezeigt werden. Die zusätzliche Gabe von Ribavirin (Virostatikum) führte zu einer Verstärkung dieses Effektes (WU et al., 2017). Möglicherweise stellen diese Therapieansätze Ausblicke für die Zukunft dar. Generell hat die Staupeviruserkrankung des Hundes eine schlechte Prognose. Hunde mit neurologischen Symptomen sterben häufig. In seltenen Fällen überleben betroffene Hunde und behalten lebenslang Symptome zurück wie beispielsweise einen persistierenden Myoklonus (BEINEKE et al., 2009). Als Präventionsmaßnahme gilt die Lebendimpfung gegen das Staupevirus. In den letzten Jahren sind jedoch vermehrt auch geimpfte Hunde erkrankt. Eine Begründung hierfür ist, dass es zahlreiche genetische Varianten des Virus gibt (ANIS et al., 2018; MARCONDES et al., 2017; SIMON-MARTÍNEZ et al., 2008). Die Studienergebnisse von Anis et al. bestätigten die Notwendigkeit eines Updates der Staupevirus-Vakzine (ANIS et al., 2018).

2.3. FSME-Virus

Das Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus (FSME), auch „tick-borne encephalitis virus“ (TBE) genannt, ist ein Virus aus dem Genus *Flavivirus* der Familie *Flaviviridae*. Es werden drei Subtypen unterschieden: Das Europäische Virus („European virus“), das Sibirische Virus („Siberian Virus“) und das Fernöstliche Virus („Far Eastern virus“) (PFEFFER & DOBLER, 2011). Das Europäische Virus wird hauptsächlich von der Zeckenart *Ixodes ricinus* während des Blutsaugens übertragen (CHOMEL, 2011). Es handelt sich um eine saisonale Erkrankung in Abhängigkeit von der Zeckenaktivität. Am häufigsten tritt die Erkrankung zwischen April bis Juli und September bis Oktober auf (LESCHNIK et al., 2002). Die Infektion mit dem Europäischen Virus ist durch einen zweiphasigen Krankheitsverlauf gekennzeichnet. Die Inkubationszeit beim Menschen beträgt ein bis zwei Wochen (MOSHKIN et al., 2009). Beim Hund kann sie kürzer oder länger als zwei Wochen sein (GRESIKOVA et al., 1972). In der ersten virämischen Phase

zeigen Betroffene Fieber, Unwohlsein, Kopfschmerzen, manchmal gastrointestinale Symptome, Leukopenie, Thrombozytopenie und erhöhte Leberenzyme. Die Phase dauert bis zu vier Tage an. Anschließend folgt eine symptomfreie Woche. In der zweiten Phase treten Symptome einer Meningitis, Meningoenzephalitis, Meningoenzephalomyelitis oder Meningoenzephaloradikulitis auf. Das Virus gelangt über die Blut-Hirn-Schranke oder die olfaktorischen Neurone ins ZNS (DÖRRBECKER et al., 2010). Beim Mensch tritt in 25 % der Fälle diese zweite Phase auf (MOSHKIN et al., 2009). Hunde sind weniger empfänglich für das Virus als der Mensch. Sie gelten als unbeabsichtigte Wirte. Wenn Hunde erkranken, präsentieren sie sich mit einem ähnlichen Krankheitsverlauf, jedoch scheinen sie häufig schwerer betroffen zu sein (PFEFFER & DOBLER, 2011). An FSME erkrankte Hunde haben gewöhnlich sehr hohes Fieber, teilweise bis 41,4 °C (PFEFFER & DOBLER, 2011; REINER & FISCHER, 1998; TIPOLD et al., 1993). Die neurologischen Symptome der erkrankten Hunde lassen auf eine multifokale Erkrankung des Nervensystems schließen und sind u.a. verändertes Verhalten und Bewusstsein, Tetraparesen-/plegien, Ataxie, Myoklonien, Vestibularsyndrom, zervikale spinale Schmerzen, Fazialisparesen, Aniskorie und Miosis (BAJER et al., 2013; KLIMES et al., 2001; PFEFFER & DOBLER, 2011; REINER & FISCHER, 1998). Es gibt einen Fallbericht über eine Optikusneuritis bei einem Hund mit FSME als alleiniges Symptom (STADTBAUMER et al., 2004). In der Kernspintomographie stellen sich sowohl beim Menschen als auch beim Hund die Läsionen bilateral symmetrisch in der Grauen Substanz des Thalamus, im Hippocampus, im Hirnstamm, in den Basalnuklei und im Ventralhorn des Rückenmarks dar. Die Läsionen sind hyperintens in der T2-gewichteten Sequenz und hypo- bis isointens in der T1-gewichteten Sequenz und ohne Kontrastmittelanreicherung. Allerdings sind auch unauffällig Befunde in der Kernspintomographie möglich (BECKMANN et al., 2014, 2016; BENDER et al., 2005; MARJELUND et al., 2004; SIEVERT et al., 2016). Im Liquor cerebrospinalis sind eine mononukleäre Pleozytose sowie erhöhtes Protein feststellbar (BECKMANN et al., 2016; TIPOLD, 1995). In der Studie von Beckmann et al. ergab die histopathologische Untersuchung folgende Befunde: Milde bis schwere multifokale neuronale und axonale Degeneration und Nekrose assoziiert mit der Aktivierung von Mikroglia (Neurophagie) und der Anwesenheit von Gliaknötchen (BECKMANN et al., 2016). Die Diagnose einer

FSME beim Hund mittels Serologie („enzyme-linked immunosorbent assay“ (ELISA), IFAT) kann aufgrund der hohen Seroprävalenz in der Hundepopulation schwierig sein (CSÁNGÓ et al., 2004; KLAUS et al., 2011; SIEVERT et al., 2016). In einer Studie aus Österreich wiesen 24 % der untersuchten Hundesera Antikörper gegen das FSME-Virus ohne klinische Symptome auf (CHOMEL, 2011). In der Studie von García-Bocanegra hatten Jagdhunde eine signifikant höhere Seropositivität (GARCÍA-BOCANEGRA et al., 2018). Die Diagnose wird also erst durch die Detektion von IgM-Antikörpern oder einen vierfachen Anstieg des IgG-Antikörpers in einem Serumpaar (2 Wochenabstand) bestätigt (PFEFFER & DOBLER, 2011). Alternativ ist der direkte Antigennachweis mittels PCR-Verfahren möglich. Ein mögliches Problem stellt hierbei die unspezifische Symptomatik zum Zeitpunkt der Virämie dar, sodass entsprechende Untersuchungen meistens zu spät eingeleitet werden (PFEFFER & DOBLER, 2011; SCHWAIGER & CASSINOTTI, 2003). Erkrankte Hunde werden symptomatisch behandelt (LESCHNIK et al., 2002; PFEFFER & DOBLER, 2011). Die Verabreichung von Glukokortikoiden wird kontrovers diskutiert. Es wird angenommen, dass diese Therapie in der frühen Phase die Virusaktivität verlängert und somit eher kontraindiziert ist (TIPOLD et al., 1993). In der Rekonvaleszenzphase könnte Kortison allerdings die Symptome schneller verbessern (REINER & FISCHER, 1998). Ein entscheidender Bestandteil der Therapie ist die intensive Physiotherapie (LESCHNIK et al., 2002). Die Prognose eines an FSME-Virus erkrankten Hundes ist als vorsichtig anzugeben. Wenn der Hund die erste Woche überlebt, wird die Prognose als besser eingeschätzt (LESCHNIK et al., 2002; PFEFFER & DOBLER, 2011). Für die Verhinderung einer FSME-Erkrankung ist eine bestmögliche Prävention von Zeckenstichen entscheidend (SHAW et al., 2001). In der Humanmedizin gibt es als weitere Präventionsmaßnahme eine Impfung gegen das Virus (DONOSO MANTKE et al., 2011). Pfeffer et al. fordern ebenfalls den Einsatz von Impfungen bei Hunden aus endemischen Gebieten. Die bisher auf dem Markt vorkommenden Impfstoffe verursachten in Studien keine Nebenwirkungen beim Hund (PFEFFER & DOBLER, 2011). Insgesamt wird die Häufigkeit von FSME-Erkrankungen in der Humanmedizin als steigend beschrieben, hierdurch entsteht der Verdacht, dass diese Erkrankung in Zukunft auch beim Hund eine größere Bedeutung einnehmen

könnte (CHOMEL, 2011; DONOSO MANTKE et al., 2011; JAENSON et al., 2012; ROBERT KOCH-INSTITUT, 2018; SÜSS, 2011).

2.4. Bakterielle Meningoenzephalitiden/Intrakranielles Empyem

Bakterielle Meningoenzephalitiden und intrakranielle Empyeme beim Hund sind eher eine Seltenheit. Jedoch handelt es sich dann bei erkrankten Hunden häufig um neurologische Notfälle, die eine schnelle und aggressive Therapie erfordern (FORWARD et al., 2019; RADAELLI & PLATT, 2002). Eine hämatogene Infektion des ZNS über die mittlere Zerebralarterie (Versorgungsgebiete Choroid plexus der Lateralventrikel und Kapillaren des zerebralen Kortex) ist am häufigsten (RADAELLI & PLATT, 2002). Aufsteigende Infektionen ausgehend von benachbarten Strukturen wie Innenohr, Lamina cribrosa, Sinus und Augen sowie Migration von Fremdkörpern (Pflanzenteile) sind möglich (DENNIS et al., 2005; FORWARD et al., 2019). Auch das direkte Einbringen von Bakterien ins ZNS durch Bissverletzung im Kopfbereich, Traumata oder iatrogen durch die Liquorentnahme ist beschrieben (FORWARD et al., 2019). In einem aktuellen Fallbericht wird der Zusammenhang zwischen Parodontitis und Meningoenzephalitis diskutiert (TUN et al., 2018). Zahlreiche Bakterien wie *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Nocardia* spp., *Pasteurella* spp., *Actinomyces* spp., *Fusobacterium* spp., *Bacteroides* spp. kommen als Ätiologie einer bakteriellen Meningoenzephalitis und Empyem infrage (DOW et al., 1988; FORWARD et al., 2019; HEADLEY et al., 2017; RADAELLI & PLATT, 2002; SONG et al., 2015; TUN et al., 2018). In einer retrospektiven Auswertung bakterieller Meningoenzephalitiden von Radaelli et al. waren die am häufigsten nachgewiesenen Erreger *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp. und *Klebsiella* spp. (23 Hunde) (RADAELLI & PLATT, 2002). In einer Untersuchung von Hunden mit intrakraniell Empyem waren gehäuft jüngere Tiere (median 2 Jahre alt) vertreten (FORWARD et al., 2019). Bei einer Auswertung von bakteriellen Meningoenzephalomyelitiden ergab sich keine Altersprädisposition (RADAELLI & PLATT, 2002). Erkrankte Hunde sind nicht selten deutlich neurologisch auffällig und präsentieren sich mit einem akut progressiven Krankheitsbeginn (FORWARD et al., 2019). Sie können ein verändertes Bewusstsein, Gehirnnervenausfälle, Paresen, Ataxie und Anfälle sowie spinale Schmerzen/zervikale Hyperästhesie zeigen (DENNIS et al., 2005; HEADLEY et al., 2017; RADAELLI & PLATT, 2002; SONG et al., 2015). Fieber und Blutbildveränderungen (Leukozytose mit

Linksverschiebung) können, müssen aber nicht auftreten. Im Liquor cerebrospinalis („cerebrospinal fluid“ (CSF)) sind typischerweise eine neutrophile Pleozytose und erhöhtes Protein nachweisbar. Intrazelluläre Bakterien in der Liquorzytologie mit entsprechenden Liquorveränderungen gelten als diagnostisch für eine bakterielle Meningoenzephalitis. Der Nachweis eines spezifischen Erregers mittels Liquorkultur oder im Falle eines Empyems mittels bakteriologischer Kultur einer entnommenen Probe bei Kraniotomie gelingt nur selten. Forward et al. diskutieren hier als möglichen Grund die in den meisten Fällen stattgefundene Vorbehandlung der Tiere mit Antibiotika (FORWARD et al., 2019; RADAELLI & PLATT, 2002). Das klinische Bild (spinale Schmerzen, Fieber), Blutbildveränderungen (Leukozytose mit Linksverschiebung) und die Veränderungen im Liquor cerebrospinalis (neutrophile Pleozytose) einer bakteriellen Meningitis und einer Steroid-Responsiven Meningitis-Arteriitis (SRMA) können identisch sein. Diese beiden Erkrankungen müssen also jeweils differentialdiagnostisch berücksichtigt werden (SONG et al., 2015). Im MRT stellt sich ein intrakranielles Empyem mit hyperintensem Signal in der T2-gewichteten und mit hypointensem Signal in der T1-gewichteten Sequenz dar. Kontrastmittel reichert sich peripher oder diffus innerhalb der Läsion an (T1 post Kontrastmittel) (SONG et al., 2015). Bakterielle Meningoenzephalitiden und Empyeme werden meistens mit Doppelantibiose für mehrere Wochen behandelt, wobei bei letzterem häufig zusätzlich eine Kraniotomie mit Dekompression notwendig ist. Die Gabe von Kortikosteroiden wird kontrovers diskutiert (FORWARD et al., 2019; MICKELSON et al., 2015). Hunde mit intrakraniell Empyem scheinen bei adäquater Therapie eine gute Prognose zu haben (FORWARD et al., 2019; SONG et al., 2015). Bei den bakteriellen Meningoenzephalitiden unterscheiden sich die Angaben zur Prognose in der Literatur. In einer retrospektiven Auswertung sind 37 % der Hunde trotz Therapie gestorben (19 von 51 Hunden) (RADAELLI & PLATT, 2002). Andere Autoren berichten von einem guten Krankheitsverlauf mit vollständiger Genesung (SONG et al., 2015; TUN et al., 2018).

2.5. *Toxoplasma gondii* und *Neospora caninum*

Toxoplasma gondii gehört zu den Protozoen. Katzen sind Endwirte des Erregers. Alle warmblütigen Tiere sowie der Mensch dienen als Zwischenwirte. Die Infektion erfolgt oral über die Aufnahme von Oozysten aus Katzenkot oder infiziertem Gewebe von Zwischenwirten sowie durch Übertragung von Endozoiten

via Plazenta (TENTER, 1999). *Toxoplasma gondii* ist weltweit verbreitet. Straßenhunde werden als potentielles Reservoir dieses Einzellers angenommen und stellen damit möglicherweise ein Risiko im Hinblick des Zoonosepotentials dar (KÜSTER DE PAULA DREER et al., 2013). Gewöhnlich erkranken eher junge und immunsupprimierte Tiere an einer Toxoplasmose. Es ist selten, dass die klinische Hundetoxoplasmose von einer Primärinfektion resultiert. Häufig sind andere Grunderkrankungen wie eine Staupevirusinfektion oder andere immunsupprimierende Erkrankungen ursächlich (DUBEY et al., 1989; TIPOLD et al., 1992). Man unterscheidet drei klinische Ausprägungen der Toxoplasmose: Die generalisierte Toxoplasmose, die ZNS-Toxoplasmose und die Radikuloneuritis (DENNIS, 2014). Auch *Neospora caninum* gehört zu den Kokzidien. Der Hund ist der Endwirt. Das Rind ist einer der wichtigsten Zwischenwirte. Genau wie *Toxoplasma gondii* ist *Neospora caninum* ein obligat intrazellulärer Parasit (OJO et al., 2014). Die Neosporose gilt weltweit als eine schwerwiegende Erkrankung bei Rindern und Hunden. Es gibt drei infektiöse Stadien: Tachyzoiten, Gewebszysten und Oozysten. Die Gewebszysten werden primär im ZNS gefunden. Die Übertragung erfolgt oral oder transplazentar. Es gibt bisher keine Hinweise auf eine Übertragbarkeit auf den Menschen. Die Erkrankung beim Hund kann lokal oder generalisiert, nahezu jedes Organ betreffend, auftreten. Hunde jeden Alters können erkranken (DUBEY, 2003), allerdings sind Welpen gewöhnlich schwerer betroffen (BARBER & TREES, 1996). Die meisten Fallberichte stammen vom Labrador Retriever, Boxer, Greyhound, Golden Retriever und Basset Hound (DUBEY & LINDSAY, 1996), sodass eine Rasseprädisposition diskutiert wird (GAROSI et al., 2010).

Toxoplasmose und Neosporose zeigen sich klinisch ähnlich (THOMAS, 1998). Neurologisch erkrankte Hunde können progressive Paraparesen der Hintergliedmaßen mit Muskelatrophien und Muskelkontrakturen (starre Hyperextension), insbesondere Welpen, sowie Tetraparesen, Ataxien, Kopfschiefhaltung, Kopftremor, reduziertes Bewusstsein, ein zentrales Vestibularsyndrom und epileptische Anfälle zeigen (DUBEY et al., 1998, 2006; GAROSI et al., 2010; KNOWLER & WHEELER, 1988; MANDRIOLI et al., 2015; UGGLA et al., 1989). Bei Mariscoli et al. wiesen Hunde mit einer Protozoen-Enzephalitis die höchste Inzidenzrate für das Auftreten von epileptischen Anfällen auf (MARISCOLI & JAGGY, 1997). Im Liquor liegen meistens entzündliche

Veränderungen im Sinne einer mononuklearen Pleozytose oder einer eosinophilen Pleozytose mit erhöhtem Protein vor. Es gibt auch einen Fallbericht mit unauffälligen Liquorbefunden (GAROSI et al., 2010; WINDSOR et al., 2009). In der Kernspintomographie werden fokale, tumorähnliche Läsionen sowie T2-Hyperintensitäten des Vermis und der Kleinhirnhemisphären, Kleinhirnatrophie, Kontrastmittelanreicherungen der Meningen, T2-Hyperintensitäten der Kaumuskulatur und Kontrastmittelanreicherung beschrieben (DENNIS, 2014; GAROSI et al., 2010).

Serologische Tests sind die am häufigsten angewendeten diagnostischen Methoden für *Toxoplasma gondii* (PIERGILI, 2004). Da jedoch viele klinisch gesunde Tiere einen hohen *Toxoplasma*-Antikörpertiter im Serum haben, bestätigt ein einzelner positiver Titer keine Toxoplasmose (GREENE & CARMICHAEL, 2015; KÜSTER DE PAULA DREER et al., 2013). Die Detektion von *Toxoplasma gondii*-spezifischem Antigen oder der Nachweis von Antikörpern im Liquor cerebrospinalis ist akkurater (THOMAS, 1998), wobei der Nachweis mittels PCR negativ sein kann, wenn es sich um eine „low-grade“ Infektion handelt oder das getestete Tier vorbehandelt ist (PIERGILI, 2004). Falls das Tier an einer Myositis erkrankt ist, ist eine Muskelbiopsie sinnvoll (BARBER et al., 1996). *Neospora caninum* und *Toxoplasma gondii* können unter dem Lichtmikroskop nicht unterschieden werden, jedoch mittels Elektronenmikroskop (PATITUCCI et al., 1997). Ein hoher Serumantikörper für *Neospora caninum* bestätigt bei passender Symptomatik den Verdacht. Gewöhnlich sind die IgG Immun-Fluoreszenz-Antikörper-Test (IFAT)-Titer $\geq 1:400$ bei Hunden mit bestätigter Neosporose (BARBER & TREES, 1996; DUBEY et al., 1998). Ein direkter Nachweis kann mittels PCR aus Liquor erfolgen (GAROSI et al., 2010; ISHIGAKI et al., 2012). In der histopathologischen Untersuchung sind häufig multifokale, nicht-eitrige nekrotisierende Meningoenzephalomyelitis mit Malazie und reaktiver Gliose, Polyradikuloneuritis und Polymyositis feststellbar (DUBEY et al., 1990, 2006; GAROSI et al., 2010; MANDRIOLI et al., 2015; PATITUCCI et al., 1997; UGGLA et al., 1989).

An einer Toxoplasmose oder Neosporose erkrankte Hunde werden häufig mit einer Kombinationstherapie aus Clindamycin, Trimethoprim/Sulfadiazin und/oder Pyrimethamin behandelt (BARBER & TREES, 1996; DUBEY et al., 1998; GAROSI et al., 2010). Neuere Therapieansätze (BKI-Inhibitoren, „bumped kinase

inhibitors“) befassen sich mit Verhinderung der Erregerinvasion in die Wirtszelle und der damit verbundenen Replikation (OJO et al., 2014). Das Ansprechen auf die jeweilige Therapie hängt von dem Krankheitsstadium ab, in der sich das betroffene Tier zu Beginn der Behandlung befindet (DUBEY & LINDSAY, 1996). Die Gewebsschädigung steht nicht unbedingt in direktem Zusammenhang mit der Parasitenlast, sondern ist vermutlich abhängig von der Immunantwort des individuellen Tieres (GAROSI et al., 2010). Grundsätzlich ist die Prognose als vorsichtig einzustufen, da Rückfälle häufig vorkommen (GAROSI et al., 2010; WINDSOR et al., 2009). In einigen Fallberichten verbesserte sich der neurologische Status des Hundes, teilweise gelang auch eine vollständige Genesung (GAROSI et al., 2010; KNOWLER & WHEELER, 1988). Die Prognose gilt als schlecht für Hunde mit Hyperextension der Hintergliedmaßen (THOMAS, 1998). Barber et al. geben die erfolgreiche Behandlung im Sinne einer vollständigen Behebung aller klinischer Symptome mit weniger als 40 % an (BARBER & TREES, 1996).

2.6. *Angiostrongylus vasorum*

Angiostrongylus vasorum, auch als Französischer Herzwurm bekannt, ist ein Fadenwurm (Nematode), der beim Haushund und wilden Karnivoren, insbesondere dem Fuchs, vorkommt. Zwischenwirte sind Schnecken (DENK et al., 2009; GREDAL et al., 2011). In endemischen Gebieten ist der Parasit als Ursache von Erkrankungen des Respirationstraktes, vor allem bei jungen Hunden, gut bekannt (BOLT et al., 1994; CHAPMAN et al., 2004; KOCH & WILLESEN, 2009). Der Parasit befindet sich gewöhnlich in den Pulmonalarterien und dem rechten Herzventrikel (CONBOY, 2011). Erkrankte Hunde zeigen Husten, Leistungsinsuffizienz, Dyspnoe und Rechtsherzversagen (GREDAL et al., 2011). Durch den Parasiten kann es zu Funktionsstörungen der Hämostase und sekundär zu schweren Hämorrhagien kommen. Der genaue pathophysiologische Mechanismus ist nicht geklärt, jedoch geht man davon aus, dass eine disseminierte intravasale Koagulopathie (DIC), assoziiert mit dem Verbrauch von Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren, verantwortlich ist (CURY et al., 2002; KOCH & WILLESEN, 2009; RAMSEY et al., 1996). Es kann auch zu Blutungen ins ZNS kommen. Daraus resultieren akut auftretende neurologische Symptome wie epileptische Anfälle, Gehirnnervenausfälle, zentrale Blindheit, Vestibularsyndrom, Ataxien und Plegien (DENK et al., 2009; GAROSI et al., 2005; GREDAL et al.,

2011; WESSMANN et al., 2006). Das Fehlen klinischer Symptome einer hämostatischen Dysfunktion oder respiratorischer Symptome schließt eine *Angiostrongylus vasorum*-Infektion als Ursache der ZNS-Symptome nicht aus (GREDAL et al., 2011). Neben Blutungen ins ZNS sind auch Fehlwanderungen der Larven mit Folge der Schädigung von Nervengewebe beschrieben (LEPRI et al., 2011; PERRY et al., 1991). Des Weiteren kann *Angiostrongylus vasorum* beim Hund eine ZNS-Entzündung im Sinne einer Meningitis oder Meningoenzephalitis verursachen (NEGRIN et al., 2008; PERRY et al., 1991). Entzündliche Veränderungen werden auch im Rückenmark beobachtet (REIFINGER & GRESZL, 1994). In der Pathologie sind multifokale, granulomatöse Entzündungsherde (Makrophagen, Lymphozyten, Plasmazellen, multinukleäre Riesenzellen) verteilt im Neuroparenchym detektiert worden, die vereinzelt zentralgelegene Wurmlarven beinhalten (DENK et al., 2009). Das *Baermann*-Auswanderungsverfahren ist die sicherste Methode für die Detektion von L1-Larven aus dem Kot. Allerdings wird eine 3-Tages-Sammelkotprobe zur Diagnostik empfohlen, da der Parasit intermittierend ausgeschieden wird (CONBOY, 2011; GREDAL et al., 2011). Ergänzend oder alternativ können Liquor und Proben einer bronchoalveolären Spülung zur Diagnostik genutzt werden (MOEREMANS et al., 2011). Auch andere Nachweisverfahren wie PCR-Untersuchungen oder ELISA-Verfahren sind möglich (CONBOY, 2011; SCHNYDER et al., 2014). Der „in-house“-Schnelltest (Angio Detect™ Test, IDEXX Laboratories) zum Nachweis von zirkulierendem Antigen weist ebenfalls eine gute Sensitivität und sehr hohe Spezifität auf (SCHNYDER et al., 2014). Die Therapie erfolgt mit Anthelminthika wie Moxidectin, Milbemycin oxime oder Fenbendazol und symptomatisch (HELM et al., 2010; MOEREMANS et al., 2011). Die Prognose hängt stark von der Ausprägung der klinischen Symptome bei Vorstellung des Hundes ab. Die Erkrankung kann einen fatalen Verlauf haben und zu einem akuten Tod führen (HELM et al., 2010).

3. Diskospondylitis beim Hund

Eine Diskospondylitis ist eine infektiös-entzündliche Erkrankung einer Bandscheibe, der angrenzenden vertebrealen Endplatten und der Wirbelkörper (THOMAS, 2000; TIPOLD & STEIN, 2010). Die häufigste Ursache einer Diskospondylitis beim Hund ist *Staphylococcus pseudintermedius*. Daneben gibt es

zahlreiche andere ursächliche Bakterien wie *Streptococcus* spp., *Escherichia coli* und *B. canis* (BURKERT et al., 2005; PLESSAS et al., 2013). Außer bakterieller Infektionen, sind auch Pilzinfektionen wie *Aspergillus fumigatus* als Ursache einer Diskospondylitis möglich (DALLMAN et al., 1992). Meistens handelt es sich um eine hämatogene Infektion ausgehend von anderen Infektionsherden (beispielsweise Zystitis), aber auch die Migration von Fremdkörpern oder Bissverletzungen und Traumata sind als Ursache einer Diskospondylitis beschrieben (BURKERT et al., 2005; KIRBERGER, 2016; KORNEGAY & BARBER, 1980). Rüden großer Rassen haben ein höheres Risiko an einer Diskospondylitis zu erkranken im Vergleich zu Hündinnen (BURKERT et al., 2005; KORNEGAY & BARBER, 1980; RUOFF et al., 2018). Ruoff et al. benennen eine Kortikosteroidtherapie ebenfalls als zusätzlichen Risikofaktor einer Diskospondylitiserkrankung (RUOFF et al., 2018). In der Studie von Kornegay et al. waren erkrankte Hunde im Median fünf Jahre alt (KORNEGAY & BARBER, 1980). Burkert et al. bestätigen das gehäufte Vorkommen von Diskospondylitis bei älteren Hunden (BURKERT et al., 2005). Es gibt allerdings auch Studien, die das Vorkommen von Diskospondylitis bei sehr jungen Hunden (< 6 Monaten) beschreiben. Hier waren häufig Bissverletzungen, stumpfe Traumata oder systemische Erkrankungen ursächlich (KIRBERGER, 2016). Erkrankte Tiere werden mit reduziertem Allgemeinbefinden, Anorexie und neurologischen Auffälligkeiten wie spinale Schmerzen bis hin zu Paralysen vorgestellt (KORNEGAY & BARBER, 1980). Bei zwei Hunden ist das Auftreten von Aggressionen als alleiniges Symptom berichtet (AFFENZELLER et al., 2017). Die Diagnose einer Diskospondylitis wird mittels Bildgebung, Röntgen, CT oder MRT gestellt. Im Röntgen sind die typischen Veränderungen wie Knochenlyse der Wirbelkörperplatten und Subluxationen der angrenzenden Wirbel erst zwei bis vier Wochen nach Beginn der klinischen Symptomatik zu sehen. In der Früherkennung einer Diskospondylitis hat die Kernspintomographie hier Vorteile (GENDRON et al., 2012; GONZALO-ORDEN et al., 2000; KIRBERGER, 2016; SHAMIR et al., 2001; STERN et al., 2007). Zum Nachweis des verantwortlichen Erregers werden bakteriologische Kulturen von Urin, Blut und chirurgisch entnommenen Proben des betroffenen Gewebes angelegt. Es gibt auch die Möglichkeit mittels perkutaner Feinnadelaspiration unter Fluoroskopie Bandscheibenmaterial für eine bakteriologische Kultur zu gewinnen (FISCHER et

al., 1997; KORNEGAY & BARBER, 1980). Eine Diskospondylitis wird mit antibiotischer Langzeittherapie behandelt. Bei Bildung von Empyemen im Wirbelkanal oder bei Abszessbildung kann eine zusätzlich chirurgische Intervention mit Kürettage und Hemilaminektomie notwendig sein (BURKERT et al., 2005; CHEN et al., 2019; KORNEGAY & BARBER, 1980). Eine *Brucella canis*-Diskospondylitis benötigt ein besonderes Management, vor allem im Hinblick auf die Gefahr chronischer Infektionen und das mögliche Zoonosepotential dieses Erregers (CARMICHAEL et al., 1984; COSFORD, 2018; GREENE & CARMICHAEL, 2015).

4. *Brucella canis*: Vorkommen, Klinik, Diagnostik und Therapie

B. canis ist ein gramnegatives, fakultativ intrazelluläres Bakterium. 1966 wurde das Bakterium in einer Beagle-Zucht mit Reproduktionsstörungen isoliert (CARMICHAEL, 1966; CARMICHAEL & GEORGE, 1976). Es kommt in zahlreichen Regionen der Welt vor. Es ist endemisch im Süden der USA, in Zentral- und Südamerika sowie Mexiko vertreten (BROWER et al., 2007; FLORES-CASTRO et al., 1977; KEID et al., 2017; KRUEGER et al., 2014; KÜSTER DE PAULA DREER et al., 2013). Auch in Kanada ist sein Vorkommen belegt (COSFORD, 2018). Zahlreiche Fallberichte stammen aus Asien (China, Japan, Indien) und Afrika (Nigeria, Zimbabwe) (BROWER et al., 2007; CADMUS et al., 2011; CHINYOKA et al., 2014; DI et al., 2014; YOAK et al., 2014). In Australien gilt *B. canis* als ein exotischer Erreger, lediglich in Neuseeland ist das Bakterium bisher noch nicht beschrieben (GARDNER & REICHEL, 1997; MOR et al., 2016; ROVID SPICKLER, 2018). Im Jahre 1967 wurde letztmalig eine Infektion einer deutschen Beagle-Zucht belegt und 2003 von einer *B. canis*-Infektion eines Rüden mit Orchitis und Epididymitis berichtet (NÖCKLER et al., 2003; VON KRUEDENER, 1976). In anderen europäischen Ländern wie Schweden (HOLST et al., 2012; KADEN et al., 2014), England (MORGAN et al., 2017; TAYLOR et al., 1980), Österreich (HOFER et al., 2012), Italien (CORRENTE et al., 2010), Ungarn (GYURANECZ et al., 2011) und der Schweiz (EGLOFF et al., 2018) sind ebenfalls einzelne *B. canis*-Infektionen dokumentiert. Es wird angenommen, dass Länder mit einer hohen Zahl an Straßenhunden größere Probleme mit dem Vorkommen von *B. canis*-Infektionen haben und diese Hunde womöglich als

Erregerreservoir dienen (KÜSTER DE PAULA DREER et al., 2013; REYNES et al., 2012; YOAK et al., 2014).

B. canis kann bei Hündinnen Spätaborte, Totgeburten und Infertilität verursachen (HOLLETT, 2006; HOLST et al., 2012; KEID et al., 2017; WANKE, 2004). Selten werden auch lebende Welpen von infizierten Hündinnen geboren. Meistens sterben diese jedoch kurze Zeit nach der Geburt (CARMICHAEL & KENNEY, 1970). Bei Rüden können Orchitis, Epididymitis, Prostatitis und Infertilität auftreten (ANDERSON & BINNINGTON, 1983; CORRENTE et al., 2010; GEORGE & CARMICHAEL, 1984). Die häufigste Manifestation einer *B. canis*-Infektion außerhalb des Genitaltraktes ist die Diskospondylitis (ANDERSON & BINNINGTON, 1983; CORRENTE et al., 2010; HENDERSON et al., 1974; HOLST et al., 2012). Andere Manifestationen sind eine generalisierte Lymphadenopathie, Augenentzündungen (Uveitis) sowie seltener Osteomyelitis und Meningoenzephalitis (CARMICHAEL & KENNEY, 1970; LEDBETTER et al., 2009; SMEAK et al., 1987).

B. canis verursacht beim Hund eine lebenslange Infektion mit intermittierender Ausscheidung des Erregers (CARMICHAEL et al., 1984; GREENE & CARMICHAEL, 2015). Vaginalsekret, Abortmaterial, Sperma und Urin gelten als besonders kontagiös (CARMICHAEL & JOUBERT, 1988; SERIKAWA et al., 1981; TAQUES et al., 2016). Die Infektion erfolgt über die Mukosa des Genitaltraktes, des Oropharynx oder der Konjunktiven (CARMICHAEL & KENNEY, 1970).

Der Nachweis einer *B. canis*-Infektion ist schwierig. Die serologischen Nachweisverfahren liefern häufig aufgrund der Ähnlichkeit der Oberflächen-Antigene von *B. canis* und anderen gramnegativen Bakterien falsch positive Ergebnisse (CARMICHAEL et al., 1984). Außerdem ist es möglich, dass frühe Infektionen nicht detektiert werden oder infizierte Tiere gar keine oder erst sehr spät eine Serokonversion aufweisen (KAUFFMAN et al., 2014; KEID et al., 2007a). Die Erregerisolation ist demnach der einzige Beweis einer caninen Brucellose (CARMICHAEL & SHIN, 1996; KEID et al., 2009; WANKE, 2004). Proben für eine bakteriologische Kultur können aus Blut, Sperma, Vaginalsekret, Urin oder Biopsien gewonnen werden (CARMICHAEL & JOUBERT, 1988). Neben der Kultur stellt die PCR eine alternative oder ergänzende, schnelle Nachweismethode dar (KANG et al., 2014; KEID et al., 2009). Die PCR kann

subklinische und frühe Infektionen im Vergleich zur Serologie detektieren (BOERI et al., 2018; KANG et al., 2014; KAUFFMAN et al., 2014; KEID et al., 2007b).

Die Veterinärliteratur empfiehlt zur Behandlung einer *B. canis*-Infektion beim Hund die Kombinationstherapie aus Tetracyclinen und Aminoglykosidantibiotika (ANDERSON & BINNINGTON, 1983; GREENE & CARMICHAEL, 2015; REYNES et al., 2012). Ebenfalls zeigte eine Monotherapie mit Enrofloxacin Behandlungserfolge. Zwölf infizierte Zuchthündinnen mit regelmäßig auftretenden Spätaborten zeigten nach Enrofloxacintherapie keine weiteren klinischen Symptome (WANKE et al., 2006). Nichtsdestotrotz gibt es bisher keine beschriebene Therapie, die den Erreger von betroffenen Hunden vollständig eliminiert, sodass Rückfälle und Misserfolge häufig sind und von einigen Autoren eine Euthanasie erkrankter Tiere empfohlen wird (HOLST et al., 2012; REYNES et al., 2012; WANKE, 2004).

Die Überwachung von Brucellose im Sinne einer Zoonose fokussiert sich in erster Linie auf Infektionen mit *Brucella melitensis, suis and abortus* (BANAI et al., 2018; FRANC et al., 2018; GALÍNSKA & ZAGÓRSKI, 2013). Weniger Aufmerksamkeit schenkte man bisher *B. canis*, obwohl Hunde gewöhnlich in einer engen Beziehung mit Tierbesitzern leben. Man nimmt an, dass *B. canis* in der Humanmedizin unterschätzt wird. Dies könnte zum einen daran liegen, dass routinemäßig durchgeführte diagnostische Verfahren in der Humanmedizin nur Antikörper gegen *Brucella melitensis, suis and abortus* nachweisen können und nicht gegen *B. canis*. Zum anderen sind die klinischen Symptome einer *B. canis*-Infektion beim Menschen sehr unspezifisch, sodass vermutlich häufig keine Diagnostik hinsichtlich *B. canis* durchgeführt wird (CHACÓN-DÍAZ et al., 2015; KRUEGER et al., 2014; LUCERO et al., 2005a; POLT et al., 1982; WANG et al., 2012). Eine Übertragung von *B. canis* vom Hund auf den Menschen ist jedoch möglich. Personen mit engem Kontakt zu infizierten Hunden, insbesondere immunsupprimierte Personen, sind gefährdet. Erkrankte Personen können undulierendes Fieber, Müdigkeit, Erschöpfung, Lymphadenopathie, Hepato- und Splenomegalie zeigen (LAWACZECK et al., 2011; LUCERO et al., 2009, 2010, 2005a, 2005b; ROUSSEAU, 1985; WALLACH et al., 2004). Die Therapieempfehlungen für eine *Brucella*-Infektion beim Menschen sind Tetracyclin oder Doxycyclin kombiniert mit einem Aminoglykosidantibiotikum oder Rifampicin (CORBEL, 2006; MENG et al., 2018; YOUSEFI-NOORAIE et

al., 2012). Ein neuer Therapieansatz der Humanmedizin ist die zusätzliche Einnahme von Hydroxychloroquin. Dieses immunmodulatorische Medikament soll die klinischen Symptome in dem frühen Krankheitsstadium verbessern und Behandlungsmisserfolge sowie Rückfälle bei Patienten mit Brucellose reduzieren (MAJZOBI et al., 2018).

III. ERGEBNISSE

1. Publikationen

1.1. Meningoenzephalitis und Meningitis beim Hund: Retrospektive Analyse einer Klinikpopulation

Das folgende Manuskript „Meningoenzephalitis und Meningitis beim Hund: Retrospektive Analyse einer Klinikpopulation“ wurde am 01. April 2020 in der „Tierärztlichen Praxis – Kleintiere“ zur Veröffentlichung angenommen.

The following manuscript entitled „Canine meningoencephalitis and meningitis in dogs: “Retrospective analysis of a veterinary hospital population” has been submitted for publication in the journal “Tierärztliche Praxis – Kleintiere” on April 01, 2020.

Received: 18 Sep 2019; Accepted: 01 Apr 2020.

Copyright: © 2020 Buhmann, Wielaender, Rosati, Matiasek, Hartmann and Fischer.

Meningoenzephalitis und Meningitis beim Hund: Retrospektive Analyse einer Klinikpopulation

Gesine Buhmann¹; Franziska Wielaender¹; Marco Rosati²; Kaspar Matiasek²; Katrin Hartmann¹; Andrea Fischer¹

¹Medizinische Kleintierklinik, Zentrum für Klinische Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München

²Sektion für Klinische & Vergleichende Neuropathologie, Zentrum für Klinische Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München

Corresponding author:

Gesine Buhmann

Veterinärstraße 13, 80539 München

g.buhmann@medizinische-kleintierklinik.de

+491782914620

Meningoenzephalitis Hund

Schlüsselwörter

Enzephalitis, kanine, infektiös, immunmediert, MUO, SRMA, ZNS

Zusammenfassung

Gegenstand und Ziel: Charakterisierung der Ätiologie von Meningoenzephalitis und Meningitis beim Hund in einer Klinikpopulation. **Material und Methoden:** Retrospektive Studie (2011 – 2016). Auswertung der klinischen und diagnostischen Daten von Hunden mit einer Liquorpleozytose ($> 15/3 \mu\text{l}$). Einschlusskriterien waren das Vorliegen einer Liquorzytologie oder eine pathologische Untersuchung des ZNS. Beurteilt wurde, ob in der Liquorzytologie oder in den routinemäßig durchgeführten Untersuchungen auf Infektionskrankheiten Hinweise auf eine infektiöse Ätiologie vorlagen. **Ergebnisse:** 62 Hunde erfüllten die Einschlusskriterien. Bei 14,5 % ($n = 9$) der Hunde lag eine reaktive Liquorpleozytose aufgrund einer anderen strukturellen Erkrankung des Gehirns wie ein Tumor oder Infarkt vor. Bei 56,5 % ($n = 35$) wurde eine Meningoenzephalitis oder Meningitis unbekannter Ursache diagnostiziert. Bei 29,0 % ($n = 18$) bestand anhand der Untersuchungen auf Infektionskrankheiten oder dem Nachweis von Bakterien in der Liquorzytologie ($n = 5$) der Verdacht auf eine infektiöse

Meningoenzephalitis oder Meningitis. Davon war die Diagnose bei sechs Hunden (9,7 %) aufgrund der Untersuchungsbefunde eindeutig, bei neun Hunden (14,5 %) konnte nur ein Verdacht auf das Vorliegen einer infektiösen Meningoenzephalitis oder Meningitis erhoben werden und bei drei Hunden (4,8 %) lagen Befunde unklarer Bedeutung vor. **Schlussfolgerung:** Die häufigste Ursache für eine Liquorpleozytose war eine Meningoenzephalitis oder Meningitis unbekannter Ursache. Dennoch gab es bei 29 % der Hunde Hinweise auf eine mögliche infektiöse Ätiologie. Daher ist es für eine sichere Diagnose wichtig, den Liquor zytologisch zu beurteilen und Untersuchungen auf Infektionskrankheiten durchzuführen. **Klinische Relevanz:** Die Meningoenzephalitis/Meningitis unbekannter Ursache erfordert eine immunsuppressive Therapie. Für den Ausschluss einer infektiösen Meningoenzephalitis oder Meningitis haben Liquorzytologie und Untersuchungen auf Infektionskrankheiten eine besondere Bedeutung.

Canine meningoencephalitis and meningitis: Retrospective analysis of a veterinary hospital population

Key words

Encephalitis, dog, infectious, immune-mediated, MUO, SRMA, CNS

Summary

Objective: Characterization of etiology of meningoencephalitis and meningitis in dogs. Analysis of a veterinary hospital population. **Material and methods:** Retrospective study (2011–2016). Evaluation of clinical and diagnostic data of dogs with CSF pleocytosis ($> 5/\mu\text{l}$). Only dogs with cytological evaluation of CSF or pathological examination of CNS were included. Results of CSF cytology and examination for infectious diseases were reviewed. **Results:** 62 dogs met inclusion criteria. 14.5% ($n = 9$) were classified as reactive CSF pleocytosis due to other structural CNS disease, such as neoplasia or infarct. Meningoencephalitis or meningitis of unknown origin was diagnosed in 56.5% ($n = 35$). In 29.0% ($n = 18$) investigations for infectious diseases or presence of bacteria in CSF cytology ($n = 5$) indicated an infectious etiology. The infectious etiology appeared reliable in six dogs (9.7%) based on examination findings, in nine dogs (14.5%) there was only suspicion of infectious meningoencephalitis or meningitis and in three dogs (4.8%) the findings were of uncertain significance. **Conclusion:** The most common cause of CSF pleocytosis was meningoencephalitis or meningitis of unknown origin. Nevertheless, there was evidence of a possible infectious etiology in 29% of the dogs. For a reliable diagnosis, it is important to assess the CSF cytology and to conduct investigations for infectious diseases. **Clinical relevance:** Meningoencephalitis or meningitis of unknown origin requires immunosuppressive therapy. CSF cytology and investigations for infectious diseases are important for exclusion of infectious meningoencephalitis or meningitis.

1. Einleitung

Entzündungen des zentralen Nervensystems (ZNS) sind eine wichtige Differentialdiagnose für neurologische Symptome beim Hund. Dabei unterscheidet man infektiöse von nicht-infektiösen Entzündungen (1). Je nach Lokalisation und Ausdehnung spricht man von einer Meningitis, einer Entzündung der Hirn- und Rückenmarkshäute ohne Beteiligung des Neuroparenchyms, von einer Enzephalitis, einer Entzündung des Gehirns, oder von einer Myelitis, einer Entzündung des Rückenmarks. Während Meningitiden von spinalen Schmerzen geprägt sind, führen Enzephalitiden und Myelitiden häufig zu schweren und oft auch schnell fortschreitenden neurologischen Ausfallserscheinungen. Die neurologischen Symptome hängen dabei von den betroffenen ZNS-Regionen ab (2). Meistens gibt die neurologische Untersuchung Hinweise auf multifokale Läsionen, aber auch eine fokale Läsion ist möglich (3).

Die Diagnose einer Meningoenzephalitis oder Meningitis (ME/M) erfordert eine Liquoranalyse in Kombination mit einer Kernspintomographie (MRT). Eine besondere Herausforderung stellt hierbei die Abgrenzung infektiöser und nicht-infektiöser ME/M dar. Die Meningoenzephalitis unbekannter Ursache (meningoencephalitis of unknown origin (MUO)) ist eine immunmedierte, nicht-infektiöse Entzündung des ZNS, die durch eine Dominanz von Lymphozyten, Monozyten und gegebenenfalls Makrophagen im Liquor und die Darstellung von Entzündungsherden im MRT charakterisiert ist (4). Sie beinhaltet die granulomatöse ME (GME) und die nekrotisierende Enzephalitis (NE). Bei der NE werden histologisch die nekrotisierende ME (NME) und die nekrotisierende Leukoencephalitis (NLE) voneinander abgegrenzt. Auch die eosinophile ME und die steroid-responsive Meningitis-Arteriitis (SRMA) sind immunmedierte, nicht-infektiöse Entzündungen des ZNS, werden von Coates et al. aber als getrennte Entitäten aufgeführt (2). Es werden vor allem immundysregulatorische Prozesse sowie genetische Faktoren als Grundlage der Entstehung einer nicht-infektiösen ME/M angenommen (2,5). Auch mögliche Umwelteinflüsse und „Trigger“, wie eine vorausgegangene Virusinfektion oder eine Impfung, könnten eine Rolle spielen (6–8). Grundsätzlich kann jede Hunderasse jeden Alters an einer MUO erkranken (2). Allerdings sind bei den nekrotisierenden Subtypen vermehrt junge bis mittelalte (6 Monate bis 8 Jahre) Hündinnen kleiner Rassen betroffen (3). Beim Mops (Chromosom 8, 12 und 15) (9), Malteser (Chromosom 4 und 15) und

Chihuahua (Chromosom 15) wurden Genloci identifiziert, die eine Prädisposition für die Erkrankung an einer MUO angeben (10). Beim Mops ist ein Gentest für ein Risikogen verfügbar. Die Prognose für an MUO erkrankte Hunde ist vorsichtig (11). Die in der Literatur angegebenen Überlebenszeiten variieren von wenigen Tagen bis zu mehreren Jahren, wobei eine immunsuppressive Therapie essentiell für die Erreichung längerer Überlebenszeiten ist (2,8,12). Eine Sonderform unter den immunmedierten, nicht-infektiösen Entzündungen ist die SRMA, da sie klinisch und anhand der Liquorzytologie und des erhöhten Biomarkers IgA im Serum und Liquor von einer MUO abgrenzbar ist und eine alleinige Prednisolon-Therapie in immunsuppressiver Dosis häufig ausreichend ist (2). Es werden aber auch Rückfälle und chronische Verläufe beschrieben (13). Eine frühzeitige Langzeittherapie mit immunsuppressiven Medikamenten ist bei der Meningoenzephalitis unbekannter Ursache entscheidend für den Therapieerfolg, sodass die Beurteilung der Liquorzytologie und der Ausschluss von möglichen ursächlichen Infektionserregern eine zentrale Rolle in der neurologischen Diagnostik einnehmen (14).

Es gibt zahlreiche Erreger beim Hund, die eine infektiöse ME/M verursachen können. Sowohl Viren mit regional unterschiedlichem Auftreten (z. B. Canines Staupevirus (CDV), Frühsommermeningoenzephalitis-Virus (FSME), in Einzelfällen auch West-Nile-Flavivirus, Aujeszky-Virus, Tollwut-Virus (15–17)) als auch Bakterien (z. B. *Streptococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, anaerobe Bakterien, *Nocardia* spp., *Actinomyces* spp., *Brucella* spp.) (18) sowie Parasiten (z. B. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Angiostrongylus vasorum*) können für eine ME/M beim Hund verantwortlich sein (19,20). Des Weiteren sind Pilzinfektionen (z. B. *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatides*, *Aspergillus fumigatus*) sowie Prototheca-Infektionen (Algen) des ZNS möglich (21,22). Bakterien können hämatogen als Folge einer Bakteriämie oder fortgeleitet von Infektions- und Eiterherden in der Umgebung, z. B. Bissverletzungen, Fremdkörper, sinunasale Infektionen, Otitis media et interna, in das ZNS gelangen (18,23). Es gibt einzelne Fallberichte über an Anaplasrose erkrankte Hunde mit neurologischen Symptomen, jedoch werden Anaplasmen ebenso wie Borrelien als Ätiologie neurologischer Erkrankungen beim Hunde sehr kontrovers diskutiert (24,25). Neurologische Symptome sind auch vereinzelt bei Infektionen mit *Rickettsia* spp., *Ehrlichia canis*, *Babesia* spp., *Leishmania infantum* und

Hepatozoon spp. beschrieben. Symptome können dabei aber auch durch eine Thrombozytopenie-bedingte Blutung ins ZNS entstehen (26–28).

Die eindeutige Diagnose einer immunmedierten Meningoenzephalitis oder Meningitis, die Unterscheidung zwischen infektiöser und nicht-infektiöser Ursache und die Abgrenzung zu Tumoren ist letztendlich nur anhand der Histologie möglich (5). Eine Gehirnbiopsie zur Diagnosestellung hat sich in der Routinediagnostik noch nicht weit verbreitet, sodass die Diagnose meistens aus einer Kombination klinisch-neurologischer Symptome, Liquoranalyse, Kernspintomographie und Ausschluss von bekannten ZNS-Erregern gestellt wird.

Die Therapie einer ME/M beim Hund erfordert großes Engagement der Tierbesitzer und ein sehr unterschiedliches Vorgehen bei infektiöser und nicht-infektiöser ME/M auf der Basis einer möglichst sicheren Diagnose. Fragen der Tierbesitzer zur Ursache und Prognose müssen intensiv beantwortet werden. Ziel dieser Studie war es daher, die Ursachen für eine Liquorpleozytose beim Hund in einer Klinikpopulation in Süddeutschland zu untersuchen.

2. Material und Methoden

Es erfolgte eine Auswertung der Patientenakte von Hunden (2011 – 2016), bei denen eine Liquorentnahme durchgeführt und eine erhöhte Leukozytenzahl im Liquor (Pleozytose; $>15/3 \mu\text{l}$ bzw. $> 5/\mu\text{l}$) nachgewiesen wurde. Ausschlusskriterien waren (1) relevante Blutkontamination des Liquor (> 500 Erythrozyten/ μl bei der Zählung in der Zellkammer (29)) und (2) das Fehlen einer Liquorzytologie, um den vorherrschenden Entzündungstypen zu charakterisieren. Im Falle einer histopathologischen Untersuchung war eine Liquorzytologie nicht zwingend erforderlich.

Es wurde zwischen Meningoenzephalitis und Meningitis unterschieden. Die Definition einer alleinigen Meningitis war, dass keine Ausfälle in der neurologischen Untersuchung (ausgenommen spinale Schmerzen) notiert waren und dass in der Bildgebung keine Hinweise auf Beteiligung des Neuroparenchyms vorlagen.

Das Signalement der Hunde (Geschlecht, Alter, Gewicht), klinische Daten (Allgemeinbefinden, spinale Schmerzen, neurologische Symptome, Leukozytenzahl, IgA, Zeitpunkt der Erkrankung) (Tabelle 1), Befunde der Liquoranalyse (Leukozytenzellzahl, Mikroprotein, Zytologie) und der Kernspintomographie (fokale, multifokale parenchymale Läsionen,

Kontrastmittelanreicherung) (Tabelle 2) wurden aufgenommen. Weiter wurde beurteilt, ob Untersuchungen auf Infektionskrankheiten durchgeführt wurden und ob diese Hinweise auf eine infektiöse Ursache der ME/M ergaben. Hier sind die Untersuchungen auf *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* und canines Staupevirus gesondert betrachtet worden.

Die Hunde wurden der Gruppe der ME/M unbekannter Ursache (MUO, SRMA, andere) zugeordnet, wenn die Liquorzytologie keinen Hinweis auf eine Infektion ergab (keine Bakterien oder andere Erreger) und die Untersuchungen auf Infektionskrankheiten negativ verliefen und in der Bildgebung keine andere strukturelle Erkrankung des ZNS nachgewiesen werden konnte. Die Diagnose galt als gesichert, wenn eine histopathologische Untersuchung vorlag. Die Diagnose einer SRMA wurde bei Vorliegen einer neutrophilen Pleozytose, fehlendem Nachweis von Bakterien in der Liquorzytologie, negativer Liquorkultur (wenn durchgeführt) und zusätzlich anhand erhöhter IgA-Konzentrationen (Serum, Liquor) gestellt.

Die Hunde wurden der Gruppe der vermutlich infektiösen ME/M zugeordnet, wenn Bakterien in der Liquorzytologie nachgewiesen wurden oder die Untersuchungen auf Infektionskrankheiten positive Ergebnisse erbrachten oder wenn Infektionsherde im Kopfbereich vorlagen, die eine Extension ins Neuroparenchym wahrscheinlich erschienen ließen (z. B. aufsteigende Otitis media et interna, Sinusitis frontalis) oder wenn eine histopathologische Untersuchung des ZNS mit Bestätigung einer infektiösen ME/M vorlag (Tabelle 2). In der Gruppe der infektiösen ME/M wurde auf Basis der Befunde weiter unterschieden zwischen „eindeutig infektiös“ und „vermutlich infektiös“ und „Befunde unklarer Bedeutung“ (Tabelle 3). Eine eindeutig infektiöse ME/M bestand, wenn Bakterien in der Liquorzytologie intrazellulär nachgewiesen werden konnten oder wenn die Liquorkultur positiv verlief oder wenn in der histopathologischen Untersuchung des ZNS Infektionserreger nachgewiesen werden konnten. Eine vermutlich infektiöse ME/M bestand bei extrazellulären Bakterien in der Liquorzytologie und bei Hunden mit Infektionsherden im Kopfbereich, die eine Extension ins Neuroparenchym wahrscheinlich erschienen ließen. Eine FSME-Infektion wurde als eindeutig eingestuft, wenn das klinisch-neurologische Bild (Fieber, neurologische Defizite, Lokalisation Hirnstamm, zervikales Rückenmark) einer FSME-Erkrankung entsprach und eine lymphomonozytäre Pleozytose sowie der Nachweis von IgM

Antikörpern (Serum) oder eine positive PCR (Blut oder Liquor) vorlagen. Eine Staupeenzephalitis wurde als eindeutig eingestuft, wenn die Staupe-PCR (Blut, Urin, Konjunktivalupfer oder Liquor) positiv verlief (ausgenommen Hunde mit vorausgegangener Staupeimpfung). Der Verdacht auf eine Staupe lag vor, wenn das klinisch-neurologische Bild (Myoklonus) einer Staupe entsprach und ein Auslandsvorbericht vorlag. Eine klinisch manifeste Toxoplasmose wurde als eindeutig eingestuft, wenn *Toxoplasma gondii*-DNA im Liquor nachgewiesen werden konnte. Der Verdacht auf eine Toxoplasmose als Ursache der ME/M wurde gestellt, wenn ein vierfacher Antikörpertiter im Blut vorlag oder IgM-Antikörper nachgewiesen wurden. Eine Neosporose wurde als eindeutig eingestuft, wenn der PCR-Nachweis für *Neospora caninum* positiv verlief (Blut oder Liquor). Der Verdacht auf eine Neosporose als Ursache der ME/M wurde bei einmaligem Nachweis von Antikörpern gestellt. Eine Angiostrongylus-vasorum-Infektion als Ursache der ME wurde als eindeutig eingestuft, wenn ein direkter Erregernachweis mittels Auswanderungsverfahren (Kot) oder Antigentest (Blut) möglich war und der Hund in der Kernspintomographie Hämorrhagien ins ZNS auswies. Der Verdacht auf eine Angiostrongylose als Ätiologie der ME/M lag beim alleinigen Erregernachweis ohne Nachweis von Einblutungen ins ZNS vor. Bei anderen Erregern, wie *Anaplasma phagocytophilum*, *Bartonella henselae*, *Ehrlichia canis*, wurden Antikörpernachweise im Liquor oder PCR-Nachweise im Liquor oder Blut als „Befunde unklarer Bedeutung“ eingestuft. In der Gruppe der infektiösen ME/M wurden Therapie und Überlebenszeit dokumentiert.

Eine „reaktive Entzündung“ wurde diagnostiziert, wenn die histopathologische Untersuchung eine andere strukturelle ZNS-Erkrankung (z. B. Tumor, Infarkt) bestätigte oder die Bildgebung oder ergänzende Untersuchungen (z. B. PARR, PCR for Antigen Receptor Rearrangements, Lymphomdiagnostik) eine andere, nicht-entzündliche strukturelle Erkrankung des ZNS aufdeckte (Tabelle 4).

Der Liquor wurde unmittelbar nach der Entnahme (atlantookzipital) untersucht. Die Zellzählung erfolgte am nativen Liquor in der Fuchs-Rosenthal-Zählkammer. Die Proteinbestimmung mittels Turbidimetrie (Cobas INTEGRA; TPUC3) erfolgte bei ausreichend vorhandenem Material am Überstand des zentrifugierten Liquors. Die zytologische Beurteilung wurde nach Zugabe von BSA (Bovines Serumalbumin) zu 0,5 ml nativem Liquor und Zytozentrifugation sowie Färbung der Objektträger (modifizierte Wright-Färbung; (30)) durchgeführt. Die Beurteilung der

Liquorzytologie erfolgte im Institut für Tierpathologie LMU München. Die bakteriologischen Untersuchungen (Liquorkultur, Blutkultur, Urinkultur) erfolgten am Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie der LMU München. PCR-Untersuchungen für das canine Staupevirus aus Blut, Urin und Konjunktivalupfer erfolgten am Lehrstuhl für Virologie LMU München oder mit dem neurologischen PCR-Profil IDEXX Laboratories. Antikörper- und PCR-Untersuchungen wurden größtenteils vom Labor IDEXX Laboratories (Ludwigsburg, Deutschland) durchgeführt. Ein neurologisches PCR-Profil aus Liquor (PCR für *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, *Staupevirus*, *Bartonella* spp., *Borrelia burgdorferi*, *Cryptococcus neoformans*) wurde ebenfalls bei IDEXX durchgeführt. Die Untersuchungen für FSME (IgG und IgM Antikörper, PCR) erfolgten in dem Labor Alomed (Radolfzell, Deutschland). Die Untersuchungen auf IgA (Serum, Liquor) erfolgte im Forschungslabor Neurologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Alle Kalkulationen wurden in Excel (Microsoft Office Standard 2013) ermittelt.

3. Ergebnisse

Im Untersuchungszeitraum wurden 284 Liquorpunktionen durchgeführt. Es wurden 62 Hunde mit einer erhöhten Leukozytenzahl $> 15/3$ pro μl im Liquor identifiziert. Von diesen waren 61,3 % (38/62) an einer Meningoenzephalitis und 24,2 % (15/62) an einer Meningitis erkrankt und bei 14,5 % (9/62) lag eine reaktive Liquorpleozytose vor (Abb. 1).

ME/M unbekannter Ursache (MUO, SRMA, andere):

Dieser Gruppe wurden 56,5 % (35/62) der Hunde zugeordnet (Abb.1; Abb. 2). Bei 65,7 % (23/35) lag eine MUO vor, bei 34,3 % (12/35) eine Meningitis. Davon hatten drei Hunde eine SRMA. Bei zwei Hunden konnte die Diagnose histopathologisch bestätigt werden (je eine GME und NME). 62,9 % (22/35) der Tiere waren weiblich und 37,1 % (13/35) männlich. In der Altersgruppe $> 0 - 3$ Jahre waren 48,6 % (17/35), $> 3 - 6$ Jahre 28,6 % (10/35), $> 6 - 9$ Jahre 5,7 % (2/35) und > 9 Jahre 17,1 % (6/35) der Hunde. 48,6 % (17/35) waren kleine Hunderassen (< 10 kg), 20 % (7/35) mittelgroße Rassen (10 – 20 kg) und 31,4 % (11/35) große Rassen (> 20 kg). Die Erstvorstellung in der Neurologie war bei 20,0 % (7/35) der Hunde im Frühling, bei 31,4 % (11/35) im Sommer, bei 17,1 % (6/35) im Herbst und bei 31,4 % (11/35) im Winter. Ein gestörtes Allgemeinbefinden hatten 68,6 % (24/35) der Hunde. Die Hunde präsentierten sich mit spinalen Schmerzen (60,0 %, 21/35), epileptischen Anfällen (25,7 %, 9/35), Bewegungsstörungen (37,1 %, 13/35),

Gehirnnervenausfälle (14,3 %, 5/35) und Blindheit (31,4 %, 11/35) (Tabelle 1). Im Blutbild wiesen 23,5 % (8/34) eine Leukozytose mit Linksverschiebung auf. Bei einem Hund lag kein Blutbild vor. Die Untersuchung auf IgA wurde bei sechs Tieren eingeleitet (5 Hunde aus Serum-Liquor-Paar, 1 Hund aus Serum). Fünf dieser Hunde hatten erhöhte IgA-Konzentrationen. Bei drei Hunden lag eine SRMA vor: Zwei Boxer (4 und 12 Monate); ein Berner Sennenhund (8 Monate). Die Liquorzytologie zeigte bei 41,2 % (14/34) eine lymphomonozytäre, bei 17,6 % (6/34) eine neutrophile, bei 32,4 % (11/34) eine gemischtzellige und bei 2,9 % (1/34) eine eosinophile Pleozytose. Ein reaktives Liquorzellbild lag bei 5,9 % (2/34) vor. Bei einem Hund lag keine Liquorzytologie, jedoch eine histopathologische Untersuchung des ZNS vor. Die Kernspintomographie zeigte bei 75,0 % (24/32) der Hunde Auffälligkeiten. Bei drei Hunden wurde keine Kernspintomographie durchgeführt. Bei 12,5 % (3/24) lag eine fokale parenchymale Läsion und bei 75,0 % (18/24) lagen multifokale parenchymale Läsionen vor. 12,5 % (3/24) wiesen keine parenchymalen Läsionen, sondern nur eine Kontrastmittelanreicherung der Meningen auf (Tabelle 2). Bei 90,3 % (28/31) der Hunde wurden Untersuchungen auf *Neospora caninum* (PCR aus Liquor und/oder Antikörper aus Serum) durchgeführt. Es gab keinen positiven Befund. Bei 71,0 % (22/31) sind Untersuchungen auf *Toxoplasma gondii* mittels PCR aus Liquor durchgeführt worden. Es gab keine positiven Ergebnisse. Untersuchungen auf *Toxoplasma gondii* IgG-Antikörper wurden bei 58,1 % (18/31) durchgeführt. Acht Hunde hatten ein positives Ergebnis (8/18, 44,4 %). Untersuchungen auf *Toxoplasma gondii* IgM-Antikörper wurden bei 48,4 % (15/31) durchgeführt. Es gab keinen positiven Befund. Bei einem Hund wurden *Toxoplasma gondii*-Antikörper ohne Differenzierung untersucht. Der Befund war negativ. Bei 80,6 % (25/31) der Hunde ist eine PCR für canines Staupevirus (Neurologisches Liquorprofil IDEXX n=14; Blut, Urin, Konjunktivalupfer Virologie LMU München n=11) durchgeführt worden. Es gab kein positives Ergebnis.

Bei vier Hunden wurden keine weiteren Untersuchungen auf Infektionserreger eingeleitet. Einer dieser Hunde wurde mit einer SRMA diagnostiziert (neutrophile Pleozytose, keine Bakterien in der Liquorzytologie, erhöhtes IgA im Blut und Liquor). Ein weiterer Hund hatte eine pathohistologische Diagnose einer MUO. Zwei Hunde haben bereits innerhalb von zwei Tagen nach der Diagnostik nicht mehr gelebt, sodass keine weiteren Untersuchungen durchgeführt wurden.

Verdacht auf eine infektiöse ME/M:

29,0 % (18/62) wurden der Gruppe der vermutlich infektiösen ME/M zugeordnet. Eine Meningoenzephalitis lag bei 83,3 % vor, eine Meningitis bei 16,7 % (3/18). Bei sechs dieser Hunde (9,7 %, 6/62) wurden die Untersuchungsbefunde als eindeutige Diagnose einer infektiösen ME/M bewertet. Vier Hunde davon hatten eine bakterielle ME/M. Bei einem dieser Hunde (Tabelle 3, Fall 1) wurden in der Liquorzytologie intrazelluläre Bakterien nachgewiesen. Es lag eine neutrophile Pleozytose vor. Dieser Hund ist unter Antibiotikatherapie und Prednisolon (entzündungshemmende Dosis) in Remission gegangen. Die Liquorzytologie eines weiteren Hundes (Tabelle 3, Fall 2) zeigte ebenfalls Bakterien, allerdings extrazellulär. Es lag eine neutrophile Pleozytose vor. Bei diesem Hund wurden die extrazellulären Bakterien zunächst als Kontamination bewertet und eine SRMA diagnostiziert. Dieser Hund erhielt neben einer antibiotischen Therapie eine immunsuppressive Therapie (Prednisolon und Azathioprin). Die Überlebenszeit betrug 27 Tage. In der Histopathologie (post mortem) wurde eine bakterielle ME/M bestätigt. Ein weiterer Hund (Tabelle 3, Fall 3) hatte eine positive Liquorkultur (*Staphylococcus* spp.) sowie extrazelluläre Bakterien in der Liquorzytologie. Es lag eine neutrophile Pleozytose vor. Der Hund ist unter Antibiotikatherapie und Prednisolon (entzündungshemmende Dosis) genesen. Der vierte Hund (Tabelle 3, Fall 4) der bakteriellen ME/M hatte eine positive Liquorkultur (*Staphylococcus epidermidis*). Die Liquorzytologie zeigte eine lymphomonozytäre Pleozytose. Der Hund erhielt ein Antibiotikum und Prednisolon (entzündungshemmende Dosis). Der Hund ist drei Tag nach der Diagnostik verstorben.

Zwei Hunde der als eindeutig infektiös klassifizierten ME/M hatten eine Frühsommermeningoenzephalitis (FSME; IgM-Antikörper 122 U/l bzw. 89 U/l im Serum). Beide Hunde hatten bei Vorstellung im Spätsommer hohes Fieber (40,5°C) und hochgradige neurologische Defizite. Der Liquor zeigte in beiden Fällen eine lymphomonozytäre Pleozytose (Tabelle 3, Fall 5 und 6). Beide Hunde sind nach langer Rekonvaleszenz vollständig genesen.

Bei neun Hunden (14,5 %, 9/62) wurde eine infektiöse Ätiologie der ME/M auf Basis der durchgeführten Untersuchungen vermutet. Bei einem dieser Hunde (Tabelle 3, Fall 7) wurde eine bakterielle ME/M aufgrund von Bakterien in der Liquorzytologie vermutet, diese waren allerdings extrazellulär und es gab keine weitere Bestätigung aus Liquor- oder Blutkulturen. In der Liquorzytologie lag eine

neutrophile Pleozytose vor. Ein weiterer Hund (Tabelle 3, Fall 8) hatte nur Hinweise auf intrazelluläre Bakterien in der Liquorzytologie und es gab keine weitere Bestätigung aus Liquor- oder Blutkulturen. In der Liquorzytologie lag eine lymphomonozytäre Pleozytose vor. Beide Hunde gingen unter Antibiotikatherapie in Remission. Bei zwei Hunden (Tabelle 3, Fall 9 und 10) wurden *Toxoplasma gondii* IgG- und IgM-Antikörper im Serum nachgewiesen (IgG 1:512, IgM 1:16, bei der Kontrolluntersuchung IgG > 1:1024, IgM negativ; IgG 1:80, IgM 1:160). In der Liquorzytologie zeigte sich bei beiden Hunden eine lymphomonozytäre Pleozytose. Einer dieser zwei Hunde hat nach fehlender Besserung auf Antibiose eine immunsuppressive Therapie erhalten und bei Beendigung der Studie gelebt. Der andere Hund hat initial ein Antibiotikum und Prednisolon erhalten. Nach Eintreffen der Befunde wurde der Hund auf mehrere Antibiotika in Kombination mit Pyrimethamin umgestellt. Die Überlebenszeit betrug 17 Tage. Zwei Hunde wiesen *Neospora caninum*-Antikörper im Serum (Tabelle 3, Fall 11 und 12) auf (1:160; 1:320). Es lagen eine lymphomonozytäre Pleozytose (Fall 11) und eine neutrophile Pleozytose (Fall 12) vor. Die PCR aus Liquor verlief bei beiden Tieren negativ. Zusätzlich wurden Lungenwürmer im Kot bei einem der zwei Hunde nachgewiesen. Beide Hunde haben eine antibiotische Therapie sowie Prednisolon in immunsuppressiver Dosis erhalten. Fall 11 hat 35 Tage nach Diagnosestellung nicht mehr gelebt. Bei Fall 12 war keine weitere Kontaktaufnahme mit den Besitzern möglich (29 Tage lost-to-follow up). Bei drei Hunden (Tabelle 3, Fall 13, 14 und 15) bestand der Verdacht auf eine aufgestiegene ZNS-Infektion. Zwei Hunde hatten eine chronische Rhinosinusitis (bei einem Hund durch eingespießtes Pflanzenmaterial). Beide Hunde haben eine antibiotische Therapie erhalten. Die Überlebenszeit betrug in beiden Fällen zwei Tage nach Diagnose. Ein weiterer Hund (Tabelle 3, Fall 15) hatte einen Pneumozephalus mit Defekt der Lamina cribrosa. Dieser Hund hat ein Antibiotikum sowie Prednisolon in entzündungshemmender Dosis erhalten. Der Hund ist vollständig genesen. Bei allen drei Hunden lag in der Liquorzytologie eine neutrophile Pleozytose vor.

Bei drei Hunden (4,8 %, 3/62) lagen Befunde unklarer Bedeutung (positive Bartonella-PCR aus Liquor, Neurologisches Liquorprofil IDEXX, n=2; Nachweis von *Anaplasma phagocytophilum*-Antikörpern im Serum und Liquor, n=1) vor. Die detaillierten Befunde sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

In der gesamten Gruppe waren 38,9 % (7/18) weibliche und 61,1 % (11/18) männliche Tiere. In der Altersgruppe > 0 – 3 Jahre waren 44,4 % (8/18), > 3 – 6 und > 6 – 9 Jahre 22,2 % (4/18) und > 9 Jahre 11,1 % (2/18) der Hunde. 44,4 % (8/18) waren kleine Hunderassen (< 10 kg), 16,7 % (3/18) mittelgroße (10 – 20 kg) und 38,9 % (7/18) große Rassen (> 20 kg). Die Erstvorstellung in der Neurologie war bei 22,2 % (4/18) der Hunde im Frühling, bei 33,3 % (6/18) im Sommer, bei 16,7 % (3/18) im Herbst und bei 27,8 % (5/18) im Winter. Ein gestörtes Allgemeinbefinden hatten 72,2 % (13/18) der Hunde. Die Hunde präsentierten sich mit spinalen Schmerzen (72,2 %, 13/18), epileptischen Anfällen (16,7 %, 3/18), Bewegungsstörungen (50,0 %, 9/18), Gehirnnervenausfälle (22,2 %, 4/18) und Blindheit (22,2 %, 4/18) (Tabelle 1). Im Blutbild wiesen 11,1 % (2/18) der Hunde eine Leukozytose mit Linksverschiebung auf. Die Untersuchung auf IgA wurde bei vier Tieren eingeleitet (Serum-Liquor-Paare). Alle vier Hunde hatten erhöhte IgA-Konzentrationen. Zwei dieser Hunde hatten Bakterien in der Liquorzytologie, ein Hund eine positive Liquorkultur und ein Hund Anaplasma phagocytophilum-Antikörper im Liquor und Serum. Die Liquorzytologie zeigte bei 38,9 % (7/18) eine lymphomonozytäre, bei 33,3 % (6/18) eine neutrophile und bei 27,8 % (5/18) eine gemischtzellige Pleozytose. Die Kernspintomographie zeigte bei 52,9 % (9/17) der Hunde Auffälligkeiten. Bei einem Hund wurde keine Kernspintomographie durchgeführt. Es lagen multifokale parenchymale Läsionen vor (9/9) (Tabelle 2). Bei 94,1 % (16/17) der Hunde sind Untersuchungen auf *Neospora caninum* (PCR aus Liquor und/oder Antikörper aus Serum) durchgeführt worden. Bei zwei Hunden (2/16, 12,5 %) konnten Antikörper nachgewiesen werden. Bei 76,5 % (13/17) sind Untersuchungen auf *Toxoplasma gondii* mittels PCR aus Liquor durchgeführt worden. Untersuchungen auf *Toxoplasma gondii* IgG-Antikörper wurden bei 58,8 % (10/17) durchgeführt. Vier Hunde hatten ein positives Ergebnis (4/8, 50,0 %). Untersuchungen auf *Toxoplasma gondii* IgM-Antikörper wurden bei 52,9 % (9/17) durchgeführt. Zwei Hunde hatten ein positives Ergebnis (2/9, 22,2 %). Bei einem Hund wurden *Toxoplasma gondii*-Antikörper ohne Differenzierung untersucht. Der Befund war negativ. Bei 88,2 % (15/17) der Hunde ist eine Staupevirus-PCR (Neurologisches Liquorprofil IDEXX, n=10; Blut, Urin, Konjunktivalupfer Virologie LMU München, n=5) durchgeführt worden. Es gab kein positives Ergebnis. Bei einem Hund wurden keine weiteren Untersuchungen eingeleitet, da dieser Hund Infektionsherde im Kopfbereich hatte, die eine aufgestiegene Infektion

begründeten und dieser Hund innerhalb von zwei Tagen nach Diagnostik nicht mehr lebte.

Reaktive Liquorpleozytose:

Bei 14,5 % (9/62) der Hunde wurde mittels Bildgebung, PARR oder Histopathologie (post mortem) andere strukturelle Erkrankung des ZNS als Ursache für die Pleozytose identifiziert (Tabelle 4). Bei drei Hunden wurde die reaktive Pleozytose in der Histopathologie bestätigt (ischämischer Infarkt, n=2; T-Zell-Lymphom, n=1). Insgesamt waren 44,4 % (4/9) weibliche und 55,6 % (5/9) männliche Tiere. In der Altersgruppe > 0 – 3 Jahre waren 55,6 % (5/9), > 3 – 6 und > 9 Jahre 22,2 % (2/9) der Hunde. Die Altersgruppe > 6 – 9 Jahre war nicht vertreten. 44,4 % (4/9) waren kleine Hunderassen (< 10 kg), 22,2 % (2/9) mittelgroße (10 – 20 kg) und 33,3 % (3/9) große Rassen (> 20 kg). Die Erstvorstellung in der Neurologie war bei 55,6 % (5/9) im Sommer, bei 33,3 % (3/9) im Herbst und bei 11,1 % (1/9) im Winter. Im Frühling ist kein Hund dieser Gruppe in der Neurologie vorgestellt worden. Ein gestörtes Allgemeinbefinden hatten 66,7 % (6/9) der Hunde. Die Hunde präsentierten sich mit spinalen Schmerzen (55,6 %, 5/9), epileptischen Anfällen (22,2 %, 2/9), Bewegungsstörungen (22,2 %, 2/9), Gehirnnervenausfälle (33,3 %, 3/9) und Blindheit (66,7 %, 6/9) (Tabelle 1). Im Blutbild wiesen 22,2 % (2/9) der Hunde eine Leukozytose mit Linksverschiebung auf (Tabelle 1). Die Liquorzytologie zeigte bei 37,5 % (3/8) eine lymphomonozytäre, bei 12,5 % (1/8) eine gemischtzellige Pleozytose und bei 50,0 % (4/8) ein reaktives Liquorzellbild. Bei einem Hund lag keine Liquorzytologie, jedoch eine histopathologische Untersuchung des ZNS vor. Die Kernspintomographie zeigte bei allen Hunden Auffälligkeiten. Eine fokale parenchymale Läsion lag bei 77,8 % (7/9) und multifokale parenchymale Läsionen lagen bei 22,2 % (2/9) vor (Tabelle 2).

Bei sechs Hunden (6/6, 100 %) sind Untersuchungen auf *Neospora caninum* (PCR aus Liquor und/oder Antikörper aus Serum) durchgeführt worden. Die Befunde waren negativ. Bei 83,3 % (5/6) sind Untersuchungen auf *Toxoplasma gondii* mittels PCR aus Liquor durchgeführt worden. Die Befunde waren negativ. Bei jeweils zwei Hunden (2/6, 33,3 %) wurden *Toxoplasma gondii* IgG- und IgM-Antikörper aus Serum untersucht. In beiden Fällen waren IgG nachweisbar (2/2, 100 %), IgM-Antikörper waren nicht nachweisbar. Bei 83,3 % (5/6) ist eine Staupevirus-PCR (Neurologisches Liquorprofil IDEXX) durchgeführt worden. Es

gab kein positives Ergebnis. Bei drei Hunden wurden keine weiteren Untersuchungen eingeleitet. Zwei dieser Hunde haben einen Tag nach der Diagnostik nicht mehr gelebt. Bei dem dritten Hund ist die Diagnose mittels Histopathologie bestätigt worden.

4. Diskussion

Die vorliegende Studie untersuchte die unterschiedlichen Ursachen einer Liquorpleozytose beim Hund. Es handelte sich um eine retrospektive Analyse einer Klinikpopulation in Süddeutschland.

Die häufigste Ursache für eine Liquorpleozytose war eine Meningoenzephalitis oder Meningitis unbekannter Ursache wie dies auch in der Literatur beschrieben ist (1,3,8,31,32). So waren in den Untersuchungen von Mariani et al. 81 % und von Griffin et al. 75 % der Hunde an einer nicht-infektiösen Meningoenzephalitis erkrankt (33,34). In vielen anderen englischsprachigen Berichten steht ebenfalls die MUO im Vordergrund (1,4,33). Insgesamt machen immunmedierte, nicht-infektiöse ME/M 25 % aller ZNS-Erkrankungen des Hundes aus (35). Die Hunde mit ME/M unbekannter Ursache präsentieren sich häufig als neurologische Notfälle mit schweren neurologischen Defiziten, die eine schnelle Einleitung einer Therapie erfordern. Die Diagnose dieser Erkrankung im vorliegenden Patientengut war letztendlich in fast allen Fällen eine klinische Verdachts- und Ausschlussdiagnose und beruhte auf der Kombination aus Liquoruntersuchung, Kernspintomographie und dem Ausschluss von Infektionskrankheiten mit Liquorzytologie, Antikörper- und PCR-Untersuchungen. Dabei ist der Ausschluss von Infektionskrankheiten ein wichtiges Kriterium für die Diagnose einer immunmedierten ME/M und für die Abgrenzung einer infektiösen ME/M. Von den meisten Autoren wird hierfür mindestens der Ausschluss von Neosporose, Toxoplasmose und Staupe gefordert (1–3,31,36). Eine Gehirnbioptie hat sich als Routinediagnostik bisher noch nicht etabliert (37,38), sodass die immunmedierte ME meistens eine klinische Verdachts- und Ausschlussdiagnose bleibt.

In 29,0 % der Fälle erbrachten die Untersuchungen auf mögliche Infektionen positive Ergebnisse. Bei sechs dieser Hunde lag eindeutig eine infektiöse ME/M vor (4 Hunde bakteriell, 2 Hunde viral (FSME)), während bei den anderen Hunden unklar blieb, ob positive Antikörpertiter oder extrazelluläre Bakterien in der Liquorzytologie Zufallsbefunde beziehungsweise entnahmebedingte Kontaminationen waren. Letztendlich beweist nur das Ansprechen auf die gewählte

Therapie oder ein entsprechender Befund der Histopathologie von Gehirnbiopsien intra vitam oder Untersuchungen post mortem die Kausalität. Auch in größeren Untersuchungen zum Nachweis von Pathogenen bei der ME/M des Hundes konnten überwiegend keine ursächlichen Erreger detektiert werden, stattdessen wird von infektiöser ME/M in der Literatur eher als Einzelfall oder in kleinen Fallserien berichtet. In den Untersuchungen mit größeren Fallzahlen wird die Unsicherheit betont, inwieweit die vereinzelt nachgewiesenen Erreger im Kausalzusammenhang mit der diagnostizierten ME standen oder ob es sich um Zufallsbefunde handelte (14,25,39–42). Möglicherweise müssen regionale wie auch saisonale Besonderheiten im Auftreten von Infektionskrankheiten berücksichtigt werden, wie in unserem Patientengut das Vorkommen von FSME in Süddeutschland. Neben der Problematik, die regionalen, saisonalen und auch individuellen Gegebenheiten bei der Auswahl der Untersuchungen auf Infektionskrankheiten zu berücksichtigen, bleibt die Schwierigkeit der Interpretation von Untersuchungsergebnissen. Antikörper-Nachweisverfahren sprechen nur für einen Kontakt zwischen Erreger und Hund, wohingegen PCR-Nachweise oder bakterielle Kulturen den Erreger selbst nachweisen. Aufgrund dessen sollten insbesondere die Antikörperuntersuchungen in der Interpretation kritisch hinterfragt werden. Das PCR-Verfahren hat viele Vorteile, insbesondere die Möglichkeit des direkten Erregernachweises. Nachteile sind jedoch, dass die PCR nicht zwischen aktiven und inaktiven Erregern unterscheiden kann, Kontaminationen berücksichtigt werden müssen und unter Umständen die Sensitivität durch zu geringes Erregermaterial, gerade im zellarmen Liquor, niedrig ist. Des Weiteren werden nur spezifisch ausgewählte Erreger getestet und neue Pathogene bleiben unerkannt (25,42,43). DNA-/RNA-Sequenzierungen aus Liquor könnten zukünftig eine größere Rolle spielen, auch zur Bestätigung positiver PCR-Ergebnisse. Moderne Untersuchungsmethoden wie die metagenomische Sequenzierung von Liquorproben könnten bei der Detektion von bisher nicht beschriebenen Pathogenen wertvolle Erkenntnisse bringen (39).

Die Liquorzytologie hat zur Ausschlussdiagnostik eine besondere Bedeutung. Sie ist erforderlich, um vor allem bakterielle Infektionen nicht zu übersehen. Intrazelluläre Bakterien in der Liquorzytologie bei neutrophiler Pleoztose gelten als diagnostisch für eine bakterielle ME/M (18,44). Der Nachweis von Bakterien in der Liquorzytologie ohne eine vorausgegangene Bissverletzung oder andere

Verletzungen im Kopfbereich der Hunde war unerwartet. Bei fünf dieser Hunde gab alleine die Liquorzytologie Hinweise auf das Vorliegen einer möglichen bakteriellen Entzündung. In der Literatur wird die bakterielle ME/M beim Hund zwar eher als Seltenheit beschrieben, jedoch handelt es sich dann häufig um neurologische Notfälle, die eine schnelle und aggressive Therapie erfordern (18,44). Problematisch hierbei sind insbesondere die Überlappung des zytologischen Liquorbefundes (neutrophile Pleozytose), des klinischen Bildes und möglicher Blutbildveränderungen (Leukozytose mit Linksverschiebung) einer bakteriellen Meningitis und einer SRMA (13,18), so dass dem Erkennen intrazellulärer Bakterien wesentliche Bedeutung zukommt. Bei extrazellulären Bakterien muss allerdings eine Kontamination der gewonnenen Probe in Betracht gezogen werden. Eine weitere Bestätigung durch bakterielle Kulturen von Liquor oder Blut sollte versucht werden. Da jedoch Kulturen aus Liquor häufig negativ verlaufen (18), muss in allen Fällen auch das Ansprechen auf die gewählte Therapie zur Diagnoseabsicherung berücksichtigt werden. Im Falle einer negativen Liquorkultur kann eine 16S-rRNA/DNA-Gen-basierte Identifikation mittels PCR hilfreich sein (45).

Bei der durch ein Flavivirus induzierten FSME, auch als European tick-borne encephalitis (TBE) bezeichnet, bereitet die Abgrenzung zur immunmedierten ME aufgrund des charakteristischen Krankheitsbildes (Symptome, Neurolokalisation, Verlauf, hohes Fieber, Bildgebung und Liquor) meist wenig Probleme. Eine akute FSME-Infektion wurde durch den Nachweis von IgM-Antikörpern im Blut und dem typischen Liquor- und MRT-Befund bei zwei Hunden diagnostiziert. In der Kernspintomographie stellen sich bilateral symmetrische T2-hyperintense, nicht Kontrast anreichernde Läsionen im Thalamus, im Hippocampus, im Hirnstamm, in den Basalnuklei und im Ventralhorn des Rückenmarks dar (46). Im Liquor zeigt sich eine lymphomonozytäre Pleozytose (47,48). Beide Hunde hatten bei Vorstellung im Spätsommer Fieber (40,5°C) und hochgradige neurologische Defizite, u. a. Ataxie, nicht gehfähige Tetraparese, Pleurothotonus. Hohes Fieber und akute Tetraparese sind häufige Symptome einer FSME-Infektion (47,48). In Süddeutschland und Österreich tritt die Erkrankung insbesondere in den Monaten April bis Juli und September bis Oktober auf und es wird von zunehmendem Auftreten berichtet (48).

Hinweise auf eine akute *Toxoplasma gondii*-Infektion lagen nur bei zwei Hunden vor (Nachweis von IgM-Antikörpern im Blut und zusätzlich bei einem Hund Protozoenzyste in der Liquorzytologie). Als Hinweise auf eine Toxoplasmose wird nur der Nachweis von *Toxoplasma gondii*-DNA aus Liquor, eine Serokonversion oder der Nachweis eines vierfachen Antikörpertiteranstiegs im Blut angesehen (49). Bei einem dieser Hunde (Tabelle 3, Fall 10) muss die Bedeutung des Antikörpernachweises besonders kritisch hinterfragt werden. Dieser Hund hat unter immunsuppressiver Therapie bis zur Beendigung der Studie 2,5 Jahre gelebt, sodass hier eine immunmedierte ME/M deutlich wahrscheinlicher erscheint und die Antikörpernachweise eher als Zufalls-/Nebenbefund betrachtet werden müssen. Der Verdacht einer Neosporose bestand bei zwei Hunden auf der Basis von Antikörpernachweisen für *Neospora caninum* im Blut. Bei keinem dieser Hunde wurde die Diagnose durch einen zweiten Test bestätigt. In einer Studie aus Großbritannien ergaben die Untersuchungen auf *Toxoplasma gondii* und *Neospora caninum* ebenfalls in nur wenigen Fällen (0,25 % bzw. 2,25 %) der Hunde mit ME ein positives Ergebnis (36). Toxoplasmose und Neosporose scheinen demnach nur in wenigen Fällen Ursache einer ME beim Hund zu sein. Dennoch ist der Nachweis im Einzelfall wichtig, da eine immunsuppressive Therapie bei Neosporose und Toxoplasmose fatale Folgen haben könnte.

In der vorliegenden Studie wurde das Vorkommen von Staupe und Infektionen mit dem Lungenwurm *Angiostrongylus vasorum* sicherlich unterschätzt, da bei diesen Erkrankungen die Diagnose in der Klinik häufig bereits ohne Liquorpunktion und MRT gestellt wird. Im genannten Zeitraum kamen vereinzelt Fälle von Staupe und Angiostrongylose vor, die ohne Liquorpunktion diagnostiziert wurden. Bei Staupe kann bereits das klinische Bild des Hundes, wenn ein Myoklonus („Staupe-Tick“) und andere neurologische Symptome nach vorausgegangenen respiratorischen und gastrointestinalen Symptomen auftreten, hinweisend sein. Häufig liegt auch ein Auslandsvorbericht vor. Staupe kann auch durch eine positive CDV-PCR aus Urin und Konjunktivaltupfer bestätigt werden (50). Bei Befall mit *Angiostrongylus vasorum* wird die Verdachtsdiagnose häufig bereits durch Kotuntersuchungen (Auswanderungsverfahren) oder Antigentest aus dem Blut gestellt (51).

Ein PCR-Nachweis von *Bartonella*-spezifischer DNA aus Liquor war bei zwei Hunden positiv. Infektionen mit *Bartonella* spp. können beim Menschen zu ME/M und Endokarditis führen und sind auch beim Hund als Erreger von Endomyokarditis

und Myokarditis beschrieben (52,53). Ein Zusammenhang zwischen dem Nachweis von Bartonella-Antikörpern und neutrophiler oder granulomatöser ME beim Hund wurde beschrieben (54). Bartonella-DNA konnte auch bei einem Hund amplifiziert werden, bei dem in der Histopathologie eine GME vorlag (28). Es bleibt fraglich, inwieweit der Bartonella-Nachweis bei den zwei Hunden ursächlich für die ZNS-Entzündung war, da keine Histologie oder Bestätigung durch ein zweites Nachweisverfahren erfolgte.

Bei einem Hund wurden *Anaplasma phagocytophilum*-Antikörper im Serum (IgM) und Liquor nachgewiesen. Es liegen einzelne Fallberichte über an Anaplasrose erkrankte Hunde mit neurologischen Symptomen (24) vor, jedoch gibt es bisher wenige Hinweise auf die Relevanz dieses Erregers (25,40). Antikörperpositive und ein Drittel der im Blut PCR-positiven Hunde bleiben klinisch gesund (55).

Limitationen dieser Studie sind die kleine Fallzahl und die wenigen in der Histopathologie bestätigten Tiere. Außerdem muss angemerkt werden, dass in Einzelfällen immunmediierter ME/M auch normale Leukozytenzahlen im Liquor beschrieben sind (3). Diese Fälle wurden hier aufgrund der gewählten Einschlusskriterien nicht erfasst. Auch Hunde, die in der Kernspintomographie Anzeichen eines erhöhten Hirndruckes vorwiesen und bei denen aufgrund dessen keine Liquorentnahme durchgeführt worden ist, sind in der Auswertung nicht erfasst. Die wichtigste Einschränkung ist, dass keine standardisierten Untersuchungen auf Infektionskrankheiten durchgeführt worden sind. Stattdessen wurde das weitere diagnostische Vorgehen in praxi individualisiert an den vorherrschenden Entzündungstypen in der Liquorzytologie angepasst. Zusätzlich wurden klinische und anamnestische Daten berücksichtigt. Letztlich werden mit allen Untersuchungsmethoden keine neuen Infektionserreger erfasst, die im Rahmen von Klimaveränderungen und Import von Hunden aus dem Ausland möglicherweise eine Rolle spielen könnten.

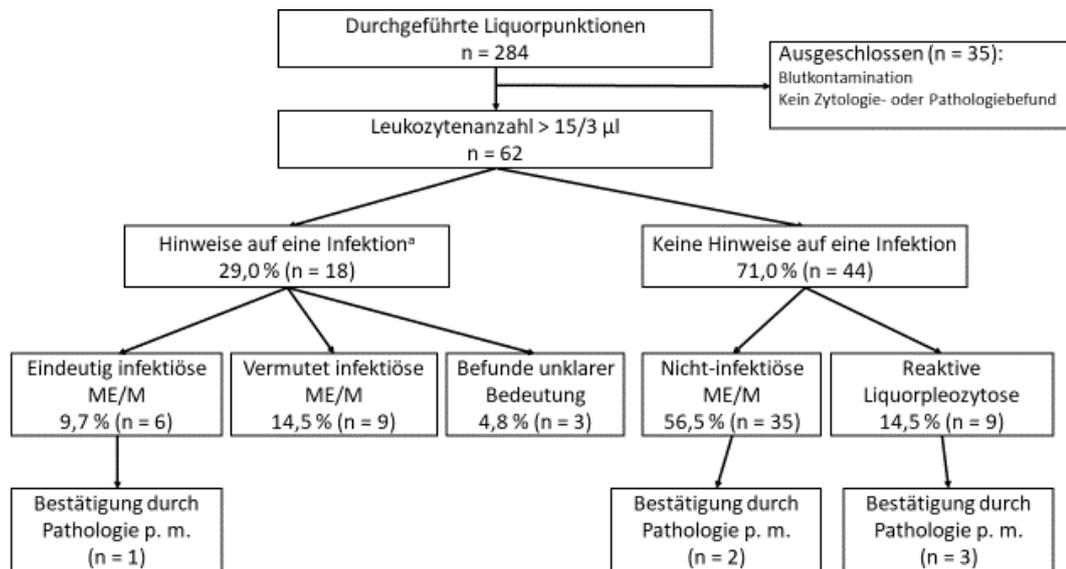
5. Fazit für die Praxis

Die häufigste Ursache für eine Liquorpleozytose war eine Meningoenzephalitis oder Meningitis unbekannter Ursache. Diese Diagnose nahm somit in der vorliegenden Population eine zentrale Rolle ein. Dennoch gab es bei 29,0 % der Hunde Hinweise auf eine infektiöse Ätiologie. Die Meningoenzephalitis/Meningitis unbekannter Ursache erfordert eine immunsuppressive Therapie. Für den Ausschluss einer infektiösen

Meningoenzephalitis oder Meningitis haben Liquorzytologie und Untersuchungen auf Infektionskrankheiten eine besondere Bedeutung.

6. Interessenkonflikt

Die Autoren bestätigen, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Abbildung 1: Flussdiagramm: Ursachen der Liquorpleozytose bei 62 Hunden.**Figure 1:** Flow chart: Etiology of CSF pleocytosis in 62 dogs.

ME/M: Meningoenzephalitis/Meningitis

p. m.: post mortem

a: Nachweis von Bakterien in der Liquorzytologie, positive Liquorkultur,
Hinweise auf eine aufgestiegene Infektion, Hinweise auf Kontakt zu
Infektionserregern in der Serologie oder PCR-Untersuchungen.

Abbildung 2: Kernspintomographie des Gehirns und zervikalen Rückenmarks einer zweijährigen Zwergspitzhündin mit Meningoenzephalitis unbekannter Ursache (MUO). T2-gewichtete Sequenz, midsagittale Ebene. Mehrere Regionen mit T2-hyperintensem Signal im Bereich des Zerebellums. Als Zusatzbefund lag eine Syringohydromyelia im Halsrückenmark vor. Die Untersuchungen auf *Angiostrongylus vasorum* (Antigenschnelltest, Blut), *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* (Antikörper, Blut) und canines Staupevirus (PCR, Konjunktivaltuper, Blut, Urin) verliefen negativ. Bild: Chirurgische und Gynäkologische Kleintierklinik, LMU München.

Figure 2: Magnetic resonance imaging of the brain and cervical spinal cord of a two-year-old female Pomeranian dog with meningoencephalitis of unknown origin (MUO). T2-weighted sequence, midsagittal plane. Cerebellum displays several poorly circumscribed areas of T2 hyperintense signal. Additional finding was syringohydromyelia in the cervical spinal cord. The tests for *Angiostrongylus vasorum* (rapid antigen test, blood), *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* (antibody test, blood) and canine distemper virus (PCR, conjunctival swab, blood, urine) were negative. Image: Clinic for Surgery and Reproduction of Small Animals, LMU Munich.

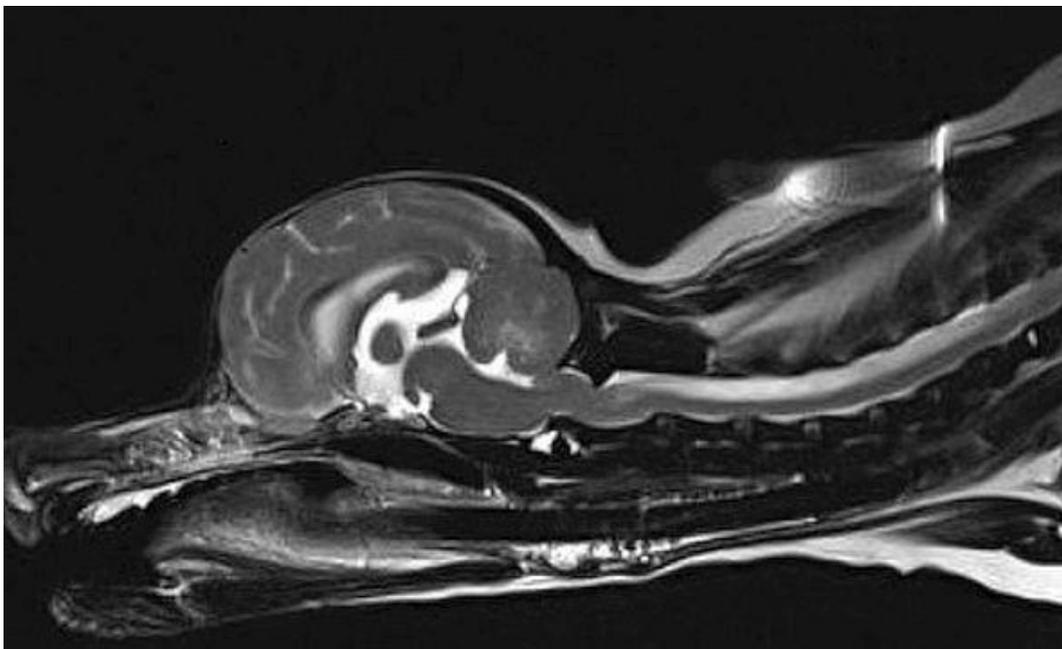


Tabelle 1: Signalement, Zeitpunkt der Erkrankung und klinische Daten der Hunde mit Liquorpleozytose (n = 62).

Table 1: Signalement, disease onset and clinical data of dogs with CSF pleocytosis (n = 62).

	ME/M unbekannter Ursache (n = 35)	Verdacht infektiöse ME/M (n = 18)	Reaktive Entzündung (n = 9)
Signalement			
Weiblich	63 %	39 %	44 %
Männlich	37 %	61 %	56 %
> 0–3 Jahre	49 %	44 %	56 %
> 3–6 Jahre	29 %	22 %	22 %
> 6–9 Jahre	6 %	22 %	0 %
> 9 Jahre	17 %	11 %	22 %
Kleine Rasse < 10kg	49 %	44 %	44 %
Mittelgroße Rasse 10–20kg	20 %	17 %	22 %
Große Rasse > 20kg	31 %	39 %	33 %
Zeitpunkt der Erkrankung			
Frühling (März–Mai)	20 %	22 %	0 %
Sommer (Jun.–Aug.)	31 %	33 %	56 %
Herbst (Sept.–Nov.)	17 %	17 %	33 %
Winter (Dez.–Feb.)	31 %	28 %	11 %
Klinik			
Allgemeinbefinden gestört	69 %	72 %	67 %
Spinale Schmerzen	60 %	72 %	56 %
Epileptische Anfälle	26 %	17 %	22 %
Ataxie/Parese/Plegie	37 %	50 %	22 %
Kopfnervenausfälle	14 %	22 %	33 %
Blindheit	31 %	22 %	67 %
Blutbildveränderung: Leukozytose mit Linksverschiebung	24 % (8/34 ^a)	11 %	22 %

Erhöhte IgA-Konzentration	83 % (5/6)	100 % (4/4 ^b)	0 % (0/0)
---------------------------	------------	---------------------------	-----------

a: 1 Hund ohne Blutbild

b: 2 Hunde mit Bakterien in der Liquorzytologie; 1 Hund mit positiver Liquorkultur; 1 Hund mit Nachweis von Antikörpern *Anaplasma phagocytophilum* (Liquor, Blut)

ME/M: Meningoenzephalitis/Meningitis

Tabelle 2: Befunde der Kernspintomographie (MRT) und Liquoranalyse bei Hunden mit Liquorpleozytose (n = 62).

Table 2: Results of magnetic resonance imaging (MRI) and CSF analysis in dogs with CSF-pleocytosis (n = 62).

	ME/M unbekannter Ursache	Verdacht infektiöse ME/M	Reaktive Entzündung
MRT	n = 32^a	n = 17^b	n = 9
Normalbefund	25 %	47 %	0 %
Fokale Läsion im Neuroparenchym	13 %	0 %	78 %
Multifokale Läsionen im Neuroparenchym	75 %	100 %	22%
Nur meningeale Kontrastanreicherung	13 %	0 %	0 %
Liquoranalyse	n = 34^c	n = 18	n = 8^d
Mittelwert Proteingehalt [g/L] (Min–Max)	0,8 ^e (0,1–5,5)	1,4 ^f (0,1–7,4)	0,5 ^g (0,1–1,5)
Mittelwert Leukozyten [Anzahl/μl] (Min–Max)	396 (16–3728)	1300 (18–8434)	93 (17–383)
Lymphomonozytäre Pleozytose	41 %	39 %	38 %
Gemischtzellige Pleozytose	32 %	28 %	13 %
Neutrophile Pleozytose	18 %	33 %	0 %
Eosinophile Pleozytose	3 %	0 %	0 %
Reaktiv/resorptiv	6 %	0 %	50 %

a: 3 Hunde ohne Bildgebung

b: 1 Hund ohne Bildgebung

c: 1 Hund ohne Zytologie, bestätigt durch Pathologiebefund

d: 1 Hund ohne Zytologie, bestätigt durch Pathologiebefund

e: n = 32 (2 Hunde ohne Proteinmessung)

f: n = 16 (2 Hunde ohne Proteinmessung)

g: n = 7 (2 Hunde ohne Proteinmessung)

ME/M: Meningoenzephalitis/Meningitis d: 1 Hund ohne Zytologie, bestätigt durch Pathologiebefund

e: n = 32 (2 Hunde ohne Proteinmessung)

f: n = 16 (2 Hunde ohne Proteinmessung)

g: n = 7 (2 Hunde ohne Proteinmessung)

ME/M: Meningoenzephalitis/Meningitis

Tabelle 3: Untersuchungsbefunde, Therapie und Überlebenszeit der Hunde mit eindeutiger Diagnose infektiöse ME/M (n = 6), mit Verdachtsdiagnose infektiöse ME/M (n = 9) sowie Befunden unklarer Bedeutung (n = 3).

Table 3: Clinical findings, treatment and survival of dogs with unequivocal diagnosis infectious ME/M (n = 6), presumed infectious ME/M (n = 9) and of dogs with diagnostic findings of uncertain significance (n = 3).

Hund	Diagnose	Untersuchungsbefunde und Verlauf
Eindeutige Diagnose		
1	Bakterielle ME/M	<ul style="list-style-type: none"> • CSF: Neutrophile Pleozytose, intrazelluläre Bakterien • Überlebenszeit: Bis heute (1165 Tage) • Therapie: Antibiotikum, Prednisolon 0,5 mg/kg/Tag Langzeittherapie (> 2 Wochen)
2	Bakterielle ME/M	<ul style="list-style-type: none"> • CSF: Neutrophile Pleozytose, extrazelluläre Bakterien • Histopathologie (post mortem) • Überlebenszeit: 27 Tage (Euthanasie) • Therapie: Antibiotikum, Prednisolon (> 1 mg/kg/Tag, immunsuppressiv), Azathioprin
3	Bakterielle ME/M	<ul style="list-style-type: none"> • Liquorkultur (<i>Staph. spp.</i>) • CSF: Neutrophile Pleozytose, extrazelluläre Bakterien • Überlebenszeit: Bis heute (2028 Tage) • Therapie: Antibiotikum, Prednisolon 0,5 mg/kg/Tag Langzeittherapie (> 2 Wochen)
4	Bakterielle ME/M	<ul style="list-style-type: none"> • Liquorkultur (<i>Staph. epidermidis</i>) • CSF: Lymphomonozytäre Pleozytose • Überlebenszeit: 3 Tage (gestorben) • Therapie: Antibiotikum, Prednisolon 0,5 mg/kg/Tag
5	FSME	<ul style="list-style-type: none"> • Klinik: Fieber, Tetraparese • CSF: Lymphomonozytäre Pleozytose

		<ul style="list-style-type: none"> • Nachweis von FSME IgM und IgG AK (Serum) • Überlebenszeit: Bis heute (1041 Tage) • Therapie: Antibiotikum, Prednisolon 0,5 mg/kg/Tag initial, keine Langzeittherapie
6	FSME	<ul style="list-style-type: none"> • Klinik: Fieber, Tetraparese • CSF: Lymphomonozytäre Pleozytose • Nachweis von FSME IgM und IgG AK (Serum) • Überlebenszeit: Bis heute (980 Tage) • Therapie: Antibiotikum, Prednisolon 0,5 mg/kg/Tag initial, keine Langzeittherapie
Verdachtsdiagnose		
7	Bakterielle ME/M	<ul style="list-style-type: none"> • CSF: Neutrophile Pleozytose, extrazelluläre Bakterien • Überlebenszeit: Bis heute (1174 Tage) • Therapie: Antibiotikum, Langzeittherapie (> 2 Wochen)
8	Bakterielle ME/M	<ul style="list-style-type: none"> • CSF: Lymphomonozytäre Pleozytose, Verdacht auf intrazelluläre Bakterien • Überlebenszeit: Bis heute (421 Tage) • Therapie: Antibiotikum, Langzeittherapie (> 2 Wochen)
9	Verdacht auf Toxoplasmose	<ul style="list-style-type: none"> • CSF: Lymphomonozytäre Pleozytose, Verdacht auf Protozoenzyste • Nachweis von <i>Toxoplasma gondii</i> IgM und IgG AK (Serum) • <i>Toxoplasma gondii</i> PCR (CSF) negativ • Überlebenszeit: 17 Tage (gestorben) • Therapie: Antibiotikum, Prednisolon (> 1 mg/kg/Tag, immunsuppressiv), später 3-fach Antibiose, Pyrimethamin
10	Verdacht auf	<ul style="list-style-type: none"> • CSF: Lymphomonozytäre Pleozytose

	Toxoplasmose	<ul style="list-style-type: none"> • Nachweis von <i>Toxoplasma gondii</i> IgM und IgG AK (Serum) • <i>Toxoplasma gondii</i> PCR (CSF) negativ • Überlebenszeit: Bis heute (749 Tage) • Therapie: Antibiotikum, Prednisolon 0,5 mg/kg/Tag initial, Antibiotikum, Prednisolon (> 1 mg/kg/Tag, immunsuppressiv), Ciclosporin, Langzeittherapie (> 2 Wochen)
11	Verdacht auf Neosporose	<ul style="list-style-type: none"> • CSF: Lymphomonozytäre Pleozytose • Nachweis <i>Neospora caninum</i> AK (Serum); kein zweiter Test • <i>Neospora caninum</i> PCR (CSF) negativ • Überlebenszeit: 35 Tage (gestorben) • Therapie: Antibiotikum, Prednisolon (> 1 mg/kg/Tag, immunsuppressiv) Langzeittherapie (> 2 Wochen)
12	Verdacht auf Neosporose Angiostrongylose	<ul style="list-style-type: none"> • CSF: Neutrophile Pleozytose • Nachweis <i>Neospora caninum</i> AK (Serum); kein zweiter Test • <i>Neospora caninum</i> PCR (CSF) negativ • Auswanderungsverfahren nach <i>Baermann</i> mit Nachweis von Lungenwürmern • MRT ohne Einblutungen ins ZNS; Laboruntersuchungen unauffällig • Überlebenszeit: 29 Tage (lost-to-follow-up) • Therapie: Antibiotikum, Prednisolon (> 1 mg/kg/Tag, immunsuppressiv), Fenbendazol
13	Bakterielle ME/M	<ul style="list-style-type: none"> • CSF: Neutrophile Pleozytose, subakute fibrinopurulente Entzündung • Rhinitis, Sinusitis, nekrotisierend-eitrig, verursacht durch das Einspießen von Pflanzenteilen; Biopsie Nase

		<ul style="list-style-type: none"> • Otitis media: Ohrtupfer (<i>Streptococcus minor</i>) • Überlebenszeit: 3 Tage (Euthanasie) • Therapie: Antibiotikum
14	Bakterielle ME/M	<ul style="list-style-type: none"> • Klinik: Fieber, purulenter Nasenausfluss, vergrößerte Mandibularlymphknoten • Rhinitis, Sinusitis • CSF: Neutrophile Pleozytose, nekropurulente Entzündung • Überlebenszeit: 2 Tage (Euthanasie) • Therapie: Antibiotikum
15	Bakterielle ME/M	<ul style="list-style-type: none"> • Pneumozephalon, Läsion der Lamina cribrosa mit Liquorrhoe • CSF: Neutrophile Pleozytose • Überlebenszeit: Bis heute (2142 Tage) • Therapie: Antibiotikum, Prednisolon 0,5 mg/kg/Tag Langzeittherapie (> 2 Wochen)
Befunde unklarer Bedeutung		
16	Bartonellose	<ul style="list-style-type: none"> • Keine klinischen Symptome wie Endokarditis/Myokarditis • CSF: Lymphomonozytäre Pleozytose • <i>Bartonella</i> spp. PCR (CSF) positiv • Überlebenszeit: 34 Tage (lost-to-follow-up) • Therapie: Antiepileptikum
17	Bartonellose	<ul style="list-style-type: none"> • Keine klinischen Symptome wie Endokarditis/Myokarditis • CSF: Lymphmonozytäre Pleozytose • <i>Bartonella</i> spp. PCR (CSF) positiv • Überlebenszeit: 45 Tage (Euthanasie) • Therapie: Antibiotikum, Prednisolon (> 1 mg/kg/Tag, immunsuppressiv) initial, Prednisolon (immunsuppressiv), Cytarabin, Langzeittherapie (> 2 Wochen)

18	Anaplasmose	<ul style="list-style-type: none">• Keine Thrombozytopenie• CSF: Neutrophile Pleozytose• Nachweis <i>Anaplasma phagocytophilum</i> AK (CSF und Serum)• Überlebenszeit: Bis heute (1281 Tage)• Therapie: Antibiotikum, Prednisolon (> 1 mg/kg/Tag, immunsuppressiv) initial, Prednisolon (immunsuppressiv) Langzeittherapie (> 2 Wochen)
----	-------------	---

ME/M: Meningoenzephalitis/Meningitis

CSF: Liquor cerebrospinalis

AK: Antikörper

FSME: Frühsommermeningoenzephalitis (Flavivirus)

Tabelle 4: Strukturelle Gehirnläsionen der Hunde mit Verdacht auf reaktive Liquorpleozytose (n = 9).

Table 4: Structural CNS lesions in dogs with suspicion of reactive CSF pleocytosis (n = 9).

Strukturelle Gehirnerkrankungen		
Vaskulär (n = 2)	Neoplasie (n = 3)	Anomalie (n = 4)
<ul style="list-style-type: none"> • Multiple zerebrale ischämische Infarkte • Chronisch ischämischer Infarkt der Arteria cerebellaris rostralis und Syringohydromyelia 	<ul style="list-style-type: none"> • Hypophysentumor • Malignes T-Zell-Lymphom • Hirnmetastasen 	<ul style="list-style-type: none"> • Hydrozephalus mit erhöhtem intrakraniellm Druck • Hydrozephalus und intraventrikuläre Blutung • Ausgedehnte suprakolikulare Flüssigkeitsansammlung mit transtentorieller Herniation • Epidermoidzyste

Literaturverzeichnis

1. Lowrie M, Smith PM, Garosi L. Meningoencephalitis of unknown origin: investigation of prognostic factors and outcome using a standard treatment protocol. *Vet Rec.* 2013;172(20):527.
2. Coates JR, Jeffery ND. Perspectives on meningoencephalomyelitis of unknown origin. Vol. 44, *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice.* 2014. p. 1157–1185.
3. Granger N, Smith PM, Jeffery ND. Clinical findings and treatment of non-infectious meningoencephalomyelitis in dogs: A systematic review of 457 published cases from 1962 to 2008. *Vet J.* 2010;184(3):290–297.
4. Cornelis I, Van Ham L, Gielen I, et al. Clinical presentation, diagnostic findings, prognostic factors, treatment and outcome in dogs with meningoencephalomyelitis of unknown origin: A review. *Vet J.* 2018;244:37–44.
5. Talarico LR, Schatzberg SJ. Idiopathic granulomatous and necrotising inflammatory disorders of the canine central nervous system: A review and future perspectives. *J Small Anim Pract.* 2010;51(3):138–149.
6. Charalambous M, Danourdis T, Hatzis A, et al. An update on meningoencephalomyelitis of unknown aetiology in dogs. *J Hell Vet Med Soc.* 2013;64(2):131–144.
7. Uchida K, Park E, Tsuboi M, et al. Pathological and immunological features of canine necrotising meningoencephalitis and granulomatous meningoencephalitis. *Vet J.* 2016;213:72–77.
8. Flegel T, Boettcher IC, Matiasek K, et al. Comparison of oral administration of lomustine and prednisolone or prednisolone alone as treatment for granulomatous or necrotizing encephalitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2011;238(3):337–345.
9. Barber RM, Schatzberg SJ, Corneveaux JJ, et al. Identification of risk loci for necrotizing meningoencephalitis in Pug dogs. *J Hered.* 2011;102(1):40–46.
10. Schrauwen I, Barber RM, Schatzberg SJ, et al. Identification of novel genetic risk loci in maltese dogs with necrotizing meningoencephalitis and evidence of a shared genetic risk across toy dog breeds. *PLoS One.* 2014;9(11):1–7.
11. Gregory CR, Stewart A, Sturges B, et al. Leflunomide effectively treats naturally occurring immune-mediated and inflammatory diseases of dogs that are unresponsive to conventional therapy. *Transplant Proc.* 1998;30(8):4143–4148.
12. Wong M, Hopkins A, Meeks J, et al. Evaluation of treatment with a combination of azathioprine and prednisone in dogs with meningoencephalomyelitis of undetermined etiology: 40 cases (2000–2007). *J Am Vet Med Assoc.* 2010;237(8):929–935.
13. Tipold A, Schatzberg SJ. An update on steroid responsive meningitis-arteriitis. *J Small Anim.* 2010;51:150–154.
14. Han JI, Chang DW, Na KJ. A multiplex quantitative real-time polymerase chain reaction panel for detecting neurologic pathogens in dogs with meningoencephalitis. *J Vet Sci.* 2015;16(3):341–347.
15. Read RW, Rodriguez DB, Summers BA. West Nile virus encephalitis in a dog. *Vet Pathol.* 2005;42(2):219–222.
16. Kotnik T, Suhadolc S, Juntos P, et al. Case report of a pseudorabies (Aujeszky's disease) in a bitch. *Slov Vet Res.* 2006;43(3):143–145.

17. Barnes HL, Chrisman CL, Farina L, et al. Clinical evaluation of rabies virus meningoencephalomyelitis in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2003;39(6):547–550.
18. Radaelli ST, Platt SR. Bacterial meningoencephalomyelitis in dogs: a retrospective study of 23 cases (1990-1999). *J Vet Intern Med.* 2002;16(2):159–163.
19. Garosi L, Dawson A, Couturier J, et al. Necrotizing cerebellitis and cerebellar atrophy caused by *Neospora caninum* infection: Magnetic resonance imaging and clinicopathologic findings in seven dogs. *J Vet Intern Med.* 2010;24(3):571–578.
20. Lunn JA, Lee R, Smaller J, et al. Twenty two cases of canine neural angiostrongylosis in eastern Australia (2002-2005) and a review of the literature. *Parasit Vectors.* 2012;5(1):70.
21. Lavelly J, Lipsitz D. Fungal infections of the central nervous system in the dog and cat. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2005;20(4):212–219.
22. Márquez M, Ródenas S, Molin J, et al. Protothecal pyogranulomatous meningoencephalitis in a dog without evidence of disseminated infection. *Vet Rec.* 2012;171(4):100.
23. Dennis MM, Pearce LK, Norrdin RW, et al. Bacterial meningoencephalitis and ventriculitis due to migrating plant foreign bodies in three dogs. *Vet Pathol.* 2005;42(6):840–844.
24. Eberts MD, Vissotto de Paiva Diniz PP, Beall MJ, et al. Typical and atypical manifestations of *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2011;47(6):86–94.
25. Jäderlund KH, Bergström K, Egenvall A, et al. Cerebrospinal fluid PCR and antibody concentrations against *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi sensu lato* in dogs with neurological signs. *J Vet Intern Med.* 2009;23(3):669–672.
26. Da Costa Oliveira V, Boechat VC, Mendes AAV, et al. Occurrence of *Leishmania infantum* in the central nervous system of naturally infected dogs: Parasite load, viability, co-infections and histological alterations. *PLoS One.* 2017;12(4):1–15.
27. Marchetti V, Lubas G, Baneth G, et al. Hepatozoonosis in a dog with skeletal involvement and meningoencephalomyelitis. *Vet Clin Pathol.* 2009;38(1):121–125.
28. Barber R, Li Q, Diniz P, et al. Evaluation of brain tissue or cerebrospinal fluid with broadly reactive polymerase chain reaction for *Ehrlichia*, *Anaplasma*, spotted fever group *Rickettsia*, *Bartonella*, and *Borrelia* species in canine neurological diseases (109 cases). *J Vet Intern Med.* 2010;24(2):372–378.
29. Doyle C, Solano-Gallego L. Cytologic interpretation of canine cerebrospinal fluid samples with low total nucleated cell concentration, with and without blood contamination. *Vet Clin Pathol.* 2009;38(3):392–396.
30. Long SN, Anderson TJ, Long FHA, et al. Evaluation of rapid staining techniques for cytologic diagnosis of intracranial lesions. *Am J Vet Res.* 2002;63(3):381–386.
31. Lowrie M, Thomson S, Smith P, et al. Effect of a constant rate infusion of cytosine arabinoside on mortality in dogs with meningoencephalitis of unknown origin. *Vet J.* 2016;213:1–5.
32. Cornelis I, Volk HA, Van Ham L, et al. Clinical presentation, diagnostic

- findings and outcome in dogs diagnosed with presumptive spinal-only meningoencephalomyelitis of unknown origin. *J Small Anim Pract.* 2017;58:174–182.
33. Mariani CL, Nye CJ, Tokarz DA, et al. Cerebrospinal fluid lactate in dogs with inflammatory central nervous system disorders. *J Vet Intern Med.* 2019;33:2701–2708.
 34. Griffin JF, Levine JM, Levine GJ, et al. Meningomyelitis in dogs: A retrospective review of 28 cases (1999 to 2007). *J Small Anim Pract.* 2008;49(10):509–517.
 35. Vitale S, Foss K. Immune-Mediated Central Nervous System Disease—Current Knowledge and Recommendations. *Top Companion Anim Med.* 2019;34:22–29.
 36. Coelho AM, Cherubini G, Stefani A De, et al. Serological prevalence of toxoplasmosis and neosporosis in dogs diagnosed with suspected meningoencephalitis in the UK. *J Small Anim.* 2018;60:44–50.
 37. Flegel T, Oevermann A, Oechtering G, et al. Diagnostic yield and adverse effects of MRI-guided free-hand brain biopsies through a mini-burr hole in dogs with encephalitis. *J Vet Intern Med.* 2012;26(4):969–976.
 38. Koblik PD, LeCouteur RA, Higgins RJ, et al. CT-guided brain biopsy using a modified Pelorus Mark III stereotactic system: experience with 50 dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* 1999;40(4):434–440.
 39. Hoon-Hanks LL, Tyler KL, Owen C, et al. Metagenomic investigation of idiopathic meningoencephalomyelitis in dogs. *J Vet Intern Med.* 2018;32:324–330.
 40. Bartner LR, Mcgrath S, Drury A, et al. Testing for *Bartonella* ssp. DNA in cerebrospinal fluid of dogs with inflammatory central nervous system disease. *J Vet Intern Med.* 2018;32:1983–1988.
 41. Schatzberg SJ, Haley NJ, Barr SC, et al. Polymerase chain reaction screening for DNA viruses in paraffin-embedded brains from dogs with necrotizing meningoencephalitis, necrotizing leukoencephalitis, and granulomatous meningoencephalitis. *J Vet Intern Med.* 2005;19(4):553–559.
 42. Barber RM, Porter BF, Li Q, et al. Broadly reactive polymerase chain reaction for pathogen detection in canine granulomatous meningoencephalomyelitis and necrotizing meningoencephalitis. *J Vet Intern Med.* 2012;26(4):962–968.
 43. Daly P, Drudy D, Chalmers WSK, et al. Greyhound meningoencephalitis: PCR-based detection methods highlight an absence of the most likely primary inducing agents. *Vet Microbiol.* 2006;118(3–4):189–200.
 44. Forward AK, Plessas IN, Guilherme S, et al. Retrospective evaluation of the clinical presentation, magnetic resonance imaging findings, and outcome of dogs diagnosed with intracranial empyema (2008–2015): 9 cases. *J Vet Emerg Crit Care.* 2019;29(4):431–438.
 45. Messer JS, Wagner SO, Baumwart RD, et al. A case of canine streptococcal meningoencephalitis diagnosed using universal bacterial polymerase chain reaction assay. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2008;44(4):205–209.
 46. Beckmann K, Steffen F, Ohlerth S, et al. Three tesla magnetic resonance imaging findings in 12 cases of canine central European tick-borne meningoencephalomyelitis. *Vet Radiol Ultrasound.* 2016;57(1):41–48.
 47. Pfeffer M, Dobler G. Tick-borne encephalitis virus in dogs - is this an

- issue? Parasit Vectors. 2011;4:59.
48. Leschnik MW, Kirtz GC, Thalhammer JG. Tick-borne encephalitis (TBE) in dogs. *Int J Med Microbiol.* 2002;291(33):66–69.
 49. Greene CE, Carmichael LE. Toxoplasmosis and Neosporosis. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat 4th Edition.* 2015. p. 754–775.
 50. Tipold A, Vandeveld M, Jaggy A. Neurological manifestations of canine distemper virus infection. *J Small Anim Pract.* 1992;33:466–470.
 51. Conboy GA. Canine angiostrongylosis: The French heartworm: An emerging threat in North America. *Vet Parasitol.* 2011;176(4):382–389.
 52. Breitschwerdt EB, Sontakke S, Hopkins S. Neurological manifestations of Bartonellosis in immunocompetent patients: A composite of reports from 2005-2012. *J Neuroparasitology.* 2012;3:1–15.
 53. Gerber J, Johnson J, Scott M, et al. Fatal Meningitis and Encephalitis due to *Bartonella henselae* bacteria. *J Forensic Sci.* 2002;47(3):640–644.
 54. Breitschwerdt EB, Blann KR, Stebbins ME, et al. Clinicopathological abnormalities and treatment response in 24 dogs seroreactive to *Bartonella vinsonii (berkhoffii)* antigens. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2004;40(2):92–101.
 55. Kohn B, Silaghi C, Galke D, et al. Infections with *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Germany. *Res Vet Sci.* 2011;91(1):71–76.

1.2. Canine brucellosis: Insights into the epidemiologic situation in Europe

Das folgende Manuskript „Canine brucellosis: Insights into the epidemiologic situation in Europe” wurde am 30. April 2019 vom „Frontiers in Veterinary Science - Veterinary Neurology and Neurosurgery“ zur Veröffentlichung angenommen.

The following manuscript entitled “Canine brucellosis: Insights into the epidemiologic situation in Europe” has been accepted for publication in the journal “Frontiers in Veterinary Science - Veterinary Neurology and Neurosurgery” on April 30, 2019.

Received: 04 Feb 2019; Accepted: 30 Apr 2019.

Copyright: © 2019 Buhmann, Paul, Herbst, Melzer, Wolf, Hartmann and Fischer.

Canine brucellosis: Insights into the epidemiologic situation in Europe

**Gesine Buhmann¹, Frauke Paul², Werner Herbst³, Falk Melzer⁴, Georg Wolf⁵,
Katrin Hartmann¹, Andrea Fischer^{1*}**

¹Clinic of Small Animal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Munich, Germany

²IDEXX Laboratories, Ludwigsburg, Germany

³Institute of Hygiene and Infectious Diseases of Animals, JLU Gießen, Gießen, Germany

⁴Institute of Bacteriological Infections and Zoonosis, Friedrich-Loeffler-Institute, Federal Research Institute for Animal Health, Jena, Germany

⁵Institute for Infectious Diseases and Zoonoses, LMU Munich, Munich, Germany

*** Correspondence:**

Andrea Fischer

andrea.fischer@lmu.de; andrea.fischer@med.vetmed.uni-muenchen.de (AF)

Keywords: Canine brucellosis, *Brucella canis*, zoonosis, epidemiology, dog, European countries, discospondylitis

Abstract

Brucella canis is one of many responsible pathogens of discospondylitis in dogs and infections require specific management. Little is known about the epidemiologic situation in Europe. The purpose of the study was to get insights into the occurrence of brucellosis in dogs in Europe. The database of a European veterinary laboratory was screened for *Brucella* positive samples. Additionally, medical records of a veterinary hospital in Germany were screened for diagnosis of discospondylitis and brucellosis. The laboratory received samples from 20 European countries for *Brucella* testing in dogs: 3.7 % of submitted samples were *Brucella* spp. PCR-positive (61/1657), and *Brucella canis* antibodies were identified in 5.4 % of submitted samples (150/2764). *Brucella* spp. PCR-positive samples originated from Spain (11.1 % of submitted samples), Poland (6.7 % of submitted samples) and rarely from Italy and France. Samples with *Brucella canis* antibodies originated from 13 European countries (Sweden, Belgium, Austria,

Switzerland, Italy, Finland, Germany, Denmark, Hungary, Norway, Poland, France, Netherlands). Young dogs (0-24 months) had a 5.4-fold increased risk of PCR positive samples. The supplementary medical records search identified four young female dogs (7-30 months) with *Brucella canis* discospondylitis in Germany. The four dogs had been imported to Germany from Eastern European countries (Moldavia, Romania, Macedonia).

In conclusion, infection with *Brucella canis* needs to be considered in dogs in Europe and diagnostics for *Brucella canis* infection appear indicated in young dogs with discospondylitis.

Introduction

Veterinary neurologists are frequently confronted with spinal pain in dogs. One differential diagnosis of spinal pain is discospondylitis. The most common aetiologies of discospondylitis in dogs are *Staphylococcus* species, and less frequently *Streptococcus* species, *Escherichia coli*, *Aspergillus* species and *Brucella canis* or *Brucella suis*, as well. Routine diagnosis relies on spinal radiographs, CT or MRI, blood cultures and needle aspirates of effected disc spaces using fluoroscopy or CT. A special approach is required for diagnosis of *Brucella* discospondylitis (FISCHER et al., 1997; JAMES et al., 2017; RUOFF et al., 2018). *Brucella canis* (*B. canis*) is a gram-negative, facultative intracellular coccobacillus which has been reported in many regions of the world and is considered endemic in Southern USA, in Central and South America and in Mexico (BROWER et al., 2007; FLORES-CASTRO et al., 1977; KEID et al., 2017; KRUEGER et al., 2014; KÜSTER DE PAULA DREER et al., 2013). *B. canis* also occurs in Canada (COSFORD, 2018). Frequent reports of infections with *B. canis* also originate from Asia (China, Japan, India) and Africa (Nigeria, Zimbabwe) (BROWER et al., 2007; CADMUS et al., 2011; CHINYOKA et al., 2014; DI et al., 2014; YOAK et al., 2014). It is exotic in Australia and does not occur in New Zealand (GARDNER & REICHEL, 1997; MOR et al., 2016; ROVID SPICKLER, 2018). In Germany, *B. canis* was reported in 1976 in a colony of Beagle dogs (VON KRUEDENER, 1976) and 2003 in one male dog with epididymitis and orchitis (NÖCKLER et al., 2003). Rare cases originate also from other European countries, such as Sweden (HOLST et al., 2012; KADEN et al., 2014), the United Kingdom (MORGAN et al., 2017; TAYLOR et al., 1980), Austria (HOFER et al., 2012), Italy (CORRENTE et al., 2010), and Hungary (GYURANECZ et al., 2011). It is generally assumed that countries with a large stray dog population have a higher prevalence of infection, since stray dogs can contribute to distribution and retention of this organism in dog populations (BROWN et al., 1976; KÜSTER DE PAULA DREER et al., 2013; REYNES et al., 2012; YOAK et al., 2014). Complementary, breeding colonies are at increased risk of maintaining the infection, as well (BRAMLAGE et al., 2015). *B. canis* discospondylitis is the most frequently reported manifestation outside the genital tract (ANDERSON & BINNINGTON, 1983; CORRENTE et al., 2010; HENDERSON et al., 1974; KERWIN et al., 1992; THOMAS, 2000, 1998), others are generalized lymphadenopathy (HOLST et al., 2012), intraocular inflammation

(LEDBETTER et al., 2009; VINAYAK et al., 2004), and rarely osteomyelitis (SMEAK et al., 1987) and meningoencephalitis (CARMICHAEL & KENNEY, 1970) with similar appearance as neurobrucellosis in humans (ALGAHTANI et al., 2017). Common consequences of *B. canis* infection in dogs are late abortion, stillbirth, and failure to conceive in female dogs (HOLLETT, 2006; HOLST et al., 2012; KEID et al., 2017; WANKE, 2004) and epididymitis, orchitis, prostatitis and infertility in male dogs (ANDERSON & BINNINGTON, 1983; CORRENTE et al., 2010; GEORGE & CARMICHAEL, 1984). Puppies can be born, which have very high risk of perinatal mortality (CARMICHAEL & KENNEY, 1970). A major concern is that *B. canis* can cause a lifelong infection with intermittent shedding of bacteria (CARMICHAEL et al., 1984; GREENE & CARMICHAEL, 2015). Awareness of canine brucellosis as a zoonosis increased in the last years (KRUEGER et al., 2014; LUCERO et al., 2009; SÁNCHEZ-JIMÉNEZ et al., 2015), although symptomatic human infections are considered rare (WALLACH et al., 2004). Transmission of *B. canis* from dogs to humans is possible. Immunocompromised people with close contact to infected dogs (LAWACZECK et al., 2011; LUCERO et al., 2009, 2010), and laboratory workers handling infected specimen are considered at risk for infection (LUCERO et al., 2005a, 2005b; ROUSSEAU, 1985; WALLACH et al., 2004). Yet, surveillance for brucellosis as a zoonotic disease commonly focusses on *B. melitensis*, *B. suis* and *B. abortus* (BANAI et al., 2018; FRANC et al., 2018; GALIŃSKA & ZAGÓRSKI, 2013). Less attention has been paid to *B. canis* in Europe, although dogs usually live in close contact with their owners.

The purpose of the study was to get insights into the occurrence of *Brucella canis* in dogs in Europe.

We screened the database of a European laboratory for *Brucella* positive samples. Additionally, medical records of a German veterinary hospital were reviewed for dogs with *Brucella canis* discospondylitis and their geographic origin.

Materials and Methods

The database of a veterinary diagnostic laboratory (IDEXX laboratories, Ludwigsburg, Germany), which received samples from dogs for *B. canis* testing from 20 European countries, was investigated (2011-2016). The laboratory had received 4421 samples from dogs for testing for *Brucella* infection: 1657 samples were submitted for detection of *Brucella* spp. with polymerase chain reaction (PCR), and 2764 samples were submitted for detection of *B. canis* antibodies. Four samples were marked as originating from the same two dogs. Samples were submitted by veterinarians or dog breeders. Polymerase chain reaction was a real-time PCR (IDEXX RealPCRTM), which amplified the 76 bp-sequence of the internal transcribed spacer gene region of *Brucella* spp. The IDEXX RealPCRTM detects *B. canis*, *B. microti*, *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* and *B. ovis*. Sequencing was not performed. Antibody test was routinely performed with an agglutination test (Institute of Hygiene and Infectious Diseases of Animals, JLU Gießen, Gießen, Germany). *B. canis* strain RM 6/66 was used as antigen. After growth on tryptose soy bean agar plates in a 5 % CO₂ enriched atmosphere for 48 h at 37°C bacteria were harvested and suspended in 0.15 M phosphate buffered saline (PBS) (pH 7.2). The suspension was filtered through four layers of gauze and subsequently heated in a water bath at 56°C for 90 minutes to inactivate the microorganism. After washing the bacteria twice in PBS the last pellet was suspended in the same buffer to an about tenfold higher concentration as required for the agglutination test. As a preservative Merthiolate was added (final concentration of 0.01 %). For the agglutination test the concentrated antigen was diluted in 0.15 M NaCl giving a turbidity of McFarland no. 5. Each dilution (0.5 ml) of a log 2 dilution series in 0.15 M NaCl, beginning with 1:25, of the field sera was mixed with the same volume of the antigen suspension giving a final serum dilution of 1:50, and then incubated for 48 h at 37°C in a humidified atmosphere. The reciprocal value of the last dilution which still revealed an at least 50 % agglutination of the *B. canis* cells was recorded as titer. For controls known negative (field serum) and positive dog sera were used. The latter was from a dog experimentally infected with *B. canis*. According to Carmichael and Greene a titer of 100 was chosen as cut off value (GREENE & CARMICHAEL, 2015; WEBER, 1976; WEBER & KRAUSS, 1975).

The following data were retrieved from the laboratory database: Submitted materials for diagnostic testing for *B. canis* infection, requested diagnostic tests (*B. canis* antibodies, *Brucella* spp. PCR), diagnostic test results for *B. canis* antibodies (presence, absence), diagnostic test results for *Brucella* spp. PCR (positive, negative), country of origin of the samples, sex and age of the dogs. Frequency of PCR-positive samples and frequency of samples with *B. canis* antibodies were calculated as percentages of all submitted samples and for each country. Confidence intervals (CI95 %; calculation according to Abraham Wald) were calculated in excel (Microsoft Office Standard 2013) with the following formula: $CI_{95\%} = P \pm 1,96 \sqrt{P(1-P)/n}$ (n: total number of samples tested; P: proportion of samples with positive test results (%)). The strength of association between positive PCR or antibody presence and sex and age was estimated by calculation of odds ratios (ORs). An odds ratio with a 95% CI excluding 1 was considered to indicate a significant association at the 5% level.

As a secondary supplementary study, the medical records of a neurology service in a German veterinary hospital were reviewed for dogs with a diagnosis of discospondylitis and *Brucella canis* infection. Data on diagnostics, travelling history and geographic origin of the dogs were extracted.

The ethics committee of the veterinary faculty LMU Munich approved the study (114-16-02-2018).

Results

The European veterinary diagnostic laboratory had received 4421 samples from 4419 dogs for testing for canine brucellosis within a five-year period (Table 1). Samples submitted to the laboratory for *Brucella* spp. PCR originated from 15 European countries. PCR was positive in 3.7 % (61/1657) of all submitted samples. *Brucella* spp. PCR-positive samples originated from four European countries: Spain, Poland, Italy and France (Figure 1 A). Sample sizes for each country are described in Table 2. Young dogs (0 – 2 years old) had a 5.4-fold increased risk for being PCR-positive (OR 5.4; CI_{95%} 2.2 – 13.7) compared to dogs aged 3 years of age or older (OR 0.2; CI_{95%} 0.1 – 0.5). Statistical analysis failed to demonstrate an association between the sex of the dogs and positive *Brucella* spp. PCR. Samples submitted to the laboratory for *B. canis* antibody testing originated from 20 European countries. Presence of antibodies was documented in 5.4 % (150/2764) of all submitted samples. Samples with *B. canis* antibodies originated from 13 European countries: Sweden, Belgium, Austria, Switzerland, Italy, Finland, Germany, Denmark, Hungary, Norway, Poland, France and the Netherlands (Figure 1 B). Sample sizes for each country are described in Table 3. Young dogs had a lower risk of being antibody-positive (OR 0.6; CI_{95%} 0.4 – 0.9). Conversely, an increased risk for *B. canis* antibody positivity was observed in dogs aged 3 years or older (OR 1.6; CI_{95%} 1.1 – 2.2). Statistical analysis failed to demonstrate an association between the sex of the dogs and the presence of *Brucella canis* antibodies.

The medical records search identified four dogs with *B. canis* infection and discospondylitis (Figure 2 A and B). The four dogs (3 female-spayed, 1 female-intact; age 7-30 months) originated from Eastern European countries (1 Moldavia, 2 Romania, 1 North Macedonia) and had been brought to Germany between one and 23 months prior to presentation. None of the dogs had been used for breeding purposes. Diagnosis of brucellosis was based on growth on bacterial blood cultures and bacteria identification by MALDI-TOF mass spectrometry (3 dogs) or presence of *B. canis* antibodies (1 dog, tested twice, agglutination test and indirect fluorescent antibody test (IFAT 1:512)). Two additional multiplex PCR assays (Bruce-ladder and New Bruce-ladder) confirmed growth of *B. canis* on blood cultures (3 dogs). Using these methods most of the known *Brucella* species can be identified by specific band patterns of amplicates of different sizes. It is even

possible to differentiate between *B. suis* biovars and *B. canis* (LOPEZ-GONI et al., 2008; LÓPEZ-GOÑI et al., 2011).

Discussion

This study provides insights into the regional occurrence of *B. canis* in dogs in Europe. The evaluation of the European laboratory's database showed that PCR- and antibody-positive samples originated from dogs from a variety of European countries, suggesting the widespread presence of *B. canis* in Europe. *Brucella* spp. DNA was present in 3.7% of all submitted samples and *B. canis* antibodies in 5.4% of samples submitted for diagnostic testing for canine *Brucella* infection from 20 European countries. Yet, the true occurrence of *B. canis* infection in dogs in Europe remains unknown. Data presented here reveal only occurrence in samples in which testing for *B. canis* was specifically requested by the veterinarian or originate from populations at risk and, thus, are not representative of the exact occurrence in the dog population of the respective country. Limitations of the present study are that the results refer to samples from preselected dogs and do not reflect countrywide occurrence. The samples were collected from a heterogeneous group of dogs, so the proportions of positive tested samples must be interpreted critically and cannot measure a real country prevalence of canine brucellosis. Another limitation in the interpretation of the data is the non-species-specific PCR used by the laboratory. Dogs are susceptible to infections with *B. abortus*, *B. suis* and *B. melitensis*. Infections with other *Brucella* spp. than *B. canis* should be considered in countries in which brucellosis is not yet eradicated, if the dog is fed raw pig meat or is a hunting dog or is housed on a farm (FORBES, 1990; JAMES et al., 2017; MOR et al., 2016). In addition, number of samples from several countries was insufficient for estimating an accurate frequency of positivity as reflected by the confidence intervals (Table 2 and 3). In the present study, the laboratory database only specified the country of origin, but otherwise the precise origin of the samples remained unknown. Furthermore, the diagnosis of *B. canis* infection with antibodies faces several limitations: False positive results can result from cross-reactions with other bacteria that offer the same antigenic determinants or tests can be negative early during infection in the first three to eight weeks (BANAI et al., 2018; CARMICHAEL & SHIN, 1996; GREENE & CARMICHAEL, 2015; WANKE, 2004). There are no official databases: Canine brucellosis (*B. canis*) is not notifiable to WHO or EU compared to brucellosis in cattle (*B. abortus*), pigs (*B. suis*), sheep and goats (*B. melitensis*). Furthermore, investigations on *B. canis* oftentimes are restricted to preselected groups of dogs from kennels with reproductive problems

or single incidences of discospondylitis (GYURANECZ et al., 2011; HOFER et al., 2012; KADEN et al., 2014). Support for the findings of the present study comes from a number of recent reports of *B. canis* infection in dogs from several other European countries, such as Sweden (HOLST et al., 2012; KADEN et al., 2014), the United Kingdom (MORGAN et al., 2017; TAYLOR et al., 1980), Austria (HOFER et al., 2012), Italy (CORRENTE et al., 2010), Hungary (GYURANECZ et al., 2011) or Switzerland (EGLOFF et al., 2018).

Bacterial isolation has been considered the only proof of *B. canis* infection (CARMICHAEL & SHIN, 1996; KEID et al., 2009; WANKE, 2004). More recently, PCR of clinical samples has been suggested as a diagnostic test for detection of subclinical and early infections prior to antibody development (BOERI et al., 2018; KANG et al., 2014; KAUFFMAN et al., 2014; KEID et al., 2007b, 2007c). PCR detects *Brucella* spp. DNA in samples, and positive results indicate infection with *Brucella* spp. Thus, results of samples from Spain and Poland suggest that *B. canis* occurs in these countries (KADEN et al., 2014). In samples from Spain, 11.1 % had positive PCR results, and in samples from Poland, 6.7 % showed positive PCR results and 3.7 % revealed the presence of *B. canis* antibodies. So far, there is a lack of reports on *B. canis* infections in Polish dogs. Iwaniak et al. (2015) even stated that *B. canis* had never been confirmed in Poland (IWANIAK & SZULOWSKI, 2015). Yet, a case report from Sweden in 2012 established a connection between a bitch with *B. canis* infection that aborted repeatedly, and a stud dog from Poland (HOLST et al., 2012).

Antibody testing was only available from few Spanish samples, which are not representative, but previously Mateu-de-Antonia et al. (1994) indicated *B. canis* antibody prevalence for Spanish stray dogs as high as 6.5 % (MATEU DE ANTONIO et al., 1994). There was also a report on a brucellosis outbreak in a Swedish kennel, in which two diseased bitches had been mated with stud dogs from Spain (KADEN et al., 2014). It may also be of interest that the present study revealed *B. canis* antibodies in 6.9 % of samples from Finland, which is in contrast to data from Dalhborn et al. (2009), who had shown that 388 dogs from 94 Finnish kennels had no *B. canis* antibodies (DAHLBOM et al., 2009). An important limitation of epidemiologic studies of *Brucella canis* based on antibodies is the fact that positive samples were not tested twice. In order to exclude false positive results, confirmation with a second serological test would be advantageous. Thus, further investigations are warranted to investigate regional differences in *B. canis*

occurrence. The results of this study have also implications for the diagnosis of discospondylitis. The gold standard for diagnosis of the specific underlying etiology of discospondylitis is bacterial isolation with blood and urine cultures, or in case of negative blood/urine cultures with cultures of image-guided disc biopsies (FISCHER et al., 1997; RUOFF et al., 2018). However, advantages of PCR are to detect acute or chronic infections and the possibility to examine blood, urine and secretions. Especially, vaginal swabs or semen are suitable materials for *Brucella* diagnosis with PCR (KEID et al., 2007a, 2007c). In our study, swabs and aspirates of unknown origin were the most frequently submitted material with positive test results. Combination of different materials for PCR-testing can increase the diagnostic success (KEID et al., 2007a). Consequently, routine testing with PCR from several specimens could enable rapid diagnosis of canine brucellosis in practice and may also be employed for future epidemiologic investigations.

The laboratory data shows an increased risk (5.4 fold) of PCR-positive samples in young dogs up to two years of age and confirms the overrepresentation of young dogs in previous case reports (ANDERSON & BINNINGTON, 1983; HOLST et al., 2012; LEDBETTER et al., 2009; MORGAN et al., 2017). Another study strengthens this consideration, here, 21 % of 200 canine neonates had a positive *B. canis*-PCR (DE SOUZA et al., 2018). Adjacent to vertical transmissions between bitches and their puppies via placenta, during parturition or weaning, potential other modes of infection are venereal transmission in sexually mature dogs and infection via mucosal membranes of oropharynx or conjunctiva (urine, vaginal secretions) (CARMICHAEL & KENNEY, 1970; TAQUES et al., 2016). *B. canis* is well-known to cause abortions and stillbirth in infected bitches. However, puppies can be born and may either die shortly after birth or appear seemingly healthy and develop the disease later (CARMICHAEL & KENNEY, 1970; HOLST et al., 2012). Thus, chronically infected surviving puppies could present a serious source for harbourage and spread of *B. canis* (GYURANECZ et al., 2011).

In general, treatment of *B. canis* diseased dogs is controversially discussed because of the risk of harbouring this agent lifelong and its zoonotic potential (HOLST et al., 2012; WANKE, 2004). Veterinary literature considers treatment of *B. canis* infection in dogs with combined use of tetracyclines and aminoglycosides (ANDERSON & BINNINGTON, 1983; GREENE & CARMICHAEL, 2015; REYNES et al., 2012). WHO guidelines recommend combined treatment with tetracycline or doxycycline and an aminoglycoside antibiotic or rifampicin in

humans (CORBEL, 2006; YOUSEFI-NOORAIE et al., 2012). Combination of doxycycline and rifampicin seems to be effective in dogs infected with *B. suis*, as well (JAMES et al., 2017). Treatment with enrofloxacin eliminated clinical signs and frequent abortions in a kennel with twelve infected breeding dogs (WANKE et al., 2006). A new approach was the additional administration of hydroxychloroquine, which improved clinical signs at an early stage, and reduced treatment failures and relapses in human patients with brucellosis (MAJZOUBI et al., 2018). This drug has already been used as an immunomodulatory drug in dogs with lupus erythematosus or lymphoma (BARNARD et al., 2014; OBERKIRCHNER et al., 2011). Indeed, no antibiotic therapy appears to eliminate *B. canis* completely from affected dogs, and treatment failures and relapses are frequently reported (HOLST et al., 2012; REYNES et al., 2012; WANKE, 2004). Literature considers the zoonotic potential of *B. canis* is low compared to *B. melitensis*, *B. suis* and *B. abortus*, which are more frequently reported as underlying cause of human brucellosis (GALIŃSKA & ZAGÓRSKI, 2013; LI et al., 2018; PELERITO et al., 2017; SHOUKAT et al., 2017; WALLACH et al., 2017). Less attention has been paid to *B. canis* in Europe, although dogs usually live in close contact with their owners and there is an increasing incidence of dog trafficking and import of puppies from breeding kennels with poor state of health (HOLST et al., 2012; YEATES & BOWLES, 2017). An increasing number of case reports describes *B. canis* infections in people, especially in immunocompromised adults or children (ANGEL et al., 2013; COSFORD, 2018; DENTINGER et al., 2015; KRUEGER et al., 2014; LAWACZECK et al., 2011; LUCERO et al., 2010, 2005a, 2005b; MARZETTI et al., 2013; NOMURA et al., 2010; SAYAN et al., 2011a). Clinically conspicuous humans exhibit unspecific signs like undulant fever, fatigue, weakness, lymphadenopathy, liver and spleen enlargement (KRUEGER et al., 2014; LAWACZECK et al., 2011; LUCERO et al., 2009, 2005a; POLT et al., 1982; ROUSSEAU, 1985).

In summary, reasons for the occurrence of *B. canis* in Europe could be poor health in selected breeding kennels, the rising international dog trade of breeding animals (BROWER et al., 2007; HOLST et al., 2012) and presence of stray dog populations (KÜSTER DE PAULA DREER et al., 2013) in some Southern and Eastern European countries (FATJÓ et al., 2015; SEIMENIS & TABBAA, 2014). Breeding for commercial purposes in very poor housing conditions without veterinary care may constitute additional risks. Import of those puppies could promote

transboundary carry-over of *B. canis* infections in dog populations (HEESEN et al., 2015; MCMILLAN, 2017; PEELER et al., 2015; WYATT et al., 2017; YEATES & BOWLES, 2017).

Conclusion

In conclusion, infection with *Brucella canis* needs to be considered in dogs in Europe and diagnostics for *Brucella canis* infection appear indicated in young dogs with discospondylitis. PCR for rapid diagnosis of *Brucella* infection may be included in the routine work-up of dogs with discospondylitis.

Author Contributions

GB, AF and KH designed and coordinated the study. FP provided the laboratory data. GB, AF and KH determined the evaluation of the clinical and laboratory data. WH designed the antibody testing. GW designed the microbiological culture of clinical cases. FM designed the PCR examinations of clinical cases. GB, AF, KH and WH wrote the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Conflict of Interest

Author Frauke Paul was employed by company IDEXX Laboratories (Ludwigsburg, Germany). All other authors declare no competing interests.

Supplementary Material

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2019.00151/full#supplementary-material>

Supplementary Table S1 | Laboratory data: PCR and serology 2014-2016.

Supplementary Table S2 | Laboratory data: PCR 2011-2013.

Supplementary Table S3 | Laboratory data: Serology 2011-2013.

Supplementary Table S4 | Clinical cases - signalement, country of origin and summary of diagnostics and treatments.

References

1. Fischer A, Mahaffey MB, Oliver JE. Fluoroscopically guided percutaneous disk aspiration in 10 Dogs with discospondylitis. *J Vet Intern Med.* 1997;11(5):284–287.
2. James DR, Golovsky G, Thornton JM, Goodchild L, Havlicek M, Martin P, et al. Clinical management of *Brucella suis* infection in dogs and implications for public health. *Aust Vet J.* 2017;95(1–2):19–25.
3. Ruoff CM, Kerwin SC, Taylor AR. Diagnostic imaging of discospondylitis. *Vet Clin Small Anim.* 2018;48(1):85–94.
4. Flores-Castro R, Suarez F, Ramirez-Pfeiffer C, Carmichael LE. Canine brucellosis: Bacteriological and serological investigation of naturally infected dogs in Mexico City. *J Clin Microbiol.* 1977;6(6):591–597.
5. Brower A, Okwumabua O, Massengill C, Muenks Q, Vanderloo P, Duster M, et al. Investigation of the spread of *Brucella canis* via the U . S . interstate dog trade. *Int J Infect Dis.* 2007;11:454–458.
6. Küster de Paula Dreer M, Dib Gonçalves D, da Silva Caetano IC, Gerônimo E, Menegas PH, Bergo D, et al. Toxoplasmosis, leptospirosis and brucellosis in stray dogs housed at the shelter in Umuarama municipality, Paraná, Brazil. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* 2013;19(1):23.
7. Krueger WS, Lucero NE, Brower A, Heil GL, Gray GC. Evidence for unapparent *Brucella canis* infections among adults with occupational exposure to dogs. *Zoonoses Public Health.* 2014;61:509–518.
8. Keid LB, Chiebao DP, Batinga MCA, Fanta T, Diniz JA, Oliveira TMF de S, et al. *Brucella canis* infection in dogs from commercial breeding kennels in Brazil. *Transbound Emerg Dis.* 2017 Jun;64(3):691–697.
9. Cosford KL. *Brucella canis*: An update on research and clinical management. *Can Vet J = La Rev Vet Can.* 2018;59(1):74–81.
10. Cadmus SIB, Adesokan HK, Ajala OO, Odetokun WO, Perrett LL, Stack JA. Seroprevalence of *Brucella abortus* and *B. canis* in household dogs in southwestern Nigeria: a preliminary report. *J S Afr Vet Assoc.* 2011 Mar;82(1):56–57.
11. Chinyoka S, Dhliwayo S, Marabini L, Dutlow K, Matope G, Pfukenyi DM. Serological survey of *Brucella canis* in dogs in urban Harare and selected rural communities in Zimbabwe. *J S Afr Vet Assoc.* 2014 Feb 24;85(1):1087.

12. Di D, Cui B, Wang H, Zhao H, Piao D, Tian L, et al. Genetic polymorphism characteristics of *Brucella canis* isolated in China. PLoS One. 2014;9(1):1–7.
13. Yoak AJ, Reece JF, Gehrt SD, Hamilton IM. Disease control through fertility control: Secondary benefits of animal birth control in Indian street dogs. Prev Vet Med. 2014;113(1):152–156.
14. Rovid Spickler A. Brucellosis: *Brucella canis*. US Dep Agric Anim Plant Heal Insp Serv (USDA APHIS). 2018;(May):1–10.
15. Gardner D, Reichel M. No evidence of *Brucella canis* infection in New Zealand dogs. Surveillance. 1997;24(3):17–18.
16. Mor SM, Wiethoelter AK, Lee A, Moloney B, James DR, Malik R. Emergence of *Brucella suis* in dogs in New South Wales , Australia: clinical findings and implications for zoonotic transmission. BMC Vet Res. 2016;12:1–9.
17. Kruedener. Outbreak of a *Brucella canis* infection in a beagle colony in West Germany. Dev Biol Stand. 1976;(31):251–253.
18. Nöckler K, Kutzer P, Reif S, Rosenberger N, Draeger A, Bahn P, et al. Canine brucellosis - a case report. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 2003;116(9–10):368–372.
19. Holst BS, Löfqvist K, Ernholm L, Eld K, Cedersmyg M, Hallgren G, et al. The first case of *Brucella canis* in Sweden: Background, case report and recommendations from a northern European perspective. Acta Vet Scand. 2012 Mar 27;54(1):18.
20. Kaden R, Ågren J, Båverud V, Hallgren G, Ferrari S, Börjesson J, et al. Brucellosis outbreak in a Swedish kennel in 2013: Determination of genetic markers for source tracing. Vet Microbiol. 2014;174(3–4):523–530.
21. Taylor DJ, Peplinski G, Spence S, Bruce C, Cedersmyg M, Hallgren G, et al. Serological evidence for the presence of *Brucella canis* infection in dogs in Britain. Vet Rec. 1980;106(5):102–104.
22. Morgan J, Wake T, Pintos V, Rys H, Grace K, Perret L, et al. *Brucella canis* in a dog in the UK. Vet Rec. 2017;180(25):617.
23. Hofer E, Bagó Z, Revilla-fernández S, Melzer F, Tomaso H, López-goñi I, et al. First detection of *Brucella canis* infections in a breeding kennel in Austria. New Microbiol. 2012;35:507–10.
24. Corrente M, Franchini D, Decaro N, Greco G, D’Abramo M, Greco MF, et al. Detection of *Brucella canis* in a dog in Italy. New Microbiol. 2010;33(4):337–341.

25. Gyuranecz M, Szeredi L, Rónai Z, Dénes B, Dencso L, Dán Á, et al. Detection of *Brucella canis*-induced reproductive diseases in a Kennel. J Vet Diagnostic Investig. 2011;23(1):143–147.
26. Reynes E, López G, Ayala SM, Hunter GC, Lucero NE. Monitoring infected dogs after a canine brucellosis outbreak. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2012;35(6):533–537.
27. Brown J, Blue JL, Wooley RE, Dreesen DW. *Brucella canis* infectivity rates in stray and pet dog populations. 1976;66(9):889–891.
28. Bramlage DJ, Fortney W, Kesler RM. Best practices for *Brucella canis* prevention and control in dog breeding facilities. United States Dep Agric - Anim Plant Heal Insp Serv. 2015;
29. Anderson G, Binnington A. Discospondylitis and orchitis associated with high *Brucella* titre in a dog. Can Vet J. 1983;24(8):249–252.
30. Henderson RA, Hoerlein BF, Kramer TT, Meyer ME. Discospondylitis in three dogs infected with *Brucella canis*. J Am Vet Med Assoc. 1974;165(5):451–455.
31. Kerwin SC, Lewis DD, Hribernik TN, Partington B, Hosgood G, Eilts BE. Diskospondylitis associated with *Brucella canis* infection in dogs: 14 cases (1980–1991). J Am Vet Med Assoc. 1992;201(8):1253–1257.
32. Thomas WB. Diskospondylitis and other vertebral infections. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2000;30(1):169–182.
33. Thomas WB. Inflammatory diseases of the central nervous system in dogs. Clin Tech Small Anim Pract. 1998;13(3):167–178.
34. Vinayak A, Greene CE, Moore PA, Powell-Johnson G. Clinical resolution of *Brucella canis*-induced ocular inflammation in a dog. J Am Vet Med Assoc. 2004;224(11):1804–1807.
35. Ledbetter EC, Landry MP, Stokol T, Kern TJ, Messick JB. *Brucella canis* endophthalmitis in 3 dogs: clinical features, diagnosis, and treatment. Vet Ophthalmol. 2009;12(3):183–191.
36. Smeak DD, Olmstead ML, Hohn RB. *Brucella canis* osteomyelitis in two dogs with total hip replacements. J Am Vet Med Assoc. 1987 Oct 15;191(8):986–990.
37. Carmichael LE, Kenney RM. Canine brucellosis: the clinical disease, pathogenesis, and immune response. J Am Vet Med Assoc. 1970 Jun 15;156(12):1726–1734.

38. Algahtani H, Shirah B, Abdulghani D, Farhan R, Algahtani R. Occupational neurobrucellosis mimicking a brain tumor: A case report and review of the literature. *Case reports Infect Dis Hindawi*. 2017;2017:1–5.
39. Wanke MM. Canine brucellosis. *Anim Reprod Sci*. 2004;82–83:195–207.
40. Hollett RB. Canine brucellosis: Outbreaks and compliance. *Theriogenology*. 2006;66(3):575–587.
41. George L, Carmichael L. Antisperm responses in male dogs with chronic *Brucella canis* infections. *Am J Vet Res*. 1984;45(2):274–281.
42. Carmichael LE, Zoha SJ, Flores-Castro R. Problems in the serodiagnosis of canine brucellosis: dog responses to cell wall and internal antigens of *Brucella canis*. *Dev Biol Stand*. 1984;56:371–383.
43. Greene CE, Carmichael LE. Canine brucellosis. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat 4th Edition*. 2015. p. 398–410.
44. Lucero NE, Corazza R, Almuzara MN, Reynes E, Escobar GI, Boeri E, et al. Human *Brucella canis* outbreak linked to infection in dogs. *Epidemiol Infect*. 2009;138(2):280–285.
45. Sánchez-Jiménez MM, Isaza JP, Alzate JF, Olivera-Angel M. Comparison of *Brucella canis* genomes isolated from different countries shows multiple variable regions. *Genomics*. 2015 Jul;106(1):43–51.
46. Wallach JC, Giambartolomei GH, Baldi PC, Fossati CA. Human infection with M- strain of *Brucella canis*. *Emerg Infect Dis*. 2004;10(1):146–148.
47. Lawaczek E, Toporek J, Cwikla J, Mathison BA. *Brucella canis* in a HIV-infected patient. *Zoonoses Public Health*. 2011;58(2):150–152.
48. Lucero NE, Maldonado PL, Kaufman S, Escobar GI, Boeri E, Jacob NR. *Brucella canis* causing infection in an HIV-infected patient. *Vector-Borne Zoonotic Dis*. 2010;10(5):527–529.
49. Rousseau P. *Brucella canis* infection in a woman with fever of unknown origin. *Postgrad Med*. 1985;78(5):253–254.
50. Lucero NE, Escobar GI, Ayala SM, Jacob N. Diagnosis of human brucellosis caused by *Brucella canis*. *J Med Microbiol*. 2005;54(5):457–461.
51. Lucero NE, Jacob NO, Ayala SM, Escobar GI, Tuccillo P, Jacques I. Unusual clinical presentation of brucellosis caused by *Brucella canis*. *J Med Microbiol*. 2005;54(5):505–508.
52. Galińska EM, Zagórski J. Brucellosis in humans – etiology , diagnostics , clinical forms. *Ann Agric Environ Med*. 2013;20(2):233–238.

53. Banai M, Itin R, Bardenstein S. Perspectives and outcomes of the activity of a reference laboratory for brucellosis. *Front Vet Sci.* 2018;4:234.
54. Franc KA, Krecek RC, Häsler BN, Arenas-Gamboa AM. Brucellosis remains a neglected disease in the developing world: A call for interdisciplinary action. *BMC Public Health.* 2018;18(1):1–9.
55. Weber A. Untersuchungen zur mikrobiologischen Diagnose und Epidemiologie der *Brucella canis*-Infektion des Hundes. Habil-Schrift, Gießen. 1976;
56. Weber A, Krauss H. Über die Brauchbarkeit des Agargel-Präzipitationstestes zum Nachweis von *Brucella canis*-Infektionen bei Beagle-Hunden. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 1975;88:425–427.
57. López-Goñi I, García-Yoldi D, Marín CM, de Miguel MJ, Barquero-Calvo E, Guzmán-Verri C, et al. New Bruce-ladder multiplex PCR assay for the biovar typing of *Brucella suis* and the discrimination of *Brucella suis* and *Brucella canis*. *Vet Microbiol.* 2011;154(1–2):152–155.
58. Lopez-Goni I, Garcia-Yoldi D, Marín CM, Miguel MJ De, Munoz PM, Blasco JM, et al. Evaluation of a multiplex PCR assay (Bruce-ladder) for molecular typing of all *Brucella* species, including the vaccine strains. *J Clin Microbiol.* 2008;46(10):3484–3487.
59. Forbes LB. *Brucella abortus* infection in 14 farm dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1990 Mar 15;196(6):911–916.
60. Carmichael LE, Shin SJ. Canine brucellosis: a diagnostician's dilemma. *Semin Vet Med Surg (Small Anim).* 1996;11(3):161–165.
61. Egloff S, Schneeberger M, Brawand SG, Krudewig C, Schmitt S, Reichler I, et al. *Brucella canis* infection in a young dog with epididymitis and orchitis. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 2018;160(12):743–8.
62. Keid LB, Soares RM, Vasconcellos SA, Megid J, Salgado VR, Richtzenhain LJ. Comparison of agar gel immunodiffusion test, rapid slide agglutination test, microbiological culture and PCR for the diagnosis of canine brucellosis. *Res Vet Sci.* 2009;86(1):22–26.
63. Keid LB, Soares RM, Vasconcellos SA, Chiebao DP, Megid J, Salgado VR, et al. A polymerase chain reaction for the detection of *Brucella canis* in semen of naturally infected dogs. *Theriogenology.* 2007;67(7):1203–1210.
64. Keid LB, Soares RM, Vieira NR, Megid J, Salgado VR, Vasconcellos SA, et al. Diagnosis of canine brucellosis: Comparison between serological and

microbiological tests and a PCR based on primers to 16S-23S rDNA interspacer. *Vet Res Commun.* 2007;31(8):951–965.

65. Kang S-I, Lee S-E, Kim J-Y, Lee K, Kim J-W, Lee H-K, et al. A new *Brucella canis* species-specific PCR assay for the diagnosis of canine brucellosis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2014;37(4):237–241.

66. Kauffman LK, Bjork JK, Gallup JM, Boggiatto PM, Bellaire BH, Petersen CA. Early detection of *Brucella canis* via quantitative polymerase chain reaction analysis. *Zoonoses Public Health.* 2014;61(1):48–54.

67. Boeri EJ, Wanke MM, Madariaga MJ, Teijeiro ML, Elena SA, Trangoni MD. Comparison of four polymerase chain reaction assays for the detection of *Brucella* spp. in clinical samples from dogs. *Vet World.* 2018;11(2):201–208.

68. Iwaniak W, Szulowski K. Brucellosis — the current situation in Poland. *Emergent Dis Biosaf.* 2015;1(3):20–26.

69. Mateu de Antonio EM, Martin M, Casal J. Comparison of serologic tests used in canine brucellosis diagnosis. *J Vet Diagnostic Investig.* 1994;6(2):257–259.

70. Dahlbom M, Johnsson M, Myllys V, Taponen J, Andersson M. Seroprevalence of canine herpesvirus-1 and *Brucella canis* in Finnish breeding kennels with and without reproductive problems. 2009;131:128–131.

71. Keid LB, Soares RM, Vasconcellos SA, Chiebao DP, Salgado VR, Megid J, et al. A polymerase chain reaction for detection of *Brucella canis* in vaginal swabs of naturally infected bitches. *Theriogenology.* 2007;68(9):1260–1270.

72. Souza TD De, Carvalho TF De, Pinto J, Vítor J, Lopes M, Silva MF, et al. Tissue distribution and cell tropism of *Brucella canis* in naturally infected canine fetuses and neonates. 2018;(January):1–10.

73. Taques IIGG, Barbosa TR, Martini A de C, Pitchenin LC, Braga ÍA, de Melo ALT, et al. Molecular assessment of the transplacental transmission of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Brucella canis* and *Ehrlichia canis* in dogs. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2016 Dec;49:47–50.

74. Corbel M. Brucellosis in humans and animals. WHO Libr Cat Data. 2006;1–102.

75. Yousefi-Nooraie R, Mortaz-Hejri S, Mehrani M, Sadeghipour P. Antibiotics for treating human brucellosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;

76. Wanke MM, Delpino M V., Baldi PC, Mörtl S, Bacher A, Fossati CA. Use of enrofloxacin in the treatment of canine brucellosis in a dog kennel (clinical trial). *Theriogenology.* 2006;66(6–7):1573–1578.

77. Majzoobi MM, Hashemi SH, Mamani M, Keramat F, Poorolajal J, Ghasemi Basir HR. Effect of hydroxychloroquine on treatment and recurrence of acute brucellosis: a single-blind, randomized clinical trial. *Int J Antimicrob Agents*. 2018;51(3):365–369.
78. Barnard RA, Wittenburg LA, Amaravadi RK, Daniel L, Thorburn A, Thamm DH, et al. Phase I clinical trial and pharmacodynamic evaluation of combination hydroxychloroquine and doxorubicin treatment in pet dogs treated for spontaneously occurring lymphoma Phase I clinical trial and pharmacodynamic evaluation of combination hydroxychloroqu. *landes Biosci*. 2014;10(8):1415–1425.
79. Oberkirchner U, Linder KE, Olivry T. Successful treatment of a novel generalized variant of canine discoid lupus erythematosus with oral hydroxychloroquine. *Vet Dermatol*. 2012;23(1):65-70.
80. Pelerito A, Cordeiro R, Matos R, Santos MA, Soeiro S, Santos J, et al. Human brucellosis in Portugal—Retrospective analysis of suspected clinical cases of infection from 2009 to 2016. *PLoS One*. 2017;12(7):1–7.
81. Wallach JC, García JL, Cardinali PS, Seijo AP, Benchetrit AG, Echazarreta SE, et al. High incidence of respiratory involvement in a cluster of *Brucella suis* -infected workers from a pork processing plant in Argentina. *Zoonoses Public Health*. 2017;64(7):550–553.
82. Shoukat S, Wani H, Ali U, Para PA, Ara S, Ganguly S. Brucellosis: A current review update on zoonosis. *J Immunol Immunopathol*. 2017;19(2):61.
83. Li M, Zhou X, Li J, Sun L, Chen X, Wang P. Real-time PCR assays for diagnosing brucellar spondylitis using formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(9):1–5.
84. Yeates J, Bowles D. Breeding and selling of companion animals. In: *The Palgrave International Handbook of Animal Abuse Studies*. 2017. p. 15–38.
85. Dentinger CM, Jacob K, Lee L V., Mendez HA, Chotikanatis K, McDonough PL, et al. Human *Brucella canis* infection and subsequent laboratory exposures associated with a puppy, New York City, 2012. *Zoonoses Public Health*. 2015;62(5):407–414.
86. Nomura et al. Human *Brucella canis* infections diagnosed by blood culture. *Emerg Infect Dis*. 2010;16(7):10–12.

87. Sayan M, Erdenliđ S, Stack J, Kiliç S, Güdücüođlu H, Aksoy Y, et al. A serological diagnostic survey for *Brucella canis* infection in Turkish patients with Brucellosis-like symptoms. *Jpn J Infect Dis.* 2011;64(6):516–519.
88. Angel MO, Ristow P, Ko AI, Di-Lorenzo C. Serological trail of *Brucella infection* in an urban slum population in Brazil. *J Infect Dev Ctries.* 2013;6(9):675–679.
89. Marzetti S, Carranza C, Roncallo M, Escobar GI, Lucero NE. Recent trends in human *Brucella canis* infection. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2013;36(1):55–61.
90. Polt SS, Dismukes WE, Flint A, Schaefer J. Human brucellosis caused by *Brucella canis*: clinical features and immune response. *Ann Intern Med.* 1982 Nov;97(5):717–719.
91. Seimenis A, Tabbaa D. Stray animal populations and public health in the South Mediterranean and the Middle East regions. *Vet Ital.* 2014;50(502):131–136.
92. Fatjó J, Bowen J, García E, Calvo P, Rueda S, Amblás S, et al. Epidemiology of dog and cat abandonment in Spain (2008–2013). *Animals.* 2015;5:426–441.
93. Peeler EJ, Reese RA, Thrush MA. Animal disease import risk analysis - a review of current methods and practice. *Transbound Emerg Dis.* 2015;62(5):480–490.
94. Heesen S, Wendland B, Rach S, Rickert D. Hundeimporte aus Süd- und Osteuropa - Hundehandel unter dem Deckmantel des Tierschutzes? -. *Merkblatt Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz eV.* 2015;2(113):1–21.
95. Wyatt T, Maher J, Biddle P. Scoping research on the sourcing of pet dogs from illegal importation and puppy farms 2016-2017. *Agric Environ Mar Soc Res Ser.* 2017;4–92.
96. McMillan FD. Behavioral and psychological outcomes for dogs sold as puppies through pet stores and/or born in commercial breeding establishments: Current knowledge and putative causes. *J Vet Behav Clin Appl Res.* 2017;19:14–26.

Figure and Table Legends

Figure 1. (A) Results of *Brucella* spp. PCR (n=1657) and (B) *B. canis* antibody testing (n=2764) in a veterinary diagnostic laboratory. Maps reflect preference to use PCR (A) or antibody tests (B) in respective countries. *B. suis* may not be recognized. Sample sizes and confidence intervals (CI₉₅ %) for each country are described in Table 2 and 3.

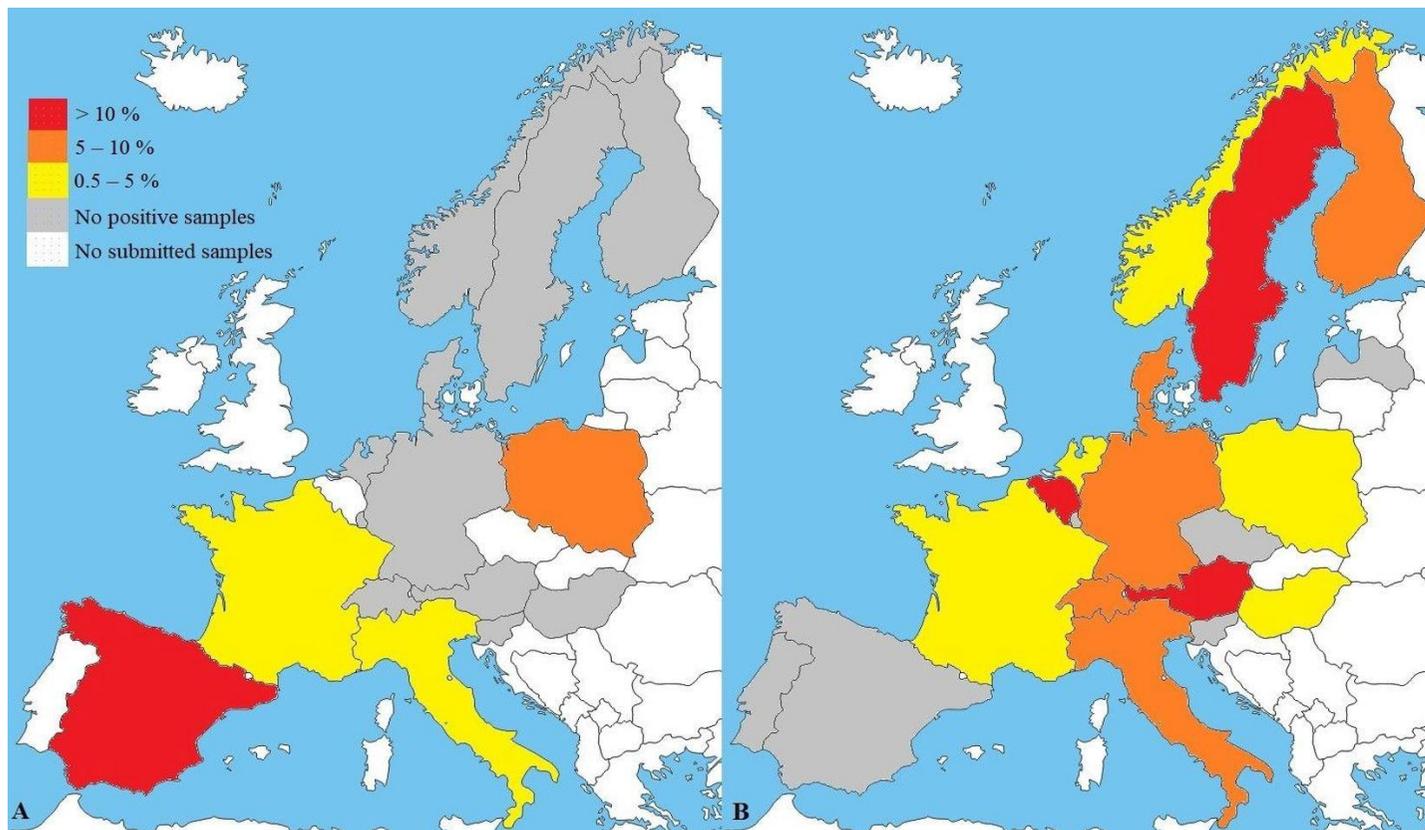
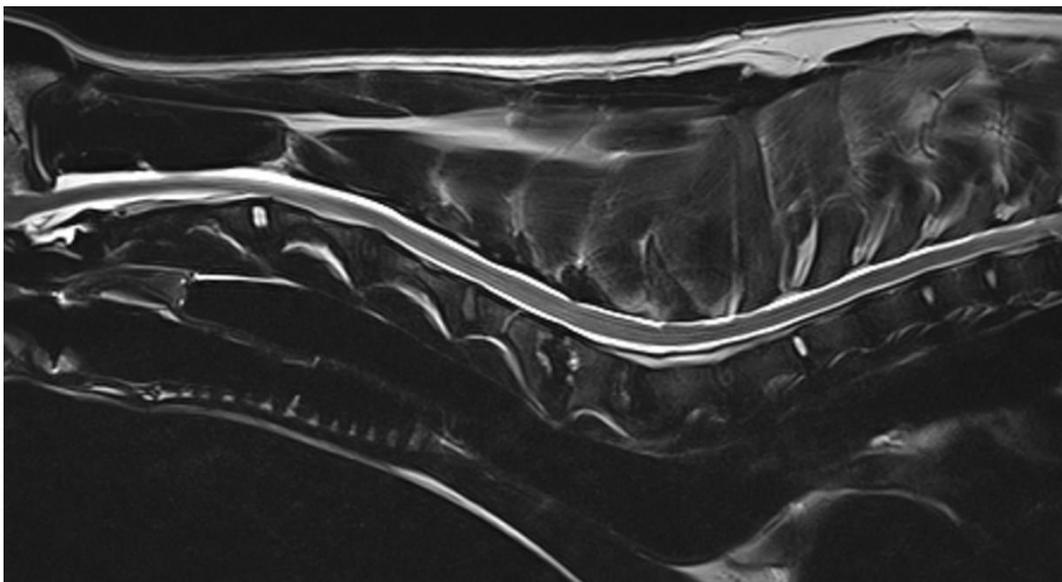


Figure 2. (A) Radiograph of the cervical spine of a dog with *Brucella canis* discospondylitis. There is lysis of the caudal vertebral end plate of C4 and the cranial end plate of C5 and bone production around the periphery of the vertebral bodies. **(B) Magnetic resonance images of the same dog.** Sagittal T2-weighted image of the cervical spine. The caudal end plate of C4 and the cranial end plate of C5 appear hyperintense to adjacent vertebral bodies, the intervertebral disc space appears narrowed. The caudal endplate of C5 and the cranial end plate of C6 also show similar lesions, but in a milder condition (Imaging: Clinic for Surgery and Reproduction in Small Animals, Veterinary Faculty, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany).



A



B

Table 1. Submitted samples and diagnostic test results for *B. canis* in the laboratory (2011 – 2016).

	<i>Brucella</i> spp. PCR		<i>B. canis</i> antibodies	
	Submitted samples (n = 1657)	Positive samples (n = 61)	Submitted samples (n = 2764)	Positive samples (n = 150*)
Sex				
Female	600	2	938	58
Male	300	9	1188	61
Unknown	757	50	636	29
Age				
0-2 years	1085	55	1449	63
3-5 years	383	4	595	45
6-8 years	104	0	348	21
> 8 years	27	1	216	12
Unknown	58	1	154	7
Material				
Whole blood	47	0	279	20
Serum	1	1	2484	130
Urine	8	0	0	0
Faeces	1	0	0	0
Ejaculate	21	0	0	0
Cerebrospinal fluid	12	0	1	0
Synovial fluid	1	0	0	0
Broncho-alveolar lavage	1	0	0	0
Mucosal swab of genital tract	70	0	0	0
Mucosal swab of rectum	1	0	0	0
Unknown swabs/aspirates	1256	56	0	0
Tissue of testis	4	0	0	0

Tissue of aborted material	1	0	0	0
Tissue of skin	1	0	0	0
Unknown biopsies/tissues	231	4	0	0
Bone marrow	1	0	0	0

*150 samples from 148 dogs.

Table 2. Submitted samples for *Brucella* spp. PCR testing: Country of origin, positivity and confidence intervals (CI_{95%}).

Country of origin	Submitted samples	Positive samples	Positive %	CI _{95%}
Spain	253	28	11.10%	7.20% - 14.90%
Poland	432	29	6.70%	4.40% - 9.10%
Italy	103	1	1.00%	0.00% - 2.90%
France	382	3	0.80%	0.00% - 1.70%
Germany	386	0	0.00%	-
Netherlands	32	0	0.00%	-
Austria	35	0	0.00%	-
Hungary	13	0	0.00%	-
Denmark	9	0	0.00%	-
Switzerland	5	0	0.00%	-
Finland	2	0	0.00%	-
Luxembourg	2	0	0.00%	-
Sweden	1	0	0.00%	-
Slovenia	1	0	0.00%	-
Norway	1	0	0.00%	-
All samples	1657	61	3.70%	2.80% - 4.60%

Table 3. Submitted samples for *B. canis* antibody testing: Country of origin, positivity and confidence intervals (CI_{95%}).

Country of origin	Submitted samples	Positive samples	Positive %	CI _{95%}
Sweden	22	3	13.60%	0.00% - 28.00%
Belgium	49	6	12.20%	3.10% - 21.40%
Austria	95	11	11.60%	5.10% - 18.00%
Switzerland	85	7	8.20%	2.40% - 14.10%
Italy	215	17	7.90%	4.30% - 11.50%
Finland	203	14	6.90%	3.40% - 10.40%
Germany	1065	58	5.40%	4.10% - 6.80%
Denmark	117	6	5.10%	1.10% - 9.10%
Hungary	140	6	4.30%	0.90% - 7.60%
Norway	73	3	4.10%	0.00% - 8.70%
Poland	164	6	3.70%	0.80% - 6.50%
France	415	11	2.70%	1.10% - 4.20%
Netherlands	98	2	2.00%	0.00% - 4.80%
Czech Republic	8	0	0.00%	-
Luxembourg	5	0	0.00%	-
Malta	3	0	0.00%	-
Latvia	3	0	0.00%	-
Spain	2	0	0.00%	-
Portugal	1	0	0.00%	-
Slovenia	1	0	0.00%	-
All samples	2764	150	5.40%	4.60% - 6.30%

Data Availability Statement

All relevant data is contained within the manuscript:

All datasets for this study are included in the manuscript and the supplementary files.

2. Ergänzende Ergebnisse

2.1. Material und Methoden

2.1.1. Untersuchungen zu Überlebenszeiten bei Meningoenzephalitis

In Zusammenarbeit mit dem Statistischen Beratungslabor der LMU München (StaBLab) wurden die Kaplan-Meier Überlebenskurven mithilfe des Statistikprogramms RStudio berechnet. Der Konfidenzintervall der Odds Ratio (OR) wurde nach der Methode von Abraham Wald in Excel (Microsoft Office Standard 2013) mit folgender Formel berechnet: $CI_{95\%} = P \pm 1,96 \sqrt{\frac{P(1-P)}{n}}$ (n: Gesamtanzahl der untersuchten Population; P: Anteil der Population mit Erfüllung des untersuchten Kriteriums in %).

Eine alleinige Meningitis wurde diagnostiziert, wenn der Hund keine neurologischen Ausfallserscheinungen hatte und die durchgeführte Kernspintomographie unauffällig verlief. Eine Meningoenzephalitis oder Myelitis wurde diagnostiziert, wenn der Patient neurologische Ausfallserscheinungen zeigte und/oder parenchymale Läsionen im ZNS in der Kernspintomographie vorlagen.

2.1.2. Retrospektive Analyse zum Vorkommen von Diskospondylitis an der Medizinischen Kleintierklinik

Die Patientenakteien der Medizinischen Kleintierklinik LMU München sind nach folgenden Stichworten durchsucht worden: Diskospondylitis, Discospondylitis, Brucellose, *Brucella* spp., *Brucella canis*, *B. canis*. Der Untersuchungszeitraum umfasste fünf Jahre (2011 bis 2016). Hunde, bei denen die Diagnose Diskospondylitis durch ein Bildgebungsverfahren (Röntgen, MRT, CT) bestätigt werden konnte, wurden in die Auswertung eingeschlossen. Das Ergebnis der Blutkultur, Nachweisverfahren für canine Brucellose sowie Auslandsaufenthalte der Tiere wurden erfasst. Die Blutkulturen wurden am Lehrstuhl für Bakteriologie und Mykologie LMU München durchgeführt. Die Untersuchungen für *Brucella canis* erfolgten bei IDEXX Laboratories (Ludwigsburg, Deutschland) oder bei LABOKLIN GMBH & CO.KG (Bad Kissingen, Deutschland). Im Falle eines Wachstums von *Brucella* spp. in der Blutkultur wurde anschließend eine PCR am Friedrich-Löffler-Institut (FLI, Jena, Deutschland) veranlasst.

Die Studie ist von der Ethikkommission des Zentrums für klinische Tiermedizin München genehmigt worden (Protokoll unter der Nummer 114-16-02-2018).

2.2. Ergebnisse

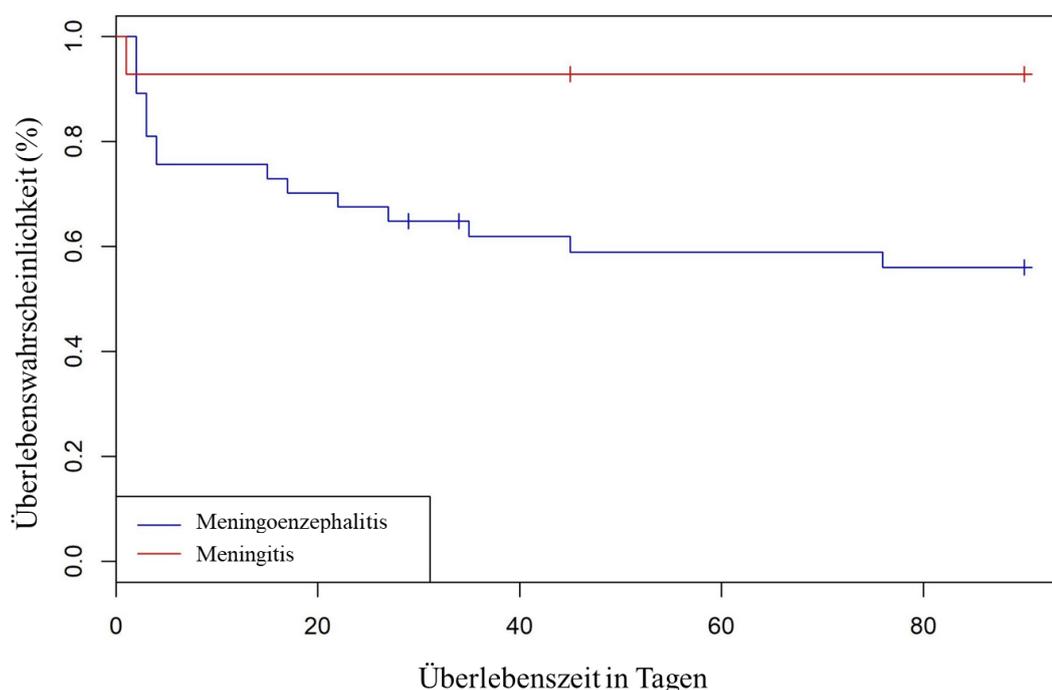
2.2.1. Meningoenzephalitis

In die Studie wurden 62 Hunde eingeschlossen. Davon hatten 38 Hunde eine Meningoenzephalitis oder Myelitis, 15 Hunde eine alleinige Meningitis und neun Hunde eine reaktive Liquorpleozytose aufgrund einer anderen intrakraniellen strukturellen Primärerkrankung wie ein Tumor oder Infarkt.

Die Untersuchungen zu den Überlebenszeiten ergaben, dass Hunde mit einer Meningoenzephalitis oder Myelitis ($n = 38$) ein höheres Risiko haben nach sechs Monaten nicht mehr zu leben im Vergleich zu Hunden mit einer alleinigen Meningitis ($n = 15$). Die OR ergab: 12,3, $CI_{95\%}$ 1,4–104,3.

Innerhalb der ersten sechs Monate nach Diagnosestellung musste in der Meningitis-Gruppe ein Hund euthanasiert werden. Es haben demnach noch 92,9 % der Hunde mit Meningitis nach sechs Monaten gelebt (13/14*, *1 Hund mit unbekanntem Status). Bei den Hunden mit Meningoenzephalitis oder Myelitis sind 17 Hunde gestorben oder euthanasiert worden. Es haben demnach noch 51,4 % der Hunde mit Meningoenzephalitis oder Myelitis nach sechs Monaten gelebt (18/35*, *3 Hunde mit unbekanntem Status). In der Abbildung 1 sind die Überlebenskurven bis zum 90. Tag nach Diagnose für die Hunde mit Meningitis versus Meningoenzephalitis dargestellt.

Abbildung 1: Kaplan-Meier Überlebenszeitkurve, 90 Tage



2.2.2. Diskospondylitis

In den Jahren 2011 bis 2016 wurde bei 16 Hunden eine Diskospondylitis diagnostiziert. *B. canis* wurde bei vier dieser Tiere als Ätiologie der Diskospondylitis ermittelt. Insgesamt wurde bei neun Hunden ein spezielles Nachweisverfahren (Antikörper und/oder PCR) für *B. canis* eingeleitet.

Bei allen 16 Hunden wurden Blutkulturen durchgeführt. Bei sieben Hunden sind in der Blutkultur Bakterien gewachsen: *Brucella* spp. (n = 3), *Staphylococcus aureus* (n = 1), *Erysipelothrix* spp. (n = 1), *Klebsiella* spp. (n = 1), *Staphylococcus pseudintermedius* (n = 1). Im Falle einer negativen Blutkultur wurde die Diagnose Diskospondylitis alleine mittels Bildgebung (Röntgen und/oder MRT/CT) gestellt und der ursächliche Krankheitserreger konnte nicht nachgewiesen werden. Eine Übersicht der Diskospondylitis-Fälle mit dem Ergebnis der Blutkultur und den Auslandsaufenthalten der erkrankten Hunde sind der Tabelle 1 zu entnehmen. Eine Übersicht über das Signalement, Herkunft, Diagnostik sowie Therapie und das Ansprechen auf die Therapie der vier Hunde mit *Brucella*-Diskospondylitis sind in der Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 1: Hunde mit Diskospondylitis aus den Jahren 2011 bis 2016: Ergebnisse der Blutkultur und Auslandsaufenthalte der Hunde.

Hund	Ergebnis der Blutkultur	Auslandsaufenthalte
1	<i>Brucella</i> spp.	Rumänien
2	<i>Brucella</i> spp.	Rumänien
3	<i>Brucella</i> spp.	Moldawien
4	Negativ	Nord-Mazedonien
5	Negativ	Tschechien
6	<i>Staphylococcus aureus</i>	Keine
7	<i>Erysipelothrix</i> spp.	Keine
8	Negativ	Österreich
9	Negativ	Spanien
10	<i>Klebsiella</i> spp.	Keine
11	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	Keine
12	Negativ	Frankreich
13	Negativ	Keine
14	Negativ	Österreich

15	Negativ	Keine
16	Negativ	Österreich

Tabelle 2: Signalement, Herkunft, Diagnostik sowie Therapie und das Ansprechen auf die Therapie der vier Hunde mit *Brucella*-Diskospondylitis.

Fall	Signalement	Herkunft	Zeit in Deutschland	Diagnostik	Therapie	Outcome
1	Weiblich- kastriert 2,5 Jahre Greyhound	Rumänien	4 Monate	AK-Titer: 1:400 (<i>B.canis</i>) Urinkultur: <i>E.coli</i> Blutkultur: <i>Brucella</i> ssp. PCR: <i>B.canis</i> CT/Röntgen: Diskospondylitis	1. Clindamycin 2. Cefalexin + Metronidazol 3. Pradofloxacin + Doxycyclin	Mehrere klinische Rückfälle (erster Rückfall 2 Jahre nach Absetzen von Pradofloxacin und Doxycyclin) Beobachtungszeitraum: 2,5 Jahre
2	Weiblich- kastriert 1,5 Jahre Mischling	Moldawien	15 Monate	Urinkultur: - Blutkultur: <i>Brucella</i> ssp. PCR: <i>B.canis</i> Röntgen: Diskospondylitis	1. Cefalexin 2. Pradofloxacin + Doxycyclin	Verbesserung, kein Rückfall Beobachtungszeitraum: 4 Jahre

3	Weiblich- intakt 2,0 Jahre Cocker Spaniel	Nord- Mazedonien	23 Monate	Agglutinationstest: Positiv AK-Titer: 1:512 (<i>B.canis</i>) Urinkultur: - Blutkultur: - Röntgen: Diskospondylitis Ultraschall Abdomen: Endometritis	1. Clindamycin + Enrofloxacin 2. Pradofloxacin + Doxycyclin	Verbesserung, kein Rückfall Beobachtungszeitraum: 1 Monat
4	Weiblich- kastriert 7 Monate Mischling	Rumänien	1 Monat	Urinkultur: - Blutkultur: <i>Brucella</i> ssp. PCR: <i>B.canis</i> MRT: Diskospondylitis Liquor: Unauffällig	1. Cefalexin 2. Pradofloxacin + Doxycyclin	Verbesserung, kein Rückfall Beobachtungszeitraum: 4,5 Jahre

IV. DISKUSSION

1. Meningoenzephalitis

Die Studie verdeutlicht die große Bedeutung von Meningoenzephalitiden als Differentialdiagnose bei neurologisch erkrankten Hunden. Bei mehr als 20 % aller Hunde, bei denen eine Liquorentnahme durchgeführt worden ist, lag eine Liquorpleozytose vor.

Die Diagnostik von Meningoenzephalitiden ist sehr aufwendig und mit einer Anästhesie des neurologisch erkrankten Hundes verbunden. Die Anästhesie eines Hundes mit intrakranieller Erkrankung geht mit einem erhöhten Risiko einher und es besteht die Gefahr einer neurologischen Verschlechterung (CAINES et al., 2014; GREENE, 2010; HICKS et al., 2013). Die umfassende Diagnostik und die Risiken für den erkrankten Hund sind auch für den Tierbesitzer mit emotionalen wie auch finanziellen Belastungen verbunden.

Insbesondere die Ermittlung der Ätiologie der ZNS-Entzündung (infektiös versus nicht-infektiös, immunmediert versus reaktiv) stellt den Kliniker aufgrund der zahlreichen potentiellen Krankheitsursachen für canine Meningoenzephalitiden vor eine Herausforderung. Eine endgültige Diagnose kann bei mindestens einem Drittel der Hunde nicht gestellt werden (TIPOLD, 1995).

Eine nicht seltene Frage der Tierbesitzer ist, ob man eine Entzündung des Gehirns nicht im Blut feststellen könne. Im vorliegenden Patientengut hatten elf Hunde (11/61*, *1 Hund ohne Blutbild) eine Leukozytose mit Linksverschiebung. Hiervon wiesen zwei Hunde eine bakterielle Meningoenzephalitis/Meningitis, fünf Hunde eine immunmedierte Meningitis, zwei Hunde eine immunmedierte Meningoenzephalitis und zwei Hunde eine reaktive Liquorpleozytose auf. Bei den immunmedierten Meningoenzephalitiden verlaufen die durchgeführten Blutuntersuchungen häufig unauffällig. Bei der SRMA liegt bei bis zu 63 % der erkrankten Hunde eine Leukozytose mit Linksverschiebung vor. Bei bakteriellen Meningoenzephalitiden kann ebenfalls eine Leukozytose mit Linksverschiebung vorliegen, jedoch schließt das Fehlen dieser Blutbildveränderung eine bakterielle ME/M gewiss nicht aus (CORNELIS et al., 2018; RADAELLI & PLATT, 2002; TIPOLD, 1995). Auch Biomarker wie das CRP können eine ME nicht diagnostizieren und ebenfalls nicht zwischen infektiöser und immunmediierter ME

unterscheiden, ein erhöhtes CRP unterstützt jedoch die Diagnose einer SRMA und eignet sich hier als Verlaufskontrolle (BATHEN-NOETHEN et al., 2008a). Auch das GFAP ist nur bedingt als diagnostischer Marker für eine NME beim Mops geeignet. Erhöhte GFAP-Konzentrationen im Serum werden zwar als sehr spezifisch für diese Erkrankung beim Mops angenommen, jedoch könnten sie auch bei anderen ZNS-Erkrankungen erhöht sein (MIYAKE et al., 2013; SHIBUYA et al., 2007).

Auch die Kernspintomographie ist zur Diagnosestellung eines entzündlichen Prozesses im ZNS nicht immer ausreichend, da 24 % der Hunde mit einer Liquorpleozytose einen Normalbefund im MRT vorweisen (LAMB et al., 2005). In der vorliegenden Studie hatten sogar 39,6 % (32/53) der Hunde mit einer Meningoenzephalitis einen unauffälligen MRT-Befund, wobei hier berücksichtigt werden muss, dass auch Hunde mit einer alleinigen Meningitis eingeschlossen wurden. Obwohl Liquor cerebrospinalis sensitiver als die Kernspintomographie bezüglich der Aufdeckung entzündlicher Prozesse ist (COATES & JEFFERY, 2014), sind in der Literatur auch unauffällige Liquorbefunde bei Hunden mit Meningoenzephalitis beschrieben (GRANGER et al., 2010). Diese Hunde sind aufgrund der gewählten Einschlusskriterien (Nachweis einer Liquorpleozytose, Befund der Liquorzytologie oder Histopathologie) in der Studie nicht enthalten. Ebenfalls sind Hunde mit erhöhtem intrakraniellen Druck, bei denen aufgrund des gesteigerten Risikos keine Liquorentnahme durchgeführt worden ist, nicht in der Studie eingeschlossen, auch wenn die Befunde der Bildgebung auf eine Meningoenzephalitis hindeuteten.

Insgesamt wurden 62 Hunde in die Studie eingeschlossen. Davon waren 61,3 % (n = 38) an einer Meningoenzephalitis oder Myelitis, 24,2 % (n = 15) an einer Meningitis erkrankt und bei 14,5 % (n = 9) lag eine reaktive Liquorpleozytose aufgrund einer anderen strukturellen ZNS-Erkrankung (z. B. Neoplasie, Infarkt) vor. Bei der Betrachtung der Überlebenszeiten ergab sich, dass Hunde mit einer ME oder Myelitis ein höheres Risiko haben, sechs Monate nach der Diagnose nicht mehr zu leben im Vergleich zu Hunden mit einer alleinigen Meningitis (Odds ratio 12,3, CI_{95%} 1,4–104,3). Bei Hunden mit einer immunmedierten ME werden in Abhängigkeit des Schweregrads und der gewählten Therapie unterschiedliche Überlebenszeiten von wenigen Tagen bis zu einigen Jahren angegeben. Betroffene Hunde, die den ersten Monat überleben, haben eine gute Perspektive mehrere Jahre mit der Erkrankung zu leben (SMITH et al., 2009). Gleichermaßen stellen Lowrie

et al. fest, dass Hunde, die die ersten drei Monate überleben, ein geringeres Risiko haben an einer immunmedierten ME (MUO) zu sterben (LOWRIE et al., 2013). Die immunmedierte Meningitis (SRMA) hat bei adäquater Therapie und insbesondere im akuten Stadium eine gute Prognose (TIPOLD & SCHATZBERG, 2010).

Die 62 Hunde mit Liquorpleozytose wurden der Gruppe „nicht-infektiöse, immunmedierte Meningoenzephalitis/Meningitis“ (n = 35), „Verdacht auf eine infektiöse Meningoenzephalitis/Meningitis“ (n = 18) und der Gruppe „reaktive Liquorpleozytose“ (n = 9) zugeordnet.

Die nicht-infektiösen, immunmedierten ZNS-Entzündungen beim Hund nahmen somit in der vorliegenden Studie eine zentrale Rolle ein. Bei 56,5 % der Hunde mit Liquorpleozytose lautete die Diagnose nicht-infektiöse, immunmedierte Meningoenzephalitis/Meningitis (ME/M). Hier konnten weder in der Liquorzytologie noch in den Untersuchungen auf spezifische bekannte Neuroinfektionen beim Hund Hinweise auf das Vorliegen einer Infektionskrankheit gefunden werden und es lagen keine anderen strukturellen Primärerkrankungen des ZNS vor, die eine reaktive Pleozytose erklärten.

In vielen Berichten aus England zu Vorkommen und Therapie von ZNS-Entzündungen beim Hund steht die immunmedierte, nicht-infektiöse ME ebenfalls im Vordergrund. Die Hunde mit einer ME präsentieren sich dabei häufig als neurologische Notfälle mit spinalen Schmerzen und schweren neurologischen Defiziten, die eine schnelle Einleitung einer Therapie erfordern (CORNELIS et al., 2016a, 2016b; LOWRIE et al., 2013; SMITH et al., 2009). Auch in dem Patientengut der vorliegenden Studie präsentierten sich die Hunde mit einer Meningoenzephalitis sehr häufig mit reduziertem Allgemeinbefinden bei Erstvorstellung (69,4 %) und oft mit spinalen Schmerzen (62,9 %). Neben epileptischen Anfällen (22,6 %) zeigten die Hunde Bewegungsstörungen (38,7 %), Gehirnnervenausfälle (19,4 %) und Blindheit (33,9 %). Auch Pleurothotonus, Kopfschiefhaltung, Kreislaufen, Drangwandern, Desorientiertheit und reduziertes Bewusstsein kamen vor.

Der Ausschluss von Infektionskrankheiten ist ein besonders wichtiger Bestandteil für die Diagnose einer immunmedierten ME/M. Die Auswahl der diagnostischen Tests sollte adaptiert an neurologische Symptome, klinische und labordiagnostische Verdachtsmomente, regionales Vorkommen und Jahreszeiten erfolgen. Gegebenenfalls müssen auch die individuelle Herkunft des Tieres und das

Reiseverhalten berücksichtigt werden. Von den meisten Autoren wird mindestens der Ausschluss von Neosporose, Toxoplasmose und Staupe zur Diagnose einer immunmedierten ME gefordert (COATES & JEFFERY, 2014; COELHO et al., 2018; GRANGER et al., 2010; LOWRIE et al., 2016, 2013). Eine Gehirnbioptie hat sich als Diagnostik bisher noch nicht etabliert (FLEGEL et al., 2012; KOBLIK et al., 1999), sodass die immunmedierte ME eine klinische Verdachts- und Ausschlussdiagnose bleibt. Die Diagnose einer immunmedierten ME/M war letztendlich in fast allen Fällen eine Ausschlussdiagnose und beruhte auf der Kombination aus Kernspintomographie, Liquoruntersuchung und dem Ausschluss von Infektionskrankheiten. Eine gesicherte Diagnose konnte bei zwei Hunden mittels Histopathologie post mortem gestellt werden (GME, NME).

Der Verdacht einer infektiösen ME/M lag bei 29,0 % der Hunde mit Liquorpleozytose vor, wobei nur bei sechs Hunden (9,7 %) eine eindeutige Diagnose gestellt werden konnte. Bei neun Hunden wurde eine infektiöse Ätiologie als möglich betrachtet (14,5 %) und bei drei Hunden (4,8 %) lagen Befunde unklarer Bedeutung vor (*Bartonella*-Nachweis im Liquor und Antikörpernachweis für *Anaplasma phagocytophilum* im Serum und Liquor).

Das gehäufte Vorkommen von bakteriellen ZNS-Infektionen in dieser Studie ohne eine vorausgegangene Bissverletzung oder andere Verletzungen im Kopfbereich war unerwartet. Bei fünf dieser Hunde gab bereits die Liquorzytologie, ergänzend mit einer Gram-Färbung, Hinweise auf das Vorliegen einer bakteriellen Entzündung. In diesen Fällen kann eine Therapie mit Immunsuppressiva fatal sein wie eigene Beobachtungen und Erfahrungen zeigten. Problematisch hierbei ist insbesondere die Überlappung der zytologischen Liquorbefunde einer bakteriellen ME/M und einer Steroid-responsiven Meningitis-Arteriitis (SRMA), die beide überwiegend von einem neutrophilen Zellbild geprägt sind (RADAELLI & PLATT, 2002; TIPOLD & SCHATZBERG, 2010), so dass dem Erkennen von Bakterien hier wesentliche Bedeutung zukommt. Im Falle von extrazellulären Bakterien muss allerdings auch eine Kontamination in Betracht gezogen werden und ein zweiter Test zur Bestätigung einer bakteriellen ME/M wie eine Liquorkultur durchgeführt werden. Im Falle einer negativen Liquorkultur kann eine 16S-rRNA/DNA-Gen-basierte Identifikation mittels PCR hilfreich sein (MESSER et al., 2008). Auch der Therapieerfolg wie das Ansprechen auf Antibiotikatherapie oder die Verschlechterung unter Prednisolontherapie sollte im Zusammenhang mit der Diagnose in den Blick genommen werden.

Neben der Schwierigkeit, die regionalen, saisonalen und auch individuellen Gegebenheiten wie Auslandsaufenthalte bei der Auswahl der Untersuchungen auf Infektionskrankheiten zu berücksichtigen, bleibt auch die Schwierigkeit der Interpretation von Untersuchungsergebnissen. Generell muss an dieser Stelle angemerkt werden, dass Antikörpernachweise nur für einen Kontakt zwischen Erreger und Hund sprechen, wohingegen direkte Nachweisverfahren wie PCR oder Kulturen den Erreger selbst nachweisen, sodass insbesondere Befunde der Serologie kritisch hinterfragt werden müssen.

Hinweise auf eine *Toxoplasma*-Infektion lagen nur bei zwei Hunden vor (Nachweis von IgM aus Serum und zusätzlich bei einem Hund Protozoenzyste in der Liquorzytologie). Eine klinisch manifeste Toxoplasmose kann nur durch den Nachweis von *Toxoplasma gondii*-DNA aus Liquor oder einen vierfachen Titeranstieg im Blut diagnostiziert werden (GREENE & CARMICHAEL, 2015; KÜSTER DE PAULA DREER et al., 2013). Der Verdacht einer Neosporose bestand bei zwei Hunden (Antikörpernachweis für *Neospora caninum* aus Serum). Bei keinem dieser Hunde wurde die Diagnose durch einen zweiten Test bestätigt. In einer Studie aus England ergaben die Antikörperuntersuchungen auf *Toxoplasma gondii* (IgM-Nachweis oder IgG > 1:400 oder positive PCR Liquor) und *Neospora caninum* (IFAT \geq 1:400 oder positive PCR Liquor) ebenfalls in nur wenigen Fällen (0,25 % bzw. 2,25 %) der Hunde mit ME ein positives Ergebnis (COELHO et al., 2018). Dennoch ist der Nachweis im Einzelfall wichtig, da eine immunsuppressive Therapie für dieses Tier fatale Folgen haben könnte. In der vorliegenden Studie wurde das Vorkommen von Staupe und Infektionen mit dem Lungenwurm *Angiostrongylus vasorum* sicherlich unterschätzt, da bei diesen Erkrankungen die Diagnose in der Klinik häufig ohne Liquoruntersuchung gestellt wurde. Bei Staupe sind meistens bereits das klinische Bild des Hundes (Myoklonus/„Staupe-Tick“, respiratorische, gastrointestinale Symptome) sowie ein Auslandsvorbericht hinweisend auf die Diagnose. Staupe kann einfach durch die CDV-PCR aus Konjunktivalupfer, Urin und Blut bestätigt werden (TIPOLD et al., 1992). Bei der Infektion mit *Angiostrongylus vasorum* kann die Diagnose bereits durch Kotuntersuchungen und Antigentests aus dem Blut gestellt werden (CONBOY, 2011).

Zwei Hunde dieser Studie hatten einen positiven PCR-Nachweis für *Bartonella* aus Liquor. *Bartonella*-Erreger können beim Menschen zu Infektionen des ZNS führen. Es gibt einige humanmedizinische Fallberichte, die eine neurologische Klinik bei

Erkrankten beschreiben (BREITSCHWERDT et al., 2012) (GERBER et al., 2002). In der Studie von Barber et al. wurde *Bartonella*-DNA bei einem von sechs Hunden amplifiziert, bei denen mittels Histopathologie eine GME bestätigt wurde (BARBER et al., 2010). Eine weitere Studie berichtet von dem Zusammenhang zwischen positiver *Bartonella*-Serologie und neutrophiler bzw. granulomatöser Meningoenzephalitis (BREITSCHWERDT et al., 2004). Es bleibt also fraglich, inwieweit der *Bartonella*-Nachweis bei diesen zwei Hunden im direkten Zusammenhang mit der Meningoenzephalitis steht.

Bei der durch das Flavivirus induzierten Frühsommermeningoenzephalitis (FSME) (PFEFFER & DOBLER, 2011) bereitet die Abgrenzung zu den immunmedierten Meningoenzephalitiden aufgrund typischer Klinik (Fieber, neurologische Defizite), MRT- und Liquorbefunde meistens weniger Probleme. Eine FSME-Infektion wurde mittels Nachweis von IgG und IgM aus Serum bei zwei Hunden diagnostiziert. Die Diagnose einer FSME beim Hund mittels Serologie kann aufgrund der hohen Seroprävalenz in der Hundepopulation schwierig sein (CSÁNGÓ et al., 2004; KLAUS et al., 2011; SIEVERT et al., 2016). In einer Studie aus Österreich hatten 24 % der untersuchten Hundesera Antikörper gegen das FSME-Virus ohne klinische Symptome zu zeigen (CHOMEL, 2011). Die Diagnose wird also erst durch die Detektion von IgM-Antikörpern oder einen vierfachen Anstieg des IgG-Antikörpers in einem Serumpaar (2 Wochenabstand) bestätigt (PFEFFER & DOBLER, 2011). Beide Hunde wurden im Spätsommer vorgestellt. Sie hatten hohes Fieber (40,5 °C) und starke neurologische Defizite (nicht gehfähige Tetraparese, Pleurothotonus, mittelgradige Ataxie). Im Liquor wurde eine lymphomonozytäre Pleozytose festgestellt. Fieber ist ein sehr häufiges Symptom bei einer FSME-Infektion. Daher muss bei akut erkrankten Hunden mit hinweisenden neurologischen Symptomen und Fieber das Flavivirus immer differentialdiagnostisch berücksichtigt werden (LESCHNIK et al., 2002; PFEFFER & DOBLER, 2011). In Süddeutschland tritt diese Erkrankung vermehrt in den Monaten April bis Juli und September bis Oktober auf. Die Prognose eines an FSME-Virus erkrankten Hundes wird als vorsichtig angegeben (LESCHNIK et al., 2002). Die zwei an FSME erkrankten Hunde dieser Studie sind vollständig genesen. Bei einem Hund wurde Kontakt zu *Anaplasma phagocytophilum* mittels Antikörperuntersuchung im Serum (IgM) und Liquor nachgewiesen. Es gibt einzelne Fallberichte über an Anaplasmose erkrankte Hunde mit neurologischen Symptomen (EBERTS et al., 2011), jedoch gibt es bisher wenige Hinweise auf die

Relevanz dieses Erregers (BARTNER et al., 2018; JÄDERLUND et al., 2009). Da antikörperpositive und ein Drittel PCR-positiver Hunde klinisch gesund bleiben (KOHN et al., 2011), muss auch bei dem Hund der vorliegenden Studie die Ätiologie der Meningoenzephalitis sehr kritisch hinterfragt werden.

Die Studie untersuchte weiter das Vorkommen von Begleiterkrankungen bei Hunden mit Liquorpleozytose. Mehr als jeder zweite Hund hatte zum Zeitpunkt der Diagnosestellung eine weitere Erkrankung. Inwieweit diese Begleiterkrankungen auch im Sinne eines „Triggers“ die Entstehung einer Meningoenzephalitis begünstigen, bleibt schwierig zu beurteilen. Es wird immer wieder diskutiert, ob sogenannte „Trigger“ wie beispielsweise eine vorangegangene virale Infektion oder auch eine Vakzination Auslöser einer MUO sein könnten (CHARALAMBOUS et al., 2013; FLEGEL et al., 2011; UCHIDA et al., 2016). Jedoch kamen Begleiterkrankungen bei den immunmedierten und den infektiösen ME/M gleichermaßen vor. Möglicherweise sind Hunde mit Begleiterkrankungen anfälliger für Infektionen des ZNS.

Insbesondere das Vorkommen von als entzündlich eingestuften Begleiterkrankungen muss in der weiteren Therapie des erkrankten Hundes berücksichtigt werden. Problematisch hierbei könnte die Langzeittherapie mit Immunsuppressiva sein, wenn es sich um eine infektiöse Begleiterkrankung handelt.

Die wichtigste Limitation dieser Studie stellt die kleine Fallzahl dar und die nur wenigen in der Histopathologie bestätigten Tiere. Des Weiteren wurden keine systematisch standardisierten Untersuchungen auf Infektionskrankheiten durchgeführt. Stattdessen wurde das weitere diagnostische Vorgehen in praxi individualisiert an Liquorzytologie, Klinik (Fieber), Saisonalität und Geographie angepasst, z. B. die Untersuchungen auf Lungenwürmer bei Husten oder Blutungen, FSME bei Fieber und Staupevirus bei Importhunden. Insgesamt ist die Liquorgewinnung von zum Teil geringen Mengen eine Limitation bei der Auswahl weiterer Untersuchungen. Hier bildet das Liquor-PCR-Profil eine interessante Alternative, dieses ergab in der Studie allerdings nur eine geringe Rate an positiven Befunden und muss gegebenenfalls durch Untersuchungen auf *Angiostrongylus vasorum*, Bakterien, FSME und diverse Rickettsiosen bei Verdacht ergänzt werden. Letztlich werden mit allen Methoden keine neuen Infektionserreger erfasst, die im Rahmen des Klimawandels und Imports von Hunden aus dem Ausland möglicherweise eine Rolle spielen könnten. Moderne Untersuchungsmethoden wie

die metagenomische Sequenzierung von Liquorproben könnten bei der Detektion von unspezifischen Pathogenen einen neuen Ansatz ermöglichen (HOON-HANKS et al., 2017).

Abschließend lässt sich sagen, dass die immunmedierte ME (MUO) bei ZNS-Entzündungen des Hundes eine Sonderstellung einnimmt. Als besonders kritisch zu betrachten sind die Einzelfälle infektiöser ME. Hier könnten falsche therapeutische Entscheidungen fatale Konsequenzen für das Tier haben. Problematisch ist vor allem die Zeit zwischen Diagnostik (MRT, Liquoranalyse, Untersuchungen auf Infektionskrankheiten) und dem Eintreffen der Befunde. Gerade die Untersuchungen auf Infektionserreger können mehrere Tage in Anspruch nehmen. Bei schwer kranken Hunden muss jedoch meistens eine zeitnahe Entscheidung hinsichtlich der Therapie – Immunsuppressivum ja oder nein – getroffen werden. Die Liquorzytologie spielt hierbei eine sehr wichtige Rolle. Sie kann Hinweise oder sogar Beweise für eine bakterielle Infektion (intrazelluläre Bakterien) liefern und auch die Art der Pleozytose kann hilfreich bei der Beurteilung der ME sein. Bei der Auswahl der Diagnostik müssen in jedem Fall individuelle Gegebenheiten wie Herkunft des Tieres, Zeitpunkt der Erkrankung und die Klinik (Fieber, andere Entzündungsherde, vor allem im Kopfbereich) berücksichtigt werden.

2. Ausblick Meningoenzephalitis

In Zukunft könnten metagenomische Sequenzierungen in der Veterinärmedizin bei der Aufklärung von Infektionen, aber auch bei dem Ausschluss von Pathogenen in den Fokus rücken (HOON-HANKS et al., 2017). Gerade die Tatsache, dass zahlreiche Erreger sowohl beim Tier als auch beim Menschen ursächlich für eine ME/M sein können, erschwert die Diagnostik. Des Weiteren werden Hunde mit einer ME/M häufig als neurologische Notfälle mit starken spinalen Schmerzen und neurologischen Ausfallserscheinungen präsentiert, sodass eine schnelle Diagnose und ein frühzeitiger Therapiebeginn entscheidend für den weiteren Verlauf und das Überleben des erkrankten Tieres sein können. Die Metagenomanalyse ist ein molekularbiologisches Verfahren, das zur Erregerdiagnostik für bekannte aber auch für neue Pathogene genutzt werden kann (SIMNER et al., 2018). In der Humanmedizin kommt die metagenomische Sequenzierung bereits als Diagnostikum für die Ätiologie von atypischen Enzephalitiden zum Einsatz (BROWN et al., 2018). Durch den zunehmend länderübergreifenden Transport von

Hunden für Urlaubsreisen, Zucht und Ausstellungen sowie aufgrund von Klimaveränderungen müssen auch in Europa exotischere Viruserkrankungen oder Pilzinfektionen als Ätiologie für ME/M beim Hund in Betracht gezogen werden. Gerade in diesen Fällen könnte eine Metagenomanalyse vorteilhaft gegenüber anderen Nachweisverfahren wie PCR oder Serologie sein.

Eine andere Methodik zum Nachweis von unbekanntem, nicht kultivierbarem Erregern stellt die bakterielle 16S-rRNA-PCR dar. Sie könnte in Zukunft ebenfalls eine größere Rolle bei der Diagnose von bakteriellen Meningoenzephalitiden spielen (KAEWMONGKOL et al., 2016).

Neben der Schwierigkeit nicht-infektiöse, immunmedierte ME/M von infektiösen ME/M zu unterscheiden, ist insbesondere die Differenzierung zwischen fokalen Entzündungsherden wie sie bei der fokalen GME vorkommen und Neoplasien eine diagnostische Herausforderung. Ein neuer diagnostischer Ansatz könnte hierbei die Untersuchung von Immunsignaturen im Serum von erkrankten Hunden bieten. Eine Pilotstudie zeigte, dass sich das Antikörperprofil zwischen gesunden Hunden und Hunden mit einer intrakraniellen Neoplasie sowie einer immunmedierten ME (MUO) unterschied. Ein großer Vorteil bei dieser Untersuchungsmethode ist der minimalinvasive Eingriff (Blutentnahme) für den betroffenen Hund (LAKE et al., 2018). Bei der Diagnose von immunmedierten ME/M beim Hund könnten in Zukunft Untersuchungen auf antineuronale Antikörper im Liquor cerebrospinalis in den Fokus rücken. In der Humanmedizin sind derartige Untersuchungen mittlerweile ein wichtiger Bestandteil bei der Diagnose von autoimmunen Enzephalitiden. Eine besonders wichtige Enzephalitis des Menschen ist die anti-N-Methyl-D-Aspartat-Rezeptor (NMDAR) Enzephalitis, die mit dem Nachweis von NMDAR-Antikörpern im Serum und CSF erkrankter Personen diagnostiziert werden kann (DALMAU et al., 2019). In einer Studie von Stafford et al. wurden anti-NMDAR Antikörper im CSF von drei Hunden mit MUO nachgewiesen (STAFFORD et al., 2019). Weitere Studien müssen die Bedeutung von antineuronalen Antikörpern bei Hunden mit immunmedierte ME untersuchen.

3. Diskospondylitis durch *Brucella canis*

Die zweite Studie befasst sich mit dem Vorkommen von Diskospondylitis beim Hund. Das Hauptaugenmerk liegt hier auf der *B. canis*-Diskospondylitis, da dieses Bakterium eine besondere Vorgehensweise erfordert. Es wurde ein

Fünfjahreszeitraum (2011–2016) betrachtet. Gleichzeitig gibt diese Studie Einblicke in die Epidemiologie des Erregers *Brucella* beim Hund in Europa. Dazu wurden Daten eines europäischen Veterinärlabors im selben Zeitraum ausgewertet. Eine Diskospondylitis wurde bei 16 Hunden innerhalb dieses Zeitraums diagnostiziert. Eine *B. canis*-Diskospondylitis lag bei vier dieser Hunde vor. Die Hunde mit positivem *B. canis*-Nachweis (3 Hunde mit Blutkultur und PCR, 1 Hund mit Antikörpern in zwei verschiedenen serologischen Nachweisverfahren) sind ein bis 23 Monate vor Erstvorstellung in der Neurologie aus Osteuropa (Rumänien, Moldawien, Nord-Mazedonien) importiert worden. Die klinischen Symptome waren spinale Schmerzen bei allen Hunden, erhöhte Körpertemperatur bei drei Hunden und reduzierter Appetit bei zwei Hunden. Bei drei Hunden verlief die Erkrankung über einen Zeitraum von vier bis 23 Monaten chronisch mit Symptomen wie wiederkehrende Schmerzepisoden (2 Hunde), intermittierendes Fieber und Hyporexie (1 Hund). Aufgrund des chronischen Krankheitsverlaufs und des jungen Alters von drei Hunden zum Zeitpunkt der Verbringung nach Deutschland (zwei Wochen, vier Wochen und zwölf Wochen) wird angenommen, dass sich diese Tiere bereits in ihrem Herkunftsland infiziert haben. Eine vertikale Erregerübertragung zwischen Muttertier und Welpen über die Plazenta während der Geburt oder des Säugens ist als wahrscheinlich anzunehmen. Darüber hinaus waren drei der vier Hunde zum Zeitpunkt der Verbringung nach Deutschland noch nicht geschlechtsreif und drei Hunde bei Erstvorstellung in der Neurologie kastriert, sodass eine Übertragung durch einen Deckakt unwahrscheinlich ist. Damit lässt sich vermuten, dass diese Hunde bereits vor der Vermittlung nach Deutschland infiziert waren. Die Fallbeschreibungen dieser Arbeit sind ähnlich zu anderen Fallberichten, in denen sich *B. canis*-Infektionen insbesondere bei jungen Hunden klinisch manifestiert haben (ANDERSON & BINNINGTON, 1983; HOLST et al., 2012; LEDBETTER et al., 2009; MORGAN et al., 2017). *B. canis* ist ein bekannter Reproduktionskeim, der zu Spätaborten und Fehlgeburten bei Hündinnen führt. Wenn infizierte Welpen lebend zur Welt kommen, sterben sie meistens kurz nach der Geburt oder sie erscheinen zunächst gesund und erkranken später (CARMICHAEL & KENNEY, 1970; HOLST et al., 2012). Chronisch infizierte Welpen könnten eine wichtige Rolle bei der Verbreitung von *B. canis* spielen (GYURANECZ et al., 2011).

Die Behandlung von an *B. canis* erkrankten Hunden wird aufgrund der meist lebenslangen Infektion und der Zoonosegefahr sehr kontrovers diskutiert (HOLST

et al., 2012; WANKE, 2004). Die vier an *Brucella*-Diskospondylitis erkrankten Hunde wurden mit Doxycyclin (Tetracyclin) und Pradofloxacin (Fluorochinolon) therapiert. Die Besitzer wurden über das Zoonoserisiko und die chronische Infektion informiert. Sie wünschten dennoch ausdrücklich einen Therapieversuch und lehnten eine Euthanasie ab. Alle vier Hunde zeigten zunächst eine Besserung der Symptome nach Therapiebeginn. Zwei Hunde blieben asymptomatisch (Beobachtungszeit vier Jahre), ein Hund hatte mehrere Rückfälle mit milden klinischen Symptomen nach einer langen symptomfreien Phase (zwei Jahre). Bei einem Hund konnte nach zwei Monaten kein weiterer Kontakt mit den Besitzern hergestellt werden, sodass hier der Krankheitsverlauf und weitere Therapien ungeklärt blieben. Die veterinärmedizinische Fachliteratur empfiehlt eine Kombination aus einem Tetracyclin und einem Aminoglykosid wie Streptomycin oder Gentamicin zur Therapie caniner Brucellose (ANDERSON & BINNINGTON, 1983; GREENE & CARMICHAEL, 2015; REYNES et al., 2012). Die Richtlinien der WHO für die Humanmedizin im Falle einer *Brucella*-Infektion sind ebenfalls eine Kombinationstherapie aus einem Tetracyclin und einem Aminoglykosid oder Rifampicin (CORBEL, 2006; YOUSEFI-NOORAIE et al., 2012). Daher sollte sich eine Therapie erster Wahl nach diesen Empfehlungen richten. Die Kombination aus Doxycyclin und Rifampicin scheint auch bei Hunden mit einer *Brucella suis*-Infektion effektiv zu sein (JAMES et al., 2017). Im Falle dieser vier Hunde wurde ein Fluorochinolon-Antibiotikum gewählt. Grundlage dieser Entscheidung waren zum einen mehrere Publikationen, die von einer erfolgreichen Therapie einer *Brucella*-Infektion mit dieser Antibiotika-Gruppe berichten (KERWIN et al., 1992; KHAN et al., 1989; MATEU-DE-ANTONIO & MARTÍN, 1995; WANKE et al., 2006), zum anderen ergab der Agardiffusionstest keine Resistenzen der Fluorochinolone gegenüber *B. canis* (drei Hunde mit positiver Blutkultur). Des Weiteren lehnten die Besitzer eine Langzeittherapie mit Rifampicin aufgrund der bekannten Hepato- und Nephrotoxizität ab. Auch die täglich notwendige s. c. Injektion von Gentamicin wurde abgelehnt. In der Humanmedizin ist die zusätzliche Gabe von Hydroxychloroquin als ein neuer Therapieansatz für Patienten mit Brucellose beschrieben. Es verbessert die Symptome in einem frühen Krankheitsstadium und reduziert Behandlungsmisserfolge und Rückfälle (MAJZOABI et al., 2018). Beim Hund wurde Hydroxychloroquin bereits als immunmodulatorisches Medikament für die Therapie von Lupus erythematosus oder eines Lymphoms erfolgreich eingesetzt

(BARNARD et al., 2014; OBERKIRCHNER et al., 2011). Zusammenfassend bleibt jedoch anzumerken, dass beim Hund keine antibiotische Therapie *B. canis* vollständig zu eliminieren scheint und Therapiemisserfolge sowie Rückfälle häufig vorkommen (HOLST et al., 2012; REYNES et al., 2012; WANKE, 2004). Therapieversuche sollten deshalb, insbesondere auch im Hinblick auf das bekannte Zoonoserisiko, gründlich abgewogen werden.

Die Auswertungen der Labordaten eines Veterinärlabors ergaben, dass die für *Brucella* positiven PCR- und Antikörperuntersuchungen von Hunden aus verschiedenen europäischen Ländern stammten. Daraus lässt sich rückfolgern, dass *B. canis* in Europa verbreitet ist. *Brucella* spp.-DNA wurde in 3,7 % und *B. canis*-Antikörper in 5,4 % aller untersuchten Proben nachgewiesen. Die eingeschickten Proben stammten aus 20 europäischen Ländern. Dennoch bleibt die Prävalenz dieses Erregers in Europa ungeklärt. Die Ergebnisse dieser Studie sollten kritisch betrachtet werden, da die Proben von einer vorselektierten Hundepopulation durch Tierärzte oder Züchter/Zuchtvereine stammten. Es könnte sich somit um Proben von Hunden gehandelt haben, die einem besonderen Risiko ausgesetzt waren, sich mit caniner Brucellose zu infizieren. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass mehrere Proben von Hunden aus der gleichen Zucht eingeschickt worden sind. Des Weiteren gab es keine Angabe zum Geburtsort der beprobten Tiere, sodass es sich hierbei auch um Importtiere gehandelt haben könnte.

Bisherige Untersuchungen zum Vorkommen von *B. canis* beschränken sich ebenfalls größtenteils auf vorselektierte Hunde aus Zuchten mit Reproduktionsstörungen, einzelne Fallberichte über Diskospondylitis oder andere Manifestationen von *B. canis* (GYURANECZ et al., 2011; HOFER et al., 2012; KADEN et al., 2014). Viele Veröffentlichungen der letzten Jahre bestätigen jedoch die Ergebnisse dieser Studie zum Vorkommen von *B. canis* in Europa. Es gibt Fallberichte aus Schweden (HOLST et al., 2012; KADEN et al., 2014), England (MORGAN et al., 2017; TAYLOR et al., 1980), Österreich (HOFER et al., 2012), Italien (CORRENTE et al., 2010), Ungarn (GYURANECZ et al., 2011) oder der Schweiz (EGLOFF et al., 2018). Des Weiteren bestärkt die osteuropäische Herkunft der vier Hunde aus der Fallserie den Eindruck, dass *B. canis* in einigen europäischen Ländern eine zunehmende Bedeutung zukommt. Die PCR-Labordaten (IDEXX) konnten das gehäufte Vorkommen von *B. canis* in Osteuropa allerdings nicht bestätigen. Es gab zu wenige oder bisweilen gar keine PCR-Einsendungen von Proben osteuropäischer Hunde, sodass hier weitere Untersuchungen zum

vermehrten Auftreten von *B. canis* in Osteuropa angezeigt sind. Unveröffentlichte Fälle aus anderen deutschen Tierkliniken mit *B. canis*-infizierten Hunden (Diskospondylitis) bestärken jedoch diesen Eindruck, da auch diese Tiere ursprünglich aus Osteuropa nach Deutschland vermittelt worden sind. Die aus Spanien und Polen stammenden Proben haben ergeben, dass *Brucella* in diesen Ländern gehäuft vorkommt. Proben aus Spanien waren zu 11,1 % und aus Polen zu 6,7 % PCR-positiv. Dies steht in Kontrast zu den bisherigen Erkenntnissen von Iwaniak et al., die sagen, dass das Vorkommen von *B. canis* in Polen noch nie bestätigt werden konnte (IWANIAK & SZULOWSKI, 2015). Ein Fallbericht aus Schweden (2012) beschreibt jedoch ebenfalls die Verbindung einer *Brucella*-infizierten Zuchthündin mit einem Deckrüden aus Polen (HOLST et al., 2012). Eine andere Publikation über einen *Brucella*-Ausbruch in einer schwedischen Hundezucht unterstützt die Rückschlüsse, dass *B. canis* eine bedeutendere Rolle in Spanien spielen könnte. Hier sind zwei erkrankte Zuchthündinnen zuvor mit Zuchtrüden aus Spanien gedeckt worden (KADEN et al., 2014).

Direkte Erregernachweisverfahren wie PCR und bakterielle Kulturen gelten als einziger Beweis einer bestehenden *B. canis*-Infektion (CARMICHAEL & SHIN, 1996; KEID et al., 2009; WANKE, 2004). Das PCR-Verfahren wird insbesondere als Diagnostikum für die Detektion von subklinischen oder frühen Infektionen verwendet (BOERI et al., 2018; KANG et al., 2014; KAUFFMAN et al., 2014; KEID et al., 2007b, 2007c). Die vom Labor verwendete PCR (IDEXX RealPCR™) detektiert *B. canis*, *B. microti*, *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* und *B. ovis*. Sie ist somit nicht speziesspezifisch. Die bei den drei Klinikhunden verwendeten PCR-Verfahren waren zwei Multiplex-PCR-Untersuchungen (Bruce-ladder und New Bruce-ladder), die das Wachstum von *B. canis* in den Blutkulturen bestätigte. Mit dieser Methodik können die meisten *Brucella*-Spezies anhand spezifischer Bandenmuster der Amplifikate unterschiedlicher Größe identifiziert werden. Es ist auch möglich zwischen *B. suis* und *B. canis* zu unterscheiden (LOPEZ-GONI et al., 2008; LÓPEZ-GOÑI et al., 2011).

Neben der Auswertung von eingesandten Proben für PCR-Untersuchungen, erfolgte die Auswertung von eingeschickten Serumproben für *B. canis*-Antikörperuntersuchungen. Insgesamt wurden bei 5,4 % der eingeschickten Proben Antikörper nachgewiesen. Die Proben mit Nachweis von Antikörpern stammten aus 13 europäischen Ländern (Schweden, Belgien, Österreich, Schweiz, Italien, Finnland, Deutschland, Dänemark, Ungarn, Norwegen, Polen, Frankreich,

Niederlande). Aus Spanien wurden nur zwei Proben für Antikörpernachweise eingeschickt, sodass dieses Ergebnis keine Interpretation über die Seroprävalenz in Spanien zulässt. Mateu-de-Antonia et al. jedoch geben die *B. canis*-Antikörperprävalenz von spanischen Straßenhunden mit 6,5 % an (MATEU DE ANTONIO et al., 1994). Antikörper wurden in 3,7 % der Proben aus Polen nachgewiesen und unterstützen damit die PCR-Ergebnisse der Proben aus Polen. Ein weiteres interessantes Ergebnis ergaben die Antikörperproben aus Finnland. In 6,9 % der Proben konnten Antikörper nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis unterscheidet sich von den Daten von Dahlbom et al. (2009). Hier wurden 388 Hunde aus 94 verschiedenen finnischen Zuchtbetrieben auf *B. canis*-Antikörper untersucht und in keiner dieser Proben konnten Antikörper nachgewiesen (DAHLBOM et al., 2009).

Grundsätzlich ist anzumerken, dass die Diagnose einer *B. canis*-Infektion anhand eines serologischen Nachweisverfahrens einige Fehlerquellen birgt, sodass die Ergebnisse der Antikörpernachweise sehr vorsichtig interpretiert werden müssen. Sehr häufig kommt es zu falsch positiven Ergebnissen durch Kreuzreaktionen mit anderen Bakterien, die das gleiche Antigen der Lipopolysaccharid-Zellmembran beherbergen. Außerdem können die Antikörpertests in der frühen Phase der Infektion – also in den ersten drei bis acht Wochen – auch falsch negativ sein (BANAI et al., 2018; CARMICHAEL & SHIN, 1996; GREENE & CARMICHAEL, 2015; WANKE, 2004). Bei der vom Labor durchgeführten Serologie handelt es sich um einen Agglutinationstest. Es gibt zahlreiche verschiedene serologische Tests wie den „Rapid-slide“-Agglutinationstest mit oder ohne 2-Mercaptoethanolzusatz, den „Tube“-Agglutinationstest, die Mikroagglutination, den Agargel-Immunodiffusionstest, einen ELISA oder den Indirekten Fluoreszenz-Antikörpertest (HENSEL et al., 2018; KIMURA et al., 2008; SAYAN et al., 2011a; WALLACH et al., 2004). Die verschiedenen Verfahren unterscheiden sich in ihrer Sensitivität und Spezifität, in Abhängigkeit ihrer Durchführung, der Auswahl ihrer Antigene, Primer und der Qualität der Proben. Die Sensitivität und Spezifität der Agglutinationstests werden mit 30–75 % bzw. 83–100 % angegeben (ARAS & UÇAN, 2010; HENSEL et al., 2018; KEID et al., 2007b, 2009).

Ein weiteres Ergebnis dieser Studie war, dass junge Hunde bis 2 Jahre im Vergleich zu älteren Hunden ein 5,4-fach höheres Risiko haben, eine positive PCR-Probe für *Brucella* zu haben. Diese Überrepräsentation von jungen Hunden ist auch in den

bisherigen Berichten bestätigt (ANDERSON & BINNINGTON, 1983; HOLST et al., 2012; LEDBETTER et al., 2009; MORGAN et al., 2017). Einen weiteren Beleg für diese Annahme liefern die Untersuchungen von Souza et al. aus dem Jahre 2018. Hier wurde bei 21 % von 200 getesteten Welpen ein positiver PCR-Befund diagnostiziert (DE SOUZA et al., 2018).

Die wichtigste Limitation dieser Studie ist die vorselektierte Population. Die Proben für die *Brucella*-Untersuchungen sind von ausgewählten Tieren von Tierärzten und Züchtern eingeschickt worden. Man kann demnach die Ergebnisse nicht als eine länderbezogene Prävalenz interpretieren. Des Weiteren ist es möglich, dass die Hunde vor der Probenentnahme bereits importiert worden sind und die Länderangabe nicht dem Ursprungsland des Hundes entspricht. Eine weitere Limitation ist die vom Labor verwendete unspezifische PCR-Untersuchung. Hunde können sich auch mit anderen *Brucella*-Spezies infizieren wie *B. abortus*, *B. suis* und *B. melitensis*. Folglich sollten bei Hunden aus Ländern, in denen Brucellose noch nicht gänzlich ausgerottet ist, ebenfalls die anderen Spezies in Betracht gezogen werden, insbesondere wenn der Hund mit rohem Schweinefleisch gefüttert wird oder auf einem Bauernhof lebt (FORBES, 1990; JAMES et al., 2017). Bei der Interpretation der Laborergebnisse muss auch berücksichtigt werden, dass die Probenanzahl zum Teil sehr niedrig und zwischen den verschiedenen Ländern sehr unterschiedlich war, sodass eine exakte Prävalenzangabe oder ein Rückschluss auf das Vorkommen von *Brucella* in diesem Land nicht möglich ist. Dies wird auch durch die angegebenen Konfidenzintervalle verdeutlicht.

In der Literatur wird das Zoonoserisiko von *B. canis* im Vergleich zu *B. melitensis*, *B. suis* und *B. abortus* als niedrig eingeschätzt (GALIŃSKA & ZAGÓRSKI, 2013; LI et al., 2018; PELERITO et al., 2017; SHOUKAT et al., 2017; WALLACH et al., 2017). Dies könnte eine Erklärung dafür sein, warum es für *B. canis* in Europa bisher keine offizielle Datenbank gibt. *B. canis* ist weder bei der WHO noch bei der EU anzeigepflichtig im Gegensatz zur Brucellose beim Rind (*B. abortus*), bei Schweinen (*B. suis*), bei Schafen oder Ziegen (*B. melitensis*). In den letzten Jahren scheinen jedoch die *B. canis*-Infektionen in der Humanmedizin eine zunehmende Rolle zu spielen. Insbesondere Kinder und immunsupprimierte Personen sind für eine *B. canis*-Infektion gefährdet (ANGEL et al., 2013; COSFORD, 2018; SAYAN et al., 2011b; DENTINGER et al., 2015; KRUEGER et al., 2014; LAWACZECK et al., 2011; LUCERO et al., 2010, 2005a, 2005b; MARZETTI et al., 2013; NOMURA et al., 2010). Die klinischen Symptome beim Menschen sind sehr

unspezifisch, es treten u.a. undulierendes Fieber, Schwäche, Abgeschlagenheit, Lymphadenopathie, Leber- und Milzvergrößerung auf (KRUEGER et al., 2014; LAWACZECK et al., 2011; LUCERO et al., 2009, 2005a; POLT et al., 1982; ROUSSEAU, 1985). Die Besitzer der vier *Brucella*-positiven Hunde wurden über das bestehende Zoonosepotential, die Hygienemaßnahmen und die meistens chronisch verlaufende Erkrankung ihrer Hunde informiert. Dennoch wünschten alle Besitzer einen Therapieversuch. Die Besitzer eines chronisch infizierten Hundes, der mehrere klinische Rückfälle der Diskospondylitis erlitt, ließen sich auf *Brucella*-Antikörper mittels Agglutinationstest (Coomb's Test) untersuchen. Die Befunde waren negativ. Die Antikörper beim Menschen mit einer Brucellose können sehr lange nachweisbar sein, zum Teil bis zu mehreren Jahren (ALMUNEEF & MEMISH, 2002; ARIZA et al., 1992; THAKUR et al., 2018). Demnach erscheint eine stattgefundene Übertragung von *Brucella* dieses Hundes auf die Besitzer eher als unwahrscheinlich. Jedoch muss bei der Bewertung dieser Befunde bedacht werden, dass die meisten routinemäßig durchgeführten Agglutinationstest in der Humanmedizin in erster Linie die sogenannten „smooth“-*Brucella*-Spezies wie *B. melitensis*, *B. suis* und *B. abortus* detektieren und nicht die „rough“-*Brucella*-Spezies wie *B. canis* (GALIŃSKA & ZAGÓRSKI, 2013; LUCERO et al., 2005b). Die Klassifizierung von „smooth“ und „rough“ *Brucella*-Spezies hängt mit dem unterschiedlichen Aufbau der äußeren Lipopolysaccharid(LPS)-Membran der Bakterien zusammen. Die An- oder Abwesenheit von O-Polysacchariden in der LPS-Membran entscheiden über die Klassifizierung (COSFORD, 2018). Insgesamt wird das Zoonoserisiko für *B. canis* weiterhin als niedrig bewertet, insbesondere im Vergleich zu den anderen *Brucella*-Spezies. Nichtsdestotrotz handelt es sich um eine Zoonose und Kontakt zwischen infizierten Hunden und immunsupprimierten Personen und Kindern sollte strikt vermieden werden (CHACÓN-DÍAZ et al., 2015).

Verschiedenste Bedingungen könnten ursächlich für das gehäufte Vorkommen von *B. canis* in Europa sein. Zum einen könnten ein schlechter Gesundheitsstatus und mangelhafte Kontrollen in Hundezuchten bedeutend sein, zum anderen auch der zunehmende länderübergreifende Transport von Zuchthunden zur Verpaarung oder für Ausstellungen (BROWER et al., 2007; HOLST et al., 2012). Als weiterer Grund muss die Zunahme von Straßenhunden insbesondere in Ost- und Südeuropa angenommen werden (KÜSTER DE PAULA DREER et al., 2013) (FATJÓ et al., 2015; SEIMENIS & TABBAA, 2014). Hundezuchten und „Welpenfabriken“ mit

schlechten hygienischen Bedingungen und ohne tierärztliche Kontrolle der Welpen und Elterntiere sind vermutlich ein zusätzliches Risiko für die Verbreitung. Der Import solcher Welpen, auch im Sinne von illegalem Welpenhandel, könnte das Vorkommen von *B. canis* in verschiedenen Hundepopulation europaweit begünstigen (HEESEN et al., 2015; MCMILLAN, 2017; PEELER et al., 2015; WYATT et al., 2017; YEATES & BOWLES, 2017). Auch in deutschen Tierkliniken sollte bei jungen Hunden, die mit chronischen spinalen Schmerzen vorgestellt werden, eine *B. canis*-Infektion als Ursache einer Diskospondylitis in Betracht gezogen werden. Insbesondere dann, wenn der Vorbericht dieser Hunde Auskunft über Auslandsaufenthalte gibt. Die Studie belegt, dass *B. canis* in Europa vorkommt und gerade jüngere Tiere infiziert sind. Die länderübergreifenden Verpaarungen von Zuchttieren könnten die Verbreitung von *B. canis* in der deutschen Hundepopulation zur Folge haben.

4. Ausblick *Brucella canis*

Die Berichte über *Brucella canis*-Infektionen nehmen zu. Weltweit werden Untersuchungen zum Vorkommen durchgeführt, Europa wird jedoch bisher vernachlässigt (COSFORD, 2018). Um die Bedeutung dieses Erregers in den europäischen Hundepopulationen besser einschätzen zu können, müssen in Zukunft größere Prävalenzstudien mit einem nicht vorselektierten Patientengut erfolgen. In diesem Zusammenhang wäre es auch wünschenswert, wenn *B. canis* anzeigepflichtig wird. Bislang sind nur *B. abortus*, *B. suis* und *B. melitensis* anzeigepflichtig. Hintergrund hierfür könnte sein, dass insbesondere Milchprodukte eine große Rolle bei der Übertragung auf den Menschen spielen (COSFORD, 2018; FRANC et al., 2018; HOLST et al., 2012). *B. canis* steht verwunderlicherweise als Zoonoseerreger bislang im Hintergrund, obwohl zwischen Hund und Tierbesitzer häufig eine enge Beziehung besteht.

Die Schwierigkeit der Diagnostik, insbesondere hinsichtlich der Interpretation von Antikörperuntersuchungen, könnte bei der Ermittlung der Prävalenz weiterhin hinderlich sein. Die serologischen Nachweisverfahren können aufgrund der Ähnlichkeit der Oberflächen-Antigene von *B. canis* und anderen gramnegativen Bakterien falsch positive Ergebnisse ergeben (CARMICHAEL et al., 1984). Es muss also bei positiv getesteten Tieren immer ein zweites anderes Nachweisverfahren zur Bestätigung erfolgen. Die Erregerisolation bleibt der

einzigste Beweis einer caninen Brucellose (CARMICHAEL & SHIN, 1996; KEID et al., 2009; WANKE, 2004). Optimal erscheint die Kombination aus Antikörperuntersuchungen und PCR aus verschiedenen Proben eines Hundes wie Vaginal- oder Präputialsekret, Urin und Vollblut.

Aufgrund der vorliegenden Studie und anderer aktueller Nachweise von *B. canis* beim Hund (HENSEL et al., 2018) wäre zu empfehlen Hunde vor jeder länderübergreifenden Verbringung und insbesondere vor jeder Verpaarung routinemäßig auf diesen Erreger zu testen. Die bei Hunden aus dem Ausland häufig durchgeführten „Reiseprofile“ müssen demnach durch eine Untersuchung auf *B. canis* ergänzt werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Meningoenzephalitiden sind eine sehr wichtige Differentialdiagnose bei neurologisch erkrankten Hunden. Die Diagnostik, insbesondere die Ermittlung der Ätiologie der Entzündung, sowie die Therapie sind häufig sehr zeit- und kostenintensiv und erfordern große Einsatzbereitschaft der Tierbesitzer.

Ziel der Studie war es daher, das Vorkommen und die Ätiologie von ZNS-Entzündungen (Meningitis, Meningoenzephalitis, Meningomyelitis) in einer deutschen Hundepopulation zu untersuchen.

Es erfolgte eine retrospektive Auswertung der klinischen und diagnostischen Daten aus den Jahren 2011 bis 2016 von Hunden mit einer Pleozytose im Liquor (Leukozyten > 15/3 µl). Die Einschlusskriterien wurden von 62 Hunden erfüllt.

Bei 56,5 % (n = 35) der Hunde mit Liquorpleozytose verliefen die Untersuchungen auf Infektionskrankheiten negativ und es lag keine andere strukturelle Erkrankung des Gehirns wie Neoplasie oder Infarkt vor, die die Liquorpleozytose erklärte. Bei diesen Hunden lautete die Diagnose somit immunmedierte, nicht-infektiöse Meningoenzephalitis oder Meningitis.

Bei 29,0 % (n = 18) ergaben die Untersuchungen auf Infektionskrankheiten Hinweise auf eine mögliche infektiöse Meningoenzephalitis oder Meningitis. Eine eindeutig infektiöse Ätiologie wurde bei sechs dieser Hunde diagnostiziert (9,6 %; 4 Hunde mit einer bakteriellen Entzündung, 2 Hunde mit einer Frühsommermeningoenzephalitis (FSME)). Eine vermutlich infektiöse Meningoenzephalitis oder Meningitis lag bei neun Hunden vor (14,5 %) und Befunde unklarer Bedeutung ergaben sich bei drei Hunden (4,8 %; 2 Hunde mit positiver *Bartonella*-PCR aus Liquor, 1 Hund mit *Anaplasma phagocytophilum*-Antikörpern in Serum und Liquor).

Bei 14,5 % (n = 9) der Hunde wurde eine reaktive Liquorpleozytose infolge einer anderen strukturellen Primärerkrankung des ZNS wie ein Tumor oder Infarkt identifiziert.

Hunde mit einer Liquorpleozytose wurden sehr häufig mit reduziertem Allgemeinbefinden (69,4 %) vorgestellt und hatten oft spinale Schmerzen (62,9 %). Außerdem präsentierten sich betroffene Tiere mit epileptischen Anfällen (22,6 %), Bewegungsstörungen (38,7 %), Gehirnnervenausfällen (19,4 %) und Blindheit (33,9 %). Hunde mit einer alleinigen Meningitis – ohne neurologische

Ausfallserscheinungen und ohne Veränderungen in der Bildgebung – haben eine gute Prognose.

Relevante Begleiterkrankungen zum Zeitpunkt der Diagnose wurden bei der Hälfte der Hunde mit einer immunmedierten, nicht-infektiösen und der Hälfte der Hunde mit Verdacht auf eine infektiöse Meningoenzephalitis oder Meningitis festgestellt. Zusammenfassend war in der untersuchten Population die immunmedierte Meningoenzephalitis oder Meningitis die häufigste Ursache einer ZNS-Entzündung.

Hunde mit einer Meningoenzephalitis präsentieren sich in der Klinik häufig als Notfälle mit neurologischen Ausfallserscheinungen und spinalen Schmerzen, sodass der frühzeitige Therapiebeginn entscheidend für das Überleben des erkrankten Hundes ist. Im Rahmen der Diagnosestellung nehmen die Untersuchungen auf Infektionskrankheiten einen besonderen Stellenwert ein, um Einzelfälle einer infektiösen Meningoenzephalitis nicht zu übersehen, da bei diesen Hunden eine immunsuppressive Therapie fatale Folgen hätte. Zytologische Liquorbefunde, regionale und auch saisonale Unterschiede im Auftreten von Infektionen müssen zwingend berücksichtigt werden. Auch das Auftreten von Begleiterkrankungen ist möglich und sollte bei der Therapie und den Nachkontrollen bedacht werden.

Neben Meningoenzephalitiden spielen auch Entzündungen im Bereich der Wirbelsäule eine Rolle in der Kleintierneurologie. Hunde mit Diskospondylitis können sich ähnlich oder sogar identisch wie Hunde mit einer Meningitis präsentieren (Fieber, spinale Schmerzen).

Ein weiteres Ziel der Studie war es daher, eine retrospektive Bewertung zum Vorkommen von Diskospondylitis beim Hund sowie *B. canis* durchzuführen und die epidemiologische Situation dieses Bakteriums in Europa zu untersuchen.

Es erfolgte eine Analyse der Patientendatenbank der Medizinischen Kleintierklinik LMU München von Diskospondylitisfälle beim Hund aus den Jahren 2011 bis 2016. Ergänzend sind die Labordaten ebenfalls aus den Jahren 2011 bis 2016 eines europäischen Veterinärlabors bezugnehmend auf positive *Brucella*-Nachweise in eingesandten Proben (Antikörper und PCR) ausgewertet worden.

Die Durchsuchung der Datenbank nach Hunden mit Diskospondylitis durch *B. canis* ergab vier Tiere. Es waren vier Hündinnen im Alter zwischen sieben Monaten und 2,5 Jahren. Alle Tiere wurden zuvor als Welpen oder Junghunde aus

osteuropäischen Ländern (Rumänien, Moldawien, Mazedonien) nach Deutschland importiert.

Das veterinärmedizinische Labor erhielt aus 20 europäischen Ländern Proben für die Untersuchung auf *Brucella*. 3,7 % der eingeschickten Proben waren *Brucella* spp. PCR-positiv (61/1657) und in 5,4 % der Proben wurden *B. canis*-Antikörper nachgewiesen (150/2764). Die PCR-positiven Proben stammten aus Spanien (11,1 %) und Polen (6,7 %) sowie wenige aus Italien (1 positive Probe) und Frankreich (3 positive Proben). Die Proben mit positivem Antikörpernachweis stammten aus 13 europäischen Ländern (Schweden, Belgien, Österreich, Schweiz, Italien, Finnland, Deutschland, Dänemark, Ungarn, Norwegen, Polen, Frankreich, Niederlande).

Die positiven PCR-Proben waren gehäuft von jungen Hunden (0–24 Monate). Die Statistik ergab ein 5,4-fach höheres Risiko einer positiven PCR-Untersuchung bei Hunden dieser Altersgruppe.

Infektionen mit *Brucella canis* kommen bei Hunden in Europa vor und sollten auch in Deutschland als Ätiologie einer Diskospondylitis, insbesondere bei jungen Hunden mit Auslandsvorbericht, berücksichtigt werden.

VI. SUMMARY

Meningoencephalitis is a very important differential diagnosis in neurologically diseased dogs. The diagnosis, in particular the determination of the etiology, as well as the therapy are often very time and cost intensive and require great commitment of the pet owners.

Therefore, the aim of the study was to investigate the incidence and etiology of CNS inflammations (meningitis, meningoencephalitis, meningomyelitis) in a German dog population.

A retrospective study of the clinical and diagnostic data from the years 2011 to 2016 of dogs with pleocytosis in cerebrospinal fluid (leucocytes > 15/3 μ l) was performed.

Sixty-two dogs met the inclusion criteria.

In 56.5% (n = 35) of dogs with pleocytosis, investigations on infectious diseases showed negative test results and there was no other structural brain lesion such as neoplasia or infarction that explained CSF pleocytosis. Therefore, the diagnosis in these dogs was immune-mediated, non-infectious meningoencephalitis or meningitis.

In 29.0% (n = 18) of dogs, the investigations for infectious diseases revealed indications of a possible infectious meningoencephalitis or meningitis. An explicit infectious etiology was only diagnosed in six of these dogs (9.6%, 4 dogs with bacterial inflammation, 2 dogs with tick-borne encephalitis (TBE)).

Nine dogs (14.5%) were diagnosed with a suspected infectious meningoencephalitis or meningitis and findings of unclear significance were found in three dogs (4.8%, two dogs with positive *Bartonella* PCR in CSF, one dog with *Anaplasma phagocytophilum* antibodies in serum and CSF).

In 14.5% (n = 9) of the dogs a reactive pleocytosis was identified due to another primary structural disorder of the CNS, such as a neoplasia or infarction.

Dogs with pleocytosis were very often presented with a reduced general condition (69.4%) and spinal pain (62.9%). Furthermore, dogs had epileptic seizures (22.6%), movement disorders (38.7%) and cranial nerve deficits (19.4%) and were blind (33.9%). Dogs with sole meningitis – without neurological deficits and without abnormalities in MRI – had a good prognosis.

Half of the dogs diagnosed with an immune-mediated, non-infectious meningoencephalitis or meningitis had relevant comorbidities at the time of diagnosis as well as half of the dogs with suspected infectious meningoencephalitis or meningitis.

Overall, immune-mediated meningoencephalitis or meningitis was the most frequent cause of CNS inflammation in the examined population.

Dogs with meningoencephalitis often are emergencies with neurological deficits and spinal pain and the early initiation of therapy is crucial for the survival of the diseased dog. As part of the diagnosis, investigations on infectious diseases are essential in order not to miss individual cases of infectious meningoencephalitis, since in these dogs immunosuppressive therapy would have fatal consequences. Cytological CSF findings, regional and seasonal differences in the occurrence of infections must be considered. The occurrence of comorbidities in dogs with meningoencephalitis is possible and should be taken into consideration in therapy and follow-ups.

In addition to meningoencephalitis, inflammation in the spine also plays a role in veterinary neurology. Dogs with discospondylitis may present similar or even identical to dogs with meningitis (fever, spinal pain).

Another aim of the study was to examine the occurrence of discospondylitis in dogs and *B. canis* and to investigate the epidemiological situation of this bacterium in Europe.

Medical records of Clinic of Small Animal Medicine, LMU Munich, were searched for discospondylitis cases in dogs from the years 2011 to 2016. In addition, the database of a European veterinary laboratory was screened for *Brucella* positive samples (antibodies and PCR).

The search of the database for dogs with discospondylitis due to *Brucella canis* revealed four animals. There were four bitches between the ages of seven months and 2.5 years. All four dogs were imported as puppies or young dogs from Eastern European countries (Romania, Moldova, Macedonia) to Germany.

The veterinary laboratory received samples from 20 European countries for *Brucella* testing. 3.7% of the submitted samples were *Brucella* spp. PCR positive (61/1657) and 5.4% of samples detected *Brucella canis* antibodies (150/2764). The PCR positive samples were from Spain (11.1%) and Poland (6.7%) and few from Italy (1 positive sample) and France (3 positive samples). The samples with antibody detection were submitted from 13 European countries (Sweden, Belgium,

Austria, Switzerland, Italy, Finland, Germany, Denmark, Hungary, Norway, Poland, France, the Netherlands).

The positive PCR samples derived in several cases by young dogs (0-24 months). The statistics showed a 5.4-fold higher risk of positive PCR testing in dogs of this age.

Brucella canis infections must be taken into account in dogs in Europe and should also be considered in Germany as an etiology of discospondylitis, especially in young dogs from abroad.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

Affenzeller N, McPeake KJ, McClement J, Zulch H. Human-directed aggressive behaviour as the main presenting sign in dogs subsequently diagnosed with diskospondylitis. *Vet Rec Case Reports* 2017; 5: e000501.

Almuneef M, Memish ZA. Persistence of *Brucella* antibodies after successful treatment of acute brucellosis in an area of endemicity. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2313.

Anderson GI, Binnington AG. Discospondylitis and orchitis associated with high *Brucella* titre in a dog. *Can Vet J* 1983; 24: 249–252.

Angel MO, Ristow P, Ko AI, Di-Lorenzo C. Serological trail of *Brucella infection* in an urban slum population in Brazil. *J Infect Dev Ctries* 2013; 6: 675–679.

Anis E, Holford AL, Galyon GD, Wilkes RP. Antigenic analysis of genetic variants of Canine distemper virus. *Vet Microbiol* 2018; 219: 154–160.

Aras Z, Uçan US. Detection of *Brucella canis* from inguinal lymph nodes of naturally infected dogs by PCR. *Theriogenology* 2010; 74: 658–662.

Aresu L, Angelo AD, Zanatta R, Valenza F, Capucchio MT. Canine necrotizing encephalitis associated with anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis. *J Comp Pathol* 2007; 136: 279–282.

Ariza J, Pellicer T, Pallares R, Foz A, Gudiol F. Specific antibody profile in human brucellosis. *Clin Infect Dis* 1992; 14: 131–140.

Athanasiou L V., Kantere MC, Kyriakis CS, Pardali D, Adamama Moraitou K, Polizopoulou ZS. Evaluation of a direct immunofluorescent assay and/or conjunctival cytology for detection of canine distemper virus antigen. *Viral Immunol* 2018; 31: 272–275.

Baiker K, Matiasek K. SNE is not NLE is not GME. *Vet Pathol* 2013; 50: 366.

Bajer A, Rodo A, Bednarska M, Mierzejewska E, Welc-Faleciak R. *Babesia canis* and tick-borne encephalitis virus (TBEV) co-infection in a sled dog. *Ann Agric Environ Med* 2013; 20: 426–430.

Banai M, Itin R, Bardenstein S. Perspectives and outcomes of the activity of a reference laboratory for brucellosis. *Front Vet Sci* 2018; 4: 234.

Barber JS, Trees AJ. Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. *Vet Rec* 1996; 139: 439–443.

Barber JS, Payne-Johnson CE, Trees AJ. Distribution of *Neospora caninum* within the central nervous system and other tissues of six dogs with clinical neosporosis.

J Small Anim Pract 1996; 37: 568–574.

Barber R, Li Q, Diniz P, Porter B, Breitschwerdt E, Claiborne M, Birkenheuer A, Levine JM, Levine GJ, Chandler K, Kenny P, Nghiem P, Wei S, Greene CE, Kent M, Platt SR, Greer K, Schatzberg SJ. Evaluation of brain tissue or cerebrospinal fluid with broadly reactive polymerase chain reaction for *Ehrlichia*, *Anaplasma*, spotted fever group *Rickettsia*, *Bartonella*, and *Borrelia* species in canine neurological diseases (109 cases). *J Vet Intern Med* 2010; 24: 372–378.

Barber RM, Schatzberg SJ, Corneveaux JJ, Allen AN, Porter BF, Pruzin JJ, Platt SR, Kent M, Huentelman MJ. Identification of risk loci for necrotizing meningoencephalitis in Pug dogs. *J Hered* 2011; 102: 40–46.

Barber RM, Porter BF, Li Q, May M, Claiborne MK, Allison AB, Howerth EW, Butler A, Wei S, Levine JM, Levine GJ, Brown DR, Schatzberg SJ. Broadly reactive polymerase chain reaction for pathogen detection in canine granulomatous meningoencephalomyelitis and necrotizing meningoencephalitis. *J Vet Intern Med* 2012; 26: 962–968.

Barnard RA, Wittenburg LA, Amaravadi RK, Daniel L, Thorburn A, Thamm DH, Barnard RA, Wittenburg LA, Amaravadi RK, Gustafson L, Thorburn A, Thamm DH. Phase I clinical trial and pharmacodynamic evaluation of combination hydroxychloroquine and doxorubicin treatment in pet dogs treated for spontaneously occurring lymphoma. *landes Biosci* 2014; 10: 1415–1425.

Barnes HL, Chrisman CL, Farina L, Detrisac CJ. Clinical evaluation of rabies virus meningoencephalomyelitis in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 2003; 39: 547–550.

Barnoon I, Shamir MH, Aroch I, Bdolah-Abram T, Srugo I, Konstantin L, Chai O. Retrospective evaluation of combined mycophenolate mofetil and prednisone treatment for meningoencephalomyelitis of unknown etiology in dogs: 25 cases (2005-2011). *J Vet Emerg Crit Care* 2016; 26: 116–124.

Bartner LR, Mcgrath S, Drury A, Chen A V, Morris A, Brewer M, Hall M, Lappin MR. Testing for *Bartonella* ssp. DNA in cerebrospinal fluid of dogs with inflammatory central nervous system disease. *J Vet Intern Med* 2018; 32: 1983–1988.

Bateman SW, Parent JM. Clinical findings, treatment, and outcome of dogs with status epilepticus or cluster seizures: 156 cases (1990-1995). *J Am Vet Med Assoc* 1999; 215: 1463–1468.

Bathen-Noethen A, Carlson R, Menzel D, Mischke R, Tipold A. Concentration of acute-phase proteins in dogs with steroid-responsive meningitis arteriitis. *J Vet Intern Med* 2008a; 22: 1149–1156.

Bathen-Noethen A, Stein VM, Puff C, Baumgärtner W, Tipold A. Magnetic resonance imaging findings in acute canine distemper virus infection. *J Small Anim Pract* 2008b; 49: 460–467.

Baumgärtner W, Alldinger S. The pathogenesis of canine distemper virus induced demyelination. In: *Experimental Models of Multiple Sclerosis*, pp. 871–887.

Baumgärtner WK, Krakowka S, Koestner A, Evermann J. Acute encephalitis and hydrocephalus in dogs caused by Canine Parainfluenza Virus. *Vet Pathol* 1982; 19: 79–92.

Beckmann K, Carrera I, Steffen F, Golini L, Kircher PR, Schneider U, Bley CR. A newly designed radiation therapy protocol in combination with prednisolone as treatment for meningoencephalitis of unknown origin in dogs: a prospective pilot study introducing magnetic resonance spectroscopy as monitor tool. *Acta Vet Scand* 2015; 57: 4.

Beckmann K, Oevermann A, Golini L, Steffen F, Kircher PR, Carrera I. MRI findings in a case of canine tick born meningoencephalomyelitis. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2014; 156: 395–399.

Beckmann K, Steffen F, Ohlerth S, Kircher PR, Carrera I. Three tesla magnetic resonance imaging findings in 12 cases of canine central European tick-borne meningoencephalomyelitis. *Vet Radiol Ultrasound* 2016; 57: 41–48.

Behr S, Cauzinille L. Aseptic suppurative meningitis in juvenile Boxer dogs: Retrospective study of 12 cases. *J Am Anim Hosp Assoc* 2006; 42: 277–282.

Beineke A, Puff C, Seehusen F, Baumgärtner W. Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper. *Vet Immunol Immunopathol* 2009; 127: 1–18.

Bender A, Schulte-Altendorneburg G, Walther EU, Pfister HW. Severe tick borne encephalitis with simultaneous brain stem, bithalamic, and spinal cord involvement documented by MRI. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005; 76: 135–137.

Biedermann E, Tipold A, Flegel T. Relapses in dogs with steroid-responsive meningitis-arteritis. *J Small Anim Pract* 2016; 57: 91–95.

Boeri EJ, Wanke MM, Madariaga MJ, Teijeiro ML, Elena SA, Trangoni MD. Comparison of four polymerase chain reaction assays for the detection of *Brucella* spp. in clinical samples from dogs. *Vet World* 2018; 11: 201–208.

Bolt G, Monrad J, Koch J, Jensen AL. Canine angiostrongylosis: a review. *Vet Rec* 1994; 135: 447–452.

Bosco-Lauth AM, Bowen RA. West Nile Virus: Veterinary health and vaccine development. *J Med Entomol* 2019; 1–4.

Braund KG. Granulomatous meningoencephalomyelitis. *J Am Vet Med Assoc* 1985; 186: 138–141.

Breitschwerdt EB, Sontakke S, Hopkins S. Neurological manifestations of Bartonellosis in immunocompetent patients: A composite of reports from 2005–2012. *J Neuroparasitology* 2012; 3: 1–15.

Breitschwerdt EB, Blann KR, Stebbins ME, Muñana KR, Davidson MG, Jackson HA, Willard MD. Clinicopathological abnormalities and treatment response in 24

dogs seroreactive to *Bartonella vinsonii (berkhoffii)* antigens. *J Am Anim Hosp Assoc* 2004; 40: 92–101.

Brower A, Okwumabua O, Massengill C, Muenks Q, Vanderloo P, Duster M, Homb K, Kurth K. Investigation of the spread of *Brucella canis* via the U. S. interstate dog trade. *Int J Infect Dis* 2007; 11: 454–458.

Brown JR, Bharucha T, Breuer J. Encephalitis diagnosis using metagenomics: application of next generation sequencing for undiagnosed cases. *J Infect* 2018; 76: 225–240.

Buracker L, Robertson J. *Westi Health E-Book, White Shaker Disease Syndrome, Chapter Nervous System*. 85–89.

Buragohain M, Goswami S, Kalita DJ. Clinicopathological findings of canine distemper virus infection in dogs. *J Entomol Zool Stud* 2017; 5: 1817–1819.

Burkert BA, Kerwin SC, Hosgood GL, Pechman RD, Fontenelle JP. Signalment and clinical features of diskospondylitis in dogs: 513 cases (1980-2001). *J Am Vet Med Assoc* 2005; 227: 268–275.

Cadmus SIB, Adesokan HK, Ajala OO, Odetokun WO, Perrett LL, Stack JA. Seroprevalence of *Brucella abortus* and *B. canis* in household dogs in southwestern Nigeria: a preliminary report. *J S Afr Vet Assoc* 2011; 82: 56–57.

Caines D, Sinclair M, Valverde A, Dyson D, Gaitero L, Wood D. Comparison of isoflurane and propofol for maintenance of anesthesia in dogs with intracranial disease undergoing magnetic resonance imaging. *Vet Anaesth Analg* 2014; 41: 468–479.

Callanan JJ, Mooney CT, Mulcahy G, Fatzer R, Vandeveld M, Ehrensperger F, Mcelroy M, Toolan D, Raleigh P. A novel nonsuppurative meningoencephalitis in young Greyhounds in Ireland. *Vet Pathol* 2002; 39: 56–65.

Cantile C, Chianini F, Arispici M, Fatzer R. Necrotizing meningoencephalitis associated with cortical hippocampal hamartia in a Pekingese dog. *Vet Pathol* 2001; 38: 119–122.

Carmichael LE. Abortion in 200 beagles. *J Am Vet Med Assoc* 1966; 149: 1126.

Carmichael LE, Zoha SJ, Flores-Castro R. Problems in the serodiagnosis of canine brucellosis: dog responses to cell wall and internal antigens of *Brucella canis*. *Dev Biol Stand* 1984; 56: 371–383.

Carmichael LE, George LW. Canine brucellosis: newer knowledge. *Dev Biol Stand* 1976; 31: 237–250.

Carmichael LE, Joubert JC. Transmission of *Brucella canis* by contact exposure. *Cornell Vet* 1988; 78: 63–73.

Carmichael LE, Kenney RM. Canine brucellosis: the clinical disease, pathogenesis, and immune response. *J Am Vet Med Assoc* 1970; 156: 1726–1734.

Carmichael LE, Shin SJ. Canine brucellosis: a diagnostician's dilemma. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)* 1996; 11: 161–165.

Chacón-Díaz C, Altamirano-Silva P, González-Espinoza G, Medina M, Alfaro-Alarcón A, Bouza-Mora L, Jiménez-Rojas C, Wong M, Barquero-Calvo E, Rojas N, Guzmán-verri C, Moreno E, Chaves-Olarte E. *Brucella canis* is an intracellular pathogen that induces a lower proinflammatory response than smooth zoonotic counterparts. *Am Soc Microbiol Infect Immun* 2015; 83: 4861–4870.

Chapman PS, Boag AK, Guitian J, Boswood A. *Angiostrongylus vasorum* infection in 23 dogs (1999-2002). *J Small Anim Pract* 2004; 45: 435–440.

Charalambous M, Danourdis T, Hatzis A, Polizopoulou Z. An update on meningoencephalomyelitis of unknown aetiology in dogs. *J Hell Vet Med Soc* 2013; 64: 131–144.

Chaves RO, Beckmann DV, Feranti, João Pedro Scussel Copat B, Corrêa, Luis Felipe Dutra Fabretti AK, Curvello de Mendonça Müller D, Mazzanti A. Syndrome tremor responsive to corticosteroids in dogs. *Acta Sci Vet* 2015; 43: 90.

Chen C-C, Yang S-F, Lee S-W, Yang H-L, Hsieh F-Y, Hu K-C, Liang S-L. Discospondylitis in a 7-month-old french bulldog: A case report. *Taiwan Vet J* 2019; 45: 91–96.

Cherubini GB, Platt SR, Anderson TJ, Rusbridge C, Lorenzo V, Mantis P, Cappello R. Characteristics of magnetic resonance images of granulomatous meningoencephalomyelitis in 11 dogs. *Vet Rec* 2006; 159: 110–115.

Chinyoka S, Dhliwayo S, Marabini L, Dutlow K, Matope G, Pfukenyi DM. Serological survey of *Brucella canis* in dogs in urban Harare and selected rural communities in Zimbabwe. *J S Afr Vet Assoc* 2014; 85: 1–5.

Chomel B. Tick-borne infections in dogs - An emerging infectious threat. *Vet Parasitol* 2011; 179: 294–301.

Cizinauskas S, Jaggy A, Tipold A. Long-term treatment of dogs with steroid-responsive meningitis-arteritis: clinical, laboratory and therapeutic results. *J Small Anim Pract* 2000; 41: 295–301.

Coates JR, Jeffery ND. Perspectives on meningoencephalomyelitis of unknown origin. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract* 2014; 44: 1157–1185.

Coates JR, Barone G, Dewey CW, Vitale CL, Holloway-Azene NM, Sessions JK. Procarbazine as adjunctive therapy for treatment of dogs with presumptive antemortem diagnosis of Granulomatous Meningoencephalomyelitis: 21 Cases (1998–2004). *J Vet Intern Med* 2007; 21: 100–106.

Coelho AM, Cherubini G, Stefani A De, Negrin A, Bersan E. Serological prevalence of toxoplasmosis and neosporosis in dogs diagnosed with suspected meningoencephalitis in the UK. *J Small Anim* 2018; 60: 44–50.

Conboy GA. Canine angiostrongylosis: The French heartworm: An emerging threat in North America. *Vet Parasitol* 2011; 176: 382–389.

Cooper JJ, Schatzberg SJ, Vernau KM, Summers BA, Porter BF, Siso S, Young BD, Levine JM. Necrotizing meningoencephalitis in atypical dog breeds: A case series and literature review. *J Vet Intern Med* 2014; 28: 198–203.

Corbel MMJ. Brucellosis in humans and animals Brucellosis in humans and animals. *WHO Libr Cat Publ Data* 2006; 1–88.

Cordy DR, Holliday TA. A necrotizing meningoencephalitis of pug dogs. *Vet Parasitol* 1989; 26: 191–194.

Cornelis I, Van Ham L, Gielen I, De Decker S, Bhattia, Bhatti SFM. Clinical presentation, diagnostic findings, prognostic factors, treatment and outcome in dogs with meningoencephalomyelitis of unknown origin: A review. *Vet J* 2018; 244: 37–44.

Cornelis I, Volk HA, Van Ham L, De Decker S. Prognostic factors for 1-week survival in dogs diagnosed with meningoencephalitis of unknown aetiology. *Vet J* 2016a; 214: 91–95.

Cornelis I, Volk HA, Decker S De. Clinical presentation, diagnostic findings and long-term survival in large breed dogs with meningoencephalitis of unknown aetiology. *Vet Rec* 2016b; 179: 147.

Corrente M, Franchini D, Decaro N, Greco G, D'Abramo M, Greco MF, Latronico F, Crovace A, Martella V. Detection of *Brucella canis* in a dog in Italy. *New Microbiol* 2010; 33: 337–341.

Cosford KL. *Brucella canis*: An update on research and clinical management. *Can Vet J* 2018; 59: 74–81.

Da Costa Oliveira V, Boechat VC, Mendes AAV, De Fátima Madeira M, Ferreira LC, Figueiredo FB, Campos MP, Das Chagas De Carvalho Rodrigues F, De Vasconcellos Carvalhaes De Oliveira R, Amendoeira MRR, Menezes RC. Occurrence of *Leishmania infantum* in the central nervous system of naturally infected dogs: Parasite load, viability, co-infections and histological alterations. *PLoS One* 2017; 12: 1–15.

Csángó PA, Blakstad E, Kirtz GC, Pedersen JE, Czettel B. Tick-borne Encephalitis in Southern Norway. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 533–534.

Cury MC, Lima WS, Guimarães MP, Carvalho MG. Hematological and coagulation profiles in dogs experimentally infected with *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866). *Vet Parasitol* 2002; 104: 139–149.

Dahlbom M, Johnsson M, Myllys V, Taponen J, Andersson M. Seroprevalence of canine herpesvirus-1 and *Brucella canis* in Finnish breeding kennels with and without reproductive problems. *Reprod Domest Anim* 2009; 44: 128–131.

Dallman MJ, Dew TL, Tobias L, Doss R. Disseminated aspergillosis in a dog with

diskospondylitis and neurologic deficits. *J Am Vet Med Assoc* 1992; 200: 511–3.

Dalmau J, Armangué T, Planagumà J, Radosevic M, Mannara F, Leypoldt F, Geis C, Lancaster E, Titulaer MJ, Rosenfeld MR, Graus F. An update on anti-NMDA receptor encephalitis for neurologists and psychiatrists: mechanisms and models. *Lancet Neurol* 2019;

Daly P, Drudy D, Chalmers WSK, Baxendale W, Fanning S, Callanan JJ. Greyhound meningoencephalitis: PCR-based detection methods highlight an absence of the most likely primary inducing agents. *Vet Microbiol* 2006; 118: 189–200.

Denk D, Matiasek K, Just FT, Hermanns W, Baiker K, Herbach N, Steinberg T, Fischer A. Disseminated angiostrongylosis with fatal cerebral haemorrhages in two dogs in Germany: A clinical case study. *Vet Parasitol* 2009; 160: 100–108.

Dennis MM, Pearce LK, Norrdin RW, Ehrhart EJ. Bacterial meningoencephalitis and ventriculitis due to migrating plant foreign bodies in three dogs. *Vet Pathol* 2005; 42: 840–844.

Dennis R. MRI of the brain: inflammatory disease. In: *Veterinary Magnetic Resonance Imaging Advanced Course, Bologna 2014*, pp. 1–19.

Dentinger CM, Jacob K, Lee L V., Mendez HA, Chotikanatis K, McDonough PL, Chico DM, De BK, Traxler RM, Campagnolo ER, Schmitt D, Guerra MA, Slavinski SA. Human *Brucella canis* infection and subsequent laboratory exposures associated with a puppy, New York City, 2012. *Zoonoses Public Health* 2015; 62: 407–414.

Dewey CW, da Costa RC. *Practical guide to canine and feline neurology 3rd edition, 2015, Chapter 5*. John Wiley & Sons, 61–65.

Di D, Cui B, Wang H, Zhao H, Piao D, Tian L, Tian G. Genetic polymorphism characteristics of *Brucella canis* isolated in China. *PLoS One* 2014; 9: 1–7.

Donoso Mantke O, Escadafal C, Niedrig M, Pfeffer M. Tick-borne encephalitis in Europe, 2007 to 2009. *Eurosurveillance* 2011; 16: 1–12.

Dörrbecker B, Dobler G, Spiegel M, Hufert FT. Tick-borne encephalitis virus and the immune response of the mammalian host. *Travel Med Infect Dis* 2010; 8: 213–222.

Dow SW, LeCouteur R a, Henik R a, Jones RL, Poss ML. Central nervous system infection associated with anaerobic bacteria in two dogs and two cats. *J Vet Intern Med* 1988; 2: 171–176.

Doyle C, Solano-Gallego L. Cytologic interpretation of canine cerebrospinal fluid samples with low total nucleated cell concentration, with and without blood contamination. *Vet Clin Pathol* 2009; 38: 392–396.

Dubey JP. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol* 2003; 41: 1–16.

Dubey JP, Howe DK, Furr M, Saville WJ, Marsh AE, Reed SM, Grigg ME. An update on *Sarcocystis neurona* infections in animals and Equine Protozoal Myeloencephalitis (EPM). *Vet Parasitol* 2015; 209: 1–42.

Dubey JP, Lindsay DS. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol* 1996; 67: 1–59.

Dubey JP, Higgins RT, Smith JH, O'Toole TD. *Neospora caninum* encephalomyelitis in a British dog, Vol. 126. 193–194.

Dubey JP, Chapman JL, Rosenthal BM, Mense M, Schueler RL. Clinical *Sarcocystis neurona*, *Sarcocystis canis*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* infections in dogs. *Vet Parasitol* 2006; 137: 36–49.

Dubey JP, Dorough KR, Jenkins MC, Liddell S, Speer CA, Kwok OCH, Shen SK. Canine neosporosis: Clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. *Int J Parasitol* 1998; 28: 1293–1304.

Dubey JP, Carpenter JL, Topper MJ, Uggla A. Fatal toxoplasmosis in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 1989; 26: 659–664.

Eberts MD, Vissotto de Paiva Diniz PP, Beall MJ, Stillman BA, Chandrashekar R, Breitschwerdt EB. Typical and atypical manifestations of *Anaplasma phagocytophilum* infection in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2011; 47: 86–94.

Egloff S, Schneeberger M, Brawand SG, Krudewig C, Schmitt S, Reichler I, Peterhans S. *Brucella canis* infection in a young dog with epididymitis and orchitis. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2018; 160: 743–748.

Elia G, Decaro N, Martella V, Cirone F, Lucente MS, Lorusso E, Di Trani L, Buonavoglia C. Detection of canine distemper virus in dogs by real-time RT-PCR. *J Virol Methods* 2006; 136: 171–176.

Evans J, Levesque D, De Lahunta A, Jensen HE. Intracranial fusariosis: A novel cause of fungal meningoencephalitis in a dog. *Vet Pathol* 2004; 41: 510–514.

Fatjó J, Bowen J, García E, Calvo P, Rueda S, Amblás S, Lanza JF. Epidemiology of dog and cat abandonment in Spain (2008–2013). *Animals* 2015; 5: 426–441.

Fischer A, Mahaffey MB, Oliver JE. Fluoroscopically guided percutaneous disk aspiration in 10 Dogs with discospondylitis. *J Vet Intern Med* 1997; 11: 284–287.

Flegel T, Boettcher IC, Matiasek K, Oevermann A, Doherr MG, Oechtering G, Henke D. Comparison of oral administration of lomustine and prednisolone or prednisolone alone as treatment for granulomatous or necrotizing encephalitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2011; 238: 337–345.

Flegel T, Henke D, Boettcher IC, Aupperle H, Oechtering G, Matiasek K. Magnetic resonance imaging findings in histologically confirmed Pug dog encephalitis. *Vet Radiol Ultrasound* 2008; 49: 419–424.

Flegel T, Oevermann A, Oechtering G, Matiasek K. Diagnostic yield and adverse effects of MRI-guided free-hand brain biopsies through a mini-burr hole in dogs with encephalitis. *J Vet Intern Med* 2012; 26: 969–976.

Flores-Castro R, Suarez F, Ramirez-Pfeiffer C, Carmichael LE. Canine brucellosis: Bacteriological and serological investigation of naturally infected dogs in Mexico City. *J Clin Microbiol* 1977; 6: 591–597.

Forbes LB. *Brucella abortus* infection in 14 farm dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1990; 196: 911–916.

Forward AK, Plessas IN, Guilherme S, De Decker S. Retrospective evaluation of the clinical presentation, magnetic resonance imaging findings, and outcome of dogs diagnosed with intracranial empyema (2008–2015): 9 cases. *J Vet Emerg Crit Care* 2019; 29: 431–438.

Franc KA, Krecek RC, Häsler BN, Arenas-Gamboa AM. Brucellosis remains a neglected disease in the developing world: A call for interdisciplinary action. *BMC Public Health* 2018; 18: 1–9.

Fuchs C, Zander S, Meyer-Lindenberg A, Tipold A. Steroid-responsive meningitis-arteritis in dogs: computed tomography findings. In: *European Society of Veterinary Neurology 14th Annual Meeting, 2000*.

Galińska EM, Zagórski J. Brucellosis in humans – etiology, diagnostics, clinical forms. *Ann Agric Environ Med* 2013; 20: 233–238.

García-Bocanegra I, Jurado-Tarifa E, Cano-Terriza D, Martínez R, Pérez-Marín JE, Lecollinet S. Exposure to West Nile virus and tick-borne encephalitis virus in dogs in Spain. *Transbound Emerg Dis* 2018; 65: 765–772.

Gardner D, Reichel M. No evidence of *Brucella canis* infection in New Zealand dogs. *Surveillance* 1997; 24: 17–18.

Garosi L, Dawson A, Couturier J, Matiasek L, de Stefani A, Davies E, Jeffery N, Smith P. Necrotizing cerebellitis and cerebellar atrophy caused by *Neospora caninum* infection: Magnetic resonance imaging and clinicopathologic findings in seven dogs. *J Vet Intern Med* 2010; 24: 571–578.

Garosi LS, Platt SR, McConnell JF, Wray JD, Smith KC. Intracranial haemorrhage associated with *Angiostrongylus vasorum* infection in three dogs. *J Small Anim Pract* 2005; 46: 93–99.

Gendron K, Doherr MG, Gavin P, Lang J. Magnetic resonance imaging characterization of vertebral endplate changes in the dog. *Vet Radiol Ultrasound* 2012; 53: 50–56.

George L, Carmichael L. Antisperm responses in male dogs with chronic *Brucella canis* infections. *Am J Vet Res* 1984; 45: 274–281.

Gerber J, Johnson J, Scott M, Madhusudhan K. Fatal Meningitis and Encephalitis Due to *Bartonella henselae* Bacteria. *J Forensic Sci* 2002; 47: 640–644.

Gnirs K. Ciclosporin treatment of suspected granulomatous meningoencephalomyelitis in three dogs. *J Small Anim Pract* 2006; 47: 201–206.

Gonzalo-Orden JM, Altónaga JR, Orden MA, Gonzalo JM. Magnetic resonance, computed tomographic and radiologic findings in a dog with discospondylitis. *Vet Radiol Ultrasound* 2000; 41: 142–144.

Granger N, Smith PM, Jeffery ND. Clinical findings and treatment of non-infectious meningoencephalomyelitis in dogs: A systematic review of 457 published cases from 1962 to 2008. *Vet J* 2010; 184: 290–297.

Gredal H, Willesen JL, Jensen HE, Nielsen OL, Kristensen AT, Koch J, Kirk RK, Pors SE, Skerritt GC, Berendt M. Acute neurological signs as the predominant clinical manifestation in four dogs with *Angiostrongylus vasorum* infections in Denmark. *Acta Vet Scand* 2011; 53: 43.

Greene CE, Carmichael LE. Canine brucellosis. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat 4th Edition*, pp. 398–410.

Greene SA. Anesthesia for patients with neurologic disease. *Top Companion Anim Med* 2010; 25: 83–86.

Greer KA, Daly P, Murphy KE, Callanan JJ. Analysis of gene expression in brain tissue from Greyhounds with meningoencephalitis. *Am J Vet Res* 2010a; 71: 547–554.

Greer KA, Schatzberg SJ, Porter BF, Jones KA, Famula TR, Murphy KE. Heritability and transmission analysis of necrotizing meningoencephalitis in the Pug. *Res Vet Sci* 2009; 86: 438–442.

Greer KA, Wong AK, Liu H, Famula TR, Pedersen NC, Ruhe A, Wallace M, Neff MW. Necrotizing meningoencephalitis of Pug Dogs associates with dog leukocyte antigen class II and resembles acute variant forms of multiple sclerosis. *Tissue Antigens* 2010b; 76: 110–118.

Gregory CR, Stewart A, Sturges B, DeManville T, Cannon A, Ortega T, Harb M, Morris RE. Leflunomide effectively treats naturally occurring immune-mediated and inflammatory diseases of dogs that are unresponsive to conventional therapy. *Transplant Proc* 1998; 30: 4143–4148.

Gresikova M, Weidnerova K, Nosek J, Rajcani J. Experimental pathogenicity of tick-borne encephalitis virus for dogs [1972]. *Acta Virol* 1972; 16: 336–340.

Griffin JF, Levine JM, Levine GJ, Fosgate GT. Meningomyelitis in dogs: A retrospective review of 28 cases (1999 to 2007). *J Small Anim Pract* 2008; 49: 509–517.

Gyuranecz M, Szeredi L, Rónai Z, Dénes B, Dencso L, Dán Á, Pálmai N, Hauser Z, Lami E, Makrai L, Erdélyi K, Jánosi S. Detection of *Brucella canis*-induced reproductive diseases in a Kennel. *J Vet Diagnostic Investig* 2011; 23: 143–147.

Han J-II, Chang D-WW, Na K-JJ. A multiplex quantitative real-time polymerase chain reaction panel for detecting neurologic pathogens in dogs with meningoencephalitis. *J Vet Sci* 2015; 16: 341–347.

Hazell KLA, Child G, Chin G. Clinical characteristics and outcome after treatment of shaker dog syndrome in 90 dogs. *Aust Vet Pract* 2011; 41: 167–171.

Headley SA, Oliveira TES, Pereira AHT, Moreira JR, Michelazzo MMZ, Pires BG, Marutani VHB, Xavier AAC, Di Santis GW, Garcia JL, Alfieri AA. Canine morbillivirus (canine distemper virus) with concomitant canine adenovirus, canine parvovirus-2, and *Neospora caninum* in puppies: a retrospective immunohistochemical study. *Sci Rep* 2018; 8: 1–16.

Headley SA, Pretto-Giordano LG, Nóbrega DF, Altrão CS, Villas-Boas LA, Alfieri AA, Bracarense APFRL. Pyogenic Ventriculitis and Ventricular Empyema associated with *Staphylococcus pseudintermedius* in a Puppy. *J Comp Pathol* 2017; 156: 152–157.

Heesen S, Wendland B, Rach S, Rickert D. Hundeimporte aus Süd- und Osteuropa - Hundehandel unter dem Deckmantel des Tierschutzes? -. *Merkblatt Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz eV* 2015; 2: 1–21.

Helm JR, Morgan ER, Jackson MW, Wotton P, Bell R. Canine angiostrongylosis: an emerging disease in Europe. *J Vet Emerg Crit Care* 2010; 20: 98–109.

Henderson RA, Hoerlein BF, Kramer TT, Meyer ME. Discospondylitis in three dogs infected with *Brucella canis*. *J Am Vet Med Assoc* 1974; 165: 451–455.

Henke D, Vandeveld M, Gorgas D, Lang J, Oevermann A. Eosinophilic granulomatous meningoencephalitis in 2 young belgian tervueren shepherd dogs. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 206–210.

Hensel ME, Negrón M, Arenas-Gamboa AM. Brucellosis in dogs and public health risk. *Emerg Infect Dis* 2018; 24: 1401–1406.

Hicks JA, Kennedy MJ, Patterson EE. Perianesthetic complications in dogs undergoing magnetic resonance imaging of the brain for suspected intracranial disease. *J Am Vet Med Assoc* 2013; 243: 1310–1315.

Higgins RJ, Dickinson PJ, Kube SA, Moore PF, Couto SS, Vernau KM, Sturges BK, Lecouteur RA. Necrotizing meningoencephalitis in five Chihuahua dogs. *Vet Pathol* 2008; 45: 336–346.

Hofer E, Bagó Z, Revilla-fernández S, Melzer F, Tomaso H, López-goñi I, Fasching G, Schmoll F. First detection of *Brucella canis* infections in a breeding kennel in Austria. *New Microbiol* 2012; 35: 507–510.

Hollett RB. Canine brucellosis: Outbreaks and compliance. *Theriogenology* 2006; 66: 575–587.

Holst BBS, Löfqvist K, Ernholm L, Eld K, Cedersmyg M, Hallgren G. The first case of *Brucella canis* in Sweden: Background, case report and recommendations

from a northern European perspective. *Acta Vet Scand* 2012; 54: 18.

Hoon-Hanks LLL, Tyler KLL, Owen C, Stenglein MDD, McGrath S, Tyler KLL, Owen C, Stenglein MDD. Metagenomic investigation of idiopathic meningoencephalomyelitis in dogs. *J Vet Intern Med* 2017; 32: 1–7.

Hughes K, Stieger-Vanegas S, Valentine B. Hemorrhage in the central canal of the cervical spinal cord in a coonhound diagnosed with canine juvenile polyarteritis (steroid responsive meningitis-arteritis). *Can Vet J* 2015; 56: 567–570.

Ishigaki K, Noya M, Kagawa Y, Ike K, Orima H, Imai S. Detection of *Nesopora caninum*-Specific DNA from cerebrospinal fluid by polymerase chain reaction in a dog with confirmed neosporosis. *J Vet Med Sci* 2012; 74: 1051–1055.

Iwaniak W, Szulowski K. Brucellosis — the current situation in Poland. *Emergent Dis Biosaf* 2015; 1: 20–26.

Jäderlund KH, Bergström K, Egenvall A, Hedhammar Å. Cerebrospinal fluid PCR and antibody concentrations against *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi sensu lato* in dogs with neurological signs. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 669–672.

Jaenson TGT, Hjertqvist M, Bergström T, Lundkvist Å. Why is tick-borne encephalitis increasing? A review of the key factors causing the increasing incidence of human TBE in Sweden. *Parasites and Vectors* 2012; 5: 1–13.

Jager MC, Sloma EA, Shelton M, Miller AD. Naturally acquired Canine Herpesvirus-associated meningoencephalitis. *Vet Pathol* 2017; 54: 820–827.

James DR, Golovsky G, Thornton JM, Goodchild L, Havlicek M, Martin P, Krockenberger MB, Marriott DJE, Ahuja V, Malik R, Mor SM. Clinical management of *Brucella suis* infection in dogs and implications for public health. *Aust Vet J* 2017; 95: 19–25.

Jung D-I, Lee H-C, Ha J, Jung H-W, Jeon J-H, Moon J-H, Lee J-H, Kim N-H, Sur J-H, Kang B-T, Cho K-W. Unsuccessful cyclosporine plus prednisolone therapy for autoimmune meningoencephalitis in three dogs. *J Vet Med Sci* 2013; 75: 1661–1665.

Jung D-I, Kang B-T, Park C, Yoo J-H, Gu S-H, Jeon H-W, Kim J-W, Heo R-Y, Sung H-J, Eom K-D, Lee J-H, Woo E-J, Park H-M. A comparison of combination therapy (cyclosporine plus prednisolone) with sole prednisolone therapy in 7 dogs with necrotizing meningoencephalitis. *J Vet Med Sci* 2007; 69: 1303–1306.

Kaden R, Ågren J, Båverud V, Hallgren G, Ferrari S, Börjesson J, Lindberg M, Bäckman S, Wahab T. Brucellosis outbreak in a Swedish kennel in 2013: Determination of genetic markers for source tracing. *Vet Microbiol* 2014; 174: 523–530.

Kaewmongkol G, Maneesaay P, Suwanna N, Tiraphut B, Krajarngjang T, Chouybumrung A, Kaewmongkol S, Sirinarumitr T, Jittapalapong S, Fenwick SG. First detection of *Ehrlichia canis* in cerebrospinal fluid from a

nonthrombocytopenic dog with meningoencephalitis by broad-range PCR. *J Vet Intern Med* 2016; 30: 255–259.

Kang S-I, Lee S-E, Kim J-Y, Lee K, Kim J-W, Lee H-K, Sung S-R, Heo Y-R, Jung SC, Her M. A new *Brucella canis* species-specific PCR assay for the diagnosis of canine brucellosis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2014; 37: 237–241.

Kauffman LK, Bjork JK, Gallup JM, Boggiatto PM, Bellaire BH, Petersen CA. Early detection of *Brucella canis* via quantitative polymerase chain reaction analysis. *Zoonoses Public Health* 2014; 61: 48–54.

Keid LB, Soares RM, Vasconcellos SA, Chiebao DP, Salgado VR, Megid J, Richtzenhain LJ. A polymerase chain reaction for detection of *Brucella canis* in vaginal swabs of naturally infected bitches. *Theriogenology* 2007a; 68: 1260–1270.

Keid LB, Soares RM, Vieira NR, Megid J, Salgado VR, Vasconcellos SA, da Costa M, Gregori F, Richtzenhain LJ. Diagnosis of canine brucellosis: Comparison between serological and microbiological tests and a PCR based on primers to 16S-23S rDNA interspacer. *Vet Res Commun* 2007b; 31: 951–965.

Keid LB, Soares RM, Vasconcellos SA, Chiebao DP, Megid J, Salgado VR, Richtzenhain LJ. A polymerase chain reaction for the detection of *Brucella canis* in semen of naturally infected dogs. *Theriogenology* 2007c; 67: 1203–1210.

Keid LB, Soares RM, Vasconcellos SA, Megid J, Salgado VR, Richtzenhain LJ. Comparison of agar gel immunodiffusion test, rapid slide agglutination test, microbiological culture and PCR for the diagnosis of canine brucellosis. *Res Vet Sci* 2009; 86: 22–26.

Keid LB, Chiebao DP, Batinga MCA, Faita T, Diniz JA, Oliveira TMF de S, Ferreira HL, Soares RM. *Brucella canis* infection in dogs from commercial breeding kennels in Brazil. *Transbound Emerg Dis* 2017; 64: 691–697.

Kerl ME. Update on canine and feline fungal diseases. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2003; 33: 721–747.

Kerwin SC, Lewis DD, Hribernik TN, Partington B, Hosgood G, Eilts BE. Diskospondylitis associated with *Brucella canis* infection in dogs: 14 cases (1980–1991). *J Am Vet Med Assoc* 1992; 201: 1253–1257.

Khan MY, Dizon M, Kiel FW. Comparative in vitro activities of ofloxacin, difloxacin, ciprofloxacin, and other selected antimicrobial agents against *Brucella melitensis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 1409–1410.

Kimura M, Imaoka K, Suzuki M, Kamiyama T, Yamada A. Evaluation of a Microplate Agglutination Test (MAT) for Serological Diagnosis of Canine Brucellosis. *J Vet Med Sci* 2008; 70: 707–709.

Kirberger RM. Early diagnostic imaging findings in juvenile dogs with presumed diskospondylitis: 10 cases (2008–2014). *J Am Vet Med Assoc* 2016; 249: 539–546.

Kitagawa M, Okada M, Kanayama K, Sato T, Sakai T. A canine case of necrotizing

meningoencephalitis for long-term observation: clinical and MRI findings. *J Vet Med Sci* 2007; 69: 1195–1198.

Kitagawa M, Okada M, Watari T, Sato T, Kanayama K, Sakai T. Ocular granulomatous meningoencephalomyelitis in a dog: Magnetic resonance images and clinical findings. *J Vet Med Sci* 2009; 71: 233–237.

Klaus C, Beer M, Saier R, Schubert H, Bischoff S, Süss J. Evaluation of serological tests for detecting tick-borne encephalitis virus (TBEV) antibodies in animals. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2011; 124: 443–449.

Klimes J, Juricová Z, Literák I, Schánilec P, Trachta e Silva E. Prevalence of antibodies to tickborne encephalitis and West Nile flaviviruses and the clinical signs of tickborne encephalitis in dogs in the Czech Republic. *Vet Rec* 2001; 148: 17–20.

Knowler C, Wheeler SJ. *Neospora caninum* infection in three Dogs. *J Small Anim Pract* 1988; 36: 172–177.

Koblik PD, LeCouteur RA, Higgins RJ, Bollen AW, Vernau KM, Kortz GD, Ilkiw JE. CT-guided brain biopsy using a modified Pelorus Mark III stereotactic system: experience with 50 dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 1999; 40: 434–440.

Koch J, Willesen JL. Canine pulmonary angiostrongylosis: An update. *Vet J* 2009; 179: 348–359.

Kohn B, Silaghi C, Galke D, Arndt G, Pfister K. Infections with *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in Germany. *Res Vet Sci* 2011; 91: 71–76.

Kornegay JN, Barber DL. Diskospondylitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1980; 177: 337–341.

Kotnik T, Suhadolc S, Juntos P, Gombac M, Toplak I, Hostnik P, Malovrh T, Barlic-Maganja D, Grom J. Case report of a pseudorabies (Aujeszky's disease) in a bitch. *Slov Vet Res* 2006; 43: 143–145.

von Kruedener R. Outbreak of a *Brucella canis* infection in a beagle colony in West Germany. *Dev Biol Stand* 1976; 31: 251–253.

Krueger WS, Lucero NE, Brower A, Heil GL, Gray GC. Evidence for unapparent *Brucella canis* infections among adults with occupational exposure to dogs. *Zoonoses Public Health* 2014; 61: 509–518.

Küster de Paula Dreer M, Dib Gonçalves D, da Silva Caetano IC, Gerônimo E, Menegas PH, Bergo D, Ruiz Lopes-Mori FM, Benitez A, de Freitas JC, Evers F, Navarro IT, de Almeida Martins L. Toxoplasmosis, leptospirosis and brucellosis in stray dogs housed at the shelter in Umuarama municipality, Paraná, Brazil. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* 2013; 19: 23.

Kuwamura M, Adachi T, Yamate J, Kotani T, Ohashi F, Summers BA. Necrotising encephalitis in the Yorkshire terrier: a case report and literature review. *J Small Anim Pract* 2002; 43: 459–463.

de Lahunta A, Glass EN, Kent M. *Veterinary neuroanatomy and clinical neurology*, 2014. 298–300.

Lake BB, Rossmeis JH, Cecere J, Stafford P, Zimmerman KL. Immunosignature differentiation of non-Infectious meningoencephalomyelitis and intracranial neoplasia in dogs. *Front Vet Sci* 2018; 5: 1–6.

Lamb CR, Croson PJ, Cappello R, Cherubini GB. Magnetic resonance imaging findings in 25 dogs with inflammatory cerebrospinal fluid. *Vet Radiol Ultrasound* 2005; 46: 17–22.

Lavelly J, Lipsitz D. Fungal infections of the central nervous system in the dog and cat. *Clin Tech Small Anim Pract* 2005; 20: 212–219.

Lawaczek E, Toporek J, Cwikla J, Mathison BA. *Brucella canis* in a HIV-infected patient. *Zoonoses Public Health* 2011; 58: 150–152.

Ledbetter EC, Landry MP, Stokol T, Kern TJ, Messick JB. *Brucella canis* endophthalmitis in 3 dogs: clinical features, diagnosis, and treatment. *Vet Ophthalmol* 2009; 12: 183–191.

Lepri E, Veronesi F, Traversa D, Conti MB, Marchesi MC, Miglio A, Mandara MT. Disseminated angiostrongylosis with massive cardiac and cerebral involvement in a dog from Italy. *Parasitol Res* 2011; 109: 505–508.

Leschnik MW, Kirtz GC, Thalhammer JG. Tick-borne encephalitis (TBE) in dogs. *Int J Med Microbiol* 2002; 291: 66–69.

Levine JM, Fosgate GT, Porter B, Schatzberg SJ, Greer K. Epidemiology of necrotizing meningoencephalitis in pug dogs. *J Vet Intern Med* 2008; 22: 961–968.

Lezmi S, Toussaint Y, Prata D, Lejeune T, Ferreira-Neves P, Rakotovao F, Fontaine JJ, Marchal T, Cordonnier N. Severe necrotizing encephalitis in a Yorkshire terrier: Topographic and immunohistochemical study. *J Vet Med Ser A Physiol Pathol Clin Med* 2007; 54: 186–190.

Li M, Zhou X, Li J, Sun L, Chen X, Wang P. Real-time PCR assays for diagnosing brucellar spondylitis using formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97: 1–5.

Lilliehöök I, Gunnarsson L, Zakrisson G, Tvedten H. Diseases associated with pronounced eosinophilia: a study of 105 dogs in Sweden. *J Small Anim Pract* 2000; 41: 248–253.

Lopez-Goni I, Garcia-Yoldi D, Marín CM, Miguel MJ De, Munoz PM, Blasco JM, Jacques I, Grayon M, Cloeckert A, Ferreira AC, Cardoso R, Correa de Sa MI, Walravens K, Albert D, Garin-Bastuji B. Evaluation of a multiplex PCR assay (Bruce-ladder) for molecular typing of all *Brucella* species, including the vaccine strains. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 3484–3487.

López-Goñi I, García-Yoldi D, Marín CM, de Miguel MJ, Barquero-Calvo E, Guzmán-Verri C, Albert D, Garin-Bastuji B. New Bruce-ladder multiplex PCR

assay for the biovar typing of *Brucella suis* and the discrimination of *Brucella suis* and *Brucella canis*. *Vet Microbiol* 2011; 154: 152–155.

Lotti D, Capucchio MT, Gaidolfi E, Merlo M. Necrotizing encephalitis in a Yorkshire Terrier: clinical, imaging, and pathologic findings. *Vet Radiol ultrasound* 1999; 40: 622–626.

Lowrie M, Penderis J, Eckersall PD, Mclaughlin M, Mellor D, Anderson TJ. The role of acute phase proteins in diagnosis and management of steroid-responsive meningitis arteritis in dogs. *Vet J* 2009; 182: 125–130.

Lowrie M, Smith PM, Garosi L. Meningoencephalitis of unknown origin: investigation of prognostic factors and outcome using a standard treatment protocol. *Vet Rec* 2013; 172: 527.

Lowrie M, Thomson S, Smith P, Garosi L. Effect of a constant rate infusion of cytosine arabinoside on mortality in dogs with meningoencephalitis of unknown origin. *Vet J* 2016; 213: 1–5.

Lucero NE, Corazza R, Almuzara MN, Reynes E, Escobar GI, Boeri E, Ayala SM. Human *Brucella canis* outbreak linked to infection in dogs. *Epidemiol Infect* 2009; 138: 280–285.

Lucero NE, Escobar GI, Ayala SM, Jacob N. Diagnosis of human brucellosis caused by *Brucella canis*. *J Med Microbiol* 2005a; 54: 457–461.

Lucero NE, Maldonado PL, Kaufman S, Escobar GI, Boeri E, Jacob NR. *Brucella canis* causing infection in an HIV-infected patient. *Vector-Borne Zoonotic Dis* 2010; 10: 527–529.

Lucero NE, Jacob NO, Ayala SM, Escobar GI, Tuccillo P, Jacques I. Unusual clinical presentation of brucellosis caused by *Brucella canis*. *J Med Microbiol* 2005b; 54: 505–508.

Lunn JA, Lee R, Smaller J, MacKay BM, King T, Hunt GB, Martin P, Krockenberger MB, Spielman D, Malik R. Twenty two cases of canine neural angiostrongylosis in eastern Australia (2002-2005) and a review of the literature. *Parasit Vectors* 2012; 5: 70.

Maehara T, Shimada A, Morita T, Sawashima Y, Sawashima K. Distribution of the inflammatory lesions in the central nervous system of dogs affected with disseminated and ocular form of granulomatous meningoencephalomyelitis. *J Vet Med Sci* 2009; 71: 509–512.

Maiolini A, Carlson R, Schwartz M, Gandini G, Tipold A. Determination of immunoglobulin A concentrations in the serum and cerebrospinal fluid of dogs: An estimation of its diagnostic value in canine steroid-responsive meningitis-arteritis. *Vet J* 2012; 191: 219–224.

Majzoobi MM, Hashemi SH, Mamani M, Keramat F, Poorolajal J, Ghasemi Basir HR. Effect of hydroxychloroquine on treatment and recurrence of acute brucellosis: a single-blind, randomized clinical trial. *Int J Antimicrob Agents* 2018; 51: 365–

369.

Mandrioli L, Gallucci A, Scarpa F, Brachelente C, Gandini G. Pathology in Practice. *J Am Vet Med Assoc* 2015; 247: 611–613.

Marchetti V, Lubas G, Baneth G, Modenato M, Mancianti F. Hepatozoonosis in a dog with skeletal involvement and meningoencephalomyelitis. *Vet Clin Pathol* 2009; 38: 121–125.

Marcondes M, Hirata K, Azevedo J, Wagner F. Clinical presentation of canine distemper virus infection in dogs in Brazil. In: *BSAVA Congress Proceedings*, pp. 552–553.

Marenzoni ML, Calò P, Foiani G, Tossici S, Passantino G, Decaro N, Mandara MT. Porencephaly and periventricular encephalitis in a 4-month-old puppy: Detection of Canine Parvovirus Type 2 and potential role in brain lesions. *J Comp Pathol* 2019; 169: 20–24.

Mariscoli M, Jaggy A. Clinical and electroencephalographic findings of inflammatory and infectious diseases of the central nervous system in dogs: a retrospective study. *J Vet Med* 1997; 44: 1–18.

Marjelund S, Tikkakoski T, Tuisku S, Räsänen S. Magnetic resonance imaging findings and outcome in severe tick-borne encephalitis. Report of four cases and review of the literature. *Acta radiol* 2004; 45: 88–94.

Márquez M, Ródenas S, Molin J, Rabanal RM, Fondevila D, Añor S, Pumarola M. Protothecal pyogranulomatous meningoencephalitis in a dog without evidence of disseminated infection. *Vet Rec* 2012; 171: 100.

Marzetti S, Carranza C, Roncallo M, Escobar GI, Lucero NE. Recent trends in human *Brucella canis* infection. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2013; 36: 55–61.

Mateu-de-Antonio EM, Martín M. In vitro efficacy of several antimicrobial combinations against *Brucella canis* and *Brucella melitensis* strains isolated from dogs. *Vet Microbiol* 1995; 45: 1–10.

Mateu de Antonio EM, Martin M, Casal J. Comparison of serologic tests used in canine brucellosis diagnosis. *J Vet Diagnostic Investig* 1994; 6: 257–259.

McMillan FD. Behavioral and psychological outcomes for dogs sold as puppies through pet stores and/or born in commercial breeding establishments: Current knowledge and putative causes. *J Vet Behav Clin Appl Res* 2017; 19: 14–26.

Meng F, Pan X, Tong W. Rifampicin versus streptomycin for brucellosis treatment in humans: A meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One* 2018; 13: 1–12.

Messer JS, Wagner SO, Baumwart RD, Colitz CM. A case of canine streptococcal meningoencephalitis diagnosed using universal bacterial polymerase chain reaction assay. *J Am Anim Hosp Assoc* 2008; 44: 205–209.

Mickelson M, Olby N, Schwartz M. Bacterial meningitis and subdural empyema caused by *Actinomyces canis* in a dog. *Vet Rec Case Reports* 2015; 3: 1–4.

Miyake H, Inoue A, Tanaka M, Matsuki N. Serum glial fibrillary acidic protein as a specific marker for necrotizing meningoencephalitis in pug dogs. *J Vet Med Sci* 2013; 75: 1543–1545.

Moeremans I, Binst D, Claerebout E, Van De Maele I, Daminet S. Canine *Angiostrongylus vasorum*. *Flem Vet J* 2011; 80: 319–326.

Mor SM, Wiethoelter AK, Lee A, Moloney B, James DR, Malik R. Emergence of *Brucella suis* in dogs in New South Wales, Australia: clinical findings and implications for zoonotic transmission. *BMC Vet Res* 2016; 12: 199.

Morgan J, Wake T, Pintos V, Rys H, Grace K, Perret L, Whatmore AM, Edwards D. *Brucella canis* in a dog in the UK. *Vet Rec* 2017; 180: 617.

Moshkin MP, Novikov EA, Tkachev SE, Vlasov V V. Epidemiology of a tick-borne viral infection: Theoretical insights and practical implications for public health. *BioEssays* 2009; 31: 620–628.

Munana K, Luttgen PJ, Muñana KR, Luttgen PJ. Prognostic factors for dogs with granulomatous meningoencephalomyelitis: 42 cases (1982-1996). *J Am Vet Med Assoc* 1998; 212: 1902–1906.

Negrin A, Cherubini GB, Steeves E. *Angiostrongylus vasorum* causing meningitis and detection of parasite larvae in the cerebrospinal fluid of a pug dog. *J Small Anim Pract* 2008; 49: 468–471.

Nöckler K, Kutzer P, Reif S, Rosenberger N, Draeger A, Bahn P, Göllner C, Erlbeck C. Canine brucellosis - a case report. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2003; 116: 368–72.

Nomura A, Imaoka K, Imanishi H, Nagura F, Maeda K, Tomino T, Fujita Y, Kimura M, Stein GH. Human *Brucella canis* infections diagnosed by blood culture. *Emerg Infect Dis* 2010; 16: 10–12.

O'Neill EJ, Merrett D, Jones B. Granulomatous meningoencephalomyelitis in dogs: A review. *Irish Vet Jorunal* 2005; 58: 86–92.

O'Toole TE, Sato AF, Rozanski EA. Cryptococcosis of the central nervous system in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 2003; 222: 1722–1725.

Oberkirchner U, Linder KE, Olivry T. Successful treatment of a novel generalized variant of canine discoid lupus erythematosus with oral hydroxychloroquine. *Vet Dermatol* 2011; 23: 65–70.

Ogbu KI, Anene BM, Nweze NE, Chukwudi IC, Danladi MA. Trypanosomosis in dogs: A review. *Int J Sci Appl Res* 2017; 2: 144–174.

Ojo KK, Reid MC, Siddaramaiah LK, Müller J, Winzer P, Zhang Z, Keyloun KR,

Vidadala RSR, Merritt EA, Hol WGJ, Maly DJ, Fan E, Van Voorhis WC, Hemphill A. *Neospora caninum* calcium-dependent protein kinase 1 is an effective drug target for neosporosis therapy. *PLoS One* 2014; 9: 1–13.

Oliphant B, Barnes Heller H, White J. Retrospective study evaluating associations between midline brain shift on magnetic resonance imaging and survival in dogs diagnosed with meningoencephalitis of unknown etiology. *Am Coll Vet Radiol* 2017; 58: 38–43.

Olivier AK, Parkes JD, Flaherty HA, Kline KL, Haynes JS. Idiopathic eosinophilic meningoencephalomyelitis in a Rottweiler Dog. *J Vet Diagnostic Investig* 2010; 22: 646–648.

Pakozdy A, Leschnik M, Kneissl S, Gumpenberger M, Gruber A, Tichy A, Thalhammer J. Improved survival time in dogs with suspected GME treated with ciclosporin. *Vet Rec* 2009; 164: 89–91.

Park ES, Uchida K, Nakayama H. Comprehensive immunohistochemical studies on canine necrotizing meningoencephalitis (NME), necrotizing leukoencephalitis (NLE), and granulomatous meningoencephalomyelitis (GME). *Vet Pathol* 2012; 49: 682–692.

Patitucci AN, Alley MR, Jones BR, Charleston WAG. Protozoa encephalomyelitis of dogs involving *Neosporium caninum* and *Toxoplasma gondii* in New Zealand. *N Z Vet J* 1997; 45: 231–235.

Pedersen N, Liu H, Millon L, Greer K. Dog leukocyte antigen class II-associated genetic risk testing for immune disorders of dogs: simplified approaches using Pug dog necrotizing meningoencephalitis as a model. *J Vet Diagnostic Investig* 2011; 23: 68–76.

Peeler EJ, Reese RA, Thrush MA. Animal disease import risk analysis - a review of current methods and practice. *Transbound Emerg Dis* 2015; 62: 480–490.

Pelerito A, Cordeiro R, Matos R, Santos MA, Soeiro S, Santos J, Manita C, Rio C, Santo M, Paixão E, Nunes A, Nuncio S. Human brucellosis in Portugal—Retrospective analysis of suspected clinical cases of infection from 2009 to 2016. *PLoS One* 2017; 12: 1–7.

Perry AW, Hertling R, Kennedy MJ. Angiostrongylosis with disseminated larval infection associated with signs of ocular and nervous disease in an imported dog. *Can Vet J* 1991; 32: 430–431.

Pfeffer M, Dobler G. Tick-borne encephalitis virus in dogs - is this an issue? *Parasit Vectors* 2011; 4: 59.

Piergili FD. Problems and limitations of conventional and innovative methods for the diagnosis of Toxoplasmosis in humans and animals. *Parasitologia* 2004; 46: 177–181.

Plessas LN, Jull P, Volk HA. A case of canine discospondylitis and epidural empyema due to *Salmonella* species. *Can Vet J* 2013; 54: 595–598.

Polt SS, Dismukes WE, Flint A, Schaefer J. Human brucellosis caused by *Brucella canis*: clinical features and immune response. *Ann Intern Med* 1982; 97: 717–719.

Von Praun F, Matiasek K, Grevel V, Alef M, Flegel T. Magnetic resonance imaging and pathologic findings associated with necrotizing encephalitis in two Yorkshire terriers. *Vet Radiol Ultrasound* 2006; 47: 260–264.

Radaelli ST, Platt SR. Bacterial meningoencephalomyelitis in dogs: a retrospective study of 23 cases (1990-1999). *J Vet Intern Med* 2002; 16: 159–163.

Ramsey IK, Littlewood JD, Dunn JK, Herrtage ME. Role of chronic disseminated intravascular coagulation in a case of canine angiostrongylosis. *Vet Rec* 1996; 138: 360–363.

Read RW, Rodriguez DB, Summers BA. West Nile virus encephalitis in a dog. *Vet Pathol* 2005; 42: 219–222.

Reifinger M, Greszl J. Pulmonary angiostrongylosis with systemic distribution and central nervous system symptoms in a dog. *J Vet Med Physiol Pathol Clin Med* 1994; 41: 391–398.

Reiner B, Fischer A. Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) beim Hund in Deutschland: Zwei Fallberichte. *Kleintierpraxis* 1998; 43: 255–269.

Reynes E, López G, Ayala SM, Hunter GC, Lucero NE. Monitoring infected dogs after a canine brucellosis outbreak. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2012; 35: 533–537.

Robert Koch-Institut. FSME: Risikogebiete in Deutschland. *Epidemiol Bull* 2018; 17: 161–173.

Rose J, Harcourt-Brown T. Screening diagnostics to identify triggers in 21 cases of steroid- responsive meningitis-arteritis. *J Small Anim Pract* 2013; 54: 575–578.

Rose J, Kwiatkowska M, Henderson ER, Granger N, Murray JK, Harcourt-Brown T. The impact of demographic, social, and environmental factors on the development of steroid-responsive meningitis-arteritis (SRMA) in the United Kingdom. *J Vet Intern Med* 2014; 28: 1199–1202.

Rousseau P. *Brucella canis* infection in a woman with fever of unknown origin. *Postgrad Med* 1985; 78: 253–254.

Rovid Spickler A. Brucellosis: *Brucella canis*. *US Dep Agric Anim Plant Heal Insp Serv (USDA APHIS)* 2018; 1–10.

Rudd PA, Bastien-Hamel L-E, von Messling V. Acute canine distemper encephalitis is associated with rapid neuronal loss and local immune activation. *J Gen Virol* 2010; 91: 980–989.

Ruoff CM, Kerwin SC, Taylor AR. Diagnostic imaging of discospondylitis. *Vet Clin Small Anim* 2018; 48: 85–94.

Saey V, Vanhaesebrouck A, Maes S, Van Simaey L, Van Ham L, Deschaght P, Ducatelle R. Granulomatous meningoencephalitis associated with *Sporobolomyces roseus* in a dog. *Vet Pathol* 2011; 48: 1158–1160.

Salvadori C, Baroni M, Arispici M, Cantile C. Magnetic resonance imaging and pathological findings in a case of canine idiopathic eosinophilic meningoencephalitis. *J Small Anim Pract* 2007; 48: 466–469.

Salvadori C, Gandini G, Ballarini A, Cantile C. Protothecal granulomatous meningoencephalitis in a dog. *J Small Anim Pract* 2008; 49: 531–535.

Sayan M, Erdenliğ S, Etiler N. Investigation of *Brucella canis* seropositivity by in-house slide agglutination test antigen in healthy blood donors. *Mikrobiyol Bul* 2011a; 45: 655–663.

Sayan M, Erdenliğ S, Stack J, Kiliç S, Güdücüoğlu H, Aksoy Y, Baklan A, Etiler N. A serological diagnostic survey for *Brucella canis* infection in Turkish patients with Brucellosis-like symptoms. *Jpn J Infect Dis* 2011b; 64: 516–519.

Schnyder M, Stebler K, Naucke TJ, Lorentz S, Deplazes P. Evaluation of a rapid device for serological in-clinic diagnosis of canine angiostrongylosis. *Parasit Vectors* 2014; 7: 72.

Schrauwen I, Barber RM, Schatzberg SJ, Siniard AL, Corneveaux JJ, Porter BF, Vernau KM, Keesler RI, Matiasek K, Flegel T, Miller AD, Southard T, Mariani CL, Johnson GC, Huentelman MJ. Identification of novel genetic risk loci in Maltese dogs with necrotizing meningoencephalitis and evidence of a shared genetic risk across toy dog breeds. *PLoS One* 2014; 9: 1–7.

Schwaiger M, Cassinotti P. Development of a quantitative real-time RT-PCR assay with internal control for the laboratory detection of tick borne encephalitis virus (TBEV) RNA. *J Clin Virol* 2003; 27: 136–145.

Seimenis A, Tabbaa D. Stray animal populations and public health in the South Mediterranean and the Middle East regions. *Vet Ital* 2014; 50: 131–136.

Serikawa T, Muraguchi T, Yamada J, Takada H. Long-term observation of canine brucellosis: excretion of *Brucella canis* into urine of infected male dogs. *Jikken Dobutsu* 1981; 30: 7–14.

Shamir MH, Tavor N, Aizenberg T. Radiographic findings during recovery from discospondylitis. *Vet Radiol Ultrasound* 2001; 42: 496–503.

Shaw SE, Day MJ, Birtles RJ, Breitschwerdt EB. Tick-borne infectious diseases of dogs. *Trends Parasitol* 2001; 17: 74–80.

Shibuya M, Matsuki N, Fujiwara K, Imajoh-Ohmi S, Fukuda H, Pham NT, Tamahara S, Ono K. Autoantibodies against glial fibrillary acidic protein (GFAP) in cerebrospinal fluids from Pug dogs with necrotizing meningoencephalitis. *J Vet Med Sci* 2007; 69: 241–245.

Shiel RE, Mooney CT, Brennan SF, Nolan CM, Callanan JJ. Clinical and clinicopathological features of non-suppurative meningoencephalitis in young greyhounds in Ireland. *Vet Rec* 2010; 167: 333–337.

Shoukat S, Wani H, Ali U, Para PA, Ara S, Ganguly S. Brucellosis: A current review update on zoonosis. *J Immunol Immunopathol* 2017; 19: 61.

Sievert C, Richter H, Beckmann K, Kircher PR, Carrera I. Comparison between proton magnetic resonance spectroscopy findings in dogs with tick-borne encephalitis and clinically normal dogs. *Vet Radiol Ultrasound* 2016; 58: 53–61.

Simner PJ, Miller S, Carroll KC. Understanding the promises and hurdles of metagenomic next-generation sequencing as a diagnostic tool for infectious diseases. *Clin Infect Dis* 2018; 66: 778–788.

Simon-Martínez J, Ulloa-Arvizu R, Soriano VE, Fajardo R. Identification of a genetic variant of canine distemper virus from clinical cases in two vaccinated dogs in Mexico. *Vet J* 2008; 175: 423–426.

Smeak DD, Olmstead ML, Hohn RB. *Brucella canis* osteomyelitis in two dogs with total hip replacements. *J Am Vet Med Assoc* 1987; 191: 986–90.

Smith-Maxie LL, Parent JP, Rand J, Wilcock BP, Norris AiM. Cerebrospinal fluid analysis and clinical outcome of eight dogs with eosinophilic meningoencephalomyelitis. *J Vet Intern Med* 1989; 3: 167–174.

Smith K, Thacker L. Generalized Tremors: Identifying a White Shaker Dog. *Indiana Anim Dis Diagnostic Lab Newsl* 2004;

Smith PM, Stalin CE, Shaw D, Granger N, Jeffery ND. Comparison of two regimens for the treatment of meningoencephalomyelitis of unknown etiology. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 520–526.

Snowden KF, Lewis BC, Hoffman J, Mansell J. *Encephalitozoon cuniculi* infections in dogs: a case series. *J Am Anim Hosp Assoc* 2009; 45: 225–231.

Song RB, Vitullo CA, da Costa RC, Daniels JB. Long-term survival in a dog with meningoencephalitis and epidural abscessation due to *Actinomyces* species. *J Vet Diagn Invest* 2015; 27: 552–7.

de Souza TD, de Carvalho TF, da Silva Mol JP, Lopes JVM, Silva M, da Paixão TA, Santos RL. Tissue distribution and cell tropism of *Brucella canis* in naturally infected canine fetuses and neonates. *Sci Rep* 2018; 8: 1–10.

Stadtbaumer K, Leschnik MW, Nell B. Tick-borne encephalitis virus as a possible cause of optic neuritis in a dog. *Vet Ophthalmol* 2004; 7: 271–277.

Stafford EG, Kortum A, Castel A, Green L, Lau J, Early PJ, Muñana KR, Mariani CL, Yoder JA, Olby NJ. Presence of cerebrospinal fluid antibodies associated with autoimmune encephalitis of humans in dogs with neurologic disease. *J Vet Intern Med* 2019; 33: 2175–2182.

Stern L, McCarthy R, King R, Hunt K. Imaging diagnosis - Discospondylitis and septic arthritis in a dog. *Vet Radiol Ultrasound* 2007; 48: 335–337.

Süss J. Tick-borne encephalitis 2010: Epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia—An overview. *Ticks Tick Borne Dis* 2011; 2: 2–15.

Suzuki M, Uchida K, Morozumi M, Yanai T, Nakayama H, Yamaguchi R, Tateyama S. A comparative pathological study on granulomatous meningoencephalomyelitis and central malignant histiocytosis in dogs. *J Vet Med Sci* 2003; 65: 1319–1324.

Sykes JE, Weiss DJ, Buoen LC, Blauvelt MM, Hayden DW. Idiopathic hypereosinophilic syndrome in 3 Rottweilers. *J Vet Intern Med* 2001; 15: 162–166.

Talarico LR, Schatzberg SJ. Idiopathic granulomatous and necrotising inflammatory disorders of the canine central nervous system: A review and future perspectives. *J Small Anim Pract* 2010; 51: 138–149.

Taques IGG, Barbosa TR, Martini A de C, Pitchenin LC, Braga ÍA, de Melo ALT, Nakazato L, Dutra V, de Aguiar DM. Molecular assessment of the transplacental transmission of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Brucella canis* and *Ehrlichia canis* in dogs. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2016; 49: 47–50.

Taylor DJ, Peplinski G, Spence S, Bruce C, Cedersmyg M, Hallgren G, Fasching G, Schmoll F, Martella V. Serological evidence for the presence of *Brucella canis* infection in dogs in Britain. *Vet Rec* 1980; 106: 102–104.

Tenter AM. Current knowledge on the epidemiology of infections with *Toxoplasma*. *J Exp Clin Med* 1999; 23: 391.

Terzo E, McConnell JF, Shiel RE, McAllister H, Behr S, Priestnall SL, Smith KC, Nolan CM, Callanan JJ. Unique topographic distribution of Greyhound nonsuppurative meningoencephalitis. *Vet Radiol Ultrasound* 2012; 53: 636–642.

Thakur S, Bedi JS, Singh R, Gill JPS, Arora AK, Kashyap N. Quantitative polymerase chain reaction based quantification of *Brucella* DNA in serum of pre- and post-therapeutic occupationally exposed infected human population. *J Infect Public Health* 2018; 11: 514–520.

Thomas WB. Inflammatory diseases of the central nervous system in dogs. *Clin Tech Small Anim Pract* 1998; 13: 167–178.

Thomas WB. Diskospondylitis and other vertebral infections. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2000; 30: 169–182.

Timmann D, Konar M, Howard J, Vandeveld M. Necrotising encephalitis in a French bulldog. *J Small Anim Pract* 2007; 48: 339–342.

Tipold A. Diagnosis of inflammatory and infectious diseases of the central nervous system in dogs: a retrospective study. *J Vet Intern Med* 1995; 9: 304–314.

Tipold A, Fatzer R, Holzmann H. Zentraleuropäische Zeckenenzephalitis beim

Hund. *Kleintierpraxis* 1993; 38: 619–628.

Tipold A, Jaggy A. Steroid responsive meningitis-arteritis in dogs: Long-term study of 32 cases. *J Small Anim Pract* 1994; 35: 311–316.

Tipold A, Vandeveld M, Jaggy A. Neurological manifestations of canine distemper virus infection. *J Small Anim Pract* 1992; 33: 466–470.

Tipold A, Schatzberg SJ. An update on steroid responsive meningitis-arteriitis. *J Small Anim* 2010; 51: 150–154.

Tipold A, Stein VM. Inflammatory diseases of the spine in small animals. *Vet Clin North Small Anim Pract* 2010; 40: 871–879.

Tun AE, Benedicenti L, Galban EM. *Pasteurella Multocida* meningoencephalomyelitis in a dog secondary to severe periodontal disease. *Clin Case Reports* 2018; 6: 1137–1141.

Uchida K, Park E, Tsuboi M, Chambers JK, Nakayama H. Pathological and immunological features of canine necrotising meningoencephalitis and granulomatous meningoencephalitis. *Vet J* 2016; 213: 72–77.

Uggla A, Dubey JP, Lundmark G, Olson P. Encephalomyelitis and myositis in a Boxer puppy due to a *Neospora*-like infection. *Vet Parasitol* 1989; 32: 255–260.

Wagner SO, Podell M, Fenner WR. Generalized tremors in dogs: 24 cases (1984–1995). *J Am Vet Med Assoc* 1997; 211: 731–735.

Wallach JC, García JL, Cardinali PS, Seijo AP, Benchetrit AG, Echazarreta SE, Garro SL, Deodato B, Baldi PC. High incidence of respiratory involvement in a cluster of *Brucella suis* -infected workers from a pork processing plant in Argentina. *Zoonoses Public Health* 2017; 64: 550–553.

Wallach JC, Giambartolomei GH, Baldi PC, Fossati CA. Human infection with M-strain of *Brucella canis*. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 146–148.

Wang-Leandro A, Huenerfauth E-I, Heissl K, Tipold A. MRI findings of early-stage hyperacute hemorrhage causing extramedullary compression of the cervical spinal cord in a dog with suspected Steroid-Responsive Meningitis-Arteritis. *Front Vet Sci* 2017; 4: 1–5.

Wang Y, Ke Y, Zhen Q, Yuan X, Xu J, Qiu Y, Wang Z, Li T, Wang D, Huang L, Chen Z. Complete genome sequence of *Brucella canis* BCB018, a strain isolated from a human patient. *J Bacteriol* 2012; 194: 6697–6698.

Wanke MM. Canine brucellosis. *Anim Reprod Sci* 2004; 82–83: 195–207.

Wanke MM, Delpino M V., Baldi PC. Use of enrofloxacin in the treatment of canine brucellosis in a dog kennel (clinical trial). *Theriogenology* 2006; 66: 1573–1578.

Webb AA, Taylor SM, Muir GD. Steroid-responsive meningitis-arteritis in dogs

with noninfectious, nonerosive, idiopathic, immune-mediated polyarthritis. *J Vet Intern Med* 2002; 16: 269–273.

Weissenbock H, Nowotny N, Caplazi P, Kolodziejek J, Ehrensperger F. Borna disease in a dog with lethal meningoencephalitis. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2127–2130.

Wessmann A, Lu D, Lamb CR, Smyth B, Mantis P, Chandler K, Boag A, Cherubini GB, Cappello R. Brain and spinal cord haemorrhages associated with *Angiostrongylus vasorum* infection in four dogs. *Vet Rec* 2006; 158: 858–863.

Williams JH, Köster LS, Naidoo V, Odendaal L, Van Veenhuysen A, de Wit M, van Wilpe E. Review of idiopathic eosinophilic meningitis in dogs and cats, with a detailed description of two recent cases in dogs. *J S Afr Vet Assoc* 2008; 79: 194–204.

Windsor RC, Sturges BK, Vernau KM, Vernau W. Cerebrospinal fluid eosinophilia in dogs. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 275–281.

Wong M, Hopkins A, Meeks J, Clarke J. Evaluation of treatment with a combination of azathioprine and prednisone in dogs with meningoencephalomyelitis of undetermined etiology: 40 cases (2000-2007). *J Am Vet Med Assoc* 2010; 237: 929–935.

Wrzosek M, Konar M, Vandavelde M, Oevermann A. Cerebral extension of steroid- responsive meningitis arteritis in a boxer. *J Small Anim Pract* 2009; 50: 35–37.

Wu Z-M, Yu Z-J, Cui Z-Q, Peng L-Y, Li H-R, Zhang C-L, Shen H-Q, Yi P-F, Fu B-D. In vitro antiviral efficacy of caffeic acid against canine distemper virus. *Microb Pathog* 2017; 110: 240–244.

Wyatt T, Maher J, Biddle P. Scoping research on the sourcing of pet dogs from illegal importation and puppy farms 2016-2017. *Agric Environ Mar Soc Res Ser* 2017; 4–92.

Yamaya Y, Iwakami E, Goto M, Koie H, Watari T, Tanaka S, Takeuchi A, Tokuriki M. A case of shaker dog disease in a miniature dachshund. *J Vet Med Sci* 2004; 66: 1159–1160.

Yeates J, Bowles D. Breeding and selling of companion animals. In: *The Palgrave International Handbook of Animal Abuse Studies*, pp. 15–38.

Yoak AJ, Reece JF, Gehrt SD, Hamilton IM. Disease control through fertility control: Secondary benefits of animal birth control in Indian street dogs. *Prev Vet Med* 2014; 113: 152–156.

Young BD, Levine JM, Fosgate GT, de Lahunta A, Flegel T, Matiasek K, Miller A, Silver G, Sharp N, Greer K, Schatzberg SJ. Magnetic resonance imaging characteristics of necrotizing meningoencephalitis in pug dogs. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 527–535.

Yousefi-Nooraie R, Mortaz-Hejri S, Mehrani M, Sadeghipour P. Antibiotics for treating human brucellosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;

Zarfoss M, Schatzberg S, Venator K, Cutter-Schatzberg K, Cuddon P, Pintar J, Weinkle T, Scarlett J, DeLahunta A. Combined cytosine arabinoside and prednisone therapy for meningoencephalitis of unknown aetiology in 10 dogs. *J Small Anim Pract* 2006; 47: 588–595.

VIII. DANKSAGUNGEN

Ich bedanke mich herzlich bei meiner Doktormutter Frau Prof. Dr. Andrea Fischer für die Ermöglichung dieser Arbeit. Vielen Dank für die Unterstützung bei deren Umsetzung, für die zahlreichen Telefonate und Treffen und den guten Zuspruch bei so manchem Rückschlag.

Bei Frau Prof. Dr. Katrin Hartmann möchte ich mich für die Möglichkeit bedanken, an der Medizinischen Kleintierklinik lernen und promovieren zu dürfen und für die tatkräftige Unterstützung und das Mitwirken bei den beiden Publikationen.

Bei Herrn Prof. Kaspar Matiasek bedanke ich mich für seinen Einsatz bei der ZNS-Publikation. Vielen Dank für die zahlreichen Denkanstöße und die fachlichen Beiträge zu dieser Arbeit.

Bei Herrn Dr. Georg Wolf bedanke ich mich herzlich für die Unterstützung und seinen Einsatz bei der *Brucella*-Publikation. Mein Dank gilt besonders Herrn Dr. Falk Melzer und Herrn Dr. Werner Herbst, die vor allem im Bereich der *Brucella*-Diagnostik mitgewirkt haben. Ein großer Dank geht an Frau Frauke Paul, die es mir ermöglicht hat, die Daten von IDEXX auswerten zu können. Ich möchte mich an dieser Stelle insbesondere auch bei IDEXX Laboratories bedanken, die uns die Daten zur Auswertung zur Verfügung gestellt haben.

Weiter möchte ich mich bei dem ganzen Team der Neurologie der Medizinischen Kleintierklinik bedanken. Danke für die vielen „offenen Ohren“, die Trostpflaster und eure Zuversicht, die mich immer wieder überzeugen konnte.

An dieser Stelle möchte ich meine Kollegin Frau Dr. Franziska Wieländer hervorheben, die mich bei der ZNS-Publikation sehr unterstützt hat. Vielen, vielen Dank!

Außerdem bedanke ich mich herzlich bei allen Hundebesitzern, die mir Rede und Antwort gestanden haben.

Der größte Dank geht an meine Familie und meinen Partner Jonas! Sie haben immer an mich geglaubt, mich in jeder schwierigen Situation unterstützt und mich ermutigt weiterzumachen.

Viele Male musste ich sie trösten, wenn es hieß „wann bist du denn fertig?“ – jetzt habe ich es geschafft und dass ich das sagen kann, verdanke ich zu einem sehr, sehr großen Teil euch, meinen Liebsten! Danke für alles!