

**Analyse von Initialwerten und Verlaufskurven von
Serum Amyloid A-Konzentrationen im Blut bei
Pferden mit akuten Gliedmaßenverletzungen und
Beteiligung synovialer Strukturen**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Anke-Charlotte Müller

Aus der Klinik für Pferde (Chirurgie, Orthopädie) mit Lehrschmiede

Betreuer: Prof. Dr. Michael Röcken

**Analyse von Initialwerten und Verlaufskurven von
Serum Amyloid A-Konzentrationen im Blut bei
Pferden mit akuten Gliedmaßenverletzungen und
Beteiligung synovialer Strukturen**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von

Anke-Charlotte Müller

Tierärztin aus Bielefeld

Gießen, 2023

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. S. Arnhold

Gutachter: Prof. Dr. M. Röcken

Prof. Dr. S. Tacke

Tag der Disputation: 03.05.2023

„Man kann den Wind nicht ändern, aber die Segel dreh`n.“

-Thomas Hübner

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht.....	4
2.1 Septische Entzündung synovialer Strukturen.....	4
2.1.1 Anatomie und Physiologie synovialer Strukturen	4
2.1.2 Ätiologie der septischen Entzündung synovialer Strukturen.....	6
2.1.3 Pathophysiologie der septischen Entzündung synovialer Strukturen	7
2.1.3.1 Lokale Entzündungsreaktion in der synovialen Struktur.....	7
2.1.3.2 Systemische Entzündungsreaktion	10
2.1.3.2.1 Leukozytenreaktion.....	11
2.1.3.2.2 Akute Phase Proteine	14
2.1.3.2.2.1 Serum Amyloid A	16
2.1.3.2.2.2 Fibrinogen.....	19
2.1.4 Diagnostik septischer Synovialitiden	21
2.1.4.1 Klinische Anzeichen	22
2.1.4.2 Bildgebung	23
2.1.4.2.1 Röntgen	23
2.1.4.2.2 Ultraschall	24
2.1.4.3 Messung von Parametern im Blut	26
2.1.4.3.1 Leukozyten.....	26
2.1.4.3.2 Fibrinogen.....	26
2.1.4.3.3 Serum Amyloid A	27
2.1.4.4 Synoviauntersuchung.....	28
2.1.4.4.1 Makroskopisches Erscheinungsbild.....	29
2.1.4.4.2 Gesamtleukozyten und Anteil neutrophiler Granulozyten	29
2.1.4.4.3 Totalprotein	30

2.1.4.4.4 Bakteriologische Untersuchung	31
2.1.5 Therapeutische Optionen	33
2.1.5.1 Chirurgische Versorgung mit arthroskopischer Lavage.....	33
2.1.5.2 Antibiotische Therapie.....	34
2.1.5.3 Analgetische und entzündungshemmende Therapie	35
2.1.5.4 Ergänzende Maßnahmen.....	36
2.1.6 Postoperatives Management.....	36
2.1.6.1 Krankheitsüberwachung.....	36
2.1.6.2 Dauer der Therapie	37
2.1.7 Prognose	39
2.2 Studienziel.....	41
3. Eigene Publikation I.....	43
4. Eigene Publikation II.....	66
5. Übergreifende Diskussion	98
5.1 Diskussion der angewandten Methoden	98
5.1.1 Studienaufbau und Patientenmaterial	98
5.1.2 Messung von SAA und anderen Blutparametern	99
5.1.3 Bewertung von klinischen Parametern	100
5.1.4 Synoviauntersuchung.....	101
5.2 Diskussion und Interpretation der Ergebnisse	102
5.2.1 Teil 1: Frühdiagnostik der Beteiligung synovialer Strukturen bei Gliedermaßenverletzungen	102
5.2.1.1 SAA und andere Entzündungsparameter im Blut.....	102
5.2.1.2 Klinische Parameter	104
5.2.1.3 Ergebnisse der Synoviaanalyse	105
5.2.2 Teil 2: Krankheitsüberwachung und Therapieanpassung bei Infektionen von synovialen Strukturen.....	106

5.2.2.1 Verlauf der SAA Serumkonzentration	106
5.2.2.2 Klinische Parameter im Verlauf	108
5.2.2.3 Outcome.....	109
5.3 Schlussfolgerungen.....	109
5.4 Ausblick	110
6. Zusammenfassung	112
7. Summary	115
8. Literaturverzeichnis.....	118
9. Publikationsverzeichnis	135
10. Erklärung	136
11. Danksagungen.....	137

1. Einleitung

Pferde mit Verletzungen an Gliedmaßen werden als Notfall in der Klinik für Pferde, Chirurgie und Orthopädie der Justus-Liebig-Universität Gießen frequent vorgestellt.

Ein gefürchtetes Problem stellt aufgrund der anatomischen Lokalisation der Verletzungen die Penetration synovialer Strukturen, wie Gelenke, Sehnenscheiden oder Bursae, mit folgender Infektion dar. Eine Infektion synovialer Strukturen ist bei derartigen Verletzungen oft schwierig zu diagnostizieren, denn die herkömmlich verwendeten diagnostischen Mittel ergeben oft kein eindeutiges Ergebnis. Für die Prognose *quoad vitam*, *quoad restitutionem* und *quoad functionem* ist die Feststellung der Beteiligung einer synovialen Struktur jedoch zielrichtend. Auch das postoperative Management dieser Patienten beruht vorwiegend auf einer subjektiven Einschätzung des klinischen Zustandes. Bei versäumter oder unzureichender Behandlung kann eine Infektion einer synovialen Struktur eine umfangreiche Schädigung mit totalem Funktionsausfall der betroffenen synovialen Struktur zur Folge haben. Im Gelenkbereich kann ein septischer Prozess zur Knorpelschädigung und Gelenkdestruktion führen bzw. Infektionen von Sehnenscheiden können Verklebungen und septische Sehnennekrosen verursachen (WRIGHT et al. 2003; VAN WEEREN 2016; FRISBIE 2012a; SCHNEIDER et al. 1992b; RÖCKEN 2013). Chronische Lahmheiten sind die Folge, die die Nutzbarkeit und Überlebensfähigkeit des Pferdes beeinflussen.

Eine Verletzung löst eine lokale Entzündungsreaktion aus, die sich in eine Akute Phase Reaktion (APR) als systemische Antwort ausweitet. Bei Penetration einer synovialen Struktur gelangen Erreger in den Synovialraum. Diese produzieren zahlreiche Toxine und Enzyme, die die betroffenen Gewebe schädigen und die Entzündungsreaktion triggern (SCHNEIDER et al. 1992b; MEIJER et al. 2000; VAN WEEREN 2016; TREMAINE 2000).

Akute Phase Proteine (APP) werden während der APR als Antwort auf eine Infektion bzw. ein Gewebetrauma in die Blutbahn abgegeben und sind daher sensitive Indikatoren für den Grad und den Verlauf einer Entzündungsreaktion (JACOBSEN und ANDERSEN 2007; ECKERSALL und BELL 2010; MURATA et al. 2004). Als

quantitative Biomarker können APP somit zur Diagnostik und zur Überwachung eines Krankheits- und Therapieverlaufs genutzt werden (MILLER 2006; ECKERSALL und BELL 2010; MURATA et al. 2004). Hierfür eignen sich vor allem *Major* APP, denn diese zeichnen sich durch einen deutlichen Konzentrationsanstieg während einer Entzündungsreaktion aus. Im gesunden Organismus sind nur geringe Konzentrationen detektierbar. Diese steigen durch einen entzündlichen Stimulus bis um das 1000-fache an. Gleichzeitig sinken die Konzentrationen bei Ansprechen einer erfolgreichen Therapie als Folge der Elimination des Stimulus. So spiegeln sie den Entzündungsverlauf durch ihre Konzentrationsänderungen äquivalent wider, wodurch sich dieser quantifizieren lässt. Das in der Pferdemedizin bisher einzige identifizierte und somit am häufigsten klinisch angewendete *Major* APP ist das Serum Amyloid A (SAA) (JACOBSEN und ANDERSEN 2007).

JACOBSEN und ANDERSEN 2007 betonten, dass die Detektion und Überwachung von Entzündungen in synovialen Strukturen anhand von klinischen Anzeichen herausfordernd sein kann, denn die klassischen klinischen Anzeichen einer Entzündungsreaktion sind nicht immer manifest. Daher ist es hilfreich, auf blutparametrische Analysen von Entzündungsparametern wie das SAA zurückzugreifen, um eine subklinische Entzündungsreaktion zu identifizieren.

ROBINSON et al. 2017 und JACOBSEN et al. 2006a stellten in ihren Studien fest, dass die SAA Serumkonzentration bei Patienten mit septischer Synovialitis einen höheren Anstieg verzeichnet als bei Patienten mit aseptischen synovialen Erkrankungen und kamen daher zu dem Ergebnis, dass SAA zur Differenzierung zwischen septischen und aseptischen synovialen Erkrankungen genutzt werden kann. SAA Serumkonzentrationen spiegeln dabei den intraartikulären Entzündungsstatus wider (JACOBSEN et al. 2006a).

Die klinische Bedeutung von SAA in der Diagnostik und Verlaufskontrolle von infizierten synovialen Strukturen durch akute Verletzungen an Gliedmaßen ist bislang nicht klar definiert, denn die vorhandenen Studien beschränken sich vorwiegend auf experimentelle Untersuchungen bzw. auf Gelenkerkrankungen (LUDWIG et al. 2016; HULTEN et al. 2002; JACOBSEN et al. 2006c).

MILLER et al. führten 2003 eine klinische Studie zur Einschätzung des postoperativen Verlaufs mit Erforschung der ablaufenden APR nach verschiedenen chirurgischen Eingriffen mit Messungen von SAA und klinischen Untersuchungen durch und beschrieben, dass SAA sich zur Charakterisierung der Entzündungsreaktion nach chirurgischen Eingriffen gut eignet. HALTMAYER et al. 2017 konzentrierten sich in ihrer klinischen Studie auf wiederholte Messungen der SAA Serumkonzentration zur Überwachung des Therapieverlaufs bei Patienten mit infizierten synovialen Strukturen nach Verletzungen verschiedenster Art und unterschiedlichen Alters. Diese Studie hat mit kleinen Gruppen gearbeitet, die inkohärent geformt wurden und eine große Streuung der Daten ergaben. Es wurde mit Patienten gearbeitet, die sowohl frische als auch ältere Verletzungen aufwiesen, was aufgrund des zeitlichen Verlaufes der SAA Konzentration die Aussagekraft der Ergebnisse schwächt. Trotzdem kamen sie zum Ergebnis, dass wiederholte Messungen der SAA Serumkonzentration eine geeignete Methode zur Überwachung des Therapieerfolgs bieten.

Für die klinische Anwendung von SAA bei Pferden mit infizierten synovialen Strukturen durch akute Weichteilverletzungen an Gliedmaßen mit Interpretation einzeln sowie wiederholt gemessener Serumkonzentrationen bedarf es einer Analyse des klinischen Wertes des SAA.

In dieser Arbeit soll die Rolle von SAA als Biomarker in der frühen Diagnostik der Beteiligung einer synovialen Struktur bei Pferden mit akuten Weichteilverletzungen in der Gliedmaßenregion unter klinischen Bedingungen evaluiert werden. Zudem wird analysiert, inwiefern sich dieser Parameter als Biomarker in der Verlaufskontrolle im Rahmen des Krankheitsmonitorings zur Überwachung des Therapieerfolgs und zur Anpassung der Therapie etablieren lässt. Dabei soll geprüft werden, welchen Mehrwert dieser Parameter im Vergleich zu den herkömmlich verwendeten Diagnostika bzw. Überwachungsparametern bringt und wie SAA Konzentrationen interpretiert werden können.

Insgesamt soll dadurch eine optimale und zeitige Therapie eingeleitet sowie die Therapie entsprechend angeglichen werden können, um die Behandlung und letztendlich die Prognose für betroffene Patienten zu optimieren.

2. Literaturübersicht

2.1 Septische Entzündung synovialer Strukturen

Die Intaktheit einer synovialen Struktur ist die Grundlage für ihre korrekte und effiziente Funktionsweise. Jede einzelne Komponente dieses komplexen Organs trägt zu einer uneingeschränkten Funktion bei. Eine Störung dieser Gesamtheit durch pathologische Zustände einer oder mehrerer Bestandteile führt zu einer Dysfunktion (FRISBIE 2012a).

2.1.1 Anatomie und Physiologie synovialer Strukturen

Synoviale Strukturen umfassen Gelenke (*Articulationes synoviales*), Sehnenscheiden (*Vaginae synoviales tendinum*) und Schleimbeutel (*Bursae synoviales*). Allen Einrichtungen gemeinsam ist der mit Gelenkschmiere (*Synovia*) gefüllte Synovialraum, *Cavum synoviale*, der durch eine Kapsel begrenzt wird. Diese weist z.T. individuelle Komponenten auf, ist aber grundlegend übereinstimmend aufgebaut. Sie besteht aus zwei Anteilen, einer äußeren, derben Bindegewebsschicht, *Membrana fibrosa*, und einer inneren Schicht, der Synovialmembran (*Membrana synovialis*) (LIEBICH et al. 2009). Die Synovialmembran, auch Synovium genannt, setzt sich aus der Subsynovialis (*Stratum subsynoviale*) zusammen, die aus Bindegewebe und Fettzellen besteht, und die *Intima synovialis* unterlagert. Diese dünne Synoviozytenschicht bildet eine diskontinuierliche, ein- bis vierschichtige Zellschicht, bei der die Zellen durch Desmosomen und *gap junctions* locker verbunden sind. Die Zellen sind ohne Basalmembran aufgereiht. Zwischen den Zellen verlaufen fenestrierte Kapillaren (LIEBICH et al. 2009; FRISBIE 2012a; IWANAGA et al. 2000; STEEL 2008). Dieser Aufbau der Synovialmembran, auch Blut-Synovia-Schranke genannt, ermöglicht einen Austausch von Stoffen und Molekülen zwischen Blut und Synovia, wodurch die Menge und Zusammensetzung der Synovia im Synovialraum bestimmt wird. Denn eine wichtige Funktion der Synovialmembran ist die Regulation der Zusammensetzung der Synovia (FRISBIE 2012a; IWANAGA et al. 2000; STEEL 2008). Daher wird Synovia als ein Ultrafiltrat des Blutplasmas beschrieben.

Dadurch, dass keine Basalmembran vorhanden ist und zusätzlich Lücken zwischen den Synoviozyten der Synovialmembran bestehen, können Moleküle kleiner als 10 kDa diffundieren. Dies erklärt, dass kleinere Komponenten aus dem Blutplasma, wie Glucose, Elektrolyte und kleine Proteine, zur Zusammensetzung der Synovia beitragen und ihre Konzentrationen denen im Blut gleichen (FRISBIE 2012a; STEEL 2008). Größere Proteine mit einem höheren Molekulgewicht, wie beispielsweise Immunglobuline (IgA) und Fibrin, kommen hingegen im physiologischen Zustand nicht bzw. nur in geringen Konzentrationen vor (BASILE et al. 2013).

Es sind zwei Typen an Synoviozyten bekannt. Typ A Synoviozyten sind funktionell gesehen Makrophagen und demnach zur Phagozytose befähigt. Diese Zellen sind nicht fixiert und können Partikel und Debris im Synovialraum aufnehmen und sind folglich für die Reinigung der Synovia zuständig (LIEBICH et al. 2009; DENTON 2012; IWANAGA et al. 2000; STEEL 2008). Zusätzlich besitzen sie die Fähigkeit Antigene zu präsentieren (IWANAGA et al. 2000). Typ B Synoviozyten werden im englischen Sprachraum als *fibroblast-like B cells* angesprochen, denn sie übernehmen die Sekretion wichtiger Komponenten der Synovia, wie Hyaluron und Kollagen (LIEBICH et al. 2009; IWANAGA et al. 2000). Im pathologischen Zustand einer Entzündung nimmt die Sekretion von Hyaluron durch Typ B Synoviozyten ab und die Produktion von katabolen Enzymen, pro-Matrix-Metalloproteinasen (pro-MMPs), Zytokinen bzw. Interleukinen (z.B. IL-1 β , TNF- α und IL-6) und Eicosanoiden (z.B. Prostaglandin E₂) steigt (FRISBIE 2012a; DENTON 2012; JACOBSEN et al. 2016). Synovia enthält physiologischerweise keine Gerinnungsfaktoren, Zellen oder Partikel. Im Zustand einer Entzündung ändert sich dies (DENTON 2012).

Knorpelzellen sind ein wichtiger Bestandteil synovialer Strukturen. Grundsätzlich sorgen diese an ihrem jeweiligen Ort für Stabilität, weshalb diese an druckbelasteten Stellen eingelagert sind. Sie sind in jedem Typ von synovialer Struktur individuell in unterschiedlichem Gehalt und Lokalisation integriert. In Schleimbeuteln und Sehnenscheiden sind die Gleitflächen der angrenzenden Strukturen durch eingelagerte Knorpelzellen verstärkt. In Gelenken sind die freien Enden der beteiligten Knochen mit hyalinem Knorpel überzogen (LIEBICH et al. 2009). Durch eine Entzündungsreaktion kann dieses Knorpelgewebe, abhängig vom Schweregrad,

geschädigt werden, was die Prognose *quoad restitutionem* und folglich *quoad functionem* für die betroffene Struktur erheblich beeinflussen kann.

2.1.2 Ätiologie der septischen Entzündung synovialer Strukturen

Grundsätzlich gibt es vier Wege, über die Bakterien eine synoviale Struktur infizieren können: hämatogen, *per continuitatem*, durch ein perforierendes Trauma oder iatrogen (VAN WEEREN 2016; WRIGHT et al. 2003).

Bei einer hämatogenen Infektion gelangen Mikroorganismen im Zustand einer Septikämie über die Vaskularisation der Synovialmembran in den Synovialraum (VAN WEEREN 2016; MCILWRAITH 2008). Durch einen septischen Prozess, der in der Nähe einer synovialen Struktur abläuft, können Infektionserreger *per continuitatem* die Synovialmembran und den Synovialraum besiedeln (VAN WEEREN 2016). Infolge eines perforierenden Traumas werden variable Mengen an Keimen aus der Umwelt in die synoviale Struktur eingebracht. Bei einer intraartikulären Injektion oder einem chirurgischen Verfahren kann eine synoviale Struktur iatrogen infiziert werden (VAN WEEREN 2016; TREMAINE 2000; HONNAS et al. 1991; MCILWRAITH 2008).

Eine penetrierende Wunde ist die häufigste Ursache einer septischen Arthritis bzw. Tenosynovitis bei adulten Pferden (VAN WEEREN 2016; SCHNEIDER et al. 1992b; TREMAINE 2000; TAYLOR et al. 2010; BERTONE 1999; HONNAS et al. 1991; SCHNEIDER 1998). Bei Fohlen hingegen entstehen septische Synovialitiden am häufigsten im Verlauf einer Septikämie durch hämatogen gestreute Erreger, die Gelenke und Sehnenscheiden infizieren (TREMAINE 2000; HONNAS et al. 1991; SCHNEIDER et al. 1992b; SCHNEIDER 1998).

Abhängig vom Infektionsweg gestaltet sich das beteiligte Keimspektrum (VAN WEEREN 2016; SCHNEIDER et al. 1992b). Nach iatrogenen Infektion lässt sich häufig der Erreger *Staphylokokkus aureus* nachweisen (VAN WEEREN 2016), wohingegen infolge eines Traumas eine inhomogene Mischflora vorzufinden ist (SCHNEIDER et al. 1992b; VAN WEEREN 2016; SCHNEIDER 1998).

2.1.3 Pathophysiologie der septischen Entzündung synovialer Strukturen

Die septische Entzündung einer synovialen Struktur stellt eine komplexe Antwort des Gewebes auf eine Kontamination in Folge eines perforierenden Traumas dar. Die Reaktion des Gewebes basiert auf einem balancierten System aus entzündungsfördernden und entzündungshemmenden Vorgängen. Sie sind für den Organismus überlebenswichtig, denn nur durch ihre feine Regulation kann eine überschießende Reaktion verhindert und letztendlich durch Selbstlimitation das Abklingen der Entzündung nach erfolgreicher Eliminierung des Entzündungsreizes und eine Wiederherstellung der Homöostase erreicht werden (DARGEL 1995; JACOBSEN und ANDERSEN 2007; KUSHNER 1982). Die Entzündungsreaktion verfolgt das Ziel, das infektiöse Agens einzudämmen bzw. zu zerstören, geschädigtes Gewebe zu beseitigen und die betroffene Struktur zu reparieren und so dessen Funktionsfähigkeit wiederherzustellen (KUSHNER 1982; NEUMANN 1995; FULLER 1993; MANLEY et al. 2006).

Die Antwort zeigt sich sowohl als lokales Geschehen wie auch in einer systemischen Reaktion. Den lokalen Prozessen liegt ein Netzwerk aus Entzündungszellen, wie Granulozyten, Lymphozyten und Makrophagen, und chemischen Mediatoren, die von diesen Zellen gebildet werden und deren Interaktionen regulieren, zugrunde (DARGEL 1995).

2.1.3.1 Lokale Entzündungsreaktion in der synovialen Struktur

Die Gewebe einer synovialen Einrichtung unterliegen einer physiologischen metabolischen Fluktuation, die auf einer Balance zwischen anabolem und katabolem Stoffwechsel beruht (FRISBIE 2012a). Auf eine Kontamination einer synovialen Struktur mit Mikroorganismen antwortet der Körper mit einer energischen Antwort in Form einer akuten Entzündungsreaktion, durch die der Organismus die Vermehrung der Erreger eindämmt und die Kontaminanten eliminiert (VAN WEEREN 2016; TREMAINE 2000).

Mikroorganismen und Fremdmaterial stellen Antigene dar, die vom Organismus registriert werden (MORTON 2005). Die Synovialmembran reagiert auf solche Antigene zunächst mit Hyperämie als Folge hämodynamischer Veränderungen (VAN WEEREN 2016; DARGEL 1995). Eine erhöhte vaskuläre Permeabilität erlaubt eine Extravasation und Migration von Entzündungszellen in den Synovialraum (DARGEL 1995; MORTON 2005; VAN WEEREN 2016; FÜRST et al. 2010). Rasch einströmende Leukozyten, vorwiegend neutrophile Granulozyten (DENTON 2012; TREMAINE 2000; FÜRST et al. 2010) und Makrophagen, werden durch die Antigene aktiviert und phagozytieren diese (DARGEL 1995; TREMAINE 2000). Dies ist gleichzeitig der Stimulus für die Entzündungszellen zur Freisetzung von Entzündungsmediatoren wie Interleukinen und Tumor-Nekrose-Faktor α (VAN WEEREN 2016; DARGEL 1995; TREMAINE 2000) und von Substanzen, die das Fremdmaterial zerstören, wie Enzymen (Kollagenasen, Lysozyme) und freien Radikalen (MORTON 2005; FÜRST et al. 2010).

Die infektiösen Agentien selbst produzieren daneben ebenfalls zahlreiche Toxine und Enzyme wie proteolytische Enzyme, die die Entzündungsreaktion triggern und die betroffenen Gewebe zerstören (VAN WEEREN 2016).

Die Blut-Synovium-Schranke wird unterbrochen, wodurch zusätzlich zahlreiche Immunmediatoren und Fibrin von außerhalb in den Synovialraum eindringen (TREMAINE 2000; MORTON 2005; FÜRST et al. 2010). Fibrinniederschläge beeinträchtigen die Funktion der Synovialmembran sowie die Ernährung des Gelenkknorpels (MCILWRAITH 2008; FÜRST et al. 2010). Aus diesen Vorgängen resultiert eine vermehrte Füllung des Gelenks bzw. ein Gelenkerguss mit gesteigerter Schmerzsensitivität der reichlich innervierten Kapsel (VAN WEEREN 2016).

Einen wichtigen Faktor in der Pathogenese von Arthritiden stellen Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) dar. MMPs umfassen eine Gruppe von katabolen Enzymen wie Proteasen bzw. Kollagenasen, die einen enzymatischen Abbau des betroffenen bzw. geschädigten Gewebes, wie der Synovialmembran und der Knorpelmatrix, initiieren. So tragen sie jedoch auch zum Abbau der Grundsubstanz und der Zerstörung der betroffenen Struktur bei. Entzündungsmediatoren, vordergründig IL-1 β , aber auch andere Zytokine, induzieren die Freisetzung von MMPs

aus neutrophilen Granulozyten, Synoviozyten Typ B und Chondrozyten. Auch das APP SAA bewirkt eine intraartikuläre Produktion von MMPs in diesen Zellen (TREMAINE 2000; FRISBIE 2012a; SPIERS 1994; MCILWRAITH 2008; JACOBSEN et al. 2016; O'HARA et al. 2004). Diese Knorpeldegeneration zieht einen Verlust der hauptsächlichlichen Matrixkomponenten, v.a. Aggrecan und Kollagen Typ II, mit sich (FRISBIE 2012a).

Zusätzlich werden die anabolen Stoffwechselwege herunter reguliert (FRISBIE 2012a; TREMAINE 2000). Die Reduktion der Synthese von Proteoglykanen hat eine Zerstörung des Proteoglykan-Hyaluron-Komplexes im Gelenkknorpel zur Folge (TREMAINE 2000). Dieser Proteoglykanverlust macht den Knorpel für physikalische Traumen anfällig, denn er verliert erheblich an Festigkeit (MCILWRAITH 2008).

Auch die von Bakterien produzierten proteolytischen Enzyme können die Knorpeloberfläche und andere betroffene Gewebe angreifen und zersetzen (DENTON 2012; VAN WEEREN 2016).

Synovia stellt durch ihre Zusammensetzung ein ideales Kulturmedium für Erreger dar (SCHNEIDER et al. 1992b; SCHNEIDER 1998). Mikroorganismen besiedeln neben dem Synovialraum die Synovialmembran, denn diese bietet ein optimales Milieu für Bakterienwachstum (VAN WEEREN 2016; SCHNEIDER et al. 1992b; SCHNEIDER 1998). Durch die anatomischen Gegebenheiten der Synovialmembran sind die Erreger an dieser Lokalisation schwierig zu erreichen, um sie mit therapeutischen Maßnahmen zu eliminieren. Fibrin bzw. Pannus bietet zusätzlich Nischen für Mikroorganismen und hemmt den physiologischen mechanischen Fluss bzw. die Diffusion der Synovialflüssigkeit, wodurch der intrasynoviale Zugang für systemisch zirkulierende antimikrobielle Wirkstoffe beschränkt wird (VAN WEEREN 2016; WRIGHT et al. 2003). Die Ansammlung von Eiter, Fibrin und Pannus beeinträchtigt zusätzlich den Stoffaustausch über die Synovialmembran und die intrasynoviale Ernährung. Daraus resultiert eine Anreicherung von Flüssigkeit im Synovialraum, was eine Ausdehnung der synovialen Struktur bewirkt und den intrasynovialen Druck steigert, was Schmerz verursacht (TREMAINE 2000; WRIGHT et al. 2003). Schwellung und Schmerz des Gelenkes behindern die normale Gelenkmobilität, was in Verbindung mit einem gesteigerten intrasynovialen Druck die Durchblutung der Synovialmembran herabsetzt

(VAN WEEREN 2016; TREMAINE 2000). Ischämie und anschließende Schädigung sowie Dysfunktion des Gewebes sind die Folge (VAN WEEREN 2016).

Neben der Störung der physiologischen Stoffwechsellistung einer synovialen Struktur werden durch den Entzündungsvorgang und den daraus resultierenden Metaboliten, wie degradierende Enzyme und Radikale, die betroffenen Gewebe geschädigt und zerstört. Unbehandelte septische Arthritiden resultieren in einer erheblichen Gelenkschädigung (VAN WEEREN 2016; DENTON 2012; WRIGHT et al. 2003). Der septische Prozess innerhalb eines Gelenkes kann nach Destruktion der Knorpelschicht auf den angrenzenden Knochen übergreifen und dann zur vollständigen Destruktion des Gelenkes führen (RÖCKEN 2013).

Durch das im Rahmen der Entzündungsreaktion abgeschiedene Fibrin kann es ohne Behandlung schnell zu Adhäsionen innerhalb einer Sehnenscheide bzw. eines Schleimbeutels kommen (HONNAS et al. 1991). Greift die septische Entzündung in einer Sehnenscheide oder einem Schleimbeutel auf tiefere Strukturen über, sind Sehnennekrosen bzw. Nekrosen der angrenzenden Gewebe die Folge (RÖCKEN 2013).

Diese Vorgänge führen letzten Endes zum vollständigen Funktionsausfall der betroffenen Struktur und steigern aufgrund einer infausten Prognose und somit eines häufig letalen Verlaufes bei insuffizienter Therapie die Morbidität und Mortalität des Patienten (VAN WEEREN 2016; DENTON 2012).

2.1.3.2 Systemische Entzündungsreaktion

Neben diesen lokalen Prozessen reagiert der Organismus je nach Ausmaß und Dauer der Schädigung mit einer unspezifischen systemischen Antwort, der APR, die durch Entzündungsmediatoren vermittelt wird (DARGEL 1995; JENSEN und WHITEHEAD 1998; MANLEY et al. 2006).

Die Initiation der Entzündungskaskade wird primär durch aktivierte Monozyten im Blut und Gewebemakrophagen am Ort des Entzündungsgeschehens ausgelöst (UHLAR und WHITEHEAD 1999). Die lokalen Entzündungszellen, neutrophile Granulozyten

und Makrophagen, produzieren im Rahmen des lokalen Geschehens Entzündungsmediatoren wie Zytokine, z.B. Interleukine, die neben den lokalen Vorgängen systemische Reaktionen induzieren, um optimale Konditionen für den Organismus bereitzustellen, der Infektion entgegenzuwirken und die Hämostase wiederherzustellen (JENSEN und WHITEHEAD 1998; UHLAR und WHITEHEAD 1999). Die Zytokine, wie IL-1, IL-6, TNF- α und transforming-growth-factor β , initiieren über das Blut, die Lymphflüssigkeit und Nervenbahnen eine Vielzahl an systemischen Reaktionen. Diese äußern sich als Fieber, gesteigerte Knochenmarkaktivität mit vermehrter Zellausschüttung und -differenzierung, metabolische Veränderungen in einigen Organen mit Auswirkung auf den Fett-, Kohlenhydrat- und Proteinstoffwechsel und den Elektrolyt- und Mineralstoffhaushalt sowie eine bedeutende Änderung im Proteinstoffwechsel in der Leber (JENSEN und WHITEHEAD 1998; KUSHNER und MACKIEWICZ 1993; UHLAR und WHITEHEAD 1999). Eine dieser Auswirkungen ist, auch aufgrund des vermehrten lokalen Verbrauchs, eine deutlich gesteigerte Produktion des Knochenmarks an neutrophilen Granulozyten und Makrophagen und deren Freisetzung in die Blutbahn und Migration in das verletzte Gewebe (MANLEY et al. 2006).

Die APR führt neben einer Leukozytose im Differentialblutbild zu einer charakteristischen Änderung des Plasmaproteinmusters (NEUMANN 1995; KUSHNER 1982; KUSHNER und MACKIEWICZ 1993; JENSEN und WHITEHEAD 1998; UHLAR und WHITEHEAD 1999; CRISMAN et al. 2008; MANLEY et al. 2006). Bereits KUSHNER definierte 1982, dass Plasmaproteine, deren Konzentration sich um mindestens 25 % gegenüber dem physiologischen Bereich ändert, als APP bezeichnet werden.

2.1.3.2.1 Leukozytenreaktion

Mit einem Anteil von etwa 95 % der Gesamtleukozyten beim gesunden Pferd stellen neutrophile Granulozyten und Lymphozyten den vorwiegenden Teil der im Blut zirkulierenden Abwehrzellen dar. Granulozyten bilden zusammen mit Monozyten, die

sich im Gewebe zu Makrophagen entwickeln, das unspezifisch wirksame Abwehrsystem (FEY 2017).

Neutrophile Granulozyten als dominierender Zelltyp der Leukozyten beim Pferd (WELLES 2010) stellen somit neben Makrophagen die erste Barriere der Abwehr gegen eingedrungene Mikroorganismen dar (NABITY und RAMAIAH 2010; TIZARD 2013a). Die Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten aus dem Gefäßsystem in das Gebiet des Gewebetraumas und der Infektion ist ein Kernpunkt der akuten Entzündungsreaktion (WEISS et al. 2010).

Gewebemakrophagen vor Ort sezernieren Chemokine und Interleukine, die neutrophile Granulozyten aus dem Gefäßsystem anlocken und ihre Emigration einleiten. Zunächst sind hämodynamische Veränderungen in dem Gebiet der Entzündung zu beobachten. Durch lokal freigesetzte Mediatoren wie Histamin werden ortsständige Endothelzellen stimuliert, die wiederum vasodilatatorisch wirksame Substanzen wie Prostazykin (PGI_2) und Stickstoffoxid (NO) sezernieren. Die dadurch initiierte Vasodilatation bewirkt einen verstärkten Blutstrom, wodurch die Durchblutung des betroffenen Gebietes zunimmt (Hyperämie) und der Blutfluss im Gefäßsystem an der Stelle abnimmt. So werden Scherkräfte herabgesetzt und der Leukozytenstrom im Gefäß verlangsamt (DARGEL 1995). Dadurch wandern diese aus der Mitte des Blutflusses im Gefäß an den Rand zum Endothel hin (Margination) und können dort anheften. Die Endothelzellen werden stimuliert, den Platelet-activating-factor (PAF) zu sezernieren, durch den ein Entlangrollen der neutrophilen Granulozyten getriggert wird. Die neutrophilen Granulozyten werden angeregt, Integrine zu produzieren. Diese Adhäsionsproteine binden an Endothelzellen, was die neutrophilen Granulozyten zu einem kompletten Anhalten bringt und diese fest an die Gefäßwand binden. Die vaskuläre Permeabilität steigt, denn durch Kontraktion der Endothelzellen werden die interzellulären Verbindungen gelockert und Lücken zwischen den Endothelzellen öffnen sich. Schließlich werden die neutrophilen Granulozyten durch Chemokine in das betroffene Gewebe angelockt und pressen sich durch die Lücken des Endothels oder migrieren durch die Endothelzellen hindurch (hier ein Anteil von ca. 20 %) (TIZARD 2013a; WEISS et al. 2010).

Neutrophile Granulozyten nehmen Bakterien und andere Partikel durch rezeptorvermittelte Phagozytose auf. Dabei wird ein Vesikel um die Substanz herum geformt und dieser dann verinnerlicht. Innerhalb des Vesikels wird die Substanz durch proteolytische Enzyme und sauerstoffreaktive Radikale zersetzt und es werden kleinere Vesikel geformt. Dieser Prozess ist insgesamt sehr komplex und noch nicht vollständig erforscht (WEISS et al. 2010). Neutrophile Granulozyten sezernieren eine Vielzahl an proinflammatorischen Mediatoren, die den Entzündungsprozess verstärken. Diese inkludieren Leukotriene, Prostaglandine, Zytokine und Chemokine (WEISS et al. 2010).

Die Anzahl der im Blut gemessenen Gesamtleukozyten beläuft sich beim Pferd im physiologischen Zustand auf Werte zwischen 5.000 und 10.000 pro μL (MORITZ et al. 2014) bzw. 5290 bis 13.750 pro μL (GIORDANO et al. 2008). Im Fall einer Leukozytose im Differentialblutbild können Werte von 14.000 bis 20.000 Leukozyten/ μL als moderat, von 21.000 bis 30.000 Leukozyten/ μL als deutlich und über 30.000 Leukozyten/ μL als höchstgradig angesehen werden (JAIN 1986).

Zu Beginn einer Entzündungsreaktion (perakute Phase) kann es durch das Auswandern der Leukozyten aus dem Gefäßsystem in das entzündete Gewebe (s.o.) zunächst zu einer Leukopenie im peripheren Blut kommen. Darauf folgt die Ausschüttung reifer Leukozyten aus ihren Speichern. Werden in der Peripherie mehr Leukozyten verbraucht als aus dem Knochenmark reife, funktionsfähige, segmentkernige neutrophile Granulozyten ins Blut abgegeben werden können, so werden jüngere, stabkernige neutrophile Granulozyten entlassen. Diese Kernlinksverschiebung zeigt bei Pferden stets eine schwere entzündliche Reaktion an (FEY 2017). Da Pferde ein granulozytäres Blutbild aufweisen (GASSMANN und LUTZ 2015), sind es meist die Veränderungen der neutrophilen Granulozyten, die die Änderung der Gesamtleukozyten ausmachen. Daher zeigt sich zunächst eine Verschiebung der Neutrophilen als relative und absolute Neutrophilie, bevor die Gesamtleukozyten ansteigen (FEY 2017). Eine Leukopenie ist ein wichtiger Befund und zeigt Krankheitsbilder an, die generell akut und schwerwiegend verlaufen (WELLES 2010). Die Leukozyten reagieren beim Pferd im Vergleich zu anderen Tierarten wesentlich träger (FEY 2017; MORITZ et al. 2014). Glukokortikoide fördern die Freisetzung von Leukozyten, ebenso wie von Erythrozyten, aus dem Knochenmark

und vermindern die Migration in das Gewebe. Im Gegensatz zu Lymphozyten ist es neutrophilen Granulozyten nicht möglich, in das Blutgefäßsystem zurück zu migrieren (FEY 2017; GASSMANN und LUTZ 2015).

2.1.3.2.2 Akute Phase Proteine

Die APP stellen eine heterogene Gruppe von ca. 30 verschiedenen Plasmaproteinen mit individuellen molekularen und physiologischen Eigenschaften dar (NEUMANN 1995; JACOBSEN und ANDERSEN 2007). Sie sind als Teil des unspezifischen, angeborenen Immunsystems in die Wiederherstellung der Hämostase und in die Eindämmung von Bakterienwachstum involviert, bis der Organismus eine erworbene Immunität entwickelt (MURATA et al. 2004).

APP werden als Glykoproteine vornehmlich in Hepatozyten der Leber nach Stimulation durch Zytokine wie Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-6 (IL-6) und Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF- α) gebildet (NEUMANN 1995; MURATA et al. 2004; JENSEN und WHITEHEAD 1998; UHLAR und WHITEHEAD 1999). Daneben findet eine extrahepatische Produktion von APP in Geweben statt, die fähig sind, diese zu synthetisieren (UHLAR und WHITEHEAD 1999).

Die Spiegel der APP orientieren sich am Umfang und an der Entwicklung des Schadens (NEUMANN 1995; MURATA et al. 2004). Nach einem initialen Konzentrationsanstieg äquivalent zum Ausmaß der Entzündungsreaktion sollten sich die Konzentrationen der APP in der Regenerationsphase wieder den Normalbereichen nähern. Bei erfolgloser Therapie persistieren hohe Konzentrationen bzw. steigen bei neuen Schüben des Entzündungsprozesses erneut an (NEUMANN 1995).

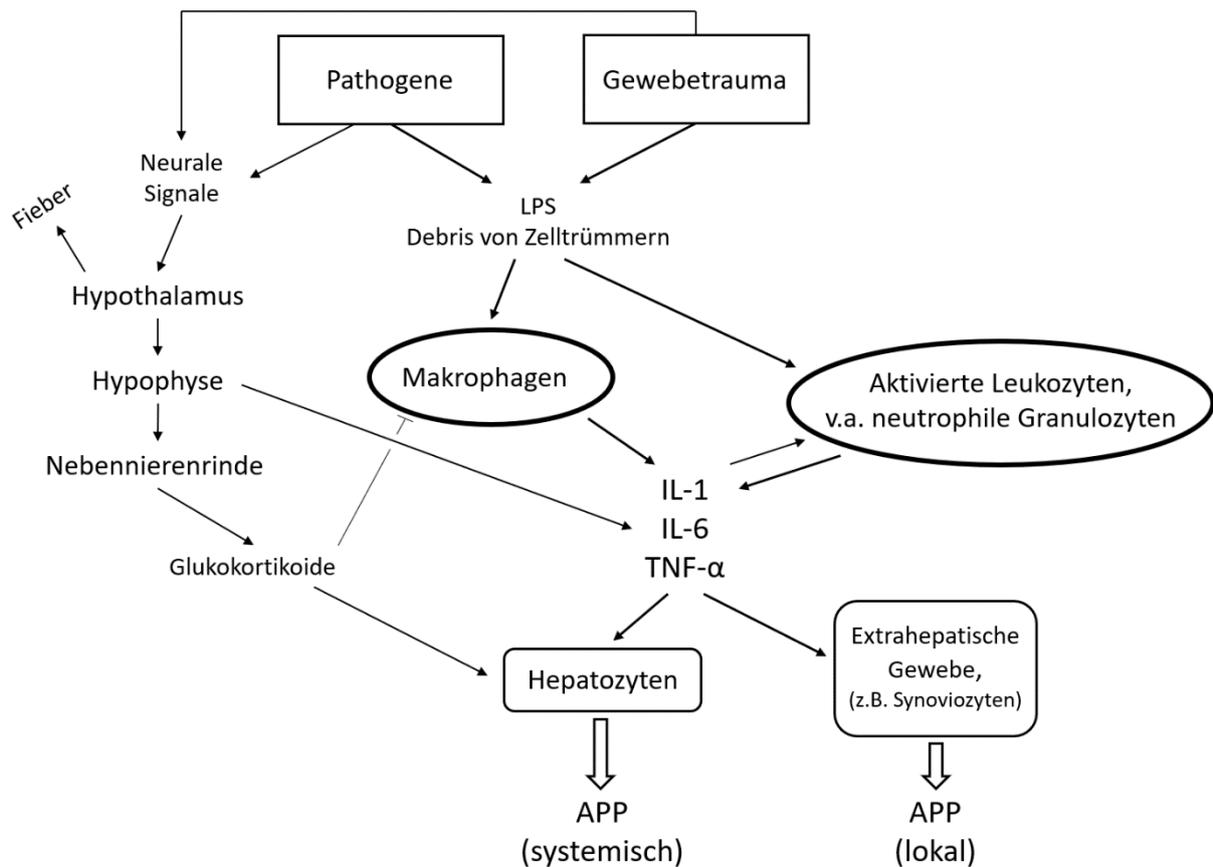


Abbildung 1 Kaskade der Induktion und Regulation von APP im Rahmen der APR (mod. nach JENSEN und WHITEHEAD 1998 und MURATA et al. 2004)

Je nach Verhaltensmuster als Antwort auf einen Entzündungsreiz werden positive APP, dessen Konzentrationen ansteigen, von negativen APP, dessen Konzentrationen sinken, unterschieden (MURATA et al. 2004; KUSHNER 1982; NEUMANN 1995; GRESSNER 1995; BELGRAVE et al. 2013; UHLAR und WHITEHEAD 1999; CRISMAN et al. 2008). Bei Pferden ist Albumin neben Transferrin das wohl bekannteste negative APP (AUER et al. 1989; KUSHNER 1982; MURATA et al. 2004; BELGRAVE et al. 2013; ALLEN und KOLD 1988). Während einer APR ist die Albuminsynthese zugunsten der hepatischen Synthese positiver APP herunterreguliert (CRISMAN et al. 2008). Ein sogenannter negativer Akute Phase Reaktant bei Pferden ist Eisen (JACOBSEN et al. 2009; AUER et al. 1989; ANDREASSEN et al. 2017).

Entsprechend des Ausmaßes ihres Konzentrationsanstieges nach Einwirkung eines entzündlichen Stimulus können die positiven APP in drei Gruppen eingeteilt werden: *Major* (starke), *Moderate* (mäßige) und *Minor* (schwache) APP (KUSHNER 1982; MURATA et al. 2004; JACOBSEN und ANDERSEN 2007; GRESSNER 1995; BELGRAVE et al. 2013; UHLAR und WHITEHEAD 1999; CRISMAN et al. 2008; KUSHNER und MACKIEWICZ 1993).

Major APP zeichnen sich durch sehr niedrige bzw. nicht detektierbare Plasmalevels in gesunden Individuen und stark steigenden Konzentrationen um das 10 bis 100 oder auch 1000-fache während einer APR aus. Bei erfolgreicher Therapie der zugrundeliegenden Erkrankung sinken die Konzentrationen wieder, da die Synthese sistiert, sobald der entzündliche Stimulus entfernt ist. Ein Rezidiv, ein Therapieversagen oder eine Sekundärinfektion werden durch wiederansteigende oder persistierend hohe Konzentrationen angezeigt (CRISMAN et al. 2008; JACOBSEN und ANDERSEN 2007; HALTMAYER et al. 2017; KUSHNER 1982; MURATA et al. 2004). Daher bietet die zirkulierende Konzentration an APP im Blut einen objektiven Faktor, um den Gesundheitszustand bzw. die Schwere einer zugrundeliegenden Erkrankung einzuschätzen und den Krankheitsverlauf zu überwachen (CRISMAN et al. 2008; HALTMAYER et al. 2017; MILLER et al. 2003). SAA ist das einzige momentan bekannte *Major* APP beim Pferd (JACOBSEN und ANDERSEN 2007; CRISMAN et al. 2008; KUSHNER 1982; MURATA et al. 2004). Bei Hund und Mensch wird das C-reaktive Protein vielfach genutzt. *Minor* und *Moderate* APP sind bereits bei gesunden Individuen im Plasma nachweisbar und verzeichnen einen Konzentrationsanstieg lediglich um das 1 bis 10-fache während einer APR. Fibrinogen und Haptoglobin sind Beispiele für *Moderate/Minor* APP beim Pferd (JACOBSEN und ANDERSEN 2007; KUSHNER 1982; MURATA et al. 2004).

2.1.3.2.2.1 Serum Amyloid A

SAA ist das zurzeit einzige klinisch angewendete *Major* APP beim Pferd (JACOBSEN und ANDRESEN 2007). SAA kommt im Blut gesunder Pferde in nur sehr geringen bis nicht detektierbaren Konzentrationen von 0,5 bis 20 µg/ml vor (JACOBSEN et al.

2006a; NUNOKAWA et al. 1993; BELGRAVE et al. 2013; STONEHAM et al. 2001; HULTEN et al. 1999). Equines SAA ist ein Apolipoprotein (JACOBSEN et al. 2006c; HUSEBEKK et al. 1986) mit einem Molekulargewicht von 14 kDa (HULTEN et al. 1997) und zirkuliert systemisch im Blut an high-density Lipoproteine (HDL) gebunden (HUSEBEKK et al. 1986; NEUMANN 1995; WITKOWSKA-PILASZEWICZ et al. 2018; JACOBSEN und ANDRESEN 2007; UHLAR und WHITEHEAD 1999). Das im Blut zirkulierende SAA wird in Hepatozyten der Leber synthetisiert (NEUMANN 1995; BERG et al. 2011). Darüber hinaus kann SAA lokal in Geweben nachgewiesen werden, die fähig sind, SAA zu synthetisieren (UHLAR und WHITEHEAD 1999; BERG et al. 2011; JACOBSEN et al. 2006c). Synoviozyten Typ B der Synovialmembran und Chondrozyten können SAA in Gelenken nach Stimulation durch IL-1 β und TNF- α produzieren (JACOBSEN et al. 2006c; JACOBSEN et al. 2016; BERG et al. 2011), was auch beim Menschen nachgewiesen ist (O'HARA 2004). Die Konzentration an SAA in physiologischer Synovia ist sehr gering bis nicht detektierbar (SANCHEZ-TERAN et al. 2016a; SANCHEZ-TERAN et al. 2016b; JACOBSEN et al. 2006a; ANDREASSEN et al. 2017; NUNOKAWA et al. 1993). Grundsätzlich steigt SAA bei septischen Arthritiden im Serum früher und höher bzw. deutlicher an als in der Synovia (LUDWIG et al. 2016; ANDREASSEN et al. 2017). Neben der Leber, die den hauptsächlichen Anteil der Synthese an SAA aufweist, und der Synovialmembran zeigen beim Pferd Mammarydrüse, Uterus, Lunge, Schilddrüse, Thymus und Pankreas ebenfalls eine Expression an SAA mRNA (BERG et al. 2011). Auch bei akuten entzündlichen Erkrankungen des Auges kann SAA im Glaskörper und Kammerwasser nachgewiesen werden (WALDNER et al. 2018). Die SAA-Gen-Transkription in diesen SAA-produzierenden Geweben ist vorwiegend induziert durch IL-1, IL-6 und TNF- α . IL-6 hat alleine nur einen geringen Effekt, kann aber gemeinsam mit IL-1 und TNF- α eine Induktion von SAA-Promotern zur Synthese von SAA generieren (JENSEN und WHITEHEAD 1998; O'HARA 2004; JACOBSEN et al. 2016). SAA ist beim Pferd im Serum und in der Synovia mit drei Isoformen mit verschiedenen isoelektrischen Punkten vertreten (HULTEN et al. 1997; JACOBSEN et al. 2006c; BERG et al. 2011). SAA1 und SAA2 werden vorwiegend in der Leber synthetisiert, während SAA3 die Isoform darstellt, die in extrahepatischen Geweben exprimiert wird (BERG et al. 2011).

Die Serumkonzentrationen von SAA sind geschlechtsunabhängig (NUNOKAWA et al. 1993) und die altersabhängigen Schwankungen der Spiegel sind zu gering, um klinisch

bedeutend zu sein (JACOBSEN und ANDRESEN 2007). Eine Ausnahme bilden neugeborene Fohlen, die innerhalb der ersten Lebenswoche (NUNOKAWA et al. 1993) bzw. in den ersten drei Lebenstagen (STONEHAM et al. 2003) erhöhte Werte zeigen, die sich nach einem Monat auf Tiefstwerte senken (NUNOKAWA et al. 1993). Insgesamt werden die Konzentrationen nicht durch eine Trächtigkeit beeinflusst, wenngleich in den letzten vier Monaten vor der Geburt zwar leichte, aber signifikante Erhöhungen festzustellen sind. Nach einer Geburt steigen die Konzentrationen an SAA im Blut vorübergehend moderat auf ein Maximum nach drei Tagen an und erreichen nach etwa einem Monat wieder Normwerte (NUNOKAWA et al. 1993).

Als Antwort auf einen Entzündungsreiz lösen verschiedene pathologische Zustände wie bakterielle und virale Infektionen, Kolik, respiratorische, ophthalmologische oder reproduktionsmedizinische Erkrankungen und elektive sowie nicht-elektive chirurgische und minimalinvasive Eingriffe einen raschen Anstieg der SAA Serumkonzentration aus (JACOBSEN und ANDRESEN 2007; POLLOCK et al. 2005; PETERSEN et al. 2004; MILLER 2003; PEPYS et al. 1989; NUNOKAWA et al. 1993; JACOBSEN et al. 2005). Dabei ist festzustellen, dass bakterielle Infektionen einen weitaus höheren Anstieg induzieren als virale Infektionen, die einen moderaten Anstieg erzeugen (BELGRAVE et al. 2013; PEPYS et al. 1989). Auch septische Synovialitiden lösen einen höheren Konzentrationsanstieg von SAA in Serum und Synovia aus als aseptische Entzündungen, bei denen die Werte vergleichbar mit denen von gesunden Pferden sind (LUDWIG et al. 2016; JACOBSEN et al. 2006a). Die hepatische Synthese sistiert, sobald der entzündliche Stimulus entfernt wurde, weshalb ein Konzentrationsabfall äquivalent zur Genesung des Patienten zu beobachten ist (CRISMAN et al. 2008; JACOBSEN und ANDERSEN 2007; JACOBSEN et al. 2005; KUSHNER und MACKIEWICZ 1993; JACOBSEN et al. 2006b; STONEHAM et al. 2001).

Grundsätzlich sind die Funktionen des SAA vielfältig und können in drei Zweige kategorisiert werden. Im proinflammatorischen Bereich hat es eine protektive Funktion in der Abwehr von Pathogenen und chemotaktische Eigenschaften für Leukozyten (UHLAR und WHITEHEAD 1999; MANLEY et al. 2006). Es rekrutiert Lymphozyten zum Ort der Entzündung und induziert die Synthese von Enzymen bzw. Mediatoren, die an der Entzündungsreaktion sowohl auf induzierender als auch auf hemmender

Ebene beteiligt sind. SAA ist ein chemischer Lockstoff für neutrophile Granulozyten, Monozyten und T-Zellen (TIZARD 2013b). Der Nachweis, dass SAA in Geweben exprimiert wird, die an der Körperoberfläche lokalisiert sind und mit der Umwelt kommunizieren, suggeriert die Annahme der protektiven Funktion als Teil der angeborenen körpereigenen Abwehr (BERG et al. 2011). SAA weist auf der anderen Seite eine antiinflammatorische Funktion auf, denn es induziert eine Herunterregulierung von proinflammatorischen Vorgängen, hemmt die Produktion von Antikörpern und hemmt den oxidativen Burst von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen, was einen oxidativen Gewebeschaden während einer Entzündungssituation verhindert (UHLAR und WHITEHEAD 1999; MANLEY et al. 2006). Außerdem besitzt SAA eine zentrale Position im Bereich des Lipid- bzw. Cholesterolem-Stoffwechsels. Während der ablaufenden Entzündungsreaktion findet ein gesteigerter Umsatz an Makrophagen und neutrophilen Granulozyten statt, die an der Regeneration und Reparatur des verletzten Gewebes beteiligt sind, denn diese phagozytieren zugrunde gegangene und fragmentierte Zellen und Zelltrümmer und geben deren Bestandteile, wie Cholesterolem und Phospholipide aus der Zellmembran, frei. Vor allem freies Cholesterolem ist toxisch für lebende Membranen. SAA ist als ein an HDL gebundenes Apolipoprotein zur Bindung von Cholesterolem fähig. Es unterstützt so die Beseitigung des Cholesterolem. Auf der einen Seite transportiert SAA das Cholesterolem zur Leber, damit es dort von Hepatozyten aufgenommen und mit der Galle sezerniert wird. Auf der anderen Seite transportiert es Cholesterolem zu freien Makrophagen, damit dieses zur Synthese von neuen Zellmembranen umgebaut und recycelt werden kann. So trägt SAA durch das Transportieren und Bereitstellen des Cholesterolem zur Regeneration des geschädigten Gewebes bei (MANLEY et al. 2006; UHLAR und WHITEHEAD 1999; TIZARD 2013b).

2.1.3.2.2 Fibrinogen

Fibrinogen ist ein stabförmiges, dimeres Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 340 kDa. Es wird von Hepatozyten nach Stimulation durch IL-6, welches von aktivierten Monozyten ausgeschüttet wird, produziert und zirkuliert im physiologischen Zustand im Plasma in einer Konzentration von 2 bis 4 g/L (FULLER 1993; CRISMAN

et al. 2008). Fibrinogen beteiligt sich als wichtiger Faktor an zahlreichen homöostatischen Prozessen. Es trägt die zentrale Rolle im Gerinnungssystem, welches neben dem Immunsystem eine wichtige Komponente der APR darstellt. Das Gerinnungssystem beinhaltet eine Kaskade von enzymatischen Effekten, an dessen Ende die Transformation des löslichen Proteins Fibrinogen in ein unlösliches Fibrinpolymer steht. Auf der Seite der Schädigung einer Gefäßwand bildet dieses zusammen mit der Aggregation von Zellen ein Proteinpropf zum Verschluss des Defektes. Dabei stellt es den hauptsächlichen Liganden für Thrombozyten und ihre Aktivierung dar (FULLER 1993). Außerdem ist Fibrinogen als ein Initiator der Phagozytose direkt an der Entzündungsreaktion beteiligt, denn durch Bindung an Integrine an der Zelloberfläche von Phagozyten (CD11/CD18) wird eine Signalkaskade ausgelöst, die Degranulation, Phagozytose und antikörperabhängige Zytotoxizität fördert (CRISMAN et al. 2008).

Darüber hinaus wird die Fibrinogenkonzentration im Blut in der Pferdemedizin häufig genutzt, um die Diagnose einer entzündlichen Erkrankung zu verifizieren, denn es zeichnet sich durch eine sensitive Reaktion in Form eines Konzentrationsanstieges im Serum um das Fünffache seines physiologischen Spiegels als Antwort auf eine Gewebeschädigung aus (ALLEN und KOLD 1988; FULLER 1993). Die Reaktion des Fibrinogens ist dabei äquivalent zum Grad des Gewebeschadens. Infektionen induzieren eine stärkere Antwort des Fibrinogens. Daher kann Fibrinogen wichtige Informationen bei der Unterscheidung von komplikationsreichen zu weniger komplikationsbehafteten Krankheitsverläufen nach einem chirurgischen Eingriff liefern (ALLEN und KOLD 1988). Insgesamt jedoch stellt Fibrinogen als *Minor APP* beim Pferd ein eher langsam reagierendes Entzündungsprotein dar (JACOBSEN et al. 2005; ALLEN und KOLD 1988; AUER et al. 1989; HULTEN et al. 2002).

Es liefert durch Bildung eines Fibrinnetzes einen zentralen Bestandteil in der Wundheilung, denn dieses Netz formt das Grundgerüst, in das Entzündungszellen wie Thrombozyten, neutrophile Granulozyten, Monozyten, Lymphozyten und andere Blutzellen eingefasst werden (FULLER 1993; CRISMAN et al. 2008). Dieses Grundgerüst ist essentiell, da es eine unlösliche Matrix zur Anhaftung von Entzündungszellen bietet. Solch ein Fibrinpolymer bildet ein poröses, gelähnliches

Netzwerk, das Proteine für den Reparatursprozess beinhaltet. So kann sich aus diesem Thrombozyten-Fibrin-Koagel eine recht lockere Matrix aus Glykosaminoglykanen und Kollagen formen, aus der zunächst dichteres Granulationsgewebe und schließlich repariertes Gewebe entsteht (FULLER 1993).

Tabelle 1 Charakteristika von SAA und Fibrinogen (MCGOVERN 2018)

Serum Amyloid A	Fibrinogen
Niedrige oder nicht detektierbare Konzentrationen bei gesunden Pferden	Immer im Plasma gesunder Pferde nachweisbar
Steigt >10-fach und schnell während einer Entzündung	Steigt 1-10-fach als Antwort auf eine Entzündung
Schneller Abfall bei Genesung	Braucht Tage bis Wochen bis zum Peak und Rückkehr zu Basalkonzentrationen
Rezidiv oder Sekundärinfektion resultiert in sekundärem Anstieg	

2.1.4 Diagnostik septischer Synovialitiden

Die diagnostische Abklärung einer vermuteten Infektion einer synovialen Struktur umfasst neben einer allgemeinen klinischen Untersuchung des Pferdes eine spezielle klinische Untersuchung mit Lahmheitsuntersuchung, Evaluation der Wunde und weiterführenden bildgebenden Untersuchungen wie Röntgen und einer sonografischen Untersuchung der betroffenen Gliedmaße. Eine Blutuntersuchung mit Bestimmung der Leukozytenzahl sowie Messung der APP Fibrinogen und SAA sollte ebenfalls durchgeführt werden. Zur weiteren verifizierenden Diagnostik ist eine Punktion der vermuteten betroffenen synovialen Struktur mit Untersuchung der daraus gewonnenen Synovia obligat (BERTONE 1999; VAN WEEREN 2016; MCILWRAITH 2008; BECCATI et al. 2015; WRIGHT et al. 2003; MADISON et al. 1991; RÖCKEN

2013). Durch Ballonierung der synovialen Struktur bei der Punktion und Abfluss von Flüssigkeit durch die Wunde kann eine direkte Verbindung zwischen Wunde und synovialer Struktur und somit eine Beteiligung bzw. Kontamination dieser bewiesen werden (BECCATI et al. 2015).

2.1.4.1 Klinische Anzeichen

Die typischen klinischen Symptome konzentrieren sich auf vermehrte Wärme und diffuse Schwellung des betroffenen Bereiches mit deutlichem Palpationsschmerz, vermehrte Füllung der betroffenen synovialen Struktur sowie eine manifeste Lahmheit mit Bewegungseinschränkung bzw. Beugehemmung der betroffenen Gliedmaße (VAN WEEREN 2016; MCILWRAITH 2008; JACOBSEN et al. 2006c; MORTON 2005; TREMAINE 2000; BERTONE 1999; BRYANT et al. 2019; SCHNEIDER et al. 1992b; HULTEN 2002; ANDREASSEN et al. 2017; HONNAS 1991; BERTONE 1987; TULAMO 1989). Der Grad der Schwellung des betroffenen Gelenks kann dabei mit dem Schweregrad der Lahmheit korrelieren (TULAMO et al. 1989).

Je nach Fortschritt der Infektion können sich Störungen des Allgemeinbefindens mit Fieber, Tachykardie und Tachypnoe zeigen (JACOBSEN et al. 2006c; MORTON 2005; MCILWRAITH 2008; SCHNEIDER et al. 1992b; TREMAINE 2000; HULTEN et al. 2002; ANDREASSEN et al. 2017; BERTONE 1987; TULAMO 1989).

Die klinischen Symptome treten gleichermaßen bei Pferden mit septischer Arthritis sowie Tenosynovitis auf (SCHNEIDER et al. 1992b). Klinische Symptome zeigen sich ab zwei (ANDREASSEN et al. 2017), acht (TULAMO et al. 1989) bzw. 48 Stunden (JACOBSEN et al. 2006c) post infectionem. Die Symptome können, auch abhängig vom Zeitpunkt der Vorstellung des Patienten, in verschiedenen Schweregraden auftreten (SCHNEIDER et al. 1992b; HONNAS et al. 1991; VAN WEEREN 2016; TREMAINE 2000; BRYANT 2019) und mit Voranschreiten des Krankheitsgeschehens ausgeprägter werden (HONNAS et al. 1991; TULAMO et al. 1989; MORTON 2005).

Wenn die betroffene synoviale Struktur so eröffnet ist, dass eine Drainage der Synovia entsteht, ist es möglich, dass Patienten lediglich eine mäßige Lahmheit zeigen, da eine

schmerzauslösende Dehnung der Synovialmembran ausbleibt (HONNAS et al. 1991; VAN WEEREN 2016; MORTON 2005; FÜRST et al. 2010).

2.1.4.2 Bildgebung

Bildgebende Verfahren können in der Diagnostik einer synovialen Infektion wertvolle zusätzliche Informationen liefern (VAN WEEREN 2016; BECCATI et al. 2015). Hierbei haben sich die Röntgen- und Ultraschalluntersuchung beim Pferd als sensitivste Verfahren erwiesen und sollten daher routinemäßig bei allen Pferden durchgeführt werden (VAN WEEREN 2016; MORTON 2005; BECCATI et al. 2015; ADKINS 2012).

Die Szintigrafie besitzt eine geringe Spezifität für septische Infektionen, da sich die Radionuklide gleichermaßen in Gebieten von unspezifischer Entzündung und septischer Infektion anreichern, und konnte sich daher bisher nicht als diagnostisches Mittel für diese Problematik durchsetzen (MORTON 2005).

Für die Anwendung von Computertomografie und Magnetresonanztomografie in der Diagnostik von septischen Infektionen existieren bislang nur wenige Daten, wohlgleich diese immer mehr Bedeutung durch wachsende Verfügbarkeit und Bezahlbarkeit in der Diagnostik muskuloskelettaler Erkrankungen bei Pferden erlangen (MORTON 2005).

2.1.4.2.1 Röntgen

Röntgenaufnahmen des betroffenen Gliedmaßenbereiches liefern neben zusätzlichen Informationen zur Diagnosestellung einer septischen Synovialitis vor allem Hinweise auf traumatische Schäden der angrenzenden Knochen, wie Fissuren oder Frakturen (MCILWRAITH 2008).

Ein ausgedehnter Synovialerguss kann röntgenologisch anhand einer Vergrößerung des betroffenen Gelenkspalts festgestellt werden (MCILWRAITH 2008; BUTLER et al. 2017). Eine periartikuläre Weichteilschwellung zeigt sich ebenfalls im Röntgen

(BUTLER et al. 2017; HULTEN 2002). Gasschatten im Weichteilgewebe im proximalen Aspekt der vermuteten synovialen Struktur stellen Lufteinschlüsse dar und suggerieren eine Eröffnung der synovialen Struktur (FÜRST et al. 2010; WRIGHT et al. 2003). Weiterhin zählen zu den röntgenologisch darstellbaren Veränderungen röntgendichte Fremdkörper, die durch das traumatische Ereignis eingespießt worden sein könnten (TREMAINE 2000).

Bei bereits fortgeschrittenem Prozess kann eine subchondrale Osteomyelitis röntgenologisch als eine durch die Knorpelzerstörung bedingte Einengung des Gelenkspalts oder punktförmige Bereiche einer Lysis identifiziert werden (MCILWRAITH 2008; TREMAINE 2000). Eine Beteiligung knöcherner Strukturen in Form von Osteoarthritis bei übergreifender Infektion auf den Knochen stellt sich als periostale Proliferation dar (MCILWRAITH 2008; TREMAINE 2000; MORTON 2005).

Eine Kontrastradiografie kann eine Verbindung zwischen der Wunde und der möglicherweise betroffenen synovialen Struktur nachweisen (BRYANT et al. 2019; TREMAINE 2000; MORTON 2005; FÜRST et al. 2010). Dabei bietet eine positive Kontrastradiographie alleine eine limitierte Aussagekraft aufgrund der moderaten Sensitivität und eignet sich nur in Verbindung mit anderen Diagnostika zur Bestätigung der Diagnose einer synovialen Infektion im Rahmen traumatischer Wunden (BRYANT et al. 2019).

2.1.4.2.2 Ultraschall

Die sonografische Untersuchung der betroffenen Region kann weitere Hinweise auf eine infizierte synoviale Struktur liefern, denn hierbei kann die Füllung des Gelenks, der Charakter der Synovialflüssigkeit und das umliegende Weichteilgewebe evaluiert werden (VAN WEEREN 2016; TREMAINE 2000; MORTON 2005; BECCATI et al. 2015; HONNAS 1991; WRIGHT et al. 2003; ADKINS 2012). Nicht selten gehen Durchtrennungen bzw. Rupturen von Sehnen oder Bändern mit einem Trauma einher, die mittels Ultraschalluntersuchung detektiert werden (HONNAS 1991; WRIGHT et al. 2003). Ein Gelenkerguss bzw. vermehrte Füllung der synovialen Struktur, eine Verdickung der synovialen Kapsel, vermehrte Echogenität der Synovia bzw.

hyperechogene Punkte, die als Fibrinanreicherungen angesehen werden können, sowie eine Proliferation der Synovialzotten sind Befunde, die Hinweise auf eine synoviale Infektion geben. Durch Bewertung und Graduierung dieser Befunde kann der Grad der Entzündung des Synoviums beurteilt und eingeschätzt werden (BECCATI et al. 2015; MORTON 2005; JACOBSEN et al. 2006c). Dabei zeigen sich eine vermehrte Füllung der synovialen Struktur und eine deutliche Verdickung der synovialen Kapsel als verlässlichste Kriterien. Fibrinanreicherungen treten häufig bei septischen Synovialitiden auf (BECCATI et al. 2015).

Die Befunde der Ultraschalluntersuchung zur Einschätzung des Entzündungsgrades der Synovia gestalten sich unabhängig vom Gehalt an Leukozyten in der Synovia (BECCATI et al. 2015).

Insgesamt richtet sich der Schweregrad dieser Befunde erheblich nach dem Zeitabstand zwischen Auftreten klinischer Symptome und Durchführung der Untersuchung. Dies sollte unbedingt bei der Interpretation der Befunde und der Diagnosestellung beachtet werden. Zudem kann es bei einer größeren Eröffnung der synovialen Kapsel zum Abfluss von Synovia kommen, was die Bewertung der Befunde verfälschen und zu einer Fehldiagnose führen kann. Die Ultraschalluntersuchung kann durch Vorhandensein von Luft, die durch die Wunde in die Unterhaut eingedrungen ist, erheblich beeinträchtigt werden und dadurch an Aussagekraft verlieren (BECCATI et al. 2015).

In manchen Fällen kann sonografisch eine Verbindung zwischen der Wunde und einer synovialen Struktur als beweisender Befund identifiziert werden (BECCATI et al. 2015; VAN WEEREN 2016; TREMAINE 2000; MORTON 2005). Knochensklerosierungen und Hinweise auf Schädigungen von Knorpel sowie subchondralem Knochen als Komplikationen bei vorangeschrittenem Krankheitsprozess sowie Fremdkörpereinspießungen können darüber hinaus im Rahmen einer Ultraschalluntersuchung detektiert werden (VAN WEEREN 2016; TREMAINE 2000; MORTON 2005; HONNAS 1991; WRIGHT et al. 2003).

2.1.4.3 Messung von Parametern im Blut

Sowohl experimentell induzierte aseptische und septische sowie klinische septische Synovialitiden bewirken als lokalen entzündlichen Prozess eine systemische Akute-Phase-Antwort, die als Konzentrationsanstieg von SAA, Fibrinogen und Leukozyten gemessen werden kann (HULTEN 2002; LUDWIG et al. 2016; JACOBSEN et al. 2006a; JACOBSEN et al. 2006c; ANDREASSEN et al. 2017).

2.1.4.3.1 Leukozyten

Blutleukozyten zeigen eine schnelle Reaktion bei experimentell induzierten Arthritiden, denn sie beginnen vier Stunden nach Induktion einer Arthritis zu steigen (JACOBSEN et al. 2006c; ANDREASSEN et al. 2017) und erreichen nach acht (ANDREASSEN et al. 2017) bzw. 12 Stunden (JACOBSEN et al. 2006c) ihren Konzentrationspeak mit Werten von bis zu $16 \times 10^9/L$ (JACOBSEN et al. 2006c; ANDREASSEN et al. 2017). Dabei ist die Höhe des Peaks eher abhängig vom Ausgangswert als von der Stärke des Entzündungsreizes (JACOBSEN et al. 2006c).

2.1.4.3.2 Fibrinogen

Fibrinogenkonzentrationen zeigen mit einem beginnenden Anstieg nach 24 Stunden eine recht späte Reaktion auf Arthritiden (ANDREASSEN et al. 2017; HULTEN et al. 2002). Insgesamt verhält sich der Konzentrationsverlauf moderat, denn Peakwerte nach 36 bis 72 Stunden von ca. 5 g/L liegen mit einem relativen maximalen Anstieg von 87 % nur knapp über den Basalwerten (HULTEN et al. 2002; ANDREASSEN et al. 2017).

2.1.4.3.3 Serum Amyloid A

Der maximale Anstieg der Serumkonzentration an SAA bei entzündlichen Gelenkserkrankungen ist signifikant höher als der von anderen Akute-Phase-Entzündungsmarkern wie Fibrinogen und Haptoglobin (HULTEN et al. 2002). Bei septischen Synovialitiden ist außerdem ein höherer Anstieg der SAA-Konzentration in Serum und Synovia zu verzeichnen im Vergleich zu aseptischen Synovialitiden, bei denen die Werte im physiologischen Bereich bleiben und denen gesunder Gelenke ohne entzündliche Vorgeschichte gleichen (LUDWIG et al. 2016; JACOBSEN et al. 2006a; ROBINSON et al. 2017). Damit weisen SAA-Konzentrationen in Serum und Synovia eine moderate bis hohe Sensitivität und Spezifität für die Differenzierung von synovialer Infektion zu aseptischen Gelenkserkrankungen bzw. gesunden synovialen Strukturen auf und eignen sich somit zur Diagnose einer septischen Synovialitis (ROBINSON et al. 2017). Dabei korrelieren die Konzentrationen an SAA in Serum und Synovia in der Initialmessung. Ebenso korreliert die SAA Serumkonzentration mit den Synoviaparametern Gesamtzellzahl und Totalprotein (ROBINSON et al. 2017).

Der Verlauf der Konzentration von SAA bei entzündlichen Gelenkserkrankungen zeigt ein typisches Muster, wonach die Konzentration nach 16 Stunden nach Insult anfängt zu steigen (HULTEN et al. 1999; ANDREASSEN et al. 2017) und einen Peak nach 36 Stunden (LUDWIG et al. 2016) bzw. 48 Stunden (JACOBSEN et al. 2006c; HALTMAYER et al. 2017; HULTEN et al. 1999; ANDREASSEN et al. 2017) erreicht. Dabei werden bei experimentell induzierten aseptischen Arthritiden Werte von 170 µg/ml (JACOBSEN et al. 2006c) bzw. 286 mg/L (HULTEN et al. 1999) erreicht, wobei die Höhe des Peaks von der Stärke des Entzündungsreizes (Dosis an LPS) abhängig ist (JACOBSEN et al. 2006c). Bei experimentell induzierten septischen Arthritiden werden Peakwerte von 354,3 µg/ml, gemessen mittels validiertem Immunoturbidometrie-Test, erreicht (LUDWIG et al. 2016). Pferde mit frischen (<24 Stunden alten) Verletzungen, die synoviale Strukturen penetrieren, weisen Serumkonzentrationen an SAA von bis zu 1666 µg/ml als Peak nach 48 Stunden auf (HALTMAYER et al. 2017). Nach Erreichen dieses Maximalwertes sinkt die Konzentration konstant wieder, bis Normwerte nach sechs bis acht Tagen

(HALTMAYER et al. 2017) bzw. 15 Tagen (HULTEN 2002; HULTEN et al. 1999) erreicht werden.

Bei septischen entzündlichen Gelenkserkrankungen zeigt die Konzentration an SAA aus Synovia einen verzögerten (12 Stunden später als in Serum) und schwächeren (135 µg/ml, Serum: 663 µg/ml) Anstieg als die aus Serum (LUDWIG et al. 2016; JACOBSEN et al. 2006c).

Konzentrationen an SAA in Serum und Synovia werden nicht durch Standardbehandlungen septischer Synovialitiden beeinflusst, das bedeutet weder durch wiederholte Arthrozentese (JACOBSEN et al. 2006a; SANCHEZ-TERAN et al. 2012; ANDREASSEN et al. 2017) noch durch intraartikuläre Amikacin-Gabe (SANCHEZ-TERAN et al. 2012) oder durch wiederholte arthroskopische Lavage (SANCHEZ-TERAN et al. 2016a) bzw. wiederholte Nadelspülung (SANCHEZ-TERAN et al. 2016b) verändern sich die Werte.

2.1.4.4 Synoviauntersuchung

Auch wenn die Ergebnisse der klinischen, bildgebenden und blutparametrischen Untersuchungen bereits eine Verdachtsdiagnose der septischen Synovialitis erlauben, kann zur Verifizierung eine Punktion mit Untersuchung der Synovia der vermuteten betroffenen Struktur nötig sein (VAN WEEREN 2016; MCILWRAITH 2008; MORTON 2005). Die Analyse der Synovia kann für Proben aus Sehnenscheiden genauso angewendet werden wie für die aus Gelenken (SCHNEIDER et al. 1992b).

Bei infizierten synovialen Strukturen infolge einer penetrierenden Verletzung kann es schwierig sein, eine Synoviaprobe zu gewinnen, denn das Volumen kann durch Drainage durch die Wunde reduziert sein oder Fibrinkoagel können eine Aspiration behindern (STEEL 2008; MCILWRAITH 2008).

Die wichtigsten Parameter der Laboranalyse einer Synoviaprobe zur Differenzierung einer septischen Synovialitis sind das makroskopische Erscheinungsbild, die Anzahl der Leukozyten, Differenzierung der Zellen und der Gehalt an Totalprotein. Eine bakterielle Untersuchung mittels kultureller Anzucht kann eine septische Entzündung

bestätigen (VAN WEEREN 2016; ROBINSON et al. 2017; STEEL 2008; MCILWRAITH 2008; MADISON et al. 1991).

2.1.4.4.1 Makroskopisches Erscheinungsbild

Physiologischerweise ist Synovia eine hellgelbe, klare und visköse Flüssigkeit. Sie gerinnt nicht, da im physiologischen Zustand kein Fibrin oder andere Gerinnungsfaktoren enthalten sind. Septische Synovialflüssigkeit präsentiert sich trüb bzw. flockig oder wolkig und kann orange oder rot erscheinen. Eine Trübung der Synovia lässt sich auf Produkte der Entzündungsreaktion, wie Zellen und Fibrin, zurückführen. Ihre Viskosität ist herabgesetzt, wobei die Synovia sehr wässrig werden kann. Blutbeimengungen in Synoviaprobe können von einer Hämarthrose durch Blutung des entzündeten Synoviums herrühren, sollten jedoch von einer iatrogenen Kontamination durch Arthrozentese unterschieden werden (VAN WEEREN 2016; TREMAINE 2000; DENTON 2012; ANDREASSEN et al. 2017; BERTONE 1999; HULTEN et al. 2002; VAN PELT 1974; MCILWRAITH 2008; BERTONE 1987; STEEL 2008; FÜRST et al. 2010). Bereits 12 Stunden nach dem Insult kann eine Probe makroskopisch diese pathologischen Veränderungen zeigen (TULAMO et al. 1989).

Da der Grad der Farbveränderung und Trübung der Synovia nicht mit dem Gehalt an Leukozyten und Totalprotein korreliert, haben die gemessenen Laborwerte eine verlässlichere Aussagekraft und sollten daher stets erhoben werden (TULAMO et al. 1989).

2.1.4.4.2 Gesamtleukozyten und Anteil neutrophiler Granulozyten

Die Bestimmung der Anzahl an Leukozyten in einer Synoviaprobe kann entweder manuell mittels Mikroskop und Hämozytometer oder durch automatisierte Zytometrie durchgeführt werden (STEEL 2008).

In physiologischer Synovia sind keine Zellen nachweisbar und somit ist der Gehalt an Gesamtleukozyten unter $0,5 \times 10^9/L$. Bei erstem Auftreten klinischer Symptome 8 bis 12 Stunden nach Insult fängt die Konzentration an Leukozyten in Synovia an zu steigen und erreicht ein Maximum nach 24 Stunden. Unter Bestehen der Infektion bleiben die Werte fortlaufend hoch (TULAMO et al. 1989). Werte ab 30 bis 40×10^9 Zellen/L sind hinweisend auf ein septisches Entzündungsgeschehen in der beprobten synovialen Struktur. In Gelenken mit einer septischen Arthritis kann der Gehalt auf Zahlen über $100 \times 10^9/L$ steigen (VAN WEEREN 2016; TULAMO et al. 1989; VAN PELT 1974; HONNAS 1991; MCILWRAITH 2008; BERTONE et al. 1987; BERTONE 1999; TREMAINE 2000; BRYANT et al. 2019; ANDREASSEN et al. 2017; COUSTY et al. 2017). Diese Werte sind auf Proben aus Sehnenscheiden übertragbar (STEEL 2008; TREMAINE 2000).

Bakterielle Infektionen resultieren in einer gesteigerten Antwort an neutrophilen Granulozyten, weshalb bei Vorliegen einer septischen Synovialitis der prozentuale Anteil der Gesamtleukozyten an neutrophilen Granulozyten erhöht ist (DENTON 2012; VAN PELT 1974). Daher weisen Werte von über 90 % auf ein septisches Geschehen hin (TULAMO et al. 1989; BRYANT et al. 2019; FÜRST et al. 2010).

2.1.4.4.3 Totalprotein

Der Gehalt an Totalprotein einer Synoviaprobe kann mittels Refraktometer oder durch biochemische Untersuchungen bestimmt werden. Er orientiert sich an der Konzentration an totalem Plasmaprotein und entspricht in physiologischem Zustand etwa 25-35 % des Gehalts im Blut desselben Tieres (STEEL 2008). Durch die Veränderungen des Entzündungsgeschehens diffundieren die Plasmaproteine, vor allem Albumin, in die Synovialflüssigkeit und so gleichen sich die Werte denen des Bluts an (ANDREASSEN et al. 2017).

Der Referenzbereich wurde bei bis zu 18 g/L definiert, wobei Werte von 20 g/L noch als physiologisch angesehen werden (VAN PELT 1974; BERTONE et al. 1987; TULAMO et al. 1989; BRYANT et al. 2019; ANDREASSEN et al. 2017). Werte über 25 g/L sind hinweisend auf eine Synovialitis (TREMAINE 2000). Eine Konzentration

an Totalprotein von über 40 g/L zeigt eine deutliche Entzündung der betroffenen synovialen Struktur an (MCILWRAITH 2008; VAN PELT 1974; TULAMO et al. 1989; BERTONE et al. 1987; BRYANT et al. 2019; ANDREASSEN et al. 2017; COUSTY et al. 2017).

Der Gehalt an Totalprotein steigt infolge des Entzündungsgeschehens in der Synovia an und erreicht unter septischen Bedingungen, abhängig von der Dauer bzw. des Fortschritts der Entzündungsreaktion, Werte deutlich über 40 g/L (BERTONE et al. 1987; TULAMO et al. 1989; BRYANT et al. 2019; STEEL 2008; ANDREASSEN et al. 2017).

Insgesamt steigt die Anzahl an Leukozyten in Synovia schneller an und erreicht einen Peak bei 24 Stunden nach Beginn der Entzündungsreaktion, wohingegen das Totalprotein langsamer ansteigt, jedoch über die gesamte Zeit steigende Tendenz, auch über Wochen, zeigt. So kann der zeitliche Verlauf der vorhandenen Entzündungsreaktion in der synovialen Struktur eingeschätzt werden (TULAMO et al. 1989; TREMAINE 2000; ANDREASSEN et al. 2017).

Bei Ergebnissen von Gesamtleukozyten über $30 \times 10^9/L$, einem Anteil von über 80 % an neutrophilen Granulozyten und/oder einem Totalprotein von über 40 g/L sollte die betroffene Struktur als infiziert angesehen werden, vor allem wenn dies durch das klinische Bild und weitere Befunde unterstützt wird (BERTONE 1999; MCILWRAITH 2008; WRIGHT et al. 2003). Insgesamt gestalten sich alle Werte abhängig vom Zeitabstand zwischen Insult und Probennahme und von der Menge und Virulenz der kontaminierenden Erreger (STEEL 2008).

2.1.4.4 Bakteriologische Untersuchung

Eine bakteriologische Untersuchung sollte in jedem Fall der vermuteten septischen Arthritis eingeleitet werden, denn ein positives Ergebnis bestätigt die septische Entzündung (VAN WEEREN 2016; STEEL 2008; DUMOULIN et al. 2010; MEIJER et al. 2000; MADISON et al. 1991; SCHNEIDER et al. 1992b; TULAMO et al. 1989). Die kulturelle Bakterienanzucht ist dabei eine sensitivere Methode zur Identifizierung von

ursächlichen Pathogenen als die Detektion von Mikroorganismen mittels mikroskopischer Untersuchung der Synoviaprobe (DUMOULIN et al. 2010; VAN WEEREN 2016; MADISON et al. 1991). Gleichzeitig kann ein Resistenztest auf antimikrobielle Wirkstoffe angefertigt werden. Aufgrund der hohen Rate an falsch negativen Ergebnissen bei Verwendung einer konventionellen Blutagarplatte sollte stets ein Blutkulturmedium zur Anzucht verwendet werden (DUMOULIN et al. 2010; VAN WEEREN 2016; WEESE et al. 2008; STEEL 2008; FÜRST et al. 2010). In der Humanmedizin wird zur Identifizierung eines verursachenden Erregers einer septischen Arthritis die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) angewendet, diese liefert jedoch keine Ergebnisse zur Resistenz der Erreger gegen antimikrobielle Wirkstoffe (VAN WEEREN 2016; STEEL 2008).

Es ist nicht ungewöhnlich, dass Fälle, die alle klinischen Anzeichen für eine septische Synovialitis erfüllen, ein negatives Ergebnis der bakteriologisch-kulturellen Untersuchung aufweisen, denn die Menge an Erregern, die Virulenz der Organismen und der Zeitabstand zwischen Infektion und Gewinnung der Probe sowie die Probenhandhabung sind Faktoren, die das Ergebnis beeinflussen (TULAMO et al. 1989; MEIJER et al. 2000; MCILWRAITH 2008; SCHNEIDER et al. 1992b). Bei experimentell induzierten septischen Arthritiden fallen 79 % der Ergebnisse positiv aus (TULAMO et al. 1989). Bei klinischen Fällen, d.h. Pferde mit septischen Synovialitiden aufgrund perforierender Verletzungen, fallen die Ergebnisse zu 76,3 % (SCHNEIDER et al. 1992b), 66,6 % (MEIJER et al. 2000), 32,9 % (TAYLOR et al. 2010) bzw. 32 % (MILNER et al. 2013) positiv aus. Eine Vorbehandlung mit systemisch verabreichten Antibiotika vor Probennahme hat weder Auswirkungen auf das Ergebnis noch auf die Zeitdauer für den Nachweis (DUMOULIN et al. 2010; TAYLOR et al. 2010).

Pferde mit septischen Entzündungen synovialer Strukturen aufgrund von penetrierenden Verwundungen weisen in den meisten Fällen eine gemischte Bakterienkultur auf. Durch die Wunde findet eine Kontamination mit vielen variablen Keimen aus der Umwelt statt (SCHNEIDER et al. 1992b). Bei septischen Arthritiden sind grampositive Erreger mit ca. 73 % deutlich mehr vertreten als gramnegative mit ca. 25 %. Anaerobe Erreger werden selten nachgewiesen (DUMOULIN et al. 2010, SCHNEIDER et al. 1992b).

2.1.5 Therapeutische Optionen

Die Therapie einer infektiösen Synovialitis beabsichtigt, die verursachenden Mikroorganismen und ihre schädlichen Substanzen zu eliminieren, sowie Pannus mit Fibrin, Proteinen, Radikalen, destruktiven Enzymen und Zellen, die aus der Entzündungsreaktion resultieren, und geschädigtes Gewebe, zu entfernen (MCILWRAITH 2008; VAN WEEREN 2016; WEESE et al. 2008; WRIGHT et al. 2003). Dabei werden zwei hauptsächliche Wege befolgt: die Unterbrechung des Fortschreitens der Entzündung und Ausbreitung der Infektion sowie die Reduktion von Schmerz, um die Funktionalität der synovialen Struktur wieder zu erlangen (FRISBIE 2012b). Daher bildet die grundlegende Therapie einer septischen Entzündung synovialer Strukturen eine Lavage des Synovialraums zur vollständigen Eliminierung von Erregern und Entzündungsmaterial, wie Zellen, Proteinen, destruktiven Enzymen und Fibrin. Die Kombination mit einer systemischen Therapie mit antimikrobiellen und analgetischen Wirkstoffen ergänzt dies (VAN WEEREN 2016; SCHNEIDER et al. 1992b; SCHNEIDER et al. 1992a; BERTONE et al. 1987; HONNAS et al. 1991; TREMAINE 2000; MORTON 2005; MEIJER et al. 2000; COUSTY et al. 2017; WRIGHT et al. 2013; FÜRST et al. 2010).

Penetrierende Wunden mit Beteiligung von synovialen Strukturen werden als Notfälle angesehen und sollten umgehend versorgt werden (VAN WEEREN 2016; MEIJER et al. 2000; FÜRST et al. 2010). Eine zeitliche Verzögerung muss verhindert werden, da diese ein Fortschreiten der Entzündungsreaktion und ein Ausbreiten der Erreger erlaubt (HONNAS et al. 1991; WEESE et al. 2008).

2.1.5.1 Chirurgische Versorgung mit arthroskopischer Lavage

Heutzutage ist für eine adäquate Lavage die arthroskopisch gestützte Methode das Mittel der Wahl (VAN WEEREN 2016; MEIJER et al. 2000; COUSTY et al. 2017; WRIGHT et al. 2003). Diese ermöglicht eine Spülung mit adäquatem Flüssigkeitsvolumen und Druck und erlaubt eine visuelle Beurteilung des Synoviums und des Gelenkknorpels. Früh auftretende Schäden am Gelenkknorpel können direkt detektiert werden. Sonstige häufige Befunde sind Pannus, Fremdmaterial wie Haare,

Dornen, Holz- oder Glassplitter, knöchernen oder osteochondrale Fragmente, osteochondrale Defekte ohne Fragmentation, Knorpelverlust, Osteomyelitis und Sehnen- oder Bänderdefekte. Mittels der arthroskopisch gestützten Lavage kann ein Debridement mit Entfernung dieser pathologischen Materialien durchgeführt werden (TREMAINE 2000; WRIGHT et al. 2003; SCHNEIDER et al. 1992a; FÜRST et al. 2010). Gleichzeitig ist eine chirurgische Versorgung der im Rahmen der Verletzung entstandenen Wunde mit Wunddebridement und -verschluss möglich (MEYER et al. 2000).

2.1.5.2 Antibiotische Therapie

Eine hohe Konzentration an antibiotischen Wirkstoffen innerhalb der synovialen Struktur und in der Synovia sind Voraussetzung für eine schnelle Elimination der kontaminierenden Bakterien (SCHNEIDER et al. 1992a). Idealerweise sollte jede antimikrobielle Therapie an die beteiligten Erreger und ihre Empfindlichkeit gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen angelehnt werden. In der Praxis sind diese Informationen zum Zeitpunkt der initialen Therapieeinleitung meist nicht vorhanden, jedoch sollte trotz dessen eine Therapie unmittelbar begonnen werden (VAN WEEREN 2016; MEIJER et al. 2000; MORTON 2005). Aufgrund des häufig breit gefächerten Spektrums beteiligter Erreger sollten daher zunächst Antibiotika mit breitem Wirkspektrum eingesetzt werden. Die Auswahl an antimikrobiellen Wirkstoffen sollte im weiteren Verlauf dem Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung mit Resistenztest angeglichen werden (HONNAS et al. 1991; VAN WEEREN 2016; MORTON 2005; MEIJER et al. 2000). Außerdem wird die initiale Auswahl an antimikrobiellen Wirkstoffen anhand von wünschenswerten Charakteristika, wie Empfindlichkeit gegenüber gewöhnlichen Erregern, bakterizide Wirkung, die Fähigkeit therapeutische Wirkstoffkonzentrationen in synovialen Geweben und Knochen zu erreichen sowie minimale Toxizität und unerwünschte Nebenwirkungen, getätigt (MORTON 2005; WEESE et al. 2008). Aufgrund der limitierten Verfügbarkeit an antimikrobiellen Wirkstoffen in der Pferdemedizin haben sich gängige Kombinationen für eine Breitspektrumtherapie zusammengestellt. Ein häufig genutzter Wirkstoff gegen grampositive Erreger ist Amoxicillin. Um gramnegative Bakterien zu eliminieren,

werden oft Aminoglykoside und Fluorchinolone verwendet. Metronidazol wird eingesetzt, wenn die Beteiligung von anaeroben Erregern im Verdacht steht (MORTON 2005; SCHNEIDER 1998; WEESE et al. 2008; WRIGHT et al. 2003; FÜRST et al. 2010).

Neben der systemischen Verabreichung ist eine intraartikuläre bzw. intrasynoviale Instillation von Antibiotika sinnvoll, denn hierdurch können hohe Wirkstoffkonzentrationen in der infizierten synovialen Struktur erzielt werden (WEESE et al. 2008; TREMAINE 2000; VAN WEEREN 2016; MORTON 2005; COUSTY et al. 2017; HALTMAYER et al. 2017; FÜRST et al. 2010). Hierbei ist zu beachten, dass Wirkstoffe angewendet werden, die nicht knorpelschädigend sind oder das intrasynoviale Gewebe irritieren, da das Risiko einer chemischen Synovialitis besteht. Als geeignet und effektiv haben sich Aminoglykoside bewährt (WEESE et al. 2008; VAN WEEREN 2016; FÜRST et al. 2010). Ein gängiges Protokoll ist die Instillation von 250-500mg/Gelenk/24h Amikacin während einer Punktion zur Probennahme oder im Anschluss an eine arthroskopische Lavage, wobei der Wirkstoff auch abhängig vom Volumen der synovialen Struktur dosiert wird (WEESE et al. 2008; COUSTY et al. 2017; SCHNEIDER et al. 1992a; FÜRST et al. 2010). Durch eine regionale Stauungsantibiose an der jeweiligen Gliedmaße wird im betroffenen Bereich auch im umliegenden Gewebe eine hohe Wirkstoffkonzentration erreicht (VAN WEEREN 2016; WRIGHT et al. 2013; HALTMAYER et al. 2017; TREMAINE 2000; FÜRST et al. 2010).

2.1.5.3 Analgetische und entzündungshemmende Therapie

Zur Schmerzreduktion ist eine systemische Gabe von analgetischen und antiphlogistischen Wirkstoffen indiziert, wobei in der Pferdemedizin für eine längerfristige Therapie nichtsteroidale Antiphlogistika (NSAIDs) angewendet werden (VAN WEEREN 2016; MORTON 2005; FÜRST et al. 2010; HONNAS et al. 1991; SCHNEIDER et al. 1992a). Bislang ist keine Studie vorhanden, die den Effekt von systemisch applizierten NSAIDs auf die SAA Serumkonzentration bei Pferden untersucht. Bei Kälbern und Ziegen wurde bisher nachgewiesen, dass diese die SAA Serumkonzentration nicht beeinflussen (PLESSERS et al. 2016; KARADEMIR et al. 2016).

2.1.5.4 Ergänzende Maßnahmen

Für die Zeit der akuten Entzündungsphase und der Wund- und Knorpelheilung ist eine Ruhigstellung in Form von Boxenruhe und Anlegen eines schützenden und stabilisierenden bzw. immobilisierenden Verbands, wenn möglich eines Casts, unabdingbar. So wird eine adäquate Heilung und ein Schutz der synovialen Struktur, des Gelenkknorpels und der Wunde ermöglicht. In Abhängigkeit vom Kosten-Nutzen-Gleichgewicht wird der Verband bzw. Cast zur Reinigung und Beurteilung der Wunde sowie zur Bewertung des Zustandes der synovialen Struktur regelmäßig gewechselt (TREMAINE 2000; MEIJER et al. 2000; MORTON 2005; WRIGHT et al. 2003; HALTMAYER et al. 2017; FÜRST et al. 2010).

2.1.6 Postoperatives Management

In der postoperativen Phase beinhaltet das Verfahren mit den Patienten zum Einen eine Fortführung der medikamentellen Therapie mit analgetischen und antiphlogistischen sowie antibiotischen Wirkstoffen und zum Anderen ein Monitoring des Krankheitsverlaufes, um die Heilungsphase bewerten, ein Rezidiv der Entzündungsreaktion erkennen und mittels Anpassung der Therapie bzw. erneuter chirurgischer Therapie intervenieren zu können (WRIGHT et al. 2003; COUSTY et al. 2017; HALTMAYER et al. 2017; TREMAINE 2000; TULAMO et al. 1989; MEIJER et al. 2000; HONNAS et al. 1991; BERTONE et al. 1987; ANDREASSEN et al. 2017; MORTON 2005).

2.1.6.1 Krankheitsüberwachung

Grundlegend verfolgt die postoperative Krankheitsüberwachung die Analyse der Entzündungssituation in der betroffenen synovialen Struktur zur Bewertung der Heilung. Hauptsächlich werden dafür die klinischen Parameter, die bereits in der Diagnostik bedeutend sind, wie Lahmheit der betroffenen Gliedmaße, Fieber sowie Schmerzhaftigkeit und Schwellung des betroffenen Bereichs, verwendet. Diese

Beurteilung gestaltet sich subjektiv. Zudem wird eine wiederholte Arthrozentese im postoperativen Verlauf mit Bestimmung der Synovialwerte durchgeführt (COUSTY et al. 2017; WRIGHT et al. 2003; LUDWIG et al. 2016; TREMAINE 2000; TULAMO et al. 1989; MEIJER et al. 2000; HONNAS et al. 1991; BERTONE et al. 1987; ANDREASSEN et al. 2017; HALTMAYER et al. 2017; WRIGHT et al. 2003; SCHNEIDER et al. 1992a). Für die letzten beiden Aspekte ist ein Verbands- bzw. Castwechsel notwendig (MORTON 2005; SCHNEIDER et al. 1992a).

Zur Beurteilung der lokalen Entzündungssituation kann darüber hinaus die Bewertung der systemischen Entzündungsreaktion herangezogen werden. Der Verlauf des Leukozytengehalts im peripheren Blut hat eine beschränkte Aussagekraft, denn die Konzentration steigt nur moderat an und zeigt einen parabelförmigen Verlauf mit einem späten Peak nach 10 Tagen (BERTONE et al. 1987). Ein neuer Ansatz beruht auf der Analyse des Verlaufs der APR zur Einschätzung des Krankheitsverlaufes und der Reaktion bzw. des Ansprechens auf eine Therapie, was mittels Messung von APP im Blut verdeutlicht wird (JACOBSEN und ANDERSEN 2007; GRUYS et al. 2005; ECKERSALL und BELL 2010; MILLER et al. 2003; POLLOCK et al. 2005; BELGRAVE et al. 2013; PEPYS et al. 1989; WITKOWSKA-PILASZEWICZ et al. 2018; MILLER et al. 2006; HULTEN et al. 2002; ANDREASSEN et al. 2017). Bereits in der postoperativen Überwachung nach Kastrationen und minimalinvasiven Eingriffen (JACOBSEN et al. 2005; MILLER et al. 2006; MILLER et al. 2003) sowie im Monitoring von verschiedenen Krankheitsbildern wie Infektionskrankheiten, Neoplasien und Kolik (BELGRAVE et al. 2013; JACOBSEN und ANDERSEN 2007) hat sich SAA als hilfreicher Marker bewiesen. Auch in der Humanmedizin wird das C-reaktive Protein (CRP) als Parameter zur Verlaufskontrolle des Krankheitsgeschehens und der Behandlung bei septischen Arthritiden genutzt (COUSTY et al. 2017; ECKERSALL und BELL 2010).

2.1.6.2 Dauer der Therapie

Die Dauer der schmerz- und entzündungshemmenden Therapie wird an das Erscheinungsbild des Patienten bezüglich seiner Schmerzhaftigkeit, das heißt

Auftreten von Lahmheit und Palpationsschmerz, oder anderen Entzündungsanzeichen angelehnt (MEIJER et al. 2000).

Grundsätzlich gestaltet sich die Dauer der antibiotischen Therapie empirisch und basiert auf persönlicher Erfahrung (COUSTY et al. 2017). Vorwiegend wird die Beendigung der Therapie vom klinischen Erscheinungsbild des Patienten abhängig gemacht (MORTON 2005; WRIGHT et al. 2003; SCHNEIDER et al. 1992b; TREMAINE 2000; FÜRST et al. 2010). MEIJER et al. 2000 führten die Behandlung mit Antibiotika in ihrer Studie für mindestens eine und höchstens drei Wochen nach Gelenkspülung fort. Eine Begründung für diese Zeitangabe wurde nicht erläutert. MORTON 2005 gibt an, die antimikrobielle Therapie fortzuführen, so lange klinische Anzeichen einer septischen Arthritis bestehen und die Parameter der Synoviauntersuchung verändert sind. Auch WRIGHT et al. lehnten in ihrer Studie von 2003 die Dauer der Gabe an Antibiotika individuell an das Auftreten klinischer Symptome an. Näher klassifizierten sie die Kriterien als Verbesserung der Lahmheit, Reduktion der Oberflächentemperatur im Bereich der betroffenen Struktur, Füllungsgrad der Struktur und perisynoviale Schwellung. Die Dauer der antimikrobiellen Therapie betrug im Durchschnitt 13 Tage mit einer Spanne von 6 bis 54 Tagen. SCHNEIDER et al. 1992b gaben an, dass die Patienten ihrer Studie über die Zeit des Aufenthaltes in der Klinik oder in manchen Fällen darüber hinaus behandelt wurden. Im Durchschnitt waren dies 21,2 Tage. Die Pferde wurden entlassen, als Anzeichen einer Infektion beseitigt waren. TREMAINE 2000 gibt an, dass die Verabreichung von Antibiotika über ein bis zwei Wochen nach Abklingen der Infektion und ohne Verschlechterung von klinischen Anzeichen weitergeführt werden sollte. In der retrospektiven Studie von HONNAS et al. 1991 bekamen alle Pferde Antibiotika für eine durchschnittliche Dauer von 13 Tagen (Range 0 bis 60 Tage). Der Zeitpunkt des Absetzens der Antibiotika wurde durch den betreuenden Tierarzt bestimmt. Weitere Begründungen für das Absetzen wurden nicht genannt. HAERDILANDERER et al. 2010 weisen darauf hin, dass bei einer systemischen Therapie mit Antibiotika auf eine ausreichend hohe und erhaltende Serumkonzentration des Wirkstoffes geachtet werden sollte. So können entsprechende intraartikuläre Konzentrationen mit der Minimalen Inhibitorischen Konzentration (MIC) gegen Bakterien für einen ausgedehnten Zeitraum erreicht werden. Dieser Zeitraum wurde mit einem Vorschlag von 10 bis 14 Tagen deklariert.

2.1.7 Prognose

Auch wenn sich die Prognose für Pferde mit septischer Entzündung synovialer Strukturen heutzutage durch den Zuwachs an modernen Behandlungsmethoden verbessert hat, ist sie dennoch als vorsichtig zu betrachten, denn viele verschiedene Faktoren beeinflussen die Wahrscheinlichkeit für Überleben und Leistungserhalt. Die Virulenz des infektiösen Agens, das Alter des Patienten, die Anzahl an betroffenen synovialen Strukturen, die Dauer des Geschehens und die Entzündungssituation bei Beginn der Therapie bestimmen maßgeblich den Verlauf (VAN WEEREN 2016; WRIGHT et al. 2003; TREMAINE 2000; FÜRST et al. 2010). Patienten, die initial niedrigere Werte der Synoviauntersuchung aufweisen, vornehmlich die Gesamtleukozytenzahl und der Anteil an neutrophilen Granulozyten, verzeichnen einen besseren Ausgang als Patienten mit hohen Entzündungswerten in der initialen Synoviauntersuchung (COUSTY et al. 2017). Vor allem kristallisiert sich hier das Totalprotein der Synovia, sowohl prä- als auch postoperativ, als prognostischer Faktor heraus (MILNER et al. 2013). Außerdem besitzen das Ausmaß an Vorkommen von Pannus in der synovialen Struktur sowie der Grad der Lahmheit in der initialen Untersuchung eine prognostische Bedeutung. Die Dauer der Gabe an systemisch verabreichten Antibiotika und die Anzahl an chirurgischen Eingriffen beeinflussen als postoperative Kriterien die Prognose (MILNER et al. 2013; WRIGHT et al. 2003). Auch wenn wenige Studien keinen Zusammenhang zwischen Zeitspanne von Insult zu Therapiebeginn und Prognose nachweisen konnten (MILNER et al. 2013; WALMSLEY et al. 2011), ist vor allem die Eliminierung der Infektion bedeutend, bevor irreversible Knorpelschäden auftreten, denn so werden bleibende Folgeschäden verhindert und betroffene Patienten können in einen einwandfreien Zustand mit voller Einsatzfähigkeit zurückkehren (SCHNEIDER et al. 1992b). Hierfür ist eine frühe Diagnose, bestenfalls innerhalb der ersten 24 Stunden nach Insult, und eine intensive Behandlung essentiell, denn dadurch werden Infektion und Entzündung rasch beseitigt und eine voranschreitende Knorpeldegeneration und Osteoarthritis verhindert. Eine Verzögerung erlaubt eine Ausdehnung des infektiösen Prozesses, was die Prognose verschlechtert (HONNAS et al. 1991; LUDWIG et al. 2016; TREMAINE 2000; MEIJER et al. 2000).

Als quantitative Verdeutlichung erhoben WRIGHT et al. 2003 in ihren Untersuchungen einen Anteil von 90 % der Pferde mit Kontamination bzw. Infektion synovialer Strukturen insgesamt, die überlebten. Bei Gelenksbeteiligung überlebten 89 %, 94 % der Patienten mit Beteiligung einer Sehnenscheide und 87 % mit Beteiligung einer Bursa überlebten. Bei Beteiligung mehrerer synovialer Strukturen überlebten 92 % der Patienten. 81 % der Pferde insgesamt kehrten zu ihrem ursprünglichen Leistungsniveau zurück. Davon wiesen die Pferde mit Beteiligung einer Sehnenscheide mit 86 % den größten Anteil an Pferden auf, die zu ihrem ursprünglichen Leistungsniveau zurückkehrten. Bei einer Gelenksbeteiligung waren es 81 %, bei Beteiligung einer Bursa 60 % und bei Beteiligung mehrerer Strukturen 67 %. Auch in der Studie von Schneider et al. 1992b war der Ausgang für Patienten mit septischer Entzündung einer Sehnenscheide signifikant besser als bei Patienten mit septischen Gelenken. Alle Pferde mit infizierter Sehnenscheide überlebten und wurden aus der Klinik entlassen (100 %). 86 % der behandelten Pferde mit septischer Gelenkentzündung nach Trauma wurden aus der Klinik entlassen. Eine mögliche Erklärung fanden SCHNEIDER et al. 1992b in der Tatsache, dass Sehnenscheiden keine großen Oberflächen an Knorpel und subchondralem Knochen beinhalten, die durch eine Infektion irreversibel geschädigt werden können. In einer Sehnenscheide können Fibrose und Adhäsionen zwischen der Sehne und der Sehnenscheidenmembran auftreten (SCHNEIDER et al. 1992b). In der Studie von HONNAS et al. (1991) kehrten 55 % der überlebenden Patienten mit septischer Tenosynovitis zu ihrem ursprünglichen Einsatz zurück. MILNER et al. 2013 stellten ebenfalls fest, dass die Überlebenswahrscheinlichkeit bei Beteiligung einer Bursa geringer ausfällt als bei Gelenkbeteiligung.

2.2 Studienziel

Aufgrund der anatomischen Gegebenheiten der distalen Gliedmaße des Pferdes mit einem recht dünnen Schutz an Weichteilgewebe gelten penetrierende Weichteilverletzungen als häufigste Ursache infizierter Synovialitiden in diesem Bereich (HONNAS et al. 1991).

Die Diagnostik und Überwachung bei solchen Patienten kann herausfordernd sein, denn nicht nur die klinischen Anzeichen, sondern auch die weiteren diagnostischen Bausteine zeigen oft kein eindeutiges Ergebnis für eine beginnende oder wiederaufflammende septische Entzündung einer synovialen Struktur (ROBINSON et al. 2017; JACOBSEN und ANDERSEN 2007; STEEL 2008; ADKINS 2012). Die beschriebenen klinischen Anzeichen sind nicht sehr spezifisch für eine septische Synovialitis, denn ein Trauma der Gliedmaße alleine verursacht bereits dieselben Symptome (VAN WEEREN 2016). Die Gewinnung einer Synoviaprobe kann scheitern oder die Punktion einer synovialen Struktur ist kontraindiziert, denn sie birgt stets ein Risiko der iatrogenen Infektion, vor allem bei Punktion durch kontaminiertes oder entzündetes Hautgewebe hindurch (STEEL 2008). Ebenso ermöglichen die Ergebnisse der Synoviauntersuchung nicht immer eine eindeutige Diagnose der septischen Synovialitis, denn die Werte unterliegen dynamischen Veränderungen entsprechend der Entwicklung der Entzündungsreaktion und bieten Spielräume mit Graubereichen. Die Sensitivität der bakteriologischen Untersuchung einer Synoviaprobe ist niedrig, so dass auch hier ein bestätigendes Ergebnis in vielen Fällen ausbleibt (SCHNEIDER et al. 1992b; MEIJER et al. 2000; TAYLOR et al. 2010; MILNER et al. 2013).

Der Verlauf der systemischen Konzentration an APP spiegelt die Entzündungssituation in der betroffenen synovialen Struktur wider (HALTMAYER et al. 2017). Die Eigenschaften des SAA machen es zu einem idealen, objektiven Marker für eine klinisch ablaufende Entzündungsreaktion und Gewebeschädigung. Demnach ist es gut geeignet für ein „Real-Time Monitoring“ der akuten Entzündungsreaktion während einer Behandlung (WESTERMAN et al. 2015; JACOBSEN und ANDERSEN 2007; BELGRAVE et al. 2013; JACOBSEN et al. 2006b).

Ziel dieser Studie ist es, zu evaluieren, inwiefern sich das APP SAA als Marker im Blut zur klinischen Frühdiagnostik von septischen Synovialitiden bei Pferden mit akuten Gliedmaßenverletzungen eignet bzw. welchen klinischen Wert dieser Parameter liefert und wie dieser mit den bereits vorhandenen Diagnostika kombiniert genutzt werden kann. Hierzu wird der initial gemessene Wert der SAA Serumkonzentration zwischen Pferden mit Gliedmaßenverletzungen mit und ohne Beteiligung synovialer Strukturen verglichen und in Korrelation zu den herkömmlich verwendeten Diagnostika, d.h. den Blutparametern Leukozyten und Fibrinogen, den Ergebnissen der klinischen Untersuchung und den Werten der Synoviauntersuchung, gestellt. Zudem wird untersucht, welchen Wert SAA im postoperativen Management mit Therapieanpassung und Krankheitsüberwachung von Patienten mit akuten Gliedmaßenverletzungen mit Beteiligung synovialer Strukturen liefert. Der Verlauf der SAA Serumkonzentration dieser Patienten wird dafür analysiert und mit den üblicherweise verwendeten Überwachungskriterien, der Gliedmaßenfunktion und Körperinnentemperatur, verglichen. Es wird evaluiert, ob eine Anlehnung des Managements an den Verlauf der SAA Serumkonzentration mit Anpassung der Therapie sinnvoll ist.

3. Eigene Publikation I

Systemic Serum Amyloid A in early (<24 h) diagnosis of acute synovial structure involvement in horses with penetrating limb injuries

A.C. Müller, K. Büttner, M. Röcken

The Veterinary Journal

(Journal Impact factor: 2.750)

Volume 277, 2021

DOI: 10.1016/j.tvjl.2021.105759

Accepted 28 September 2021

Abstract

Synovial structure involvement secondary to limb injury is a common emergency in equine practice, requiring an accurate initial diagnosis for immediate treatment. This study aimed to investigate the clinical usefulness of Serum Amyloid A (SAA) in the initial diagnosis of synovial structure involvement caused by acute (<24 h) penetrating limb injuries in horses and to correlate SAA with standard diagnostic parameters. Fifty-five horses with acute limb injuries were divided into two groups: Group 1 (G1, $n=26$) with a diagnosis of penetrating synovial trauma and Group 2 (G2, $n=29$) without synovial structure penetration. Serum SAA, white blood cell (WBC) count and fibrinogen as well as clinical criteria and synovial fluid parameters were assessed on admission. The two groups were compared using a two-sample t -test (metric parameters) or a Wilcoxon-Mann-Whitney test (ordinal parameters). Correlation was determined between serum SAA and the following parameters: WBC count, fibrinogen,

synovial total nucleated cell count (TNCC) and percentage of neutrophils (%N), body temperature and the degree of lameness.

Serum SAA concentrations were not different between G1 and G2, however, there were significant differences in the degree of lameness, horses' general health and in the synovial fluid parameters. In G1, serum SAA concentrations positively correlated with fibrinogen concentrations and synovial fluid %N. Nonetheless, SAA cannot be used as a sole tool to diagnose synovial structure involvement caused by limb injuries. Synovial fluid parameters remain the most important tool in the diagnosis of synovial penetration. In cases where synoviocentesis failed or was impossible, serum SAA may support diagnosis.

Keywords: Equine; Limb injuries; Serum Amyloid A; Synovial structure involvement; Septic synovitis

Introduction

Penetrating limb injuries with involvement of synovial structures are common emergencies in equine practice. The detection of joint, tendon sheath or bursa involvement can be difficult if the standard diagnostic work-up is inconclusive. Routine clinical criteria as such as fever or lameness are not pathognomonic for synovial sepsis and even synovial fluid (SF) parameters can offer inconclusive information as synovial cell count and total protein can diverge (Schneider et al., 1992; Morton, 2005; Jacobsen and Andersen, 2007; Steel, 2008; Robinson et al., 2017). Moreover, SF collection is sometimes unsuccessful (Steel, 2008).

Synovial contamination with pathogens causes a strong inflammatory reaction (Honnas et al., 1991; Schneider et al., 1992; Meijer et al., 2000; Tremaine, 2000; van Weeren, 2016). An incorrect diagnosis or a delayed therapy of septic synovitis can lead to irreversible damage of the affected synovial structure (Schneider et al., 1992). Therefore, an early and accurate diagnosis is important to restore soundness and to

avoid permanent damage of the affected synovial structure in terms of cartilage degradation, fibrosis or adhesion formation (Schneider et al., 1992; Wright et al., 2003; Frisbie, 2011; van Weeren, 2016).

The acute phase response (APR), an early systemic reaction to synovial contamination, is the body's first barrier for pathogens preventing further entry. The central effect of the APR, the hepatic synthesis of acute phase proteins (APP), results in an increase of the plasma concentration of these proteins (Kushner, 1982; Fuller, 1993; Jensen and Whitehead, 1998; Uhlir and Whitehead, 1999; Manley et al., 2006; Crisman et al., 2008). As a major APP in horses, Serum Amyloid A (SAA) has been established as the most significant parameter for acute inflammation in equine veterinary practice. Systemic SAA levels rise according to the degree of the inflammatory stimuli (Pepys et al., 1989; Nunokawa et al., 1993; Jacobsen et al., 2005; Belgrave et al., 2013). Physiologically, SAA has low plasma concentrations. The SAA response to an inflammatory or infectious insult is characterised by a rapid and severe increase of up to 1000-fold within only 16 h (Hultén et al., 1999; Andreassen et al., 2017). Additionally, extra-hepatic tissues such as synoviocytes are able to express isoforms of SAA corresponding to local SAA increase (Jacobsen et al., 2006b; Ludwig et al., 2016). Systemic SAA plasma concentrations can be used to reflect the intra-articular inflammatory status (Hultén et al., 2002; Jacobsen et al., 2006a; Ludwig et al., 2016; Robinson et al., 2017). Under experimental conditions, septic synovitis induces a higher and stronger increase of SAA plasma concentrations than aseptic synovial diseases such as osteoarthritis, osteochondrosis or non-septic tenosynovitis (Jacobsen et al., 2006a; Ludwig et al., 2016; Robinson et al., 2017). Due to the delayed and flattened intra-articular SAA increase, synovial SAA may not be a useful indicator for an early diagnosis of infectious synovitis (Ludwig et al., 2016; Stack et al., 2019).

To date, only a few experimental (Hultén et al., 2002; Jacobsen et al., 2006b; Ludwig et al., 2016) and clinical (Jacobsen et al., 2006a; Robinson et al., 2017) studies have compared the SAA plasma concentrations in septic and non-septic joint diseases. To the authors' knowledge, this is the first study investigating the clinical usefulness of SAA in the early (<24 h) diagnosis of synovial structure involvement caused by acute

penetrating limb injuries in horses. The aim of the present study was to characterise the role of SAA as a systemic biomarker in the clinical diagnosis of synovial structure involvement caused by acute penetrating limb injuries in horses within the first 24 h post-injury. Furthermore, our goal was to correlate systemic SAA results with standard diagnostic parameters.

Materials and methods

Horses

The Ethics Committee of the regional council in Giessen, Hessen, Germany did not consider this study an animal experiment (reference number kTV 6-2018; 15 August, 2018). All blood and SF samples were harvested as part of a routine diagnostic work-up of the cases. All owners gave their consent for the results to be used for this study's research purposes.

Fifty-five horses of mixed breed, age and sex (Table 1), presented to the Equine Clinic (Surgery, Orthopaedics), Justus-Liebig-University, Giessen for further work-up of acute penetrating soft tissue trauma in the limb region that had occurred within 24 h prior to admission, were included in this prospective cross-sectional study. The study design limited inclusion criteria to open cuts or lacerations in the limb region. Horses with other clinical signs of acute systemic infection or inflammation or with injuries older than 24 h were excluded from the study. Average time of recognition of the injury by the owner to horses' admission to the clinic was 4 h. In most cases, horses were not observed at the time of the injury, but owners assured a time span <24 h. A thorough clinical examination and routine blood work (white blood cell (WBC) count, plasma fibrinogen concentration, SAA concentration) were performed on each horse at the time of admission to the clinic. In all cases, synovial structure involvement secondary to the injury was suspected. The diagnosis or exclusion of synovial structure involvement was made immediately, based on the results of the initial clinical examination, blood work, SF analysis, synovial pressure-leak testing, digital radiography and/or ultrasonography. If synovial puncture was successful, SF samples were submitted for bacterial culture and sensitivity testing to guide antimicrobial

treatment. The history of pre-treatment by the referring veterinarian with antimicrobials and non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) was recorded. The horses were divided into two groups. Group 1 (G1, $n=26$) represented the subject group and included horses with a definite diagnosis of synovial structure penetration caused by the injury, whereas group 2 (G2, $n=29$) was considered as the reference group and consisted of horses with exclusion of synovial structure involvement secondary to the injury.

Table 1

Summary of horses' information.

Group	Number of horses	Median age years (range)	Sex (n)	Breed (n)
1 (diagnosis of synovial structure involvement)	26	9 (0.2-22)	Gelding (11) Mare (11) Stallion (4)	German warmblood (11), pony (4), Arabian horse (4), Quarter horse (2), Paint (1), Haflinger horse (1), Andalusian horse (1), Fjord horse (1), mix (1)
2 (without synovial structure involvement)	29	10 (0.3-24)	Gelding (12) Mare (16) Stallion (1)	German warmblood (19), pony (2), Arabian horse (2), Quarter horse (2), Thoroughbred (1), Haflinger horse (1), Andalusian horse (1), mix (1)

Blood sample collection and SAA analysis

Blood was collected in tubes containing K₃EDTA (EDTA KE micro tube, Sarstedt) for the determination of WBC (reference range 3.5-9.4 x10⁹/L); tubes

containing trisodium citrate (citrat 3,2 % micro tube, Sarstedt) for the determination of plasma fibrinogen concentration (reference range 1.1-3.5 g/L); and tubes with clotting activator (serum tube, Sarstedt) for serum samples for the analysis of SAA (reference range <2.7 µg/mL). WBC analysis was carried out using an automatic cell counter (Advia 2120 Hematology System, Siemens Healthcare GmbH or ProCytte Hematology Analyzer, Idexx GmbH). Serum and citrated plasma were either analysed immediately or stored at -20 °C for a maximum of 63 h before analysis. Serum SAA concentrations were determined by the immunoturbidometric method (LZ SAA, Eiken Chemical Co.). Fibrinogen concentrations were determined by the coagulometric Clauss method (STA Liquid Fib reagent, Stago) and mechanic measurement of coagulation in an automated analyzer (STA Compact Max3, Stago).

Clinical examination

Each horse was scored for general health condition and degree of lameness. Heart rate (beats per minute, bpm) and rectal temperature (°C) were measured and recorded. The assessment was always carried out by the same trained veterinarian. General health condition was scored in accordance with a validated composite orthopaedic pain scale in horses as good (score 0), lightly (score 1), moderately (score 2) or profoundly (score 3) reduced and was based on behaviour, posture and general physical parameters (Bussières et al., 2008). Lameness was assessed at walk and graded as sound (score 0) or with mild (score 1), moderate (score 2) or profound (score 3) lameness, depending on the extent of weight bearing on the affected limb at every step (according to the American Association of Equine Practitioners [AAEP] lameness scale grade 3-5).

Synovial fluid analysis

For the SF work-up, the gross appearance, total nucleated cell count (TNCC), percentage of neutrophils (%N) and total protein (TP) was assessed. SF samples were obtained by the routine aseptic technique and were collected in K₃EDTA tubes (EDTA KE micro tube, Sarstedt). An aliquot was transferred into blood culture bottles (Oxoid Signal blood culture system, Thermo Fisher Scientific GmbH) for bacterial culture (Dumoulin et al., 2010) including sensitivity testing. Bacterial culture results were

categorised for statistical analysis in negative (score 1), low (score 2), moderate (score 3) or severe (score 4) bacterial growth or “no culture conducted” (score 0). Gross appearance was scored based on colour, turbidity and viscosity of the SF sample (Table 2). Determination of TNCC and %N was performed from the EDTA sample by an automatic cell counter (Advia 2120 Hematology System, Siemens Healthcare GmbH or ProCyte Hematology Analyzer, Idexx GmbH). TP was quantified by refractometry (handheld refractometer, A. Kruess Optronic GmbH).

Table 2

Scoring for synovial gross appearance.

Score	Color	Turbidity	Viscosity
1	Pale yellow	Clear	Viscous
2	Yellow or red	Clear to turbid	Watery
3	Yellow to white	Turbid to cloudy	Watery
4	White	Purulent	Pasty

Statistical methods and data analysis

For an a priori sample size calculation, an effect size was assumed with one. The alpha error was set to 0.05 and the power (1-beta) to 0.9. The minimum sample size per group for a two-group comparison was given with 23 animals per group. Descriptive statistics were generated for all variables in the data set to describe the study population. The data was tested for normality with the Shapiro-Wilk test. SAA values, synovial TNCC and %N were non-normally distributed and thus \log_{10} transformed to normalise the statistical model. For detection of statistically significant differences in WBC count, serum SAA and fibrinogen concentrations, the clinical parameters heart rate and body temperature as well as synovial parameters TNCC, %N and TP, results were compared between the two groups using a two-sample *t*-test. Group comparisons for detection of statistically significant differences in ordinal parameters evaluated by scoring systems, such as general health condition, degree of lameness, synovial appearance and results of synovial bacterial culture, were carried

out using a Wilcoxon-Mann-Whitney test. Correlation between serum SAA concentrations and the following values: WBC count, plasma fibrinogen concentration, synovial TNCC and %N as well as body temperature was tested by calculating Pearson's correlation coefficient (r) within each group. Spearman's correlation coefficient (r_s) was determined to investigate a correlation between serum SAA concentrations and the degree of lameness.

A P -value of < 0.05 was considered to indicate statistical significance. The statistical analysis and graphical presentation of the data were performed using statistical software SAS 9.4 (SAS Institute Inc., 2013), Microsoft Excel (Microsoft Corporation, 2016) and IBM SPSS Statistics 26 (IBM Corporation, 2020).

Results

Horses

Twenty-six of 55 horses (47 %) were diagnosed with synovial structure involvement secondary to limb injury. The most frequently affected synovial structure was the digital flexor tendon sheath (27 %, $n=7$), followed by the fetlock joint (15 %, $n=4$; Fig. 1). All of these structures were treated with arthroscopic lavage immediately after admission. The wounds were debrided and closed by suture. Medical treatment with antimicrobials and NSAIDs was started on the day of admission, after sample collection. In some cases, medical treatment had already been initiated by the referring veterinarian. In these cases, the preferred NSAID applied was flunixin meglumine (27 %), whereas amoxicillin or respectively penicillin was the first choice of antimicrobials (18 %). However, most of the horses did not receive any premedication before referral (see Appendix A: Supplementary material).

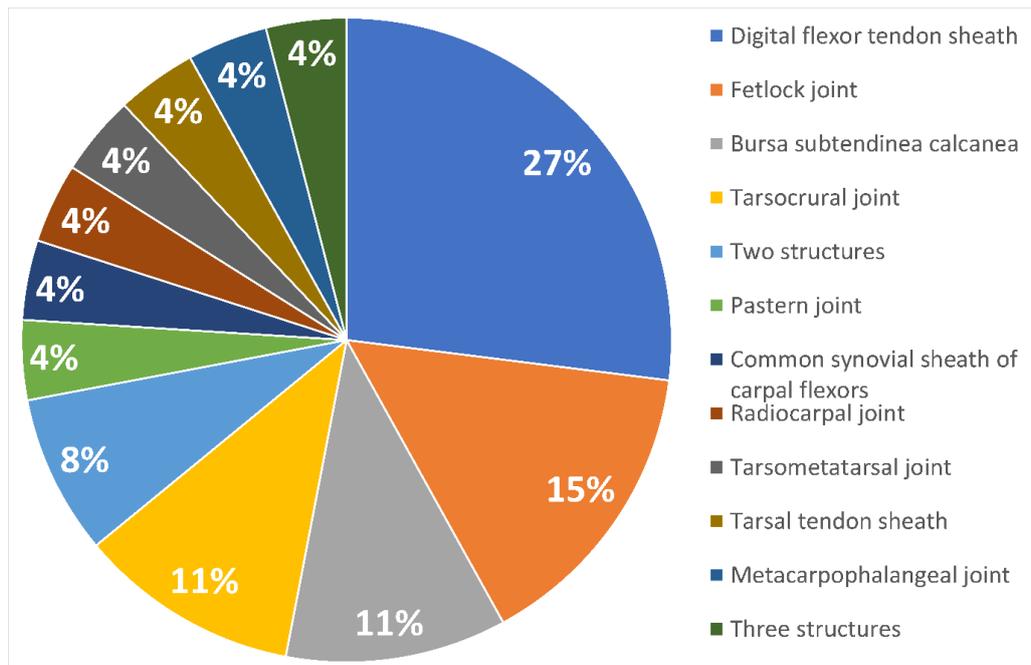


Fig. 1. Distribution of involved synovial structures from horses included in G1.

SAA and other blood parameters

Median serum SAA concentrations were not different between groups (G1: 6.9 µg/mL; G2: 4.1 µg/mL; $P = 0.07$; Table 3). Mean serum SAA levels were higher and had a greater range in horses with synovial structure penetration caused by limb injuries (mean value of 196.59 µg/mL, range 0.01-2100.9 µg/mL), than in horses without synovial structure penetration (mean value of 35.26 µg/mL, range 35.26-439.7 µg/mL; Fig. 2, Table 3). Parameters of variability for SAA showed a wide range in both groups, but especially in G1, with an IQR of 271.8 µg/mL (Table 3).

WBC count ($P = 0.96$) and fibrinogen concentrations ($P = 0.85$) were not different between groups and mean values of each group were close to or within reference ranges (Table 3).

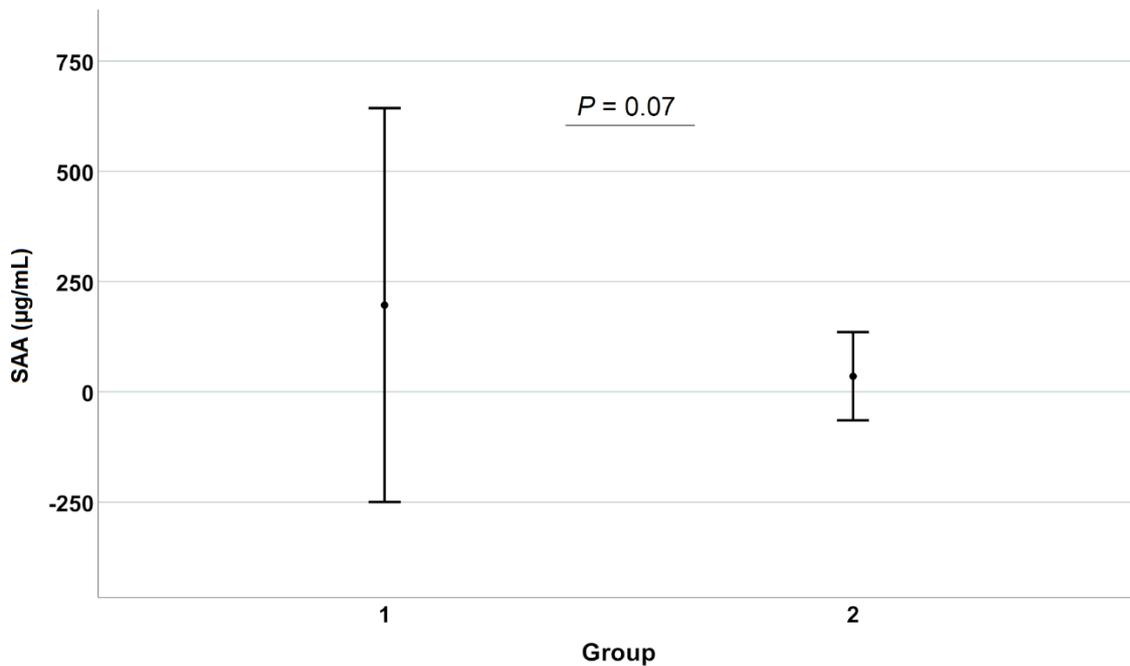


Fig. 2. Mean \pm standard deviation (SD) of Serum Amyloid A (SAA) concentrations of both groups, signing no statistically significant difference between groups (P related to the \log_{10} values).

Clinical signs

Horses with synovial structure penetration, G1, showed a higher lameness score in the affected limb. These horses showed moderate lameness at walk (median score 2), compared to horses without synovial structure involvement, which showed only mild lameness at walk (median score 1). The horses in G1 generally presented with a slightly reduced general health condition (median score 1), whereas horses in G2 were in good general health condition (median score 0; Table 3). A comparison between the groups revealed significant differences in the degree of lameness ($P < 0.001$) and general health condition ($P = 0.04$; Table 3).

Heart rate and rectal body temperature were not significantly different between groups (Table 3). In G1, horses had a mean heart rate of 55 bpm and in G2, mean heart rate of 50 bpm. Average body temperature in both groups was within the normal range (Table 3).

Synovial fluid changes

In G1 ($n = 26$) 14 SF samples and in G2 ($n = 29$) 13 SF samples were collected. In the other cases, synovial puncture failed. All SF parameters differed significantly between the groups (Table 3). The gross appearance of SF was mostly sanguineous with reduced viscosity, or even a watery consistency, in samples with synovial structure penetration (score 2; G1). Whereas in the cases without penetration of synovial structures, the SF showed no abnormalities with a clear and viscous appearance (score 1; G2). SF of involved structures had a median TNCC of $69.82 \times 10^9/L$ (G1); significantly higher ($P < 0.001$) than in unpenetrated synovial cavities, which had a median TNCC of $0.4 \times 10^9/L$ (G2). Synovial %N followed this pattern with a median of 92.1 % in G1, in contrast to a median percentage of 9.8 % in G2 ($P < 0.001$). Synovial TP differed significantly ($P < 0.001$) between groups with mean concentrations of 32 g/L (G1) and 11 g/L (G2; Table 3), respectively.

In G1, 11 bacterial cultures were conducted, only one showing signs of low-grade bacterial growth. For the other 10, no bacterial growth could be identified. In the remaining G1 cases, the volume of SF was insufficient to perform bacterial culture.

Table 3

Descriptive statistics of each determined parameter for the respective groups (G1, group 1, $n=26$; G2, group 2, $n=29$) and P -values for group comparison. P -values <0.05 were considered statistically significant.

Parameter (unit)	Mean (range)		Median		IQR		SD		SE		CV		P -value
	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2	
SAA ($\mu\text{g/mL}$)	196.59 (0.10-2100.90)	35.26 (0.00-439.70)	6.9	4.1	271.8	6.6	446.43	100.04	91.12	19.25	2.27	2.83	0.07 ^a
WBC ($\times 10^9/\text{L}$)	10.65 (4.31-15.00)	10.60 (4.59-20.47)	10.93	9.78	3.00	6.47	2.78	4.14	0.56	0.80	0.26	0.39	0.96
Fibrinogen (g/L)	2.29 (1.53-3.38)	2.26 (1.35-3.65)	2.12	2.21	0.91	0.41	0.58	0.50	0.12	0.95	0.25	0.22	0.85
General health condition (score 0-3)	1 (0-3)	0 (0-2)	0	0	1	0	1.01	0.52	0.20	0.98	1.33	2.07	0.04
Heart rate (/min)	55 (40-130)	50 (40-78)	52	48	16	8	17.80	8.49	3.56	1.60	0.32	0.17	0.16
Rectal temperature ($^{\circ}\text{C}$)	38.1 (37.5-38.8)	38.0 (37.1-39.0)	38.0	38.1	0.5	0.5	0.37	0.43	0.73	0.88	0.01	0.01	0.40

Lameness grade (score 0-3)	2 (0-3)	1 (0-2)	2	1	1	1	0.94	0.76	0.18	0.14	0.57	1.10	<0.001
Synovial gross appearance (score 1-4)	2 (1-3)	1 (0-2)	2	1	2	0	0.78	0.49	0.21	0.14	0.39	0.53	<0.001
Synovial TNCC (x10 ⁹ /L)	102.67 (0.05-386.96)	0.54 (0.03-1.69)	69.82	0.4	85.33	0.5	112.41	0.56	30.04	0.15	1.09	1.04	<0.001 ^a
Synovial %N (%)	77.49 (0.00-97.20)	26.86 (0.00-74.40)	92.1	9.8	5.7	50.5	32.93	30.99	9.13	10.32	0.42	1.15	<0.001 ^a
Synovial TP (g/L)	32 (0-50)	11 (0-22)	37	11	20	6	15.46	6.63	4.46	1.91	0.48	0.61	<0.001
Synovial bacterial culture (score 0-4)	1 (0-2)	0 (0-1)	1	0	0	0	0.54	0.44	0.14	0.12	0.62	1.90	0.006

SAA, Serum Amyloid A; WBC, white blood cells; TNCC, total nucleated cell count; %N, percentage of neutrophils; TP, total protein; IQR, interquartile range; SD, standard deviation; SE, standard error of mean; CV, coefficient of variation.

^aP-values related to the log₁₀ value

Correlation of SAA with other parameters

In cases with synovial structure involvement, serum SAA concentrations were moderately positively correlated with fibrinogen concentrations ($P = 0.01$) and synovial %N ($P = 0.03$). Pearson's correlation coefficients were $r = 0.546$ for the correlation between SAA and fibrinogen and of $r = 0.616$ between SAA and synovial %N. Correlation between SAA and rectal temperature was only just not significant ($P = 0.05$) with a Spearman's correlation coefficient of $r_s = 0.421$ (Table 4).

Table 4

Pearson's correlation coefficient (r) and P -values between Serum Amyloid A (SAA) concentrations and white blood cell (WBC) count, fibrinogen concentrations, synovial total nucleated cell count (TNCC), synovial percentage of neutrophils (%N) and body temperature. Spearman's correlation coefficient (r_s) and P -value between serum SAA concentrations and lameness grade for both groups. P -values are related to the \log_{10} values (SAA, synovial TNCC, synovial %N). P -values <0.05 were considered statistically significant.

Variable correlation	Group 1		Group 2	
	Correlation coefficient (r/r_s)	P -value	Correlation coefficient (r/r_s)	P -value
SAA and WBC	0.040	0.86	0.318	0.12
SAA and fibrinogen	0.546	0.01	0.177	0.39
SAA and synovial TNCC	-0.385	0.19	-0.041	0.89
SAA and synovial %N	0.616	0.03	-0.004	0.99
SAA and rectal temperature	0.421	0.05	-0.152	0.50
SAA and lameness grade	0.063	0.77	0.489	0.01

Discussion

The present study assessed the possibility of using serum SAA as diagnostic tool for synovial structure involvement in horses with acute penetrating limb injuries and correlated SAA with standard parameters. Despite mean SAA concentrations being higher in horses with synovial structure involvement, they were not significantly different from horses without synovial structure penetration secondary to limb injuries. Systemic SAA concentrations show higher increases in septic synovitis than in aseptic synovial inflammatory conditions and several studies postulate the usefulness of SAA to diagnose synovial sepsis (Hultén et al., 2002; Jacobsen et al., 2006a; Jacobsen et al., 2006b; Ludwig et al., 2016; Andreassen et al., 2017; Haltmayer et al., 2017; Robinson et al., 2017; Stack et al., 2019). The results of our study show, that SAA cannot be used as a sole tool for early diagnosis of synovial structure involvement caused by acute (<24 h) soft tissue trauma in the limb region. However, in contrast to the studies published so far, which either worked under experimental conditions or had a more general research approach to the use of SAA in joint diseases (Hultén et al., 2002; Jacobsen et al., 2006a; Jacobsen et al., 2006b; Ludwig et al., 2016; Andreassen et al., 2017; Robinson et al., 2017; Stack et al., 2019), our study focused on the question of synovial involvement in acute (<24 h) soft tissue trauma in the limb region as an emergency frequently encountered in equine practice. The clinical conditions of our study were designed to offer the possibility of transferring the results to clinical practice.

In the present study, the factor of tissue damage contributing to the increase of SAA levels as an inflammatory stimulus was not taken into account, but this is likely the case. The fact that SAA rises in response to any inflammatory stimulus, such as tissue damage, makes it very sensitive (Nunokawa et al., 1993; Jacobsen et al., 2005), but at the same time non-specific. This complicates the interpretation of elevated systemic SAA values. A main issue leading to unreliability in the interpretation of high SAA levels is due to the fact, that other inflammatory stimuli (such as tissue damage or infectious diseases in the preclinical, a-symptomatic stage) also lead to an increase of serum SAA concentrations (Nunokawa et al., 1993; Belgrave et al., 2013). Serum SAA concentrations require approximately 16 h to increase (Hultén et al., 1999; Jacobsen et al., 2006b; Jacobsen et al., 2006a; Andreassen et al., 2017). Therefore,

the reason the SAA levels are low in some of our cases, could be due to the blood sample having been taken before the SAA levels could react to the synovial contamination and therefore had not risen to a detectable concentration. The study design meant only injuries of up to 24 h old were included, as we set our focus on acute emergency situations. As a result, serum SAA measurement might have been performed before the systemic rise of SAA or at a stage of a low-grade contamination. Low SAA values in our study, especially in G1, show, that low SAA concentrations do not necessarily preclude synovial structure involvement. Furthermore, the amount of bacteria infecting the synovial cavity was not standardised according to the clinical circumstances, resulting in a non-established infection. Therefore, the SAA result could have been influenced by different degrees of inflammatory stimuli within the cases.

Although studies show that NSAIDs have no effect on SAA concentrations in goats and calves (Karademir et al., 2016; Plessers et al., 2016), a study by Stack et al. (2019) showed higher SAA levels in untreated than in premedicated horses. Additionally, a perioperative treatment with antibiotics reduces the postoperative SAA response (Busk et al., 2010; Haucke et al., 2017). This suggests, that the low SAA values in this study could have been affected by premedication. Further studies are necessary to investigate the influence of NSAIDs on SAA levels in horses. However, both groups included both horses with and without pre-treatment. These factors are encountered in everyday clinical practice, and can have an influence on the systemic SAA value, resulting in the inconsistency of this parameter. The high IQR, SD, SE and CV in both groups reflect the high variability of SAA values (Table 3).

Systemic WBC count and plasma fibrinogen concentration are well established and the most frequently measured blood markers for inflammation in horses (Hultén et al., 1999; Stoneham et al., 2001). Even though both markers have been used for decades to assess the inflammatory status in horses, changes in both parameters are visible at a later stage of septic arthritis or are more indefinite compared to SAA (Hultén et al., 2002; Jacobsen et al., 2006a; Jacobsen et al., 2006b; Andreassen et al., 2017). The study's results suggest, that systemic WBC and fibrinogen do not contribute significantly to the diagnosis of synovial structure involvement.

Even though clinical criteria such as degree of lameness, general health condition, heart rate and rectal temperature are considered as classic clinical parameters indicating synovial sepsis, they are not very specific and not always manifest (Jacobsen and Andersen, 2007; Steel, 2008; Robinson et al., 2017). Our results support that lameness is an important clinical parameter in horses with synovial penetration (Bertone et al., 1987; Honnas et al., 1991; Schneider et al., 1992; Hultén et al., 2002; Morton, 2005; Jacobsen et al., 2006b; van Weeren, 2016; Andreassen et al., 2017; Bryant et al., 2019). Nevertheless, our results illustrate the known difficulties in the interpretation of clinical findings to accurately diagnose synovial structure involvement (Jacobsen and Andersen, 2007; Steel, 2008).

In the present study, SF from involved structures showed typical changes to its gross appearance, with a significant elevation of all parameters in horses with synovial penetration (Table 3). It stresses the importance of this tool in diagnosing synovial structure involvement (Morton, 2005; Steel, 2008; Ludwig et al., 2016; van Weeren, 2016; Andreassen et al., 2017; Robinson et al., 2017). Confirmation of synovial structure involvement is based on a range of diagnostic tools, including cytological analysis and bacterial SF culture (Schneider et al., 1992; Wright et al., 2003; Taylor et al., 2010). Distinct leucocytosis ($5-15 \times 10^9$ nucleated cells/L) marked by neutrophilic inflammation with over 80 %N and an increase of TP of >40 g/L indicates synovial sepsis (van Weeren, 2016; Andreassen et al., 2017; Cousty et al., 2017). Except for one sample, bacterial culture results were negative, which was considered to be a result of the known difficulty in culturing microorganisms from SF (Madison et al., 1991; Dumoulin et al., 2010). However, as the results of the bacterial culture are not available immediately, they do not contribute to early diagnosis and can only be used to guide antimicrobial therapy (Schneider, 1998).

The correlation between SAA and %N in G1 (Table 4) shows, that the concentrations of both inflammatory markers increase proportionally in response to synovial contamination. Thus, both parameters reflect the inflammatory situation within the affected synovial structure. Of these two parameters, SAA is systemically

accessible (Nunokawa et al., 1993; Stoneham et al., 2001; Belgrave et al., 2013). Systemic SAA reflects synovial inflammation and its determination can help reach a diagnosis in the cases where SF results are inconclusive or synoviocentesis fails or is impossible. In these cases, serum SAA can support the diagnosis of synovial structure involvement. In cases with low SAA values, the SAA levels should be re-evaluated after 16 h.

Conclusions

The present investigation demonstrates that systemic SAA alone cannot be used for the diagnosis of synovial structure involvement caused by limb injuries. Synovial fluid parameters remain the most important tool in the diagnosis of synovial penetration. There is no single diagnostic test set as the “gold standard”, enabling a definite diagnosis of synovial structure involvement. Similarly, initially measured SAA levels should be evaluated in conjunction with the other criteria. When possible, all available diagnostic tools should be used and all findings need to be interpreted in the context to each other according to the individual case. A onetime SAA measurement alone is not suitable for establishing a specific diagnosis. However, repeated measurements could provide objective information about the extent of an ongoing disease.

A main limitation of this study is the small sample size, resulting from the restriction to acute wounds <24 h.

Conflict of interest statement

None of the authors has any financial or personal relationships that could inappropriately influence or bias the content of the paper.

Acknowledgements

The authors would like to thank Julia Kiemle and Antonio Cruz for writing assistance and proof reading of the manuscript.

Supplementary material

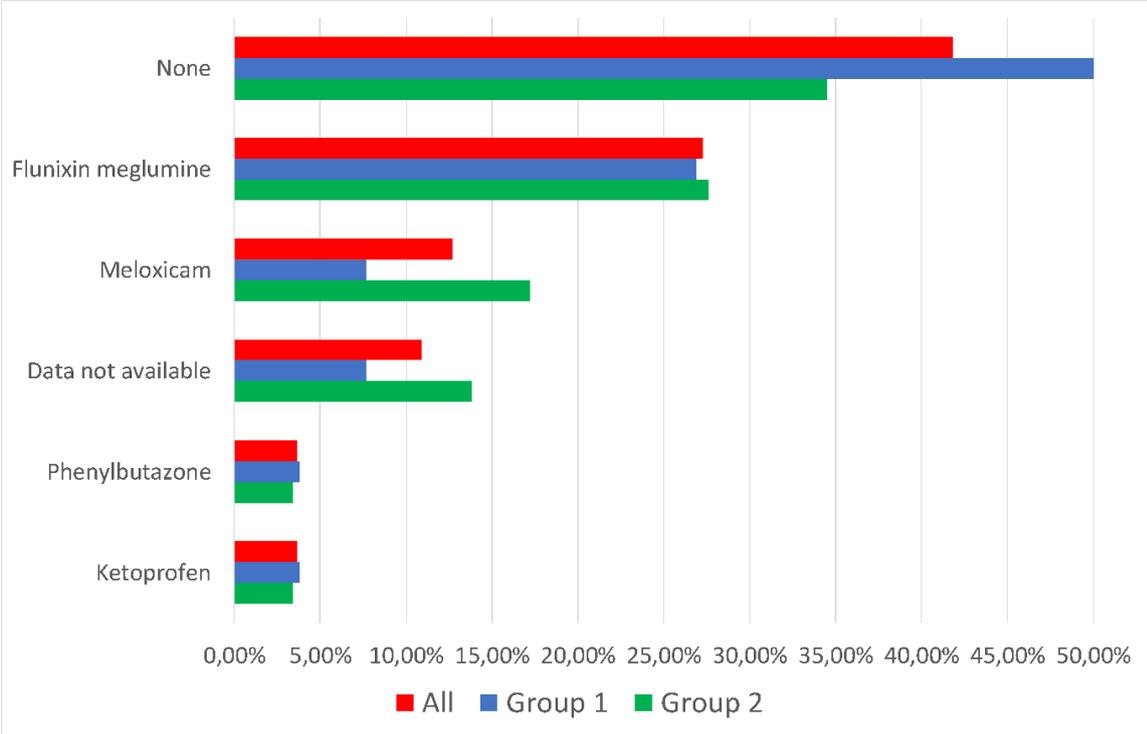


Fig. 1. Anti-inflammatory premedication conducted by referring vet.

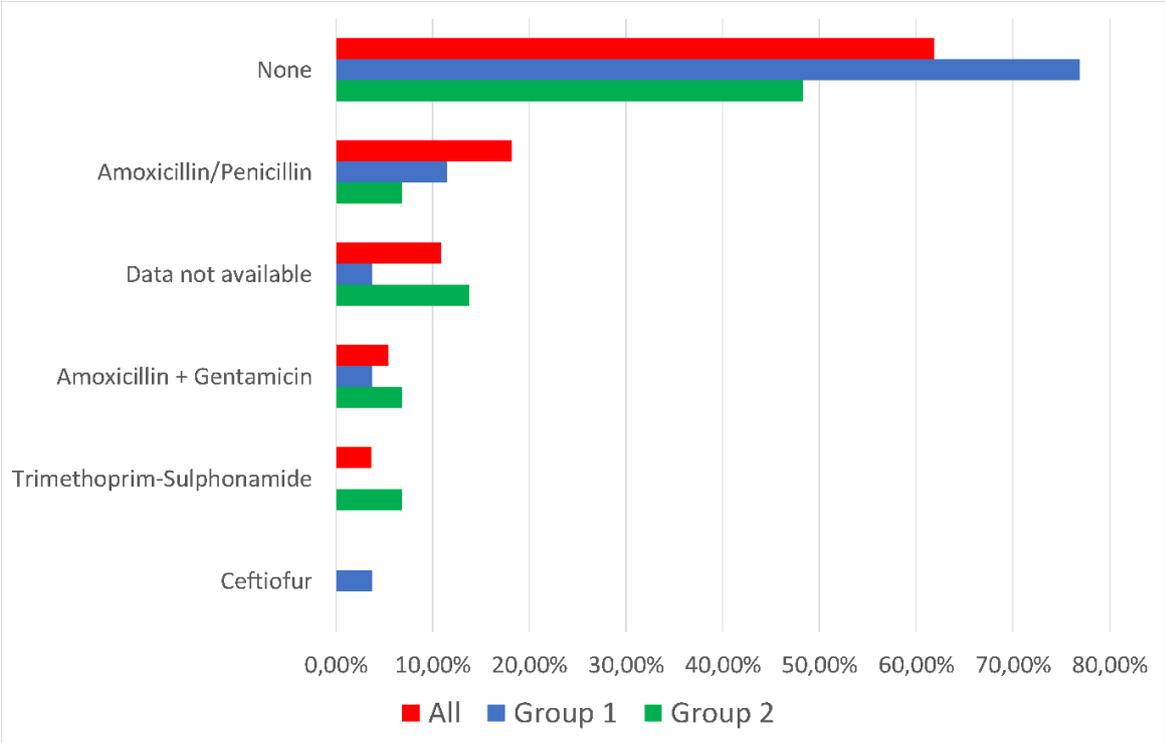


Fig. 2. Antimicrobial premedication conducted by referring vet.

References

- Andreassen, S.M., Vinther, A.M.L., Nielsen, S.S., Andersen, P.H., Tnibar, A., Kristensen, A.T., Jacobsen, S., 2017. Changes in concentrations of haemostatic and inflammatory biomarkers in synovial fluid after intra-articular injection of lipopolysaccharide in horses. *BMC Veterinary Research* 13, 182–198.
- Belgrave, R.L., Dickey, M.M., Arheart, K.L., Cray, C., 2013. Assessment of serum amyloid A testing of horses and its clinical application in a specialized equine practice. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 243, 113–119.
- Bertone, A.L., McIlwraith, C.W., Jones, R.L., Norrdin, R.W., Radin, M.J., Lebel, J.L., 1987. Comparison of various treatments for experimentally induced equine infectious arthritis. *American Journal of Veterinary Research* 48, 519–529.
- Bryant, H.A., Dixon, J.J., Weller, R., Bolt, D.M., 2019. Use of positive contrast radiography to identify synovial involvement in horses with traumatic limb wounds. *Equine Veterinary Journal* 51, 20–23.
- Busk, P., Jacobsen, S., Martinussen, T., 2010. Administration of perioperative penicillin reduces postoperative serum amyloid A response in horses being castrated standing. *Veterinary Surgery* 39, 638–643.
- Bussi eres, G., Jacques, C., Lainay, O., Beauchamp, G., Leblond, A., Cador e, J.-L., Desmaizi eres, L.-M., Cuvellez, S.G., Troncy, E., 2008. Development of a composite orthopaedic pain scale in horses. *Research in Veterinary Science* 85, 294–306.
- Cousty, M., Stack, J.D., Tricaud, C., David, F., 2017. Effect of arthroscopic lavage and repeated intra-articular administrations of antibiotic in adult horses and foals with septic arthritis. *Veterinary Surgery* 46, 1008–1016.
- Crisman, M.V., Scarratt, W.K., Zimmerman, K.L., 2008. Blood proteins and inflammation in the horse. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice* 24, 285-297.
- Dumoulin, M., Pille, F., van den Abeele, A.-M., Boyen, F., Boussauw, B., Oosterlinck, M., Pasmans, F., Gasthuys, F., Martens, A., 2010. Use of blood culture medium enrichment for synovial fluid culture in horses: a comparison of different culture methods. *Equine Veterinary Journal* 42, 541–546.
- Frisbie, D., 2011. Synovial joint biology and pathobiology. In: Auer, J.A., Stick, J.A. (Eds.): *Equine Surgery*. Elsevier, St. Louis, Missouri, pp. 1096–1114.
- Fuller, G.M., 1993. Fibrinogen: a multifunctional acute phase protein. In: Mackiewicz, A., Kushner, I., Baumann, H. (Eds.): *Acute phase proteins*. CRC Press, Florida, pp. 169–180.

- Haltmayer, E., Schwendenwein, I., Licka, T.F., 2017. Course of serum amyloid A (SAA) plasma concentrations in horses undergoing surgery for injuries penetrating synovial structures, an observational clinical study. *BMC Veterinary Research* 13, 137.
- Haucke, K., Kuhn, M., Lübke-Becker, A., Mählmann, K., Lischer, C., 2017. Two regimes of perioperative antimicrobial prophylaxis for equine castration: clinical findings, acute-phase proteins, and bacterial cultures. *Journal of Equine Veterinary Science* 57, 86–94.
- Honnas, C.M., Schumacher, J., Cohen, N.D., Watkins, J.P., Taylor, T.S., 1991. Septic tenosynovitis in horses: 25 cases (1983-1989). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 199, 1616–1622.
- Hultén, C., Grönlund, U., Hirvonen, J., Tulamo, R.-M., Suominen, M., Marhaug, G., Forsberg, M., 2002. Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and alpha2-globulins during induced noninfectious arthritis in the horse. *Equine Veterinary Journal* 34, 699–704.
- Hultén, C., Tulamo, R.-M., Suominen, M., Burvall, K., Marhaug, G., Forsberg, M., 1999. A non-competitive chemiluminescence enzyme immunoassay for the equine acute phase protein serum amyloid A (SAA) – a clinically useful inflammatory marker in the horse. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 68, 267–281.
- Jacobsen, S., Andersen, P.H., 2007. The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses. *Equine Veterinary Education*, 38–46.
- Jacobsen, S., Halling-Thomsen, M., Nanni, S., 2006a. Concentrations of serum amyloid A in serum and synovial fluid from healthy horses and horses with joint disease. *American Journal of Veterinary Research* 67, 1738–1742.
- Jacobsen, S., Jensen, J.C., Frei, S., Jensen, A.L., Thoefner, M.B., 2005. Use of serum amyloid A and other acute phase reactants to monitor the inflammatory response after castration in horses: a field study. *Equine Veterinary Journal* 37, 552–556.
- Jacobsen, S., Niewold, T.A., Halling-Thomsen, M., Nanni, S., Olsen, E., Lindegaard, C., Andersen, P.H., 2006b. Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid in horses with lipopolysaccharide-induced arthritis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 110, 325–330.
- Jensen, L.E., Whitehead, A.S., 1998. Regulation of serum amyloid A protein expression during the acute-phase response. *Biochemical Journal* 334, 489–503.
- Karademir, U., Akin, I., Erdogan, H., Ural, K., Asici, G.S.E., 2016. Effect of Ketoprofen on acute phase protein concentrations in goats undergoing castration. *BMC Veterinary Research* 12.

- Karam, B., Hines, S., Skipper, L., Pusterla, N., 2020. Whole-blood validation of a new point-of-care equine serum amyloid A assay. *Journal of Equine Veterinary Science* 94, 1–4.
- Kushner, I., 1982. The phenomenon of the acute phase response. *Annals of the New York Academy of Sciences* 389, 39–48.
- Ludwig, E.K., Wiese, R.B., Graham, M.R., Tyler, A.J., Settlage, J.M., Werre, S.R., Petersson-Wolfe, C.S., Kanevsky-Mullarky, I., Dahlgren, L.A., 2016. Serum and synovial fluid serum amyloid A response in equine models of synovitis and septic arthritis. *Veterinary Surgery* 45, 859–867.
- Madison, J.B., Sommer, M., Spencer, P.A., 1991. Relations among synovial membrane histopathologic findings, synovial fluid cytologic findings, and bacterial culture results in horses with suspected infectious arthritis: 64 cases (1979-1987). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 198, 1655–1661.
- Manley, P.N., Ancsin, J.B., Kisilevsky, R., 2006. Rapid recycling of cholesterol: the joint biologic role of C-reactive protein and serum amyloid A. *Medical Hypotheses* 66, 784–792.
- Meijer, M.C., van Weeren, P.R., Rijkenhuizen, A.B.M., 2000. Clinical experiences of treating septic arthritis in the equine by repeated joint lavage: a series of 39 cases. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 47, 351–365.
- Morton, A.J., 2005. Diagnosis and treatment of septic arthritis. *The Veterinary Clinics of North America. Equine practice* 21, 627-649.
- Nunokawa, Y., Fujinaga, T., Taira, T., Okumura, M., Yamashita, K., Tsunoda, N., Hagio, M., 1993. Evaluation of serum amyloid-A protein as an acute-phase reactive protein in horses. *Journal of Veterinary Medical Science* 55, 1011–1016.
- Pepys, M.B., Baltz, M.L., Tennent, G.A., Kent, J., Ousey, J., Rosedale, P.D., 1989. Serum amyloid A protein (SAA) in horses: objective measurement of acute phase response. *Equine Veterinary Journal* 21, 106–109.
- Plessers, E., Wyns, H., Watteyn, A., Pardon, B., Baere, S. de, Sys, S.U., Backer, P. de, Croubels, S., 2016. Immunomodulatory properties of gamithromycin and ketoprofen in lipopolysaccharide-challenged calves with emphasis on the acute-phase response. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 171, 28–37.
- Robinson, C.S., Singer, E.R., Piviani, M., Rubio-Martinez, L.M., 2017. Are serum amyloid A or D-lactate useful to diagnose synovial contamination or sepsis in horses? *Veterinary Record* 181, 425.
- Schneider, R.K., 1998. Common bacteria encountered in septic arthritis. *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP* 1998 44, 152–158.

- Schneider, R.K., Bramlage, L.R., Moore, R.M., Mecklenburg, L.M., Kohn, C.W., Gabel, A.A., 1992. A retrospective study of 192 horses affected with septic arthritis/tenosynovitis. *Equine Veterinary Journal* 24, 436–442.
- Stack, J.D., Cousty, M., Steele, E., Handel, I., Lechartier, A., Vinardell, T., David, F., 2019. Comparison of serum amyloid A measurements in equine synovial fluid with routine diagnostic methods to detect synovial infection in a clinical environment. *Frontiers in Veterinary Science* 6, 325.
- Steel, C.M., 2008. Equine synovial fluid analysis. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice* 24, 437-454.
- Stoneham, S.J., Palmer, L., Cash, R., Rosedale, P.D., 2001. Measurement of serum amyloid A in the neonatal foal using a latex agglutination immunoturbidimetric assay: determination of the normal range, variation with age and response to disease. *Equine Veterinary Journal* 33, 599–603.
- Taylor, A.H., Mair, T.S., Smith, L.J., Perkins, J.D., 2010. Bacterial culture of septic synovial structures of horses. Does a positive bacterial culture influence prognosis? *Equine Veterinary Journal* 42, 213–218.
- Tremaine, H., 2000. Infection of equine joints and tendon sheaths. *In Practice* 22, 262–274.
- Uhlir, C.M., Whitehead, A.S., 1999. Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *European Journal of Biochemistry* 265, 501–523.
- van Weeren, P.R., 2016. Septic arthritis. In: McIlwraith, C.W., Frisbie, D. (Eds.): *Joint disease in the horse*. Elsevier, St. Louis, Missouri, pp. 91–104.
- Wright, I.M., Smith, M.R.W., Humphrey, D.J., Eaton-Evans, T.C.J., Hillyer, M.H., 2003. Endoscopic surgery in the treatment of contaminated and infected synovial cavities. *Equine Veterinary Journal* 35, 613–619.

4. Eigene Publikation II

Using systemic serum amyloid A as a biomarker for synovial structure infections in horses with acute limb injuries

A.C. Müller, K. Büttner, M. Röcken

Veterinary Record

(Journal Impact factor: 2.695)

Volume 191, 2022

DOI: 10.1002/vetr.1841

Accepted 23 May 2022

Abstract

Background: In postoperative monitoring of synovial structure infection due to limb wounds, early recognition of a recurrence of synovial infection is indispensable to prevent further damage to the affected synovial structure. This study evaluated the role of Serum Amyloid A as a systemic biomarker in disease monitoring, and correlated this tool with clinical variables.

Methods: In this prospective cohort study, 55 horses with acute limb wounds were divided into two groups: those with (Group 1, $n=26$) or without (Group 2, $n=29$) a diagnosis of synovial structure penetration. SAA, lameness and body temperature were evaluated repeatedly and compared between groups. Correlations were explored between SAA and body temperature as well as lameness. The long-term outcome was also analysed.

Results: In both groups, SAA levels followed the characteristic rise-and-fall pattern observed in previous studies, with a significant increase up to a peak concentration within 48 hours, followed by a constant decline. Lameness and body temperature did not change significantly. SAA was not found to correlate with clinical variables at all time points. Three horses in group 1 had a recurrence of synovial sepsis with associated increase in SAA. The long-term outcome was good. A total of 71 % of the study population returned to pre-injury performance levels.

Conclusion: Repeated measurements of SAA accurately reflected the course of synovial inflammation and thus provided a reliable and rapidly available tool to monitor the disease course and to adapt the treatment regimen. SAA should be routinely added to the postoperative management of such cases.

Keywords: disease monitoring; equine; limb injuries; serum amyloid A; synovial structure infection; wound

Introduction

Synovial structure infection is a common complication of acute wounds in the limb region and can lead to chronic lameness, limitation of the intended performance level or complete retirement from athletic activities [1–4]. During postoperative monitoring, early recognition of a recurrence is indispensable to prevent further damage of the affected synovial structure such as cartilage destruction, osteoarthritis, or intrathecal adhesions and to significantly improve the outcome [1–6]. In response to synovial infection, matrix-metalloproteinase (MMP) activity is stimulated in order to destruct invaded foreign material and to demarcate the surrounding damaged tissues [2, 3, 7]. The synovial hyaluronic acid concentration decreases and glycosaminoglycans and collagen are lost from the extracellular matrix. Concurrently, pathogens produce toxins and proteolytic enzymes, which trigger the inflammatory reaction [2, 3, 7, 8]. As an inflammatory product, fibrin is released in large amounts [9]. Immediate treatment with arthroscopic lavage of the affected synovial structure and

initiation of antimicrobial and anti-inflammatory medication are advised to limit these processes [1, 2, 4, 5, 10, 11].

Routine monitoring of the disease course with therapy adaptation consists of evaluating the inflammatory situation within the synovial structure by assessing clinical signs such as lameness, fever, local pain and swelling of the affected area; alternatively, it is adjusted based on the results of repeated synovial fluid analyses [1, 5, 7–9, 11–15]. The duration of postoperative systemic treatment with antimicrobials as well as anti-inflammatory and analgesic drugs is commonly based on the clinical signs, synoviocentesis or the personal experience of the treating clinician [1, 4, 5, 7–9, 11, 16]. However, clinical signs are not always manifest or clear [5, 17].

In order to estimate the synovial situation with recurrence or resolution of the infection, repeated synoviocentesis enables the evaluation of synovial parameters such as total nucleated cell count (TNCC), percentage of neutrophils (%N) and total protein (TP) [5, 7, 11–13, 15]. However, repeated synovial puncture can be problematic as a strategy because of the need for repeated bandage or cast changes, difficulties sometimes collecting SF and also the potential risk of iatrogenic infection when there is diffuse subcutaneous swelling [18]. In addition, repeated synoviocentesis, arthroscopic lavage or application of intra-synovial medication impact on synovial TP, TNCC and %N and thus values may not give a clear answer, whereas systemic Serum Amyloid A (SAA) is not affected [13, 19–21].

An evaluation of the systemic inflammatory reaction can be used to assess the local inflammatory situation. As a major acute phase protein (APP) in the horse, SAA has already proven to be a helpful marker in postoperative monitoring after castration and minimally invasive procedures [22–24] as well as in synovial sepsis [13–15, 25]. It can be used as an index of the patient's recovery from various infectious or inflammatory conditions (bacterial or viral pneumonia, colic, neoplasia) [22–24, 26]. In horses, SAA is well suited for a real-time monitoring of disease activity and to estimate the patient's postoperative development, because SAA levels accurately reflect the severity of inflammation [17, 23, 24, 26]. The effect of treatment can also be observed by evaluating the course of SAA [14]. The half-life of SAA is short, with reported values

of approximately 90 min [27, 28], thus concentrations decrease as soon as the therapy is successful. Postoperative SAA levels are independent of preoperative values, whereas levels of white blood cells (WBC) and fibrinogen depend on preoperative concentrations [26]. In septic synovitis, physiologically low SAA plasma concentrations show a typical pattern, which starts to increase after 16 h, peaking 2 to 3 days after insult with concentrations of up to 1,000-fold from baseline and returning to preoperative levels, following clinical progression, within an average of 7 to 10 days under successful therapy [13, 29–32]. Deviations from this pattern may indicate postoperative complications such as recurrence of infection, lack of treatment response, surgical site infections, or secondary comorbidities [14, 22, 26, 29].

The aim of this study was to analyse the role of SAA as an objective, systemic biomarker in disease monitoring and treatment response in horses with synovial structure involvement due to acute (<24 h) wounds in the limb region. The course of SAA was compared between horses with and without diagnosis of synovial structure infection. Correlations between SAA levels and clinical variables were also analysed. Furthermore, the long-term outcome was evaluated. In addition, the utility of adjusting the duration of antimicrobial therapy to SAA levels was evaluated.

Materials and methods

Horses

The ethics committee of the regional council of Giessen, Hessen, Germany did not consider this study as an animal experiment (reference number kTV 6-2018). All blood samples were collected during routine diagnostic work-up of the cases. Owners gave their informed consent to use the results for the research purposes of this study. Fifty-five horses of mixed breed, age and sex (Table 1), that had been presented to the equine clinic (surgery, orthopaedics), Justus-Liebig-University of Giessen for treatment of acute wounds in the limb region, which had occurred within 24 h before admission, were included in this prospective cohort study. Injuries included wounds

with suspected synovial structure involvement. Horses were included provided there were no other abnormalities on clinical examination at admission that indicated an acute infection. Horses with other signs of acute infection or inflammation were excluded. Horses were also excluded if they developed any disease unrelated to the trauma during the study period. For the analysis, horses were divided into two groups. Group 1 (G1) represented the subject group and consisted of horses with a confirmed diagnosis of synovial structure penetration due to the injury. Group 2 (G2) represented the reference group and included horses with no involvement of any synovial structure related to the injury. Diagnosis or exclusion of synovial structure involvement was based on the results of an initial physical and blood examination (SAA, WBC, fibrinogen), SF analysis (gross appearance with viscosity, colour and turbidity; TNCC $>30 \times 10^9$ cells/L; %N >90 %; TP >25 g/L), synovial pressure-leak testing, radiographs and/or ultrasonography. For the diagnosis of synovial infection, at least two of the synovial parameters had to be abnormal, or synovial pressure-leak testing or radiographs indicated a communication of the injury with the synovial cavity or ultrasound revealed signs of synovial infection. Results were interpreted in context. Horses were assigned to G2 if none of the above mentioned criteria for synovial sepsis applied. Bacterial culture including a susceptibility test of SF samples was performed to guide antimicrobial therapy. History of pre-treatment with antimicrobials and NSAIDs was recorded.

Table 1

Summary of horses' information.

Group	Number of horses	Median age years (range)	Sex (n)	Breed (n)
1 (diagnosis of synovial structure involvement)	26	9 (0.2-22)	Gelding (11) Mare (11) Stallion (4)	German warmblood (11), pony (4), Arabian horse (4), Quarter horse (2), Paint (1), Haflinger horse (1), Andalusian horse (1), Fjord horse (1), mix (1)
2 (without synovial structure involvement)	29	10 (0.3-24)	Gelding (12) Mare (16) Stallion (1)	German warmblood (19), pony (2), Arabian horse (2), Quarter horse (2), Thoroughbred (1), Haflinger horse (1), Andalusian horse (1), mix (1)

Monitoring and further proceeding

SAA

Serum samples were collected for SAA determination at admission (before surgical treatment), 12, 24 and 48 h afterwards, and subsequently every 48 h until SAA reached the baseline (Fig 1). Serum was obtained by collecting blood in tubes with a clotting activator (Serum tube, Sarstedt, Nuembrecht, Germany) and by letting blood samples coagulate for 1 h following centrifugation at 3000 x g for 10 min. Afterwards, samples were used immediately for analysis or stored at -20°C for a maximum time of 63 h before analysis. Serum SAA concentrations were determined by the immunoturbidometric method (LZ test SAA, Eiken Chemical Co., Tokyo, Japan). A cut-off value of <2.7 µg/ml was considered as reference range based on determination by

the Department of Veterinary Clinical Sciences, Clinical Pathology and Clinical Pathophysiology, Justus-Liebig-University Giessen.

Clinical criteria

Daily monitoring of each patient included an assessment of lameness and measurement of rectal temperature (°C; Fig 1). Lameness was assessed at walk and scored as sound (grade 0), or with mild (score 1), moderate (score 2) or profound (score 3) lameness, depending on the extent of weight bearing of the affected limb at each step (according to AAEP lameness scale; score 1 = AAEP grade 3, score 2 = AAEP grade 4, score 3 = AAEP grade 5). Assessments were carried out by a trained, orthopaedic specialized veterinarian. Body temperature was taken by rectal measurement.

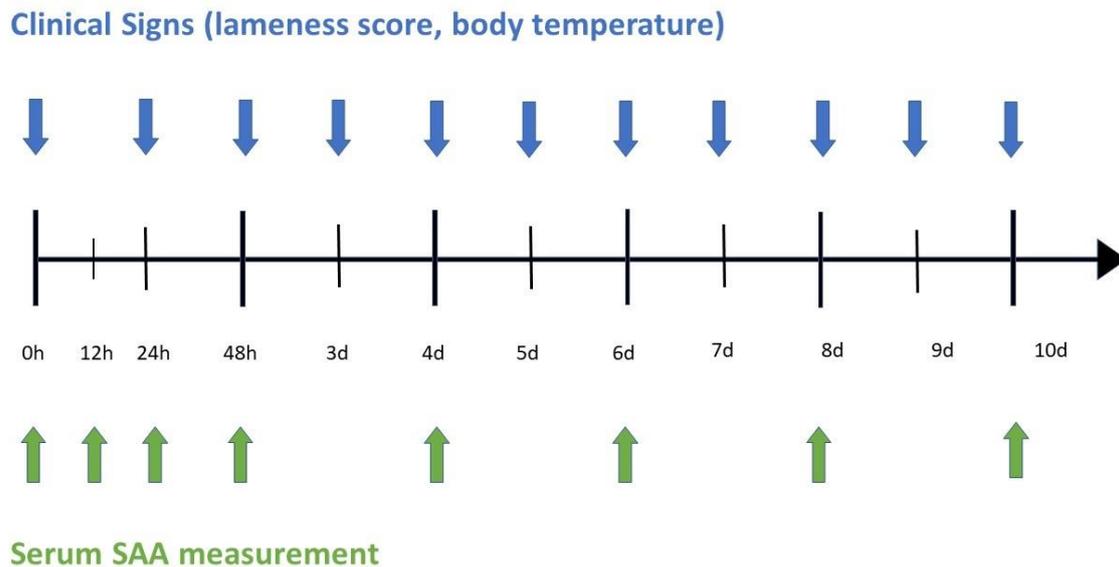


Fig 1: Pattern of horses' monitoring with time points of routine Serum Amyloid A (SAA) determination and assessment of clinical variables.

Long-term outcome

Long-term outcome was determined for each patient by telephone interview with the owner approximately 2 years after discharge. A successful long-term outcome was defined as a horse that, in the owner's opinion, was performing at or above the level of performance that it had achieved prior to the soft tissue trauma (Table 2). Staging system was designed in accordance with Taylor et al, 2010 [33].

Table 2

Staging of long-term outcome (designed in accordance with Taylor et al, 2010 [33]).

Stage	Description
1	Horse returned to pre-injury performance or higher level of function
2	Horse was sound, but not used at previous performance/used at poorer level
3	Horse had still problems with aseptic synovitis in the first time, but developed afterwards sound
4	Horse was subjected to retirement or euthanasia due to conditions related to the involved synovial structure or the soft tissue trauma
5	Horse was subjected to retirement or euthanasia due to unrelated conditions
6	Horse was lost to follow-up

Statistical methods and data analysis

A priori sample size calculation revealed a minimum sample size per group of 23 horses. Data were tested for normality with the Shapiro-Wilk test. SAA values were non-normally distributed and thus \log_{10} transformed to stabilize the statistical model. The description of a parameter within a group over time was calculated by a paired t-

test. For the group comparison of SAA and body temperature, ANOVA with repeated measurements according to time was used, including the fixed effect of group. Group comparison over time for lameness as ordinal parameter evaluated by a scoring system was performed by first calculating the AUC for each horse and then using a Wilcoxon-Mann-Whitney-test to compare the median AUC values of each group. Correlations between serum SAA concentrations and body temperature were tested by calculating Pearson's correlation coefficient (r) within each group. Spearman's correlation coefficient (r_s) was determined to investigate the correlation between serum SAA concentrations and lameness. To determine the average time of therapy with antimicrobials and NSAIDs as well as SAA values needed to reach baseline values, a Kaplan-Meier survival analysis with censored data was carried out. Data were censored because of horses' discharge and thus declining data towards the end. The survival curves were compared between the two groups using a log-rank test.

A P-value <0.05 was considered to indicate statistical significance. Statistical analysis and graphical presentation of data were performed using statistical software SAS 9.4 (SAS Institute Inc., 2013), Microsoft Excel (Microsoft Corporation, 2016), and GraphPad Prism 9.1.2 (GraphPad Software, 2020).

Results

Horses, surgical treatment and medication

Fifty-five horses, of which 26 were allocated to G1, were included in this study (Table 1). One horse developed a thrombophlebitis and was excluded from the study. Surgery consisted of standard wound debridement and arthroscopic lavage of the affected synovial structure under general anaesthesia. Alternatively, several patients in G2 were treated standing under sedation and with local anaesthesia for wound debridement and closure. Patients received systemically 1.1 mg/kg flunixin meglumine PO or IV (twice daily; 51 horses), 0.6 mg/kg meloxicam PO or IV (once daily; three horses) or 4.5 mg/kg as loading dose on first day, followed by 2.5 mg/kg phenylbutazone PO or IV (twice daily; one horse). In addition, initially all patients were treated with systemic broad-spectrum antimicrobials, which were adjusted according

to a susceptibility test, if results were available: 10 mg/kg amoxicillin (twice daily, IV or IM), preferentially in combination with 6.6 mg/kg gentamicin (once daily, IV), or 1 mg/kg cefquinome (once daily, IM), 2 mg/kg marbofloxacin (once daily, IV or IM) or 30 mg/kg trimethoprim-sulfadiazine (twice daily, PO). If involvement of anaerobic bacteria was suspected, systemic treatment (PO) with 25 mg/kg metronidazole (twice daily) was added. In the case of synovial structure involvement, the affected synovial structure was treated intrasynovially with 250 to 500 mg amikacin per structure subsequent to joint lavage.

Postoperative management

Following surgical intervention, medication was continued or, if results were available, antimicrobials were adapted to the susceptibility test. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) were given for at least 5 days until lameness improved and/or fever resolved. A total of 50 percent of the horses in G1 received NSAIDs for 9.5 days (95 % CI=6-13 d), whereas in G2, 50 percent were medicated with NSAIDs for 7 days (95 % CI=5-7 d). This difference was statistically significant ($P = 0.002$). The duration of the systemic treatment with antimicrobials was adjusted to SAA serum concentration as an indicator of infection, thus antimicrobials were administered until SAA serum concentrations reached baseline values. In G1, 50 percent of the horses were medicated with antimicrobials for 12 days (95 % CI=11-15 d). This was significantly longer ($P < 0.0001$) than 50 percent of the horses in G2, which were treated over 7 days (95 % CI=6-8 d) with antimicrobials. Horses were kept on strict stall rest, except for a daily short walk to assess lameness. The affected area involving the synovial structure and the wound was protected by a sterile bandage or cast for immobilisation. Bandage change was performed every 2 to 3 days or as needed.

SAA course

In G1, initial mean SAA concentrations of 196.59 $\mu\text{g/mL}$ showed a significant ($P < 0.0001$; related to the \log_{10} values) increase within 48 h to maximal concentrations of

1517.3 µg/mL (range 301.3 to 6174 µg/mL; Fig 2). Afterwards, SAA concentrations began to decline constantly. Fifty percent of the horses in G1 reached baseline values (< 2.7 µg/mL) within 12 days (95 % CI=11-15 d). The second peak of mean SAA concentration on day 12 in G1 was due to three horses that had a recurrence of synovial sepsis (Fig 3). The first horse (case number 16, Table supplementary), which had an involved digital flexor tendon sheath, showed a severe inflammatory reaction with a high increase in SAA concentration up to 1751.3 µg/mL at 48 h. On day 8, SAA had decreased to 57.8 µg/mL. On day 10 SAA levels started to increase, peaking on day 12 at 876.5 µg/mL (Fig. 3). This coincided with deteriorating lameness, but not fever. The second horse (case number 22, Table supplementary) manifested a septic arthritis of the talocrural joint. The mild initial SAA peak of 305.1 µg/mL was followed by a decrease until day 8, when the horse was discharged. On day 12, the horse was re-admitted because of fever and profound lameness. Severe recurrence of the septic inflammation with a SAA value of 6383 µg/mL was apparent (Fig 3). In the third horse (case number 25, Table supplementary), also with involvement of the digital flexor tendon sheath, a moderate initial SAA increase up to 1075.7 µg/mL was observed, after which concentrations decreased. On day 12, the SAA concentration re-increased to 312.2 µg/mL and fever as well as moderate lameness occurred. After a second surgical therapy, the SAA decreased from day 16 onwards (Fig 3). In all three cases, the renewed increase in SAA concentrations indicated a need for further diagnostics including synoviocentesis. Recurrence of synovial infection was thus confirmed and a second arthroscopic lavage was initiated. In the second surgical intervention in the second case, the arthroscopic findings of the involved talocrural joint revealed a poor prognosis, so that the horse was euthanased.

Horses without synovial structure involvement due to soft tissue trauma also had a highly significant ($P < 0.0001$; related to the \log_{10} values) increase in the mean SAA concentration within 48 h from initial 35.3 µg/mL to 820.5 µg/mL (range 3 to 4156 µg/mL at 48 h). Similar to G1, a decrease in the SAA concentration followed, with 50 percent of the horses in G2 taking 11 days (95 % CI=9-14 d) to reach baseline values (< 2.7 µg/mL). This time span did not differ significantly ($P = 0.115$; related to the \log_{10} values) between groups. The course of SAA concentrations over time revealed no significant differences (global $P = 0.932$; related to the \log_{10} values) between groups. However, the curve of the SAA concentration of horses without synovial involvement

was flatter and with a lower peak at 48 h than that of horses with synovial structure infection.

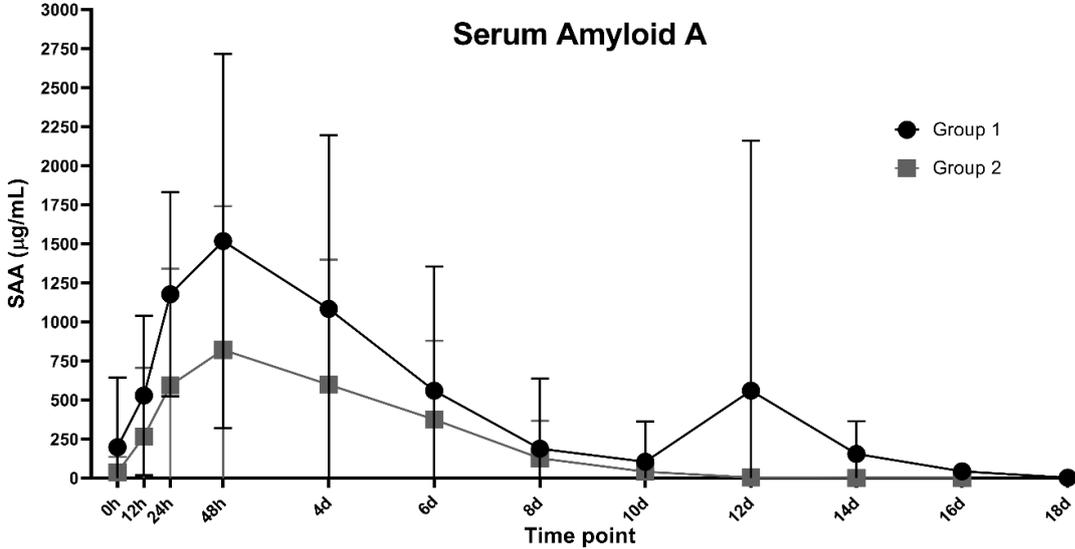


Fig 2: Course of Serum Amyloid A (SAA) concentrations (µg/mL; mean and SD) of group 1 and 2 during the observation period.

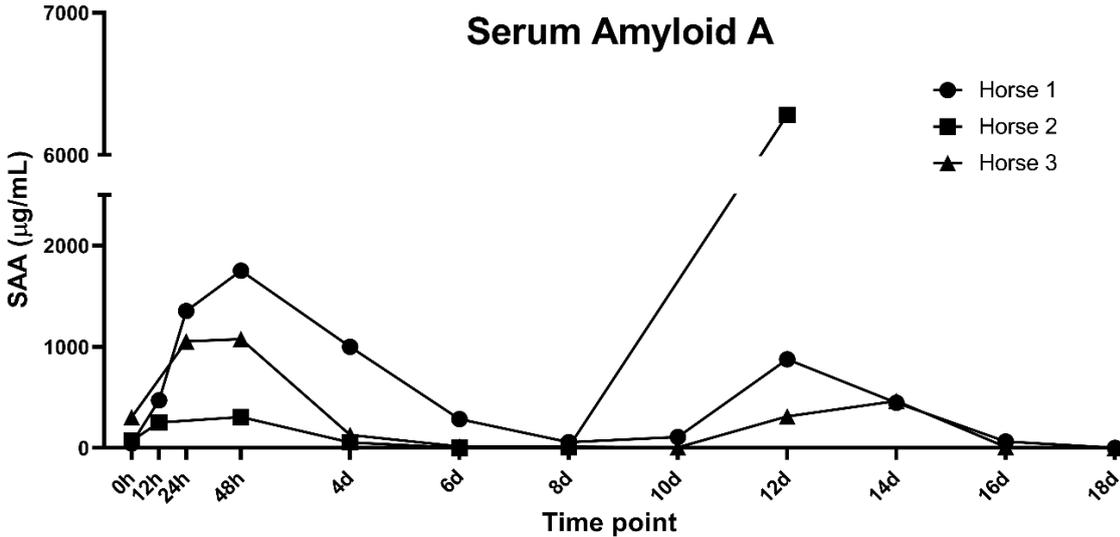


Fig 3: Course of Serum Amyloid A (SAA) concentrations (µg/mL) of three horses with recurrence of septic synovitis.

Clinical variables

Body temperature patterns yielded no significant differences (global $P = 0.1453$) between groups over time. Initially, the body temperature was highest in both groups with mean values just above the normal range in G1 (38.1°C), and within the normal range in G2 (38.0°C). In the following days, the temperature was within the normal range at all time points in both groups (Fig 4). In contrast, the lameness grade revealed a significant difference between groups ($P < 0.0001$). At the time of admission, horses with synovial involvement (G1) showed moderate lameness (score 2), which improved after surgical therapy within 48 h to a sound status (score 0; Fig 5). Horses without synovial structure involvement due to soft tissue trauma (G2) initially exhibited only mild lameness (score 1), which resolved within 24 h to a sound status (score 0). In the remaining time, the horses remained sound (Fig 5). In horses with synovial involvement (G1), SAA concentrations were correlated positively with the body temperature at time points 0 h ($P = 0.04$) and 24 h ($P = 0.03$; Fig 6) and with lameness at time points 48 h ($P = 0.04$), 4 days ($P = 0.04$), 8 days ($P = 0.03$) and 12 days ($P = 0.02$; Fig 6).

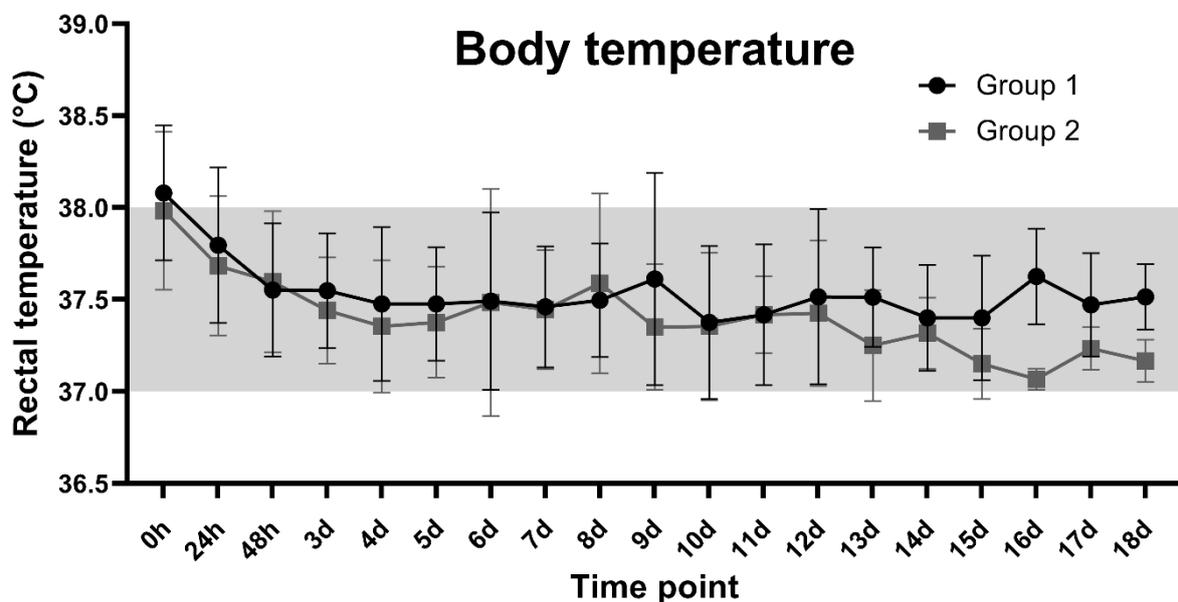


Fig 4: Course of body temperature ($^{\circ}\text{C}$; mean and SD) of group 1 and 2 during the observation period. The normal range is grey shaded (37.0 to 38.0°C).

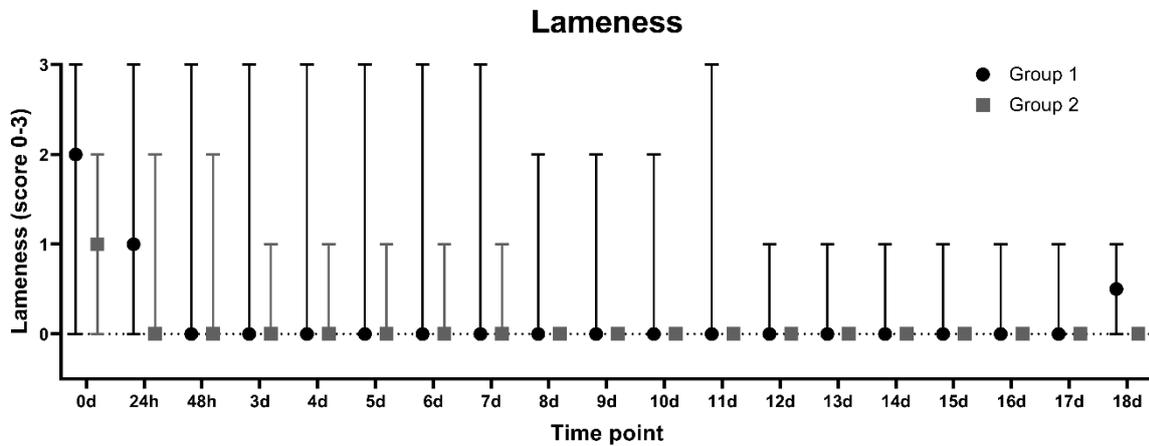


Fig 5: Course of lameness grade (score 0 to 3; median and range) of group 1 and 2 during the observation period.

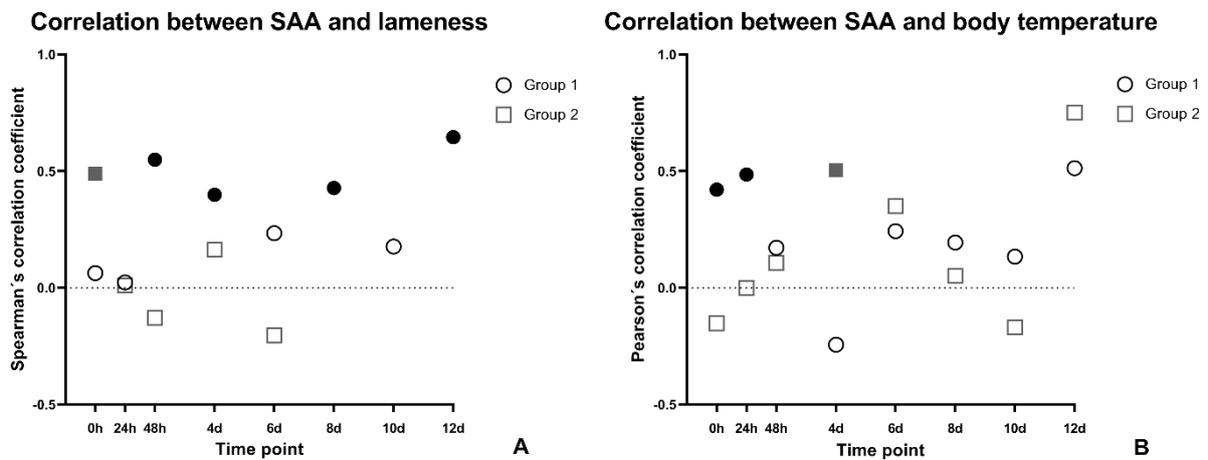


Fig 6 A: Spearman's correlation coefficient (r_s) between serum SAA concentrations and lameness for both groups and for each time point during the observation period. B: Pearson's correlation coefficient (r) between serum SAA concentrations and body temperature for both groups and for each time point during the observation period. Filled symbols (■/●) display a significant difference ($P < 0.05$) between groups, empty symbols (□/○) indicate no significant difference ($P > 0.05$) between groups.

Long-term outcome

Fifty four out of fifty-five horses (98 %) survived to discharge.

In G1, 77 percent (20 horses) returned to pre-injury performance or a higher level of function. Fifteen percent (four horses) were sound, but did not return to their previous performance level. One horse still had problems with aseptic synovitis 6 months after discharge, however the lameness resolved without further treatment. In G2, two horses were lost to follow-up. Of the remaining horses with soft tissue trauma without synovial structure involvement, 65 percent (19 horses) were considered to have returned to either their previous or a higher performance level and 14 percent (four horses) were considered to be performing at a lower level. Another 14 percent (four horses) were retired or euthanased due to unrelated conditions (Fig 7).

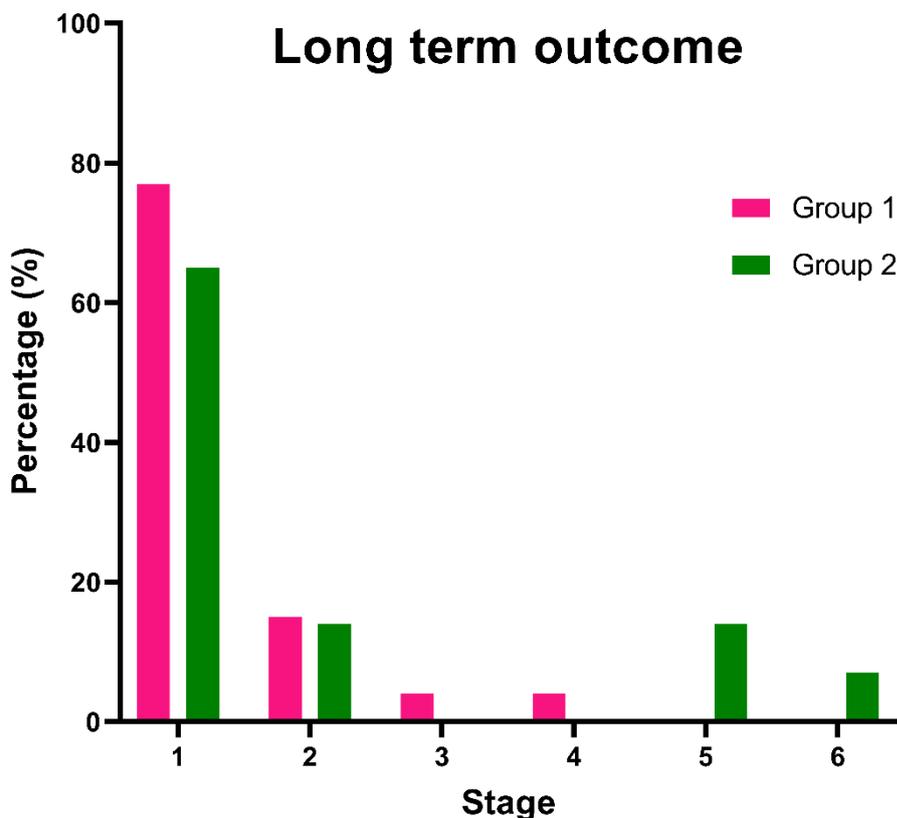


Fig 7: Long-term outcome with proportion of horses in percentage for each stage (1-6).

Discussion

The present study analysed the application of SAA as a systemic biomarker in disease monitoring and therapy adaptation in horses with synovial structure involvement due to acute (<24 h) wounds in the limb region and compared this tool with standard clinical variables. In this study, synovial infection produced a SAA response with SAA concentrations following the typical rise-and-fall pattern as already described elsewhere [14, 15, 25]. SAA concentrations increased immediately and reached an eight-fold higher peak than the initial concentration after 48 h, followed by a continuous decrease, until levels reached baseline values after 12 days post trauma. In other studies, SAA serum concentrations showed a significantly higher increase in septic synovitis than in aseptic diseases [13, 15, 25, 34, 35]. Our results support this, as, despite high inter-individual differences, horses with synovial structure infection due to wounds presented a higher concentration curve with a peak value of 1517.3 µg/ml, compared to group 2 with a peak value of 820.5 µg/ml (Fig 2). These values are comparable to those observed in related studies [13, 14]. Deviations from the typical pattern with a second increase in SAA concentration indicate a recurrence of disease [14, 24], which were confirmed with the separately presented three cases in this study (Fig 3). In the case of renewed increases in concentrations, re-evaluation of the inflammatory status within the affected synovial structure in terms of bandage change, assessment of the clinical criteria and SF analysis are advised. Thus, SAA levels guide the need for synoviocentesis. However, care should be taken to ensure, that the re-increase in SAA levels is not caused by another, concurrent inflammatory process, such as pneumonia or thrombophlebitis, which leads simultaneously to an increase in SAA concentrations and makes the interpretation of SAA values challenging or even impossible [29, 36]. In our study, SAA courses revealed no statistically significant difference between horses with and without synovial structure infection. This result underlines that, due to its high sensitivity, SAA shows a very unspecific reaction to any inflammatory stimulus [17, 29]. The amount of tissue trauma, contributing to the severity of the inflammatory reaction, may possibly have influenced the SAA levels [24, 26, 29]. The effect remains unclear, however it is impossible to standardize because of the clinical character of this study. In addition, the effect of general anaesthesia (GA) on SAA serum levels remains undetermined, as one study reported no increase in SAA concentrations after GA [30], and yet another study revealed a significant increase in

SAA values after GA without surgery [37]. However, GA did not seem to influence the results of this study, as there was no significant difference between groups including horses that were treated under GA as well as standing.

The advantage of SAA compared to fibrinogen, haptoglobin or WBC is the fast response time [22, 26, 38]. Furthermore, SAA can detect subclinical inflammatory reactions, especially when clinical variables are unclear or even within normal ranges. The severity of the inflammatory reaction depends on the amount of bacteria infecting the synovial cavity [39]. In cases of low-grade contamination, septic arthritis does not necessarily need to be accompanied by fever, which is highlighted by discontinuous correlation of SAA with rectal temperature (Fig. 6). Lameness has proven to be an important clinical variable in monitoring synovial infection postoperatively [4, 13]. The results of our study support the evidence, that the most reliable clinical variable is lameness, as lameness is positively correlated with SAA concentrations at 48 h and 12 days, representing the peak time points (Fig. 6) and revealing a significant difference between groups. Nevertheless, our three cases of recurrence illustrate that SAA concentrations act more rapidly and more clearly than clinical variables. In addition, clinical variables could have been affected by NSAIDs. The influence of NSAIDs on SAA levels in horses is unclear, as there are no suitable investigations available. In goats and calves, NSAIDs have no effect on SAA concentrations [40, 41], however Stack et al. (2019) [42] found that premedicated horses showed lower SAA levels than untreated horses. However, all the horses in our study received NSAIDs. A major advantage of systemic SAA in monitoring synovial sepsis is that it is not influenced by repeated lavages, repeated synoviocentesis or intrasynovial medication, whereas synovial parameters in terms of TP, TNCC and %N have been shown to increase [19–21]. The use of systemic SAA in monitoring synovial infection due to acute wounds in the limb region improved the outcome in our study with 77 % of horses in G1 returning to pre-injury performance or a higher level of function, compared to other studies [4, 11, 43].

It is possible that all of the three cases developed recurrent synovial infection around day 10 to 12, because within this time period, the bacterial growth of remaining synovial microorganisms could lead to clinical synovial sepsis. Systemic antimicrobial treatment plays a central role in treating contaminated synovial structures. The results

of this study show that antimicrobial treatment should be performed over a sufficiently defined time frame and individually for each horse. Our idea was to adapt the duration of antimicrobial treatment to the current inflammatory reaction guided by systemic SAA levels, as bacteria trigger the inflammatory reaction [2, 4, 7]. The excellent outcome obtained in this study highlights the success of the approach, with 54 out of 55 horses discharged from hospital in a sound state with SAA at baseline values and clinical signs of infection resolved. The recurrence of synovial infection in the three cases correlated to the discontinued antimicrobial treatment. This highlights the importance of continuing antimicrobial treatment at least until SAA concentrations reach baseline levels. Further studies are necessary to evaluate this. A delayed decrease in SAA concentrations shows a lack of treatment success [14, 24, 26, 29, 30, 32] highlighting the need to re-evaluate the treatment regime. Within the initial selection, it should be noted that cefquinome and marbofloxacin are not acceptable first line antimicrobials.

One limitation of this study is the small sample size, due to the restriction to acute wounds <24 h. The study results may also have been affected by the heterogeneity within each group and between the groups, as this was a clinical trial and wounds were not standardised. However, the results can be transferred to a routine clinical setting. In our patient population it was also not possible to create a control group. Due to the clinical design, data obtained per horse could not be standardised more stringently. In addition, returning the horse to the intended performance level was subjected to the owner's decision and thus, the outcome could have been affected by owner bias.

SAA provides a reliable, useful, and rapidly measured parameter to monitor the disease course and to adapt the treatment regimen. Local inflammatory activity within the synovial structure can be assessed based on systemic SAA levels during the healing process. Sequential, repeated measurements of serum SAA concentrations provide an objective tool and improved the outcome of this study, compared to other studies [4, 11, 43]. SAA should thus be added routinely to commonly used tools in the postoperative management of horses with synovial structure involvement due to wounds in the limb region. Treatment should be adapted to SAA levels in correlation with clinical variables, as SAA offers rapid support in decisions on whether to perform

a second surgery or adapt the duration of systemic antimicrobial treatment. As systemic SAA is positively correlated with synovial parameters in the initial synoviocentesis of contaminated synovial structures [44], SAA should be used in postoperative estimation of the synovial status. Synoviocentesis remains the most definitive means for diagnosing synovial sepsis.

Conflict of interest

None of the authors has any financial or personal relationships that could inappropriately influence or bias the content of the paper.

Author contributions

A. Müller: conception of the study and complete study design, study execution and data collection, data analysis, interpretation of data, primary author of the manuscript, accountable for all aspects of the work, final approval of the version to be published. K. Büttner: data analysis and interpretation of data, power analysis, revising the manuscript critically for important intellectual content, final approval of the version to be published. M. Röcken: substantial contribution to conception of the study, overall supervision in study design, interpretation of data, oversight in drafting the article, accountable for all aspects of the work, final approval of the version to be published.

Ethics statement

The study was reviewed and approved by the ethics committee of the regional council Giessen, Hessen, Germany and was not considered as an animal experiment (reference number kTV 6-2018). All blood samples were collected during routine diagnostic work-up of the cases. Owners gave their informed consent to use the results for research purposes of this study.

Data availability statement

The dataset is available from the corresponding author on reasonable request.

Table supplementary

Detailed information about the respective cases included in the study.

Group No.	Horse No.	Type of Injury	Involved synovial Structure	Outcome (Stage 1-5)	Complications	No. of surgical interventions	Type of surgical intervention	General anaesthesia or standing
1	1	2.5 cm horizontal wound dorsomedial at the proximal toe	Pastern joint	1	-	1	AL + WD	GA
1	2	Stab wound lateral at the tarsus	Bursa subtendinea calcanea	1	-	1	AL + WD	GA
1	3	0.5x0.3 cm wound distal to the hock	Bursa subtendinea calcanea	1	-	1	AL + WD	GA
1	4	6 cm transversal wound plantar in the fetlock region	Digital flexor tendon sheath	1	-	1	AL + WD	GA

1	5	10x3 cm wound dorsal in the fetlock region	Fetlock joint	1	-	1	AL + WD	GA
1	6	25 cm transverse wound palmar in the fetlock region	Digital flexor tendon sheath	1	-	1	AL + WD	GA
1	7	5 cm wound palmar in the carpus region	Common synovial sheath of carpal flexors	2	Partial cut of the M. extensor carpi ulnaris tendon	1	AL + WD	GA
1	8	Crush injury plantar in the fetlock region	Digital flexor tendon sheath + fetlock joint	1	-	1	AL + WD	GA
1	9	Multiple injuries at several legs	Bursa subtendinea calcanea	1	-	1	AL + WD	GA
1	10	Stab wound dorsal at the carpus	Radiocarpal joint	1	-	1	AL + WD	GA

1	11	Wound circular in the fetlock region	Digital flexor tendon sheath + pastern joint	1	Development of a thrombophlebitis of the right jugular vein 7 days after surgery	1	AL + WD	GA
1	12	Wound plantar above fetlock region at the MC III	Digital flexor tendon sheath	1	Partial cut of the superficial flexor tendon	1	AL + WD	GA
1	13	20 cm wound dorsal in the fetlock region	Fetlock joint	1	-	1	AL + WD	GA
1	14	Cut dorsal in the fetlock region, multiple small wounds	Fetlock joint	1	-	1	AL + WD	GA
1	15	1.5 cm wound dorsolateral in the fetlock region	Fetlock joint	3	Development of an aseptic arthritis 6	1	AL + WD	GA

					months after injury			
1	16	2 cm horizontal wound plantar in the fetlock region	Digital flexor tendon sheath	2	recurrence of synovial infection 12 days after first surgery	2	AL + WD	GA
1	17	Wound in the fetlock region	Digital flexor tendon sheath	2	partial cut of the deep digital flexor tendon	1	AL + WD	GA
1	18	8 cm wound plantar below hock	Tarsometatarsal joint	2	-	1	AL + WD	GA
1	19	3 cm transverse wound medial at the tarsus	Talocrural joint	1	-	1	AL + WD	GA
1	20	5 cm horizontal wound lateroplantar at the tarsus	Tarsal tendon sheath	1	-	1	AL + WD	GA

1	21	Extensive wound medial between carpus and fetlock	Digital flexor tendon sheath	1	-	1	AL + WD	GA
1	22	5 cm wound dorsolateral at the tarsus	Talocrural joint	4	recurrence of synovial infection 12 days after first surgery; euthanasia	3	AL + WD	GA
1	23	1 cm transverse wound lateral at the tarsus	Talocrural joint	1	-	1	AL + WD	GA
1	24	3x5 cm wound lateroplantar at the hock	Bursa subtendinea calcanea + Bursa subcutanea calcanea + tarsal tendon sheath	1	-	1	AL + WD	GA
1	25	4 cm horizontal wound in the fetlock region	Digital flexor tendon sheath	1	recurrence of synovial infection 12	2	AL + WD	GA

					days after first surgery			
1	26	8 cm horizontal wound dorsal at the carpus	Metacarpal joint	1	-	1	AL + WD	GA
2	1	Crush injury dorsal at the carpus	-	1	-	1	WD	S
2	2	Multiple wounds plantar at the MT III	-	2	-	1	WD	S
2	3	5x3 cm wound dorsal at the carpus	-	1	-	1	WD	GA
2	4	Multiple wounds at all 4 legs	-	2	-	1	WD	S
2	5	2x1 cm crush injury above coronet	-	5	-	1	WD	S
2	6	8 cm wound in the fetlock region	-	1	-	1	WD	GA

2	7	2x3 cm wound medial at the tarsus	-	1	-	1	WD	S
2	8	3x2 cm wound lateral at the MT III below tarsus	-	1	-	1	WD	S
2	9	5x7 cm wound dorsal at the MT III, multiple small injuries	-	2	-	1	WD	S
2	10	Wound plantar in the fetlock region	-	1	-	1	WD	GA
2	11	2cm wound in the fetlock region	-	1	-	1	WD	GA
2	12	4 cm wound medial at the MT III	-	1	-	1	WD	S
2	13	Multiple wounds at both forelimbs up to 4 cm	-	1	-	1	WD	S

2	14	5 cm horizontal wound dorsal in the fetlock region	-	1	Partial cut of the flexor tendon	1	WD	S
2	15	Wound plantar in the fetlock region	-	1	-	1	WD	GA
2	16	Horizontal wound in the fetlock region	-	5	-	1	WD	S
2	17	3-4 cm wound dorsolateral at the tarsus	-	1	-	1	WD	S
2	18	6 cm wound medial at the radius above the carpus	-	1	-	1	WD	S
2	19	20x10 cm wound dorsomedial at the carpus	-	5	-	1	WD	GA
2	20	Wound dorsal at the carpus	-	1	-	1	WD	GA

2	21	3x3 cm stab wound proximalateral at the tibia	-	2	-	1	WD	S
2	22	3x3 cm wound lateral in the fetlock region	-	1	-	1	WD	S
2	23	2 cm horizontal wound at the MT III	-	6	-	1	WD	GA
2	24	Wound dorsolateral at the MT III	-	1	-	1	WD	S
2	25	10 cm wound dorsolateral at the MT III	-	5	-	1	WD	S
2	26	4x4 cm wound lateral above fetlock	-	1	-	1	WD	GA

2	27	5 cm transversal wound lateral in the fetlock region	-	6	-	1	WD	GA
2	28	8 cm longitudinal wound lateral in the fetlock region	-	1	Partial cut of the flexor tendon	1	WD	GA
2	29	Crush injury medial below tarsus	-	1	-	1	WD	GA

MC Metacarpus; MT Metatarsus; AL Arthroscopic lavage; WD Wound debridement; GA General anaesthesia; S standing, under sedation

References

- 1 Wright IM, Smith MRW, Humphrey DJ, et al. Endoscopic surgery in the treatment of contaminated and infected synovial cavities. *Equine Vet. J.* 2003;35(6):613–19.
- 2 van Weeren PR. Septic Arthritis. In: McIlwraith CW, Frisbie D, eds. *Joint Disease in the Horse*, 2nd edn. St. Louis, Missouri: Elsevier 2016:91–104.
- 3 Frisbie D. Synovial Joint Biology and Pathobiology. In: Auer JA, Stick JA, eds. *Equine Surgery*, 4th edn. St. Louis, Missouri: Elsevier 2011:1096–114.
- 4 Schneider RK, Bramlage LR, Moore RM, et al. A retrospective study of 192 horses affected with septic arthritis/tenosynovitis. *Equine Vet. J.* 1992;24(6):436–42.
- 5 Cousty M, Stack JD, Tricaud C, et al. Effect of arthroscopic lavage and repeated intra-articular administrations of antibiotic in adult horses and foals with septic arthritis. *Vet. Surg.* 2017;46(7):1008–16.
- 6 Schneider RK, Bramlage LR, Mecklenburg LM, et al. Open drainage, intra-articular and systemic antibiotics in the treatment of septic arthritis/tenosynovitis in horses. *Equine Vet. J.* 1992;24:444–49.
- 7 Tremaine H. Infection of equine joints and tendon sheaths. *In Pract.* 2000;22(5):262–74.
- 8 Morton AJ. Diagnosis and treatment of septic arthritis. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 2005;21(3):627–649.
- 9 Honnas CM, Schumacher J, Cohen ND, et al. Septic tenosynovitis in horses: 25 cases (1983–1989). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1991;199:1616–22.
- 10 Bertone AL, McIlwraith CW, Jones RL, et al. Comparison of various treatments for experimentally induced equine infectious arthritis. *Am. J. Vet. Res.* 1987;48(3):519–29.
- 11 Meijer MC, van Weeren PR, Rijkenhuizen ABM. Clinical experiences of treating Septic Arthritis in the equine by repeated joint lavage: a series of 39 cases. *J. Vet. Med. A* 2000;47:351–65.
- 12 Tulamo R-M, Bramlage LR, Gabel AA. Sequential clinical and synovial fluid changes associated with acute infectious arthritis in the horse. *Equine Vet. J.* 1989;21(5):325–31.
- 13 Andreassen SM, Vinther AML, Nielsen SS, et al. Changes in concentrations of haemostatic and inflammatory biomarkers in synovial fluid after intra-articular injection of lipopolysaccharide in horses. *BMC Vet. Res.* 2017;13(1):182–98.
- 14 Haltmayer E, Schwendenwein I, Licka TF. Course of serum amyloid A (SAA) plasma concentrations in horses undergoing surgery for injuries penetrating synovial structures, an observational clinical study. *BMC Vet. Res.* 2017;13(1):137.
- 15 Ludwig EK, Wiese RB, Graham MR, et al. Serum and Synovial Fluid Serum Amyloid A Response in Equine Models of Synovitis and Septic Arthritis. *Vet. Surg.* 2016;45(7):859–67.
- 16 Haerdi-Landerer MC, Habermacher J, Wenger B, et al. Slow release antibiotics for treatment of septic arthritis in large animals. *Vet. J.* 2010;184(1):14–20.
- 17 Jacobsen S, Andersen PH. The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses. *Equine Vet. Educ.* 2007(19):38–46. doi: 10.2746/095777307X177235.

- 18 Steel CM. Equine synovial fluid analysis. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* 2008;24(2):437-454.
- 19 Sanchez Teran AF, Rubio-Martinez LM, Villarino NF, et al. Effects of repeated intra-articular administration of amikacin on serum amyloid A, total protein and nucleated cell count in synovial fluid from healthy horses. *Equine Vet. J.* 2012;44(43):12–16.
- 20 Sanchez-Teran AF, Bracamonte JL, Hendrick S, et al. Effect of Arthroscopic Lavage on Systemic and Synovial Fluid Serum Amyloid A in Healthy Horses. *Vet. Surg.* 2016;45(2):223–30.
- 21 Sanchez-Teran AF, Bracamonte JL, Hendrick S, et al. Effect of repeated through-and-through joint lavage on serum amyloid A in synovial fluid from healthy horses. *Vet. J.* 2016;210:30–33.
- 22 Miller M, Moritz A, Röcken M, et al. Bestimmung von Serum-Amyloid A, Haptoglobin und Fibrinogen als Entzündungsparameter nach Kastration von Hengsten. *Tierärztl. Prax.* 2007(35):69–74.
- 23 Miller M, Moritz A, Röcken M, et al. Die Akute Phase Reaktion nach minimalinvasiven Eingriffen beim Pferd. *Pferdeheilkd.* 2003;19(6):354–60.
- 24 Jacobsen S, Jensen JC, Frei S, et al. Use of serum amyloid A and other acute phase reactants to monitor the inflammatory response after castration in horses: a field study. *Equine Vet. J.* 2005;37(6):552–56.
- 25 Jacobsen S, Halling-Thomsen M, Nanni S. Concentrations of serum amyloid A in serum and synovial fluid from healthy horses and horses with joint disease. *Am. J. Vet. Res.* 2006;67(10):1738–42.
- 26 Jacobsen S, Nielsen JV, Kjelgaard-Hansen M, et al. Acute phase response to surgery of varying intensity in horses: A preliminary study. *Vet. Surg.* 2009;38(6):762–69.
- 27 Hoffman JS, Benditt EP. Plasma clearance kinetics of the amyloid-related high density lipoprotein Apoprotein, Serum Amyloid Protein (ApoSAA), in the mouse. *J. Clin. Invest.* 1983;71:926–34.
- 28 Tape C, Kisilevsky R. Apolipoprotein A-I and apolipoprotein SAA half-lives during acute inflammation and amyloidogenesis. *Biochim Biophys Acta* 1990;1043(3):295–300.
- 29 Nunokawa Y, Fujinaga T, Taira T, et al. Evaluation of Serum Amyloid-A Protein as an Acute-Phase reactive Protein in Horses. *J. Vet. Med. Sci.* 1993;55(6):1011–16.
- 30 Pepys MB, Baltz ML, Tennent GA, et al. Serum amyloid A protein (SAA) in horses: objective measurement of acute phase response. *Equine Vet. J.* 1989;21(2):106–09.
- 31 Hultén C, Tulamo R-M, Suominen M, et al. A non-competitive chemiluminescence enzyme immunoassay for the equine acute phase protein serum amyloid A (SAA) – a clinically useful inflammatory marker in the horse. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1999;68(2-4):267–81.
- 32 Pollock PJ, Prendergast M, Schumacher J, et al. Effects of surgery on the acute phase response in clinically normal and diseased horses. *Vet. Rec.* 2005;156(17):538–42.

- 33 Taylor AH, Mair TS, Smith LJ, et al. Bacterial culture of septic synovial structures of horses: Does a positive bacterial culture influence prognosis? *Equine Vet. J.* 2010;42(3):213–18.
- 34 Robinson CS, Singer ER, Piviani M, et al. Are serum amyloid A or D-lactate useful to diagnose synovial contamination or sepsis in horses? *Vet. Rec.* 2017;181(16):425. 10.1136/vr.104386.
- 35 Hultén C, Grönlund U, Hirvonen J, et al. Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and alpha2-globulins during induced noninfectious arthritis in the horse. *Equine Vet. J.* 2002;34(7):699–704.
- 36 Belgrave RL, Dickey MM, Arheart KL, et al. Assessment of serum amyloid A testing of horses and its clinical application in a specialized equine practice. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2013;243(1):113–19.
- 37 Stowasser-Rauschbauer B, Kabes S, Moens Y. Serum Amyloid A-Konzentrationen beim Pferd nach einer Allgemeinanästhesie mit und ohne chirurgischen Eingriff. *Wien. Tierärztl. Monatsschr.* 2013(100):127–32.
- 38 Allen BV, Kold SE. Fibrinogen response to surgical tissue trauma in the horse. *Equine Vet. J.* 1988;20(6):441–43.
- 39 Jacobsen S, Niewold TA, Halling-Thomsen M, et al. Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid in horses with lipopolysaccharide-induced arthritis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2006;110(3-4):325–30.
- 40 Karademir U, Akin I, Erdogan H, et al. Effect of Ketoprofen on acute phase protein concentrations in goats undergoing castration. *BMC Vet. Res.* 2016;12.
- 41 Plessers E, Wyns H, Watteyn A, et al. Immunomodulatory properties of gamithromycin and ketoprofen in lipopolysaccharide-challenged calves with emphasis on the acute-phase response. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2016;171:28–37.
- 42 Stack JD, Cousty M, Steele E, et al. Comparison of Serum Amyloid A Measurements in Equine Synovial Fluid With Routine Diagnostic Methods to Detect Synovial Infection in a Clinical Environment. *Front. Vet. Sci.* 2019;6:325.
- 43 Walmsley EA, Anderson GA, Muurlink MA, et al. Retrospective investigation of prognostic indicators for adult horses with infection of a synovial structure. *Aust. Vet. J.* 2011;89:226–31.
- 44 Müller AC, Büttner K, Röcken M. Systemic serum amyloid A in early (<24 h) diagnosis of acute synovial structure involvement in horses with penetrating limb injuries. *Vet. J.* 2021;277:105759. doi:10.1016/j.tvjl.2021.105759 [published Online First: 30 September 2021].

5. Übergreifende Diskussion

Mit den vorliegenden Untersuchungen wurde die Anwendung von SAA als systemischer Biomarker in der Frühdiagnostik sowie Krankheitsüberwachung und Therapieanpassung von Patienten mit akuten, perforierenden Gliedmaßenverletzungen und Infektion synovialer Strukturen evaluiert. Anhand dieser Grundlagen lässt sich die Analyse von SAA-Werten im Rahmen des klinischen Verfahrens solcher Patienten etablieren. Im ersten Teil dieser Arbeit wurde der Wert von SAA in der Frühdiagnostik einer Beteiligung synovialer Strukturen durch akute Gliedmaßenverletzungen untersucht. Im zweiten Teil wurde die Interpretation von SAA im Monitoring des Krankheitsverlaufes von synovialen Infektionen fokussiert.

5.1 Diskussion der angewandten Methoden

5.1.1 Studienaufbau und Patientenmaterial

Die vorliegenden Untersuchungen wurden prospektiv geplant, wobei der erste Teil als Querschnittsstudie die Situation während der initialen Diagnostik der Patienten widerspiegelt. Im zweiten Teil wurde im Rahmen einer Kohortenstudie der Krankheitsverlauf beobachtet. Auf der Grundlage einer Powerberechnung der AG Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin wurde ein Stichprobenumfang von mindestens 23 Pferden pro Gruppe festgesetzt. Dabei wurden keine Einschränkungen hinsichtlich Alter, Rasse oder Geschlecht der Pferde festgelegt, um eine vielfältige Population zu erhalten, die praxisrelevante Ergebnisse liefert. Ausgeschlossen wurden lediglich Pferde mit klinischen Anzeichen einer akuten systemischen Infektion, die nicht im Zusammenhang mit der Verletzung steht, da diese die blutparametrischen Entzündungswerte und klinischen Kriterien beeinflusst hätte. Bei dem Patientenmaterial handelte es sich um 55 Pferde mit akuten, bis maximal 24 Stunden alten Gliedmaßenverletzungen, welche in der Klinik für Pferde, Chirurgie und Orthopädie der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Untersuchung der Beteiligung einer synovialen Struktur und Therapie vorgestellt wurden. Die Pferde standen zum Zeitpunkt des Traumas mehrheitlich nicht unter Beobachtung und wurden mit der

Verletzung aufgefunden, so dass keine Angaben zum genauen Zeitrahmen gemacht werden konnten. In jedem Fall konnte versichert werden, dass die Verletzung nicht älter als 24 Stunden war. Somit fokussierten die vorliegenden Untersuchungen die Frühdiagnostik in der akuten Phase einer synovialen Infektion. Aus der Nutzung von klinischem Patientenmaterial resultiert, dass einige Pferde bereits vor Vorstellung in der Klinik durch den überweisenden Haustierarzt mit Antibiotika und NSAIDs vorbehandelt waren. Diese Tatsache war jedoch im Rahmen dieser Studien nicht zu beeinflussen und spiegelt ohnehin die Situation im klinischen Alltag wider. Neben dem Alter der Verletzungen war ein Haupteinschlusskriterium die Art der Verletzung im Gliedmaßenbereich. Die Untersuchungen beschränkten sich auf Riss-, Quetsch- oder Schnittverletzungen des Weichteilgewebes ohne knöcherne Beteiligung, da ein möglicher Einfluss von Knochentraumata auf klinische Schmerzindikatoren wie Herzfrequenz, Lahmheit, Allgemeinbefinden und Körperinnentemperatur ausgeschlossen werden sollte. Somit heben sich die beiden durchgeführten Studien mit einer besseren Vergleichbarkeit von vorangegangenen Studien ab, da diese auch Patienten mit Gliedmaßenverletzungen und Knochenfrakturen einschlossen (HALTMAYER et al. 2017; JACOBSEN et al. 2006a; BELGRAVE et al. 2013). Die Pferde dieser Untersuchungen wurden in zwei Gruppen aufgeteilt, die sich lediglich im Kriterium der Diagnose einer Beteiligung synovialer Strukturen unterschieden. Pferde ohne Beteiligung einer synovialen Struktur dienten demnach als Vergleichsgruppe. Somit konnten die o.g. Ziele der beiden Studien dieser Arbeit präzise verfolgt werden.

5.1.2 Messung von SAA und anderen Blutparametern

Die Bestimmung der SAA Serumkonzentration mittels immunturbidimetrischer Methode hat sich als Goldstandard bewährt (KIEMLE et al. 2022) und sollte möglichst verwendet werden. Wird eine andere Methode, beispielsweise mittels Immunchromatografie und objektiver Farbmessung per mobilem Messgerät, angewendet, sollte stets im Verlauf bei Folgemessungen die gleiche Methode genutzt werden, um inter-assay Varianzen zu vermeiden (SCHWARTZ et al. 2018; KIEMLE et al. 2022; KARAM et al. 2020). Zudem muss beachtet werden, dass bei Anwendung der letztgenannten Methode ein Hook-Effekt hohe Werte beeinflussen kann (KIEMLE

et al. 2022). Die Messzeitpunkte der SAA Serumkonzentration wurden initial engmaschig gewählt, um einen Anstieg der Konzentration adäquat darstellen zu können. Für die Frühdiagnostik der Mitbeteiligung einer synovialen Struktur sollte die Messung direkt nach Vorstellung des Patienten erfolgen, um einen zeitlichen Effekt und eine Beeinflussung durch eine bereits eingeleitete Therapie (STACK et al. 2019; BUSK et al. 2010; HAUCKE et al. 2017) zu vermeiden. Für Wiederholungsmessungen der SAA-Konzentration im Rahmen des Krankheitsmonitorings hat sich neben der täglichen Interpretation der klinischen Parameter in Abhängigkeit vom Kosten-Nutzen-Verhältnis ein zweitägiger Abstand bewährt. Bei Verschlechterung der Gliedmaßenbelastung oder Auftreten von Fieber sollte eine sofortige Nachmessung des SAA-Wertes erfolgen. Es hat sich in der zweiten Studie gezeigt, dass das SAA schneller und deutlicher auf ein Wiederaufflammen der Entzündungsreaktion reagiert als die klinischen Kriterien Lahmheit und Körperinnentemperatur.

Die Messung von Leukozyten und Fibrinogen im Blut im Rahmen der initialen Frühdiagnostik wurde durchgeführt, um einen Vergleich von SAA zu bewährten Entzündungsmarkern beim Pferd (HULTEN et al. 1999; STONEHAM et al. 2001) zu erhalten. Auch konnten SAA als *Major* APP und Fibrinogen als *Moderate* APP beim Pferd direkt gegenübergestellt werden. Im Vergleich zu herkömmlichen Entzündungsmarkern wie Fibrinogen und Leukozyten hat sich SAA wiederholt als sensitiverer Indikator der equinen Entzündung und Gewebeschädigung erwiesen (JACOBSEN und ANDERSEN 2007; HULTEN et al. 2002; ANDREASSEN et al. 2017; JACOBSEN et al. 2006a; JACOBSEN et al. 2006c).

5.1.3 Bewertung von klinischen Parametern

Für die Graduierung des klinischen Parameters Lahmheit ist kein Bewertungsschema vorhanden, das sich lediglich auf die Beurteilung im Schritt bezieht. Daher musste sich für die vorliegenden Untersuchungen an die AAEP Lameness Scale (American Association of Equine Practitioners, 2022) als am meisten angewendete Skala zur Einteilung des Lahmheitsgrades angelehnt und diese modifiziert werden. Die validierte

Composite Orthopaedic Pain Scale (BUSSIERES et al. 2008) zur Einstufung des Allgemeinbefindens bei orthopädischen Problemen erwies sich als praktikabel.

5.1.4 Synoviauntersuchung

Der Gehalt an Gesamtleukozyten und der Anteil an neutrophilen Granulozyten in der Synovia wurde in den vorliegenden Untersuchungen mittels automatisierter Zytometrie gemessen. Die Ergebnisse der ersten Studie belegen, dass die Analyse der Parameter einer Synoviaprobe ein wichtiges und entscheidendes Kriterium in der Diagnostik der synovialen Beteiligung bei Gliedmaßenverletzungen ist. Sollte kein Messgerät zur Bestimmung der Zellzahl in einer Synoviaprobe vorhanden sein, kann der Gehalt an Leukozyten und der Anteil an neutrophilen Granulozyten immer in einem Ausstrich der Synoviaprobe unter dem Mikroskop bestimmt werden (STEEL 2008). Die Messung des Totalproteins im Refraktometer stellt ein einfach anzuwendendes und hilfreiches Verfahren dar. Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen der Synovia waren erst nach mindestens 3 bis 5 Tagen verfügbar. In der durchgeführten Studie gelang nur in einer Probe eine erfolgreiche Erregeranzüchtung trotz Einhaltung evidenzbasierter Methodik (DUMOULIN et al. 2010; VAN WEEREN 2016; WEESE et al. 2008; FÜRST et al. 2010). Gründe hierfür könnten der frühe Zeitpunkt der Probensammlung im frühen Stadium der synovialen Infektion oder eine ausgeprägte Mimikry der Bakterien sein (TULAMO et al. 1989; MEIJER et al. 2000; MCILWRAITH 2008; SCHNEIDER et al. 1992b).

5.2 Diskussion und Interpretation der Ergebnisse

5.2.1 Teil 1: Frühdiagnostik der Beteiligung synovialer Strukturen bei Gliedmaßenverletzungen

5.2.1.1 SAA und andere Entzündungsparameter im Blut

Die Ergebnisse der ersten Studie offenbaren, dass der systemische Entzündungsmarker SAA in der Frühdiagnostik infizierter synovialer Strukturen infolge von akuten, penetrierenden Weichteilverletzungen in der Gliedmaßenregion als alleiniges Kriterium nicht geeignet ist.

In anderen Studien hat sich gezeigt, dass SAA-Konzentrationen bei septischen Synovialitiden signifikant höher anstiegen als bei aseptischen Gelenksentzündungen (HULTEN et al. 2002; JACOBSEN et al. 2006a; JACOBSEN et al. 2006c; LUDWIG et al. 2016; ANDREASSEN et al. 2017; HALTMAYER et al. 2017; ROBINSON et al. 2017; STACK et al. 2019). Demnach wird SAA als Diagnostikum für septische Infektionen synovialer Strukturen definiert. In der vorliegenden klinischen Studie konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den initialen SAA-Werten bei Pferden mit und ohne Beteiligung synovialer Strukturen festgestellt werden. Die Ergebnisse verdeutlichen somit, dass der SAA-Wert alleine in der klinischen Frühdiagnostik der Beteiligung synovialer Strukturen nicht verwendet werden kann. Die vorliegende Studie unterscheidet sich von den genannten Studien zum einen durch den klinischen Studienaufbau und zum anderen durch die Definition der Gruppen. Einige der Vergleichsstudien basieren auf experimentellen Ansätzen mit standardisierteren Voraussetzungen. Die Ergebnisse dieser Arbeit gehen aus den Daten von klinischem Patientengut hervor. Somit können die vorliegenden Resultate direkt auf die klinische Anwendung übertragen werden.

Trotz der zeitlichen Begrenzung des Alters (<24 Stunden) und des Charakters der Verletzungen auf Riss-, Schnitt- bzw. Quetschwunden des Weichteilgewebes als Haupteinschlusskriterien zeigte der Parameter SAA in beiden Gruppen eine hohe Streuung in der initialen Messung. Pferde mit Beteiligung einer synovialen Struktur durch die Verletzung in der Akutphase hatten mittlere SAA-Konzentrationen von

196,59 µg/ml, wohingegen Pferde mit Ausschluss einer synovialen Beteiligung mittlere SAA-Werte von 35,26 µg/ml aufwiesen. Niedrige SAA-Konzentrationen schließen eine Beteiligung synovialer Strukturen jedoch nicht sicher aus. Die Blutprobe kann entnommen worden sein, bevor das SAA nachweisbar angestiegen ist. Bei Pferden zeigt sich ein Anstieg von SAA im Blut etwa 16 Stunden nach dem Insult (HULTEN et al. 1999; JACOBSEN et al. 2006a; JACOBSEN et al. 2006c; ANDREASSEN et al. 2017). Auf der anderen Seite können hohe initiale SAA-Konzentrationen aufgrund der hohen Sensitivität, aber auch Unspezifität des SAA auf jeglichen Entzündungsstimulus (NUNOKAWA et al. 1993; JACOBSEN et al. 2005) zustande kommen. Beispielsweise ist bislang unbekannt, welchen Einfluss das Trauma des Weichteilgewebes auf die SAA Konzentration hat und ob das SAA proportional zum Ausmaß der Gewebeschädigung ansteigt. Es ist aber naheliegend, dass es hier einen Zusammenhang gibt, da in der vorliegenden Studie einige Pferde mit Verletzungen ohne synoviale Beteiligung hohe initiale SAA-Werte aufwiesen. Bereits ein Weichteiltrauma löst als Stimulus eine APR aus, die zum Anstieg der APP im Blut führt (NUNOKAWA et al. 1993; JACOBSEN et al. 2005). Der Einfluss von Medikamenten wie NSAIDs und Antibiotika im Rahmen der Prämedikation auf den SAA-Spiegel im Blut ist darüber hinaus bislang nicht vollständig geklärt (STACK et al. 2019; BUSK et al. 2010; HAUCKE et al. 2017; KARADEMIR et al. 2016; PLESSERS et al. 2016). Eine haustierärztliche Vorbehandlung bei überwiesenen Patienten ist jedoch nicht beeinflussbar. Außerdem war der Kontaminationsgrad der Verletzung aufgrund des klinischen Verfahrens nicht zu standardisieren. So gibt es verschiedene Faktoren, die den SAA-Wert beeinflussen, aber im Rahmen dieser Studie aufgrund ihres klinischen Aufbaus nicht ausgeschlossen werden konnten.

Die erste Studie dieser Arbeit verdeutlicht, dass die klassischen Entzündungsparameter in der Pferdemedizin, Leukozyten und Fibrinogen (HULTEN et al. 1999; STONEHAM et al. 2000), in der Frühdiagnostik der Beteiligung von synovialen Strukturen durch Verletzungen an Gliedmaßen keine gesicherte diagnostische Aussage zulassen. Bereits andere Studien haben gezeigt, dass SAA gegenüber anderen Entzündungsparametern wie Fibrinogen oder Leukozyten wesentlich schneller und deutlicher reagiert (JACOBSEN und ANDERSEN 2007; FEY 2017; MORITZ et al. 2014; JACOBSEN et al. 2005; ALLEN und KOLD 1988; AUER et al. 1989; HULTEN et al. 2002; ANDREASSEN et al. 2017; NUNOKAWA et al. 1993;

MILLER et al. 2003; MILLER et al. 2007). In der vorliegenden Studie konnte eine positive Korrelation von SAA und Fibrinogen in der initialen Blutuntersuchung der Pferde mit einer infizierten synovialen Struktur festgestellt werden. Dies belegt, dass Fibrinogen und SAA als APP äquivalent auf die APR reagieren (JACOBSEN und ANDERSEN 2007).

5.2.1.2 Klinische Parameter

Die Ergebnisse der klinischen Parameter erweisen, dass klinische Anzeichen in der Frühdiagnostik der synovialen Infektion insgesamt keine entscheidenden Hinweise liefern bzw. schwierig zu interpretieren sind (JACOBSEN und ANDERSEN 2007). Obwohl Tachykardie und Fieber gewöhnlich bei einer manifesten synovialen Infektion auftreten (VAN WEEREN 2016; MCILWRAITH 2008; JACOBSEN et al. 2006c; MORTON 2005; BRYANT et al. 2019; SCHNEIDER et al. 1992b; ANDREASSEN et al. 2017), zeigten diese Parameter in den vorliegenden Untersuchungen keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Fieber als klassisches Symptom einer systemischen Entzündungsreaktion (JENSEN und WHITEHEAD 1998; KUSHNER und MACKIEWICZ 1993; UHLAR und WHITEHEAD 1999) war in keiner der beiden Gruppen manifest und konnte nicht als aussagekräftiger Parameter genutzt werden. Auch das Allgemeinbefinden war bei Pferden mit Beteiligung einer synovialen Struktur nur geringgradig schlechter als bei Pferden ohne synoviale Beteiligung. Klinische Symptome treten nach zwei bis 48 Stunden post infectionem auf (JACOBSEN et al. 2006c; ANDREASSEN et al. 2017; TULAMO et al. 1989), wobei sie mit Voranschreiten des Krankheitsgeschehens ausgeprägter werden können (HONNAS et al. 1991; MORTON 2005; TULAMO et al. 1989). Da wie bereits erwähnt in einigen Fällen keine genaue Angabe über die Zeitspanne von Insult bis Erstuntersuchung gemacht werden konnte, ist es möglich, dass die initiale Untersuchung stattfand, bevor sich klinische Symptome wie Fieber oder Tachykardie manifestierten. Einzig der Lahmheitsgrad der betroffenen Gliedmaße lieferte in der initialen Diagnostik eine signifikante Aussage zur Beteiligung einer synovialen Struktur und korrelierte mit dem SAA-Wert, also mit der ablaufenden Entzündungsreaktion. Insgesamt ist unklar, welchen Beitrag der Schmerz, der allein durch die Verletzung

bzw. das Weichteiltrauma verursacht wird, zur Ausprägung der klinischen Symptome, wie eine schmerzbedingte Lahmheit, beiträgt (VAN WEEREN 2016).

5.2.1.3 Ergebnisse der Synoviaanalyse

Die erzielten Ergebnisse unterstützen die wichtige Bedeutung der Untersuchung einer Synoviaprobe in der Frühdiagnostik der synovialen Beteiligung bei Gliedmaßenverletzungen (MORTON 2005; STEEL 2008; LUDWIG et al. 2016; VAN WEEREN 2016; ANDREASSEN et al. 2017; ROBINSON et al. 2017). In der vorliegenden ersten Studie zeigten die Synoviaprobe der ersten Gruppe signifikante pathologische Veränderungen hinsichtlich des makroskopischen Erscheinungsbildes, der Zellzahl, des Anteils der neutrophilen Granulozyten und des Totalproteins. Somit gaben die Werte der Synoviauntersuchung eine direkte Aussage über die Entzündungssituation in der beteiligten synovialen Struktur. Die signifikante Korrelation des initialen SAA-Wertes mit dem Anteil von neutrophilen Granulozyten in der Synovia zeigt, dass beide Parameter proportional zur lokalen Entzündungsreaktion, resultierend aus der synovialen Infektion, anstiegen. Auch zeitlich gesehen ist der Anstieg der Leukozyten in der Synovia und des SAA im Blut in einem ähnlichen Rahmen einzuordnen, denn Leukozyten steigen in der Synovia 8 bis 12 Stunden nach dem Insult an (TULAMO et al. 1989). Sollte eine Synoviapunktion in der initialen Diagnostik nicht möglich sein oder kein eindeutiges Ergebnis liefern, kann die Interpretation des SAA-Werts im Blut hilfreich sein, aber sollte stets in Korrelation mit den anderen vorhandenen Kriterien wie dem Lahmheitsgrad oder den Ergebnissen der bildgebenden Verfahren erfolgen.

5.2.2 Teil 2: Krankheitsüberwachung und Therapieanpassung bei Infektionen von synovialen Strukturen

5.2.2.1 Verlauf der SAA Serumkonzentration

Große Bedeutung kommt wiederholten Messungen der SAA-Konzentration im Rahmen der postoperativen Krankheitsüberwachung zu, wie mit dem zweiten Teil der Untersuchungen verdeutlicht werden konnte. SAA-Konzentrationen beider Gruppen folgten im Zuge wiederholter Messungen dem bekannten, typischen Muster mit einem raschen Anstieg der SAA-Konzentrationen bis zu einem deutlichen Peak nach 48 Stunden, gefolgt von einem kontinuierlichen Abfall mit Erreichen von Basiswerten nach durchschnittlich 12 Tagen (JACOBSEN et al. 2005; JACOBSEN et al. 2009; POLLOCK et al. 2005; NUNOKAWA et al. 1993; PEPYS et al. 1989). Trotz hoher interindividueller Schwankungen wiesen dabei Pferde mit Beteiligung synovialer Strukturen eine stärker ausgeprägte Entzündungsreaktion auf. Pferde der Gruppe 1 zeigten eine höhere Konzentrationskurve mit Mittelwerten bei einem Peak von 1517,3 µg/ml im Vergleich zu Gruppe 2 mit einem Peak von 820,5 µg/ml nach 48 Stunden.

Der Verlauf der SAA Serumkonzentrationen spiegelt den Entzündungsstatus innerhalb der synovialen Struktur wider (JACOBSEN et al. 2006a; HALTMAYER et al. 2017). SAA-Konzentrationen fallen rasch ab, sobald der Entzündungsstimulus eliminiert und somit die SAA Synthese heruntergefahren wird (JACOBSEN und ANDERSEN 2007). Demnach bestätigt der SAA-Verlauf den Erfolg der eingeleiteten Therapie und eine positive Heilungsphase. Abweichungen vom charakteristischen Verlauf mit einem Wiederanstieg der SAA-Konzentration können ein Wiederaufflammen der Entzündungsreaktion innerhalb der synovialen Struktur anzeigen und müssen stets reevaluiert werden (HALTMAYER et al. 2017; JACOBSEN et al. 2005). Anhaltend hohe SAA-Konzentrationen wurden bereits bei Pferden mit Komplikationen nach elektiven Eingriffen beschrieben (BELGRAVE et al. 2013; JACOBSEN et al. 2005; MILLER et al. 2007) und weisen auf eine fortschreitende Entzündung und einem Versagen der Therapie hin. Persistierend hohe oder wiederansteigende SAA-Konzentrationen indizieren eine Evaluierung der Entzündungssituation innerhalb der synovialen Struktur mittels weiterführender Untersuchungen wie zum Zeitpunkt der initialen Diagnostik.

Die SAA-Verläufe beider Gruppen zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen Pferden mit und ohne Beteiligung synovialer Strukturen. Dies unterstreicht, dass SAA als *Major APP* aufgrund seiner hohen Empfindlichkeit gegenüber jeglichen Entzündungsreiz ebenso sensibel wie unspezifisch reagiert (JACOBSEN und ANDERSEN 2007; NUNOKAWA et al. 1993). Auch im postoperativen Verlauf wird der vermutete Effekt der Gewebeschädigung auf die SAA-Konzentration, wie bereits in der initialen Diagnostik erwähnt, anhalten. Trotzdem muss stets überprüft werden, ob nicht ein separater, gleichzeitig ablaufender Entzündungsprozess in anderen Lokalisationen, wie eine Thrombophlebitis oder Pneumonie, in der postoperativen Phase hinzugekommen ist, der einen Wiederanstieg des SAA verursacht.

Nicht nur der Erfolg, sondern auch die Dauer der antibiotischen Therapie zur Eliminierung der Infektion kann anhand des SAA Verlaufs überprüft werden. Bakterien triggern die Entzündungsreaktion (SCHNEIDER et al. 1992b; VAN WEEREN 2016; MEIJER et al. 2000; TREMAINE 2000) und unterhalten somit die SAA Synthese. Bei erfolgreicher antibiotischer Therapie sollten die SAA-Konzentrationen proportional zur Reduktion der Entzündungsreaktion sinken. Neben der arthroskopisch gestützten Lavage ist die systemische Therapie mit Antibiotika in der postoperativen Phase ein zentraler Punkt zur Beseitigung von Bakterien, die eine Infektion der betroffenen synovialen Struktur hervorrufen. Daher sollte die antibiotische Therapie stets über einen ausreichenden und für jeden Patienten individuell gestalteten Zeitraum fortgeführt werden. So kann auch hier die ablaufende Entzündungsreaktion zur Therapigestaltung hinzugezogen werden. Bei den drei gesondert dargestellten Fällen in der zweiten Studie korrelierte das Wiederauftreten der synovialen Infektion mit der Beendigung der antimikrobiellen Behandlung. Dies unterstreicht, dass eine antimikrobielle Behandlung mindestens so lange durchgeführt werden sollte, bis die SAA-Werte anhaltend physiologische Konzentrationen über zwei Messungen im Abstand von zwei Tagen erreichen.

In der routinemäßigen Verlaufskontrolle des Krankheitsgeschehens ist eine wiederholte Untersuchung der Synovia eine verbreitete Methode zur Überprüfung des Zustandes der infizierten synovialen Struktur (COUSTY et al. 2017; WRIGHT et al. 2003; LUDWIG et al. 2016; ANDREASSEN et al. 2017; HALTMAYER et al. 2017). Die Werte der Synoviauntersuchung werden jedoch durch wiederholte Synoviozentese,

intrasynoviale Medikation oder synoviale Lavage beeinflusst, wohingegen der systemische SAA-Wert unbeeinflusst bleibt (SANCHEZ-TERAN et al. 2012; SANCHEZ-TERAN et al. 2016a; SANCHEZ-TERAN et al. 2016b). Die vorliegende zweite Studie zeigt, dass die Messung von SAA im Blut die regelmäßige, wiederholte Synoviapunktion zur Überprüfung des Zustandes der betroffenen synovialen Struktur ersetzen kann. Das hervorragende Langzeitergebnis dieser Studie belegt dies. Somit ist die Interpretation des Verlaufes der SAA-Konzentration in der Überwachung des Therapieerfolges zu präferieren, auch wegen der geringeren Invasivität und möglicher Komplikationen. Die individuelle Untersuchung einer Synoviaprobe sollte bei einem Wiederanstieg der systemischen SAA-Konzentration in Erwägung gezogen werden, um zu überprüfen, ob dieser durch ein Wiederaufflammen der lokalen Entzündung der betroffenen synovialen Struktur ausgelöst wurde.

5.2.2.2 Klinische Parameter im Verlauf

Auch in der zweiten Studie verdeutlichen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass klinische Parameter keine bedeutenden Informationen über den postoperativen Zustand der infizierten synovialen Struktur liefern. Im Vergleich zu den in der postoperativen Überwachung herkömmlich verwendeten klinischen Parametern, wie Lahmheitsgrad und Körperinnentemperatur, zeigte die SAA Serumkonzentration ein Rezidiv wesentlich früher und deutlicher an, was durch die drei gesondert vorgestellten Fälle verdeutlicht werden konnte. Sowohl der Grad der Lahmheit als auch der Verlauf der Körperinnentemperatur zeigten innerhalb der Gruppen sowie zwischen beiden Gruppen keine signifikanten Veränderungen bzw. Unterschiede auf. Obwohl der Verlauf der SAA Serumkonzentration eine deutliche systemische Entzündungsreaktion anzeigte, reagierte die Körperinnentemperatur nicht mit einem Anstieg. Es ist daher denkbar, dass die Entzündungsreaktion mit der eingeleiteten Therapie, also der Lavage der betroffenen synovialen Struktur sowie der systemischen Gabe von NSAIDs und Antibiotika, frühzeitig eingedämmt wurde, bevor der Mechanismus zur Induktion von Fieber initiiert wurde. Gegenüber den latenten klinischen Kriterien verdeutlicht SAA qualitativ und quantitativ den Grad und Verlauf der synovialen Entzündung.

5.2.2.3 Outcome

Nach Kenntnis des Autors ist die vorliegende Arbeit die erste Studie, die das Kurz- und Langzeitergebnis nach Überwachung des Krankheitsverlaufs bei Pferden mit synovialer Infektion anhand von SAA im klinischen Verfahren untersucht hat. Damit hebt sich diese Studie von Vergleichsstudien (HALTMAYER et al. 2017; JACOBSEN et al. 2006a) ab. Nach Monitoring des Krankheitsverlaufs mittels wiederholter Messungen der SAA Serumkonzentration konnten 96 % der Patienten (25/26 Pferde) nach erfolgreicher Therapie einer synovialen Infektion durch Gliedmaßenverletzungen symptomfrei mit SAA-Werten im physiologischen Bereich entlassen werden. Nach Überwachung von Patienten mit synovialer Infektion mittels herkömmlicher Protokolle überlebten 86 % (SCHNEIDER et al. 1992b), 87 % (MEIJER et al. 2000), 84 % (WALMSLEY et al. 2011) bzw. 90 % (WRIGHT et al. 2003) bis zur Entlassung. Von den Vergleichsstudien haben lediglich zwei Studien zusätzlich das Langzeitergebnis dokumentiert. Dabei kehrten 54 % (WALMSLEY et al. 2011) bzw. 81 % (WRIGHT et al. 2003) der Pferde mit synovialer Infektion nach Verwendung herkömmlicher Überwachungsprotokolle zu ihrem ursprünglichen Leistungsniveau zurück. Die vorliegende Studie ergab ein Langzeitergebnis von 77 % der Pferde mit synovialer Infektion durch Gliedmaßenverletzungen, die zwei Jahre nach Entlassung zu ihrem ursprünglichen oder einem höheren Leistungsniveau zurückkehrten. In den Vergleichsstudien wurden die eingeschlossenen Fälle hinsichtlich der Ätiologie der synovialen Infektion nicht nur auf Wunden beschränkt. Insgesamt bringt die vorliegende Studie durch Verwendung wiederholter Messungen der SAA Serumkonzentration ein besseres Ergebnis hervor als herkömmliche Protokolle zur Krankheitsüberwachung von synovialen Infektionen. Dieses Ergebnis bestärkt, dass SAA ein hilfreicher Biomarker in der Krankheitsüberwachung von Pferden mit einer Infektion synovialer Strukturen ist.

5.3 Schlussfolgerungen

Die klinische Anwendung von SAA im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen zeigt, dass SAA ein einfacher und schnell zu messender Parameter zur Überwachung

des Krankheitsverlaufs und zur raschen Anpassung des Behandlungsschemas bei Pferden mit Beteiligung synovialer Strukturen durch Verletzungen im Gliedmaßenbereich ist. Die postoperative Entwicklung der lokalen Entzündung innerhalb der affizierten synovialen Struktur kann anhand des systemischen SAA-Werts während des Heilungsprozesses beurteilt werden. Regelmäßige, im Abstand von 48 Stunden wiederholt durchgeführte Messungen der SAA-Konzentration im Serum stellen ein objektives Instrument dar und sollten routinemäßig in die postoperative Überwachung solcher Patienten integriert werden.

Dagegen postulieren die Ergebnisse, dass ein einmalig gemessener SAA-Wert für die initiale Frühdiagnose einer Beteiligung von synovialen Strukturen durch Gliedmaßenverletzungen als alleiniges Diagnostikum nicht geeignet ist. Darüber hinaus wird verdeutlicht, dass es keine Einzeluntersuchung gibt, die als Referenzmethode eine Diagnose der synovialen Beteiligung ermöglicht. In der Diagnostik sollten stets alle Untersuchungen kombiniert eingesetzt und alle Befunde im Zusammenhang korrelierend interpretiert werden. Eine einmalige SAA-Messung allein ist nicht geeignet, um eigenständig eine spezifische Diagnose zu stellen (PEPYS et al. 1989). Vielmehr sollte die Behandlung im Krankheitsverlauf an die Entwicklung der SAA-Werte angepasst werden. So kann schnell über eine erneute chirurgische Intervention oder eine Anpassung der medikamentellen Therapie entschieden werden.

5.4 Ausblick

Auf Grundlage der durchgeführten Untersuchungen können weitere Studien konzipiert werden, die die Charakteristik von SAA bei pathologischen Zuständen und die klinische Anwendung dieses Entzündungsparameters zur Krankheitsüberwachung und Überprüfung des Therapieerfolges bei anderen Krankheitsbildern in der Pferdemedizin erforschen. Ein wichtiges Ziel ist die Analyse der Auswirkung von NSAIDs auf den SAA Wert. Des Weiteren sollte evaluiert werden, welchen genauen Einfluss das Ausmaß einer Gewebeschädigung auf die SAA-Konzentration im Blut hat. Auch wenn bereits Studien vorhanden sind (PEPYS et al. 1989; STOWASSER-RAUSCHBAUER et al. 2013), die den Einfluss einer Allgemeinanästhesie auf den SAA

Wert beschreiben, liegen hier bisher kontroverse Ergebnisse vor. Daher sind weitere Untersuchungen nötig, die den Effekt einer Allgemeinanästhesie beim Pferd auf SAA Serumkonzentrationen erforschen. Zudem wurde bereits in der vorliegenden Studie die Anpassung der Dauer der Antibiotikagabe an den Verlauf der SAA Serumkonzentration evaluiert. Weitere Forschungsvorhaben sollten diesen Ansatz auch bei anderen Erkrankungen prüfen.

6. Zusammenfassung

Akute Riss-, Quetsch- oder Schnittverletzungen an Gliedmaßen mit Beteiligung synovialer Strukturen stellen einen häufigen Notfall in der Pferdepraxis dar und können zur vollständigen Restriktion der sportlichen Aktivität betroffener Pferde führen. Daher sind eine präzise und schnelle Diagnose sowie eine gründliche postoperative Überwachung von entscheidender Bedeutung, um eine optimale Prognose zu gewährleisten. Der Nachweis der Beteiligung einer synovialen Struktur kann jedoch herausfordernd sein, wenn die herkömmlichen diagnostischen Mittel wie klinische Parameter oder die Werte der Synoviauntersuchung nicht schlüssig sind bzw. kein eindeutiges Ergebnis liefern. Auch die frühzeitige Erkennung eines Wiederaufflammens der Infektion innerhalb der betroffenen synovialen Struktur im Rahmen der postoperativen Überwachung ist unerlässlich, um eine folgenreiche Schädigung der betroffenen Struktur zu vermeiden. Als Reaktion auf die synoviale Kontamination ist die systemische Akute Phase Reaktion der erste Mechanismus zur Kontrolle einer synovialen Infektion. Serum-Amyloid A (SAA), das wichtigste Akute-Phase-Protein bei Pferden, hat sich bereits als hilfreiches Instrument in der postoperativen Überwachung nach elektiven Eingriffen erwiesen. Die Bewertung der systemischen Entzündungsreaktion anhand einer SAA-Messung kann zur Beurteilung der lokalen Situation innerhalb der synovialen Struktur herangezogen werden. Ein zentraler Punkt in der Therapie synovialer Infektionen ist eine systemische antibiotische Therapie. Die Dauer der postoperativen systemischen Behandlung mit Antibiotika ist bislang jedoch nicht standardisiert.

In dieser Studie wurde der Wert von SAA im Rahmen der initialen Diagnose und der postoperativen Überwachung von Pferden mit Beteiligung von synovialen Strukturen aufgrund akuter (<24 Stunden) Gliedmaßenverletzungen und die Korrelation von SAA mit standardmäßig verwendeten klinischen Parametern untersucht. Zusätzlich wurde SAA in der initialen Diagnostik mit den beim Pferd klassischerweise verwendeten Entzündungsparametern Leukozyten, Fibrinogen und Parametern der Synoviauntersuchung korreliert.

In dieser prospektiven Studie wurden 55 Pferde mit akuten (<24 Stunden alte) Gliedmaßenverletzungen einbezogen und in zwei Gruppen eingeteilt, bestehend aus

Pferden mit (Gruppe 1, n = 26) oder ohne (Gruppe 2, n = 29) Diagnose der Beteiligung von synovialen Strukturen. Die Diagnose bzw. der Ausschluss einer Beteiligung von synovialen Strukturen basierte auf den Ergebnissen einer initialen klinischen Untersuchung und einer Blutuntersuchung (SAA, Leukozyten, Fibrinogen), der Analyse einer Synoviaprobe (makroskopisches Erscheinungsbild; Gesamtzahl der kernhaltigen Zellen, TNCC >30 x 10⁹ Zellen/L; Anteil der neutrophilen Granulozyten, %N >90 %; Gesamtprotein, TP >25 g/L), der Detektion einer Verbindung zwischen Wunde und synovialer Struktur mittels Ballonierung des Gelenks, Röntgenaufnahmen und/oder einer Ultraschalluntersuchung, wobei die Ergebnisse in Korrelation interpretiert wurden. SAA wurde im Serum initial bei Vorstellung des Patienten (vor der chirurgischen Versorgung) und folgend 12 Stunden, 24 Stunden und 48 Stunden nach Erstvorstellung des Patienten sowie anschließend alle 48 Stunden gemessen, bis physiologische Referenzwerte erreicht wurden. Im Rahmen der Eingangsdagnostik wurden das Allgemeinbefinden und der Lahmheitsgrad bewertet sowie die Herzfrequenz und die Rektaltemperatur gemessen. Zusätzlich wurden Leukozyten und Fibrinogen im Blut bestimmt. Außerdem wurde eine Synoviauntersuchung mit Bestimmung der Parameter Makroskopie, TNCC, % N und TP durchgeführt. Im folgenden Verfahren wurden der Lahmheitsgrad und die Körpertemperatur täglich erhoben. SAA wurde zwischen den beiden Gruppen verglichen und mit klinischen Parametern, Blutparametern und Parametern der Synoviauntersuchung korreliert. Darüber hinaus wurde das Long-term Outcome ermittelt und entsprechend dem Leistungsniveau jedes Pferdes zwei Jahre nach der Entlassung in Kategorien eingeteilt. Ein P-Wert <0,05 galt als Signifikanzniveau.

Die SAA-Konzentrationen im Serum zeigten sowohl in der initialen Untersuchung wie auch in der Verlaufskontrolle keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Die SAA-Konzentrationen zeigten im Verlauf aber den bereits in früheren Studien beobachteten typischen Verlauf mit einem signifikanten Anstieg innerhalb von 48 Stunden bis zu einem Peak, der achtmal höher war als der initiale Wert, gefolgt von einem konstanten Abfall auf physiologische Werte innerhalb von 12 Tagen. Dabei wiesen Pferde der Gruppe 1 eine deutlich stärkere Entzündungsreaktion auf, die sich in einer höheren Konzentrationskurve mit einem Peak von 1517,3 µg/ml im Vergleich zu Gruppe 2 mit einem Peak von 820,5 µg/ml äußerte. Drei Pferde der Gruppe 1 verzeichneten einen zweiten SAA-Anstieg nach 12 Tagen, der durch ein

Wiederaufflammen der synovialen Infektion verursacht wurde. In der initialen Diagnostik wiesen das Allgemeinbefinden und der Lahmheitsgrad signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen auf, mit insgesamt schlechteren Werten in Gruppe 1. Die Herzfrequenz und die rektale Körpertemperatur unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen. Im Krankheitsverlauf blieben Lahmheit und Körpertemperatur über den gesamten Beobachtungszeitraum innerhalb physiologischer Bereiche. In der Eingangsuntersuchung unterschieden sich alle Synoviaparameter signifikant zwischen den Gruppen. Das Long-term Outcome zeigte, dass 71 % der Studienpopulation zu ihrer Leistung vor der Verletzung zurückkehrten. In Gruppe 1 korrelierten die SAA-Konzentrationen im Serum in der initialen Diagnostik positiv mit der Fibrinogenkonzentration sowie dem prozentualen Anteil von neutrophilen Granulozyten der Synovia. Im weiteren Verlauf korrelierte SAA nicht zu jedem Zeitpunkt mit den klinischen Parametern.

Anhand dieser Studie konnte gezeigt werden, dass SAA nicht als alleiniger Parameter zur Diagnose einer durch Gliedmaßenverletzungen verursachten Beteiligung von synovialen Strukturen verwendet werden kann. Wiederholte Messungen der systemischen SAA-Konzentration im Rahmen der Krankheitsüberwachung spiegelten den Verlauf der synovialen Entzündung äquivalent wider, so dass SAA vielmehr ein zuverlässiges und schnell verfügbares Instrument zur Überwachung des Krankheitsverlaufs und zur Anpassung des Behandlungsschemas darstellt. Die drei gesondert vorgestellten Fälle mit rezidivierender synovialer Infektion verdeutlichen, dass SAA-Werte schneller und deutlicher agieren als klinische Parameter. Abweichungen vom typischen SAA-Muster können auf ein Wiederaufflammen der Entzündung innerhalb der synovialen Struktur hinweisen. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die Synoviauntersuchung bei der Diagnose der Beteiligung einer synovialen Struktur im Rahmen von Gliedmaßenverletzungen ein bedeutendes Kriterium bleibt. Außerdem ist der Lahmheitsgrad die wichtigste klinische Variable.

SAA ist in der initialen Diagnostik einer synovialen Infektion als alleiniges Kriterium nicht geeignet. Dahingegen sollte die wiederholte Messung von SAA routinemäßig als Hilfsmittel die herkömmlich verwendeten Überwachungskriterien im Rahmen der postoperativen Behandlung von Pferden mit Beteiligung synovialer Strukturen aufgrund von Verletzungen im Gliedmaßenbereich ergänzen.

7. Summary

Synovial structure involvement due to acute wounds at limbs is a common emergency in equine practice and can lead to complete retirement from athletic activities. Therefore, accurate diagnosis and precise postoperative monitoring is crucial to warrant an optimal outcome. However, the detection of synovial involvement can be challenging if the standard diagnostic work-up such as clinical criteria, synovial fluid (SF) analysis or bacterial culture is inconclusive. Also, early recognising a recurrence of synovial infection during postoperative monitoring is essential to avoid chronic damage of the affected synovial structure. In response to the synovial infection, the systemic acute phase response is the first mechanism to control bacterial destruction. Serum Amyloid A (SAA) as equine major acute phase protein has already proven as helpful tool in postoperative monitoring after elective surgery. Evaluation of the systemic inflammatory reaction in terms of SAA measurement can be used to assess the local synovial situation. Thereby, SAA levels rise according to the degree of the inflammatory stimulus. A key point in the therapy of synovial infections is a systemic antimicrobial therapy. However, the management of the postoperative systemic treatment with antimicrobials is not standardised to date.

This study analysed the usefulness of systemic equine Serum Amyloid A (SAA) in initial diagnosis and postoperative monitoring of horses with synovial structure involvement due to acute (<24h) limb wounds and its correlation with commonly used clinical parameters. Additionally, SAA was correlated with standard diagnostic parameters such as white blood cells (WBC), fibrinogen and synovial parameters within the initial diagnosis.

In this prospective study, fifty-five horses with acute (<24 h) limb wounds were divided into two groups, consisting of horses with (Group 1, n = 26) or without (Group 2, n = 29) synovial structure involvement. Diagnosis or exclusion of synovial structure involvement was based on the results of initial physical and blood examination (SAA, WBC, fibrinogen), synovial fluid (SF) analysis (gross appearance; TNCC >30 x 10⁹cells/L; %N >90 %; TP >25 g/L), synovial pressure-leak testing, radiographs and/or ultrasonography, at which results were interpreted in correlation. Serum SAA was determined initially at admission (before surgical treatment) and afterwards at intervals

of 12 h, 24 h and 48 h after admission and subsequently every 48 h until baseline values were achieved. Within the initial diagnostic procedure, general health condition and lameness were scored and heart rate and rectal temperature were recorded. Additionally, WBC and fibrinogen were determined. Moreover, SF parameters gross appearance, total nucleated cell count (TNCC), percentage of neutrophils (% N) and total protein (TP) were measured. Subsequently, lameness and body temperature were assessed daily. Serum SAA was compared between groups and correlated to clinical variables, synovial and blood parameters. Furthermore, long-term outcome was determined and graded into categories according to the performance level of each horse two years after discharge. A P-value <0.05 was considered to indicate statistical significance.

Serum SAA concentrations showed no statistically significant differences between groups. However, SAA levels followed the typical course seen in previous studies, with a significant increase within 48h to a peak eight-fold higher than initially, followed by a constant decrease to physiologic values within 12d. Thereby, horses of group 1 presented a clearly more severe inflammatory reaction, visible in a higher concentration curve with a peak value of 1517.3 µg/ml, compared to group 2 with a peak value of 820.5 µg/ml. Three horses of group 1 signed a second SAA increase caused by a recurrence of the synovial infection after 12 d. WBC and fibrinogen were not different between groups and mean values of each group were close to or within reference ranges. General health condition and lameness revealed statistically significant differences between groups with worse values in G1. Heart rate and rectal body temperature were not significantly different between groups. During disease course, lameness and body temperature remained within physiologic ranges over the observation period. All SF parameters differed significantly between groups. Long-term outcome revealed 71 % of the study population returned to pre-injury performance. In G1, serum SAA concentrations positively correlated with fibrinogen concentrations and synovial fluid % N within the initial diagnosis. In the following, SAA did not correlate with clinical variables at every time point.

This study shows, that SAA cannot be used as a sole tool in early diagnosis of synovial structure involvement caused by acute limb wounds. In contrast, repeated measurements of systemic SAA within disease monitoring reflected the course of

synovial inflammation accurately. Thus, SAA rather provides a reliable and rapidly available tool to monitor the disease course and to adapt the treatment regimen. Our separately presented three cases with recurrence of synovial infection illustrate, that SAA levels act faster and clearer than clinical variables. Deviations from the typical SAA pattern can indicate a recurrence of synovial infection. Our results show, that SF parameters remain important in the diagnosis synovial infection. Also, lameness is the most significant clinical variable in synovial infection.

Even if SAA failed in early initial diagnosis, it should be routinely added to commonly used tools in postoperative management of horses with synovial structure involvement due to limb wounds.

8. Literaturverzeichnis

ADKINS, A.R. (2012):

Establishing a diagnosis of septic arthritis/osteomyelitis – a challenging process

Equine Vet. Educ., 24, S. 615-617

ALLEN, B.V. und KOLD, S.E. (1988):

Fibrinogen response to surgical tissue trauma in the horse

Equine Vet. J., 20, S. 441-443

ANDREASSEN, S.M.; VINTHER, A.M.L.; NIELSEN, S.S.; ANDERSEN, P.H.; TNIBAR, A.; KRISTENSEN, A.T. und JACOBSEN, S. (2017):

Changes in concentrations of haemostatic and inflammatory biomarkers in synovial fluid after intra-articular injection of lipopolysaccharide in horses

BMC Vet. Res., 13, S. 182-198

AUER, D.E.; NG, J.C.; THOMPSON, H.L.; INGLIS, S. und SEAWRIGHT, A.A. (1989):

Acute phase response in horses: Changes in plasma cation concentrations after localised tissue injury

Vet. Record, 124, S. 235-239

BASILE, R.C.; FERRAZ, G.C.; CATVALHO, M.P.; ALBERNAZ, R.M.; ARAUJO, R.A.; FAGLIARI, J.J. und QUEIROZ-NETO, A. (2013):

Physiological concentrations of Acute-Phase Proteins and Immunglobulins in Equine Synovial Fluid

J. Equine Vet. Sci., 33, S. 201-204

BECCATI, F.; GIALLETTI, R.; PASSAMONTI, F.; NANNARONE, S.; DI MEO, A. und PEPE, M. (2015):

Ultrasonographic findings in 38 horses with septic arthritis/tenosynovitis

Vet. Radiol. Ultrasound, 56, S. 68-76

BELGRAVE, R.L.; DICKEY, M.M.; ARHEART, K.L. und CRAY, C. (2013):
Assessment of serum amyloid A testing of horses and its clinical application in a
specialized equine practice
J. Am. Vet. Med. Assoc., 243, S. 113-119

BERG, L.C.; THOMSEN, P.D.; ANDERSEN, P.H.; JENSEN, H.E. und JACOBSEN, S.
(2011):
Serum amyloid A is expressed in histologically normal tissues from horses and cattle
Vet. Immunol. Immunopathol., 144, S. 155-159

BERTONE, A.L. (1999):
Update on infectious arthritis in the horse
Equine Vet. Educ., 11, S. 143-152

BERTONE, A.L.; MCILWRAITH, C.W.; JONES, R.L.; NORRDIN, R.W.; RADIN, M.J.
und LEBEL, J.L. (1987):
Comparison of various treatments for experimentally induced equine infectious arthritis
Am. J. Vet. Res., 48, S. 519-529

BRYANT, H.A.; DIXON, J.J.; WELLER, R. und BOLT, D.M. (2019):
Use of positive contrast radiography to identify synovial involvement in horses with
traumatic limb wounds
Equine Vet. J., 51, S. 20-23

BUSK, P.; JACOBSEN, S. und MARTINUSSEN, T. (2010):
Administration of perioperative Penicillin reduces postoperative Serum Amyloid A
response in horses being castrated standing
Vet. Surgery, 39, S. 638-643

BUSSIERES, G.; JACQUES, C.; LAINAY, O.; BEAUCHAMP, G.; LEBLOND, A.;
CADORE, J.L.; DESMAZIERES, L.M.; CUVELLIEZ, S.G. und TRONCY, E. (2008):
Development of a composite orthopaedic pain scale in horses
Res. Vet. Sci., 85, S. 294-306

BUTLER, J.A.; COLLES, C.M.; DYSON, S.J.; KOLD, S.E. und POULOS, P.W. (2017):
Chapter 1: General Principles

In: BUTLER, J.A.; COLLES, C.M.; DYSON, S.J.; KOLD, S.E. und POULOS, P.W.
(Hrsg.): Clinical Radiology of the Horse

4. Auflage, John Wiley & Sons, Chichester, West Sussex, UK, S. 1-39

COUSTY, M.; STACK, J.D.; TRICAUD, C. und DAVID, F. (2017):

Effect of arthroscopic lavage and repeated intra-articular administrations of antibiotic
in adult horses and foals with septic arthritis

Vet. Surg., 46, S. 1008-1016

CRISMAN, M.V.; SCARRATT, W.K. und ZIMMERMANN K.L. (2008):

Blood Proteins and Inflammation in the Horse

Vet. Clin. Equine, 24, S. 285-297

DARGEL, R. (1995):

Kapitel 1: Das Phänomen "Entzündung"

In: DARGEL, R. (Hrsg.): Entzündung: Grundlagen-Klinik-Therapie

Ullstein Mosby GmbH & Co. KG, Berlin/Wiesbaden, S. 1-8

DENTON, J. (2012):

Synovial fluid analysis in the diagnosis of joint disease

Diagn. Histopathol., 18, S. 159-168

DUMOULIN, M.; PILLE, F.; VAN DEN ABEELE, A.-M.; BOYEN, F.; BOUSSAUW, B.;
OOSTERLINCK, M.; PASMANS, F.; GASTHUYS, F. und MARTENS, A. (2010):

Use of blood culture medium enrichment for synovial fluid culture in horses: A
comparison of different culture methods

Equine Vet. J., 42, S. 541-546

ECKERSALL, P.D. und BELL, R. (2010):

Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine

Vet. J., 185, S. 23-27

FEY, K. (2017):

Leukozyten – Reaktionen und Erkrankungen

In: DIETZ, O. und HUSKAMP, B. (Hrsg.): Handbuch Pferdepraxis

4. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart, S. 307-309

FRISBIE, D. (2012a):

Synovial Joint Biology and Pathobiology

In: AUER, J.A. und STICK, J.A. (Hrsg.): Equine Surgery

4. Auflage, Elsevier Verlag, St. Louis, Missouri, S. 1096-1112

FRISBIE, D. (2012b):

Surgical Treatment of Joint Disease

In: AUER, J.A. und STICK, J.A. (Hrsg.): Equine Surgery

4. Auflage, Elsevier Verlag, St. Louis, Missouri, S. 1123-1129

FULLER, G.M. (1993):

Kapitel 9: Fibrinogen: a multifunctional Acute Phase Protein

In: MACKIEWICZ, A.; KUSHNER, I. und BAUMANN, H. (Hrsg.): Acute Phase Proteins

CRC Press, Florida, S. 169-180

FÜRST, A.E.; JACKSON, M.A. und KÜMMERLE, J. (2010):

Untersuchung und Behandlung von Verletzungen und Infektionen synovialer Strukturen beim Pferd

Prakt. Tierarzt, 91, S. 2-9

GASSMANN, M. und LUTZ, T.A. (2015):

Kapitel 10.3 Zelluläre Bestandteile

In: VON ENGELHARDT, W.; BREVES, G.; DIENER, M. und GÄBEL, G. (Hrsg.):

Physiologie der Haustiere

5. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart, S. 231

GIORDANO, A.; ROSSI, G; PIERALISI, C. und PALTRINIERI, S. (2008):
Evaluation of equine hemograms using the ADVIA 120as compared with an
impedance counter and manual differential count
Vet. Clin. Pathol., 37, S. 21-30

GRESSNER, A.M. (1995):
Kapitel 9.2: Akute-Phase-Proteine
In: DARGEL, R. (Hrsg.): Entzündung: Grundlagen-Klinik-Therapie
Ullstein Mosby GmbH & Co. KG, Berlin/Wiesbaden, S. 306-310

GRUYS, E.; TOUSSAINT, M.J.M.; NIEWOLD, T.A. und KOOPMANS, S.J. (2005):
Acute phase reaction and acute phase proteins
J. Zhejiang Univ. Sci., 11, S. 1045-1056

HAERDI-LANDERER, M.C.; HABERMACHER, J.; WENGER, B.; SUTER, M.M. und
STEINER, A. (2010):
Slow release antibiotics for treatment of septic arthritis in large animals
Vet J., 184, S. 14-20

HALTMAYER, E.; SCHWENDENWEIN, I. und LICKA, T.F. (2017):
Course of serum amyloid A (SAA) plasma concentrations in horses undergoing surgery
for injuries penetrating synovial structures, an observational clinical study
BMC Vet. Res., 13, S. 137-147

HAUCKE, K.; KUHN, M.; LÜBKE-BECKER, A.; MÄHLMANN, K. und LISCHER, C.
(2017):
Two regimes of postoperative antimicrobial prophylaxis for equine castration: clinical
findings, acute-phase proteins and bacterial cultures
J. Equine Vet. Sci., 57, S. 86-94

HONNAS, C.M.; SCHUMACHER, J.; COHEN, N.D.; WATKINS J.P. und TAYLOR, T.S. (1991):

Septic tenosynovitis in horses: 25 cases (1983-1989)

J. Am. Vet. Med. Assoc., 199, S. 1616-1622

HULTEN, C.; SLETTEN, K.; FOYN BRUUN, C. und MARHAUG, G. (1997):

The acute phase serum amyloid A protein (SAA) in the horse: isolation and characterization of three isoforms

Vet. Immunol. Immunopathol., 57, S. 215-227

HULTEN, C; TULAMO, R.-M.; SUOMINEN, M.M.; BURVALL, K.; MARHAUG, G. und FORSBERG, M. (1999):

A non-competitive chemoluminescence enzyme immunoassay for the equine acute phase protein serum amyloid A (SAA) – a clinically useful inflammatory marker in the horse

Vet. Immunol. Immunopathol., 68, S. 267-281

HULTEN, C.; GRÖNLUND, U.; HIRVONEN, J.; TULAMO, R.-M.; SUOMINEN, M.M.; MARHAUG, G. und FORSBERG, M. (2002):

Dynamics in serum of the inflammatory markers serum amyloid A (SAA), haptoglobin, fibrinogen and α_2 -globulins during induced non-infectious arthritis in the horse

Equine Vet. J., 34, S. 699-704

HUSEBEKK, A.; HUSBY, G.; SLETTEN, K.; MARHAUG, G. und NORDSTOGA, K. (1986):

Characterization of Amyloid Protein AA and Its Precursor SAA in the Horse

Scand. J. Immunol., 23, S. 703-709

IWANAGA, T.; SHIKICHI, M.; KITAMURA, H.; YANASE, H. und NOZAWA-INOUE, K. (2000):

Morphology and Functional Roles of Synoviocytes in the Joint

Arch. Histol. Cytol., 63, S. 17-31

JACOBSEN, S.; JENSEN, J.C.; FREI, S.; JENSEN, A.L. und THOEFNER, M.B.
(2005):

Use of serum amyloid A and other acute phase reactants to monitor the inflammatory response after castration in horses: a field study

Equine Vet. J., 37, S. 552-556

JACOBSEN, S.; HALLING-THOMSEN, M. und NANNI, S. (2006a):

Concentrations of serum amyloid A in serum and synovial fluid from healthy horses and horses with joint disease

Am. J. Vet. Res., 67, S. 1738-1742

JACOBSEN, S.; KJELGAARD-HANSEN, M.; HAGBARD PETERSEN, H. und JENSEN, A.L. (2006b):

Evaluation of a commercially available human serum amyloid A (SAA) turbidometric immunoassay for determination of equine SAA concentrations

Vet. J., 172, S. 315-319

JACOBSEN, S.; NIEWOLD, T.A.; HALLING-THOMSEN, M.; NANNI, S.; OLSEN, E.; LINDEGAARD, C. und ANDERSEN, P.H. (2006c):

Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid in horses with lipopolysaccharide-induced arthritis

Vet. Immunol. Immunopathol., 110, S. 325-330

JACOBSEN, S. und ANDERSEN, P.H. (2007):

The acute phase protein serum amyloid A (SAA) as a marker of inflammation in horses

Equine Vet. Educ., 19, S. 38-46

JACOBSEN, S.; NIELSEN, J.V.; KJELGAARD-HANSEN, M.; TOELBOELL, T.; FJELDBORG, J.; HALLING-THOMSEN, M.; MARTINUSSEN, T. und THOEFNER, M.B. (2009):

Acute Phase Response to Surgery of Varying Intensity in Horses: A Preliminary Study

Vet. Surg., 38, S. 762-769

JACOBSEN, S.; LADEFOGED, S. und BERG, L.C. (2016):

Production of serum amyloid A in equine articular chondrocytes and fibroblast-like synoviocytes treated with proinflammatory cytokines and its effects on the two cell types in culture

Am. J. Vet. Res., 77, S. 50-58

JAIN, N.C. (1986):

Chapter 6: The Horse: Normal Hematology with Comments on Response to Disease

In: Schalm´s Veterinary Hematology

4. Auflage, Lea & Febiger, Philadelphia, S. 140-177

JENSEN, L.E. und WHITEHEAD, A.S. (1998):

Regulation of serum amyloid A Protein expression during the acute-phase response

Biochem. J., 334, S. 489-503

KARADEMIR, U.; AKIN, I.; ERDOGAN, H.; URAL, K. und ASICI, G.S.E. (2016):

Effect of Ketoprofen on acute phase protein concentrations in goats undergoing castration

BMC Vet. Res., 12

KARAM, B.; HINES, S.; SKIPPER, L. und PUSTERLA, N. (2020):

Whole-blood Validation of a New Point-of-care Equine Serum Amyloid A Assay

J. Equine Vet. Sci., 94

KIEMLE, J.; HINDENBERG, S.; BAUER, N. und RÖCKEN, M. (2022):
Comparison of a point-of-care serum amyloid A analyzer frequently used in equine practice with 2 turbidimetric immunoassays used in human and veterinary practice
J. Vet. Diagn. Invest., 1, S. 42-53

LIEBICH, H.G.; FORSTENPOINTNER, G. und KÖNIG, H.E. (2009):
Kapitel Einführung und allgemeine Anatomie
In: KÖNIG, H.E. und LIEBICH, H.G. (Hrsg.): Anatomie der Haussäugetiere
4. Auflage, Schattauer Verlag, Stuttgart, S. 20-23 u. S. 29

KUSHNER, I. (1982):
The Phenomenon of the Acute Phase Response
Ann. N. Y. Acad. Sci., 389, S. 39-48

KUSHNER, I. und MACKIEWICZ, A. (1993):
Kapitel 1: The Acute Phase Response: An Overview
In: MACKIEWICZ, A.; KUSHNER, I. und BAUMANN, H. (Hrsg.): Acute Phase Proteins
CRC Press, Florida, S. 4

LUDWIG, E.K.; WIESE, R.B.; GRAHAM, M.R.; TYLER, A.J.; SETTLAGE, J.M.;
WERRE, S.R.; PETERSSON-WOLFE, C.S.; KANEVSKY-MULLARKY, I. und
DAHLGREN, L.A. (2016):
Serum and Synovial Fluid Serum Amyloid A Response in Equine Models of Synovitis
and Septic Arthritis
Vet. Surg., 45, S. 859-867

MADISON, J.B.; SOMMER, M.; SPENCER, P.A. (1991):
Relations among synovial membrane histopathologic findings, synovial fluid cytologic
findings, and bacterial culture results in horses with suspected infectious arthritis: 64
cases (1979-1987)
J. Am. Vet. Med. Assoc., 198, S. 1655-1661

MANLEY, P.N.; ANCSIN, J.B. und KISILEVSKY, R. (2006):

Rapid recycling of cholesterol: The joint biologic role of C-reactive protein and serum amyloid A

Med. Hypotheses, 66, S. 784-792

MCGOVERN, K. (2018):

Acute phase proteins and their clinical use in the adult horse

UK Vet Equine, 2, S. 42-48

MCILWRAITH, C.W. (2008):

Kapitel 7: Erkrankungen der Gelenke, Sehnen, Bänder sowie ihre Hilfseinrichtungen

In: STASHAK, T.S. (Hrsg.): Adam's Lahmheit bei Pferden

4. Auflage, M.&H. Schaper GmbH, Hannover, S. 423-434

MEIJER, M.C.; VAN WEEREN, P.R. und RIJKENHUIZEN, A.B.M. (2000):

Clinical Experiences of Treating Septic Arthritis in the Equine by Repeated Joint Lavage: a Series of 39 Cases

J. Vet. Med. A, 47, S. 351-365

MILLER, M.S. (2006):

Akute Phase Proteine als diagnostische Parameter der perioperativen Phase beim Pferd

VBB Lauferweiler Verlag, Gießen

Gießen, Justus-Liebig-Univ., Fachber. Veterinärmed., Diss.

MILLER, M.S.; Moritz, A.; Röcken, M.; Roth, J. und Litzke, L.-F. (2003):

Die Akute Phase Reaktion nach minimalinvasiven Eingriffen beim Pferd

Pferdeheilkd., 19, S. 354-360

MILLER, M.S.; Moritz, A.; Röcken, M. und Litzke, L.-F. (2007):

Bestimmung von Serum Amyloid A, Haptoglobin und Fibrinogen als Entzündungsparameter nach Kastration von Hengsten

Tierärztl. Praxis, 35, S. 69-74

MILNER, P.I.; BARDELL, D.A.; WARNER, L.; PACKER, M.J.; SENIOR, J.M.; SINGER, E.R. und ARCHER, D.C. (2013):

Factors associated with survival to hospital discharge following endoscopic treatment for synovial sepsis in 214 horses

Equine Vet. J., 46, S. 701-705

MORITZ, A.; SCHWENDENWEIN, I. und KRAFT, W. (2014):

Kapitel 11: Hämatologie

In: MORITZ, A. (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin

7. Auflage, Schattauer Verlag, Stuttgart, S. 79-159

MORTON, A.J. (2005):

Diagnosis and Treatment of Septic Arthritis

Vet. Clin. Equine, 21, S. 627-649

MURATA, H.; SHIMADA, N. und YOSHIOKA, M. (2004):

Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview

Vet. J., 168, S. 28-40

NABITY, M.B. und RAMAIAH, S.K. (2010):

Chapter 40: Neutrophil structure and biochemistry

In: WEISS, D.J. und WARDROP, K.J. (Hrsg.): Schalm's veterinary hematology

6. Auflage, Wiley-Blackwell, Iowa, S. 263-267

NEUMANN, S. (1995):

Kapitel 7: Systemische Reaktionen

In: DARGEL, R. (Hrsg.): Entzündung: Grundlagen-Klinik-Therapie

Ullstein Mosby GmbH & Co. KG, Berlin/Wiesbaden, S. 247-252

NUNOKAWA, Y.; FUJINAGA, T.; TAIRA, T.; OKUMURA, M.; YAMASHITA, K.; TSUNODA, N. und HAIGO, M. (1993):

Evaluation of Serum Amyloid A Protein as an Acute-Phase Reactive Protein in Horses

J. Vet. Med. Sci., 55, S. 1011-1016

O'HARA, R.; MURPHY, E.P.; WHITEHEAD, A.S.; FITZGERALD, O. und BRESNIHAN, B. (2004):

Local Expression of the Serum Amyloid A and Formyl Peptide Receptor-Like 1 Genes in Synovial Tissue Is Associated With Matrix Metalloproteinase Production in Patients With Inflammatory Arthritis

Arthritis Rheum., 50, S. 1788-1799

PEPYS, M.B.; BALTZ, M.L.; TENNENT, G.A.; KENT, J.; OUSEY, J. und ROSSALE, P.D. (1989):

Serum Amyloid A protein (SAA) in horses: objective measurement of the acute phase response

Equine Vet. J., 21, S. 106-109

PETERSEN, H.H.; NIELSEN, J.P. und HEEGAARD, P.M.H. (2004):

Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry

Vet. Res., 35, S. 163-187

PLESSERS, E.; WYNS, H.; WATTEYN, A.; PARDON, B.; DE BAERE, S.; SYS, S.U.; DE BACKER, P. und CROUBELS, S. (2016):

Immunomodulatory properties of gamithromycin and ketoprofen in lipopolysaccharide-challenged calves with emphasis on the acute-phase response

Vet. Immun. Immunopathol., 171, S. 28-37

POLLOCK, P.J.; PRENDERGAST, M.; SCHUMACHER, J. und BELLENGER, C.R. (2005):

Effects of surgery on the acute phase response in clinically normal and diseased horses

Vet. Rec., 156, S. 538-542

ROBINSON, C.S.; SINGER, E.R.; PIVIANI, M. und RUBIO-MARTINEZ, L.M. (2017):

Are serum amyloid A or D-lactate useful to diagnose synovial contamination or sepsis in horses?

Vet. Rec., 181, doi: 10.1136/vr.104386

RÖCKEN, M. (2013):

Erstversorgung synovialer Strukturen im Röhrenbeinbereich

In: bpt-Kongress 2013, Vortragsband Pferd, Kleintiere, Praxisführung, Mannheim, 2013

Kongr.ber., S. 76-78

SANCHEZ-TERAN, A.F.; RUBIO-MARTINEZ, L.M.; VILLARINO, N.F. und SANZ, M.G. (2012):

Effects of repeated intra-articular administration of amikacin on serum amyloid A, total protein and nucleated cell count in synovial fluid from healthy horses

Equine Vet. J., 44, S. 12-16

SANCHEZ-TERAN, A.F.; BRACAMONTE, J.L.; HENDRICK, S.; BURGUESS, H.J.; DUKE-NOVAKOVSKI, T.; SCHOTT, M.; HOFF, B. und RUBIO-MARTINEZ, L.M. (2016a):

Effect of Arthroscopic Lavage on Systemic and Synovial Fluid Serum Amyloid A in Healthy Horses

Vet. Surg., 45, S. 223-230

SANCHEZ-TERAN, A.F.; BRACAMONTE, J.L.; HENDRICK, S.; RIDDELL, L.; MUSIL, K.; HOFF, B. und RUBIO-MARTINEZ, L.M. (2016b):

Effect of repeated through-and-through joint lavage on serum amyloid A in synovial fluid from healthy horses

Vet. J., 210, S. 30-33

SCHNEIDER, R.K.; BRAMLAGE, L.R.; MECKLENBURG, L.M.; MOORE, R.M. und GABEL, A.A. (1992a):

Open drainage, intra-articular and systemic antibiotics in the treatment of septic arthritis/synovitis in horses

Equine Vet. J., 24, S. 444-449

SCHNEIDER, R.K.; BRAMLAGE, L.R.; MOORE, R.M.; MECKLENBURG, L.M.; KOHN, C.W. und GABEL, A.A. (1992b):

A retrospective study of 192 horses affected with septic arthritis/tenosynovitis
Equine Vet. J., 24, S. 436-442

SCHNEIDER, R.K. (1998):

Common Bacteria Encountered in Septic Arthritis
AAEP Proceedings, 44, S. 152-158

SCHWARTZ, D.; PUSTERLA, N.; JACOBSEN, S. und CHRISTOPHER, M.M. (2018):

Analytical validation of a new point-of-care assay for serum amyloid A in horses
Equine Vet. J., 0, S. 1-6

SPIERS, S.; MAY, S.A.; HARRISON, L.J.; BENNETT, D. und EDWARDS, G.B. (1994):

Proteolytic enzymes in equine joints with infectious arthritis
Equine Vet. J., 26, S. 48-40

STACK, J.D.; COUSTY, M.; STEELE, E.; HANDEL, I.; LECHARTIER, A.; VINARDELL, T. und DAVID, F. (2019):

Comparison of Serum Amyloid A measurements in equine synovial fluid with routine diagnostic methods to detect synovial infection in a clinical environment
Front. Vet. Sci., 6

STEEL, C.M. (2008):

Equine Synovial Fluid Analysis
Vet. Clin. Equine, 24, S. 437-454

STONEHAM, S.J.; PALMER, L.; CASH, R. und ROSSDALE, P.D. (2001):

Measurement of serum amyloid A in the neonatal foal using a latex agglutination immunoturbidimetric assay: determination of the normal range, variation with age and response to disease
Equine Vet. J., 33, S. 599-603

STOWASSER-RAUSCHBAUER, B.; KABES, R. und MOENS, Y. (2013):
Serum Amyloid A-Konzentrationen beim Pferd nach einer Allgemeinanästhesie mit
und ohne chirurgischen Eingriff
Wien. Tierärztl. Monatsschr., 100, S. 127-132

TAYLOR, A.H.; MAIR, T.S.; SMITH, L.J. und PERKINS, J.D. (2010):
Bacterial culture of septic synovial structures of horses: Does a positive bacterial
culture influence prognosis?
Equine Vet. J., 42, S. 213-218

TIZARD, I. (2013a):
Chapter 4: Innate Immunity: Neutrophils and Phagocytosis
In: Veterinary Immunology
9. Auflage, Elsevier Verlag, St. Louis, Missouri, S. 30-40

TIZARD, I. (2013b):
Chapter 6: Systemic Responses to Inflammation
In: Veterinary Immunology
9. Auflage, Elsevier Verlag, St. Louis, Missouri, S. 56-57

TREMAINE, H. (2000)
Infection of equine joints and tendon sheaths
In Pract., 22, S. 262–274

TULAMO, R.-M.; BRAMLAGE, L.R. und GABEL, A.A. (1989):
Sequential clinical and synovial fluid changes associated with acute infectious arthritis
in the horse
Equine Vet. J., 21, S. 325-331

UHLAR, C.M. und WHITEHEAD, A.S. (1999):
Serum Amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant
Eur. J. Biochem., 265, S. 501-523

VAN PELT, R.W. (1974):

Interpretation of Synovial Fluid Findings in the Horse

J. Am. Vet. Med. Assoc., 165, S. 91-95

VAN WEEREN, P.R. (2016):

Septic Arthritis

In: MCILWRAITH, C.W. und FRISBIE, D. (Hrsg.): Joint Disease in the Horse

2. Auflage, Elsevier Verlag, St. Louis, Missouri, S. 91-103

WALDNER, J.; GERHARDS, H. und WOLLANKE, B. (2018):

Investigations into the occurrence of serum amyloid A in the equine eye

Pferdeheilkd., 34, S. 461-467

WALMSLEY, E.A.; ANDERSON, G.A.; MUURLINK, M.A. und WHITTON, R.C. (2011):

Retrospective investigation of prognostic indicators for adult horses with infection of a synovial structure

Aust. Vet. J., 89, S. 226-231

WEESE, J.S.; BAPTISTE, K.E.; BAVERUD, V. und TOUTAIN, P.-L. (2008):

Chapter 10: Guidelines for antimicrobial use in horses

In: GUARDABASSI, L.; JENSEN, L.B. und KRUSE, H. (Hrsg.): Guide to Antimicrobial Use in Animals

1. Auflage, Blackwell Publishing, Iowa, S. 161-182

WEISS, D.J.; RAMAIAH, S.K. und WALCHECK, B. (2010):

Chapter 41: Neutrophil distribution and function

In: WEISS, D.J. und WARDROP, K.J. (Hrsg.): Schalm's veterinary hematology

6. Auflage, Wiley-Blackwell, Iowa, S. 268-274

WELLES, E.G. (2010):

Chapter 47: Interpretation of Equine Leukocyte Response

In: WEISS, D.J. und WARDROP, K.J. (Hrsg.): Schalm's veterinary hematology

6. Auflage, Wiley-Blackwell, Iowa, S. 314-320

WESTERMAN, T.L.; TORNQUIST, S.J.; FOSTER, C.M. und POULSEN, K.P. (2015):
Evaluation of serum amyloid A and haptoglobin concentration as prognostic
indicators for horses with inflammatory disease examined at a tertiary care hospital
Am. J. Vet. Res., 76, S. 882-888

WITKOWSKA-PILASZEWICZ, O.D.; ZMIGRODZKA, M.; WINNICKA, A.;
MISKIEWICZ, A.; STRZELEC, K. und CYWINSKA, A. (2018):
Serum amyloid A in equine health and disease
Equine Vet. J., 0, S. 1-6

WRIGHT, I.M.; SMITH, M.R.W.; HUMPHREY, D.J.; EATON-EVANS, T.C.J. und
HILLYER, M.H. (2003):
Endoscopic surgery in the treatment of contaminated and infected synovial cavities
Equine Vet. J., 35, S. 613-619

9. Publikationsverzeichnis

Ergebnisse dieser Dissertation wurden in international anerkannten Fachzeitschriften mit unabhängigem Gutachtersystem (peer review) zur Veröffentlichung angenommen:

The Veterinary Journal (akzeptiert 28.09.2021)

Systemic Serum Amyloid A in early (<24 h) diagnosis of acute synovial structure involvement in horses with penetrating limb injuries

Müller A.C., Büttner K., Röcken M.

DOI: 10.1016/j.tvjl.2021.105759

Veterinary Record (akzeptiert 23.05.2022)

Using systemic serum amyloid A as a biomarker for synovial structure infections in horses with acute limb wounds

Müller A.C., Büttner K., Röcken M.

DOI: 10.1002/vetr.1841

(Teil-) Ergebnisse dieser Dissertation wurden auf folgenden Fachkongressen präsentiert:

XXIII. Tagung über Pferdekrankheiten, 15. und 16. März 2019, Essen (Deutschland):

Control of antibiotic treatment of infected synovial structures through measurement of acute phase protein serum amyloid A (Müller A.C.)

31st Annual Scientific Meeting of the European College of Veterinary Surgeons, July 7-9, 2022, Porto (Portugal):

Systemic Serum Amyloid A in early diagnosis and monitoring of equine synovial structure involvement due to acute wounds in the limb region (Müller A.C.)

10. Erklärung

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der "Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis" niedergelegt sind, eingehalten.

Gießen, 02.09.2022

11. Danksagungen

Zuerst geht mein Dank an Prof. Dr. Michael Röcken, der als Betreuer und Initiator den Grundstein für diese Arbeit gelegt hat. Vielen Dank für die Idee, die Unterstützung, die Tipps, die schnellen Korrekturen und das Vertrauen, dass Sie in mich haben. Vielen Dank, dass Sie mir dieses interessante Thema überlassen haben und dass ich unter Ihrer Obhut die Untersuchungen durchführen durfte. Und vielen Dank, dass Sie immer für mich da waren und stets eine Lösung parat hatten.

Ein weiterer Dank geht an Dr. Kathrin Büttner für die Unterstützung bei den statistischen Berechnungen und für die Geduld und die ausführlichen Erklärungen. Auch danke ich Prof. Dr. Klaus Failing sehr für die initiale Unterstützung bei der statistischen Planung.

Vielen Dank an das gesamte Team der Klinik für Pferde, Chirurgie. Danke für eure Unterstützung, eure Ideen, die unzähligen gemeinsamen Arbeitsstunden, das gemeinsame Lachen und Fluchen und natürlich die Feiern und gemeinsamen Aktivitäten, die mir schöne Erinnerungen schenken. Danke, dass ihr zu meinen Freunden geworden seid. Ohne euch wäre diese Zeit nicht halb so schön gewesen.

Mein größter Dank geht an meine Familie. An meine Eltern, die mich in allem unterstützen, immer für mich da sind, mir stets den Rücken stärken und hinter allem stehen, was ich tue. Und natürlich an meinen Bruder. Ich danke euch für die moralische Unterstützung während dieser Arbeit und die aufbauenden Worte.

Danke Tiffy für die schönen und beruhigenden Spaziergänge, bei denen ich den Kopf frei bekommen und meine Gedanken zu dieser Arbeit sortieren konnte. Danke, dass ich dich an meiner Seite haben darf. Und danke Dante, auch du hast mich im letzten Jahr begleitet und mir Motivation gegeben.

Und zuletzt danke ich all meinen Freunden, aus Bielefeld, aus Gießen, meinen Studienfreunden. Vielen Dank dass ich euch habe.

Vielen Dank an Tobi, dass du mich bei allem unterstützt, hinter meinen Ideen stehst, für mich da bist und mit mir diesen Weg gehst.