

Door teken overdraagbare ziektes bij de hond

Mogelijkheden van laboratoriumdiagnostiek

Borrelia

Ziekteverwekker	Spirochaeten van de soort <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>
Vector	<i>Ixodes ricinus</i>
Verspreidingsgebied	Noord- en Centraal Europa (incl. GB), USA
Ziekte	Lyme-Borreliose
Ziekteverschijnselen	Koorts, wisselende kreupelheid, gewrichtszwelling (poly-arthritis), opgezette Inn., verminderde eetlust, lusteloosheid, glomerulonefritis

Hoewel de veroorzaker van de ziekte van Lyme, *Borrelia burgdorferi*, al lange tijd bekend is, zorgt de ziekte nog steeds voor veel discussie.

Bij de mens is het aangetoond dat er zeker 9 verschillende pathogene species de ziekte van Lyme kunnen veroorzaken. Enkele pathogene soorten zijn; *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (*B. burgdorferi sensu stricto*), *B. afzelii*, *B. garinii* en *B. lusitanae*. Bij de hond is zover bekend alleen *B. burgdorferi sensu stricto* pathogeen. De overdracht vindt in Europa voornamelijk plaats door het volwassen stadium van de teek *Ixodes ricinus*. 16-65 uur nadat de teek zich heeft vastgezogen, vindt de transmissie van *Borrelia* plaats. In tegenstelling tot infectie bij de mens, waarbij veel mensen na infectie klinische symptomen ontwikkelen, verloopt de infectie bij de hond in zeker 95% van de gevallen symptomeloos. In minder dan 5% van de geïnfecteerde honden zien we kreupelheid ontstaan en in 1-2% van de gevallen ontstaat een glomerulaire nierziekte door het vastlopen van immunocomplexen in de nieren. Klinische symptomen bij de hond kunnen 2-5 maanden na infectie met *Borrelia* ontstaan.

Diagnostiek

Zie ook de flowchart op de laatste pagina van deze Diagnostic update.

Direct aantonen

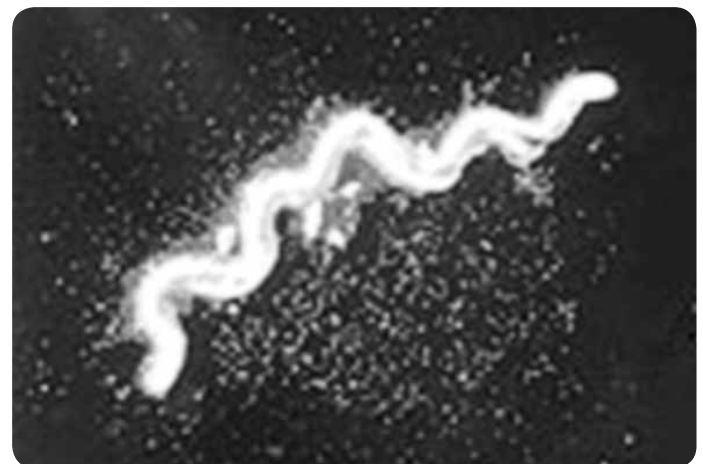
PCR

Het direct aantonen van *Borrelia* door middel van PCR is bewijzend voor infectie, maar in veel gevallen onpraktisch en moeilijk. Doordat *Borrelia* zich door het lichaam verspreidt via huid en weefsel en geen hematogene fase kent is bloed niet geschikt voor deze vorm van diagnostiek. Ook urine, liquor en gewrichtsvloeistof zijn minder geschikt. Huid rond de plaats van de tekenbeet en weefsel van het gewrichtskapsel van een gezwollen gewricht kunnen wel gebruikt worden voor PCR techniek, maar alleen een positieve uitslag is bewijzend. Het is namelijk in veel gevallen onduidelijk waar de *Borrelia* zich op het moment van monsternamen in het lichaam bevindt.

Indirect aantonen

Borrelia (IgG-Ab) – ELISA en immunoblot

In het verleden werd bij een verdenking van een Borreliosis vaak een twee-stappen plan gevolgd. Bij dit twee-stappenplan worden eerst antistoffen (IgG) tegen *Borrelia* door middel van een ELISA test aangetoond. Vervolgens wordt bij een positieve titer een Western- of immunoblot ter bevestiging ingezet.



Borrelia burgdorferi (lichtmicroscopie)

De antistoffen (IgG-ELISA) tegen *Borrelia* zijn vanaf 4-6 weken na infectie aantoonbaar. Een positieve titer hoeft echter niet te betekenen dat er op dat moment ook een infectie aanwezig is. Een bijkomend probleem is de kruisreactie die kan optreden met antigeen verwante bacteriën, zoals *Leptospira* spp. en *Treponema* spp. Om deze reden wordt vaak na de titerbepaling een immunoblot als bevestiging gedaan. Met de immunoblot worden antistoffen tegen verschillende antigeenfracties aangetoond, die zeer specifiek zijn voor *Borrelia burgdorferi*.

Borrelia anti-C₆-antistoffen, kwantitatief en kwalitatief (SNAP® 4Dx Plus™ ELISA, Quant C₆™ ELISA)

Dit is een testmethode die uitsluitend door IDEXX Laboratoriums aangeboden wordt. De *Borrelia* anti-C₆ antistoffen test is zeer specifiek. Er zijn geen kruisreacties beschreven met antistoffen tegen andere spirochaeten of antistoffen gevormd na vaccinatie. Dit houdt in dat een positief resultaat niet meer door een immunoblot bevestigd hoeft te worden. De anti-C₆-antistoffentechnologie geeft alléén een positief resultaat wanneer levende *Borrelia*, die zich nog kunnen vermenigvuldigen, in het dier aanwezig zijn. De anti-C₆-antistoffen zijn vanaf 21-35 dagen na infectie aanwezig en persisteren in een onbehandelde hond minimaal 1 jaar. Na een behandeling met antibiotica dalen deze antilichamen weer snel. Het is daarom belangrijk dat dieren op het moment van monsternamen, niet de voorafgaande maanden

langdurig met bepaalde antibiotica zoals bijvoorbeeld doxycycline zijn behandeld. Ook glucocorticoiden in een immuunsuppressieve dosis kunnen, net als bij de meeste serologische testen, het resultaat beïnvloeden.

De kwalitatieve test SNAP® 4Dx plus™ en de anti-C₆ kwalitatieve test in het laboratorium zijn erg sensitief. Dit betekent dat zelfs zeer lage antistoffentiters positief testen. Een positieve kwalitatieve test kan vervolgens gekwantificeerd worden met behulp van de kwantitatieve test in het laboratorium. Deze uitslag kan gebruikt worden om het succes van de behandeling na 3-6 maanden te controleren. Aangezien aangeraden wordt om alleen vanaf een bepaalde titer te behandelen, helpt de testuitslag ook bij het bepalen of een behandeling daadwerkelijk zinvol is. Een >50% daling van de antilichamen 3-6 maanden na het beëindigen van de antibioticakuur, bij een beginwaarde >29 U/ml, wordt gezien als een succesvolle behandeling.

Voor een goede diagnosestelling is het belangrijk om andere differentiaal diagnoses uit te sluiten. In veel gevallen verloopt een infectie met *Borrelia* bij de hond immers asymptomatisch. We adviseren om minimaal routine onderzoek zoals hematologie, biochemie en urineanalyse uit te voeren. Afhankelijk van de klinische symptomen zou specifieke aanvullende diagnostiek gekozen kunnen worden (bv. röntgenfoto's, gewrichtspunctie, uitsluiten van immuungemedieerde ziektes, etc).



2. Anaplasma

Ziekteverwekker	Vector	Verspreidingsgebied	Ziekteverschijnselen	Ziekte
Anaplasma phagocytophilum (<i>A. phagocytophilum</i>)	<i>Ixodes ricinus</i> (<i>I. ricinus</i>) <i>I. scapularis</i> <i>I. pacificus</i>	Noord- en Centraal Europa (incl. GB), USA	Koorts, verminderde eetlust, lusteloosheid, hepato-/splenomegalie, czs-symptomen, kreupelheid, zwelling van gewrichten	Canine granulocyttaire Ehrlichiose (Anaplasmosose)
A. platys	Waarschijnlijk <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (<i>R. sanguineus</i>)	Wereldwijd in warme gebieden. In Europa: Griekenland, Frankrijk, Spanje en Zuid Italië	Lichte koorts, uveïtis, petechiën en echymosen, trombocytopenie maar vaak zonder symptomen	Infectieuze canine cyclische trombocytopenie

We gaan in deze Diagnostic update verder in op de in Nederland voorkomende *A. phagocytophilum*.

A. phagocytophilum is een gram negatieve bacterie die zich voornamelijk vermenigvuldigt in neutrofiele granulocyten bij o.a. de hond, kat, paard en herkauwer. 24 uur na het moment dat de teek (*Ixodes ricinus*) zich heeft vastgezogen wordt de bacterie overgedragen op de gastheer. De incubatietijd bedraagt ongeveer 1-2 weken, hierdoor is het mogelijk dat klinische symptomen voor seroconversie optreden. Co-infecties met *Borrelia* treden regelmatig op (dezelfde vector). Honden die met zowel *Borrelia* als *A. phagocytophilum* geïnfecteerd zijn, hebben een dubbel zo grote kans op het

ontwikkelen van klinische symptomen zoals kreupelheid, koorts, lethargie en gewrichtsontsteking, als dieren die alleen met *A. phagocytophilum* besmet zijn.

We zien klinische symptomen van Anaplasmosose vaak bij volwassen en oudere honden. Mogelijk is herhaaldelijke infectie en een volledig ontwikkeld immuunsysteem noodzakelijk om klinische symptomen te ontwikkelen. Bij de meeste honden zijn de symptomen zeer aspecifiek; koorts, anorexie, lethargie en splenomegalie (>60% van de gevallen). Ook spierstijfheid, spierzwakte en kreupelheid worden vaak gezien (>50% van de gevallen). Bij sommige dieren verloopt de infectie symptoomloos.

Diagnostiek

Bij algemeen onderzoek kunnen de volgende afwijkingen gezien worden:

- Thrombocytopenie
- Anemie
- Leucocytose met links-verschuiving of leukopenie
- CRP ↑
- AP ↑
- ALT ↑
- Albumine ↓
- Globuline ↑

Direct aantonen

Bloeduitstrijkje

Direct aantonen is eigenlijk alleen mogelijk tijdens de acute fase, in een Giemsa-gekleurd bloeduitstrijkje, bij voorkeur uit capillair bloed. Verder kan ook een DNAB van milt, long, lymfeknopen of beenmerg gebruikt worden. Het direct aantonen in een bloeduitstrijkje heeft een lagere sensitiviteit in vergelijking met de PCR, maar een positief resultaat is bewijzend voor de aanwezigheid van een infectie. Een aspiraat uit de lymfeknopen heeft de hoogste sensitiviteit.

PCR *Anaplasma* spp.

Bij een acute Anaplasmosis is een PCR test van bloed, beenmerg of milt een zeer betrouwbare manier om de ziekteverwekker aan te tonen. Als een onderscheid tussen de verschillende species gewenst is, kan aansluitend een sequentie-analyse van het PCR-amplificaat uitgevoerd worden. Hierover moet contact opgenomen worden met het laboratorium. Het aantonen van de ziekteverwekker door middel van PCR heeft een hogere sensitiviteit dan een bloeduitstrijkje.

Babesia

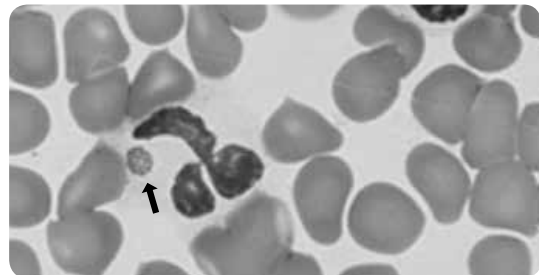
	Ziekteverwekker	Vector	Verspreidingsgebied	Ziekteverschijnselen	Bijzonderheden
Grote Babesia	Babesia canis canis (B. canis canis)	<i>Dermacentor reticulatus (D. reticulatus)</i>	Middellandse Zeegebied, Zuid Europa, Hongarije, Oostenrijk, steeds meer in Duitsland, soms in Nederland, Noord-Afrika, Azië	Koorts, hemolytische anemie, hepato-/splenomegalie, verminderde eetlust, lusteloosheid, SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome)	Transplacentaire overdracht wordt vermoed. Voor de overdracht van de ziekte moet de teek 2-3 dagen op de gastheer zitten
	B. canis vogeli	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Wereldwijd de tropen, subtropen en mediterrane landen	Milde subklinische ziekteverschijnselen. Bij jongere dieren zijn ernstige symptomen mogelijk	R. sanguineus kan in een gematigd klimaat in woningen leven en zich vermenigvuldigen
	B. canis rossi	<i>Haemophysalis leachi (H. leachi)</i>	Zuid-Afrika	Hemolytische anemie of immunogemedieerde ziekte, thrombocytopenie, hepatopathie door hypoxie	Meest virulente vorm van Babesia
Kleine Babesia	B. gibsoni	<i>Haemaphysalis bispinosa, Haemaphysalis longicornis, (Rhipicephalus sanguineus)</i>	Zuid-Europa, Australië, Afrika, Azië, Noord-Amerika	Intermitterende koorts, milde hemolytische anemie en thrombocytopenie, leucopenie. Subklinische infectie met zwakte en cachexie, spleno-, hepatomegalie, lymfadenopathie en lusteloosheid	In de USA vaker bij Amerikaanse Staffordshire- en Pitbullterriers vooral na hondengevechten. Overdracht door bijten, bloedtransfusie, operatie-instrumenten. Transplacentaire overdracht wordt vermoed

Indirect aantonen

A. phagocytophilum antilichamen (ELISA)

Het aantonen van antilichamen is mogelijk vanaf 10-15 dagen na infectie. Het is dus mogelijk dat klinische verschijnselen zich presenteren voordat er antilichamen meetbaar zijn. Bij een vroege infectie kan de antistoffentiter laag zijn. Antilichamen kunnen gemeten worden in het laboratorium en met de SNAP® 4Dx plus™ test. Een voordeel van de SNAP® 4Dx plus™ test is dat er ook getest wordt op een eventuele co-infectie met *Borrelia*. Bij chronische infecties, of wanneer aangetoond moet worden dat de hond reeds in contact is geweest met *Anaplasma*, is eenmalig serologisch onderzoek voldoende. Bij een vroege infectie wijst een viervoudige stijging van de titer bij gepaarde sera op een acute infectie. De gepaarde sera moeten met een interval van 2-3 weken worden afgenomen bij het dier.

Een eenmalige positieve titer betekent niet automatisch dat het dier hiervan ziek is. In endemische gebieden, zoals Nederland, zijn er veel dieren met een positieve titer zonder klinische symptomen. De hoogte van de titer zegt niets over de mate waarin het dier ziek is. Wanneer de klinische symptomen wijzen in de richting van Anaplasmosis, kan aanvullend bloedonderzoek, zoals een bloeduitstrijkje of PCR test, een actieve infectie bevestigen.



Anaplasma phagocytophilum – morula (bloeduitstrijkje), 1000 x

Kleine Babesia	B. microti-like (Theileria annae)	<i>I. hexagonus</i>	Spanje, Portugal, Kroatie, Zweden, USA, Duitsland, Oostenrijk	Ernstige hemolytische anemie, eosinofilie, zwakte, hemoglobinurie, versnelde ademhaling en hartslag, koorts, soms nierfalen en niet regeneratieve anemie, azotemie en proteïnurie
----------------	--	---------------------	---	---

In principe kunnen alle tekenstadia Babesia overdragen. Vrouwelijke teken geven de ziekteverwekker door aan hun nakomelingen. De incubatietijd na een tekenbeet is variabel, maar in de regel vanaf 6-21 dagen. In deze Diagnostic update wordt van de bestaande Babesia soorten alleen *Babesia canis* besproken.

In het verleden was Babesia (*B. canis*) een typische reisziekte (Middellandse Zeegebied), maar de laatste jaren worden er meer endemische gevallen in Duitsland gerapporteerd en komt de vector, *Dermacentor reticulatis*, ook in Nederland voor. Vooral nog is de ziekte niet endemisch in Nederland. Houd echter de ziekte in de differentiaal diagnoselijst indien u een hond zonder buitenlandanamnese ziet met klinische symptomen passend bij een acute *B. canis* infectie zoals; lethargie, anorexie, koorts, hemolytische anemie. Bij een chronische infectie worden vaak gedurende een langere periode, zwakte, gewichtsverlies, intermitterende koortspieken en anemie waarnomen.

Diagnostiek

Vanwege de ernst van de symptomen bij een acute infectie en de mogelijke complicaties is het stellen van een snelle diagnose gewenst. Bij een acute Babesia infectie is de PCR de beste methode om de ziekteverwekker aan te tonen. Een bloeduitstrijkje kan een snelle manier zijn om de aanwezigheid van Babesia aan te tonen, maar is niet erg sensitief. Afwijkingen die u kunt zien bij algemeen onderzoek:

Bloedonderzoek

- anemie
- trombocytopenie
- leucocytose
- sferocyten
- totaal eiwit↓, albumine↓

Urine-onderzoek

- hemoglobinurie
- bilirubinurie
- proteïnurie

De klinische chemie kan onveranderd zijn, maar afhankelijk van het ziektebeeld kunnen de lever- en nierwaarden afwijkend zijn.

Aangezien IMHA één van de voornaamste differentiaal diagnoses is, wordt er vaak een Coombstest gedaan, deze is bij een zeer groot percentage van de gevallen positief. Dit betekent echter niet dat er geen infectie met Babesia kan zijn!

Direct aantonen

Bloeduitstrijkje

Een bloeduitstrijkje gekleurd met een Giemsa-kleuring kan een gemakkelijke en snelle diagnose opleveren. Door gebruik te maken van capillair bloed wordt die sensitiviteit wat vergroot, maar een negatieve uitslag sluit een infectie met Babesia niet uit. Bij een infectie met *Babesia canis* zijn er vaak maar weinig ziekteverwekkers aanwezig in het bloed, waardoor het aantonen in een bloeduitstrijkje moeilijker wordt.

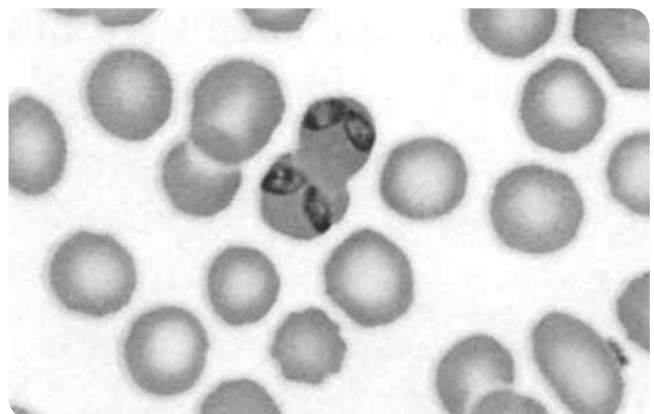
PCR

De PCR toont zowel de kleine als de grote Babesia soorten aan. Detectie van Babesia uit bloed kan al 1-2 dagen na infectie. Dan begint namelijk de eerste parasitemie die ongeveer 4 dagen duurt. De tweede, meer uitgesproken parasitemie, treedt na ongeveer 10-14 dagen op. Bij honden met een chronisch verloopende ziekte wisselen rustperiodes zich af met parasitaemische fasen. Het is daarom niet altijd mogelijk om een chronische infectie door middel van directe methodes aan te tonen. In het geval van een chronische infectie kan PCR gecombineerd worden met het bepalen van antilichamen.

Indirect aantonen

Babesia antilichamen (ELISA)

Het aantonen van antistoffen is mogelijk vanaf 14-21 dagen na infectie, in acute gevallen kan dit dus vals-negatieve resultaten opleveren. Het is bekend dat er kruisreacties tussen *B. canis* en *B. gibsoni* kunnen optreden. Serologie kan geen onderscheid maken tussen een acute of chronische infectie.



Babesia canis, intra-erythrocytaire merozoïeten (bloeduitstrijkje), 1000 x

Ehrlichia

Ziekteverwekker	<i>Ehrlichia canis</i>
Vector	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
Verspreidingsgebied	Wereldwijd in tropische en subtropische gebieden, Europa: gehele Middellandse Zeegebied, in Duitsland af en toe op zichzelfstaande "autochtone" infecties
Ziekte	Canine monocytair Monocytair Ehrlichiosis
Symptomen	Koorts, anorexie, gewichtsverlies, hemorrhagische diathese, czs-symptomen, lymfadenopathie

E. canis is een obligaat gram-negatieve bacterie die Canine Monocytair Ehrlichiose veroorzaakt. De ziekte wordt overgedragen door de teek *Rhipicephalus sanguineus*. Deze exotische teek is enkele keren in Nederland gevonden, maar is hoogst waarschijnlijk in alle gevallen geïmporteerd vanuit het buitenland. De teek kan in Nederland alleen binnenshuis en in kennels overleven en reproduceren.

De incubatietijd is 8-20 dagen. De ziekte verloopt meestal in meerdere fasen, die als volgt zijn in te delen:

1. Acute fase: de acute fase ontwikkelt zich 1-3 weken na infectie. Indien de ziekte gedurende deze fase, die tussen de 2-4 weken duurt, niet herkend en behandeld wordt, volgt een subklinische fase. Klinische symptomen in deze acute fase variëren van mild tot levensbedreigend, maar zijn vaak zeer aspecifiek. Klinische symptomen die kunnen worden gezien; koorts, lethargie, dyspneu en anorexie. Bij bloedonderzoek wordt vaak anemie, trombocytopenie, leukopenie, verhoogde leverwaarden, hypergammaglobulinemie en hypoalbuminemie gezien. In deze acute fase kan het beste de PCR test gebruikt worden voor het aantonen van infectie.

2. Subklinische fase: dit stadium kan maanden tot jaren duren. Sommige dieren ontwikkelen nooit de chronische fase. Het is niet duidelijk waardoor de ziekte overgaat in de chronische fase. In deze subklinische fase zijn geen klinische symptomen waarneembaar, maar vaak wordt bij bloedonderzoek trombocytopenie, en hypergammaglobulinemie gezien. In deze fase is de bepaling van antistoffen aan te raden.

3. Chronische fase: in deze fase kunnen de symptomen variëren van mild tot levensbedreigend en is de infectie vaak moeilijk te behandelen. Klinische symptomen die worden waargenomen zijn o.a.; koorts, anorexie, gewichtsverlies, lymfadenopathie, myositis, polyarthritis en stollingsstoornissen. Bij bloedonderzoek wordt vaak pancytopenie, monocytose, anemie en hypergammaglobulinemie gezien. Ook in deze fase is de bepaling van de antistoffentiter aan te raden.

Diagnostiek

Het beste is om de diagnose in het acute stadium te stellen, omdat dit in latere stadia moeilijker met zekerheid gedaan kan worden. Doordat er een lange subklinische fase is en het klinisch beeld vaak aspecifiek, wordt de ziekte ook wel 'Silent Killer' genoemd.

Direct aantonen

Bloeduitstrijkje

Dit is alleen mogelijk in de acute fase en hiervoor wordt bij voorkeur capillair bloed gebruikt. Het is ook mogelijk om een DNAB te nemen van lymfeknopen, milt, longen of beenmerg. De hoogste sensitiviteit wordt bereikt door middel van een DNAB van de lymfeknoop. Een negatieve uitslag sluit echter een infectie met *E. Canis* niet uit.

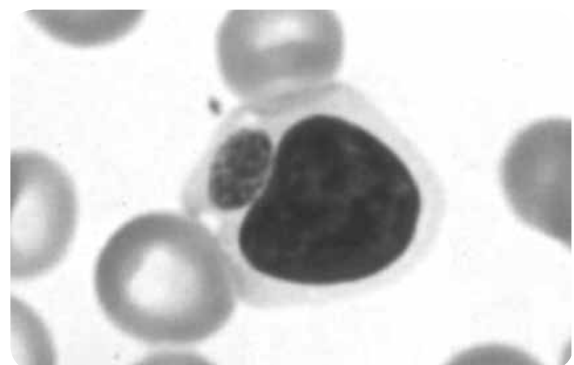
PCR

Vanaf 4-10 dagen na infectie is het mogelijk om *E. canis* in bloed aan te tonen en deze techniek is sensitiever dan de beoordeling van een bloeduitstrijkje. De PCR wordt met name aangeraden in de acute fase van de ziekte omdat in een later stadium de ziekteverwekker vaak niet meer in het bloed aantoonbaar is. In de chronische fase kan het zinvol zijn milt en/of beenmergpunctaat voor de PCR op te sturen, aangezien de kans om hierin Ehrlichia aan te treffen groter is dan in het bloed. Een negatieve uitslag sluit infectie echter niet volledig uit.

Indirect aantonen

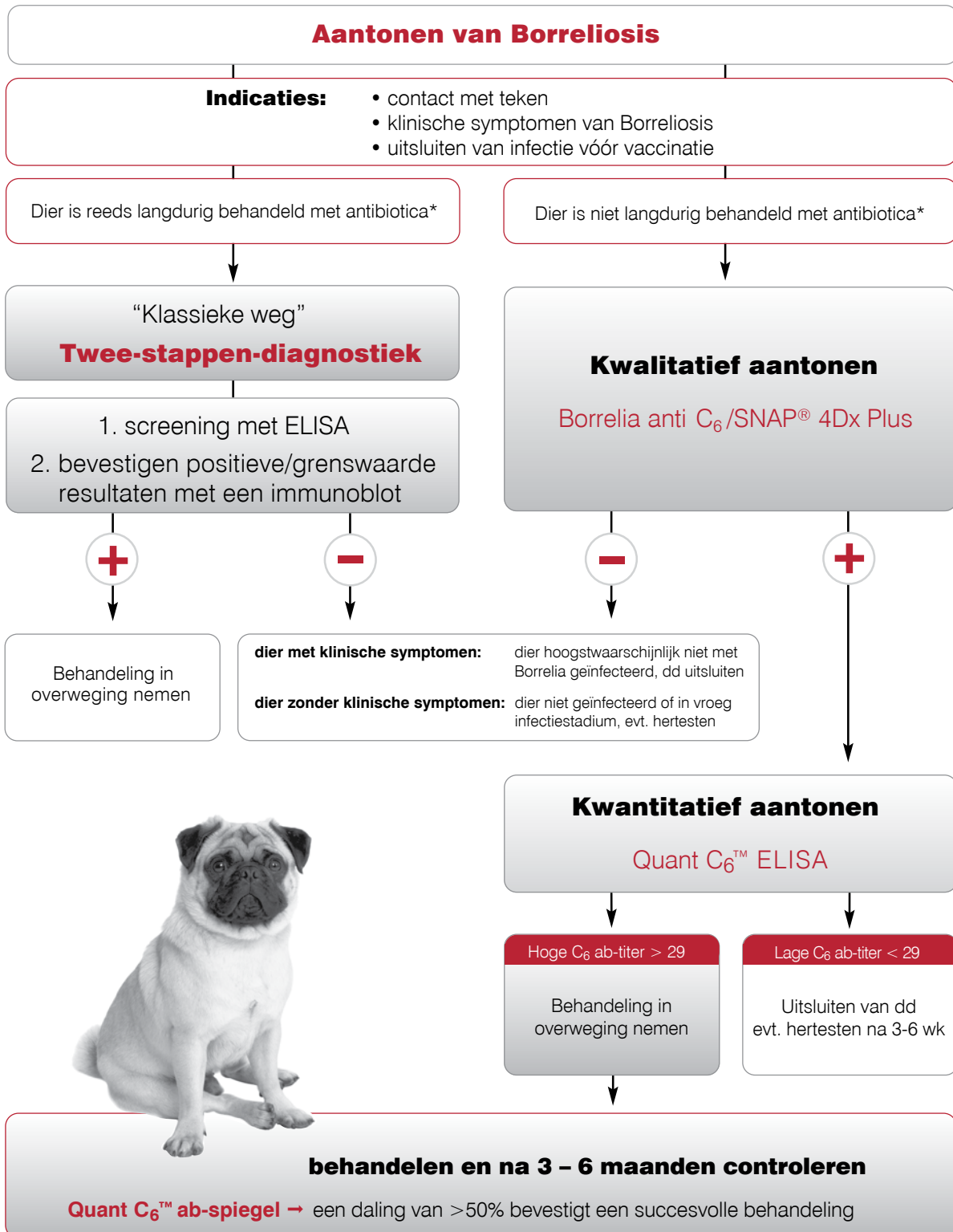
E. canis antilichamen (IFT)

Het aantonen van antistoffen is mogelijk vanaf 14 dagen na infectie, maar sommige honden hebben pas na 28 dagen een seroconversie. Een viervoudige stijging van de titer met 2 weken tussentijd toont een actieve infectie aan. Titers kunnen maanden hoog blijven, daarom betekent een eenmalige hoge titer niet per definitie een klinische infectie. Kruisreacties met andere Ehrlichia soorten zijn mogelijk. Antilichamen kunnen ook gemeten worden met behulp van de SNAP® 4Dx plus™ test.



Ehrlichia canis – morula (bloeduitstrijkje), 1000 x





* dieren die de voorafgaande maanden behandeld zijn met antibiotica die werken tegen Borrelia, zoals doxycycline en amoxicilline, moeten de klassieke tweestappen weg volgen. Een antibioticumkuur die een aantal weken voor de bloedafname is toegediend, beïnvloedt de C₆-antistoffentest niet. Dieren die duidelijke symptomen van Borreliosis hebben, kunnen ondanks een antibioticumkuur toch een positieve C₆-antistoffentiter tonen.