

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2015-2016

LEPTOSPIROSE BIJ HET PAARD

door

Charlot VERSTRAETEN

Promotoren:

Prof. Dr. Ducatelle

Dierenarts Bert Gybels

Literatuurstudie in het kader van de masterproef

© 2016 Charlot Verstraeten

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2015-2016

LEPTOSPIROSE BIJ HET PAARD

door

Charlot VERSTRAETEN

Promotoren:

Prof. Dr. Richard Ducatelle

Dierenarts Bert Gybels

Literatuurstudie in het kader van de masterproef

© 2016 Charlot Verstraeten

VOORWOORD

Ik heb van kinds af aan zeer veel interesse in paarden en het studeren van diergeneeskunde heeft deze interesse verder aangewakkerd. Op aanraden van mijn dierenarts, Bert Gybels, koos ik voor het onderwerp "Leptospirose bij het paard". Er blijkt veel onduidelijkheid over leptospirose en paardeneigenaren zijn er vaak onvoldoende mee bekend. Gezien de eventuele grote gevolgen van een infectie met deze bacterie, is het belangrijk om de eigenaren te leren om symptomen te herkennen en hen bewust te maken van de preventieve maatregelen die genomen kunnen worden.

Ik zou graag mijn promotor Prof. Dr. Richard Ducatelle en copromotor Bert Gybels bedanken voor de toegewijde begeleiding en het advies bij het schrijven van deze literatuurstudie. Verder wil ik graag mijn ouders, grootouders en vriend bedanken voor de steun tijdens deze studie. Zonder hen stond ik vandaag de dag niet waar ik nu sta en zou mijn droom om dierenarts te worden nooit in vervulling kunnen gaan.

INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING	1
INLEIDING	2
LITERATUURSTUDIE	3
1 Etiologie	3
2 Pathogenese	5
3 Epidemiologie	6
4 Symptomen	9
4.1 Abortus en andere reproductieproblemen	10
4.2 Equine recurrenente uveïtis of ERU	11
4.3 Respiratoire problemen.....	12
4.4 Funisitis.....	12
5 Diagnose	13
5.1 Diagnose aan de hand van pathologie en histopathologie	13
5.2 Bacteriologische diagnose	14
5.3 Serologische diagnose.....	15
5.4 Diagnose aan de hand van het bacterieel DNA.....	17
6 Differentiaaldiagnose	18
7 Preventie	18
7.1 Sanitaire maatregelen.....	18
7.2 Vaccinatie	18
7.3 Verder onderzoek	19
8 Behandeling	20
BESPREKING	21
REFERENTIELIJST	22

SAMENVATTING

Leptospirose, ook wel de ziekte van Weil genoemd, is een ziekte die zowel bij dieren als bij de mens voorkomt. De oorzaak van deze zoönose is een spirocheet genaamd *Leptospira* spp. Het belang van leptospirose bij paarden neemt toe aangezien de prevalentie sinds 2006 gestegen is. Over de pathogenese is tot op heden weinig bekend. Men is het er over eens dat ratten en andere knaagdieren een besmettingsbron vormen, vandaar dat men soms spreekt van de “rattenziekte”. Andere zoogdieren kunnen vervolgens drager of reservoirsteek worden en de bacterie uitscheiden via de urine. Besmetting vindt plaats wanneer de spirocheet via laesies in de huid of via de mucosae binnentreedt. Belangrijk om te weten is dat de bacterie een zestal maanden kan overleven in een vochtige en warme omgeving.

De symptomen zijn zeer variabel, dit zorgt ervoor dat het vaak een tijdje duurt vooraleer de ziekte gediagnosticeerd wordt. Bij het paard kan leptospirose subklinisch voorkomen of zeer milde symptomen, zoals bijvoorbeeld sufheid, veroorzaken. In meer ernstige gevallen ziet men onder andere een ontsteking van de uvea en abortus.

Zoals reeds eerder vermeld zijn de klinische symptomen vaak onvoldoende om een diagnose te stellen en is er nood aan het aantonen van de bacterie in geïnfecteerde weefsels of vloeistoffen. Dit best in combinatie met het aantonen van antistoffen in het bloed.

Wat de behandeling betreft zijn er nog veel onduidelijkheden. Men is het erover eens dat wanneer een dier besmet is met *Leptospira*, er zo snel mogelijk een antibacteriële behandeling gestart moet worden. Preventief is het van belang dat er aandacht besteed wordt aan management op een bedrijf, de dieren moeten in een droge, hygiënische omgeving gehuisvest worden. Preventie door vaccinatie van paarden is in België niet mogelijk aangezien er geen geschikt commercieel vaccin op de markt is.

Abortus – ERU – Leptospirose – Management – Paarden

INLEIDING

Het doel van deze literatuurstudie is om een overzicht te geven van wat er momenteel geweten is over leptospirose bij het paard.

Leptospirose is een zoönotische bacteriële aandoening die wereldwijd voorkomt (Barwick et al., 1998; Levett, 2001; Vinetz, 2001; Jorge et al., 2011). Men weet dat de oorzaak van leptospirose toegewezen wordt aan een gram negatieve bacterie, namelijk aan het species *Leptospira interrogans* (Barwick et al., 1998). Er bestaan zeer veel verschillende soorten leptospiren en er bestaan verschillende soorten dieren die als gastheer fungeren. Dit maakt de controle van de ziekte erg moeilijk (Barthi et al., 2003). Over de pathogenese van *Leptospira* bij het paard is weinig geweten, daarom gaat men uit van een analogie met de pathogenese bij de mens en bij andere dieren (Hamond et al., 2014). Paarden zouden frequent gastheer zijn voor *Leptospira* spp. en mogelijks een rol vervullen als reservoirgastheer voor *Leptospira interrogans* serovar bratislava (Park et al., 1992).

Verschillende factoren hebben een invloed op de epidemiologie van leptospirose bij het paard. Zo heeft men onderzocht wat het effect is van blootstelling aan knaagdieren en/of wilde dieren, de bodem, het water en wat het effect is van het management op een bedrijf of stal (Barwick et al., 1998).

Wat de symptomen betreft, zijn deze onder andere afhankelijk van de virulentie van het organisme en de immuniteit van het paard (Park et al., 1992). Bij paarden ziet men vaak subklinische leptospirose (Park et al., 1992, Hamond et al., 2012c en Pinna et al., 2013), vooral in endemische gebieden (Houwens et al., 2011). Antilichamen tegen pathogene serovars worden frequent aangetoond in klinisch gezonde paarden, waarvan de eigenaren geen enkel vermoeden hebben dat hun paard besmet is met *Leptospira* (Houwens et al., 2011). In sommige paardenpopulaties hebben tot 80% van de dieren antilichamen (Baverud et al., 2009).

Er zijn verschillende mogelijkheden om de diagnose van leptospirose te stellen: pathologie, histopathologie (Warthin-Starry methode), serologie en microbiologie onder andere door middel van immunofluorescentie en donkerveld microscopie (Poonacha et al., 1993). Ook polymerase chain reaction (PCR) kan gebruikt worden voor de detectie en de identificatie van DNA van leptospiren (Ahmed et al., 2009).

Wat de preventie betreft speelt management een belangrijke rol. Door het nemen van sanitaire maatregelen, doet men indirect ook aan preventie van leptospirose bij de mens (Barwick et al., 1998). Een vaccin bestaat in België momenteel niet (Dierengezondheidszorg Vlaanderen, 2016). Er wordt veel onderzoek verricht naar het vinden van een goed recombinant vaccin (Dellagostin et al., 2011). Het behandelen van acute leptospirose gebeurt door middel van antibiotica (Hamond et al., 2012c; Adler, Current Topics in Microbiology and Immunology, 2015). Aanvullende therapie moet afgestemd worden op de voornaamste klinische symptomen die aanwezig zijn, bv. nierfalen, leverfalen, maanblindheid, respiratoire problemen,... (Dierengezondheidszorg Vlaanderen, 2016).

LITERATUURSTUDIE

1 ETIOLOGIE

Leptospirose is een zoönotische bacteriële aandoening die wereldwijd voorkomt (Barwick et al., 1998; Levett, 2001; Vinetz, 2001; Jorge et al., 2011). De aandoening kan subklinisch of klinisch voorkomen bij zowel mens als dier (Yan et al., 2010; La-ard et al., 2011). De oorzaak van leptospirose wordt toegewezen aan een gram negatieve bacterie, namelijk aan het species *Leptospira interrogans* (Barwick et al., 1998). Ze behoren tot de familie van de Leptospiraceae binnen de orde Spirochaetaceae (Haake en Matsunaga, 2010).

Domein: Bacteria

Rijk: Spirochaetes

Fylum: Spirochaetes

Klasse: Spirochaetes

Orde I: Spirochaetaceae

Familie I: Spirochaeta

Familie II: Leptospiraceae

Genus I: Leptospira

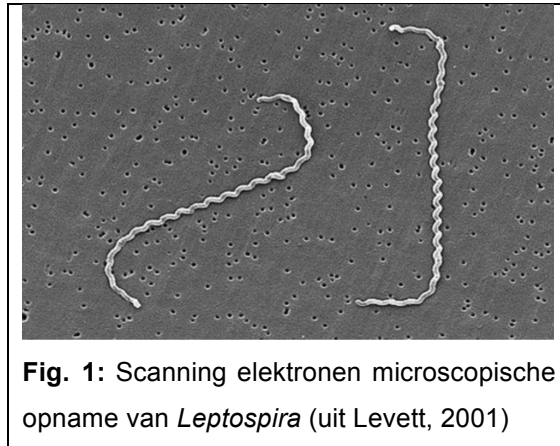
Species: interrogans

Serogroep

Serotype

De genusnaam *Leptospira* werd voor het eerst voorgesteld in 1918 om leptospirose, ook de ziekte van Weil genoemd, te kunnen differentiëren van andere spirocheten (Noguchi, 1918). In 1982 maakte men de opdeling in twee grote species. Enerzijds *L. interrogans* met daarbinnen de pathogene serovars en anderszijds *L. biflexa* met daarbinnen de saprofiete serovars (Faine en Stallman, 1982). Serovars met gerelateerde antigenen worden gegroepeerd in serogroepen (Adler, Current Topics in Microbiology and Immunology, 2015). Ook Barragan et al. (2011) maakt een onderscheid tussen saprofiete, intermediaire en pathogene leptospiren. De pathogene serovars onder *L. interrogans* kunnen overgedragen worden via besmette urine, de bodem, water en andere lichaamsvloeistoffen (Barwick et al., 1998).

Leptospiren zijn spirocheten die tussen de 2,0 en 4,0 μm lang zijn en een diameter hebben van 0,12 tot 0,15 μm . Ze hebben een centraal, recht axiaal filament met daarrond een protoplasmatische cilinder (Brandes et al., 2007; Haake en Matsunaga, 2010) (**Fig. 1**).



Het is een organisme dat voornamelijk voorkomt in het water. Daardoor vormen overstroming en regenval risicofactoren bij de overdracht van *Leptospira* spp. (Faine, 1999; D'Andrea et al., 2012). De bacterie komt voor in zeer warme, vochtige gebieden. De pathogene species leven in de nieren van hun gastheer en worden uitgescheiden via de urine (La-ard et al., 2011). Slechte hygiëne is een belangrijke risicofactor (D'Andrea et al., 2012). Leptospirose wordt verspreid door verschillende dragers zoals bijvoorbeeld honden en knaagdieren (Ko et al., 1999). De *Rattus norvegicus* of de bruine rat speelt een belangrijke rol in de transmissie van de ziekte.

Reservoirgastheren van een bepaald serovar zullen dragers zijn en de kiem uitscheiden gedurende verschillende jaren. Gevoelige gastheren zullen bij een infectie met leptospiren van een bepaald serovar acuut ziek zijn met eventueel sterfte tot gevolg (Barwick et al., 1998). Door het zoönotisch karakter van *Leptospira*, vermijdt de mens best contact met geïnfekteerde urine en geaborteerde foeten (Givens en Marley, 2008).

Een studie van Park et al. (1992) leert ons dat paarden frequent gastheer zijn voor *Leptospira* spp. en dat ze mogelijks een reservoirgastheer zijn voor *Leptospira interrogans* serovar bratislava. Volgens Hamond et al. (2013) is het echter nog niet aangetoond dat paarden een belangrijke rol spelen in de transmissie van leptospirose naar mensen en andere dieren. Dit ondanks het feit dat paarden vaak seropositief zijn en er reeds titers aangetoond zijn tegen verschillende serovars.

Het rund vormt een reservoirgastheer voor volgende *Leptospira* spp.: *Leptospira interrogans* serovar hardjo en *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo. Het rund is verder een incidentele gastheer voor het serovar pomona, welke onderhouden wordt in het varken (Givens en Marley, 2008).

In Europa treft men voornamelijk serogroepen ballum, canicola, icterhaemorrhagiae en grippothyposa aan. Dit in tegenstelling tot cynopteri, panama en pyrogenes die men nog niet heeft aangetroffen in Europa. Wanneer men antistoffen terugvindt tegen deze laatste, wat frequent gebeurt in paardensera, gaat men ervan uit dat dit veroorzaakt wordt door een kruisreactie (Rocha et al., 2004). Volgens Gerding en Gilger (2015) is *Leptospira interrogans* pomona het meest geïsoleerde serovar in Amerika. Bij de mens speelt vooral de *L. interrogans* serogroup icterohaemorrhagiae serovar copenhageni een rol (Ko et al., 1999; Pereira, et al., 2000; Romero et al., 2003).

2 PATHOGENESE

Over de pathogenese van *Leptospira* bij het paard is weinig geweten, men gaat uit van een analogie met de pathogenese bij de mens en bij andere dieren (Hamond et al., 2014).

Volgens een studie van Givens en Marley (2008) gebeurt de transmissie van *Leptospira* tussen reservoirgastheren op verschillende manieren. Men beschrijft “transmissie door contact met geïnfecteerde urine, melk, transplacentaal, placentale vloeistoffen en/of venerisch”. De transmissie naar een incidentele gastheer gebeurt voornamelijk door contact met geïnfecteerde urine via de omgeving.

Vooraleer leptospiren hun definitieve gastheer besmetten, kunnen ze enkele maanden aanwezig blijven in een voedselarme, waterige omgeving. Onder andere het vormen van een biofilm speelt hierbij een belangrijke rol. In de biofilm zijn namelijk bepaalde organismen aanwezig die onder invloed van nutriënten zeer snel aanleiding kunnen geven tot mobilisatie van de spirocheten (Barragan et al., 2011). Er is een opmerkelijk verschil wat de overlevingsduur betreft van saprofiete en pathogene leptospiren. Saprofiete leptospiren kunnen in de aanwezigheid van bepaalde bacteriën langer overleven en eventueel zelfs vermenigvuldigen. Dit in tegenstelling tot pathogene leptospiren, zij zijn minder goed aangepast aan de buitenwereld en overleven het best in hun gastheer (Barragan et al., 2011). Zoals hierboven vermeld, spelen wamte en vocht een belangrijke rol in de transmissie van *Leptospira*. Klimatologische omstandigheden zoals een hoge temperatuur en regelmatig overstromingen, zorgen ervoor dat *Leptospira* langer aanwezig blijft, dit zal de transmissie bevorderen (Jorge et al., 2011). Wat het water betreft, speelt vooral de aanwezigheid van een bepaalde concentratie aan zuurstof, mineralen en nutriënten een rol. Veranderingen in de samenstelling van het water kunnen leiden tot een vermenigvuldiging of net een vernietiging van bepaalde pathogene leptospiren (Barragan et al., 2011).

De belangrijkste intredepooorten voor *Leptospira* zijn de mucosae van de ogen, neus en vagina en/of huidlaesies (Givens en Marley, 2008). De bacterie maakt gebruik van twee belangrijke mechanismen om te kunnen penetreren. Enerzijds is er de secretie van lytische enzymen door *Leptospira* (Adler en de la Pena Moctezuma, 2010), anderzijds is er de typische helicale beweging (Lambert, et al., 2012). Eens opgenomen in de gastheer, merkt men op dat leptospiren niet alleen aanwezig zijn in de eerste acute fase, maar ook in de daaropvolgende acute fases. Een mogelijke verklaring hiervoor zou zijn dat er persistentie is van leptospiren in het corpus vitreum, wat steeds opnieuw aanleiding geeft tot groei van *Leptospira* (Brandes et al., 2007). Na de incubatie vindt er een bacteriemie plaats met verspreiding naar de verschillende organen zoals bijvoorbeeld de lever en de nier waar er vermenigvuldiging van *Leptospira* plaatsvindt (Dierengezondheidszorg Vlaanderen, 2016). De bacteriemie duurt maximaal tot de zevende dag na infectie (Adler en de la Pena Moctezuma, 2010). Bij gastheren met een effectieve immuunrespons zullen er antilichamen circuleren en leptospiren aanwezig zijn in de urine. Aangezien de antistoffen minder actief zijn ter hoogte van de niertubuli en de voorste oogkamer, zullen *Leptospira* hier persisteren (Athanzio et al., 2008). Het is op deze manier dat dragers ontstaan, die de bacterie vervolgens uitscheiden via de urine (Levett, 2001).

3 EPIDEMIOLOGIE

In een studie van Barwick et al. (1998) onderzoekt men de invloed van verschillende factoren op de epidemiologie van leptospirose. Er wordt onder andere gekeken naar de blootstelling aan knaagdieren, de blootstelling aan wilde dieren, de bodem, het water en management op de stal. Contaminatie van de bodem en het water blijkt een zeer grote rol te spelen in de epidemiologie van leptospirose. Ook management speelt een belangrijke rol. Zo is bijvoorbeeld de bezetting van de stallen positief gecorreleerd met de kans op blootstelling aan *Leptospira interrogans* serovar grippothyposa.

Jorge et al. (2011) vermeldt het contact met wilde dieren. Er is namelijk een hoge seroreactiviteit beschreven van *Leptospira* species bij wilde carnivoren en bij paarden. Een mogelijke reden hiervoor is dat wilde carnivoren vaak geïnfecteerde knaagdieren als prooi vangen. De hogere seroreactiviteit zou kunnen betekenen dat wilde carnivoren en paarden fungeren als reservoirsteek voor bepaalde serovars. Dit in tegenstelling tot gedomesticeerde honden bijvoorbeeld, die niet gebruikt worden voor de jacht en die minder in contact komen met gecontamineerd water en geïnfecteerde knaagdieren.

De reservoirsteek voor onder andere de serovars icterohaemorrhagiae en copenhageni is de bruine rat of de *Rattus norvegicus* (De Faria et al., 2008). *R. norvegicus* wordt beschouwd als één van de grootste reservoirs wereldwijd voor serovar copenhageni. Wegens het agressief en dominant gedrag van deze rattenspecies, hebben ze de *Rattus rattus* volledig verdrongen (De Faria et al., 2008). Andere serovars hebben verschillende of nog onbekende reservoirsteeken (Houwens et al., 2011). Deze reservoirsteeken spelen uiteraard een belangrijke rol in de transmissie van leptospirose.

Een studie van Park et al. (1992) suggereert dat *Leptospira interrogans* serovar bratislava mogelijk door paarden onderhouden wordt en deze bijgevolg als reservoirgastheer fungeren. Ook in studies van Barwick et al. (1998) en Baverud et al. (2009) was serovar bratislava het meest voorkomende serovar bij het paard. In tegenstelling tot een studie van Houwers et al. (2011) waar als dominante serovar bij paarden serovar copenhageni beschreven wordt, welke samen met serovar icterohaemorrhagiae, geassocieerd wordt met de ziekte van Weil bij de mens en met leptospirose bij de hond.

Bij de mens werden gelijkaardige resultaten gevonden. De Faria et al. (2008) toont aan dat in buurten met een hoge dichtheid aan ratten, meer leptospirose voorkomt bij de mens. In rijkere buurten waar er een goede riolering is en aan knaagdiercontrole gedaan wordt, zijn er veel minder gevallen van leptospirose.

Zieke dieren zouden meer vatbaar zijn voor leptospirose dan gezonde dieren (Baverud et al., 2009). Zo toont een studie van Baverud et al. (2009) aan dat paarden met respiratoire problemen en paarden met vermoeidheid door zwaar werk, hogere niveaus van seropositiviteit vertonen tegenover serovar bratislava. Verder werd er geen verband aangetoond met ziekten en verhoogde seroprevalentie.

De manier van voederen kan volgens Donahue et al. (1995) een invloed hebben op het verspreiden en onderhouden van *Leptospira* bij paarden. Paarden die op de grond gevoederd worden, hebben meer kans dat knaagdieren het voer besmetten. Weidebeheer speelt hierbij ook een rol, een studie van Ebani et al. (2012) heeft het onder andere over stilstaand water in de weide. Hoe minder stilstaand water, hoe lager de seroprevalentie van leptospirose.

Paarden die in de winter op stal staan, krijgen vaak ruwvoer, wat zo goed als altijd gecontamineerd is met urineresten van knaagdieren (Houwers et al., 2011). Een studie van Baverud et al. (2009) toont het tegengestelde aan, zij beweren dat paarden die buitenkomen meer kans hebben op leptospirose aangezien ze vaker in contact komen met gecontamineerd water, knaagdieren, andere paarden en andere diersoorten. Houwers et al. (2011) concludeert dat mensen, door betere hygiëne, minder vaak geïnfecteerd worden dan dieren. Men kan besluiten dat management een belangrijke rol speelt in de epidemiologie van leptospirose (Donahue et al., 1995; Ebani et al., 2012).

Er is een groot verschil in prevalentie van leptospirose tussen geografische gebieden. Dit komt onder andere omdat de overlevingsduur van *Leptospira* afhankelijk is van het klimaat. Ook de aanwezigheid van bepaalde gastheren, die als reservoir fungeren, speelt een belangrijke rol (Houwers et al., 2011). Volgens Hartskeerl et al. (2004) en Brandes et al. (2007) komt serovar grippothyposa voornamelijk voor bij paarden in Centraal-Europa, terwijl serovar pomona vooral voorkomt in Noord-Amerika. Ook Timoney et al. (2011) toont aan dat serovar pomona vooral voorkomt in Noord-Amerika en daar klinische leptospirose veroorzaakt bij paarden.

In een studie van Yung et al. (2010), waar men paarden onderzoekt vanaf een leeftijd van zeven jaar, ziet men geen significant verband tussen de leeftijd van de dieren en het voorkomen van leptospirose. Dit in tegenstelling tot een studie van Park et al. (1992) en Baverud et al. (2009) waar men wel een verband aantoonde tussen de leeftijd van het paard en het voorkomen van leptospirose. Hoe hoger de leeftijd, hoe hoger de seropositiviteit (Baverud et al., 2009).

Een studie van Park et al. (1992) toont aan dat vrouwelijke dieren met een leeftijd tussen acht en elf jaar de hoogste prevalentie hebben wat leptospirose betreft, maar aangezien het aantal paarden te klein was en men niet random geselecteerd heeft, is deze stelling niet representatief. Belangrijk is dat een paard geïnfecteerd kan worden op zeer jonge leeftijd en vervolgens drager kan zijn. Hoge titers bij oudere dieren kunnen te wijten zijn aan infecties in het verleden die niet persisterend waren (Rocha et al., 2004). Verschillende studies tonen aan dat volwassen dieren, vooral deze met een leeftijd tussen 7 en 11 jaar, een hogere seroreactiviteit vertonen, wat aangeeft dat infecties met *Leptospira* meer voorkomen bij oudere dieren (Park et al., 1992).

In een studie van Hajikolaie et al. (2005) wordt aangetoond dat er een verband is tussen het geslacht en het voorkomen van leptospirose bij paarden. De prevalentie van *Leptospira* is hoger bij vrouwelijke dieren dan bij mannelijke. Dit in tegenstelling tot ezels, waar het geslacht geen invloed had op het voorkomen van een infectie. Ook Baverud et al. (2009) beweert dat het geslacht een invloed heeft op het voorkomen van leptospirose. Zij menen dat zowel merries als ruinen een hogere seropositiviteit vertonen voor *Leptospira*, in vergelijking met hengsten. Dit kan onder andere verklaard worden door het feit dat deze laatste vaak individueel gehuisvest worden. Yung et al. (2010) beweert dat het geslacht geen invloed heeft op het voorkomen van leptospirose, op voorwaarde dat voor beide geslachten hetzelfde management geldt. De prevalentie van positieve sera is volgens Park et al. (1992) niet verschillend tussen vrouwelijke en mannelijke dieren.

Er is geen predilectie voor een specifiek paardenras wat leptospirose betreft (Donahue et al., 1991; Park et al., 1992). Wel hebben renpaarden een lagere seropositiviteit voor leptospirose in vergelijking met recreatiepaarden. Een mogelijke reden hiervoor is dat renpaarden beter gehuisvest worden (Baverud et al., 2009). Ook wordt er een significant verschil vastgesteld tussen de seroprevalentie van leptospirose bij pony's in vergelijking met deze bij paarden, meer bepaald Arabische paarden (Yung et al., 2010). Verder is er volgens Hajikolaie et al. (2005) een hogere prevalentie van leptospirose bij ezels dan bij paarden. Dit kan verklaard worden door het feit dat paarden meestal in hygiënische omstandigheden op stal gehouden worden, terwijl ezels zich vaak op de weide bevinden. Hierdoor komen ezels frequenter in contact met mogelijke dragers van *Leptospira*.

Zowel voor het geslacht als voor het ras kan men dus besluiten dat er weinig verschillen zijn betreffende het voorkomen van leptospirose, op voorwaarde dat hetzelfde management geldt (Baverud et al., 2009; Yung et al., 2010).

Volgens een studie van Baverud et al. (2009) speelt het seizoen een rol. Serovar icterohaemorrhagiae heeft bijvoorbeeld de hoogste seroprevalentie tussen oktober en december. Dit is waarschijnlijk te wijten aan het feit dat knaagdieren gedurende deze periode toegang zoeken tot huizen en stallen. Voor serovar bratislava zijn vooral de maanden april tot juni en oktober tot december gekend. De meeste paarden geraken geïnfecteerd in de warmere periodes van het jaar. Na het groeperen van de paarden in de herfst - en winterperiode ziet men een stijging van de seroprevalentie aangezien de dieren mogelijks in contact komen met nieuwe paarden die de bacterie uitscheiden.

Volgens een studie van Yung et al. (2010) zijn er hogere antilichaam titers tegen *Leptospira* in de zomer en de herfst, in vergelijking met de winter en de lente. Dit zou verklaard kunnen worden door het feit dat leptospiren beter overleven in een warme en vochtige omgeving en dus meer dieren kunnen infecteren in de zomer en de herfst. Tenslotte toont ook de studie van Park et al. (1992) aan dat titers in positief geteste paarden hoger zijn tussen mei en september.

Bij twee studies van Donahue et al. (1992 en 1995) wordt duidelijk dat de meeste abortussen, veroorzaakt door *Leptospira* plaatsvinden in de maanden november of december. Dit zou te maken hebben met klimatologische omstandigheden, management en/of het gedrag van wilde dieren.

Verder zouden er associaties zijn met andere ziekten. Zo zijn er bevindingen over het samen voorkomen van *Leptospira* en het equine herpes virus (Hodgin et al., 1989).

Tenslotte wordt in een studie van Park et al. (1992) aangetoond dat paarden met oogproblemen meer kans hebben om positief te testen op leptospirose. Ook paarden met laminitis en koliek vertonen een hogere prevalentie van leptospirose.

4 SYMPTOMEN

Leptospirose kan zowel acuut als chronisch of subklinisch verlopen bij paarden (Park et al., 1992; Hajikolaie et al., 2005; Hamond et al., 2012c). De graad van de symptomen is onder andere afhankelijk van de virulentie van het organisme en de immuniteit van de gastheer (Park et al., 1992). Subklinische leptospirose komt zeer vaak voor bij paarden volgens Park et al. (1992), Hamond et al. (2012c) en Pinna et al. (2013), vooral in endemische gebieden (Houwers et al., 2011). In sommige paardenpopulaties hebben tot 80% van de dieren antilichamen (Baverud et al., 2009). Antilichamen tegen pathogene serovars worden frequent aangetoond in klinisch gezonde paarden, waarvan de eigenaars geen enkel vermoeden hebben dat hun paard besmet is met *Leptospira* (Houwers et al., 2011). De reden waarom niet alle dieren steeds een klinische infectie vertonen kan verklaard worden aan de hand van specifieke species – of gastheerfactoren. Onder andere de dosis aan *Leptospira* waarmee het dier besmet is en het type pathogene serovar waarmee men te maken heeft, spelen een rol (Houwers et al., 2011).

Paarden met klinische leptospirose vertonen symptomen zoals uveïtis, prematuur geboren veulens, abortus en nier- en leverproblematiek. Ook hematurie, koorts, anorexie, icterus en respiratoire problemen komen voor (Hajikolaie et al., 2005; Broux et al., 2012; Hamond et al., 2013). Vooral icterus en interstitiële nefritis zouden typische symptomen zijn bij paarden die besmet zijn met *Leptospira* (Hodgin et al., 1989). Volgens Park et al. (1992), zoals ook eerder vermeld, zijn volgende aandoeningen geassocieerd met leptospirose: oogproblematiek, laminitis en koliek. Naar een studie van Yan et al. (2010) blijkt koorts een systematisch symptoom van leptospirose. Tenslotte ziet men ook soms thrombocytopenie (Broux et al., 2012).

4.1 Abortus en andere reproductieproblemen

Mogelijke gevolgen van infectie bij een drachtige merrie zijn: abortus, doodgeboorte of de geboorte van zwakke nakomelingen (Givens en Marley, 2008; Pinna et al., 2013; Hamond et al., 2015). Om een aantal begrippen te verduidelijken, definiëren Pinna et al. (2013) en Hamond et al. (2015) het volgende: “Men spreekt van vroege embryonale sterfte wanneer er sterfte optreedt < 45 dagen van de dracht. Men spreekt van abortus wanneer de foetus sterft tussen dag 45 en de partus en men spreekt van perinatale sterfte wanneer het veulen sterft binnen de 3 dagen na de geboorte”. Verder is het zo dat men spreekt van eens sporadische abortus wanneer < 5% van een groep dieren aborteert. Wanneer een groot deel van de groep aborteert, spreekt men van epizoötische abortus (Givens en Marley, 2008). Volgens Houwers et al. (2011) is abortus het meest voorkomende symptoom bij leptospirose. Een studie van Pinna et al. (2013) toont aan dat een seroreactieve merrie 1,8 keer meer kans heeft op reproductiestoornissen dan een seronegatieve merrie. De meeste abortussen bij paarden worden specifiek veroorzaakt door het serovar pomona (Donahue et al., 1992).

Vroege embryonale sterfte bij merries met leptospirose zou verklaard kunnen worden door een lokale inflammatie in de uterus, veroorzaakt door de aanwezigheid van *Leptospira*. Dit is analoog aan wat men ziet bij leptospira placentitis, wat volgt op een vasculitis veroorzaakt door *Leptospira* (Pinna et al., 2013). Embryonale en foetale sterfte kunnen vervolgens aanleiding geven tot resorptie, mummificatie, maceratie of abortus (Givens en Marley, 2008).

De geïnfecteerde foeten zijn steeds ouder dan 6 maanden bij abortus (Donahue et al., 1995; Hamond et al., 2012b). Ook bij een studie van Donahue et al. (1991), wordt *Leptospira* aangetoond bij foeti vanaf 6 maanden dracht tot aan de partus. Echter volgens Poonacha et al. (1993) kan leptospirose aanleiding geven tot abortus of doodgeboorte vanaf 3 ½ maanden dracht tot aan de partus.

Leptospirose heeft tenslotte een negatief effect op embryo transfer programma's wegens het voorkomen van reproductiestoornissen in alle fasen van de dracht in draagmerrie's (Pinna et al., 2013).

4.2 Equine recurrente uveïtis of ERU

ERU, al dan niet veroorzaakt door leptospirose, is herkenbaar door herhaaldelijke episodes van inflammatie in één of beide ogen. Vaak zijn de intervallen niet te voorspellen. Niet alleen de uvea, bestaande uit de iris, het corpus ciliare en de choroïdea, maar ook de cornea, de lens, het glaslichaam en de retina kunnen bij meer uitgebreide schade betrokken zijn. Mogelijke oorzaken zijn: parasitaire aandoeningen, neoplasie, trauma en infectieuze agentia (Cook et al., 1983; Rohrbach et al., 2005).

Brandes et al. (2007) beweert dat ERU één van de meest voorkomende oogziekten is bij het paard. Het wordt gekenmerkt door intraoculaire neerslag in één of beide ogen en acute pijn ter hoogte van het oog (**Fig. 2**). Dit kan in chronische gevallen leiden tot een verminderd gezichtsvermogen en eventueel blindheid (Rohrbach et al., 2005; Brandes et al., 2007). Opmerkelijk is dat vanaf het ogenblik dat de acute ERU overgaat naar een chronisch toestand, de pijn verdwijnt. Vaak merken de eigenaren dan niks meer aan het paard, tot plots het cataract en de blindheid optreden (Gilger en Michau, 2004). Macroscopisch ziet men een gele vlek in het oog (**Fig. 3**). Volgens een studie van Gerding en Gilger (2015) vertoont ongeveer 50 % van de paarden met ERU blindheid in het aangetaste oog. Dieren met een verhoogde intraoculaire druk hebben meer kans om blind te worden en ondergaan vaker een enucleatie, ondanks glaucoomtherapie.

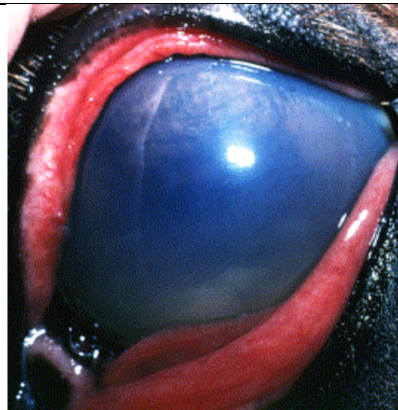


Fig. 2: Acute tekenen van ERU, onder andere oedeem ter hoogte van de cornea, perioculaire zwelling en uitvloeï (uit Gilger en Michau, 2004)

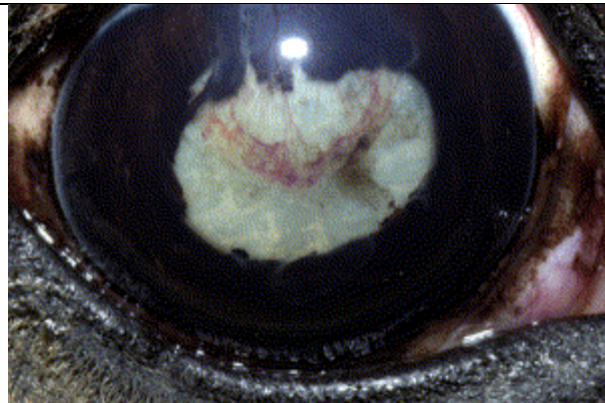


Fig. 3: Chronische tekenen van ERU, onder andere cataract en posterior synechia (uit Gilger en Michau, 2004)

Klinische symptomen van uveïtis zijn ontkleuring van de iris, tranen of andere ooguitvloei, scheel kijken, perioculaire zwelling en/of wrijven met het oog ergens tegenaan (Rohrbach et al., 2005). Bij oftalmologisch onderzoek ziet men onder andere miosis, verlaagde oogdruk, een waterige laagje op het oog, posterior synechia, hyperpigmentatie van de iris, cataract, lensluxatie en een inflammatoire debris op het voorste lenskapsel (Rohrbach et al., 2005; Gerding en Gilger, 2015).

Een onderzoek van Dwyer et al. (1995) toont aan dat er een sterke positieve correlatie is tussen uveïtis en leptospirale seroreactiviteit bij paarden. Zoals reeds eerder vermeld kunnen leptospiren hun gastheer binnendringen via de mucosae of via laesies in de huid en vervolgens verspreiden naar verschillende organen en/of een systemische infectie veroorzaken (Givens en Marley, 2008). Ter hoogte van het oog spelen stompe of penetrerende trauma's mogelijk een rol in het doorbreken van de labiele bloed-oog-barrière (Paglia et al., 2004). Parma et al. (1985) beschrijft de antigenische relatie tussen de cornea en *Leptospira* die deels verantwoordelijk is voor de vertroebeling van de cornea bij paarden met leptospirose.

Als dominante *Leptospira* bij paarden met ERU, vindt men serovar grippothyphosa terug (Hartskeerl et al., 2004). Wat het ras betreft zijn Appaloosa paarden gepredisponeerd voor het ontwikkelen van ERU en hebben ze de slechtste prognose als de ERU veroorzaakt wordt door *Leptospira* (Dwyer et al., 1995; Gerding en Gilger, 2015). Dit in contradictie met een studie van Faber et al. (2000) waarin aangetoond wordt dat er geen associatie is tussen ras, geslacht en/of leeftijd en het voorkomen van uveïtis.

Verder zorgt ERU er vaak voor dat de paarden niet even goed meer presteren als voordien. Frequent leidt deze aandoening tot verkoop of euthanasie van het dier, mede om de financiële kost van de behandeling te vermijden (Gerding en Gilger, 2015).

4.3 Respiratoire problemen

Bij de mens is pulmonaire hemorrhagie één van de belangrijkste doodsoorzaken bij een besmetting met leptospira (Broux et al., 2012). Ook bij dieren kan pulmonaire hemorrhagie voorkomen (Broux et al., 2012; Hamond et al., 2012a). Het is daarom van belang dat men bij adulte paarden en veulens met acute respiratoire problemen rekening houdt met leptospirose in de differentiaaldiagnose (Hamond et al., 2012a).

4.4 Funisitis

De invloed van *Leptospira* op de navelstreng is onbekend. Er is weinig literatuur te vinden over de pathologische bevindingen van de navelstreng bij leptospirose (Sebastian et al., 2005).

Volgens Sebastian et al. (2005) ziet men funisitis en placentitis, waarna ook de foet geïnfecteerd is. Het is dus erg belangrijk om bij vroeggeboren en/of zwakke veulens de navelstreng en de placenta te onderzoeken op een infectie met *Leptospira* (Sebastian et al., 2005).

5 DIAGNOSE

De diagnose van *Leptospira* wordt in vele labo's niet gedaan wegens de hoge kosten en de lange incubatietijd (Donahue et al., 1991). Toch is het belangrijk dat bij embryonale en foetale sterfte bij het paard, steeds een goed diagnostisch onderzoek gebeurt, ook al is er reeds een andere pathogeen gevonden. Er kunnen namelijk verschillende pathogenen tegelijkertijd voorkomen (Givens en Marley, 2008).

Om chronisch geïnfecteerde dieren te detecteren moeten gevoelige methoden gebruikt worden waarbij men de leptospiren opspoort in de urine of het genitaal stelsel (Hajikolaei et al., 2005).

Er zijn verschillende mogelijkheden om de diagnose van leptospirose te stellen: pathologie, histopathologie (Warthin-Starry methode), serologie en microbiologie onder andere door middel van immunofluorescentie en donkerveld microscopie (Poonacha et al., 1993).

5.1 Diagnose aan de hand van pathologie en histopathologie

Mogelijke laesies op pathologisch onderzoek zijn zwelling van de nier en/of perirenaal oedeem met eventueel witte radiatie (Poonacha et al., 1993). Wat de lever betreft, ziet men soms zwelling, geelverkleuring en/of witte vlekjes ("mottling") (Poonacha et al., 1993; Szeredi en Haake, 2006). Ook kunnen er laesies voorkomen op de alantochoion, het amnion en de navelstreng (Poonacha et al., 1993).

Door middel van de Warthin-Starry techniek of de zilverkleuring zijn spirocheten aan te tonen op histologie. Zo kan men bijvoorbeeld histopathologie uitvoeren op de nier, de lever en/of de placenta bij verdenking van leptospirose (Hodgin et al., 1989; Poonacha et al., 1993). Een mogelijk nadeel aan de Warthin-Starry techniek is dat deze kleuring enkel de lange spirocheten detecteert. Korte spirocheten, cocci of aggregaten kunnen niet gedetecteerd worden en worden verward met artefacten. Verder zouden verschillende weefsels niet als positief beschouwd worden voor leptospirose door middel van de Warthin-Starry techniek, terwijl ze wel positief bevonden worden door middel van immunohistochemie (IHC) (Szeredi en Haake, 2006).

Lever

In de lever treft men soms milde tot matige multifocale leucocyteninfiltratie aan portaal en perivascular (Poonacha et al., 1993). In andere gevallen ziet men hepatocellulaire dissociatie, zwelling van een aantal hepatocyten, vacuolaire degeneratie, fibrose en hepatocyt – en kuppfercelnecrose (Poonacha et al., 1993; Szeredi en Haake, 2006).

Nier

Volgens Poonacha et al. (1993) en Szeredi en Haake (2006) lijden dieren met leptospirose aan multifocale interstitiële nefritis en hebben de nieren vaak gedilateerde tubules.

Verder ziet men vaak ernstige tubulonefroze, vasculitis, perivasculitis en acute bloedingen (Szeredi en Haake, 2006). Tenslotte treft men soms multipale microabcesjes aan ter hoogte van de nier (Poonacha et al., 1993).

Placenta en navelstreng

Ter hoogte van de placenta treft men verschillende histologische laesies aan. In het allantochorion beschrijft Poonacha et al. (1993) volgende laesies: hyperplastisch, gedilateerd en cysteus allantoisepitheel met milde tot ernstige en focale/multifocale/diffuse leukocyten infiltratie in het stroma en de chorion villi. Placentaal oedeem is ook één van de pathologische bevindingen (Szeredi en Haake, 2006).

Ter hoogte van het amnion vindt men oedeem en multifocale, milde neutrofielen infiltratie (Poonacha et al., 1993). Volgens Szeredi en Haake (2006) is het ook mogelijk om multipale bloedingen en milde lymfoïde villitis vast te stellen ter hoogte van de foetale membranen. Tenslotte vindt men ter hoogte van de navelstreng soms oedeem en ziet men infiltratie van inflammatoire cellen, hemmorhagie en necrotisch materiaal (Poonacha et al., 1993).

Hersenen, hart en longen

In de hersenen treft men af en toe een meningoencephalitis aan (Poonacha et al., 1993). Szeredi en Haake (2006) spreken van een milde vasculitis ter hoogte van het hart, de milt en de hersenen.

Het hart vertoont in sommige gevallen een infiltratie van leucocyten in het myocard, maar meestal zijn er geen laesies te vinden (Poonacha, et al., 1993). Ook ter hoogte van de long zijn er meestal geen laesies, maar soms stelt men een bronchopneumonie met subpleurale, interlobulaire en alveolaire bloedingen vast (Poonacha et al., 1993).

5.2 Bacteriologische diagnose

Cultuur

Ondanks het feit dat cultuur veel tijd in beslag neemt, is handig om te bepalen welke serovars betrokken zijn. Zowel de foetale nier als de urine van de merrie kunnen gebruikt worden voor cultuur (Donahue et al., 1995). Cultuur van de foetale nier levert een hoger aantal positieve culturen op dan de foetale lever. Best wordt het weefsel gecultiveerd de dag van de abortus of de dag na de abortus (Donahue et al., 1992).

Een studie van Hamond et al. (2013) meent dat *Leptospira* zeer moeilijk te kweken is op cultuur. Pinna et al. (2011) beweert dat dit veroorzaakt wordt door de fragiliteit van het agens en de lange incubatieperiode.

Fluorescent antilichaam test (FAT)

Voor de diagnose van leptospirose kan gebruik gemaakt worden van de FAT. Dit is de beste test om de diagnose van leptospirose te stellen volgens Donahue et al. (1995). Men kan gebruik maken van onder andere de placenta, de nieren, de lever en de long van de foet (Donahue et al., 1995 en Broux et al., 2012). Ook urine van merrie's (minder dan 10 dagen na de abortus) kan gebruikt worden (Donahue et al., 1995). Immunofluorescentie kan verder ook uitgevoerd worden op vaginaal vocht of op een biopsie van het endometrium (Hamond et al., 2015). Indirecte immunofluorescentie toont in een onderzoek van Parma et al. (1985) aan dat zowel anti-leptospira als anti-equine cornea binden op een normale cornea bij het paard, in vivo en in vitro. Beide gaan samen met het vertroebelen van de cornea. Dit wordt veroorzaakt door een kruisreactie tegen een homoloog antigen (zowel aanwezig bij *Leptospira* als in de equine cornea) (Parma et al., 1987).

Donkerveld microscopie

Op de maaginhoud van de nakomeling kan men door middel van donkerveld microscopie spirocheten aantonen (Poonacha et al., 1993).

Immunohistochemie (IHC)

Volgens een studie van Szeredi en Haake (2006) is IHC meer sensitief dan de zilverkleuring en meer specifiek dan serologie door middel van de microscopische agglutinatietest (MAT). IHC kan gebruikt worden voor snelle kleuring en diagnose van leptospirose of voor retrospectieve studies (Szeredi en Haake, 2006). Antigenen van *Leptospira* zijn het meest prominent aanwezig in de lever, gevolgd door het hart, de long en de nier (Szeredi en Haake, 2006).

5.3 Serologische diagnose

Serologie is de meest gebruikte methode om leptospirose te diagnosticeren (Desvars et al., 2011). Ook Barthi, et al., 2003 beweert dat de diagnose gesteld moet worden op basis van de symptomen in combinatie met serologische testen. Er zijn tal van serologische methoden, de belangrijkste zijn de microscopische agglutinatietest (MAT) en de Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Hajikolaei et al., 2005).

Antilichamen tegen *Leptospira* zijn aanwezig vanaf een paar dagen na de infectie en kunnen weken, maanden of zelfs jaren aanwezig zijn. Wanneer een dier echter chronisch geïnfecteerd is, kunnen de titers enorm dalen en niet meer aan te tonen zijn (Hajikolaei et al., 2005). Men kan besluiten dat seropositiviteit de mate van blootstelling aan de ziekte weergeeft, niet de aanwezigheid van de ziekte (Baverud et al., 2009). Het serovar met hoge antilichaam titers, dat men kan aantonen in de merrie, komt vaak overeen met het serovar dat men aantreft bij de geaborteerde foet (Poonacha et al., 1993). Verder verschillen antilichaam titers tegen *Leptospira* niet naargelang de leeftijd, het ras, het geslacht of tussen geaborteerde foeten en doodgeboorten (Poonacha et al., 1993).

Wanneer men serologische studies doet bij paarden met leptospirose of bij gevaccineerde paarden, ziet men dat er een reactie is ten opzichte van verschillende leptospira antigenen. Dit wordt vaak gezien bij sera van dieren. Zo vertoont serovar pomona vaak een kruisreactie met serovars autumnalis en icterohaemorrhagiae (Hodgin et al., 1989). Verder bezit *Leptospira* antigenen die kruisreageren met het oogweefsel (Rohrbach, 2005). Volgens Brandes et al. (2007) kunnen er hoge titers antistoffen tegen leptospiren aangetoond worden in het corpus vitreum bij een paard met leptospirose.

Een studie van Hamond et al. (2015) besluit dat serologie beperkt is in het diagnosticeren van chronisch geïnfecteerde dieren. Dieren die leptospirose dragen ter hoogte van de nieren, zijn vaak seropositief terwijl dieren die leptospirose dragen ter hoogte van het genitaal stelsel vaak seronegatief zijn. Leptospiren in het genitaal stelsel zouden dus meer beschermd zijn tegen het immuunsysteem van de gastheer, wat leidt tot een zwakkere immunrespons. Wanneer men enkel serologie gebruikt in de diagnose van leptospirose, zal men veel gevallen missen als de leptospiren zich in het genitaal stelsel bevinden (Hamond et al., 2015). Sommige paarden zijn gevaccineerd of zijn afkomstig van endemische gebieden, dit maakt dat de resultaten van een serologische test soms moeilijk te interpreteren zijn (Hamond et al., 2013). Verder is serologie niet altijd aangewezen voor individuele paarden met leptospirose, aangezien niet alle dieren detecteerbare titers produceren (Hamond et al., 2012b). Om deze redenen heeft men tegenwoordig meer en meer interesse in PCR als diagnostische tool.

Microscopische agglutinatietest (MAT)

De serologische MAT kan gebruikt worden om antistoffen aan te tonen tegen leptospiren (Barwick et al., 1998; Brandes et al., 2007). Het is de meest gebruikte methode binnen de serologische diagnostiek om leptospirose te detecteren (La-ard et al., 2011). Antilichamen tegen *Leptospira* kunnen aangetoond worden in het bloed, in bepaalde vloeistoffen van geaborteerde foeten of doodgeboren veulens en in het bloed van merries. Men bepaalt zelf tegen welke specifieke serovars men titers wilt aantonen (Poonacha et al., 1993).

Bij een casusstudie van Brandes et al. (2007) ziet men dat bij een staal van het corpus vitreum in de acute fase, levende leptospiren in cultuur overeenkomen met hoge titers antistoffen op de MAT.

Levende leptospiren, gebruikt als antigenen, zijn noodzakelijk voor MAT. Dit is echter niet in alle laboratoria mogelijk. Een ander nadeel is het feit dat er vals negatieve resultaten kunnen ontstaan in geval van vaccinatie tegen leptospirose of wanneer we serologische testen uitvoeren in het beginstadium van de ziekte (La-ard et al., 2011).

Enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA)

Een studie van La-ard et al. (2011) raadt het gebruik van ELISA aan voor het detecteren van anti-*Leptospira*-antilichamen in het serum van de hond. Het is een diagnostische test die zeer makkelijk en snel is. Hij is vooral bruikbaar bij gevaccineerde honden met de typische symptomen van leptospirose aangezien vals positieven, door vaccinatie, vermeden worden (La-ard et al., 2011). Verder is deze methode goedkoper dan de MAT (Desakorn et al., 2012). Mogelijke nadelen zijn de lage specificiteit, sensitiviteit en accuraatheid, wat de test minder ideaal maakt voor de diagnose van leptospirose (Desakorn et al., 2012). Een paard met klinische symptomen en een positieve antistof titer (hoger of gelijk aan 200), wordt als positief beschouwd voor leptospirose (Dierengezondheidszorg Vlaanderen, 2016).

5.4 Diagnose aan de hand van het bacterieel DNA

Polymerase chain reaction (PCR) kan gebruikt worden voor de detectie en de identificatie van DNA van leptospiren. Deze techniek heeft een hoge specificiteit en sensitiviteit. Ook gebeurt de amplificatie zeer snel in tegenstelling tot cultuur (Ahmed et al., 2009). PCR laat toe om een onderscheid te maken tussen pathogene en niet-pathogene serotypes (Dierengezondheidszorg Vlaanderen, 2016). In een studie van Hamond et al. (2015) wordt bevestigd dat qPCR een zeer goede techniek is voor het detecteren van DNA van leptospiren in urine, vaginaal vocht en de uterus van merries met reproductieproblemen. Thoracaal vocht en andere weefsels van de geaborteerde foet kunnen eveneens gebruikt worden (Timoney et al., 2011). Hamond et al. (2012b) toont aan dat PCR ook gebruikt kan worden voor het aantonen van leptospiraal DNA in de maaginhoud van de geaborteerde foetus. Dit kan nodig zijn wanneer de andere weefsels in een slechte conditie verkeren. Het DNA ondervindt geen invloed van de lage pH in de maag.

In een studie van Faber et al. (2000) wordt geconcludeerd dat het uitvoeren van PCR op oogkamervocht een belangrijke diagnostische techniek is in het detecteren van *Leptospira*. Men ziet soms een positief resultaat op de PCR test en niet op het serologisch onderzoek, dit kan te wijten zijn aan het feit dat men onvoldoende serovars in het serologisch onderzoek betreft. Een andere mogelijke reden is dat er niet bij alle paarden een systemische immuunreactie op gang gezet wordt. Wanneer de polymerase chain reaction (PCR) positief is, moet men zich natuurlijk de vraag stellen of het gaat om dode of levende leptospiren (Brandes et al., 2007).

Pinna et al. (2011) oppert voor meer gebruik van PCR aangezien het een snelle en definitieve manier is om leptospirose te diagnosticeren.

Tenslotte zijn er een aantal nieuwe PCR technieken ontwikkeld voor de diagnose van leptospirose. Zo bestaat er bijvoorbeeld de "Loop Mediated Isothermal Amplification" of LAMP. Deze diagnostische techniek is in staat om leptospiraal DNA in de urine op te sporen (Koizumi, et al., 2012). Hierbij is er geen purificatie van het DNA noodzakelijk.

6 DIFFERENTIAALDIAGNOSE

Een differentiaaldiagnose moet gemaakt worden met *Chlamydophila psittaci*, wat voorkomt in de chorionepitheliale cellen van geaborteerde placentas van paarden (Szeredi en Haake, 2006).

Er zijn verder verschillende pathogenen die aanleiding geven tot abortus of equine reproductiestoornissen. Zo zijn onder andere gekend: *Streptococcus zooepidemicus*, *Taylorella equigenitalis*, *Equine herpesvirus 1*, Equine virale arteritis, *Trypanosoma equiperidum*, fungale pathogenen,... (Givens en Marley, 2008).

7 PREVENTIE

Er bestaan zeer veel verschillende soorten leptospiren en er bestaan verschillende soorten dieren die als gastheer fungeren. Daarbovenop is de ziekte vaak subklinisch aanwezig met niet specifieke symptomen. Dit maakt de controle van leptospirose erg moeilijk (Barthi et al., 2003).

7.1 Sanitaire maatregelen

Zoals reeds eerder vermeld, speelt management een zeer belangrijke rol in het voorkomen van leptospirose. Goed management doet namelijk de kans dalen dat paarden blootgesteld worden aan *Leptospira*. Door het nemen van sanitaire maatregelen, doet men tevens indirect aan preventie van leptospirose bij de mens (Barwick et al., 1998). Een mogelijke manier is het bestrijden van reservoirs of tussengastheren van *Leptospira* zoals onder andere de bruine rat, om ervoor te zorgen dat ze minder invloed zullen hebben op de transmissie van de ziekte (De Faria et al., 2008). Een andere manier van preventie is het determineren van de gastheer die de infectie onderhoudt om vervolgens contact hiermee te vermijden (Donahue et al., 1995). Tenslotte kan men best eventuele huidlaesies aan de ledematen op een correcte manier verzorgen en isoleert men, indien mogelijk, de geïnfecteerde dieren (Dierengezondheidszorg Vlaanderen, 2016).

7.2 Vaccinatie

In België bestaat er momenteel geen vaccin tegen leptospirose (Dierengezondheidszorg Vlaanderen, 2016). In 2011 was er ook in Nederland nog geen vaccin voor paarden op de markt (Houwers et al., 2011). Vele dierenartsen maken daarom gebruik van vaccins voor vee op bedrijven waar er sprake is van een endemisch probleem van abortus en uveïtis, veroorzaakt door *Leptospira* (Divers, The Merck Veterinary Manual, 2015). De humane vaccins die beschikbaar zijn veroorzaken een korte termijn immuniteit en ook enkele bijwerkingen ten gevolge van onder andere het leptospirale lipopolysaccharide (LPS) (Grassmann et al., 2012). Verder zijn ze serovar specifiek met gelimiteerde bescherming of gebrek aan kruisbescherming (Grassmann et al., 2012). Ook Dellagostin et al. (2011) wijst op de vele bijwerkingen die de bestaande geïnactiveerde vaccins bezitten. Er is duidelijk nood aan een nieuw, verbeterd vaccin. Opdat men dit ideale vaccin kan ontwikkelen, is het noodzakelijk de serovars van *Leptospira* te determineren (Donahue et al., 1995).

Vaccinatie met bacterines heeft een gelimiteerde werking vanwege de grote antigenische variatie van de pathogeen. Er wordt veel onderzoek verricht naar een verbeterd recombinant vaccin (Dellagostin et al., 2011). Ook Grassmann et al. (2012) kaart het gebrek aan wat betreft een veilig en effectief recombinant vaccin. Het eerste effectieve recombinante vaccin tegen leptospirose werd beschreven in 1999 in een studie van Haake et al. (1999).

Men kan een subunit vaccin bekomen door het combineren van “outer membrane protein” (OMP) antigenen en nieuwe adjuvants. Men hoopt op deze manier te komen tot een effectief vaccin tegen leptospirose (Dellagostin et al., 2011). Een beloftevolle kandidaat hiervoor is LipL32, een OMP antigen dat aanwezig is in alle pathogene *Leptospira* species. Verschillende studies hebben echter al aangetoond dat dit soort vaccin onvoldoende bescherming biedt (Grassmann et al., 2012).

Wanneer men in een vaccin, LipL32 koppelt aan de B-subunit van het *Escherichia coli* hitte labiel enterotoxine (LTB), merkt men op dat dit effectiever is en dat de paarden met leptospirose een hoger overlevingspercentage vertonen. Het LTB wordt hierbij gebruikt als een adjuvant. (Grassmann et al., 2012). Deze bevindingen zullen zeker bijdragen in de ontwikkeling van een beter vaccin tegen leptospirose in de toekomst.

In een onderzoek van Rohrbach et al. (2005) wordt onderzocht wat het effect is van vaccinatie op het recidiveren van ERU. Er wordt gebruik gemaakt van een vaccin dat bestaat uit verschillende serovars (*Leptospira interrogans* serovars bratislava, canicola, hardjo, icterohaemorrhagiae, pomona en *Leptospira kerschneri* serovar grippothyposa). Na een eerste vaccinatie tegen leptospirose ziet men een significant verhoogde titer aan antistoffen. Na de tweede vaccinatie wordt duidelijk dat de snelheid, waarmee ERU recidiveert, vertraagt. Dit zou te wijten zijn aan het feit dat de antistoffen tegen *Leptospira* de intacte bloed-oog barrière passeren en zo terecht komen in het oog na systematische vaccinatie.

Een belangrijk aspect waar Grassmann et al. (2012) op wijst is dat bescherming tegen leptospirose niet perse geassocieerd is met antilichaam titers. Ook Rohrbach et al. (2005) wijst erop dat vaccinatie om leptospirose tegen te gaan en op deze manier recidiverende ERU te bestrijden, controversieel is.

7.3 Verder onderzoek

De rol van paarden in de epidemiologie van *Leptospira* species moet verder onderzocht worden om te kunnen inspelen op de transmissie van deze bacterie (Jorge et al., 2011).

8 BEHANDELING

Acute leptospirose wordt behandeld met antibiotica in combinatie met symptomatische therapie (Hamond et al., 2012c; Adler, Current Topics in Microbiology and Immunology, 2015).

De aangewezen antibiotica zijn penicillines, cephalosporines van de derde generatie en fluoroquinolones. Streptomycine bezit een twijfelachtige werking tegenover leptospiren. Sulfamiden en cephalosporines van de eerste generatie zijn niet werkzaam (Dierengezondheidszorg Vlaanderen, 2016). Ook een andere bron beschrijft enkele antibiotica die systemisch toegediend kunnen worden bij acute leptospirose: enrofloxacin, penicilline, tetracyclines en aminoglycosiden. Het toedienen van deze antibiotica om ERU te bestrijden blijft controversieel (Divers, The Merck Veterinary Manual, 2015). Het meest potente antibioticum om *Leptospira* te bestrijden volgens een studie van Kim et al. (2006) is tilmicosine, een langwerkend macrolide. Dit geldt bij runderen, bij andere diersoorten zoals het paard is het mogelijk dat er een negatief inotroop effect ontstaat waardoor het leidt tot sterfte. Er moet dus verder onderzoek gedaan worden naar eventuele andere formulaties van tilmicosine die niet toxisch zijn voor het paard (Kim et al., 2006).

Aanvullende therapie moet afgestemd worden op de voornaamste klinische symptomen die aanwezig zijn, bv. nierfalen, leverfalen, maanblindheid, respiratoire problemen,... (Dierengezondheidszorg Vlaanderen, 2016).

Zo bestaat de behandeling van ERU eruit ontstekingsremmers en mydriatica toe te dienen om op deze manier de pijn en de inflammatie te doen dalen (Gilger en Michau, 2004; Rohrbach et al., 2005). Ook meer invasieve technieken zoals een vitrectomie werden reeds beschreven (Gerhards et al., 1999). Verder kan men een antibioticum toedienen om oculaire *Leptospira* te bestrijden. Enrofloxacin intraveneus penetreert voldoende het oog (boven de MIC-waarde). Ook orale therapie met enrofloxacin is voldoende effectief bij het paard (Divers et al., 2008). Een studie van Gilger en Michau (2004) beschrijft het systemisch toedienen van tetracycline of doxycycline gedurende vier weken om recidieven van ERU tegen te gaan.

BESPREKING

De rol van paarden in de epidemiologie van *Leptospira* species dient verder onderzocht te worden om te kunnen inspelen op de transmissie van de bacterie. Dit is noodzakelijk aangezien een infectie met *Leptospira* ernstige gevolgen kan hebben, niet alleen voor het paard maar ook voor de mens wegens het zoönotisch karakter van de bacterie.

Verder blijft onder andere de vraag of men extra aandacht moet besteden aan bepaalde rassen, aan het geslacht of aan bepaalde leeftijdsgroepen. Zo hebben volbloeden en hengsten minder kans op het krijgen van leptospirose aangezien ze vaak beter en individueel gehuisvest zijn.

Aangezien leptospirose veel gevolgen heeft voor de voortplanting, vraag ik mij af of hier extra rekening mee gehouden wordt op stoeterijen. Verschilt hun management van dat van een gewone paardenhouderij?

Of men paarden nu beter op de weide of op stal houdt om leptospirose te vermijden blijft ook onduidelijk. Sommige studies wijten de infectie eerder aan contaminatie van het ruwvoer op stal, terwijl andere het hebben over het contact met gecontamineerd water, knaagdieren en andere paarden op de weide. Naar mijn mening zijn beiden van belang.

Uit deze literatuurstudie leid ik af dat vooral het management van de dieren indirect een invloed heeft. Men kan beter preventief het management van een stal aanpassen om op deze manier te verhinderen dat een paard besmet wordt.

Wat de diagnostiek betreft is verder onderzoek eveneens noodzakelijk. Veel paarden testen positief, maar of ze effectief leptospirose hebben is onduidelijk. Ik denk persoonlijk dat kan besloten worden dat PCR de beste techniek is om de diagnose van leptospirose te stellen. Dit aangezien serologie eerder de mate van blootstelling aan de ziekte weergeeft, maar niet de aanwezigheid van de ziekte. Ook vertonen niet alle geïnfecteerde dieren detecteerbare antistoftiters en het is zo dat wanneer de dieren chronisch geïnfecteerd zijn, de titers enorm laag of zelfs niet meer aan te tonen kunnen zijn. Op basis van serologie moet men stellen dat enkel een dier met klinische symptomen én een positieve antistoftiter (hoger of gelijk aan 200) beschouwd kan worden als een dier met leptospirose. Een bedenking hierbij is dat de symptomen erg variabel zijn en dat de ziekte heel frequent subklinisch voorkomt.

In ieder geval is de stijgende prevalentie van de aandoening een onrustwekkende factor. Er wordt momenteel veel onderzoek gedaan naar het ontwikkelen van een goed vaccin. Maar aangezien er zeer veel varianten van *Leptospira* bestaan, is het erg moeilijk om een ideaal vaccin samen te stellen. Dit zien we onder andere bij de hond. De vaccins die commercieel beschikbaar zijn, zijn niet in staat om de hond te beschermen tegen de verschillende stammen die leptospirose kunnen veroorzaken.

Kortom is er nog veel onduidelijkheid over leptospirose bij het paard, maar mits verder onderzoek kan er hopelijk heel wat verduidelijkt worden de komende jaren.

REFERENTIELIJST

- Adler, B. (2015). Current Topics in Microbiology and Immunology. In B. Adler (Editor), *Leptospira and leptospirosis* (p. 16-18 en 109-110). Springer.
- Adler, B. en de la Pena Moctezuma, A. (2010). *Leptospira and leptospirosis*. *Veterinary Microbiology* 140, 287-296.
- Ahmed, A., Engelberts, M.F.M., Boer, K.R., Ahmed, N. en Hartskeerl, R.A. (2009). Development and Validation of a Real-Time PCR for Detection of Pathogenic *Leptospira* Species in Clinical Materials . *PLoS ONE* 9 (4), 1-8.
- Arent, Z. en Mieszkowska, S. (2013). Short communications: Seroprevalence study of leptospirosis in horses in northern Poland. *Veterinary Record* .
- Athanazio, D., da Silva, E., Santos, C., Rocha, G., Vannier-Santos, M., McBride, A., Ko, A. en Reis, M. (2008). *Rattus norvegicus* as a model for persistent renal colonization by pathogenic *Leptospira interrogans*. *Acta Tropica* 105, 176-180.
- Barragan, V., Mejia, M., Travez, A., Zapata, S., Hartskeerl, R., Haake, D. en Trueba, G. (2011). Interactions of *Leptospira* with environmental bacteria from surface water. *Curr Microbiology* 62, 1802-1806.
- Barthi, A., Nally, J., Ricaldi, J., Matthias, M., Diaz, M., Lovett, M., Levett, P., Gilman, R., Willig, M., Gotuzzo, E. en Vinetz J. (2003). Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *The lancet infectious diseases* 3, 757-771.
- Barwick, R., Mohammed, H., McDonough, P. en White, M. (1998). Epidemiologic features of equine *Leptospira interrogans* of human significance. *Preventive Veterinary Medicine* 36, 153-165.
- Baverud, V., Gunnarsson, A., Engvall, E. en Franzén, P. E. (2009). *Leptospira* seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. *Acta Veterinaria Scandinavica* 51.
- Brandes, K., Wollanke, B., Niedermaier, G., Brem, S. en Gerhards, H. (2007). Recurrent uveitis in horses: vitreal examination with ultrastructural detection of leptospires. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 54, 270-275.
- Broux, B., Torfs, S., Wegge, B., Deprez, P. en van Loon, G. (2012). Acute respiratory failure caused by *leptospira* spp. in 5 foals. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 26, 684-687.
- Cook, C., Peiffer, R. en Harling, D. (1983). Equine recurrent uveitis. *Equine Veterinary Journal*, 57-61.
- D'Andrea, A., Martinez, Y., Alduina, R., Monteverde, V., Monina, C. en Vitale, M. (2012). Comparison of two PCR methods for detection of *Leptospira interrogans* in formalin-fixed and paraffin-embedded tissues. *Memorias inst* 107, 85-88.
- De Faria, M., Calderwood, M., Athanazio, D., McBride, A., Hartskeerl, R., Pereira, M., Ko, A. en Reis, M. (2008). Carriage of *leptospira interrogans* among domestic rats from an urban setting highly endemic for leptospirosis in Brazil. *Acta Tropica* 108, 1-5.
- Dellagostin, O., Grassmann, A., Hartwig, D., Félix, S., da Silva, E. en McBride, A. (2011). Recombinant vaccines against leptospirosis. *Human vaccines* 7, 1215-1224.

- Desakorn, V., Wuthiekanun, V., Thanachartwet, V., Sahassananda, D., Chierakul, W., Apiwattanaporn, A., Day, N., Limmathurotsakul, D. en Peacock, S. (2012). Accuracy of a Commercial IgM ELISA for the Diagnosis of Human Leptospirosis in Thailand. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* 86, 524-527.
- Desvars, A., Cardinale, E. en Michault, A. (2011). Animal leptospirosis in small tropical areas. *Epidemiological infections* 139, 167-188.
- Dierengezondheidszorg Vlaanderen. (2016). Retrieved April 3, 2016 from <http://www.dgz.be/ziekte/leptospirose-nl>
- Divers, T. (2015). The Merck Veterinary Manual. Retrieved April 3, 2016 from http://www.merckvetmanual.com/mvm/generalized_conditions/leptospirosis/leptospirosis_in_horses.html
- Divers, T., Irby, N., Mohammed, H. en Schwark, W. (2008). Ocular penetration of intravenously administered enrofloxacin in the horse. *Equine Veterinary Journal* 40, 167-170.
- Donahue, J., Smith, B., Donahoe, J., Rigsby, C., Tramontin, R., Poonacha, K. en Wilson, M. (1992). Prevalence and serovars of leptospira involved in equine abortions in central Kentucky during the 1990 foaling season. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 4, 279-284.
- Donahue, J., Smith, B., Poonacha, K., Donahoe, J. en Rigsby, C. (1995). Prevalence and serovars of leptospira involved in equine abortions in central Kentucky during 1991-1993 foaling seasons. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 7, 87-91.
- Donahue, J., Smith, B., Redmon, K. en Donahue, J. (1991). Diagnosis and prevalence of leptospira infection in aborted and stillborn horses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 3, 148-151.
- Dwyer, A., Crockett, R. en Kalsow, C. (1995). Association of leptospiral seroreactivity and breed with uveitis and blindness in horses: 372 cases (1986-1993). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 207, 1327-1331.
- Ebani, V., Bertelloni, F., Pinzauti, P. en Cerri, D. (2012). Seroprevalence of *Leptospira* spp. and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Italian horses. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 19, 237-240.
- Faber, N., Crawford, M., LeFebvre, R., Buyukmihci, N., Madigan, J. en Willits, N. (2000). Detection of *Leptospira* spp. in the aqueous humor of horses with naturally acquired recurrent uveitis. *Journal of Clinical Microbiology* 38, 2731-2733.
- Faine, S. (1999). *Leptospira and leptospirosis*. 2nd edition. International Journal of Medicinal Science .
- Faine, S. en Stallman, N. (1982). Amended descriptions of the genus *Leptospira* Noguchi 1917 and the species *L. interrogans* (Stimson 1907) Wenyon 1926 and *L. biflexa* (Wolbach and Binger 1914) Noguchi 1918. *International Journal of Systematic Bacteriology* 32, 461-463.
- Gerding, J. en Gilger, B. (2015). Prognosis and impact of equine recurrent uveitis. *Equine Veterinary Journal* 0, 1-9.
- Gerhards, H., Wollanke, B. en Brehm, S. (1999). Vitrectomy as diagnostic and therapeutic approach for equine recurrent uveitis (ERU). *Proceedings of the 45th Annual Meeting of the American Association of Equine Practitioners*, 89-93.

Gilger, B. en Michau, T. (2004). Equine recurrent uveitis: new methods of management . Veterinary Clinics: Equine Practice 20, 417-427.

Givens, M. en Marley, M. (2008). Infectious causes of embryonic and fetal mortality. Theriogenology 70, 270-285.

Grassmann, A., Félix, S., dos Santos, C., Amaral, M., Seixas Neto, A., Fagundes, M., Seixas, F., da Silva, E., Conceição, F. en Dellagostin, O. (2012). Protection against lethal leptospirosis after vaccination with LipL32 coupled of coadministered with the B subunit of Escherichia coli heat-labile enterotoxin. Clinical and Vaccine Immunology 19, 740-745.

Haake, D. en Matsunaga, J. (2010). Leptospira: a spirochaete with a hybrid outer membrane. Molecular Microbiology 77, 805-814.

Hajikolaei, M., Haidari, M. en Abdollahpour, G. (2005). Comparison of leptospiral infection in the horse and donkey. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 49, 175-178.

Hamond, C., Martins, G. en Lilenbaum, W. (2012a). Letter to the editor: "acute respiratory failure caused by Leptospira spp. in five foals". Journal Of Veterinary Internal Medicine 26, 1237.

Hamond, C., Martins, G. en Lilenbaum, W. (2012b). Letter to the editor: Rapid and efficient diagnosis of leptospirosis in an aborted foal by PCR of gastric juice. Veterinary Microbiology 120, 274-275.

Hamond, C., Martins, G. en Lilenbaum, W. (2012c). Subclinical leptospirosis may impair athletic performance in racing horses. Tropical Animal Health 44, 1927-1930.

Hamond, C., Martins, G., Lawson-Ferreira, R., Medeiros, M. en Lilenbaum, W. (2013). Short report: The role of horses in the transmission of leptospirosis in an urban tropical area. Epidemiological Infections 141, 33-35.

Hamond, C., Pestana, C., Rocha-de-Souza, C., Cunha, L., Brandao, F., Medeiros, M. en Lilenbaum, W. (2015). Presence of leptospires on genital tract of mares with reproductive problems. Veterinary Microbiology 179, 264-269.

Hamond, C., Pinna, A., Martins, G. en Lilenbaum, W. (2014). The role of leptospirosis in reproductive disorders in horses. Tropical Animal Health and Production 46, 1-10.

Hartskeerl, R., Goris, M., Brem, S., Meyer, P., Kopp, H., Gerhards, H. en Wollanke, B. (2004). Classification of Leptospira from the eyes of horses suffering from recurrent uveitis. Journal of Veterinary Medicine 51, 110-115.

Hodgin, E., Miller, D. en Lozano, F. (1989). Leptospira abortion in horses. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 1, 283-287.

Houwers, D., Goris, M., Kas, J., Van Dongen, A., Westerduin, F. en Hartskeerl, R. (2011). Letter to the editor: Agglutinating antibodies against pathogenic Leptospira in healthy dogs and horses indicate common exposure and regular occurrence of subclinical infections. Veterinary Microbiology 148, 449-451.

Jorge, R., Ferreira, F., Neto, J., de Aruda Vasconcellos, S., de Souza Lima, E., de Moraes, Z. en de Souza, G. (2011). Exposure of free-ranging wild carnivores, horses and domestic dogs to Leptospira spp. in the northern Pantanal, Brazil. Memorias inst 106, 441-444.

Kim, D., Kordick, D., Divers, T. en Chang, Y. (2006). In vitro susceptibilities of *Leptospira* spp. and *Borrelia burgdorferi* isolates to amoxicillin, tilmicosin, and enrofloxacin. *Journal of Veterinary Science* 7, 355-359.

Ko, A., Reis, M., Dourado, C., Johnson Jr, W. en Riley, L. (1999). Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. *Lancet* 354, 820-825.

Koizumi, N., Nakajima, C., Harunari, T., Tanikawa, T., Tokiwa, T., Uchimura, E., Furuya, T., Mingala, C., Villanueva, M., Ohnishi, M. en Suzuki, Y. (2012). A new loop-mediated isothermal amplification method for rapid, simple, and sensitive detection of *Leptospira* spp. in urine. *Journal of Clinical Microbiology* 50, 2072-2074.

La-ard, A., Amavisit, P., Sukpuaram, T. en Wajjwalku, W. (2011). Evaluation of recombinant Lig antigen-based ELISA for detection of leptospiral antibodies in canine sera. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 42, 128-137.

Lambert, A., Picardeau, M., Haake, D., Sermswan, R., Srikram, A., Adler, B. en Murray, G. (2012). FlaA proteins in *Leptospira interrogans* are essential for motility and virulence but are not required for formation of the flagellum sheath. *Infection and Immunity* 80, 2019-2025.

Levett, P. (2001). Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews* 14, 296-326.

Naze, F., Desvars, A., Picardeau, M., Bourhy, P. en Michault, A. (2015). Use of a new high resolution melting method for genotyping pathogenic leptospira spp. *Plos One*, 1-15.

Noguchi, H. (1918). Morphological characteristics and nomenclature of *Leptospira* (Spirochaeta) icterohaemorrhagiae (Inada and Ido). *Journal of Experimental Medicine* 27, 575-592.

Paglia, D., Miller, P. en Dubielzig, R. (2004). James Wardrop and equine recurrent uveitis. *Archives of ophthalmology* 122, 1218-1223.

Park, J., Gordon, J., Bech-Nielsen, S. en Slemons, R. (1992). Factors for seropositivity to leptospirosis in horses. *Preventive Veterinary Medicine* 13, 121-127.

Parma, A., Fernandez, A., Santisteban, C., Bowden, R. en Cerone, S. (1987). Tears and aqueous humor from horses inoculated with leptospira contain antibodies which bind to cornea. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 14, 181-185.

Parma, A., Santisteban, C., Villalba, J. en Bowden, R. (1985). Experimental demonstration of an antigenic relationship between leptospira and equine cornea. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 10, 215-224.

Pereira, M., Matsuo, M., Bauab, A., Vasconcelos, S., Moraes, Z., Baranton, G. en Giron, I. (2000). A clonal subpopulation of *Leptospira interrogans* sensu stricto is the major cause of leptospirosis outbreaks in Brazil. *Journal of Clinical Microbiology* 38, 450-452.

Pinna, A., Martins, G., Hamond, C. en Lilenbaum, W. (2011). Letter to the editor: Molecular diagnostics of leptospirosis in horses is becoming increasingly important. *Veterinary Microbiology* 153, 413.

Pinna, A., Martins, G., Souza, G. en Lilenbaum, W. (2013). Short communication: Influence of seroreactivity to *Leptospira* and reproductive failures in recipient mares of equine embryo transfer programmes. *Reproductive Domestic Animals* 48, 55-57.

- Poonacha, K., Donahue, J., Giles, R., Hong, C., Petrites-Murphy, M., Smith, B., Swerczek, T., Tramontin, R. en Tuttle, P. (1993). Leptospirosis in equine fetuses, stillborn foals, and placentas. *Veterinary Pathology* 30, 362-369.
- Rocha, T., Ellis, W., Montgomery, J., Gilmore, C., Regalla, J. en Brem, S. (2004). Microbiological and serological study of leptospirosis in horses at slaughter: first isolations. *Research in Veterinary Science* 76, 199-202.
- Rohrbach, B., Ward, D., Hendrix, D., Cawrse-Foss, M. en Moyers, T. (2005). Effect of vaccination against leptospirosis on the frequency, days to recurrence and progression of disease in horses with equine recurrent uveitis. *Veterinary Ophthalmology* 8, 171-179.
- Romero, E., Bernardo, C. en Yasuda, P. (2003). Human leptospirosis: a twenty-nine-year serological study in Sao Paulo, Brazil. *Journal of the São Paulo Institute of Tropical Medicine* 45, 245-248.
- Sebastian, M., Giles, R., Roberts, J., Poonacha, K., Harrison, L., Donahue, J. en Benirschke, K. (2005). Brief communications and case reports: funisitis associated with leptospiral abortion in an equine placenta. *Veterinary Pathology* 42, 695-662.
- Szeredi, L. en Haake, D. (2006). Immunohistochemical identification and pathological findings in natural cases of equine abortion caused by leptospiral infection. *Veterinary Pathology* 43, 755-761.
- Timoney, J., N., K., Velineni, S., Donahue, J., Artiushin, S. en Fettinger, M. (2011). A unique genotype of *Leptospira interrogans* serovar pomona type kennewicki is associated with equine abortion. *Veterinary Microbiology* 150, 349-353.
- Vinetz, J. (2001). Leptospirosis. *Current Opinion in Infectious Diseases* 14, 527-538.
- Yan, W., Faisal, S., Divers, T., McDonough, S., Akey, B. en Chang, Y. (2010). Experimental *Leptospira interrogans* serovar kennewicki infection of horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24, 912-917.
- Yung, B., Lee, K. en Ha, T. (2010). Seroprevalence of *Leptospira* spp. in clinically healthy racing horses in Korea. *Journal of Veterinary Medical Science* 72, 197-201.