

DE PATHOGENESE VAN LEPTOSPIROSE BIJ HET PAARD

Aantal woorden: 10.748

Margreta Gerdine Kok

Studentennummer: 01304150

Promotor: Helena Berlamont

Promotor: Prof. dr. Freddy Haesebrouck

Onderdeel van de Masterproef voorgelegd voor het behalen van de graad master in de diergeneeskunde

Academiejaar: 2019-2020



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.

Preambule

De coronacrisis was een situatie die niemand had voorzien. Gelukkig heeft het inhoudelijk geen invloed gehad op mijn masterproef omdat ik online nog steeds toegang had tot alle informatie die ik nodig had. Vanwege de coronacrisis werd de planning van andere vakken die ik volgde echter volledig veranderd waardoor ik wel wat in tijdsnood kwam en behoorlijk wat stress heb ervaren. In goed overleg met mijn promotor heb ik doorgewerkt aan mijn masterproef in alle vrije tijd die ik nog had en is het eindproduct toch op tijd tot stand gekomen.

Woord vooraf

Al van kleins af aan heb ik zeer veel interesse gehad in dieren en is het mijn droom geweest om dierenarts te worden. Tijdens mijn studie diergeneeskunde werd mij veel geleerd over leptospirose, maar daar werd altijd bij gezegd dat er over leptospirose bij het paard nog niet veel gekend was. Dit heeft mijn interesse gewekt en in overleg met mijn professor van bacteriologie (Prof. dr. Freddy Haesebrouck) heb ik er daarom voor gekozen om mijn masterproef te schrijven over het onderwerp "De pathogenese van leptospirose bij het paard".

Ik zou graag mijn promotor Helena Berlamont bedanken voor haar toegewijde begeleiding en al haar advies bij het schrijven van deze literatuurstudie. Ook zou ik mijn promotor Prof. dr. Freddy Haesebrouck willen bedanken voor zijn aanvullingen en omdat hij ervoor gezorgd heeft dat ik dit onderwerp heb gekozen voor mijn masterproef. Ten slotte wil ik nog mijn ouders en vriend bedanken omdat zij mij altijd gesteund hebben tijdens mijn opleiding. Zonder hen zou mijn droom om dierenarts te worden nooit in vervulling zijn gegaan.

Inhoudsopgave

SAMENVATTING	7
1 INLEIDING	8
1.1 WAT IS LEPTOSPIROSE?.....	8
1.2 HOE KUNNEN <i>LEPTOSPIRA</i> SPECIES ZIEKTE VEROORZAKEN?.....	8
1.3 WAAROM IS HET BELANGRIJK OM HIER MEER OVER TE WETEN TE KOMEN?.....	9
2 LEPTOSPIRA SPECIES	10
2.1 DE CLASSIFICATIE VAN <i>LEPTOSPIRA</i> SPECIES.....	10
2.2 MORFOLOGIE VAN <i>LEPTOSPIRA</i> SPECIES.....	10
2.3 CULTUURCONDITIES VOOR <i>LEPTOSPIRA</i> SPECIES.....	11
2.4 OMGEVINGSCONDITIES VOOR <i>LEPTOSPIRA</i> SPECIES.....	11
2.5 BIJ WELKE DIERSOORTEN KOMT LEPTOSPIROSE VOOR?.....	12
3 LEPTOSPIROSE BIJ DE MENS	13
3.1 PREVALENTIE/INCIDENTIE.....	13
3.2 TRANSMISSIE.....	13
3.3 <i>LEPTOSPIRA</i> SPECIES EN SEROVARS.....	13
3.4 PATHOGENESE.....	14
3.5 SYMPTOMEN.....	14
3.5.1 <i>De ziekte van Weil</i>	15
3.5.2 <i>Modderkoorts</i>	15
3.6 DIAGNOSE.....	15
3.6.1 <i>Microscopische agglutinatie</i> test.....	15
3.6.2 <i>Cultuur</i>	16
3.6.3 <i>Polymerase kettingreactie</i>	16
3.7 BEHANDELING.....	16
3.8 PREVENTIE EN VACCINATIE.....	17
4 LEPTOSPIROSE BIJ HET PAARD	18
4.1 <i>LEPTOSPIRA</i> SPECIES EN SEROVARS.....	18
4.2 PATHOGENESE.....	18
4.2.1 <i>Risicofactoren</i>	19
4.2.2 <i>Equine recurrente uveïtis (ERU)</i>	20
4.3 LETSELS EN SYMPTOMEN.....	20
4.3.1 <i>ERU</i>	21
4.3.2 <i>Acuut nier- en leverfalen</i>	21
4.3.3 <i>Ademhalingsstoornissen</i>	22
4.3.4 <i>Abortus en reproductieproblemen</i>	22
4.4 DIAGNOSE.....	22
4.4.1 <i>Aantonen van de Leptospira spp.</i>	23
4.4.2 <i>Aantonen van antistoffen tegen Leptospira spp.</i>	23
4.4.3 <i>De diagnose van ERU</i>	23
4.5 BEHANDELING.....	24
4.6 PREVENTIE.....	24
DISCUSSIE	26
CONCLUSIE	27
LITERATUURLIJST	28

Lijst van afkortingen

C-waarde	Goldman-Witmer coëfficiënt
EMJH	Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris
ERU	equine recurrenente uveïtis
FAT	fluorescente antilichaam test
HE	hematoxyline eosine
L.	<i>Leptospira</i>
LPS	lipopolysaccharide
MAT	microscopische agglutinatie test
MHC	major histocompatibility complex
NSAID	niet-steroidale anti-inflammatoire geneesmiddelen
PCR	polymerase kettingreactie
PPV	pars plana vitrectomie
SIRS	systemisch inflammatoir responssyndroom
spp.	species
TLR	Toll-like receptor

Samenvatting

Leptospirose is een bacteriële aandoening die wereldwijd voorkomt bij mens en dier en wordt veroorzaakt door pathogene species van het genus *Leptospira*. Er kan onderscheid worden gemaakt tussen reservoirgastheren, waarbij de kiem persisteert in de nieren zonder dat de dieren daar symptomen van vertonen, en accidentele gastheren, waarbij een infectie meestal leidt tot klinische symptomen. Reservoirgastheren zijn vaak wilde dieren zoals knaagdieren. Ze scheiden de kiem uit in hun urine en vormen daarom een risico voor onder andere de mens en het paard.

Er bestaan verschillende factoren die het risico op een *Leptospira* infectie bij het paard doen toenemen. Het klimaat, de omgeving, de manier van voederen, het al dan niet aanwezig zijn van reservoirgastheren, de leeftijd, het geslacht en ten slotte ook het ras zouden hierbij van belang zijn.

De pathogenese van leptospirose bij paarden is echter nog niet volledig gekend. Vaak wordt ervan uitgegaan dat de pathogenese van leptospirose bij het paard gelijkaardig is als die bij andere diersoorten en de mens. De *Leptospira* species dringen het lichaam binnen via huidlaesies en de mucosae, verspreiden zich via de bloedbaan en richten schade aan in verschillende organen zoals de longen, nieren en lever. Een infectie kan subklinisch verlopen, kan gepaard gaan met milde symptomen zoals lusteloosheid en koorts, maar kan ook levensbedreigend zijn. Belangrijke aandoeningen die bij het paard veroorzaakt kunnen worden door leptospirose zijn equine recurrenente uveïtis (ERU), acuut lever- en nierfalen en voortplantingsstoornissen zoals abortus.

De diagnose van een *Leptospira* infectie bij paarden verloopt vaak moeizaam en is gebaseerd enerzijds op de aanwezigheid van klinische symptomen en anderzijds op het aantonen van de kiem zelf of van antistoffen tegen de kiem. De behandeling van een *Leptospira* infectie hangt af van de symptomatologie, waarbij zo snel mogelijk gestart moet worden met een antibacteriële therapie.

Momenteel is er in België geen commercieel vaccin op de markt en speelt het management dan ook een cruciale rol in de preventie van leptospirose bij het paard. Verder onderzoek omtrent voornamelijk de epidemiologie, pathogenese en diagnose zijn echter noodzakelijk.

1 Inleiding

1.1 Wat is leptospirose?

Leptospirose is een bacteriële aandoening met een wereldwijde verspreiding die wordt veroorzaakt door pathogene species van het genus *Leptospira* (Pijnacker et al., 2016; Murphy, 2018). De ziekte werd voor het eerst beschreven door Adolf Weil in 1886, maar pas in 1908 werd het verband met *Leptospira* bacteriën vastgesteld toen er een uitbraak was van de ziekte van Weil onder Japanse mijnwerkers (Weil, 1886; Inada en Ito, 1908; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Sindsdien werden *Leptospira* kiemen geïsoleerd uit bijna alle soorten zoogdieren (inclusief zeezoogdieren), amfibieën en reptielen (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018).

Leptospirose is een zoönose (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; McBride et al., 2005; Pinto et al., 2017; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018; Murphy, 2018). De aandoening komt significant meer voor in gebieden met een warmer klimaat omdat *Leptospira* species (spp.) langer overleven in een warme en vochtige omgeving (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; Verma et al., 2013; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). In gebieden met een gematigd klimaat, zoals België, is de aandoening eerder seizoensgebonden met een piek gedurende de herfst (Levett, 2001; McBride et al., 2005; Murphy, 2018).

1.2 Hoe kunnen *Leptospira* species ziekte veroorzaken?

Het mechanisme waarmee *Leptospira* species ziekte veroorzaken bij hun gastheer is nog niet volledig gekend. Het verloop van de infectie is vooral afhankelijk van het pathogeen vermogen van het betrokken serovar en van het afweersysteem van de gastheer (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Broux et al., 2011). Leptospiren dringen het lichaam binnen via (schaaf)wonden of via de natte, verweekte huid. Ook via mucosale membranen zoals de slijmvliezen, conjunctivae, dunne darmmucosa en genitale slijmvliezen kan de kiem binnendringen (Langston en Heuter, 2003; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Gilger en Deeg, 2010; Goldstein, 2010; Broux et al., 2011; Haake en Levett, 2015). Nadat de kiemen het lichaam van een geschikte gastheer binnengedrongen zijn, begeven ze zich naar de bloedbaan waar ze beginnen vermeerderen. Deze bacteriëmie kan tot zeven dagen duren (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Gilger en Deeg, 2010; Goldstein, 2010; Broux et al., 2011). Na deze fase volgt de invasie van verschillende organen, waaronder de lever, nieren, ogen, genitaalstelsel en spieren. Letsels in deze weefsels ontstaan door vermeerdering van de bacteriën zelf en/of door acties van toxines of toxische cellulaire componenten die door de leptospiren worden vrijgesteld (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Goldstein, 2010; Broux et al., 2011). Als gevolg van niet-specifieke inflammatoire en immuungemedieerde reacties van de gastheer op de bacteriële invasie komen er metaboliëten, cytokinen en toxinen vrij en wordt complement geactiveerd. Dit leidt tot ernstige endotheelschade en dat kan leiden tot tubulaire necrose in de nieren, schade aan lever en longen, meningitis, myositis en placentitis (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Goldstein, 2010; Broux et al., 2011; Divers et al., 2018). In ernstige gevallen treden er ook bloedingen, icterus en trombocytopenie op. Eens er antilichamen geproduceerd worden, kunnen de leptospiren snel verwijderd worden uit de circulatie en de meeste weefsels via opsonisatie en fagocytose (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Gilger en Deeg, 2010; Goldstein, 2010; Divers et al., 2018). De ontstane weefselschade kan reversibel zijn en volledig herstellen, maar er kan evenwel langdurige schade optreden als complicatie. (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010). De wijze waarop de toxines, de toxische cellulaire componenten en de reactie van de gastheer precies samenwerken en het klinische beeld veroorzaken is nog onbekend (Broux et al., 2011).

1.3 Waarom is het belangrijk om hier meer over te weten te komen?

Leptospirose is een aandoening die ondergediagnosticeerd wordt bij dieren. In ontwikkelingslanden is dit het gevolg van economische problemen, gebrek aan faciliteiten en culturele barrières (Lau et al., 2017). In andere landen wordt leptospirose vaak ondergediagnosticeerd bij huisdieren gevaccineerd tegen *Leptospira* spp., omdat klinici ervan uitgaan dat vaccinatie leidt tot bescherming en zich niet bewust zijn van het gevaar van aanwezigheid van andere serovars waartegen de dieren niet beschermd zijn (Murphy, 2018). Bij vaccinatie is er namelijk geen volledige kruisbescherming tussen de verschillende *Leptospira* serovars (Lau et al., 2017). Dieren die geïnfecteerd zijn met serovars waartegen ze niet gevaccineerd zijn zullen zich trouwens niet altijd presenteren met de typische nier- en leverproblemen, maar eerder met hemorrhagische enteritis, koorts en ademhalingsproblemen waardoor klinici niet direct de link zullen leggen met leptospirose (Murphy, 2018).

De gevallen van leptospirose bij de mens nemen de laatste jaren toe (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; McBride et al., 2005; Pinto et al., 2017; Murphy, 2018). Daarnaast zou het kunnen dat, als gevolg van de opwarming van de aarde, *Leptospira* spp. frequenter zullen voorkomen en zich meer zullen verspreiden, aangezien de kiemen langer overleven in een warme en vochtige omgeving (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; Verma et al., 2013; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018).

Bij paarden werd leptospirose lang gezien als een infectie die niet frequent voorkomt. Een belangrijke reden hiervoor is dat veel infecties asymptomatisch verlopen bij het paard (Verma et al., 2013). Veel studies naar de prevalentie van *Leptospira* spp. zijn bovendien enkel gebaseerd op serologie en werden uitgevoerd op kleine populaties. Recent werd echter ontdekt dat de infectie wijdverspreid is, maar dat de verschillende serovars niet in dezelfde mate voorkomen in verschillende geografische regio's (Verma et al., 2013).

Over de pathogenese van *Leptospira* bij het paard is weinig gekend, waardoor men vaak uitgaat van een analogie met de pathogenese bij de mens en bij andere dieren (Hamond et al., 2014). Vanwege deze assumptie en het zoönotisch belang, zal leptospirose bij de mens ook besproken worden. Zeer belangrijk bij paarden is echter het verband tussen equine recurrenente uveïtis (ERU), een van de meest voorkomende oogziekten bij het paard, en een *Leptospira* infectie. Er zijn bovendien heel veel vragen over leptospirose bij het paard die nog onbeantwoord zijn. Zo is het onduidelijk of paarden die *Leptospira* spp. uitscheiden via de urine ook een infectiebron vormen voor de omgeving, zoals andere paarden en de mens. Moet een geïnfecteerd dier in quarantaine geplaatst worden? Moet het dier gemonitord worden voor uitscheiding via de urine met herhaalde polymerase kettingreactie (PCR) of culturen? Moeten contactdieren in quarantaine geplaatst worden of moet er bij die paarden een serumtiter worden bepaald? Moeten de andere paarden op het bedrijf worden gevaccineerd? (Gilger, 2018). In deze literatuurstudie zal dieper ingegaan worden op wat reeds gekend is over leptospirose, en over leptospirose bij het paard in het bijzonder, waarbij de nadruk zal gelegd worden op de pathogenese.

2 *Leptospira* species

2.1 De classificatie van *Leptospira* species

Het genus *Leptospira* wordt geclassificeerd in de familie Leptospiraceae en behoort, samen met de familie Spirochaetaceae (met onder andere de genera *Borrelia* en *Treponema*), tot de orde Spirochaetales (Olsen et al., 2000; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Bourhy et al., 2014; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Daarnaast wordt het genus *Leptospira* onderverdeeld in 22 verschillende species waaronder 10 pathogene species (*Leptospira* (*L.*) *interrogans*, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. noguchii*, *L. weilii*, *L. kirschneri*, *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. kmetyi* en *L. mayottensis*) die in staat zijn om mens en dier te infecteren en ziekte te veroorzaken, 7 saprofyte species (*L. biflexa*, *L. wolbachii*, *L. vanthielii*, *L. terpstrae*, *L. meyeri*, *L. idonii* en *L. yanagawae*), die werden geïsoleerd uit mens en dier en de oorzaak zouden kunnen zijn van verschillende milde klinische ziektebeelden, en 5 intermediaire species (*L. inadai*, *L. broomii*, *L. fainei*, *L. wolffii* en *L. licerasiae*) die zich vooral in de omgeving bevinden en geen ziekte veroorzaken bij mens en dier (Bourhy et al., 2014; Lehmann et al., 2014; Bulach en Adler, 2018; Divers et al., 2018; Jorge et al., 2018).

Omdat er weinig fenotypische verschillen waren binnen het genus *Leptospira*, werden deze ook verder geclassificeerd in serovars op basis van structurele heterogeniteit van het koolhydraatcomponent van lipopolysacchariden (LPS). Zo werden er meer dan 300 verschillende serovars geïdentificeerd (Picardeau, 2013; Azócar-Aedo et al., 2014; Bourhy et al., 2014).

De taxonomische classificatie komt echter niet exact overeen met de serologische classificatie, waardoor bijvoorbeeld één serovar kan behoren tot meerdere species. Vanuit een epidemiologisch standpunt blijft het wel belangrijk om naar het serovar te kijken omdat verschillende serovars geadapteerd zijn aan specifieke reservoir gastheren (Levett, 2001).

De geaccepteerde nomenclatuur is de naam van het genus, gevolgd door de species naam, gevolgd door het serovar en eventueel gevolgd door de stam. Het genus en de species worden schuin geschreven, het serovar niet. Zowel het genus als het serovar krijgen een hoofdletter, het species niet. Een voorbeeld is *Leptospira interrogans* serovar Australis (Hartmann et al., 2015).

2.2 Morfologie van *Leptospira* species

Leptospiren zijn spiraalvormige bacteriën met een diameter van ongeveer 0.1 μm , een lengte van 6-20 μm en een kenmerkend gehaakt uiteinde (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Picardeau, 2017). Daarnaast hebben ze twee periplasmische polaire flagellen die verantwoordelijk zijn voor de motiliteit van de kiemen (Levett, 2001; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Bourhy et al., 2014). Leptospiren hebben een envelop bestaande uit een cytoplasmatische membraan (binnenste membraan) en peptidoglycaan van de celwand die sterk geassocieerd zijn, omgeven door een buitenste membraan die bestaat uit lipoproteïnen en lipopolysacchariden (LPS) (Langston en Heuter, 2003; Bourhy et al., 2014; Picardeau, 2017). Dit LPS vormt een belangrijk antigeen voor *Leptospira* en is qua structuur vergelijkbaar met LPS van andere Gram-negatieve bacteriën. In tegenstelling tot het LPS van de meeste andere Gram-negatieve bacteriën is het echter weinig toxisch voor cellen of dieren (Langston en Heuter, 2003; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010).

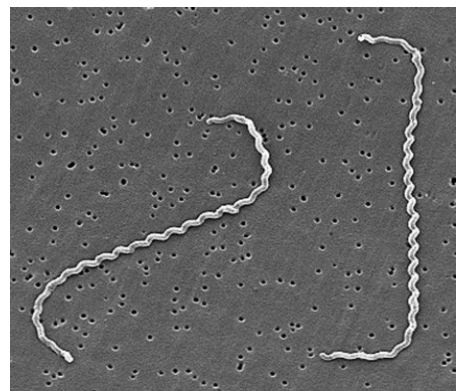


Fig. 1 Elektronenmicroscopisch beeld van *L. interrogans* serovar Icterohemorrhagiae (uit Levett, 2001)

2.3 Cultuurcondities voor *Leptospira* species

Leptospiren zijn obligaat aeroben en groeien bij een temperatuur tussen 28 en 30 graden Celsius (Levett, 2001; Langston en Heuter, 2003; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Azócar-Aedo et al., 2014). Ze groeien in media verrijkt met vitamine B1 en B12, lange vetzuurketens en ammoniumzouten. De lange vetzuurketens worden gebruikt als koolstofbron en worden gemetaboliseerd met β -oxidatie (Levett, 2001; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Reagan en Sykes, 2019). Daarnaast werd de groei van leptospiren in media met serum of albumine en in proteïne-vrije synthetische media ook reeds beschreven (Levett, 2001; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010). Het selectieve *Leptospira* Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) medium wordt tegenwoordig het meest gebruikt voor cultivatie van *Leptospira* spp. en wordt gesupplementeerd met albumine, polysorbaat 80 en verschillende groeifactoren (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Bourhy et al., 2014; World Organisation for Animal Health, 2014). Sommige stammen zijn moeilijker te kweken en hebben extra toevoeging van pyruvaat of konijnenserum nodig voor de initiële isolatie (Levett, 2001; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; World Organisation for Animal Health, 2014). De groei van contaminanten kan onderdrukt worden door selectieve media te gebruiken waaraan bijvoorbeeld 5-fluorouracil, polymyxine B, gentamicine, nalidixinezuur of rifampicine zijn toegevoegd (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; World Organisation for Animal Health, 2014; Haake en Levett, 2015). Het gebruik van deze selectieve agentia kan er echter voor zorgen dat de kansen op isolatie verminderen als er maar een klein aantal levensvatbare leptospiren aanwezig waren. Daarnaast zullen sommige stammen ook helemaal niet groeien in zulke selectieve media (World Organisation for Animal Health, 2014). De groei van leptospiren is vaak traag bij de initiële isolatie en culturen moeten dan ook 13 weken worden bewaard voordat ze worden weggegooid (Levett, 2001; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010). Pure subculturen van eenvoudig te cultiveren serovars groeien echter meestal al binnen 10 tot 14 dagen (Levett, 2001; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; World Organisation for Animal Health, 2014). In een halfvast medium zal de groei van de kiem een maximale dichtheid bereiken in een discrete zone onder het oppervlakte van het medium dat meer en meer troebel wordt tijdens de incubatie. Deze groei is gerelateerd aan de optimale zuurstofspanning en wordt ook Dinger's ring of schijf genoemd (Levett, 2001; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010). *Leptospira* culturen worden onderhouden door herhaalde subculturen of door opslag in halfvaste agars die hemoglobine bevatten. Lange-termijn opslag in vloeibare stikstof heeft de voorkeur voor opslag met behoud van virulentie (Levett, 2001; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Mohammed et al., 2011).

2.4 Omgevingscondities voor *Leptospira* species

De optimale omgeving voor leptospiren is een warm en vochtig gebied met neutraal tot licht alkalisch stilstaand tot traag bewegend water. De kiemen kunnen overleven en vermeerderen bij omgevingstemperaturen tussen 0 en 25 graden Celsius, maar bevriezing zal de overleving aanzienlijk verminderen (Langston en Heuter, 2003; Goldstein, 2010). Leptospirose komt daarom minder frequent en seizoensgebonden voor in gematigde klimaten, terwijl het heel het jaar voorkomt met een hoge incidentie in tropische klimaten (Langston en Heuter, 2003; Brown en Prescott, 2008; Prescott, 2008; Goldstein, 2010). Uitbraak van de ziekte neemt vaak toe na een periode van overstromingen of hevige regenval (Langston en Heuter, 2003; Spiess, 2010). In droge gebieden of na droge perioden wordt er meer infectie gezien in de omgeving van waterbronnen (Langston en Heuter, 2003). Leptospiren kunnen maanden persisteren in een vochtige omgeving, ook als deze arm is aan nutriënten, vermoedelijk door interactie aan te gaan met bacteriën en biofilms in de omgeving (Hamond et al., 2014). Voor langdurige overleving van leptospiren moet de pH neutraal tot licht alkalisch zijn. Ze overleven slechts kort in een zure omgeving (Langston en Heuter, 2003; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Gilger en Deeg, 2010; Goldstein, 2010).

2.5 Bij welke diersoorten komt leptospirose voor?

In principe kan de bacterie alle zoogdieren infecteren, maar bepaalde species, zoals de hond en de mens, lijken gevoeliger te zijn dan andere (Murphy, 2018). Er kan een onderscheid worden gemaakt tussen reservoirgastheren en accidentele gastheren van *Leptospira* spp. (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; Verma et al., 2013; Flores et al., 2017; Pinto et al., 2017; van Esbroeck en Lernout, 2017; Murphy, 2018).

Bij een reservoirgastheer persisteert de kiem in de renale tubuli wat leidt tot de excretie van *Leptospira* spp. in de urine voor een lange periode, tot zelfs levenslang. De infectie wordt meestal opgelopen op jonge leeftijd door direct contact met andere reservoirgastheren (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; Goldstein, 2010; Verma et al., 2013; Flores et al., 2017; Pinto et al., 2017; van Esbroeck en Lernout, 2017; Murphy, 2018). Een *Leptospira* infectie bij een reservoirgastheer verloopt meestal symptomeloos (Levett, 2001; Goldstein, 2010; Verma et al., 2013). Kleine zoogdieren, waaronder voornamelijk ratten en andere knaagdieren, vormen belangrijke reservoirgastheren voor diverse *Leptospira* spp. (Levett, 2001; van Esbroeck en Lernout, 2017).

Niet-reservoir gastheren, ook wel accidentele gastheren genoemd, worden voornamelijk geïnfecteerd door blootstelling aan geïnfecteerde urine, enerzijds via direct contact, anderzijds via gecontamineerde grond of water (Bharti et al., 2003; Goldstein, 2010; Pijnacker et al., 2016; Flores et al., 2017; Pinto et al., 2017). Meestal dringt de kiem binnen via (schaaf)wonden in de huid, de conjunctiva en de mucosa van mond of neus. De kiem kan ook binnendringen via de intacte huid nadat die langdurig in contact is geweest met water en dus verweekt is (Levett, 2001; Verma et al., 2013; Pijnacker et al., 2016; van Esbroeck en Lernout, 2017; Murphy, 2018; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Daarnaast zou inhalatie van geïnfecteerd water of van aerosolen van geïnfecteerde urine zelfs aanleiding kunnen geven tot infectie via het ademhalingsstelsel (Levett, 2001). Ten slotte kan de bacterie ook worden overgedragen van de moeder naar de foetus wat kan leiden tot abortus (Verma et al., 2013). Bij de accidentele gastheren van *Leptospira* spp. leidt een infectie meestal tot klinische symptomen die kiem- en diersoortafhankelijk zijn. Accidentele gastheren zullen zelden een chronische drager worden (Levett, 2001; Goldstein, 2010; Verma et al., 2013; Gilger, 2018). Dieren kunnen reservoirgastheer zijn van het ene serovar en accidentele gastheer van een ander serovar (Levett, 2001; World Organisation for Animal Health, 2014).

3 Leptospirose bij de mens

3.1 Prevalentie/incidentie

Leptospirose is een wereldwijd verspreide ziekte bij de mens en komt voor in zowel Westerse landen als in ontwikkelingslanden (Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018; Chou en Yang, 2019; Ramírez, 2019). Het exacte aantal gevallen is moeilijk vast te stellen, maar per jaar zouden ongeveer een miljoen mensen ziek worden als gevolg van een *Leptospira* infectie en hiervan sterven jaarlijks ongeveer 60.000 mensen (Costa et al., 2015; Picardeau, 2017; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018; Chou en Yang, 2019; Ramírez, 2019; Sun et al., 2019). In onze streken komt leptospirose relatief weinig voor bij de mens (Pijnacker et al., 2016; van Esbroeck en Lernout, 2017). In België worden er jaarlijks 5 tot 16 gevallen van leptospirose gediagnosticeerd waarvan ongeveer de helft wordt opgelopen in het buitenland (van Esbroeck en Lernout, 2017; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). In Nederland ziet men ongeveer 30 gevallen van leptospirose bij de mens per jaar (Houwers et al., 2009; Pijnacker et al., 2016).

3.2 Transmissie

Leptospirose is een zoönose, en mensen worden besmet door indirect of direct contact met een dierlijke bron (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Haake en Levett, 2015; Picardeau, 2017; Divers et al., 2018; Murphy, 2018; Ramírez, 2019). Pathogene leptospiren overleven in de proximale tubuli van de nieren van verschillende wilde dieren en huisdieren (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Haake en Levett, 2015; Picardeau, 2017; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018; Chou en Yang, 2019). Vanuit de nieren worden de leptospiren gedurende lang tijd uitgescheiden in de urine waarna ze persisteren in de omgeving, vooral nabij waterbronnen (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Door overdracht via (schaaf)wonden, slijmvliezen, de verweekte huid of door het inademen van aerosolen in de lucht (bijvoorbeeld bij het sproeien van stallen of tijdens het slachtproces) kan de mens besmet geraken met de kiem (Langston en Heuter, 2003; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Gilger en Deeg, 2010; Broux et al., 2011; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Mensen die beroepen uitoefenen met betrekking tot landbouw en dierlijke productie lopen dan ook een verhoogd risico op infectie met *Leptospira* species (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Guerra, 2013; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018; Divers et al., 2018; Murphy, 2018). De mens is een accidentele gastheer en zal zelf weinig kiemen uitscheiden, waardoor mens-op-mens overdracht eerder zeldzaam is. Transplacentaire overdracht en overdracht via seksueel contact of moedermelk zijn mogelijke vormen van mens-op-mens overdracht (Levett, 2001; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Haake en Levett, 2015; Flores et al., 2017; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018).

3.3 *Leptospira* species en serovars

Elk zoogdier kan besmet zijn met *Leptospira* species en daarom een infectiebron zijn voor de mens (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Echter voornamelijk knaagdieren zijn voor de mens van belang omdat zij vaak drager zijn van serovars die bij de mens ernstige ziektes veroorzaken (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Hamond et al., 2014). Ratten, vooral de bruine rat, dragen vaak *Leptospira* serovars Icterohemorrhagiae en Copenhageni bij zich (Houwers et al., 2009; Baer et al., 2010; Picardeau, 2013; Hamond et al., 2014; Pijnacker et al., 2016; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Deze serovars kunnen bij de mens een ernstige vorm van leptospirose veroorzaken die de ziekte van Weil wordt genoemd (Houwers et al., 2009; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Veldmuizen en muskusratten zijn vaak drager van *Leptospira* serovar Grippotyphosa, wat bij de mens geassocieerd kan worden met modderkoorts (Pijnacker et al., 2016; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Bovendien kunnen runderen die drager zijn van *Leptospira* serovar Hardjo de mens besmetten en melkerskoorts, een minder ernstige vorm

van leptospirose, veroorzaken (Houwens et al., 2009; Goris et al., 2013; Hamond et al., 2014; Pijnacker et al., 2016; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Daarnaast komen er nog andere serovars voor die mogelijk nog andere vormen van leptospirose kunnen veroorzaken (Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018).

3.4 Pathogenese

De pathogenese van leptospirose bij de mens verloopt zoals een klassieke *Leptospira* infectie en start met het binnendringen van de leptospiren doorheen weefselbarrières. Zoals eerder vermeld kan de kiem opgelopen worden via wonden, slijmvliezen, de verweekte huid of door het inademen van aerosolen (Langston en Heuter, 2003; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Gilger en Deeg, 2010; Broux et al., 2011; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Nadat de leptospiren het lichaam binnengetroten zijn, verspreiden ze zich in de bloedbaan en blijven daar tijdens de leptospiremische fase van de ziekte (Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). In de meeste gevallen verspreiden de pathogenen zich nadien vanuit de bloedbaan naar de longen, lever, nieren en het hersenvocht waar ze onder andere longbloedingen, nierfalen en meningo-encefalitis veroorzaken (Lau et al., 2010; Sun et al., 2019). Deze letsels ontstaan vooral door beschadiging van het endotheel van de bloedvaten. Een van de belangrijkste doelwitorganen van *Leptospira* kiemen bij de mens is de nier (Andrade et al., 2008; Chou en Yang, 2019). Na ongeveer een week verdwijnen de kiemen uit de bloedbaan en de meeste weefsels als gevolg van de afweerreacties van de gastheer. Aangezien de antistoffen minder actief zijn ter hoogte van de niertubuli, kunnen leptospiren echter langer aanwezig blijven ter hoogte van de nieren (Hamond et al., 2014; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Onlangs werd leptospirose beschouwd als een systemisch inflammatoir responsyndroom (SIRS) door de grote hoeveelheid van cytokines die vrij komt (Sun et al., 2019).

Het verschil tussen de pathogenese bij reservoirgastheren en niet-reservoirgastheren (zoals de mens) zou het gevolg kunnen zijn van een verschil in Toll-like receptoren (TLR's). TLR's komen voor in verschillende organen, waaronder de nieren (Andrade et al., 2008; Haake en Levett, 2015). Humaan TLR-4 kan het LPS van *Leptospira* species niet herkennen. (Dobrina et al., 1995; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Haake en Levett, 2015; Sun et al., 2019). In tegenstelling tot het TLR-4 van de mens, kan dat van muizen het LPS van *Leptospira* species wel herkennen. Muizen zijn hierdoor aangepast aan *Leptospira* infecties en dienen als natuurlijk reservoir, terwijl de mens een toevallige gastheer is en mogelijk fatale gevolgen ervaart (Andrade et al., 2008; Haake en Levett, 2015; Wu en Wu, 2019).

3.5 Symptomen

De ernst van de aandoening veroorzaakt door *Leptospira* species bij de mens is sterk variabel en hangt af van het infecterend serovar en de leeftijd, gezondheid en immunologische status van de geïnfecteerde persoon (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Divers et al., 2018). De klinische symptomen lopen uiteen gaande van een milde aandoening die lijkt op griep tot een ernstige (levensbedreigende) infectie met nier- en leverfalen en longproblemen (Andrade et al., 2008; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018; Divers et al., 2018; Wu en Wu, 2019). De meerderheid van de infecties verloopt asymptomatisch tot mild waardoor infecties met *Leptospira* species vaak niet herkend worden (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018; van Esbroeck en Lernout, 2017). In de grote meerderheid van de gevallen ziet men enkel koorts (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; Baer et al., 2010; Lehmann et al., 2014; van Esbroeck en Lernout, 2017; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). De lokalisatie van de vasculaire schade die ontstaat, namelijk vooral in de longen, de lever, de nieren en de hersenen, zorgt voor daarmee gepaard gaande symptomen zoals bloedingen, geelzucht, oligurie en acuut optredende hoofdpijn (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Baer et al., 2010; Lehmann et al., 2014; van Esbroeck en Lernout, 2017; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018;

Sun et al., 2019). Leptospirose tijdens de zwangerschap, of het nu mild of ernstig is, kan aanleiding geven tot een intra-uteriene infectie en foetale sterfte (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010). Sterfte door leptospirose is eerder zeldzaam, maar als het voorkomt is dat vooral als gevolg van nierfalen, hartfalen, longproblemen en/of uitgebreide bloedingen (Baer et al., 2010; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Aan de hand van de symptomen wordt leptospirose tegenwoordig ingedeeld in ernstige en milde gevallen. De ziekte van Weil is één van de ernstigste vormen van leptospirose bij de mens en wordt daarom vaak gebruikt als synoniem voor ernstige gevallen van de ziekte (Pijnacker et al., 2016; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). In België ziet men vooral gevallen van de ziekte van Weil en modderkoorts (Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018).

3.5.1 De ziekte van Weil

De ziekte van Weil gaat gepaard met nierfunctiestoornissen, hoofdpijn, koorts, longoedeem, diffuse alveolaire bloedingen, buikpijn, braken en spierpijn (Andrade et al., 2008; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018; Wu en Wu, 2019). Het sterftepercentage van patiënten met de ziekte van Weil is ongeveer 10% (Andrade et al., 2008; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Pijnacker et al., 2016; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). In de literatuur worden de benamingen voor de ziekte van Weil en het syndroom van Weil vaak door elkaar gebruikt, maar dit is foutief. Het syndroom van Weil is een combinatie van icterus, bloedingen en nierfalen die wordt geassocieerd met andere serovars dan die van de ziekte van Weil (Pijnacker et al., 2016; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018).

3.5.2 Modderkoorts

Modderkoorts is een mildere aandoening dan de ziekte van Weil. De symptomen kunnen variëren tussen een subklinisch verloop en alle mogelijke combinaties van koorts, spierpijn, buikpijn, hoofdpijn, meningitis en lever- of nierfunctiestoornissen (Levett, 2001; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Het herstel is meestal volledig, maar mensen kunnen langdurig last blijven hebben van zwakheid, vermoeidheid en depressie. Modderkoorts kent zelden een dodelijke afloop (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018).

3.6 Diagnose

Verschillende algemene onderzoeken kunnen doen vermoeden dat de patiënt lijdt aan een *Leptospira* infectie, maar kunnen dat vermoeden niet bevestigen. Voorbeelden hiervan zijn een lichte toename van alkalische fosfatase en bilirubine en gedaalde creatinineconcentraties bij bloedonderzoek of proteïnurie, pyurie en hematurie bij urineonderzoek (Bharti et al., 2003). De definitieve diagnose van leptospirose bij de mens wordt meestal gebaseerd op een microscopische agglutinatietest (MAT), cultuur of polymerase kettingreactie (PCR) (Bharti et al., 2003; Wu en Wu, 2019).

3.6.1 Microscopische agglutinatietest

Voor de serologische diagnose van leptospirose bij de mens is MAT de standaard referentietest vanwege de hoge gevoeligheid en hoge specificiteit (Bharti et al., 2003; World Organisation for Animal Health, 2014; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). De uitslag van de test wordt beoordeeld aan de hand van donkerveldmicroscopie waarmee wordt gekeken hoeveel agglutinaties er optreedt in *Leptospira* cultuur als daar serum van de patiënt aan wordt toegevoegd (Bharti et al., 2003; Picardeau, 2013). Om de diagnose van leptospirose met zekerheid te kunnen stellen zijn gepaarde sera nodig van de patiënt. De MAT wordt positief beschouwd bij een verviervoudiging van de antilichaamtiter tussen de gepaarde sera, dus een titer hoger dan 1/400 in endemische gebieden. In niet-endemische gebieden zou een titer van 1/100 al kunnen wijzen op een beginnende *Leptospira* infectie (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; Bernardi et al., 2012; Picardeau, 2013; World Organisation for Animal Health, 2014; Wu en Wu, 2019). De resultaten van serologisch onderzoek, zeker in het geval van lage titers, zouden

altijd in combinatie met de klinische symptomen geïnterpreteerd moeten worden (World Organisation for Animal Health, 2014; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Het nadeel van deze test is echter dat er van alle serovars levende culturen moeten worden onderhouden in het testlaboratorium om te kunnen gebruiken als antigenen (Picardeau, 2013; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018).

3.6.2 Cultuur

De definitieve diagnose van leptospirose bij de mens kan ook gesteld worden door de kiemen te kweken. *Leptospira* species zijn de eerste week van de ziekte te kweken uit bloed en cerebrospinaal vocht en nadien tot een maand vanuit de urine (Bharti et al., 2003; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Zoals eerder vermeld is het kweken van *Leptospira* kiemen echter moeilijk, waarbij ze speciale media nodig hebben en zelfs onder de optimale omstandigheden langzaam groeien (Bharti et al., 2003; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018; Wu en Wu, 2019). De culturen moeten daarom minimaal 6 weken en bij voorkeur 4 maanden worden bewaard voordat ze als negatief worden beoordeeld (Bharti et al., 2003).

3.6.3 Polymerase kettingreactie

PCR is een gevoelige methode waarmee al in een vroeg stadium de diagnose van leptospirose kan gesteld worden (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; Picardeau, 2013). DNA van *Leptospira* species kan worden geamplificeerd uit serum, urine, oogvocht, cerebrospinaal vocht en verschillende organen post mortem (Haake en Levett, 2015). De real-time PCR (Taqman-technologie), die veel gebruikt wordt voor de diagnose van leptospirose, is sneller dan gewone PCR (Bharti et al., 2003; Picardeau, 2013). Een nadeel van PCR is echter dat het niet in staat is om het infecterende serovar te identificeren. Hoewel dit specifieke serovar voor de individuele patiënt niet zo van belang is, kent het wel een belangrijke waarde voor de epidemiologie en de volksgezondheid (Levett, 2001; Haake en Levett, 2015).

3.7 Behandeling

De meerderheid van de mensen met een *Leptospira* infectie vertoont een mild ziektebeeld met klachten die vanzelf verdwijnen. Toch kan een vroege behandeling verhinderen dat een ernstiger ziektebeeld ontwikkeld wordt (Andrade et al., 2008; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Aangezien de meeste diagnostische technieken pas uitsluitsel geven na enkele dagen/weken, kiest men er vaak voor om empirisch te behandelen van zodra leptospirose wordt vermoed op basis van klinische symptomen en mogelijke blootstelling aan de kiem (Haake en Levett, 2015; Zhang et al., 2020).

Bij ernstige gevallen van humane leptospirose wordt intraveneus behandeld met penicilline (Andrade et al., 2008; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Dit zorgt ervoor dat de duur van de koorts verkort, dat de uitscheiding van de kiem vermindert en dat de kans op complicaties afneemt (Langston en Heuter, 2003; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Alternatieven voor penicilline zijn ceftriaxon, cefotaxim en ampicilline (Andrade et al., 2008; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). De behandeling moet gedurende 7 dagen worden voortgezet (Andrade et al., 2008). Naast antibiotica moeten mensen met een ernstige vorm van leptospirose ook ondersteunende therapie krijgen zoals een infuus om dehydratatie tegen te gaan en supplementatie van kalium (Langston en Heuter, 2003; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). In geval van nierfalen kan het onmiddellijk van start gaan met dialyse levensreddend zijn (Levett, 2001; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018).

Aan mensen met een lichte vorm van leptospirose waarbij geen vitale organen zijn aangetast kan amoxicilline, doxycycline of azithromycine gegeven worden (Levett, 2001; Andrade et al., 2008; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018).

3.8 Preventie en vaccinatie

De preventie van leptospirose is vooral gebaseerd op de epidemiologie en het transmissiemechanisme (Haake en Levett, 2015). Zolang er voldoende hygiënemaatregelen worden gehanteerd en het contact met urine en bloed zoveel mogelijk wordt vermeden, is het risico op directe transmissie van leptospiren verwaarloosbaar. Dit kan gerealiseerd worden door bijvoorbeeld beschermende kledij en handschoenen te dragen en door (schaaf)wonden te bedekken (Andrade et al., 2008; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Het bestrijden van knaagdieren, vooral in endemische gebieden en zeker waar mensen in contact komen met oppervlaktewater, is ook een belangrijke maatregel (Langston en Heuter, 2003; Haake en Levett, 2015; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018).

Wanneer er een mogelijke blootstelling aan de kiem geweest is, dient men vier weken lang alert te zijn op symptomen van een *Leptospira* infectie. Bij de eerste griepachtige symptomen kan dan meteen worden gestart met een doxycyclinebehandeling (Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Doxycycline wordt soms ook gebruikt voor een korte periode als de kans op besmetting groot is. Dit geldt bijvoorbeeld voor een vakantie, voor bepaalde beroepsgroepen (zoals militairen of laboratoriummedewerkers) of na een overstroming (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; Langston en Heuter, 2003; Levett, 2004; Andrade et al., 2008; Lau et al., 2010; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018).

Vaccinatie tegen leptospirose wordt in principe alleen toegepast bij personen met een hoog risico en na overstromingen of epidemieën. Het actieve component van dit vaccin is het LPS dat serovar-specifiek is en dus beschermt tegen homologe serovars, maar niet tegen heterologe serovars (Haake en Levett, 2015). In België is er geen vaccin beschikbaar vanwege het lage aantal humane leptospirose gevallen in ons land (Levett, 2001; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018).

4 Leptospirose bij het paard

Hoewel serologische studies aantonen dat veel paarden wereldwijd antistoffen bezitten tegen verschillende *Leptospira* species, blijven de meeste gevallen van leptospirose bij paarden eerder asymptomatisch en blijven ze dus onopgemerkt (Broux et al., 2011; Verma et al., 2013). Een belangrijke aandoening die bij paarden veroorzaakt kan worden door een infectie met *Leptospira* species is equine recurrente uveïtis (ERU). De link tussen ERU en leptospirose bij paarden werd voor het eerst gelegd in de jaren vijftig van de 20^e eeuw (Rimpau, 1947; Heusser, 1948; Spiess, 2010). ERU is de belangrijkste oorzaak van blindheid bij het paard en heeft daarom een grote economische impact binnen de paardenhouderij (Spiess, 2010; Polle et al., 2014; Sauvage et al., 2018).

4.1 *Leptospira* species en serovars

De seroprevalentie van leptospirose bij paarden in het algemeen en de prevalentie van de verschillende serovars zijn sterk afhankelijk van de geografische regio (Coiro et al., 2012; Verma et al., 2013; Hamond et al., 2014). In Italië vond men bijvoorbeeld slechts een seroprevalentie van 1,5% en kwamen vooral de serovars Icterohemorrhagiae, Bratislava en Pomona voor terwijl een Braziliaans onderzoek een seroprevalentie vond van 71% voor voornamelijk het serovar Copenhageni (Verma et al., 2013; Hamond et al., 2014). De seroprevalentie bij paarden in Nederland zou 79% zijn en daar komen vooral de serovars Copenhageni en Bratislava voor (Verma et al., 2013). Bovendien blijkt uit bepaalde studies dat serovar Bratislava mogelijks door paarden onderhouden wordt, en dat paarden dus fungeren als reservoirgastheer voor dit serovar (Park et al., 1992; Barwick et al., 1998; Båverud et al., 2009). ERU bij paarden wordt vooral geassocieerd met de serovars Pomona en Grippotyphosa (Hartskeerl et al., 2004; Verma en Stevenson, 2012; Divers et al., 2018). Reproductieve problemen bij paarden worden vooral gelinkt aan de serovars Pomona, Icterohemorrhagiae en Bratislava (Donahue et al., 1995; Pinna et al., 2010; Hamond et al., 2014; Divers et al., 2018). Het serovar Pomona zou vooral voorkomen bij wilde reservoirgastheren zoals wilde zwijnen (Timoney et al., 2011; Ebani et al., 2012; Arent et al., 2017). Het serovar Grippotyphosa zou vooral voorkomen bij veldmuizen en muskusratten, maar ook de mens zou een mogelijke infectiebron kunnen zijn voor een infectie met dit serovar bij het paard (Barwick et al., 1998; André-Fontaine, 2006; Pijnacker et al., 2016; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Het serovar Icterohemorrhagiae komt vooral voor bij de bruine rat (Houwens et al., 2009; Baer et al., 2010; Picardeau, 2013; Hamond et al., 2014; Pijnacker et al., 2016; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Zoals eerder genoemd komt serovar Bratislava vooral voor bij paarden en zouden paarden ook fungeren als reservoirgastheer voor dit serovar (Park et al., 1992; Barwick et al., 1998; Båverud et al., 2009; Pinna et al., 2010; Ebani et al., 2012).

4.2 Pathogenese

Omdat er weinig bekend is over de pathogenese van leptospirose bij het paard, gaat men vaak uit van een analogie met de pathogenese bij de mens en andere dieren (Hamond et al., 2014). Leptospiren dringen het lichaam binnen via (schaaf)wonden, de slijmvliezen of de natte, verweekte huid (Langston en Heuter, 2003; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Gilger en Deeg, 2010; Goldstein, 2010; Broux et al., 2011; Hamond et al., 2014; Haake en Levett, 2015; Divers et al., 2018). Dit doen ze actief met behulp van twee mechanismen: secretie van lytische enzymen en de specifieke schroefvormige beweging van de bacterie (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Lambert et al., 2012; Hamond et al., 2014; Divers et al., 2018). Nadat de leptospiren in het lichaam zijn gedrongen circuleren ze gedurende ongeveer 7 dagen in de bloedbaan. Vervolgens kunnen er letsels optreden door werking van voorlopig onbekende toxines of toxische cellulaire componenten van de bacteriën (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Hamond et al., 2014). Schade aan het endotheel van kleine bloedvaten, inhibitie van de coagulatie en inflammatie in organen zijn voorbeelden van deze letsels (Divers et al., 2018). Gedurende de tweede fase, de immuunfase, zullen er specifieke antilichamen circuleren die

de bacteriën snel uit de bloedbaan en de weefsels elimineren (Athanzio et al., 2008; Hamond et al., 2014; Divers et al., 2018). Deze antilichamen zullen de leptospiren opsoniseren waardoor ze snel worden opgeruimd door fagocyten en macrofagen (Sakoda et al., 2012; Hamond et al., 2014). Tijdens deze immuunfase zijn er meestal ook leptospiren aanwezig in de urine van het aangetaste dier (Athanzio et al., 2008; Hamond et al., 2014). Omdat antilichamen minder actief zijn in de niertubuli, het vrouwelijke voortplantingsstelsel en de voorste oogkamer, blijven de kiemen daar vaak langer aanwezig (Athanzio et al., 2008; Hamond et al., 2014; Divers et al., 2018).

4.2.1 Risicofactoren

Zoals eerder vermeld speelt het klimaat een belangrijke rol in het voorkomen van leptospirose. *Leptospira* species overleven langer in een warme en vochtige omgeving, waardoor kans op besmetting in deze gebieden dan ook hoger is dan in een omgeving met een koud en droog klimaat (Levett, 2001; Bharti et al., 2003; Verma et al., 2013; Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018). Dit geeft in onze regio aanleiding tot een seizoensgebonden verschil in seroprevalentie van leptospirose bij paarden, met de piek in de zomer en herfst (Jung et al., 2010).

Daarnaast zou ook de manier van voederen een invloed hebben op de verspreiding van *Leptospira* bij paarden. Bij paarden die op de grond gevoederd worden, is de kans groter dat knaagdieren het voer besmetten (Donahue et al., 1995). Ruwvoer, dat gegeven wordt aan paarden die in de winter op stal staan, zou ook vaak gecontamineerd zijn met urine van knaagdieren (Houwens et al., 2011). Ook wanneer paarden grazen op weides met stilstaand water is de kans op besmetting groter (Ebani et al., 2012).

Het al dan niet aanwezig zijn van bepaalde gastheren, die als reservoir van *Leptospira* kunnen fungeren, speelt uiteraard ook een belangrijke rol (Houwens et al., 2011).

Ook de leeftijd van het paard zou een rol spelen. Hoe ouder het dier, hoe meer kans dat het een *Leptospira* infectie heeft opgelopen. Een studie heeft aangetoond dat de *Leptospira* antistof titer over het algemeen hoger is bij gezonde oudere paarden dan bij jongere paarden (Båverud et al., 2009). In een andere studie vond men echter geen significant verband tussen de leeftijd van de paarden en het voorkomen van leptospirose. In die studie werden echter enkel paarden van 7 jaar en jonger onderzocht (Jung et al., 2010).

Naast de leeftijd zou ook het geslacht een invloed kunnen hebben op het voorkomen van leptospirose bij paarden (Hajikolaei et al., 2005; Båverud et al., 2009; Jung et al., 2010). Merries zouden vaker geïnfecteerd worden dan hengsten en ruinen (Hajikolaei et al., 2005). In een studie in Korea werd gevonden dat het geslacht op zichzelf niet zozeer een invloed speelt op de seroprevalentie van leptospirose bij paarden. Het is vooral het verschil in management tussen de verschillende geslachten dat ervoor zorgt dat er verschillen zijn in seroprevalentie (Jung et al., 2010). Er werd geen bewijs gevonden dat het risico op ERU geslachtsgebonden zou zijn (Gilger en Deeg, 2010; Polle et al., 2014).

Ook verschillen in seroprevalentie tussen verschillende rassen zouden door verschillen in management verklaard kunnen worden. Er zijn immers grote verschillen in management tussen rassen die eerder als recreatie paard worden gehouden en rassen die als sportpaard worden gehouden (Jung et al., 2010). Er zijn verschillende studies die geen verschillen in seroprevalentie tussen verschillende rassen kunnen vaststellen (Poonacha et al., 1993; Coiro et al., 2012). Appaloosa's en warmbloedpaarden blijken echter daadwerkelijk genetisch gepredisponeerd voor ERU (Dwyer en Gilger, 2005; Spiess, 2010; Polle et al., 2014; Divers et al., 2018).

4.2.2 Equine recurrente uveïtis (ERU)

ERU is een complex syndroom waarvan de exacte pathogenese nog niet gekend is. Het kan verschillende mogelijke oorzaken hebben, waaronder infectieuze agentia zoals *Leptospira* spp. en parasieten, maar ook neoplasie en trauma. In het geval van een *Leptospira* infectie wordt ERU voornamelijk veroorzaakt door de immunreactie van het dier en niet door de *Leptospira* kiemen zelf (Verma et al., 2005, 2013; Hamond et al., 2014; Divers et al., 2018). Het ontstaan en de ernst van ERU zou beïnvloed worden door de oorzaak van de initiële infectie, de omgeving en de genetische kenmerken van het aangetaste dier. Zoals eerder vermeld lijkt er een raspredispositie te zijn voor ERU bij Appaloosa's en warmbloedpaarden (Spiess, 2010; Divers et al., 2018; Sauvage et al., 2018). ERU wordt gekenmerkt door een terugkerende ontsteking ter hoogte van één of beide ogen, waarbij de intervallen variabel en vaak moeilijk te voorspellen zijn (Spiess, 2010; Sauvage et al., 2018). De uveïtis kan zich maanden tot zelfs jaren na de *Leptospira* infectie ontwikkelen (Polle et al., 2014). Gedurende de jaren tachtig van de 20^e eeuw werd voor het eerst de associatie tussen *Leptospira* spp. en ERU bevestigd. Er werd gedacht dat ERU ontstond door kruisreactiviteit, maar er konden toen geen specifieke eiwitten van het oog of van de *Leptospira* species geïdentificeerd worden die kruisreactiviteit konden veroorzaken (Parma et al., 1985, 1987, 1997; Verma et al., 2013). In 2005 werden vervolgens twee eiwitten van *Leptospira* geïdentificeerd die ook intra-oculair tot expressie kwamen bij paarden met uveïtis (Verma et al., 2005; Verma et al., 2013; Hamond et al., 2014). Het gaat om de eiwitten LruA en LruB van *Leptospira* spp. waartegen antilichamen worden aangemaakt door de gastheer die vervolgens kunnen kruisreageren met de LruA en LruB eiwitten die voorkomen in het oog. Door deze auto-immun reactie worden de oogeiwitten aangetast waardoor ERU kan ontstaan (Verma et al., 2013; Gilger, 2018). Sommige paarden die een *Leptospira* infectie hebben doorgemaakt ontwikkelen in een later stadium ERU, terwijl andere paarden die diezelfde infectie hebben doorgemaakt geen ERU ontwikkelen. Een mogelijke verklaring hiervoor is de betrokkenheid van genetische factoren in het ziekteproces. Specifieke merkers op het major histocompatibility complex (MHC) van onder andere Appaloosa's en warmbloedpaarden zouden ervoor zorgen dat die rassen gepredisponeerd zijn voor ERU (Dwyer en Gilger, 2005; Spiess, 2010; Divers et al., 2018).

4.3 Letsels en symptomen

De symptomen van leptospirose bij het paard zijn vrij gelijkaardig aan die bij andere dieren. Een milde infectie wordt gekenmerkt door lichte koorts, lusteloosheid en anorexie. In meer ernstige gevallen kunnen typische symptomen optreden zoals problemen met de conjunctiva, anemie, petechiën op de mucosae en algemene depressie (Broux et al., 2011; Verma et al., 2013). Bij de meerderheid van de dieren verloopt de infectie echter subklinisch (Broux et al., 2011). Een belangrijke aandoening die bij het paard voorkomt als een gevolg van een infectie met *Leptospira* spp. is maanblindheid of ERU (Broux et al., 2011; Verma et al., 2013; Divers et al., 2018; Gilger, 2018). Nierfalen en icterus kunnen voorkomen, maar worden voornamelijk gezien bij de veulens en zijn relatief zeldzaam bij volwassen paarden (Yan et al., 2010; Verma et al., 2013). Ademhalingsproblemen met longbloedingen en pneumonie zijn ook beschreven bij paarden met een *Leptospira* infectie (Båverud et al., 2009; Hamond et al., 2011; Broux et al., 2012; Hamond et al., 2014). Zoals bij alle zoogdieren kan infectie van een drachtig dier zorgen voor foetale sterfte en abortus, meestal zonder voorafgaande symptomen (Poonacha et al., 1993; Sheoran et al., 2000; Levett, 2001; Verma et al., 2013; Hamond et al., 2014; Pinto et al., 2017). Er zijn dus vier belangrijke klinische problemen bekend die bij paarden kunnen ontstaan door een *Leptospira* infectie: ERU, acuut nier- en leverfalen, ademhalingsstoornissen en problemen met het voortplantingsstelsel (Broux et al., 2011; Hamond et al., 2014).

4.3.1 ERU

ERU wordt gekenmerkt door perioden van inflammatie van de uvea van het oog, afgewisseld met perioden van geen tot weinig inflammatie. Deze vorm van uveïtis is niet uniek voor het paard, maar komt wel veel vaker voor bij paarden dan bij andere species (Verma et al., 2005, 2013; Verma en Stevenson, 2012; Hamond et al., 2014; Divers et al., 2018; Gilger, 2018). ERU komt wereldwijd voor bij ongeveer 10% van de paarden en is daarmee de meest voorkomende vorm van uveïtis bij paarden (Spiess, 2010; Verma et al., 2013). Het is bovendien een belangrijke oorzaak van blindheid bij het paard. (Spiess, 2010; Verma et al., 2013). De aandoening is erg pijnlijk en ontwikkelt zich weken tot maanden na een infectie met *Leptospira* spp. (Hartskeerl et al., 2004; Verma et al., 2013). De meeste paarden vertonen op het moment van die *Leptospira* infectie echter geen symptomen en lijken later plotseling ERU te ontwikkelen. Hierdoor is de incubatietijd voor *Leptospira*-geassocieerde ERU niet gekend (Divers et al., 2018). Na de eerste fase kan ERU verschillende keren terug opflakkeren (Dwyer en Gilger, 2005; Broux et al., 2011).



Fig. 2 Een paard met een klassieke acute ontstekingsreactie veroorzaakt door ERU (uit Dwyer en Gilger, 2005).

Bij ERU kunnen letsels optreden aan voornamelijk de voorste oogkamer, maar ook aan de achterste oogkamer (Spiess, 2010; Verma en Stevenson, 2012; Divers et al., 2018). Letsels aan de voorste oogkamer (uveïtis anterior) zijn gemakkelijk te herkennen door zowel de eigenaar als de dierenarts. Deze letsels gaan immers vaak gepaard met pijn, roodheid, traanproductie en fotofobie. Dit is niet geval voor letsels aan de achterste oogkamer (uveïtis posterior), waardoor deze paarden meestal pas in een laat stadium van de ziekte gepresenteerd worden met problemen (Spiess, 2010). Er bestaat ook een zeer agressieve vorm van ERU, vooral bij Appaloosa's, die subklinisch blijft tot de paarden plots blind zijn (Dwyer en Gilger, 2005; Fritz et al., 2014; Malalana et al., 2015; Divers et al., 2018).

De klinische symptomen van ERU omvatten pijn, traanproductie, oedeem van het ooglid, gezwollen conjunctivae, miosis, fotofobie en iritis (Hartskeerl et al., 2004; Broux et al., 2011; Verma et al., 2013; Divers et al., 2018). Daarnaast kunnen ook secundaire oogaandoeningen voorkomen zoals cataract, lensluxatie, loslating van het netvlies en glaucoom (Verma en Stevenson, 2012; Verma et al., 2013; Divers et al., 2018). Als niet tijdig wordt ingegrepen kan dit alles leiden tot blindheid door cataract en het loslaten van de retina (Hartskeerl et al., 2004; Verma en Stevenson, 2012; Divers et al., 2018).

4.3.2 Acut nier- en leverfalen

Door schade aan het endotheel en een lokale ontstekingsreactie door infiltratie van monocytten, macrofagen en neutrofielen kan een *Leptospira* infectie bij het paard leiden interstitiële nefritis en schade aan de renale tubuli (Levett, 2001; Andrade et al., 2008; Yan et al., 2010; Broux et al., 2012). Schade aan de lever ontstaat op een soortgelijke manier en daardoor ziet men intrahepatische cholestase en necrotische letsels in de lever (Levett, 2001; Broux et al., 2011). Het dier zal meestal pas klinische symptomen, zoals anorexie en lethargie, vertonen wanneer er sprake is van azotemie (Yan et al., 2010; Divers et al., 2018). De leverproblemen presenteren zich vooral aan de hand van icterus. Deze vorm van leptospirose met lever- en nierschade is bij volwassen paarden relatief zeldzaam, maar soms wordt het wel gezien bij veulens (Yan et al., 2010; Verma et al., 2013). De ontsteking in de nieren geeft vooral aanleiding tot hematurie en pyurie. Vaak gaat de ontsteking in de nieren gepaard met een ontsteking in de lever waardoor icterus ontstaat. Daarnaast kan er koorts ontstaan die

langdurig kan aanhouden zonder antibiotica therapie (Yan et al., 2010; Broux et al., 2011; Divers et al., 2018). Chronische nierfalen door leptospirose bij het paard werd nog niet gerapporteerd (Divers et al., 2018).

4.3.3 Ademhalingsstoornissen

Over ademhalingsstoornissen bij het paard ten gevolge van *Leptospira* infecties is nog maar weinig gekend. Pulmonaire hemorrhagie, één van de belangrijkste doodsoorzaken van een *Leptospira* infectie bij de mens, zou ook bij paarden voorkomen (Broux et al., 2012; Hamond et al., 2012a). Het is daarom belangrijk om bij klachten van dyspnee bij veulens en volwassen paarden een mogelijke *Leptospira* infectie in overweging te nemen (Broux et al., 2011; Hamond et al., 2011; Verma et al., 2013; Divers et al., 2018).

4.3.4 Abortus en reproductieproblemen

Abortus als gevolg van een *Leptospira* infectie bij de merrie wordt meestal gezien na zes maanden dracht zonder voorafgaande klinische symptomen. De abortus kan zowel het gevolg zijn van placentitis als van een directe infectie van het veulen (Givens en Marley, 2008; Whitwell et al., 2009; Hamond et al., 2014). Een veulen dat levend geboren wordt, maar wel ziek is door een *Leptospira* infectie, is eerder zeldzaam (Sheoran et al., 2000; Whitwell et al., 2009; Timoney et al., 2011; Foote et al., 2012; Hamond et al., 2014; Divers et al., 2018). Veel merries zullen echter gezonde veulens ter wereld brengen wanneer zij pas in een laat stadium van de dracht geïnfecteerd werden (Hamond et al., 2014; Divers et al., 2018). Hydroallantoïs werd ook al eens in verband gebracht met een *Leptospira* infectie bij het paard (Shanahan en Slovis, 2011; Hamond et al., 2014).

Bij pathologisch onderzoek van het geaborteerde veulen kun je zwelling zien van de lever. Daarnaast kan de lever een gele verkleuring hebben en kunnen er kleine nodules in te vinden zijn (Verma et al., 2013; Divers et al., 2018). Daarnaast kan men bij geaborteerde foetussen vaak meningitis en longbloedingen terugvinden (Divers et al., 2018). Er kunnen ook diffuse geelverkleuringen ter hoogte van de navelstreng gevonden worden (Sebastian et al., 2005; Hamond et al., 2014; Divers et al., 2018). Een oedemateuze en necrotische placenta met cystische massa's wijst op placentitis veroorzaakt door leptospirose (Foote et al., 2012; Verma et al., 2013; Hamond et al., 2014; Divers et al., 2018). Microscopisch kan de aanwezigheid van leptospiren worden waargenomen in zowel de lever als de nieren van de foetus en ook in de villi van de placenta (Poonacha et al., 1993; Verma et al., 2013; Divers et al., 2018).

4.4 Diagnose

De diagnose van leptospirose bij paarden is moeilijk te stellen. Ten eerste zijn de symptomen en letsels vaak niet pathognomonisch, bovendien zijn leptospiren moeilijk te kweken en ten slotte is ook het direct in beeld brengen van de leptospiren met een gewone microscoop is moeilijk omdat ze zwak kleuren met een traditionele hematoxyline eosine (HE)-kleuring (Broux et al., 2011). De diagnose van leptospirose is tegenwoordig vooral gebaseerd op het aantonen van de kiemen zelf, het aantonen een immuunrespons tegen de *Leptospira* antigenen of analyse van het genetisch materiaal (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Broux et al., 2011; Hamond et al., 2014). Om een betrouwbare diagnose te stellen moet men de uitslag van de serologische test altijd combineren met de klinische presentatie van het dier (Broux et al., 2011). Bij de diagnostische methoden kan een onderscheid gemaakt worden tussen enerzijds technieken die de leptospiren zelf opsporen, en anderzijds technieken die antistoffen tegenover *Leptospira* spp. detecteren (Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Broux et al., 2011; Hamond et al., 2014).

4.4.1 Aantonen van de *Leptospira* spp.

Cultuur

Vanuit onder andere bloed, urine en cerebrospinaal vocht kunnen *Leptospira* spp. gecultiveerd worden. Dit kan eventueel ook vanuit stalen van de foetale nier in het geval van *Leptospira* geïnduceerde abortus. Dit wordt gezien als de optimale methode voor de diagnose van leptospirose, maar door de trage groei van de kiemen kan de infectie echter pas weken tot maanden later bevestigd worden. Cultivatie van *Leptospira* spp. wordt daarom niet gebruikt als routine diagnosemethode (Levett, 2001; Adler en de la Peña Moctezuma, 2010; Broux et al., 2011; Hamond et al., 2014; Polle et al., 2014).

Donkerveldmicroscopie

Via donkerveldmicroscopie kan een waarschijnlijkheidsdiagnose worden gesteld uit stalen zoals bloed, urine en weefsel. Indien leptospiren aanwezig zijn worden die zichtbaar als lichtjes tegen een zwarte achtergrond (Broux et al., 2011; Hamond et al., 2014).

Whartin-Starry kleuring

Met deze techniek worden leptospiren zilver aangekleurd op coupes van onder andere nier, lever en placenta (Poonacha et al., 1993). Deze techniek is echter niet zo gevoelig, waardoor er een kans is op vals negatieve resultaten (Szeredi en Haake, 2006).

Immunohistochemie

Immunohistochemische detectie van leptospiren zou gevoeliger zijn dan de Whartin-Starry kleuring en zou voornamelijk toegepast kunnen worden op leverweefsel, hart, long en nieren (Szeredi en Haake, 2006).

Fluorescerende antilichaamtest

De fluorescente antilichaam test (FAT) is een snelle manier om de aanwezigheid van leptospiren aan te tonen. De FAT test kan onder andere gebruikt worden op stalen van de placenta, de navelstreng, de foetale lever of de foetale nieren (Divers et al., 2018).

Polymerase ketting reactie

PCR wordt steeds vaker gebruikt voor de diagnose van leptospirose bij allerlei dieren. Het is een zeer gevoelige en specifieke techniek die al leptospiren heeft aangetoond in water, urine, bloed, hersenvocht, sperma, vaginale uitvloeit en verschillende weefsels (Lilenbaum et al., 2008; Hernández-Rodríguez et al., 2011; Pinna et al., 2011; D'Andrea et al., 2012; Hamond et al., 2012b, 2014; Koizumi et al., 2012). Ook bij een abortus wordt PCR gebruikt op stalen van de geaborteerde foetus, zoals de nier of lever en lichaamsvocht (Vemulapalli et al., 2005; Léon et al., 2006; Whitwell et al., 2009; Hamond et al., 2012b, 2014). PCR is niet in staat om het infecterende serovar te identificeren, maar voor de individuele patiënt is dat ook niet zo van belang (Ko et al., 2009; Hamond et al., 2014).

4.4.2 Aantonen van antistoffen tegen *Leptospira* spp.

Microscopische agglutinatie test

Zoals bij de mens is de MAT de referentietest voor laboratoriumdiagnose van leptospirose (Hamond et al., 2014). Een nadeel van MAT is echter dat het geen onderscheid kan maken tussen antilichamen die het gevolg zijn van vaccinatie of van infectie. Dit kan bijvoorbeeld een probleem zijn bij de screening van dieren voor import of export (Hernández-Rodríguez et al., 2011; Hamond et al., 2014).

4.4.3 De diagnose van ERU

Om de diagnose van ERU te stellen moet er eerst en vooral een vermoeden zijn van ERU dat gebaseerd is op de aanwezigheid van uveïtis met een geschiedenis van recidieven (Spiess, 2010; Verma et al., 2013). De diagnose van ERU bevestigen is vrij moeilijk vanwege de chronische aard van de aandoening en ook door de lokalisatie (Polle et al., 2014; Divers et al.,

2018). Tijdens de acute fase van een *Leptospira* infectie, waarin abortus en acuut nierfalen kunnen optreden, zijn de serum antilichaamtiter vaak hoog, maar tijdens de chronische fase waarin ERU optreedt niet meer (Divers et al., 2018). Er bestaat geen specifieke test voor de diagnose van ERU (Verma et al., 2013). De aanwezigheid van *Leptospira* species zou bevestigd kunnen worden met MAT op het bloed, zoals bij de mens. Vanwege de variabele tijdsduur tussen de *Leptospira* infectie en de ontwikkeling van oogproblemen kan een negatieve MAT de aanwezigheid van ERU echter niet uitsluiten (Verma et al., 2013; Sauvage et al., 2018). In plaats van enkel MAT op het bloed kan er worden gekozen voor MAT op zowel serum als oogvocht. Uit de verhouding van deze waarden kan de lokale productie van antilichamen afgeleid worden die wordt uitgedrukt in de Goldmann-Witmer-coëfficiënt of C-waarde. Een C-waarde groter dan vier geeft aan dat er meer dan vier keer zo veel antilichamen in het oogvocht aanwezig zijn als in het serum, wat sterk duidt op ERU (Divers et al., 2018; Sauvage et al., 2018). Ook PCR kan toegepast worden op stalen van het oogvocht om een *Leptospira* infectie vast te stellen (Polle et al., 2014; Sauvage et al., 2018).

4.5 Behandeling

Paarden met koorts en acuut nierfalen als gevolg van een *Leptospira* infectie kunnen behandeld worden met penicilline, enrofloxacin, oxytetracycline, streptomycine, doxycycline, erythromycine en cefquinome (Divers et al., 2008, 2018; Lim, 2011; Sykes et al., 2011). Bij acuut nierfalen is vooral ondersteunende vochttherapie van belang. Eventueel kunnen ook diuretica zoals furosemide worden gegeven om polyurie te induceren (Divers et al., 2018).

In geval van ERU gaat men zich in eerste instantie vooral richten op het verminderen van de ontsteking (Divers et al., 2008; Verma et al., 2013). Hiervoor worden vaak mydriatica en anti-inflammatoire geneesmiddelen zoals corticosteroïden en niet-steroidale anti-inflammatoire geneesmiddelen (NSAID's) gebruikt (Rohrbach et al., 2005; Spiess, 2010; Divers et al., 2018). Antibiotica die systemisch worden gegeven kunnen niet doorheen de bloed-retinabarrière en zijn daarom niet effectief in de behandeling van ERU (Divers et al., 2018). Injecties met antibiotica rechtstreeks in het oog (corpus vitreum), bijvoorbeeld met gentamycine of vancomycine en ceftazidime, kunnen wel succesvol zijn en langdurige therapie of chirurgie voorkomen. Deze intravitreale injecties zijn echter wel risicovol, zeker omdat ze frequent moeten worden herhaald (Dwyer en Gilger, 2005; Divers et al., 2018). De langetermijnprognose van ERU met enkel medicinale therapie is niet goed. Zelfs zeer agressieve therapie is vaak niet genoeg om te voorkomen dat de zeer pijnlijke aanvallen van uveïtis terugkeren (Spiess, 2010).

Chirurgische behandeling van ERU is mogelijk via de zogenaamde pars plana vitrectomie (PPV). Bij deze ingreep wordt een deel van het corpus vitreum verwijderd uit het oog (Spiess, 2010; Gilger en Deeg, 2011; Malalana et al., 2015; Divers et al., 2018). De grote meerderheid van de patiënten heeft na PPV geen behandeling met anti-inflammatoire geneesmiddelen meer nodig. In Europa wordt deze ingreep steeds meer gebruikt voor de behandeling van ERU bij paarden (Spiess, 2010; Verma en Stevenson, 2012; Malalana et al., 2015). Er kunnen postoperatieve complicaties, zoals cataract optreden die blindheid veroorzaken. Patiëntselectie is bij PPV daarom van groot belang om de kans op complicaties zo laag mogelijk te houden (Spiess, 2010; Malalana et al., 2015).

4.6 Preventie

Zoals eerder besproken zijn er verschillende risicofactoren die ertoe kunnen leiden dat paarden geïnfecteerd kunnen raken met *Leptospira* spp.. Deze risicofactoren, bijvoorbeeld toegang tot stilstaand water, aanwezigheid van knaagdieren en aanwezigheid van dieren van andere kuddes zonder voorafgaande quarantaineperiode, moeten dan ook zo veel mogelijk worden vermeden (Houwers et al., 2011; Ebani et al., 2012; Hamond et al., 2014; Divers et al., 2018). Voor de preventie en controle van leptospirose is het ook heel belangrijk te

achterhalen welk serovar verantwoordelijk is voor de infectie. Op die manier kun je immers de weg achterhalen die de kiem heeft afgelegd en voorkomen dat dat in de toekomst nog gebeurt (Hamond et al., 2014).

Aan paarden die veel risico lopen op een *Leptospira* infectie wordt soms profylactisch oxytetracycline gegeven omdat dit abortus zou voorkomen. Dit is echter nooit wetenschappelijk bewezen en zou aanleiding kunnen geven tot antibioticaresistentie (Divers et al., 2018). Bij het vermoeden van infectie wordt er ook soms doxycycline gebruikt omdat dit de kans op het ontstaan van ERU zou verminderen (Spiess, 2010).

In sommige delen van de wereld wordt vaccinatie tegen leptospirose aangeraden bij merries die risico lopen op een abortus door een *Leptospira* infectie. Vaccinatie bij paarden op jonge leeftijd, namelijk voordat ze worden blootgesteld aan de kiem, zou bacteriëmie kunnen voorkomen en zou voorkomen dat de kiem in de ogen, nieren of het voortplantingsstelsel terecht zou komen (Divers et al., 2018). De immuniteit, zowel natuurlijk als na vaccinatie, is echter meestal specifiek voor nauw verwante serovars en beschermt niet tegen andere serovars (Lin et al., 2011; Grassmann et al., 2012). In België is er geen vaccin op de markt tegen leptospirose bij paarden (Dierengezondheidszorg Vlaanderen, 2020).

Discussie

Er is steeds meer gekend over de rol van *Leptospira* spp. bij verschillende aandoeningen bij het paard. Toch blijven er veel zaken onduidelijk. Het lijkt er trouwens op dat leptospirose in de toekomst nog meer zal voorkomen, zowel bij de mens als bij het paard, bijvoorbeeld door de opwarming van de aarde. Het is daarom belangrijk dat er hieromtrent steeds verder onderzoek wordt uitgevoerd.

Eenzijds is de rol van paarden in de transmissie van verschillende *Leptospira* spp. nog niet volledig opgehelderd. Welke serovars kunnen door paarden rechtstreeks opgelopen worden door contact met geïnfecteerde paarden en wanneer vormen geïnfecteerde paarden een besmettingsbron voor de mens? Indien men hier meer inzicht in zou krijgen, kan dit helpen om gerichte preventieve maatregelen te nemen. Zoals eerder besproken is het nog niet duidelijk of de leeftijd van het paard een rol speelt in het meer of minder voorkomen van leptospirose. De ene studie toont aan dat de prevalentie over het algemeen hoger is bij oudere paarden, maar de andere studie spreekt dat tegen.

Anderzijds zijn er nog verschillende onduidelijkheden omtrent de pathogenese en ziektesymptomen die kunnen optreden bij leptospirose bij paarden. Genetische en andere factoren die een rol kunnen spelen bij de ontwikkeling van ERU, waardoor bepaalde paarden die een *Leptospira* infectie hebben doorgemaakt in een later stadium ERU ontwikkelen en andere paarden niet, vereisen verder onderzoek. Omdat ademhalingsproblemen bij de mens een grote rol spelen in de pathogenese en symptomatologie van leptospirose en men vaak uit gaat van een analogie tussen de pathogenese van leptospirose bij de mens en bij het paard, zou je verwachten dat ademhalingsproblemen bij het paard ook voorkomen bij een *Leptospira* infectie. Vooralsnog is hier weinig over gekend, maar er zijn wel enkele studies die dit bevestigen. Ook dit is een onderwerp waar nog zeer veel onderzoek naar moet worden gedaan.

Bovendien zou meer onderzoek naar de diagnostiek van leptospirose van belang kunnen zijn omdat veel infecties bij het paard asymptomatisch verlopen en daardoor onopgemerkt blijven. Deze paarden kunnen echter wel een besmettingsbron vormen voor hun omgeving. Als er een zeer betrouwbare diagnostische test ter beschikking zou komen, zou er in de toekomst misschien preventief kunnen worden getest op leptospirose bij paarden waardoor eerder ingegrepen kan worden. Hierdoor zouden *Leptospira*-geïnduceerde aandoeningen, zoals ERU en abortus, voorkomen kunnen worden.

Preventieve maatregelen blijken uitermate belangrijk om *Leptospira* infecties te voorkomen. Zoals gezegd is informatie omtrent epidemiologie hierbij echter cruciaal. Goed management kan helpen om infecties te voorkomen. Het vermijden van contact met urine van knaagdieren blijkt hierbij een belangrijke rol te spelen. Dit is echter niet evident aangezien paarden zowel op de weide (gecontamineerd water) als op stal (gecontamineerd ruwvoer) het risico lopen om besmet te worden. Door middel van knaagdierpreventie en het veilig bewaren van voeder kan echter al veel bereikt worden. Omdat leptospirose een grote invloed kan hebben op de voortplanting, zouden stoeterijen goed op de hoogte moeten zijn van het gevaar van leptospirose.

Verder onderzoek naar een goed vaccin, dat voornamelijk bescherming biedt tegen regiospecifieke serovars, zou helpen in de bestrijding van leptospirose bij paarden. Aangezien de immuniteit vaak serovar-specifiek is, denk ik echter niet dat er in de toekomst één vaccin beschikbaar zou kunnen zijn dat paarden beschermt tegen alle mogelijke *Leptospira* species. Omdat de prevalentie van de verschillende serovars zo sterk geografisch gerelateerd is, zou meer onderzoek naar de prevalentie in bepaalde regio's zeer nuttig zijn. Ontwikkelaars van vaccins zouden zich daar dan op kunnen baseren en een vaccin kunnen maken dat beschermt tegen de serovars die voorkomen in die specifieke regio.

Conclusie

De pathogenese van leptospirose bij het paard is complex. Hoewel men vaak uitgaat van een analogie met de pathogenese bij de mens en andere dieren, mag er niet zomaar worden aangenomen dat de pathogenese hetzelfde is bij alle diersoorten. De laatste jaren is er steeds meer geweten over de pathogenese bij het paard, maar zijn er ook nog steeds veel onduidelijkheden. Verder wetenschappelijk onderzoek hieromtrent is dan ook noodzakelijk.

Literatuurlijst

- Adler, B., de la Peña Moctezuma, A., 2010. *Leptospira* and leptospirosis. *Vet. Microbiol.* 140, 287–296.
- Agentschap Zorg & Gezondheid, 2018. Richtlijn Infectieziektebestrijding Vlaanderen - Leptospirosen.
- Andrade, L., de Francesco Daher, E., Seguro, A.C., 2008. Leptospiral Nephropathy. *Semin. Nephrol.* 28, 383–394.
- André-Fontaine, G., 2006. Canine leptospirosis - Do we have a problem? *Vet. Microbiol.* 117, 19–24.
- Arent, Z., Gilmore, C., Barlow, A.M., Smith, L., Ellis, W.A., 2017. *Leptospira interrogans* serogroup Pomona infections in the UK: is there a real threat for farm animals? *Vet. Rec.*
- Athanazio, D.A., Silva, E.F., Santos, C.S., Rocha, G.M., Vannier-Santos, M.A., McBride, A.J.A., Ko, A.I., Reis, M.G., 2008. *Rattus norvegicus* as a model for persistent renal colonization by pathogenic *Leptospira interrogans*. *Acta Trop.* 105, 176–180.
- Azócar-Aedo, L., Smits, H., Monti, G., 2014. Leptospirosis in dogs and cats: epidemiology, clinical disease, zoonotic implications and prevention. *Arch. Med. Vet.* 46, 337–348.
- Baer, R., Turnberg, W., Yu, D., Wohrle, R., 2010. Leptospirosis in a small animal veterinarian: Reminder to follow standardized infection control procedures. *Zoonoses Public Health* 57, 281–284.
- Barwick, R.S., Mohammed, H.O., McDonough, P.L., White, M.E., 1998. Epidemiologic features of equine *Leptospira interrogans* of human significance. *Prev. Vet. Med.* 36, 153–165.
- Båverud, V., Gunnarsson, A., Engvall, E.O., Franzén, P., Egenvall, A., 2009. *Leptospira* seroprevalence and associations between seropositivity, clinical disease and host factors in horses. *Acta Vet. Scand.* 51, 1–10.
- Bernardi, F.D.C., Ctenas, B., da Silva, L.F.F., Nicodemo, A.C., Saldiva, P.H.N., Dolhnikoff, M., Mauad, T., 2012. Immune receptors and adhesion molecules in human pulmonary leptospirosis. *Hum. Pathol.* 43, 1601–1610.
- Bharti, A.R., Nally, J.E., Ricaldi, J.N., Matthias, M.A., Diaz, M.M., Lovett, M.A., Levett, P.N., Gilman, R.H., Willig, M.R., Gotuzzo, E., et al., 2003. Leptospirosis: A zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect. Dis.* 3, 757–771.
- Bourhy, P., Collet, L., Brisse, S., Picardeau, M., 2014. *Leptospira mayottensis* sp. nov., a pathogenic species of the genus *Leptospira* isolated from humans. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 64, 4061–4067.
- Broux, B., Durie, I., Torfs, S., Wegge, B., Ducatelle, R., Deprez, P., 2011. Een ongewoon geval van leptospirose: acute dyspnee en icterus bij een twee maanden oud veulen. *Vlaams Diergeneeskd. Tijdschr.* 80, 55–60.
- Broux, B., Torfs, S., Wegge, B., Deprez, P., van Loon, G., 2012. Acute respiratory failure caused by *Leptospira* spp. in 5 foals. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 284–687.
- Brown, K., Prescott, J., 2008. Leptospirosis in the family dog: A public health perspective. *Can. Med. Assoc. J.* 178, 399–401.
- Bulach, D., Adler, B., 2018. Leptospiral Genomics and Pathogenesis. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 415, 189–214.
- Chou, L., Yang, C., 2019. Systems Biology Approach to Understanding Leptospirosis Kidney Disease, in: *Leptospirosis and the Kidney*. pp. 94–101.
- Coiro, C.J., Langoni, H., da Silva, R.C., 2012. Epidemiological Aspects in the *Leptospira* spp. and *Toxoplasma gondii* Infection in Horses from Botucatu, São Paulo, Brazil. *J. Equine Vet. Sci.* 32, 620–623.
- Costa, F., Hagan, J.E., Calcagno, J., Kane, M., Torgerson, P., Martinez-Silveira, M.S., Stein, C., Abela-

- Ridder, B., Ko, A.I., 2015. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. *PLoS Negl. Trop. Dis.*
- D'Andrea, A., Martinez, Y.Z., Alduina, R., Monteverde, V., Molina, C.F., Vitale, M., 2012. Comparison of two PCR methods for detection of *Leptospira interrogans* in formalin-fixed and paraffin-embedded tissues. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 107, 85–88.
- Dierengezondheidszorg Vlaanderen, 2020. Leptospirose [WWW Document]. <https://www.dgz.be/ziekte/leptospirose-nl>.
- Divers, T.J., Chang, Y.-F., Irby, N.L., Smith, J.L., Carter, C.N., 2018. Leptospirosis: An important infectious disease in North American horses. *Equine Vet. J.* 51, 287–292.
- Divers, T.J., Irby, N.L., Mohammed, H.O., Schwark, W.S., 2008. Ocular penetration of intravenously administered enrofloxacin in the horse. *Equine Vet. J.* 40, 167–170.
- Dobrina, A., Nardon, E., Vecile, E., Cinco, M., Patriarca, P., 1995. *Leptospira icterohemorrhagiae* and *Leptospira Peptidoglycans* Induce Endothelial Cell Adhesiveness for Polymorphonuclear Leukocytes. *Infect. Immun.* 63, 2995–2999.
- Donahue, J.M., Smith, B.J., Poonacha, K.B., Donahoe, J.K., Rigsby, C.L., 1995. Prevalence and serovars of *Leptospira* involved in equine abortions in central Kentucky during the 1991-1993 foaling seasons. *J. Vet. diagnostic Investig.* 7, 87–91.
- Dwyer, A., Gilger, B.C., 2005. *Equine Recurrent Uveitis*, First Edit. ed, Equine Ophthalmology. Elsevier Inc.
- Ebani, V. V., Bertelloni, F., Pinzauti, P., Cerri, D., 2012. Seroprevalence of *Leptospira* spp. and *Borrelia burgdorferi* sensu Lato in Italian horses. *Ann. Agric. Environ. Med.* 19, 237–240.
- Flores, B.J., Pérez-Sánchez, T., Fuertes, H., Sheleby-Elías, J., Múzquiz, J.L., Jirón, W., Duttman, C., Halaihel, N., 2017. A cross-sectional epidemiological study of domestic animals related to human leptospirosis cases in Nicaragua. *Acta Trop.* 170, 79–84.
- Foote, A.K., Ricketts, S.W., Whitwell, K.E., 2012. A racing start in life? The hurdles of equine fetoplacental pathology. *Equine Vet. J.* 44, 120–129.
- Fritz, K.L., Kaese, H.J., Valberg, S.J., Hendrickson, J.A., Rendahl, A.K., Bellone, R.R., Dynes, K.M., Wagner, M.L., Lucio, M.A., Cuomo, F.M., et al., 2014. Genetic risk factors for insidious equine recurrent uveitis in Appaloosa horses. *Anim. Genet.* 45, 392–399.
- Gilger, B.C., 2018. Association of acute leptospirosis with systemic disease and uveitis in horses. *Equine Vet. Educ.* 30, 137–138.
- Gilger, B.C., Deeg, C.A., 2011. Equine Recurrent Uveitis, in: *Equine Ophthalmology*. Elsevier Inc., pp. 317–349.
- Gilger, B.C., Deeg, C.A., 2010. Equine Recurrent Uveitis, in: *Equine Ophthalmology*. Elsevier Inc., pp. 317–349.
- Givens, M.D., Marley, M.S.D., 2008. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology* 70, 270–285.
- Goldstein, R.E., 2010. Canine Leptospirosis. *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.* 40, 1091–1101.
- Goris, M.G.A., Boer, K.R., Duarte, T.A.T.E., Kliffen, S.J., Hartskeerl, R.A., 2013. Human leptospirosis trends, the Netherlands, 1925-2008. *Emerg. Infect. Dis.* 19, 371–378.
- Grassmann, A.A., Félix, S.R., Dos Santos, C.X., Amaral, M.G., Neto, A.C.P.S., Fagundes, M.Q., Seixas, F.K., Da Silva, É.F., Conceição, F.R., Dellagostin, O.A., 2012. Protection against lethal leptospirosis after vaccination with LipL32 coupled or coadministered with the b subunit of escherichia coli heat-labile enterotoxin. *Clin. Vaccine Immunol.* 19, 740–745.

- Guerra, M.A., 2013. Leptospirosis: Public health perspectives. *Biologicals* 41, 295–297.
- Haake, D.A., Levett, P.N., 2015. Leptospirosis in humans. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 387, 65–97.
- Hajikolaie, M.R.H., Gorbanpour, M., Haidari, M., Abdollapour, G., 2005. Comparison of leptospiral infection in the horse and donkey. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 49, 175–178.
- Hamond, C., Martins, G., Lilenbaum, W., 2012a. Letter to the Editor: “Acute respiratory failure caused by *Leptospira* spp. in five foals”. *J. Vet. Intern. Med.* 26, 1237.
- Hamond, C., Martins, G., Lilenbaum, W., Medeiros, M.A., 2012b. Rapid and efficient diagnosis of leptospirosis in an aborted foal by PCR of gastric juice. *Vet. Microbiol.* 160, 274–275.
- Hamond, C., Martins, G., Reis, J., Kraus, E., Pinna, A., Lilenbaum, W., 2011. Pulmonary hemorrhage in horses seropositive to leptospirosis. *Pesqui. Vet. Bras.* 31, 413–415.
- Hamond, C., Pinna, A., Martins, G., Lilenbaum, W., 2014. The role of leptospirosis in reproductive disorders in horses. *Trop. Anim. Health Prod.* 46, 1–10.
- Hartmann, K., Hugonnard, M., Sykes, J., Nally, J.E., Schuller, S., Kohn, B., Francey, T., 2015. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. *J. Small Anim. Pract.* 56, 159–179.
- Hartskeerl, R.A., Goris, M.G.A., Brem, S., Meyer, P., Kopp, H., Gerhards, H., Wollanke, B., 2004. Classification of *Leptospira* from the eyes of horses suffering from recurrent uveitis. *J. Vet. Med. Ser. B Infect. Dis. Vet. Public Heal.* 51, 110–115.
- Hernández-Rodríguez, P., Díaz, C.A., Dalmau, E.A., Quintero, G.M., 2011. A comparison between polymerase chain reaction (PCR) and traditional techniques for the diagnosis of leptospirosis in bovines. *J. Microbiol. Methods* 84, 1–7.
- Heusser, H., 1948. Die periodische Augenentzündung, eine Leptospirose. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 90, 287–314.
- Houwers, D.J., Goris, M.G.A., Abdoel, T., Kas, J.A., Knobbe, S.S., van Dongen, A.M., Westerduin, F.E., Klein, W.R., Hartskeerl, R.A., 2011. Agglutinating antibodies against pathogenic *Leptospira* in healthy dogs and horses indicate common exposure and regular occurrence of subclinical infections. *Vet. Microbiol.* 148, 449–451.
- Houwers, D.J., Wagenaar, J.A., Hartskeerl, R.A., Hautvast, J.L.A., Stinis, H.P.J., Ruijs, W.L.M., Lenaers, S.J.M.M., 2009. Leptospirose (ziekte van Weil) bij de hond; een risico voor de mens. *Tijdschr. Diergeneeskd.* 134, 392–394.
- Inada, R., Ito, Y., 1908. A report of the discovery of the causal organism (a new species of spirocheta) of Weil's disease. *Tokyo Ijishinshi* 1915, 351–60.
- Jorge, S., Kremer, F.S., de Oliveira, N.R., Navarro, G.D.O.S.V., Guimarães, A.M., Sanchez, C.D., Woloski, R.D.D.S., Ridieri, K.F., Campos, V.F., Pinto, L.D.S., et al., 2018. Whole-genome sequencing of *Leptospira interrogans* from southern Brazil: Genetic features of a highly virulent strain. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 113, 80–86.
- Jung, B.Y., Lee, K.W., Ha, T.Y., 2010. Seroprevalence of *Leptospira* spp. in clinically healthy racing horses in Korea. *J. Vet. Med. Sci.* 72, 197–201.
- Ko, A.I., Goarant, C., Picardeau, M., 2009. Leptospira: The dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. *Nat. Rev. Microbiol.* 7, 736–747.
- Koizumi, N., Nakajima, C., Harunari, T., Tanikawa, T., Tokiwa, T., Uchimura, E., Furuya, T., Mingala, C.N., Villanueva, M.A., Ohnishi, M., et al., 2012. A new loop-mediated isothermal amplification method for rapid, simple, and sensitive detection of *Leptospira* spp. in urine. *J. Clin. Microbiol.* 50, 2072–2074.
- Lambert, A., Picardeau, M., Haake, D.A., Sermswan, R.W., Srikram, A., Adler, B., Murray, G.A., 2012. FlaA proteins in *Leptospira interrogans* are essential for motility and virulence but are not required

- for formation of the flagellum sheath. *Infect. Immun.* 80, 2019–2025.
- Langston, C.E., Heuter, K.J., 2003. Leptospirosis: A re-emerging zoonotic disease. *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.* 33, 791–807.
- Lau, C., Smythe, L., Weinstein, P., 2010. Leptospirosis: An emerging disease in travellers. *Travel Med. Infect. Dis.* 8, 33–39.
- Lau, S.F., Wong, J.Y., Khor, K.H., Roslan, M.A., Abdul Rahman, M.S., Bejo, S.K., Radzi, R., Bahaman, A.R., 2017. Seroprevalence of Leptospirosis in Working Dogs. *Top. Companion Anim. Med.* 32, 121–125.
- Lehmann, J., Matthias, M., Vinetz, J., Fouts, D., 2014. Leptospiral Pathogenomics. *Pathogens* 3, 280–308.
- Léon, A., Pronost, S., Tapprest, J., Foucher, N., Blanchard, B., André-Fontaine, G., Laugier, C., Fortier, G., Leclercq, R., 2006. Identification of pathogenic *Leptospira* strains in tissues of a premature foal by use of polymerase chain reaction analysis. *J. Vet. Diagnostic Investig.* 18, 218–221.
- Levett, P.N., 2004. Leptospirosis: A forgotten zoonosis? *Clin. Appl. Immunol. Rev.* 4, 435–448.
- Levett, P.N., 2001. Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 14, 296–326.
- Lilenbaum, W., Varges, R., Brandão, F.Z., Cortez, A., de Souza, S.O., Brandão, P.E., Richtzenhain, L.J., Vasconcellos, S.A., 2008. Detection of *Leptospira* spp. in semen and vaginal fluids of goats and sheep by polymerase chain reaction. *Theriogenology* 69, 837–842.
- Lim, V.K.E., 2011. Leptospirosis: A re-emerging infection. *Malays. J. Pathol.* 33, 1–5.
- Lin, Y.-P., McDonough, S.P., Sharma, Y., Chang, Y.-F., 2011. *Leptospira* immunoglobulin-like protein B (LigB) binding to the C-terminal fibrinogen α C domain inhibits fibrin clot formation, platelet adhesion and aggregation. *Mol. Microbiol.* 79, 1063–1076.
- Malalana, F., Stylianides, A., McGowan, C., 2015. Equine recurrent uveitis: Human and equine perspectives. *Vet. J.* 206, 22–29.
- McBride, A.J.A., Athanazio, D.A., Reis, M.G., Ko, A.I., 2005. Leptospirosis. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 18, 376–386.
- Mohammed, H., Nozha, C., Hakim, K., Abdelaziz, F., 2011. *LEPTOSPIRA*: Morphology, Classification and Pathogenesis. *J. Bacteriol. Parasitol.* 2.
- Murphy, K., 2018. Leptospirosis in dogs and cats: New challenges from an old bacteria. *In Pract.* 40, 218–229.
- Olsen, I., Paster, B.J., Dewhirst, F.E., 2000. Taxonomy of spirochetes. *Anaerobe* 6, 39–57.
- Park, Y.G., Gordon, J.C., Bech-Nielsen, S., Slemmons, R.D., 1992. Factors for seropositivity to leptospirosis in horses. *Prev. Vet. Med.* 13, 121–127.
- Parma, A.E., Fernández, A.S., Santisteban, C.G., Bowden, R.A., Cerone, S.I., 1987. Tears and aqueous humor from horses inoculated with *Leptospira* contain antibodies which bind to cornea. *Vet. Immunol. Immunopathology* 14, 181–185.
- Parma, A.E., Santisteban, C.G., Villalba, J.S., Bowden, R.A., 1985. Experimental demonstration of an antigenic relationship between *Leptospira* and equine cornea. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 10, 215–224.
- Parma, A.E., Sanz, M.E., Lucchesi, P.M., Mazzonelli, J., Petruccelli, M.A., 1997. Detection of an antigenic protein of *Leptospira interrogans* which shares epitopes with the equine cornea and lens. *Vet. J.* 153, 75–79.
- Picardeau, M., 2017. Virulence of the zoonotic agent of leptospirosis: still terra incognita? *Nat. Rev.*

Microbiol. 15, 297–307.

- Picardeau, M., 2013. General review - Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. *Médecine Mal. Infect.* 43, 1–9.
- Pijnacker, R., Goris, M.G., te Wierik, M.J., Broens, E.M., van der Giessen, J.W., de Rosa, M., Wagenaar, J.A., Hartskeerl, R.A., Notermans, D.W., Maassen, K., et al., 2016. Marked increase in leptospirosis infections in humans and dogs in the Netherlands, 2014. *Eurosurveillance* 21, 1–7.
- Pinna, A.E., Martins, G., Hamond, C., Lilenbaum, W., Medeiros, M.A., 2011. Molecular diagnostics of leptospirosis in horses is becoming increasingly important. *Vet. Microbiol.* 153, 413.
- Pinna, M., Martins, G., Freire, I., Lilenbaum, W., 2010. Seropositivity to *Leptospira interrogans* serovar Bratislava associated to reproductive problems without significant biochemical or hematological alterations in horses. *Ciência Rural* 40, 2214–2217.
- Pinto, P.S., Libonati, H., Lilenbaum, W., 2017. A systematic review of leptospirosis on dogs, pigs, and horses in Latin America. *Trop. Anim. Health Prod.* 49, 231–238.
- Polle, F., Storey, E., Eades, S., Alt, D., Hornsby, R., Zuerner, R., Carter, R., 2014. Role of Intraocular *Leptospira* Infections in the Pathogenesis of Equine Recurrent Uveitis in the Southern United States. *J. Equine Vet. Sci.* 34, 1300–1306.
- Poonacha, K.B., Donahue, J.M., Giles, R.C., Hong, C.B., Petrites-Murphy, M.B., Smith, B.J., Swerczek, T.W., Tramontin, R.R., Tuttle, P.A., 1993. Leptospirosis in Equine Fetuses, Stillborn Foals, and Placentas. *Vet. Pathol.* 30, 362–369.
- Prescott, J., 2008. Canine leptospirosis in Canada: A veterinarian's perspective. *Can. Med. Assoc. J.* 178, 397–398.
- Ramírez, C.V.H., 2019. Leptospirosis in Humans and Dogs. *J. Dairy Vet. Sci.* 9, 1–3.
- Reagan, K.L., Sykes, J.E., 2019. Diagnosis of Canine Leptospirosis. *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.* 49, 719–731.
- Rimpau, W., 1947. Leptospirose beim Pferd (Periodische Augenentzündung). *Tierarztl. Umsch.* 2, 177–178.
- Rohrbach, B.W., Ward, D.A., Hendrix, D.V.H., Cawrse-Foss, M., Moyers, T.D., 2005. Effect of vaccination against leptospirosis on the frequency, days to recurrence and progression of disease in horses with equine recurrent uveitis. *Vet. Ophthalmol.* 8, 171–179.
- Sakoda, Y., Naito, M., Ito, M., Ito, Y., Isoda, N., Tanaka, T., Umemura, T., Kida, H., 2012. Recovery of leptospires from miniature pigs experimentally infected with *Leptospira interrogans* serovar Manilae strain UP-MMC under immunosuppressive conditions by dexamethasone. *J. Vet. Med. Sci.* 74, 955–958.
- Sauvage, A.C., Monclin, S.J., Elansary, M., Hansen, P., Grauwels, M.F., 2018. Detection of intraocular *Leptospira* spp. by real-time polymerase chain reaction in horses with recurrent uveitis in Belgium. *Equine Vet. J.* 51, 299–303.
- Sebastian, M., Giles, R., Roberts, J., Poonacha, K., Harrison, L., Donahue, J., Benirschke, K., 2005. Funisitis associated with leptospiral abortion in an equine placenta. *Vet. Pathol.* 42, 659–662.
- Shanahan, L.M., Slovis, N.M., 2011. *Leptospira interrogans* associated with hydrallantois in 2 pluriparous thoroughbred mares. *J. Vet. Intern. Med.* 25, 158–161.
- Sheoran, A.S., Nally, J.E., Donahue, J.M., Smith, B.J., Timoney, J.F., 2000. Antibody isotypes in sera of equine fetuses aborted due to *Leptospira interrogans* serovar pomona-type kennewicki infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 77, 301–309.
- Spiess, B.M., 2010. Equine recurrent uveitis - the European viewpoint, in: *Equine Ophthalmology*. pp. 50–56.

- Sun, A., Liu, X., Yan, J., 2019. Leptospirosis is an invasive infectious and systemic inflammatory disease. *Biomed. J.* 1–8.
- Sykes, J.E., Hartmann, K., Lunn, K.F., Moore, G.E., Stoddard, R. a, Goldstein, R.E., 2011. ACVIM Consensus Statement on Leptospirosis. *J. Vet. Intern. Med.* 25, 1–13.
- Szeredi, L., Haake, D.A., 2006. Immunohistochemical identification and pathologic findings in natural cases of equine abortion caused by leptospiral infection. *Vet. Pathol.* 43, 755–761.
- Timoney, J.F., Kalimthusamy, N., Velineni, S., Donahue, J.M., Artiushin, S.C., Fettingner, M., 2011. A unique genotype of *Leptospira interrogans* serovar Pomona type kennewicki is associated with equine abortion. *Vet. Microbiol.* 150, 349–353.
- van Esbroeck, M., Lernout, T., 2017. Leptospirose (*Leptospira* spp.), in: *Zoönosen en vectoroverdraagbare ziekten*. pp. 46–50.
- Vemulapalli, R., Langohr, I.M., Sanchez, A., Kiupel, M., Bolin, C.A., Wu, C.-C., Lin, T.-L., 2005. Molecular detection of *Leptospira kirschneri* in tissues of a prematurely born foal. *J. Vet. Diagnostic Investig.* 17, 67–71.
- Verma, A., Artiushin, S., Matsunaga, J., Haake, D.A., Timoney, J.F., 2005. LruA and LruB, novel lipoproteins of pathogenic *Leptospira interrogans* associated with equine recurrent uveitis. *Infect. Immun.* 73, 7259–7266.
- Verma, A., Stevenson, B., 2012. Leptospiral Uveitis – There Is More to It Than Meets the Eye! *Zoonoses Public Health* 59, 132–141.
- Verma, A., Stevenson, B., Adler, B., 2013. Leptospirosis in horses. *Vet. Microbiol.* 167, 61–66.
- Weil, A., 1886. Über eine eigenthümliche, mit Milztumor, Icterus und Nephritis einhergehende, actue Infektionskrankheit. *Dtsch. Arch. Klin. Med.* 39, 209–232.
- Whitwell, K.E., Blunden, A.S., Miller, J., Errington, J., 2009. Two cases of equine pregnancy loss associated with *Leptospira* infection in england. *Vet. Rec.* 165, 377–378.
- World Organisation for Animal Health, 2014. *Leptospirosis, OIE Terrestrial manual 2014*.
- Wu, Mei-yi, Wu, Mai-szu, 2019. Pathophysiology of Leptospirosis Kidney Disease, in: *Leptospirosis and the Kidney*. pp. 10–19.
- Yan, W., Faisal, S.M., Divers, T., Mcdonough, S.P., Akey, B., Chang, Y.-F., 2010. Experimental *Leptospira interrogans* serovar Kennewicki Infection of Horses. *J. Vet. Intern. Med.* 24, 912–917.
- Zhang, W., Xie, X., Wang, J., Song, N., Lv, T., Wu, D., Zhang, N., Cao, Y., 2020. Increased inflammation with crude *E. coli* LPS protects against acute leptospirosis in hamsters. *Emerg. Microbes Infect.* 9, 140–147.