

UNIVERSITEIT GENT  
FACULTEIT DIERGENEESKUNDE  
Academiejaar 2012-2013

**BORRELIOSE BIJ DE HOND EN DE KAT**

door

Arianne VAN DE VOORDE

Promotoren: Dierenarts N. De Pauw

Dr. F. Boyen

Literatuurstudie in het kader

van de Masterproef

© 2013 *Arianne Van de Voorde*

*Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden. Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.*

UNIVERSITEIT GENT  
FACULTEIT DIERGENEESKUNDE  
Academiejaar 2012-2013

**BORRELIOSE BIJ DE HOND EN DE KAT**

door

Arianne VAN DE VOORDE

Promotoren: Dierenarts N. De Pauw

Dr. F. Boyen

Literatuurstudie in het kader

van de Masterproef

© 2013 *Arianne Van de Voord*

## INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING.....	p. 1
INLEIDING.....	p. 2
LITERATUURSTUDIE.....	p. 3
1. Classificatie en etiologie.....	p. 3
1.1. Classificatie .....	p. 3
1.2. Etiologie .....	p. 3
2. Epidemiologie .....	p. 6
2.1. Vectoren .....	p. 6
2.2. Transmissie .....	p. 7
2.3. Prevalentie en predispositie .....	p. 9
3. Pathogenese .....	p. 11
3.1. Migratie in de gastheer .....	p. 11
3.2. Adaptatie aan gastheer en vector .....	p. 12
3.2.1. De rol van Osp's.....	p. 12
3.2.2. Productie van Erp en CRASP-1 proteïnen .....	p. 13
3.2.3. Morfologische veranderingen .....	p. 13
3.2.4. Antigenische variatie .....	p. 14
3.2.5. Quorum sensing .....	p. 14
3.3. Immunrespons van de gastheer .....	p. 14
3.3.1. Niet-specifieke immunrespons .....	p. 14
3.3.2. Specifieke immunrespons .....	p. 15
4. Symptomen .....	p. 16
5. Diagnose .....	p. 18
5.1. Andere oorzaken uitsluiten .....	p. 18
5.2. Aantonen van de bacterie of antistoffen via laboratoriumtesten .....	p. 19
5.3. Een positieve respons op antibioticatherapie .....	p. 21
6. Behandeling .....	p. 21
7. Preventie .....	p. 23
7.1. Tekenbestrijding .....	p. 23
7.2. Vaccinatie .....	p. 24
8. Zoönotisch aspect .....	p. 25
BESPREKING.....	p. 26
REFERENTIELIJST.....	p. 27

## **SAMENVATTING**

Het etiologisch agens van borreliose bij de hond en de kat is de spirocheet *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi* s.l.). Enkele morfologische bijzonderheden worden vermeld die een rol spelen in de pathogeniciteit van de bacterie. Het deel over de epidemiologie spitst zich toe op de vectoren, de transmissie en de prevalentie wereldwijd, met de nadruk op Europa en België. Transmissie gebeurt via de teken *Ixodes* spp., waarbij vooral het adulte stadium verantwoordelijk is voor infecties bij de hond. De unieke adaptatiemechanismen van *B. burgdorferi* worden besproken in de pathogenese, naast de immunreactie van de gastheer. Hoewel 95 procent van de infecties met *B. burgdorferi* ss asymptomatisch of subklinisch verlopen bij de hond, komen klinische infecties steeds meer voor. De klinisch aangetaste honden ontwikkelen voornamelijk artritis en worden algemeen ziek. In zeldzame gevallen kunnen hart-, nier-, of neurologische aandoeningen voorkomen. De diagnose wordt gesteld op basis van de blootstelling aan teken, de aanwezigheid van typische klinische symptomen, het uitsluiten van andere oorzaken, positieve laboratoriumresultaten en een positieve respons op antibioticum therapie. De behandeling van een acute infectie bestaat uit doxycycline of ampicilline, een chronisch verloop wordt beter behandeld met ceftriaxone. Preventie is heel belangrijk in de bestrijding van borreliose, zowel beschermende middelen tegen teken als vaccins zijn in België geregistreerd en verkrijgbaar.

**Trefwoorden:** Artritis, *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, hond, kat, teek-overdraagbare aandoening

## INLEIDING

Borreliose is een ziekte die bij de mens voorkomt, maar die ook dieren aantast. *B. burgdorferi* komt voor bij de meeste zoogdieren en vogels. In deze literatuurstudie wordt dieper ingegaan op het voorkomen van borreliose bij de hond en de kat.

De allereerste gevallen van borreliose bij de mens zijn beschreven aan het eind van de 19<sup>e</sup> eeuw in Europa. Toch duurde het nog decennia voor de aandoening een naam had. Het eerste stadje waar de ziekte onder de aandacht kwam, was Old Lyme in de Verenigde Staten. In 1975 werd bij meerdere mensen een reumatoïde artritis vastgesteld, die later gelinkt werd aan erythema migrans dat ontstond na een tekenbeet. De aandoening werd de ziekte van Lyme gedoopt (Luft *et al.*, 1994; Littman *et al.*, 2003). De bacterie die hiervoor verantwoordelijk was, werd pas later ontdekt door Willy Burgdorfer (Johnson *et al.*, 1984; Meis en Nohlmans, 1995). Sindsdien is er veel onderzoek omtrent *Borrelia burgdorferi* gebeurd. Het hele genoom is gekend en het onderscheid tussen de species wordt steeds duidelijker, de transmissie en pathogenese zijn al voor een groot deel opgehelderd. Desondanks blijven nog vragen aanwezig die meer studie vereisen om tot een antwoord te komen (Littman *et al.*, 2006).

## LITERATUURSTUDIE

### 1. CLASSIFICATIE EN ETIOLOGIE

#### 1.1. Classificatie

Het genus *Borrelia* behoort tot de familie van de *Spirochaetaceae*. Samen met de families van de *Leptospiraceae*, *Brevinemataceae* en *Brachyspiraceae* vormt dit de orde van de *Spirochaetales*. Deze orde behoort tot de klasse *Spirochaetes*, phylum *Spirochaetae* (Euzéby, 2013). De naam *Borrelia* is afgeleid van de Franse bioloog Amédée Borrel, deze man ontdekte dat *Borrelia* een apart genus was. Dit genus onderscheidt zich van andere spirocheteten door het hebben van flagellen verspreid over de hele periplasmatische ruimte (Wright, 2009).

De veertien species binnen het genus *Borrelia* zijn zeer heterogeen en kunnen zowel apathogeen zijn als systemische ziekten veroorzaken in verschillende diersoorten. Sommige *Borrelia* species veroorzaken relapsing fever zoals *B. anserina* (aviaire spirochetose in pluimvee) en andere species zijn verantwoordelijk voor borreliose bij de hond, de kat en andere zoogdieren. Tot deze laatste groep behoort *Borrelia burgdorferi sensu lato*, alle leden binnen dit complex worden overgedragen door bloedzuigende teken (Krupka en Straubinger, 2010; Mot, 2010).

*B. burgdorferi sl* bestaat uit vijftien beschreven genospecies tot nu toe, waarvan er één het belangrijkste is als oorzaak van borreliose bij de hond: *Borrelia burgdorferi sensu stricto* (*B. burgdorferi ss*). Bij de mens zijn nog andere genospecies aangetoond die de ziekte van Lyme veroorzaken: net als bij de hond *B. burgdorferi ss* (in de VS en Europa), maar ook *B. garinii* (Eurazië), *B. afzelii* (Eurazië) en *B. japonica* (Japan) (Barbour en Hayes, 1986; Littman, 2003; Krupka en Straubinger, 2010). Recent zijn er bewijzen opgedoken dat de species die tot nu toe enkel bij de mens beschreven werden, ook borreliose bij de hond kunnen veroorzaken. In Japan zijn twee honden gediagnosticeerd met de ziekte van Lyme, geassocieerd met *Borrelia garinii* (Inokuma, 2013). *Borrelia burgdorferi* kreeg de naam van zijn ontdekker. Willy Burgdorfer was de eerste die, in 1981, de spirocheteten terugvond in de maag van een *Ixodes* teek (Johnson et al., 1984; Meis en Nohlmans, 1995).

#### 1.2. Etiologie

*B. burgdorferi ss* is een spiraalvormige, Gram negatieve bacterie die aangepast is aan micro-aërofiële tot anaerobe omstandigheden (Fig. 1). Ze groeit moeilijk en traag op cultuur, er zijn gespecialiseerde media nodig bij een temperatuur van 30 tot 35°C. Meestal worden Barbour-Stoenner-Kelly media gebruikt (Littman, 2003; Quinn et al., 2007). De lengte van *B. burgdorferi ss* varieert van 10 tot 30 µm in functie van de ouderdom van de cultuur en de nutritionele voorziening van het medium of de gastheer. Dit criterium kan dus niet gebruikt worden voor determinatie, maar de breedte van de helices in theorie wel.

Deze bedraagt 0.2 tot 0.3  $\mu\text{m}$  en is een van de nauwste binnen het genus (Barbour en Hayes, 1986; Wang *et al.*, 1999).

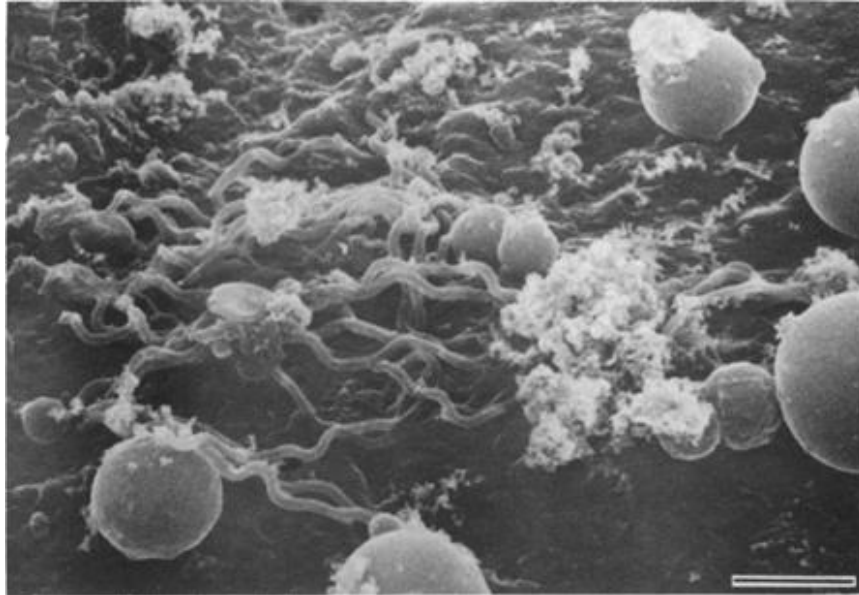


Fig. 1 Een scanning elektronenmicroscopiebeeld van *B. burgdorferi* geassocieerd met het epitheel in de darm van een *I. dammini* teek. Lijn, 2,0  $\mu\text{m}$ . (Uit Barbour en Hayes, 1986).

De opbouw van de kiem verschilt van andere Gram negatieve bacteriën. De celwand heeft dezelfde trilaminair structuur en bevat ook lipopolysacchariden, maar bij *B. burgdorferi* is die vloeibaarder. Op het celoppervlak bevindt zich een amorfe slijm laag die geen vaste aanhechting vormt met de onderliggende celwand. De volgende structuur meer inwaarts is de protoplasmacilinder (Fig. 2a). Deze omvat de plasmamembraan en het cytoplasma. In de periplasmatische ruimte, dit is de ruimte tussen de celmembraan en de plasmamembraan, zitten zeven tot elf flagellen vastgehecht op de protoplasmacilinder (Fig. 2b). De flagellen zorgen voor beweeglijkheid die helpt bij de migratie in de vector en de gastheer (Barbour en Hayes, 1986; Wang *et al.*, 1999).



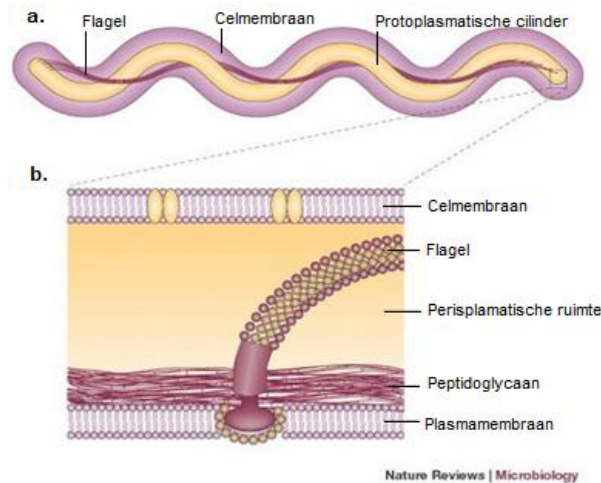


Fig. 2 (a) De opbouw van *Borrelia burgdorferi* ss. (b) De vasthechting van een flagel in de periplasmatische ruimte (Naar Rosa, 2005).

Belangrijke proteïnen bij *Borrelia spp.* zijn de Outer surface proteins (Osp), ze bevinden zich op het celoppervlak en variëren sterk tussen en binnen de species. Deze oppervlakte-eiwitten zijn onderverdeeld van Osp A t.e.m. Osp E en zijn van belang bij de differentiatie, transmissie en bij de immunreactie van de gastheer. Osp A bevat elf serotypes die helpen bij de differentiatie binnen *B. burgdorferi* sl. Osp C zorgt voor een verdere onderverdeling binnen elk serotype. Zo bezit *B. burgdorferi* ss Osp A serotype één waarin 6 Osp C types mogelijk zijn (Wang *et al.*, 1999).

Het genetisch materiaal is op een unieke manier opgeslagen in de bacterie. Ze omvat een lineair chromosoom en zowel circulaire als lineaire plasmiden. De grote aantallen plasmiden zijn zeer variabel ten gevolge van recombinatie met elkaar en een deel van het chromosoom. Hierdoor kan deze bacterie zich goed aanpassen aan een veranderende omgeving en dit verklaart deels de pathogeniciteit (Skotarczak, 2009). De genen van *B. burgdorferi* ss coderen vooral voor transport- en bindingsproteïnen en slechts voor een klein aantal functieproteïnen (Littman, 2003). Het gevolg hiervan is dat deze kiem zeer afhankelijk is van een gastheer om het metabolisme op peil te houden. Zonder gastheer sterft *B. burgdorferi* ss af in de omgeving (Mot, 2010).

*B. burgdorferi* ss kan voorkomen in vier vormen, wederom sterk omgevingsafhankelijk. De eerste vorm is de infecterende kiem, opgebouwd zoals hierboven beschreven. Een tweede mogelijkheid is een overlevingsvorm waarbij de spirocheet zich strak opwindt en een sferische, niet motiele cyste vormt die zeer antibioticumresistent is (Fig. 3). Ten derde is er een sferoplast in L-vorm die geen celwand bevat, waardoor antibiotica die inwerken op de celwand geen vat meer hebben op de kiem. Tenslotte zijn er de

gemmas of blebs, dit zijn vesikels die uitgescheiden worden door de bacterie en DNA en oppervlakteantigenen bevatten, al of niet omgeven door celmembranen. Deze laatste vorm speelt een rol in het ontwijken van antibiotica en in het persistenten en reacteren van de infectie (Skotarczak, 2009).

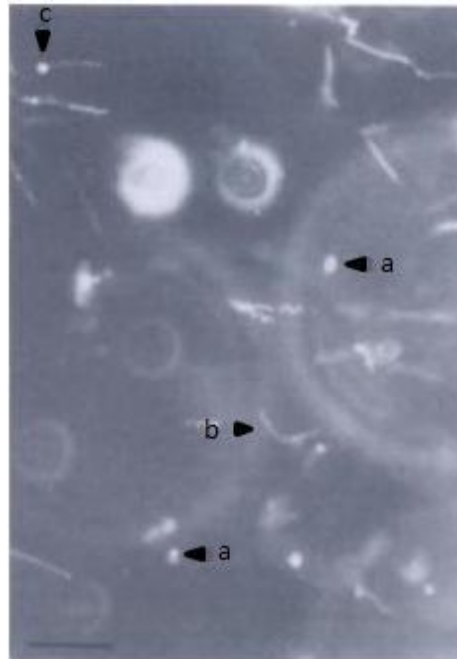


Fig. 3 Donkerveldmicroscopie toont een BSK-H(u) cultuur met (a) cystes, (b) een sferoplast en (c) een bleb afgescheiden door een mobiele *B. burgdorferi* sl. Oorspronkelijke vergroting 400x, bar = 2µm (Naar Brorson en Brorson, 1997).

## 2. EPIDEMIOLOGIE

### 2.1. Vectoren

*Borrelia burgdorferi* ss wordt overgedragen door harde teken van het genus *Ixodes*. Ze zijn herkenbaar aan de groeve die craniaal van de anus ligt (Littman, 2003). De larven en nymfen hebben zes poten, de adulten tellen er acht (Fig. 4). Het zijn drie-gastheer-teken, elk stadium voedt zich dus op een andere gastheer. Ze laten zich na elke bloedmaaltijd van de gastheer vallen en vervellen op de bodem.



Fig. 4 *I. ricinus*, van links naar rechts: larve – nymfe – volwassen mannetje – volwassen vrouwtje (Naar <http://www.natuurkalender.nl/toepassingen/teken/teek.asp>)

*Ixodes ricinus* is endemisch in Noord- en West-Europa en geldt als belangrijkste vector voor caniene borreliose in Europa. Daarnaast spelen *Dermacentor reticulatis* en *Rhipicephalus sanguineus* ook een rol in de overdracht. *D. reticulatis* was niet inheems aanwezig in België, maar in een onderzoek uitgevoerd door Claerebout (2013) werd een haard van *D. reticulatis* teruggevonden in Beveren-Waas die niet verklaard kon worden door buitenlandse import.

In centraal Noord-Amerika en aan de Oostkust is dit *I. scapularis*, ook wel *I. dammini* genoemd en aan de Westkust *I. pacificus*. *I. persulcatus* is de vector in Oost-Europa en Azië (Luft *et al.*, 1994; Wang *et al.*, 1999; Quinn *et al.*, 2007).

Niet enkel bij de hond en de mens komt borreliose voor, ook bij paarden, vee en katten worden infecties met *B. burgdorferi* gerapporteerd (Songer en Post, 2005). Co-infecties met o.a. *Anaplasma phagocytophylum*, *Rickettsia sp.* en *Babesia spp.* komen regelmatig voor (Wang *et al.*, 1999; Wodecka *et al.*, 2009).

## 2.2. Transmissie

*I. ricinus* is de vector van *B. burgdorferi* ss, met als tussengastheer kleine zoogdieren. De twee jaar durende levenscyclus van deze teek start in de lente, wanneer een volgezogen en bevrucht vrouwtje twee- tot drieduizend eieren legt op de grond (Fig. 5). De eitjes komen uit en de ongeïnfekteerde larven zoeken een klein zoogdier of een vogel als eerste gastheer. In Europa wordt *B. burgdorferi* ss enkel via kleine knaagdieren doorgegeven, in de VS kan dit via verschillende kleine zoogdieren, vogels en zelfs hagedissen. Vogels zijn geen goede reservoirgastheren, maar kunnen een rol spelen in de regionale verspreiding. De larven voeden zich twee tot vier dagen, laten de gastheer los en vervellen in de omgeving tot het volgende stadium, de nymfe. Nymfen overwinteren op de bodem en zetten zich dan vast op de tweede gastheer. Dit is een klein of groot zoogdier, zoals konijnen, ratten of de mens. De bloedmaaltijd van de nymfe duurt eveneens twee tot vier dagen. In de herfst van dat jaar vervelt de nymfe

tot het volwassen stadium. De adulte teken klimmen naar een graspunt en komen zo op de derde gastheer terecht: grote zoogdieren zoals het hert, de hond of de mens. Na een bloedmaaltijd van vijf tot zeven dagen laten de volgezogen teken zich vallen, de vrouwtjes leggen eieren en de cyclus is rond (Wang *et al.*, 1999; Fritz en Kjemtrup, 2003; Littman, 2003; Songer en Post, 2005; Krupka en Straubinger, 2010).

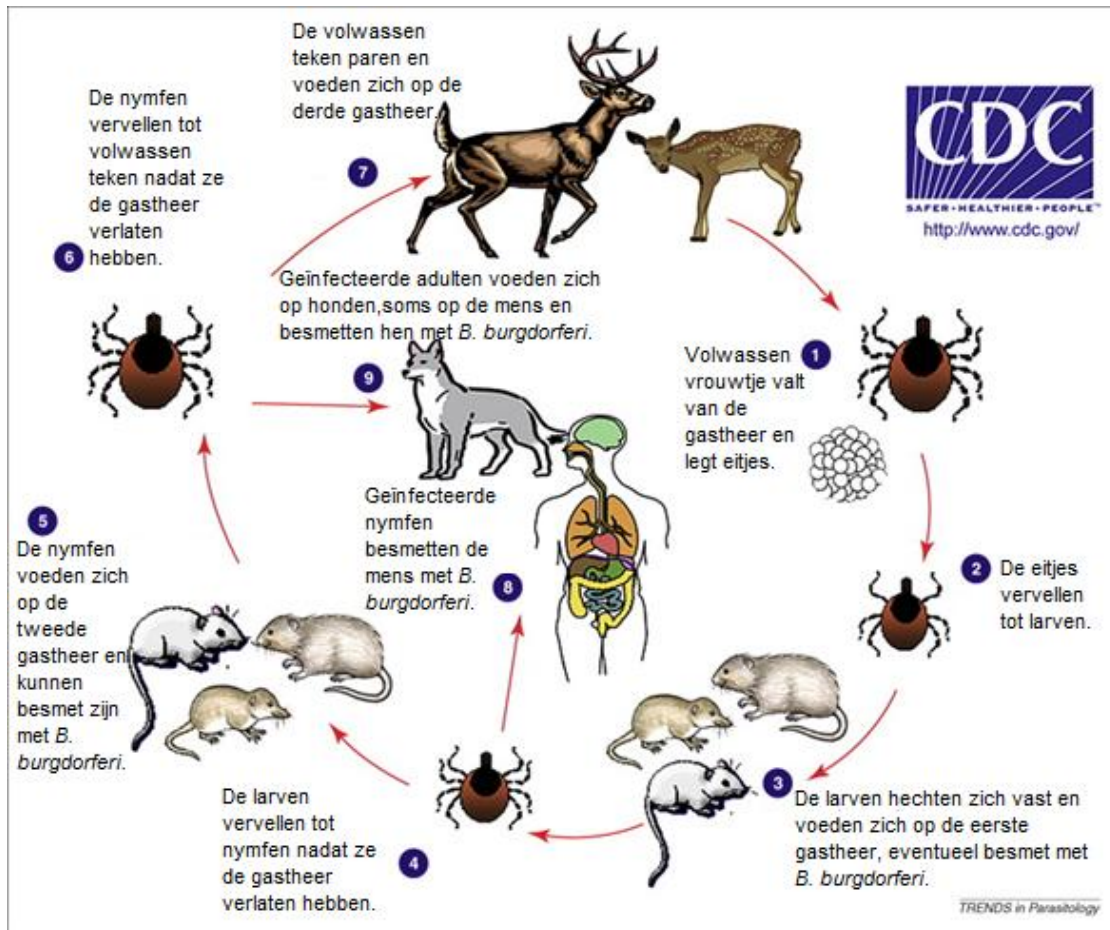


Fig 5. Transmissie van *B. burgdorferi* ss via teken, waardoor infectie van o.a. mens en hond mogelijk is. Nymfen zijn verantwoordelijk voor de meeste infecties bij de mens, terwijl honden vooral geïnfecteerd worden met *B. burgdorferi* ss via het adulte stadium (Naar Little *et al.*, 2010).

*I. ricinus* larven worden besmet met *B. burgdorferi* ss via geïnfecteerde nymfen die zich voeden op dezelfde kleine zoogdieren. Nymfen en volwassen teken worden eveneens via besmette gastheren geïnfecteerd of via transstadiële overdracht. Bij transstadiële overdracht is er overdracht van de bacterie tussen de verschillende ontwikkelingsstadia van dezelfde teek. Wanneer *B. burgdorferi* ss in een teek terechtkomt, migreert de bacterie naar de darm en vermenigvuldigt zich daar tot de teek zich van de gastheer laat vallen. Het aantal spirocheten vermindert, zolang de larve op de grond verblijft en vervelt tot nymfe. De nymfen en volwassen teken bevatten slechts een gering aantal spirocheten. Wanneer ze een

nieuwe gastheer gevonden hebben, zal *B. burgdorferi* ss zich snel vermenigvuldigen in de darm van de teek en switcht de expressie van *ospA* naar hoofdzakelijk *ospC*. *OspC* speelt een rol in de migratie van de darm naar het hemocoele en dan naar de speekselklieren van de teek. Transmissie naar de gastheer neemt tijd in beslag, met als gevolg dat een infectie binnen een dag niet mogelijk is, maar waarschijnlijk pas plaatsvindt na twee dagen. Een cofactor in het speeksel van de teek, Salp15, bindt op de bacteriën met een hoge expressie van *ospC* en geeft bescherming tegen het immuunsysteem van de gastheer tot 48 uur na de tekenbeet (Fritz en Kjemtrup, 2003; Krupka en Straubinger, 2010).

Transstadiële overdracht speelt een belangrijke rol bij het in stand houden van de infectiegraad binnen de tekenpopulatie. Transvariële overdracht daarentegen zou slechts zelden voorkomen. *B. burgdorferi* ss wordt overgedragen naar de gastheer tijdens de bloedmaaltijd van de teek. Honden en katten worden enkel via de adulte teken geïnfecteerd, terwijl de mens Lyme borreliose kan oplopen door zowel nymfen als volwassen teken. Transmissie via de urine van besmette honden is waarschijnlijk niet mogelijk. Transuteriene overdracht bij de hond werd wel gedocumenteerd (Littman, 2003; Songer en Post, 2005; Little *et al.*, 2010).

### 2.3 Prevalentie en predispositie

Borreliose bij de hond werd voor het eerst vastgesteld in de jaren '80 in de VS. Sindsdien is deze teek-overdraagbare aandoening ook overal opgedoken in Europa en het aantal gevallen blijft stijgen, o.a. in België (Wodecka *et al.*, 2009).

De prevalentie van *B. burgdorferi* is afhankelijk van de seizoensgebonden activiteit van *I. ricinus*, welke het hoogst is van juni tot oktober. De distributie van deze teek kan erg variëren van regio tot regio in endemische gebieden en dit heeft een invloed op de besmetting met *B. burgdorferi*. In België is de prevalentie duidelijk hoger in Vlaanderen dan in Wallonië, in de provincies Oost-Vlaanderen, Antwerpen en Limburg zijn de spirocheten het vaakst terug te vinden (Fig. 6) (Littman, 2003; Claerebout *et al.*, 2013).

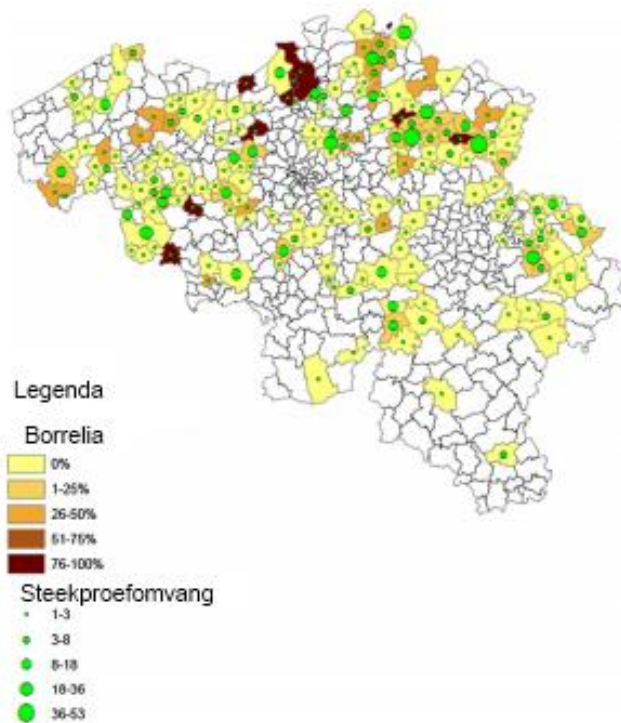


Fig. 6 Distributie van *I. ricinus* teken die positief testen voor *Borrelia spp.* in België (Naar Claerebout, 2013).

In België testen 10,2 procent van de *I. ricinus* teken positief voor *Borrelia spp.*, 0,6 procent test positief voor *B. burgdorferi ss* (Claerebout, 2013). In Europa zijn vooral de volwassen teken besmet, tussen de 2,3 en de 22 procent. De prevalentie in larven en nymfen is lager en bedraagt respectievelijk ongeveer twee en tien procent. Dit kan verklaard worden door het feit dat adulten meer bloedmaaltijden gehad hebben en zo meer risico lopen op een infectie met *B. burgdorferi*. Het voorkomen in de VS is gevarieerder. Slechts één tot zes procent van de *I. pacificus* teken in het westen zijn geïnfecteerd, tegenover meer dan vijftig procent van *I. scapularis* in het oosten. Dit is onder andere te verklaren door het feit dat de transmissie van *B. burgdorferi* via de *I. pacificus* teek complexer verloopt (Luft *et al.*, 1994; Fritz en Kjemtrup, 2003; Mot, 2010).

De geografische distributie is best gekend in Noord- en West-Europa en in Noord-Amerika, in deze landen is borreliose wijd verspreid. In Oost-Europa is er nog weinig onderzoek gebeurd naar het voorkomen van *B. burgdorferi*. Of deze kiem ook in Azië aanwezig is, is nog controversieel, maar er is wel een bevestigende studie in China en Taiwan (Liang *et al.*, 1996; Shih *et al.*, 1998). In Australië, Afrika en Zuid-Amerika zijn enkele gevallen gerapporteerd op basis van serologie, maar *B. burgdorferi* is niet aangetoond in *Ixodes* teken of patiënten (Wang *et al.*, 1999).

In het westen van de Verenigde Staten is er een sterke correlatie tussen het voorkomen van *I. pacificus* en het aantal honden of mensen die geïnfecteerd zijn met *B. burgdorferi*. Dit verband ziet men ook in het midwesten en het noordoosten met *I. scapularis*, maar niet in het zuidoosten omdat daar het nymf stadium een ander gedrag en tijdstip van activiteit vertoont. Ze zijn minder actief in de late zomer en voeden zich vooral op hagedissen, waardoor ze een minder goede vector vormen voor *B. burgdorferi* (Little *et al.*, 2010).

Er zijn een aantal predisponerende factoren die het risico op infectie met *B. burgdorferi* doen toenemen. In de late zomer en herfst worden meer honden besmet met *B. burgdorferi* omdat de cyclus van de *Ixodes* teken seizoensafhankelijk is. De volwassen teken zijn vooral aanwezig in die periode van het jaar. Honden die in endemische gebieden wonen, komen veel meer in contact met geïnfecteerde *Ixodes spp.* en hebben dus ook een hogere kans op besmetting met *B. burgdorferi* (Fritz en Kjemtrup, 2003).

### 3. PATHOGENESE

#### 3.1. Verspreiding in de gastheer

Na een tekenbeet van *Ixodes spp.* komt *B. burgdorferi* ss in de bloedbaan van de gastheer terecht, van waaruit de bacteriën migreren naar de weefsels. Er zijn twee hypothesen over de manier waarop *B. burgdorferi* ss zich in de gastheer zou verspreiden. De oudste hypothese stelt dat de spirocheten via de bloedbaan migreren en dus een spirochetemie veroorzaken. Ze zouden dan de bloedbaan verlaten om de weefsels te koloniseren. Uit de studie van Barbour en Hayes (1986) blijkt dat de kiemen nog terug te vinden zijn in het bloed enkele uren na infectie. Maar ze verdwijnen snel wanneer een voldoende hoge concentratie antistoffen tegen *B. burgdorferi* ss in de bloedbaan terecht komt. De kiemen migreren dan naar de weefsels of worden geëlimineerd via fagocytose of complement-gemedieerde lyse (Barbour en Hayes, 1986; Krupka en Straubinger, 2010).

De tweede hypothese gaat er van uit dat *B. burgdorferi* ss direct de bloedbaan verlaat en migreert door de weefsels. Vandaag wordt deze mogelijkheid als de meest plausibele geacht, want er zijn feiten die deze hypothese staven. De spirocheten bevinden zich extracellulair en dan is het bloed een vijandige omgeving met veel immunologische factoren en fagocyterende cellen. Ze koloniseren het liefst collageenrijke weefsels. Deze weefsels zijn vaak slecht gevasculariseerd waardoor de kiem minder kans heeft om in contact te komen met het immuunsysteem van de gastheer. *B. burgdorferi* ss wordt dus vooral teruggevonden in gewrichtskapsels, peritoneum, huid, meningen,...(Songer en Post, 2005; Skotarczak, 2009). De bacteriën veroorzaken inflammatie ter plekke waardoor gezwollen gewrichten en manken ontstaan, alsook lymfadenopathie en algemene malaise. Bij de mens veroorzaakt de ontsteking in de huid ter hoogte van de tekenbeet de typische erythema migrans. Het feit dat *Borrelia spp.* afhankelijk zijn van N-acetyl-glucosamine, een precursor om collageen te kunnen vormen, wijst ook in de richting van de

tweede hypothese. Migratie door de weefsels is mogelijk doordat ze plasminogeen en plasminogeen activator kunnen binden waardoor de extracellulaire matrix van de weefsels wordt afgebroken (Rosa *et al.*, 2005; Krupka en Straubinger, 2010).

Een laatste aanwijzing is terug te vinden in de studies van Straubinger *et al.* (1997 en 1998). Deze toonden aan dat de gewrichten dichtst bij de plaats van een tekenbeet het eerst inflammatie vertoonden en dat de andere gewrichten pas later werden aangetast. Dit suggereert eerder centrifugale migratie via de weefsels dan via de bloedbaan.

Het migreren door de weefsels heeft als gevolg dat het aantonen van antistoffen in het serum onbetrouwbaar is om klinische symptomen te bevestigen als borreliose. Vele honden zijn asymptomatisch en toch seropositief (Krupka en Straubinger, 2010; Little *et al.*, 2010).

### 3.2. Adaptatie aan gastheer en vector

*B. burgdorferi* ss kan in uiteenlopende gastheren overleven, dankzij de vele adaptatiemechanismen die deze kiem gebruikt. Het hoog aantal plasmiden dat ze bevatten, is hierbij van belang. Die plasmiden zijn zeer variabel en kunnen recombineren met elkaar of met een deel van het chromosoom. Er bevinden zich vooral genen op die coderen voor oppervlakteproteïnen (Osp's) en deze genen vertonen onderling weinig gelijkenis. De belangrijkste mechanismen die *B. burgdorferi* ss gebruikt om zich aan te passen aan de gastheer zijn: Osp's, productie van Erp en CRASP-1 proteïnen, hun metabolisme aanpassen via morfologische veranderingen, antigenische variatie en quorum sensing (Skotarckzak, 2009).

#### 3.2.1. De rol van Osp's

De expressie van Osp's kan worden aangepast naargelang de omstandigheden. Dit is een vorm van antigenische variatie die een functie heeft in de overdracht van borreliose en als bescherming dienst doet tegen de immuniteit van de gastheer. De verschillende types oppervlakteproteïnen, OspA tot en met OspF, hebben elk een eigen functie. OspA is het dominante type bij de ongevoede teek en helpt bij de vasthechting aan de darm van de teek. De eerste 12 tot 24 uur na een tekenbeet stelt men een down-regulatie vast van OspA en een up-regulatie van OspC. Dit wordt geïnduceerd door de temperatuurs- en pH-veranderingen die gepaard gaan met de bloedmaaltijd van de teek (Rosa *et al.*, 2005; Krupka en Straubinger, 2010; Little *et al.*, 2010).

Littman (2003) vermeldt dat spirocheten met een lage expressie van OspA beter de gastheer kunnen binnendringen dan spirocheten met een hogere expressie van OspA. De hoge expressie van Osp C zorgt voor een betere kolonisatie van de gastheer.

Door deze up- en down-regulatie van factoren heeft *B. burgdorferi* ss één tot twee dagen nodig om de gastheer te infecteren tijdens de bloedmaaltijd van een teek, wat gevolgen heeft voor de preventiemaatregelen bij borreliose.



OspB blijkt een rol te spelen bij de invasie van cellen in de gastheer. Via het verbreken van de tight junctions of via transcytose kan *B. burgdorferi* ss intracellulair geraken wanneer dat nodig is om te overleven in de gastheer. OspD is waarschijnlijk onbelangrijk voor de pathogeniciteit van de kiem (Songer en Post, 2005; Schulze en Zückert, 2006).

OspE vindt met vooral terug in een vroeg infectiestadium terwijl OspF een hogere expressie heeft tijdens de latere stadia van infectie. Deze proteïnen zijn gekend als Erp-proteïnen, ze helpen een chronische infectie in stand te houden en worden verderop meer in detail besproken (zie 3.2.2) (Stevenson *et al.*, 1996; Littmann, 2003; Krupka en Straubinger, 2010).

### 3.2.2. Productie van Erp en CRASP-1 proteïnen

Erp en CRASP-1 proteïnen worden voornamelijk teruggevonden bij kolonisatie van de weefsels door *B. burgdorferi* ss. Ze binden regulatoren en componenten van het complementsysteem en helpen zo het immuunsysteem te ontwijken.

Bepaalde genen op de circulaire plasmiden cp32 van *B. burgdorferi* ss coderen voor de Erp proteïnen. Via deze proteïnen binden de spirocheten factor H uit het serum op hun celoppervlak. Normaal bindt factor H op een gastheercel zodat C3 van het complementsysteem niet geactiveerd wordt en degradatie via C3b vermeden wordt. Dit mechanisme beschermt *B. burgdorferi* ss dus tegen het cytolytisch effect van het serum van de gastheer.

Het CRASP-1 proteïne, voluit complement regulator-acquiring surface protein, bindt een regulator van het complementsysteem. Door deze binding wordt de activatie van de complementcascade onderbroken en wordt de kiem niet vernietigd. De expressie van CRASP-1 tijdens infectie bij de hond staat nog onder discussie, het is wel al bewezen bij de mens (Kurtenbach *et al.*, 2002; Skotarczak, 2009).

### 3.2.3. Morfologische veranderingen

*B. burgdorferi* ss is een mobiele, spiraalvormige bacterie die zich kan omvormen tot een sferoplast wanneer de omgeving ongunstig is. Een sferoplast is een rond, niet mobiel vesikel met een minimaal metabolisme. De morfologische verandering neemt slechts enkele minuten in beslag en maakt langdurig overleven in de gastheer mogelijk. Dit mechanisme speelt een rol in het persisteren van de infectie, want onder de juiste omstandigheden kunnen deze sferoplasten zich weer omvormen tot mobiele spirocheten (Songer en Post, 2005; Krupka en Straubinger, 2010).

De kiem kan ook blebs afstoten, dit zijn kleine vesikels opgebouwd uit stukjes van de buitenste celmembraan met daarop Osp's. Een deel van de geproduceerde antistoffen tegen *B. burgdorferi* ss bindt op de blebs en daardoor worden minder echte bacteriën geopsoniseerd en vernietigd (Songer en Post, 2005; Skotarczak, 2009).

#### 3.2.4. Antigenische variatie

*B. burgdorferi* ss gebruikt antigenische variatie als een ontsnappingsmechanisme aan de immuniteit van de gastheer. De plasmiden in het cytoplasma zijn zeer variabel en recombineren met elkaar. Het variable major protein-like sequence, expressed, of VlsE is een sequentie op een lineair plasmide met twee constante en één variabele regio. Deze laatste regio kan zeer snel variëren nadat een infectie tot stand is gebracht in de gastheer. Het geproduceerde proteïne is ook een lipoproteïne op de celmembraan, te vergelijken met de Osp's. Door de snelle verandering van de sequentie is er steeds een productie van licht verschillende proteïnen. De antistoffen tegen bepaalde VlsE-varianten kunnen niet binden op nieuwe varianten dus is er geen herkenning en afdoding door het immuunsysteem. *B. burgdorferi* ss stammen die deze variaties niet zo snel doorvoeren, worden wel afgedood. De geproduceerde antistoffen elimineren dus steeds maar een gedeelte van de aanwezige kiemen. Daardoor is chronische infectie van de gastheer mogelijk. In teken wordt VlsE niet tot expressie gebracht.

VlsE is ook diagnostisch van belang. De antistoffen tegen één van de constante regio's in dit gen, IR6 of het C6-peptide, kunnen herkend worden in geïnfecteerde honden via ELISA (Littman, 2003; Skotarczak, 2009; Krupka en Straubinger, 2010).

#### 3.2.5. Quorum sensing

Quorum sensing is het reguleren van de genexpressie zodat een hele populatie bacteriën simultaan kan reageren op veranderende milieufactoren. Dit mechanisme is nog niet volledig gekend bij *B. burgdorferi* ss. Er wordt een autoinducer, het precieze type is nog onbekend, geproduceerd en een essentieel enzyme bij dit proces is LuxS. Dit enzyme werd wel al teruggevonden in *B. burgdorferi* ss. De autoinducer dringt binnen in de gastheercel en wanneer het aantal kiemen in de cel een bepaalde drempelwaarde bereikt, activeert de autoinducer een simultane genexpressie in alle kiemen. Daardoor kunnen de spirochetes de eigen proteïneproductie synchroniseren, wat leidt tot efficiëntere infectie van de gastheer. Er wordt onder andere een massale productie in gang gezet van het specifiek enzyme 4,5-dihydroxy-2,3-pentadione (DPD). DPD stimuleert de afbraak van toxische producten van methylatiereducties in de cel (Skotarczak, 2009).

### 3.3. Immunrespons van de gastheer

#### 3.3.1. Niet-specifieke immunrespons

Uren tot dagen na een infectie met *B. burgdorferi* ss komt de niet-specifieke immunrespons op gang. De Osp's op de celmembraan van de kiem stimuleren de cytokineproductie in o.a. de macrofagen en endotheliale cellen. Cytokines zoals TNF- $\alpha$  en IL-1 hebben een chemotactische werking waardoor granulocyten en macrofagen worden aangetrokken naar de plaats van de tekenbeet. Daar veroorzaken deze cellen lokale inflammatie van de weefsels (Tabel 1). Via fagocytose of productie van vrije radicalen

wordt *B. burgdorferi* ss afgedood, maar dat is niet voldoende om de infectie te elimineren (Songer en Post, 2005; Krupka en Straubinger, 2010).

Er ontstaat een multisystemische inflammatie wanneer de bacterie verder migreert. Deze migratie veroorzaakt een up-regulatie van cytokines, o.a. IL-8. Interleukine 8 heeft een belangrijke functie in het aantrekken van polymorfonucleaire neutrofielen (PMN), die granules produceren om de bacteriën af te doden. IL-8 wordt geproduceerd door zeer uiteenlopende soorten cellen zoals chondrocyten, fibroblasten, macrofagen,... Pas wanneer een bepaalde drempelwaarde van IL-8 overschreden is, worden PMN aangetrokken. Dit verklaart waarom IL-8 zowel in gewrichten met als in gewrichten zonder PMN wordt teruggevonden. Volgens studies van Straubinger *et al.* (1997 en 1998) wordt daarom het ene gewricht ernstiger aangetast dan het andere (Krupka en Straubinger, 2010).

### 3.3.2. Specifieke immuunrespons

De humorale immuunrespons ontstaat trager dan de niet-specifieke immuunrespons. De IgM antistoffen tegen *B. burgdorferi* ss verschijnen twee tot vier weken na infectie in het bloed. Vier tot zes weken na infectie ontstaan de IgG antistoffen. IgM en IgG zijn onbetrouwbaar om een acute infectie aan te tonen en induceren ook geen volledige bescherming tegen besmetting met *B. burgdorferi* ss. Er worden immuuncomplexen gevormd die mede verantwoordelijk zijn voor het ontstaan van Lyme nefritis bij honden (Littman, 2013).

De belangrijkste epitopen waartegen antistoffen kunnen geproduceerd worden zijn de Osp's, de typische oppervlakteproteïnen van *B. burgdorferi* ss (Songer en Post, 2005). Eenentwintig dagen na infectie verschijnen er antistoffen tegen OspC in het bloed om nadien weer geleidelijk te verdwijnen. Daarna worden er antistoffen gemaakt tegen het C6-peptide. Nog later worden er antistoffen tegen OspF terug gevonden in het bloed. Er is verder onderzoek nodig om na te gaan of deze antistoffen een hulp kunnen zijn bij het bepalen welk infectiestadium het dier doormaakt (Wagner *et al.*, 2012).

De vrijgekomen cytokines en antistoffen activeren de cellulaire immuniteit. Er worden T-lymfocyten en plasmacellen aangetrokken die in de collageenrijke weefsels infiltreren. Vooral in de gewrichtskapsels zijn infiltraten van T-lymfocyten terug te vinden. De bacterie kan sommige cytokines onderdrukken, daardoor is er een shift naar de antistof-geïnduceerde T-cel respons (Straubinger *et al.*, 1997; Krupka en Straubinger, 2010).

De letsels die ontstaan bij borreliose worden niet door directe schade van de kiem veroorzaakt, maar door de uitgebreide immuunreactie van de gastheer op de kiem. De inflammatie veroorzaakt de meest voorkomende klinische symptomen bij borreliose: polyarthritis, anorexie, koorts en lymfadenopathie. De lymfeknopen dichtstbij de plek van de tekenbeet zullen het eerst opzetten. Door vorming van specifieke immuuncomplexen kan Lyme nefritis ontstaan. Of deze complexen actief nefritis veroorzaken, passief

blijven vastzitten of niet goed gecleared worden in de nier door andere gastheer-pathogeen factoren is nog onduidelijk (Littman et al., 2003; Littman, 2013).

De verschillende adaptatiemechanismen en de antistoffenproductie leiden tot een niet effectieve eliminatie van *B. burgdorferi* ss. De infectie kan persisteren in de gastheer en zich ontwikkelen tot een chronische ziekte. Volgens een experimentele studie van Straubinger *et al.* (1997) kan de productie van IL-8 en van antistoffen verschillen tussen honden. Deze bevinding is gecorreleerd met het al dan niet optreden van klinische symptomen. Een snellere antistofproductie leidt tot ernstigere artritis met klinische symptomen (Songer en Post, 2005; Krupka en Straubinger, 2010; Littman, 2013).

Tijd na infectie	Immuunrespons gastheer	Symptomen
<b>Eén tot twee dagen</b>	Macrofagen en granulocyten: Lokale inflammatie van de weefsels	Geen klinische symptomen
<b>Enkele dagen</b>	Polymorfonucleaire neutrofielen: Multisystemische inflammatie	Geen klinische symptomen of vage klachten van algemeen ziek zijn (koorts, anorexie, lethargie).
<b>Twee tot zes weken</b>	Specifieke antistoffen: Vormen immuuncomplexen	Geen klinische symptomen, start ontwikkeling artritis en lyme nefritis mogelijk
<b>Zes weken tot maanden</b>	Specifieke cellulaire immuniteit: Erge veralgemeende inflammatie van de gewrichten en andere weefsels	Episodes van artritis, (intermitterend) manken, lymfadenopathie, algemene malaise
<b>Maanden tot jaren</b>	Ineffectieve eliminatie van <i>B. burgdorferi</i> ss, ondanks antistoffenproductie en immuuncomplexvorming: Persisterende infectie	Chronische episodes van artritis Zelden: Lyme nefritis, neurologische disfuncties, myocardiale schade

Tabel 1. Infectiestadia van borreliose bij de hond. Bepaalde reacties van het immuunsysteem op *B. burgdorferi* ss zijn gelinkt aan het ontstaan van de typische symptomen.

#### 4. SYMPTOMEN

Ongeveer 95 procent van de infecties met *B. burgdorferi* ss verloopt asymptomatisch of subklinisch bij de hond. Dit in tegenstelling tot de mens, die wel vaak klinische symptomen vertoont typisch één tot twee weken na besmetting met *B. burgdorferi* ss (Songer en Post, 2005; Littman *et al.*, 2006). Het meest opvallende symptoom bij de mens, erythema migrans, ontwikkelt zich na enkele dagen op de plek van de tekenbeet. Dit symptoom wordt bij de hond niet waargenomen.

Canine borreliose uit zich na enkele maanden in zwelling of pijn in de gewrichten, acuut of intermitterend manken en eventueel algemene malaise (lethargie, koorts, anorexie). Soms is lymfadenopathie van de

drainerende lymfeknopen aanwezig (zie 3.3, Tabel 1.). De carpi en tarsi zijn het vaakst aangetast, maar ook de overige gewrichten van de ledematen kunnen betrokken zijn (Fig. 7). Onder experimentele omstandigheden zijn jonge Beagles geneigd om ernstigere symptomen en duidelijkere laesies aan gewrichten te vertonen dan oudere Beagles (Littman, 2003; Littman *et al.*, 2006; Krupka en Straubinger, 2010).

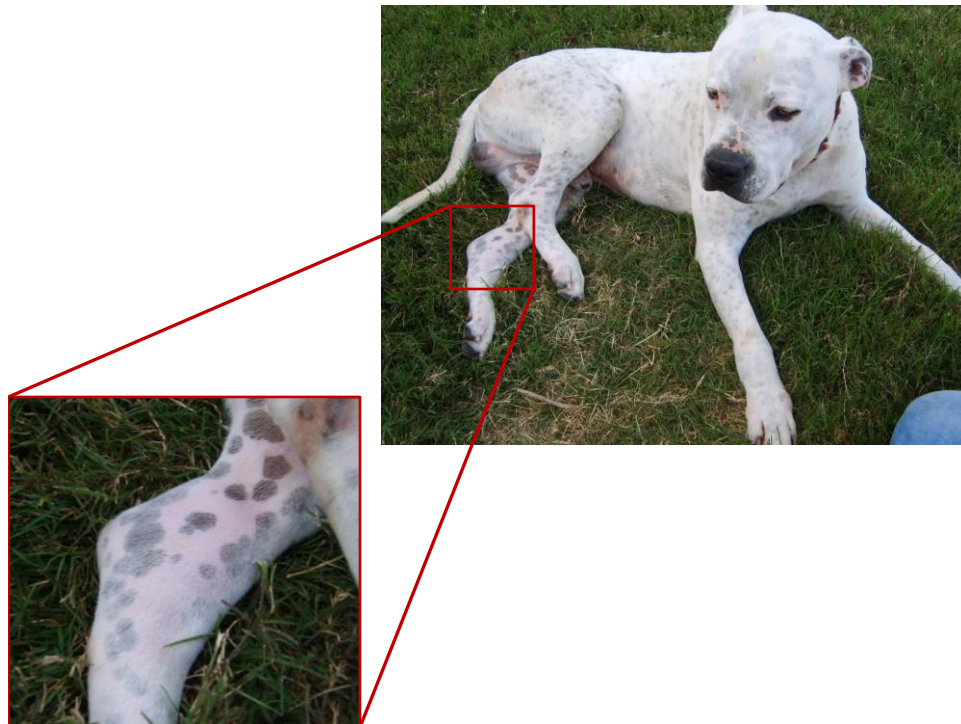


Fig 7. Opzetting van gewrichten is een typisch symptoom van borreliose bij de hond. De tarsus is één van de meest aangetaste gewrichten (Naar <http://true-grit.org/TGAB/index.php?topic=13546.0>).

In zeldzame gevallen ontstaat er een myocarditis met hartaritmieën en hartblock tot gevolg. Bij andere honden worden soms nefropathie of neurologische disfuncties vastgesteld. De renale vorm is een combinatie van immuun-gemedieerde glomerulonephritis, diffuse tubulaire necrose met regeneratie en lymfo-plasmocyttaire interstitiële nefritis. Dit kan leiden tot acute of chronische nierinsufficiëntie en zelfs nierfalen. Golden retrievers, Labradors en Shetland sheepdogs lijken gepredisponeerd voor het ontwikkelen van nefropathie. Maar honden van elk ras, leeftijd en geslacht kunnen symptomen vertonen (Littman, 2003; Littman *et al.*, 2006; Krupka en Straubinger, 2010).

Veel andere teek-overdraagbare aandoeningen veroorzaken ongeveer dezelfde vage symptomen als borreliose. Teken zijn vaak met meerdere pathogenen tegelijkertijd geïnfecteerd, zoals *Anaplasma phagocytophylum*, *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *Bartonella spp.* en co-infecties komen dus geregeld voor. Het is dan ook niet uit te sluiten dat deze deels of volledig verantwoordelijk zijn voor het waargenomen klinisch beeld.

Bij de kat verloopt een infectie met *B. burgdorferi* ss bijna altijd subklinisch. Katten zijn wel gevoelig voor tekenbeten en zijn een mogelijke gastheer voor *Ixodes spp.* Maar tot op heden is er geen klinisch geval beschreven van borreliose bij de kat. Katten die experimenteel geïnfecteerd werden met de spirocheet ontwikkelden soms algemeen ziek zijn, manken, artritis en in zeldzame gevallen meningitis. Net als de hond ontstaan bij de kat ook antistoffen wanneer ze besmet worden met *B. burgdorferi* ss. In endemische gebieden kunnen dus variabele aantallen seropositieve katten voorkomen, weliswaar zonder symptomen. De reden waarom katten minder gevoelig reageren op een infectie met deze bacterie dan honden is nog niet gekend (Gibson *et al.*, 1995; Shaw *et al.*, 2001; Magnarelli *et al.*, 2005; Krupka en Straubinger, 2010).

## 5. DIAGNOSE

Borreliose diagnosticeren bij de hond of de kat is moeilijk. Een sluitende diagnose is niet mogelijk met een simpele test. Vaak zijn er slechts lage aantallen kiemen in het bloed aanwezig en de dieren kunnen subklinisch geïnfecteerd zijn. Het is dus belangrijk om steeds de context te bekijken en de diagnose stap voor stap aan te pakken bij elke verdachte patiënt.

De diagnose is gebaseerd op vijf criteria. Eerst wordt nagevraagd of het dier werd blootgesteld aan teken of leeft in een endemisch gebied (zie 2.). Er dienen typische klinische symptomen aanwezig te zijn (zie 4.) en andere mogelijke oorzaken moeten worden uitgesloten (zie 5.1). Het aantonen van het organisme of specifieke antistoffen is een goede indicatie om te besluiten tot de diagnose borreliose (zie 5.2). Ten slotte kan een positieve respons op antibioticatherapie ook wijzen in de richting van borreliose (zie 5.3 en 6.) (Skotarczak, 2002; Fritz en Kjemtrup, 2003; Littman, 2003; Songer en Post, 2005; Quinn *et al.*, 2007).

### 5.1. Andere oorzaken uitsluiten

Verschillende klinische symptomen die gezien kunnen worden bij borreliose zijn niet specifiek voor deze aandoening. Daarom is het belangrijk om de differentiaal diagnose in acht te nemen en andere mogelijke oorzaken uit te sluiten. Manken is een belangrijk symptoom bij borreliose, maar door trauma, immunogemedieerde aandoeningen, orthopedische problemen of neoplasie kunnen honden ook gaan manken. Om te bepalen of dit veroorzaakt wordt door borreliose dan wel door een andere oorzaak is het belangrijk om het signalement en de medische geschiedenis van het dier na te gaan en een grondig klinisch onderzoek uit te voeren. Infecties of co-infecties met *Ehrlichia sp.*, *Rickettsia sp.*, *Anaplasma phagocytophilum* en *Bartonella spp.* kunnen ongeveer hetzelfde klinisch beeld geven bij de hond als borreliose: manken, gezwollen gewrichten, algemene malaise en soms lymfadenopathie. Zeer veel uiteenlopende aandoeningen kunnen een dier algemeen ziek maken. Koorts ontstaat niet alleen bij infecties van virale, bacteriële of parasitaire aard, maar kan ook de kop opsteken bij inflammatie, immunogemedieerde ziekten of tumoren. Lymfadenopathie wijst op reactieve lymfeknopen door een bepaald pathogeen of op neoplastische ontarding ervan. Om deze opties uit te sluiten is verder

onderzoek nodig, zoals een bloedonderzoek, inclusief testen op infectieuze agentia, een urineonderzoek, foto's van de gewrichten en eventueel een echo. Wanneer er een vermoeden is van proteïn losing nefropathy (PLN), zijn bloeddruk, urine proteïne/creatinine ratio, urinecultuur, testen op hartworm en *Leptospira spp.* en de Coomb's test nuttige aanvullende onderzoeken (Littman, 2003; Littman *et al.*, 2006).

## 5.2. Aantonen van de bacterie of antistoffen via laboratoriumtesten

Het aantonen van *B. burgdorferi ss* of antistoffen tegen deze bacterie kunnen een hulpmiddel zijn in het stellen van de diagnose. Het is belangrijk steeds de resultaten van deze testen te interpreteren in hun context. Meestal worden indirecte testen gebruikt om de antistoffen in het bloed te bepalen, zoals immunofluorescentie, ELISA of Western blotting.

### 1) Immunofluorescentie (IF)

IF werd als eerste test ontwikkeld voor het opsporen van de ziekte van Lyme. Deze test wordt nu niet meer aangeraden. In vergelijking met de andere opties, vertoont IF meer kruisreactiviteit en interpretatie van het resultaat is niet volledig objectief (Luft *et al.*, 1994; Krupka en Straubinger, 2010).

### 2) ELISA en Western blotting

De klassieke ELISA, of enzym-linked immunosorbent assay, is betrouwbaarder dan IF en wordt nog steeds gebruikt in combinatie met Western blotting. ELISA heeft een hoge sensitiviteit, maar een lage specificiteit. Western blotting heeft daarentegen wel een hoge specificiteit en dient als bevestigingstest, wanneer de ELISA positief is. Een gestegen antistoffentiter is indicatief, maar niet diagnostisch. Een vals positief resultaat kan worden uitgelokt door een vroegere subklinische infectie, want antistoffen blijven maanden tot jaren aanwezig in het bloed. Een kruisreactie met andere gerelateerde bacteriën, zoals *Brachyspira sp.* of *Leptospira spp.* kan ook een stijging in antistoffen teweegbrengen. Geïnfecteerde honden testen vals negatief wanneer geen antistoffen aanwezig zijn op het moment van bepaling. Dit is het geval wanneer de testen werden uitgevoerd in het beginstadium van de infectie met *B. burgdorferi ss* of wanneer al vroeg tijdens de infectie antibiotica werden opgestart. De gedetecteerde antistoffen zijn IgG-antistoffen. IgM bepalen is nutteloos bij de hond, want symptomen ontwikkelen pas na het verschijnen van IgG in het bloed.

Geïnfecteerde honden kunnen onderscheiden worden van gevaccineerde honden door Western blotting. Natuurlijk besmette dieren hebben antistoffen tegen een groot aantal verschillende proteïnen van *B. burgdorferi ss*. Daar staat tegenover dat gevaccineerde dieren enkel antistoffen ontwikkelen tegen de proteïnen die in het vaccin werden opgenomen, bijvoorbeeld OspA. Dit is bijgevolg afhankelijk van het vaccin dat toegediend werd (Luft *et al.*, 1994; Skotarczak, 2002; Fritz en Kjemtrup, 2003; Littman, 2003; Krupka en Straubinger; 2010).

### 3) C6-gebaseerde ELISA testen

Recentere ELISA's zijn gebaseerd op het herkennen van antistoffen tegen het C6-peptide. Dit peptide is genoemd naar een deel van de invariabele regio zes (IR-6) op het VlsE oppervlakteproteïne. IR-6 is sterk geconserveerd in *B. burgdorferi* ss en vertoont een hoge, continue expressie tijdens alle stadia van *in vivo* infectie. Het C6-peptide is reeds aanwezig in het serum drie tot vijf weken na infectie, zelfs al voor het verschijnen van klinische symptomen en blijft tot 69 weken na infectie aanwezig in het bloed. Daarnaast is het erg immunogeen in honden. Bijgevolg kunnen een hoge sensitiviteit, 94 tot 100 procent, en een hoge specificiteit, meer dan 99 procent, verwacht worden. Het is nog niet aangetoond of dit effectief het geval is voor deze snelle test. Er zijn nog voordelen verbonden aan deze testen. Gevaccineerde honden testen negatief, zodat differentiatie tussen besmette en gevaccineerde honden mogelijk is. De test kan ook eenvoudiger gebeuren op grote aantallen stalen.

Een kwalitatieve C6-gebaseerde ELISA is commercieel beschikbaar om toe te passen in de praktijk, de SNAP 4Dx Test® (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME, USA). De SNAP-test controleert tegelijkertijd voor hartworm, *Anaplasma phagocytophilum* en *Ehrlichia canis*. Door het op de markt komen van deze snelle test en het eenvoudig gebruik ervan, worden meer honden onderzocht op infectie met *B. burgdorferi* ss (Fritz en Kjemtrup, 2003; Littman, 2003; Bowman *et al.*, 2009).

Het bloedstaal kan ook naar een labo gezonden worden voor een kwantitatieve C6-bepaling. Dit is interessant voor monitoring tijdens en na de antibioticatherapie. Hiervoor werd de C6 Quant ELISA® (IDEXX Laboratories Inc, ME, USA) ontwikkeld. Een analoge Western blotting is niet beschikbaar, omdat VlsE een lage expressie vertoont *in vitro* en de interpretatie ervan vaak onduidelijk is. Meer studies zijn nodig om deze assays te optimaliseren (Fritz en Kjemtrup, 2003; Littman, 2003; Littman *et al.*, 2006; Krupka en Straubinger, 2010; Little *et al.*, 2010).

### 4) Multiplex assay

Een multiplex assay kan verschillende antistoffen tegen *B. burgdorferi* ss tegelijk bepalen en kan ertussen differentiëren. Daardoor is het mogelijk om het infectiestadium vast te stellen. Deze assay is hoogst accuraat door de brede kwantificatierange in vergelijking met de klassieke ELISA's. Onderzoek toonde aan dat eerst antistoffen tegen Osp C in het bloed verschijnen, eenentwintig dagen na infectie, die daarna weer geleidelijk verdwijnen. Na twee tot vijf maanden komen antistoffen tegen FlaB en C6-peptiden tevoorschijn en na meer dan vijf maanden tegen Osp F. Dit kan nuttig zijn om het infectiestadium waarin het dier zich bevindt te bepalen, maar dit onderwerp dient eerst nog meer onderzocht te worden (Wagner *et al.*, 2012).

### 5) Cultuur

*B. burgdorferi* ss kweken op cultuur is moeilijk en wordt in praktijk zelden of nooit uitgevoerd, wegens de gespecialiseerde groeivoorwaarden. Ze groeien enkel op Barbour-Stoenner-Kelly medium onder micro-aërofiële omstandigheden. Incubatie moet gedurende zes weken gebeuren en meestal zijn slechts lage



aantallen bacteriën aanwezig in de weefsels (Songer en Post, 2005; Quinn *et al.*, 2007; Krupka en Straubinger, 2010).

#### 6) PCR

Specifiek DNA opsporen van *B. burgdorferi* ss met PCR is bruikbaar volgens enkele studies, waarbij primers tegen het *ospA*-gen of tegen het 23S rRNA-gen werden aangewend. De kiem is het vaakst terug te vinden in de huid, bindweefsel of synoviaal weefsel, maar bloed, urine of synoviaal vocht kunnen ook gebruikt worden. PCR is zeer specifiek, sensitief en snel. Bovendien heeft antibioticatherapie geen invloed op het resultaat. Toch wordt PCR nog niet op grote schaal toegepast omwille van de nadelen die eraan verbonden zijn. Het resultaat kan positief zijn door aanwezigheid van blebs, PCR is dus geen bewijs voor het voorkomen van levende bacteriën. Het opsporen van *B. burgdorferi* ss is ook niet evident, want meestal bevinden zich lage aantallen kiemen in de weefsels. Real-time PCR is nog niet gestandaardiseerd voor routinematig gebruik. Het is duurder dan de klassieke PCR, maar wel sneller en het geeft ook informatie over de aantallen kiemen (Straubinger *et al.*, 1997; Bauerfeind *et al.*, 1998; Skotarczak, 2002; Songer en Post 2005; Littman *et al.*, 2006; Wodecka *et al.*, 2009; Krupka en Straubinger, 2010).

### 5.3. Een positieve respons op antibioticatherapie

Wanneer de dierenarts beperkt is in het uitvoeren van onderzoeken om tot een diagnose te komen, kan een empirische antibioticatherapie uitgetoet worden. De meeste infectieuze agentia die een klinisch beeld veroorzaken gelijkend op borreliose reageren ook goed op doxycycline. Na enkele dagen is er dan een respons te zien en de aandoening wordt gediagnosticeerd als een doxycycline-responsieve-ziekte (Littman, 2003; Littman *et al.*, 2006).

## 6. BEHANDELING

Voor behandeling van borreliose bij de hond is antimicrobiële therapie noodzakelijk. Doxycycline (10 mg/kg, sid) is een van meest effectieve antibiotica bij een acute infectie. Dit lid van de tetracycline-familie heeft een goede orale absorptie en weefselverdeling. Bij opgroeiende dieren treedt er geelverkleuring van de tanden op bij toediening van tetracyclines, deze zijn dus tegenaangewezen bij jonge honden en katten.  $\beta$ -lactam-antibiotica, zoals ampicilline (11mg/kg, bid) kunnen in dat geval toegepast worden (Littman, 2003).

Doxycycline is ook werkzaam bij andere teek-overdraagbare ziekten die een gelijkaardig klinisch beeld geven, zoals anaplasmosis, ehrlichiosis,... (Little *et al.*, 2010).

De precieze behandelingsduur is afhankelijk van het gekozen antibioticum (Tabel 2.). Meestal wordt aangeraden om vier weken te behandelen. Een herhaling van de antibioticakuur is vaak niet nodig wanneer de behandeling gestart wordt in een vroeg stadium van de ziekte.

PCR op een bloedstaal kan gebruikt worden om behandeling van een vroege infectie te monitoren, gerelateerd aan het klinisch beeld. Honden die na de antimicrobiële therapie geen klinische symptomen meer vertonen, hebben vaak een negatieve PCR-test. Wanneer wel nog symptomen aanwezig zijn, is er meestal ook een positieve PCR-test. Het bloedstaal kan ook naar een labo gezonden worden voor een kwantitatieve C6-bepaling. Dit is een interessante ELISA voor monitoring tijdens en na de antibioticatherapie (Wodecka *et al.*, 2009; Krupka en Straubinger, 2010).

Het is nooit zeker of de infectie volledig zal verdwijnen na behandeling, *B. burgdorferi* ss persisteert gemakkelijk in het lichaam van de gastheer. Het is nog onduidelijk of blijvende symptomen het gevolg zijn van een persisterende infectie, herinfectie, van blijvende weefselschade of een immuun-gemedieerd probleem (Luft *et al.*, 1994).

Bij chronische borreliose is een therapie met ceftriaxone mogelijk (Tabel 2.). Dit blijkt effectiever dan penicilline en heeft vooral betrekking op de algemene symptomen. Ceftriaxone heeft belangrijke neveneffecten (o.a. neurotoxiciteit) bij de hond die de positieve effecten ervan kunnen overschaduwten. Het wordt dus eerder afgeraden om deze therapie toe te passen, des te meer omdat er enkel verbetering wordt waargenomen van de algemene symptomen (Krupp *et al.*, 2003). Wel blijken hoge doses penicilline soms werkzaam bij meningitis en meningo-encephalitis ten gevolge van *B. burgdorferi* (Luft *et al.*, 1994). Corticosteroïden aan anti-inflammatoire dosis kunnen gegeven worden bij chronische artritis (Littman, 2003).

Wanneer er sprake is van nefropathie, wordt een therapie aangeraden om de nierschade tegen te gaan, aangevuld met doxycycline. Er wordt een ACE-inhibitor gegeven om de proteïnurie te behandelen en lage doses aspirine (0.5 mg/kg, sid) voor een anti-thrombotisch effect. Wanneer bij maandelijkse controle de bloeddruk nog te hoog is, kan amlodipine toegevoegd worden aan het behandelingsschema. Als er enkel proteïnurie wordt waargenomen, zonder andere klinische symptomen, kan men de hond maandelijks monitoren. Dit houdt in dat men steeds een biochemische screening uitvoert, de bloeddruk meet en de proteïne/creatinine ratio in de urine bepaalt. Een intensieve behandeling is noodzakelijk wanneer de hond naast de nefropathie ook algemeen ziek is (dehydratatie, anorexie, braken). Deze bestaat onder andere uit: een dieetaanpassing, vloeistoftherapie, eventueel colloid ondersteuning, ... Een nefropathie secundair aan borreliose die geen respons vertoont op antimicrobiële therapie is fataal (Littman, 2003; Littman, 2013).

Veel honden vertonen geen klinische symptomen, maar testen toch positief. De vraag kan dan gesteld worden of deze honden behandeling nodig hebben. De meeste auteurs zijn het erover eens dat behandelen niet nodig is, preventie en monitoring worden wel aangeraden. In het geval dat symptomen

ontwikkelen of proteïnurie wordt vastgesteld, wordt een therapie best opgestart. Het limiteren van antibioticagebruik bij seropositieve honden vermijdt het ontstaan van antibioticaresistentie op grote schaal. Bovendien zit *B. burgdorferi* ss vaak op moeilijk bereikbare plaatsen voor de antibiotica, zoals in collageen (Fritz en Kjemtrup, 2003; Littman, 2003).

<b>Antibioticum</b>	<b>Periode (dagen)</b>	<b>Toedieningsweg</b>	<b>Dosis</b>
Doxycycline	30	P.O.	10 mg/kg sid
Amoxicilline	30	P.O.	20 mg/kg tid
Azithromycine	10 tot 20	P.O.	25 mg/kg sid
Penicilline G	14 tot 30	I.V.	22 000 U/kg tid
Cefotaxime	14 tot 30	I.V.	20 mg/kg tid
Ceftriaxone	14 tot 30	I.V. of S.C.	25 mg/kg sid

Tabel 2. Antibiotica en bijhorende therapieprotocols die gebruikt kunnen worden als behandeling van borreliose bij de hond (Naar Krupka en Straubinger, 2010).

## 7. PREVENTIE

### 7.1. Tekenbestrijding

Heel belangrijk in de preventie van borreliose is controle van de vector en verhinderen van transmissie naar de gastheer. Ten eerste wordt aangeraden om endemische gebieden te vermijden in de mate van het mogelijke. Dit is in realiteit niet altijd eenvoudig, aangezien sommige mensen en hun huisdieren vlakbij bossen en vegetatie typisch voor teken wonen. Ten tweede is een dagelijkse tekencontrole ook zeer effectief als preventieve maatregel, want de transmissie van *B. burgdorferi* ss neemt 24 tot 48 uur in beslag. Infectie met andere teek-overdraagbare organismen kan zo eveneens vermeden worden.

Ten derde is het optimaal gebruik van acariciden bij de hond en de kat van belang. Een eerste mogelijkheid is de amitraz halsband (niet als geneesmiddel op de markt in België). Deze halsband is niet waterbestendig en is giftig na orale opname, wat hem ongeschikt maakt voor honden die veel zwemmen of met andere honden samenleven wegens het gevaar voor intoxicatie (Littman, 2003). De volgende geneesmiddelen tegen teken zijn wel geregistreerd in België. Een topicaal product met amitraz en metaflumizone (ProMeris Duo<sup>TM</sup>, Fort Dodge, spot-on) of fipronil (Frontline®, Merial, spray of spot-on) kan wel bij honden veilig worden toegepast. Fipronil is ook uitstekend bij katten te gebruiken. Een volgende

groep acariciden zijn de permethrine-bevattende producten (Defendog®, Virbac, spray) eventueel in combinatie met imidacloprid (Advantix®, Bayer, spot-on). Deze mogen niet bij de kat worden toegepast. Er zijn nu ook propoxur geïmpregneerde halsbanden op de markt met (Kiltix® honden, Bayer) of zonder flumethrine (Propoxur® halsband, Bayer) en een pyriprole-bevattende spot-on (Prac-tic®, Novartis) voor de hond (Anonymous, 2007).

## 7.2. Vaccinatie

Vaccinatie kan ook een onderdeel zijn van de preventie van borreliose bij de hond. Het is essentieel om op te merken dat enkel naïeve dieren effectief gevaccineerd kunnen worden. Momenteel zijn er in Europa en de VS enkele vaccins op de markt voor honden. Een eerste vaccin is een bacterin en bevat de volledige bacterie (Chu *et al.*, 1992; Day *et al.*, 2010). Een tweede vaccin is het recombinant OspA-subunit vaccin (Merlilym 3®, Merial) dat via een complement-mechanisme ervoor zorgt dat OspA-antistoffen *B.burgdorferi* ss aanvallen in het spijsverteringsstelsel van de teek. Dit is de plaats waar deze bacterie OspA het meest tot expressie brengt (Steere *et al.*, 1998; Day *et al.*, 2010). Nog recenter is het recombinant OspC-subunit vaccin ontwikkeld, dit is nog niet geregistreerd. De transmissie wordt verhinderd, doordat kolonisatie van de speekselklieren van de teek niet kan doorgaan (Day *et al.*, 2010). Als laatste is er een bivalent *B. burgdorferi* ss bacterin (Nobivac Lyme, Intervet-Schering Plough) dat zowel antistoffen tegen OspA als tegen OspC opwekt. Onder experimentele omstandigheden werd aangetoond dat met dit vaccin gevaccineerde honden seronegatief bleven na infectie en vrij van klinische symptomen ten opzichte van de controlegroep, waaruit geconcludeerd werd dat dit vaccin een hoge bescherming biedt tegen borreliose (La Fleur *et al.*, 2009; La Fleur *et al.*, 2010). Voor al deze vaccins geldt dat geen beschermende immuniteit wordt opgebouwd wanneer de dieren reeds geïnfecteerd werden of seropositief waren voor de vaccinatie. Wanneer vaccinatie tegen borreliose overwogen wordt, is het aangeraden om de hond te controleren op antilichamen voor de vaccinatie.

Men start met twee initiële vaccinaties met een tussentijd van drie weken, nadien is jaarlijks een booster nodig, aangezien de antistoftiter afneemt met de tijd. De jaarlijkse vaccinatie wordt best geplaatst net voor het tekenseizoen begint, dus in februari of maart (Littman, 2003; Day *et al.*, 2010). Er worden geen antistoffen geïnduceerd die op te sporen zijn met de C6-peptide gebaseerde testen wanneer gebruik wordt gemaakt van subunit vaccins. Bacterins induceren daarentegen wel andere antistoffen die ervoor zorgen dat onderscheid tussen gevaccineerde en natuurlijk geïnfekteerde dieren niet meer mogelijk is (Little *et al.*, 2010).

## 8. ZOONOTISCH ASPECT

Er wordt aangenomen dat mensen niet direct of indirect besmet worden door honden met *B. burgdorferi* ss. De spirocheten zijn wel terug te vinden in urine, speeksel en feces van geïnfekteerde honden, maar horizontale overdracht is weinig waarschijnlijk. Een studie toonde aan dat er geen significant verband bestaat tussen de seropositiviteit van honden en de seropositiviteit van hun eigenaars (Goossens *et al.*, 2001; Skotarczak, 2002).

Borreliose is waarschijnlijk geen zoönose in de enge zin van het woord, maar de nabijheid van geïnfekteerde katten en honden verhoogt wel het risico voor de mens op besmetting met *B. burgdorferi* ss. De mens heeft meer kans op infectie met *B. burgdorferi* ss door het wandelen of verblijven in endemische gebieden, zeker tussen juni en oktober, wanneer de teken het actiefst zijn. Honden en katten fungeren als transportgastheer voor geïnfekteerde teken en kunnen de bacterie zo verder verspreiden. Gezelschapsdieren leven dicht bij de mens en brengen teken in de nabijheid van hun eigenaars. Daardoor hebben deze mensen een hogere kans op infectie met *B. burgdorferi* ss. Onderzoek toonde aan dat er een verband is tussen het aantal mensen met de ziekte van Lyme in een bepaalde regio en meer blootstelling van honden aan teken in die regio (Fritz en Kjemtrup, 2003; Duncan *et al.*, 2004; Quinn *et al.*, 2007; Bowman *et al.*, 2009; Little *et al.*, 2010).

Preventie tegen tekenbeten is dus zeer belangrijk, want dit is de primaire vorm van verspreiding van borreliose. Mensen en huisdieren worden best dagelijks nagekeken na verblijf in endemisch gebied en eventuele teken moeten worden verwijderd. Er zijn veel middelen op de markt die kunnen aangewend worden als bescherming tegen teken (Fritz en Kjemtrup, 2003).

## BESPREKING

Borreliose is een ziekte die in belang toeneemt. Het is een zeldzame aandoening, maar de laatste jaren is er in België een gestegen prevalentie vastgesteld. Het is dus belangrijk dat dierenartsen de vage symptomen leren herkennen en weten hoe ze tot een diagnose komen. De diagnose kan tot nu toe niet met zekerheid gesteld worden, omdat er geen pathognomonische aanwijzingen zijn en omdat er geen sluitende testen bestaan. De uitdaging voor de dierenarts is om borreliose niet te vergeten en in het achterhoofd te houden wanneer een patiënt aangeboden wordt met artritis, manken en eventueel algemeen ziek zijn. Behandeling van klinisch aangetaste dieren is mogelijk, maar preventie is de belangrijkste maatregel in de bestrijding van borreliose. Eén van de redenen hiervoor is dat huisdieren de kans op besmetting van de mens met *B. burgdorferi* verhogen. Een goede communicatie naar de eigenaar toe is dus belangrijk.

Bij de meeste honden die geïnfecteerd worden met *B. burgdorferi* ss verloopt de aandoening subklinisch. Het is nog niet bekend waarom sommige honden wel klinische symptomen ontwikkelen en andere niet. Waarom de kat geen symptomen vertoont, dient ook nog verder onderzocht te worden. Enkel onder experimentele omstandigheden konden al ziekteverschijnselen bij de kat worden uitgelokt (Gibson *et al.*, 1995).

Preventie is noodzakelijk om het voorkomen van borreliose terug te dringen. Er is consensus in de literatuur dat het gebruik van acariciden en het dagelijks manueel controleren en verwijderen van de teken een goed resultaat oplevert. Er bestaat wel nog discussie of vaccinatie zinvol is, om meerdere redenen. De effectiviteit van de vaccins is onvolledig. Het volledige cel-bacterin vaccin en het recombinant OspA-subunit vaccin leiden slechts in 60 tot 80 procent van de gevallen tot een voldoende hoge productie van antilichamen tegen *B. burgdorferi* ss (Levy, 2002; Day, 2010). Doordat soms een onvolledige bescherming ontwikkeld wordt na vaccinatie, blijft infectie wel nog mogelijk (Little *et al.*, 2010). Daarbovenop is 95 procent van de besmette honden asymptomatisch en is het niet bewezen of klinische symptomen ook vermeden worden door vaccinatie. Wanneer honden toch klinische symptomen ontwikkelen na infectie, kunnen de meesten succesvol behandeld worden met een goedkope, eenmalige antibiotica-therapie, wanneer ze nog in de acute fase van de ziekte zijn. Vaccinatie blijkt misschien wel nuttig bij individuele honden die in endemische gebieden leven, vaak in aanraking komen met teken en die genetisch gepredisponeerd zijn voor nefropathie, aangezien deze complicatie fataal kan verlopen.

## REFERENTIELIJST

Anonymous (2007), Bestrijding van teken, een overzicht van bestaande geneesmiddelen. Folia Veterinaria. Internetreferentie: <http://www.bcfi-vet.be/nl/nlinfos/nlfolia/07FVN1c.pdf> (geconsulteerd op 7 juli 2013).

Barbour A.G., Hayes S.F. (1986), Biology of *Borrelia* Species. Microbiological Reviews 50, 381-400.

Bauerfeind R., Kreis U., Weiß R., Wieler L.H., Baljer G. (1998), Detection of *Borrelia burgdorferi* in urine specimens dogs by a nested polymerase chain reaction. Zentralblatt für Bakteriologie 287, p. 347-361.

Bolderdijk R. (2013), Informatie over de ziekte van Lyme en andere tekeninfecties: Geschiedenis. Internetreferentie:

[http://www.borreliose.nl/index.php?option=com\\_content&task=blogsection&id=29&Itemid=70](http://www.borreliose.nl/index.php?option=com_content&task=blogsection&id=29&Itemid=70)

(geconsulteerd op 6 juli 2013).

Bowman D.D., Little S.E., Lorentzen L., Shields J., Sullivan M.P., Carlin E.P. (2009), Prevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum* in dogs in the United States: results of a national clinic-based serologic survey. Veterinary Parasitology 160, p. 138-148.

Chu H.J., Chavez L.G., Blumer B.M., *et al.* (1992), Immunogenicity and efficacy study of a commercial *Borrelia burgdorferi* bacterin. Journal of the American Veterinary Medical Association 201, p. 403-411.

Claerebout E., Losson B., Cochez C., *et al.* (2013), Ticks and associated pathogens collected from dogs and cats in Belgium. Parasites and Vectors 6, p. 1-9.

Day M.J., Horzinek M.C., Schultz R.D. (2010), Guidelines for the vaccination of dogs and cats. Journal of Small Animal Practice 51, p. 349.

Duncan A.W., Correa M.T., Levine J.F., Breitschwerdt E.B. (2004), The dog as a sentinel for human infection: prevalence of *Borrelia burgdorferi* C6 antibodies in dogs from southeastern and mid-Atlantic states. Vector Borne Zoonotic Diseases 4, p. 221-229.

Euzeby J.P. (2013), List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet. Internetreferentie: <http://www.bacterio.net/index.html> (geconsulteerd op 5 augustus 2013)

Fritz C.L., Kjemtrup A.M. (2003), Zoonosis Update: Lyme borreliosis. Journal of the American Veterinary Medical Association 223, p. 1261-1270.

Gibson M.D., Omran M.T., Young C.R. (1995), Experimental feline Lyme borreliosis as a model for testing *Borrelia burgdorferi* vaccines. Advances in Experimental Medicine and Biology 38, p. 373-382.

Goossens H.A., van den Bogaard A.E., Nohlmans M.K. (2001), Dogs as sentinels for human Lyme borreliosis in the Netherlands. *Journal of Clinical Microbiology* 39, p. 844-848.

Inokuma H., Maetani S., Fujitsuka J., *et al.* (2013), Astasia and Pyrexia Related to *Borrelia garinii* Infection in Two Dogs in Hokkaido, Japan. *The Journal of veterinary medical science* 75, p. 975-978.

Johnson R.C., Schmid G.P., Hyde F.W., Steigerwalt A.G., Brenner D.J. (1984), *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: Etiologic Agent of Lyme Disease. *International Journal of Systematic Bacteriology* 34, p. 496-497.

Krupka I., Straubinger R.K. (2010), Lyme Borreliosis in dogs and Cats: Background, Diagnosis, Treatment and Prevention of Infections with *Borrelia burgdorferi* sensu stricto. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 40, p. 1103-1119.

Krupp L.B., Hyman L.G., Grimson R., Coyle P.K., *et al.* (2003), Study and treatment of post Lyme disease (STOP-LD): a randomized double masked clinical trial. *Neurology* 60, p. 1923-1930.

Kurtenbach K., De Michelis S., Etti S., Schäfer S.M., Sewell H.S., Brade V., Kraiczy P. (2002), Host association of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. The key role of host complement. *Trends in Microbiology* 10, p. 74-79.

La Fleur L.R., Dant J.C., Wasmoen T.L., *et al.* (2009), Bacterin that Induces Anti-Osp A and Anti-Osp C Borreliacidal Antibodies Provides a High Level of Protection against Canine Lyme Disease. *Clinical and Vaccine Immunology* 16, p. 253-259.

La Fleur L.R., Callister S.M., Dant J.C., *et al.* (2010), One-Year Duration of Immunity Induced by a Vaccination with a Canine Lyme Disease Bacterin. *Clinical and Vaccine Immunology* 17, p. 870-874.

Levy S. (2002), Use of a C6 ELISA test to evaluate the efficacy of a whole-cell bacterin for the prevention of naturally transmitted canine *Borrelia burgdorferi* infection. *Veterinary Therapeutics* 3, p. 420-424.

Liang J.G., Zhang Z.F. (1996), Analysis of rRNA gene restriction fragment length polymorphism of *B. burgdorferi* sensu lato isolated in China. *Chinese Journal of Microbiology and Immunology*. 16, p. 359-362.

Little S.E. Heise S.R., Blagburn B.L., Callister S.M., Mead P.S. (2010), Lyme borreliosis in dogs and humans in the USA. *Trends in Parasitology* 26, p. 213-218.

Littman M.P. (2003), Canine borreliosis. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 33, 827-862.

Littman M.P., Goldstein R.E., Labato M.A., *et al.* (2006), ACVIM Small Animal Consensus Statement on Lyme Disease in Dogs: Diagnosis, Treatment and Prevention. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20, p. 422-434.



Littman M.P., VMD, DACVIM (2013), Lyme nephritis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 10, p. 1-11.

Luft B.J., Bosler E.M., Dattwyler R.J. (1994), Lyme borreliosis. *International Journal of Antimicrobial Agents* 3, 251-258.

Magnarelli L.A., Bushmich S.L., Ijdo J.W. (2005), Seroprevalence of antibodies against *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* in cats. *American Journal of Veterinary Research* 66, p. 1885-1889.

Meis J. F. G. M., Nohlmans M. K. E. (1995), Lyme-borreliose: ook in Nederland. *Tijdschrift van Huisartsengeneeskunde* 12, p. 369-372.

Mot D. (2010), Onderzoek naar de prevalentie van *Borrelia spp.* Bij teken afkomstig van honden en katten in België. Masterproef Faculteit Diergeneeskunde, Gent, p. 8-13.

Quinn P.J., Markey B.K., Carter M.E., Donnelly W.J., Leonard F.C. (2007), *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*, Blackwell Science Ltd, Oxford, p. 175 en p. 179-182.

Rosa P.A., Tilly K., Stewart P.E. (2005), The burgeoning molecular genetics of the lyme disease spirochaete. *Nature Reviews Microbiology* 3, p. 129-143.

Shaw S.E., Birtles R.J., Day M.J. (2001), Arthropod-transmitted infectious diseases of cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 3, p. 193-209.

Shih C.M., Chang H.M., Chen S.L., Chao L.L. (1998), Genospecies identification and characterization of Lyme disease spirochetes of genospecies *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolated from rodents in Taiwan. *Journal of Clinical Microbiology* 36, p. 3127-3132.

Shulze R.D., Zückert W.R. (2006), *Borrelia burgdorferi* lipoproteins are secreted to the outer surface by default. *Molecular Microbiology* 59, p. 1473-1484.

Skotarczak B. (2002), Canine Borreliosis – Epidemiology and Diagnostics. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 9, 137-140.

Skotarczak B. (2009), Adaptation of *Borrelia* for Host and Vector. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 16, p. 1-8.

Songer J.G. Post K.W., (2005), *Veterinary Microbiology, Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease*, Elsevier Saunders, Arizona, p. 255-260.

Steere A.C., Sikand V.K., Meurice F., *et al.* (1998), Vaccination against Lyme disease with recombinant *Borrelia burgdorferi* outer-surface lipoprotein A with adjuvant. *The New England Journal of Medicine* 339, p. 209-215.

Stevenson B., Tilly K., Rosa P.A. (1996), A family of genes located on four separate 32-kilobase circular plasmids in *Borrelia burgdorferi* B31. *Journal of Bacteriology* 178, p. 3508-3516.

Straubinger R.K., Summers B.A., Chang Y.F., Appel M.J. (1997), Persistence of *Borrelia burgdorferi* in experimentally infected dogs after antibiotic treatment. *Journal of Clinical Microbiology* 35, p. 111-116.

Straubinger R.K., Straubinger A.F., Summers B.A., *et al.* (1998), *Borrelia burgdorferi* Induces the Production and Release of Proinflammatory Cytokines in Canine Synovial Explant Cultures. *Infection and Immunity* 66, p. 247-258.

Wagner B., Freer H., Rollins A., *et al.* (2012), Antibodies to *Borrelia burgdorferi* Osp A, Osp C, Osp F and C6 Antigens as Markers for Early and Late Infection in Dogs. *Clinical and Vaccine Immunology* 12, p. 527-535.

Wang G., Van Dam A.P., Schwartz I., Dankert J. (1999), Molecular Typing of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato: Taxonomic, Epidemiological and Clinical Implications. *Clinical Microbiology Reviews* 12, 633-653.

Wodecka B., Rymaszewska A., Sawczuk M., Skotarczak B. (2009), Detectability of Tick-borne Agents DNA in the Blood of Dogs, Undergoing Treatment for Borreliosis. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 16, p. 9-14.

Wright D. J. M. (2009), Borrel's accidental legacy. *Clinical Microbiology and Infection* 15, p. 397-399.