

Twee postmortaal vastgestelde gevallen van leptospirose bij de hond

N.H.M.T. Peperkamp^{1*}, L. Szeredi², R.A. Hartskeerl³ en D.J. Houwers⁴

Tijdschr Diergeneeskd 2007; 132: 604-607

Oorspronkelijk artikel

SAMENVATTING

Leptospirose werd postmortaal gediagnosticeerd bij twee honden, een twee jaar oude Argentijnse dog en een foxhoundpup van zeven weken oud, beiden reu. Er was geen relatie tussen beide gevallen. Klinische verschijnselen beperkten zich hoofdzakelijk tot maagdarmklachten. Bij het pathologisch onderzoek werden laesies aangetroffen die passen bij acute leptospirose. Infectie met leptospiren werd vastgesteld op basis van serologische technieken (indirecte IgM/IgG ELISA en MAT) en immunohistochemie.

SUMMARY

Post-mortem diagnosis of leptospirosis in two dogs

Leptospirosis was diagnosed post-mortem in a 2-year-old male Dogo Argentino and a 7-week-old male Foxhound puppy. The two cases were unrelated. Clinical symptoms were mainly confined to the gastro-intestinal tract. Pathological lesions were suggestive of acute leptospirosis. Leptospire infection was confirmed by serological (indirect IgM/IgG ELISA and MAT) and immunohistochemical techniques.

INLEIDING

Leptospirose komt bij de hond wereldwijd voor en wordt veroorzaakt door verschillende serovars van *Leptospira interrogans* en *L. kirschneri*. Enkele serovars vertonen een hoge mate van gastheerspecificiteit, maar de meeste serovars komen bij meerdere diersoorten voor. Uit 'serosurveys' en uit patiëntgebonden onderzoek blijkt dat de mens en de hond deels door dezelfde serovars worden geïnfecteerd, hetgeen verband houdt met blootstelling aan dezelfde omgevingsfactoren (11, 13). Omdat leptospireninfecties niet altijd gepaard gaan met specifieke symptomen en vanwege een mogelijk subklinisch verloop worden deze infecties zowel bij de mens als bij de hond vaak niet onderkend. Subklinisch geïnfecteerde dieren vormen het reservoir van waaruit de mens en andere gevoelige dierlijke gastheren direct of indirect kunnen worden besmet. De hond is het belangrijkste reservoir van serovar Canicola, die een acute tot chronische interstitiële nefritis kan veroorzaken. Echter, als gevolg van vaccinatie van een groot deel van de hondenpopulatie komt deze serovar

nauwelijks meer voor in Nederland (5). Wereldwijd worden de serovars Icterohaemorrhagiae, Grippothyphosa, Pomona en Bratislava regelmatig aangetoond als verwekkers van leptospirose bij de hond (1, 2, 3, 4, 10, 15, 18).

Serovar Icterohaemorrhagiae kan bij de hond verschillende, elkaar gedeeltelijk overlappende klinische symptomen veroorzaken: 1) sepsisverschijnselen, gepaard gaande met acute haemorrhagische diathese, 2) leverlijden met icterus en haemorrhagiën en 3) braken, bloederige diarree en acuut nierfalen (17). Deze (sub)acute ziekteverschijnselen vallen gezamenlijk onder de noemer ziekte van Weil. De bruine rat (*Rattus norvegicus*), een belangrijk reservoir van serovar Icterohaemorrhagiae, scheidt de bacterie uit in de urine waardoor onder andere oppervlaktewater wordt besmet (5). Acute septicaemisch verlopende vormen van leptospirose kunnen worden veroorzaakt door verschillende serovars, afhankelijk van de virulentie van de bacterie en de vatbaarheid van de gastheer. Bij deze acute vormen van leptospirose wordt vaak de virulente serovar Icterohaemorrhagiae gevonden, maar ook wel andere, waaronder serovar Canicola (4).

Diverse recente Noord-Amerikaanse publicaties melden gevallen van canine leptospirose als gevolg van infecties met de serovars Grippothyphosa, Pomona en Bratislava (1, 2, 3, 10, 13, 15, 18). Dit wordt verklaard door het in toenemende mate delen van dezelfde leefomgeving door het wildreservoir (wasberen, stinkdieren en opossums) en de hond en door de voor overleving van leptospiren gunstige klimatologische omstandigheden. Een recent onderzoek in Zuid-Duitsland toont aan dat in de periode 1990 tot 2003 vooral de serovars Grippothyphosa en Saxkoebing, naast de serovars Icterohaemorrhagiae, Canicola en Bratislava, werden aangetoond als veroorzaker van leptospirose bij de hond (4). Of klinische infecties met deze serovars ook in Nederland voorkomen, is niet bekend, maar er zijn wel MAT-titers tegen deze serovars in onze hondenpopulatie aangetroffen.

De klinische verschijnselen van leptospirose zijn vaak weinig specifiek en variëren van peracut tot chronisch, afhankelijk van leeftijd en afweer van de patiënt, de infecterende serovar en de infectiedosis. Echter, bij de meeste patiënten treden nierfalen en leverlijden op de voorgrond (13).

Dit case-report beschrijft de postmortale diagnose van leptospirose bij twee honden op basis van (histo)pathologisch, immunohistochemisch en serologisch onderzoek.

CASUS

Kliniek

Een twee jaar oude Argentijnse dog, waakhond op een bedrijf, braakte sinds een week zonder verdere verschijnselen. Het klinisch consult op locatie werd bemoeilijkt door het gedrag van de patiënt. Er werd een behandeling met amoxicilline-clavulaanzuur en metoclopramide ingesteld. Bij het volgende consult, een week later, was de hond apathisch en niet in staat om te lopen. De patiënt was icterisch en anemisch, vertoonde melaena en verkeerde in shock. In verband met de

¹ veterinaire patholoog, GD b.v., Deventer.

* correspondentie: k.peperkamp@gddventer.com.

² Central Veterinary Institute, Boedapest, Hongarije.

³ Koninklijk Instituut voor de Tropen, WHO/FAO/OIE and National Leptospirosis Reference Centre, Amsterdam.

⁴ Veterinair Microbiologisch Diagnostisch Centrum/afdel. Klinische Infectiologie, Faculteit der Diergeneeskunde, Utrecht.

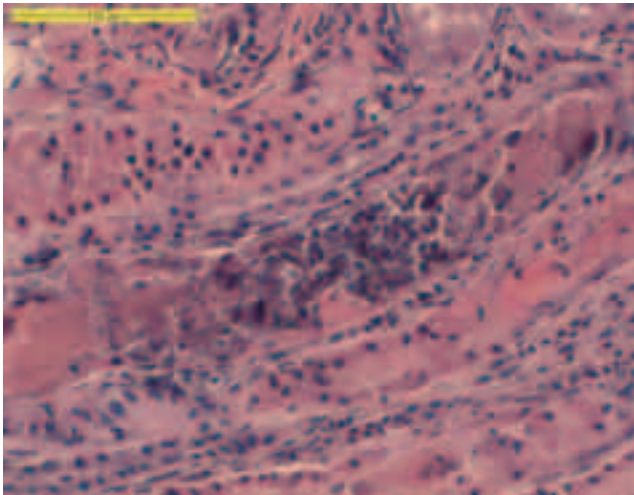


Foto 1. Argentijnse dog, nier (HE-kleuring): acute tubulonefrose met lokaal verkalking alsmede enkele plasmacellen in het interstitium.

slechte lichamelijke toestand werd tot euthanasie besloten, waarna sectie werd verricht.

Bij de tweede casus stierven plotseling verscheidene zeven weken oude foxhoundpups uit één nest na een dag diarree. Een van deze pups werd ter sectie aangeboden.

Pathologie

Casus 1

Naast icterus viel macroscopisch een invaginatie op van circa vijftien centimeter van het jejunum/ileum in het colon. De dunne en de dikke darm waren hyperaemisch en gevuld met bloederige inhoud. In de dunne darm bevonden zich enkele spoelwormen. De maag was leeg en hyperaemisch. Lever, nieren en milt waren niet afwijkend. De hond werd in bevroren toestand aangeboden, hetgeen de beoordeling van de organen bemoeilijkt.

Casus 2

Ook in dit geval was er sprake van icterus en een invaginatie van circa tien centimeter van de dunne darm in de dikke darm, wat gepaard ging met een darmprolaps. Overige bevindingen waren een bont getekend myocard met bloedingen, een gering hydropericard, pulmonale haemorrhagieën, en petechiën in het diafragma en in het peritoneum, passend bij haemorrhagische diathese. De nieren waren bleek en de lever was niet afwijkend.

Bij microscopisch onderzoek van hart, longen, lever en nieren van beide honden werd een fibrinoïde degeneratie van bloedvatjes en lokale bloedinkjes aangetroffen. In beide gevallen vertoonde het myocard een multifocale degeneratie van hartspiercellen met enige dystrofische verkalking. In de nieren werd een acute tubulonefrose/nefritis aangetroffen, gekenmerkt door necrose en verkalking van tubulusepitheel, plaatselijk enig acuut tubulair ontstekingsinfiltraat en een geringe lokale interstitiële plasmacellulaire ontsteking, waarbij de veranderingen in de eerste casus uitgebreider aanwezig waren dan in de tweede (foto 1). Naast een geringe interstitiële plasmacellulaire ontsteking in de longen werd bij de pup verkalking aangetroffen in de alveolaire wanden. In de eerste casus werd uitgebreide verkalking waargenomen in het maagepitheel, vergezeld van ontsteking en intimaverkalking van arteriolen in de submucosa. Zowel bij de twee jaar oude hond als bij de pup vertoonde de lever leverceldissociatie,

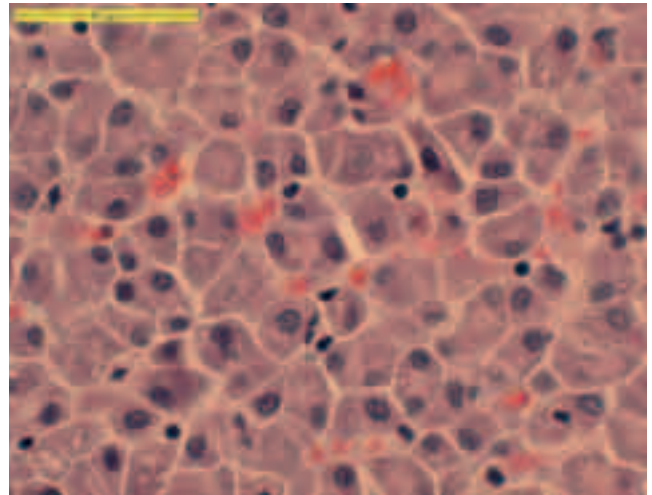


Foto 2. Foxhoundpup, lever (HE-kleuring): leverceldissociatie en anisocytose.

anisocytose, mitosefiguren in hepatocyten als kenmerk van regeneratie en een reactieve hepatitis (foto 2). Bij de twee jaar oude hond was er tevens sprake van cholestase.

Serologie en immunohistochemie

Op grond van de histologische bevindingen werd op het serum van de pup een anti-leptospiren-IgM/IgG-antilichaambepaling (indirecte ELISA, VMDC, Faculteit der Diergeneeskunde) uitgevoerd. De IgM-titer bedroeg 1:2560 en de IgG-titer 1:640. Tevens werd op hetzelfde monster een Microscopische Agglutinatie Test (MAT, Koninklijk Instituut voor de Tropen, WHO/FAO/OIE and National Leptospirosis Reference Centre) uitgevoerd. De MAT-titer bedroeg 1:20 ten aanzien van serovar Icterohaemorrhagiae. Het serum vertoonde geen reactie ten aanzien van de serovars Bratislava, Ballum, Canicola, Grippotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Pomona, Proechimys, Hardjo, Saxkoebing en Sejroe.

Van de eerste casus is geen serum bewaard, noch werd weefselvocht voor serologisch onderzoek verzameld.

De Warthin-Starry-zilverkleuring, een histologische techniek om spirocheten aan te kleuren, op lever- en nierweefsel verliep in beide gevallen negatief.

Een immunohistochemisch onderzoek naar leptospiren met behulp van een multivalent, fluoresceïne isothiocyanaat geconjugeerd antiserum op in formaline gefixeerd en in paraffine ingebed orgaanweefsel (Central Veterinary Institute, Boedapest, Hongarije) leverde bij de Argentijnse dog een positief resultaat op in de lever en de milt. De nier, long, maag en dunne darm waren negatief. In het geval van de foxhoundpup vertoonden de lever, nier, milt, long en dunne darm een positieve reactie (foto 3).

DISCUSSIE

Bij beide honden werd postmortaal een (sub)acute septicaemische leptospirose vastgesteld. In beide gevallen was deze (sub)acute vorm van leptospirose klinisch niet herkenbaar als de ziekte van Weil. De klinische verschijnselen beperkten zich bij de pup en zijn nestgenoten tot diarree en plotselinge sterfte en bij de Argentijnse dog aanvankelijk tot maagdarmklachten. De bij het pathologisch onderzoek aangetroffen afwijkingen (icterus, haemorrhagische diathese, tubulonefrose, verkalking en darminvaginaties) passen bij een acute septi-

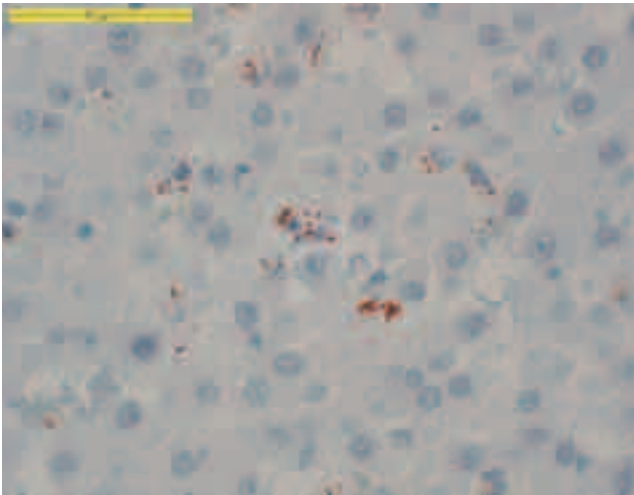


Foto 3. Foxhoundpup, lever: leptospirenantigenen aangetoond door middel van immunohistochemische kleuring met multivalent leptospiren-antiserum.

chaemische infectie met leptospiren. In een ander onderzoek kwam darminvaginatie, te beschouwen als secundair optredend verschijnsel, voor bij circa 50 procent van het aantal pups met leptospirose (7). De eerdergenoemde specifieke klinische symptomen als depressie, anorexia, braken en bloederige diarree worden overigens ook gerapporteerd bij patiënten met een darminvaginatie als gevolg van een acute (gastro-)enteritis (17). Bij honden met maagdarmklachten, leidend tot darminvaginatie, zou men daarom differentieel-diagnostisch rekening moeten houden met leptospirose.

De histopathologische bevindingen duiden differentieel-diagnostisch op leptospirose. Postmortaal kan deze diagnose worden gesteld met behulp van immunohistochemisch onderzoek op weefselcoupes, waarbij leptospirenantigenen worden aangetoond met behulp van een specifiek multivalent antiserum (14). In beide casus werden leptospiren aangetoond in diverse organen. In het geval van de Argentijnse dog bleek het immunohistochemisch onderzoek diagnostisch de uitkomst te bieden, omdat van deze hond geen serum of weefselvocht voorhanden was.

Bij het levende dier wordt de diagnose meestal niet gebaseerd op bacteriologisch onderzoek, omdat het kweken en identificeren van leptospiren tijdrovend is. Naast de klinische verschijnselen en het hematologisch en biochemisch onderzoek wordt de etiologische diagnose veelal gesteld aan de hand van serologisch onderzoek. Met behulp van de IgM/IgG-ELISA wordt een acute infectie aangetoond indien een hoge IgM-titer aanwezig is (gecombineerd met een lagere IgG-titer), tenzij de hond onlangs (minder dan drie maanden eerder) is gevaccineerd. De ziekteverschijnselen zijn gerelateerd aan het verloop van de IgM-titer, waarbij IgM door de vorming van immuuncomplexen een rol speelt als complementactivator (6). De pathogenese van leptospirose lijkt dan ook immuun-gemedieerd.

De MAT detecteert agglutinerende antilichamen. Echter, omdat een positieve uitslag gebaseerd is op seroconversie of een significante titerstijging met een interval van twee tot drie weken, is de MAT minder geschikt voor de diagnostiek in de acute fase van de ziekte. De MAT heeft daarentegen het voordeel dat de test aanwijzingen kan geven voor de infecterende serovar; in het geval van tweede casus is dit zeer waarschijnlijk serovar *Icterohaemorrhagiae*. De titer is nog zeer laag,

hetgeen correspondeert met het acute stadium van de infectie.

In de directe leefomgeving van de Argentijnse dog waren veel ratten aanwezig. Een andere risicofactor werd gevormd door een recreatieplas, waar de hond wekelijks werd uitgelaten. De Argentijnse dog was slechts op negen en op twaalf weken leeftijd gevaccineerd tegen leptospirose, waarna geen booster meer was toegediend.

In de foxhoundkennel werden de volwassen honden niet gevaccineerd. Alhoewel ratten een rol kunnen hebben gespeeld bij de besmetting van de kennel met leptospirose, past het optreden van sterfte van een groot aantal pups in één nest op een leeftijd van zeven weken bij een infectie van de pups via de urine van de moeder (drager/uitscheider) op het moment van het verlies van de maternale immuniteit bij de pups. Helaas is in het kader van deze casus geen serologisch onderzoek van het moederdier uitgevoerd. Ter preventie van problemen bij nieuwe nesten en uitbreiding van de ziekte in de kennel dienen een dergelijk moederdier en eventueel ook andere dieren in de kennel behandeld te worden met antibiotica.

Anno 2007 is de incidentie van leptospirose bij de hond in Nederland onbekend. Een indicatie van het voorkomen wordt verkregen uit het aantal serummonsters dat bij het VMDC werd aangeboden voor serologisch onderzoek: van 2000 tot en met 2005 werden 301 sera van klinisch verdachte honden onderzocht, waarvan er 52 (17 procent) een hoge IgM-titer bleken te hebben. Uit een recente serologische 'survey' onder honden zonder klachten in Nederland bleek dat een deel van die populatie een MAT-titer heeft voornamelijk tegen serogroep *Icterohaemorrhagiae*, hetgeen betekent dat er kennelijk relatief veel subklinische infecties plaatsvinden (publicatie in voorbereiding).

Immuniteit verkregen door een juist uitgevoerd vaccinatieschema is serovarspecifiek. Vaccinatie is gericht op het voorkomen van ziekteverschijnselen en op preventie van leptospiurie (13). Alle in Nederland beschikbare vaccins tegen leptospirose bevatten twee serovars: *Icterohaemorrhagiae* en *Canicola*. Uit experimenteel onderzoek bij honden is gebleken dat vaccinatie met een commercieel geïnactiveerd bivalent leptospirosevaccin, op negen en op dertien weken leeftijd één jaar bescherming biedt tegen homologe infectie (12). Hierbij speelt waarschijnlijk naast de humorale ook de celgebonden afweer een belangrijke rol. Jaarlijkse hervaccinatie in het voorjaar is nodig om de bescherming tegen deze groten-deels seizoensgebonden aandoening op peil te houden. Door vaccinatie wordt in een besmet milieu de infectiedruk omlaag gebracht als gevolg van preventie van leptospiurie.

Een antimicrobiële therapie is in het peracute stadium gericht op de behandeling van de leptospirose, waarbij amoxicilline het middel van eerste keuze is. Om chronisch dragerschap in de nieren en uitscheiding van leptospiren via de urine te voorkomen wordt in tweede instantie bij voorkeur doxycycline toegepast, dat in tegenstelling tot aminoglycosiden niet nefrotoxisch is.

Leptospirose is ook een zoönose. De laatste tien jaar werden in Nederland jaarlijks circa dertig gevallen bij de mens gediagnosticeerd. Hierbij traden bij de ongeveer twintig in Nederland opgelopen infecties verschijnselen op van de ziekte van Weil (meestal veroorzaakt door de serovars *Icterohaemorrhagiae* en *Copenhageni* van de serogroep *Icterohaemorrhagiae*), en van de zogenaamde modderkoorts (veroorzaakt door serovar *Grippityphosa*) (8, 9). Het merendeel van de humane infecties kan worden verklaard door contact met oppervlakte-

water, waarin besmette dieren, onder andere knaagdieren en insecteneters, via de urine pathogene leptospiren uitscheiden (19). Honden met leptospiurie, zieke maar ook gezonde, zijn tevens een potentiële directe of indirecte besmettingsbron voor de mens.

DANKBETUIGING

De auteurs zijn drs. L.A. Boogert, DAP Winterswijk, en de Koninklijke Nederlandsche Jachtvereniging erkentelijk voor hun medewerking aan deze casuïstiek.

LITERATUUR

1. Adin CA, and Cowgill LD. Treatment and outcome of dogs with leptospirosis: 36 cases (1990-1998). *J Am Vet Med Assoc* 2000; 216 (3): 371-375.
2. Birnbaum N, Barr SC, Center SA, Schermerhorn T, Randolph JF, and Simpson KW. Naturally acquired leptospirosis in 36 dogs : serological and clinicopathological features. *J Small Anim Pract* 1998; 39 (5): 231-236.
3. Boutilier P, Carr A, and Schulman RL. Leptospirosis in dogs: a serologic survey and case series 1996 to 2001. *Vet Ther* 2003; 4 (2): 178-187.
4. Geisen V, Stengel C, Brem S, Müller W, Greene C, and Hartmann K. Canine leptospirosis infections – clinical signs and outcome with different suspected *Leptospira* serogroups (42 cases). *J Small Anim Pract* 2007; May 8.
5. Hartman EG. Epidemiological aspects of canine leptospirosis in The Netherlands. *Zentralbl Bakteriell Mikrobiol Hyg (A)* 1984; 258: 350-359.
6. Hartman EG, Houten M van, Donk JA van der, and Frik JF. Determination of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in sera of experimentally infected dogs by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. *Vet Immunol Immunopath* 1984; 7: 43-51.
7. Hartman EG, Ingh TSGAM van den, and Rothuizen J. Clinical, pathological and serological features of spontaneous canine leptospirosis. An evaluation of the IgM- and IgG-specific elisa. *Vet Immunol Immunopath* 1986; 13: 261-271.
8. Hartskeerl RA, Goris MGA. Leptospirose in 2002; geen belangrijke verschillen met 2001. *Infectieziekten Bulletin* 2003; 14: 259-60.
9. Hartskeerl RA, and Goris MGA. Leptospirose in 2003 en 2004; opmerkelijke verschillen. *Infectieziekten Bulletin* 2005; 16: 304-305.
10. Hrinivich K, and Prescott JF. Leptospirosis in two unrelated dogs. *Can Vet J* 1997; 38 (8): 509-510.
11. Jansen A, Schöneberg I, Frank C, Alpers K, Schneider T, and Stark K. Leptospirosis in Germany, 1962-2003. *Emerg Infect Dis* 2005; 11 (7): 1048-1054.
12. Klaasen HL, Molkenboer MJ, Vrijenhoek MP, and Kaashoek MJ. Duration of immunity in dogs vaccinated against leptospirosis with a bivalent inactivated vaccine. *Vet Microbiol* 2003; 95 (1-2): 121-132.
13. Langston CE, and Heuter KJ. Leptospirosis. A re-emerging zoonotic disease. *Vet Clin Small Anim* 2003; 33: 791-807.
14. Miller DA, Wilson MA, and Kirkbride CA. Evaluation of multivalent leptospira fluorescent antibody conjugates for general diagnostic use. *J Vet Diagn Invest* 1989; 1:146-149.
15. Prescott JF, Key D, and Osuch M. Leptospirosis in dogs. *Can Vet J* 1999; 40 (6): 430-431.
16. Prescott JF, McEwen B, Taylor J, Woods JP, Abrams-Ogg A, and Wilcock B. Resurgence of leptospirosis in dogs in Ontario: recent findings. *Can Vet J* 2002; 43 (12): 955-961.
17. Rallis TS, Papazoglou LG, Adamama-Moraitou KK, and Prassinou NN. Acute enteritis or gastro-enteritis in young dogs as a predisposing factor for intestinal intussusception: a retrospective study. *J Vet Med A* 2000; 47: 507-511.
18. Rentko VT, Clark N, Ross LA, and Schelling SH. Canine leptospirosis. A retrospective study of 17 cases. *J Vet Intern Med* 1992; 6 (4): 235-244.
19. Steinen ACM, Schuurman JL, Gravekamp C, Korver H, and Terpstra WJ. Muskrats as carriers of pathogenic leptospirae in The Netherlands. *Antonie van Leeuwenhoek* 1992; 61:43-50.

Artikel ingediend: 19 maart 2007

Artikel geaccepteerd: 6 juli 2007