

Borelioza u psów – aktualne dane

Borelioza jest infekcją bakteryjną przenoszoną przez kleszcze *Ixodes ricinus*. W 1982 roku odkryto, że drobnoustrojem wywołującym tę chorobę są krętki, które obecnie noszą nazwę *Borrelia burgdorferi*. Rodzaj *Borrelia* obejmuje różne gatunki, z których do patogennych zaszeregowano do tej pory grupy *Borrelia recurrentis* i *Borrelia duttonii* (szczep wywołujący gorączkę powrotną u ludzi), *Borrelia anserina* (odpowiedzialna za krętkowicę drobiu) oraz *Borrelia burgdorferi sensu lato* (wywołująca boreliozę z Lyme). Krętki *Borrelia* przenoszone są za pośrednictwem wektorów (kleszcze lub wszy), a rezerwuarem wszystkich gatunków tego drobnoustroju za wyjątkiem *B. recurrentis* i *B. duttonii* są dzikie zwierzęta. Borelie - podobnie jak wszystkie krętki - posiadają kurczliwe i ułożone wzdłuż osi filamenty umiejscowione pod wielowarstwową zewnętrzną powłoką, którym zawdzięczają swój charakterystyczny, spiralny kształt oraz ruchliwość. Grupa krętków *Borrelia burgdorferi sensu lato* (B.b.s.l.) obejmuje różne gatunki, na przykład *Borrelia burgdorferi sensu strictu*, *Borrelia afzelii* i *Borrelia garinii*. Obecnie przedmiotem dyskusji jest kwestia wywoływania boreliozy z Lyme przez *B. burgdorferi s.s.*, *B. afzelii* i *B. garinii*, przy czym na dzień dzisiejszy chorobotwórczy charakter przypisuje się również innym gatunkom krętka *Borrelia*, na przykład *B. lusitaniae* i

B. valaisiana, odkąd stwierdzono ich obecność w płynie mózgowo-rdzeniowym u ludzi.

Występowanie na świecie

Geograficzne rozmieszczenie chorobotwórczych gatunków krętka *Borrelia* jest bardzo zróżnicowane. Na przykład w Ameryce Północnej niemal 100% krętków z rodzaju *Borrelia* stanowi *B. burgdorferi s.s.*, podczas gdy w Europie grupa ta stanowi jedynie ok. 10%. Około 90% gatunków występujących w Europie stanowią grupy *B. afzelii* i *B. garinii*.

Rezerwuuar

Rezerwuarem tego drobnoustroju są dzikie ssaki leśne oraz ptaki, za pośrednictwem których dochodzi do zakażenia larwy kleszcza podczas pierwszego posiłku z krwi. Podczas kolejnego posiłku larwa kleszcza w ostatnim stadium rozwoju może już sama przenosić zarazki na ofiarę. W zależności od obszaru nosicielami krętka *Borrelia* może być nawet 75% dorosłej populacji kleszczy, przy czym jeden osobnik może być jednocześnie nosicielem kilku gatunków tej grupy.

Przebieg infekcji u kleszcza

Gdy wraz z krwią ofiary do organizmu kleszcza wtargną krętki *Borrelia*, drobnoustrój ten w pierwszej kolejności umiejscawia się w jelicie kleszcza, gdzie

rozpoczyna syntezę specyficznego wzorca powierzchniowego zdominowanego przez białka powierzchniowe typu A (*outer surface protein A* lub *OspA*). Dzięki tym białkom krętki *Borrelia* są w stanie na trwałe usadzić się w jelicie środkowym kleszcza. Gdy kleszcz przyczepia się do ciepłej skóry żywiciela, a krew żywiciela zaczyna wpływać do przewodu pokarmowego kleszcza, krętki rozpoczynają ponowną modyfikację swojej struktury powierzchniowej. Ponieważ podczas zasysania krwi żywiciela zmienia się temperatura i pH w jelicie kleszcza, dochodzi do spadku ekspresji białka *OspA* oraz do wzrostu ekspresji białka *OspC*. Białko *OspC* umożliwia krętkom przeniknięcie przez ścianę jelita kleszcza oraz wędrówkę do gruczołów ślinowych wraz z hemolimfą. Okres liczony od rozpoczęcia modyfikacji struktury powierzchniowej krętków do rozpoczęcia wędrówki do gruczołów ślinowych kleszcza trwa od 24 do 48 godzin. W następnej kolejności krętki wraz ze śliną kleszcza wnikają do organizmu żywiciela i zaczynają się w nim rozprzestrzeniać.

Przebieg infekcji u żywiciela

Po wniknięciu krętków *Borrelia* organizm żywiciela na początku reaguje niespecyficzną odpowiedzią immunologiczną wysyłając obojętne granulocyty, makrofagi i plazmocyty, które z reguły ulegają jednak neutralizacji w wyniku działania substancji przeciwzapalnych (prostaglandyn) zawartych w ślinie kleszcza. W rezultacie rozpoczyna się czynna wędrówka po tkankach żywiciela.

Obecność krętków zwabia kolejne granulocyty, które ulegają degranulacji, co z kolei wywołuje liczne procesy zapalne. Ponieważ krętki *Borrelia* wyposażone są w receptory glikozaminoglikanu, najczęściej łączą się one z tkankami o znacznej zawartości włókien kolagenowych, takimi jak stawy, serce i osierdzie, mózg i opony

mózgowe. Po wrodzonej niespecyficznej odpowiedzi immunologicznej organizm żywiciela po upływie kilku tygodni od infekcji rozpoczyna produkcję specyficznych przeciwciał wytwarzając najpierw immunoglobulinę M, a następnie immunoglobulinę G. U psów zainfekowanych w celach doświadczalnych już po upływie 4-6 tygodni od infekcji stwierdzono obecność przeciwciał IgG, które przetrwały przez okres dłuższy niż 1 rok (przeciwciała trwałe). Mimo specyficznego odpowiedzi immunologicznej organizmu żywiciela krętki *Borrelia* dzięki ciągłej modyfikacji swoich białek powierzchniowych są w stanie w znacznej mierze przeciwstawić się mechanizmom obronnym żywiciela. Znaczną zdolność modyfikacji sekwencji DNA przypisuje się w szczególności białkom powierzchniowym *VlsE* i *OspC*, w wyniku czego organizm żywiciela nie jest w stanie wyeliminować czynnika chorobotwórczego. Białko *VlsE* posiada wprawdzie w swojej sekwencji DNA oprócz elementów zmiennych również elementy stałe wiążące przeciwciała wytwarzane we wczesnym stadium, lecz w wyniku ciągłej modyfikacji elementów zmiennych wytwarzane są także przeciwciała, które nie znajdują punktów zaczepienia na białkach powierzchniowych bakterii. W ten sposób mimo obecności przeciwciał krętki *Borrelia* mogą dalej rozprzestrzeniać się w organizmie.

Objawy infekcji krętkami *Borrelia* u psów

Objawy kliniczne infekcji krętkami *Borrelia* mogą być bardzo zróżnicowane. Podaje się, iż jedynie ok. 5% zainfekowanych psów wykazuje w ogóle objawy kliniczne. U psów zainfekowanych krętkami *Borrelia* w celach doświadczalnych choroba rozwinęła się jednak u blisko 75% zwierząt. U psów w przeciwieństwie do ludzi rzadko obserwuje się rumień wędrujący. Częstszym objawem we

wczesnym stadium infekcji jest gorączka do 40.5 °C, brak łaknienia oraz ogólne osłabienie utrzymujące się przez 1 do 2 dni. Następnie choroba przez kilka tygodni, a czasem nawet przez kilka miesięcy przebiega bezobjawowo. W dalszej kolejności u zwierząt obserwuje się często po raz pierwszy kulawizny, które najczęściej ustępują bez leczenia. Nierzadko jest to moment, w którym zwierzę po raz pierwszy trafia do gabinetu weterynaryjnego. Kulawizny mogą być cięższe lub lżejsze i występują z przerwami, mogą też pojawiać się naprzemiennie po obu stronach. Ponadto oprócz zapalenia stawów obserwuje się także objawy ze strony serca i układu nerwowego. Do ciężkich powikłań związanych z chorobą należy kłębuszkowe zapalenie nerek, a w jego następstwie niewydolność nerek w wyniku odkładania się zespołów przeciwciał i antygenów w obrębie błony podstawnej. U chorych zwierząt obserwuje się wówczas senność, spadek wagi ciała, wymioty, a także obwodowe obrzęki w wyniku utraty albuminy. Notowano również przypadki śmiertelne. W zakresie diagnostyki laboratoryjnej obserwuje się najczęściej acetonemię, mikroalbuminurię oraz proteinurię. Najczęstsze przypadki kłębuszkowego zapalenia nerek w następstwie zakażenia krętkiem *Borrelia* obserwuje się u psów rasy golden retriever i labrador retriever, a także u berneńskich psów pasterskich.

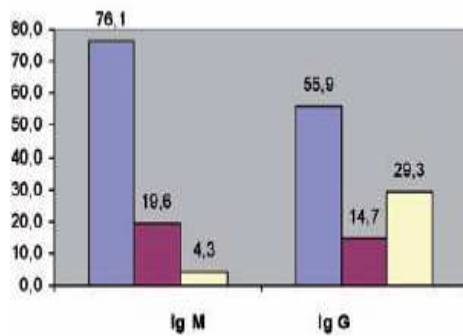
Potencjalne zmiany w parametrach laboratoryjnych wywołane boreliozą

krew		mocz	
leukocyty	↑	mikroalbumina	↑
eozynofile	↑	białko	↑
mocznik	↑	erytrocyty	↑
kreatynina	↑	stosunek białka do kreatyniny	↑
albumina	↓		↑

Możliwości i ograniczenia diagnostyczne

Istnieją różne metody ułatwiające rozpoznanie boreliozy w praktyce. Jedną z pierwszych metod diagnozowania tej choroby była metoda immunofluorescencji, czyli *IFAT*, polegająca na wykazaniu obecności nośników obiektu pokrytych warstwą antygenów, które łączone były z badaną surowicą. Następnym etapem było dodanie fluoryzujących wtórnych przeciwciał oraz mikroskopowa ocena procesu tworzenia się zespołów antygenów i przeciwciał na podstawie intensywności fluorescencji. Ponieważ na ostateczny wynik testu wykonanego metodą *IFAT* mają znaczny wpływ takie czynniki jak doświadczenie oraz subiektywna ocena badającego, test ten uznawany jest obecnie za przestarzały. W badaniu metodą *ELISA* płytkę testową z rowkami pokrywa się warstwą antygeny krętka *Borrelia*, a następnie podaje się ją inkubacji z dodatkiem badanej surowicy. W następnej kolejności jako koniugat dodaje się znakowane enzymami przeciwciała wtórne. Po dodaniu substratu dochodzi do zmiany koloru, która pozwala ocenić całkowity poziom specyficznie związanych przeciwciał. Ze względu na fakt, iż płytki testowe pokrywane są lizatem antygeny, test *ELISA* umożliwia jedynie oznaczenie ogólnej koncentracji specyficznych przeciwciał, co oznacza, że dokładne rozróżnienie wykrytych przeciwciał (w zależności od tego, czy są wynikiem szczepionki czy też infekcji) nie jest możliwe. W ramach przeprowadzonej w 2007 roku analizy ok. 12.700 próbek krwi w odniesieniu do przeciwciał *IgM* stwierdzono seroprewalencję rzędu ok. 4%, a w odniesieniu do przeciwciał *IgG* seroprewalencję na poziomie ok. 29%. Podkreślić należy, że próbki pochodziły od wyselekcjonowanych wcześniej zwierząt, u większości których istniało kliniczne podejrzenie o boreliozę.

Wyniki badań serologicznych w kierunku krętka *Borrelia* (2007)

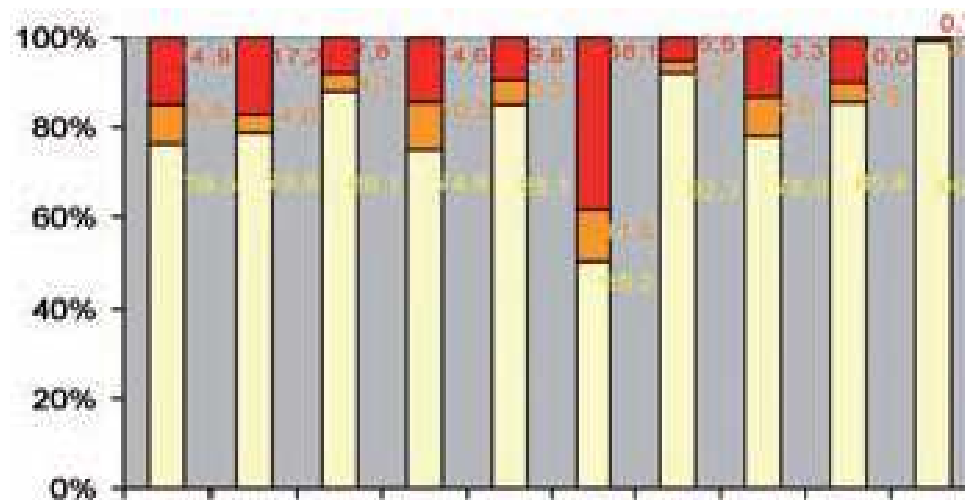


■ wynik negatywny
■ wynik nieokreślony
■ wynik pozytywny

Punktem odniesienia w diagnostyce boreliozy jest dwustopniowa diagnostyka prowadzona metodami *ELISA* i *Western-Blot*. W badaniu *Western-Blot* różne antygeny krętka *Borrelia* umieszczone w żelu zostają rozdzielone według rozmiarów w wyniku działania pola elektrycznego oraz naniesione na

membranę nylonową lub nitrocelulozową. Następnie membranę poddaje się inkubacji z dodatkiem badanej surowicy, podczas której różne przeciwciała tworzą wiązki w różnych punktach membrany. Wiązki takie uwiadcniają się po dodaniu wtórnego przeciwciała. Wynik badania uzyskuje się na podstawie oceny specyficzności poszczególnych wiązek. Połączenie metody *ELISA* i *Western-Blot* umożliwia w praktyce bardzo dokładną i szczegółową diagnozę. W ramach badań w kierunku krętka *Borrelia* przeprowadzonych metodą *WB* w latach 2006-2008 przez *LABOKLIN*, które objęły prawie 5000 próbek, wynik pozytywny uzyskano w zakresie typowych dla infekcji wiązek *VlsE* (5%), *p100* (17%) i *OspC* (13%), natomiast wiązki *OspA*, których powstawanie przypisuje się działaniu szczepionki, zawierało ok. 38% próbek.

Wyniki badań metodą *Western-Blot* u psów (2006-2008)



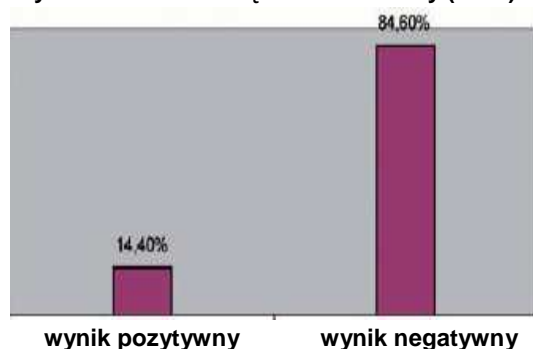
■ wynik pozytywny
■ wynik nieokreślony
■ wynik negatywny

Kolejną metodą jest badanie *PCR* (*polymerase chain reaction*). W badaniu *PCR* antygeny krętka *Borrelia* są powielane przy pomocy sekwencji primerów, a następnie odpowiednio

znakowane tak, aby były widoczne. Wartość diagnostyczna badania *PCR* ograniczona jest jednakże wyborem właściwego materiału (czyli prawdopodobieństwem, że materiał zawiera w ogóle czynnik chorobotwórczy)

oraz stopniem koncentracji czynnika chorobotwórczego. W przypadku przewlekłej infekcji można wprawdzie podejrzewać, że drobnoustroj rozprzestrzenił się w wielu miejscach, lecz koncentracja DNA drobnoustroju może być bardzo nieznaczna, wskutek czego wynik badania PCR może być negatywny. Pozytywny wynik badania PCR stanowi wprawdzie dowód na obecność infekcji, lecz wynik negatywny nigdy nie wyklucza infekcji. W 2007 roku w LABOKLIN badaniu metodą PCR na obecność krętka *Borrelia* poddano ogółem 247 kleszczy, z czego w 38 przypadkach uzyskano wynik pozytywny. Nie stwierdzono przy tym równoległych infekcji innymi drobnoustrojami chorobotwórczymi, takimi jak babeszja, erlichia czy wirusami wywołującymi KZM.

Wyniki badań metodą PCR u kleszczy (2007)



Kolejną metodą wykrycia infekcji jest hodowla kultur z zastosowaniem specjalnych i bardzo wymagających pożywek (np. pożywka Barboura-Stoennera-Kelly'ego). Okres trwania hodowli może trwać nawet 6 tygodni, a próbki muszą być pobrane w idealnie sterylnych warunkach, ponieważ w przypadku zanieczyszczenia próbki grzybami i bakteriami może dojść do zablokowania wzrostu krętków. Materiałem nadającym się do badania są fragmenty tkanek oraz maź stawowa. Jeszcze inną metodą jest bezpośrednie stwierdzenie obecności drobnoustroju przy

pomocy mikroskopu z kondensorem ciemnego pola bądź przy pomocy fluoryzujących przeciwciał. W praktycznej diagnostyce weterynaryjnej metody te odgrywają jednak raczej rolę drugorzędą.

Zalecenia terapeutyczne

W leczeniu stosuje się doksycylinę w dawce 10 mg/kgKG dwa razy dziennie przez 30 dni. W razie nietolerancji zaleca się stosowanie amoksycyliny w dawce 20 mg/kgKG trzy razy dziennie przez 30 dni.

Kontrola przebiegu leczenia

Ze względu na długotrwałe utrzymywanie się przeciwciał ewentualna kontrola przebiegu leczenia – o ile takowa w ogóle ma miejsce – powinna odbywać się w bardzo długich odstępach czasu.