

**Leptospiroseassocieret
recidiverende uveitis hos hest
-et pilotstudium med formålet at afprøve
corneasvaberprøver som diagnostisk test samt
måle prævalensen af seropositive heste**

Dyrlæge Birgitte Andersen, Dyrehospitalet Gråsten

**Hovedopgave ved
fagdyrlægeuddannelsen vedrørende sygdomme hos heste
januar 2008**

Sammendrag

Leptospirose er den hyppigste årsag til recidiverende uveitis hos heste. Patogenesen er stadig omdiskuteret, men det er efterhånden veletableret, at *Leptospira* udløser autoimmune reaktioner i øjet som følge af "antigenic mimicry". Ved undersøgelser foretaget på kammervæske samt corpus vitreum fra heste med recidiverende uveitis kan *Leptospira* eller *Leptospira* antistoffer påvises. Udtagning af disse prøver er dog kompliceret og forbundet med risiko for at forværre lidelsen. En simple men mindre pålidelig test er påvisning af antistoffer i serum.

I nærværende studium blev svaberprøver fra cornea samt kammervæske undersøgt for *Leptospira* DNA ved hjælp af polymerase chain reaction (PCR) og serum blev undersøgt for antistoffer mod *Leptospira* ved hjælp af micro agglutinationstest (MAT). Prøverne blev udtaget på 15 slagteheste samt på en enkelt hest med recidiverende uveitis. Ud af de 16 heste, der indgik i undersøgelsen, var 9 heste seropositive for *Leptospira*, hvilket kan tyde på, at leptospirose er en udbredt infektion blandt heste i Danmark. Dog fik ingen af slagtehestene påvist *Leptospira* i kammervæske eller cornea og det kan ud fra dette studium ikke konkluderes, hvorvidt svaberprøver fra cornea er anvendelige som diagnostisk test for leptospiroseassocieret uveitis. Hesten med recidiverende uveitis var seropositiv samt havde *Leptospira* i kammervæsken.

Summary

Leptospirosis is the most common cause of equine recurrent uveitis. The pathogenesis remains intriguing but it is currently well established, that an infection with *Leptospira* causes autoimmune reactions in the eye mediated by the mechanism of antigenic mimicry. By analysis of aqueous humor and the vitreous from horses with recurrent uveitis, the presence of *Leptospira* or leptospiral antibodies has been shown. Obtaining these samples are though complicated and associated with a substantial risk of worsening the disease. A simpler yet less reliable diagnostic test is measuring of antibodies in serum samples.

This study was conducted to evaluate whether corneal swabs are useful in diagnosing leptospirosis-associated recurrent uveitis. Corneal swabs and aqueous humor were analysed for the presence of leptospiral DNA by PCR and serum samples were analysed to detect leptospiral antibodies using MAT. The samples were obtained from 15 horses at a slaughterhouse and from one case of diagnosed recurrent uveitis. The results show, that 9 out of the 16 horses included in the study were seropositive and this may indicate, that leptospirosis is a common infection among horses in Denmark. None of the slaughtered horses had *Leptospira* in aqueous humor or cornea and based on

this study it is not possible to determine whether corneal swabs are useful in diagnosing leptospirosis-associated recurrent uveitis. The uveitic horse had Leptospiral DNA in the aqueous humor and was seropositive.

Indledning

Recidiverende uveitis er en kronisk inflammation primært i uvea men involverer ofte også andre strukturer i øjet. Inflammationen kan være intermitterende eller være af en mere persisterende karakter. Lidelsen varierer i intensitet, men slutstadiet er altid udbredte intraokulare skader og blindhed. Den udgør således den hyppigste årsag til blindhed hos heste. Heste med recidiverende uveitis kan være frustrerende at behandle på og i nogle tilfælde ender et behandlingsforløb med enukleation eller aflivning af hesten (1).

Til trods for udbredt forskning på området er der stadig mange uafklarede spørgsmål især vedrørende ætiologi og patogenese. Da leptospirose i en stor del af litteraturen angives at være den hyppigste ætiologi samt fordi leptospirosetilfælde hos heste i Danmark ikke tidligere er beskrevet i litteraturen, fokuseres i denne artikel specielt på leptospirose som ætiologi.

Udover en gennemgang af den foreliggende litteratur beskrives i artiklen et studium udført på slagteheste. Studiet blev udført som et pilotstudium, der skal teste hypotesen om, hvorvidt leptospirose associeret recidiverende uveitis kan diagnosticeres ved påvisning af *Leptospira* i svaberprøver fra cornea. Denne hypotese er opstillet på baggrund af, at leptospirose tidligere er påvist i svaberprøver fra cornea udtaget fra to heste med diagnosticeret uveitis (2). Desuden er det ønsket at undersøge forekomsten af leptospirose i den danske hestebestand.

Anatomi og fysiologi

Uvea er øjets vaskulære del og udgøres af iris, corpus ciliare samt choroidea (fig. 1). Der skelnes mellem anterior og posterior uvea, hvor anterior uvea er defineret ved iris og corpus ciliare og posterior uvea ved choroidea (3).

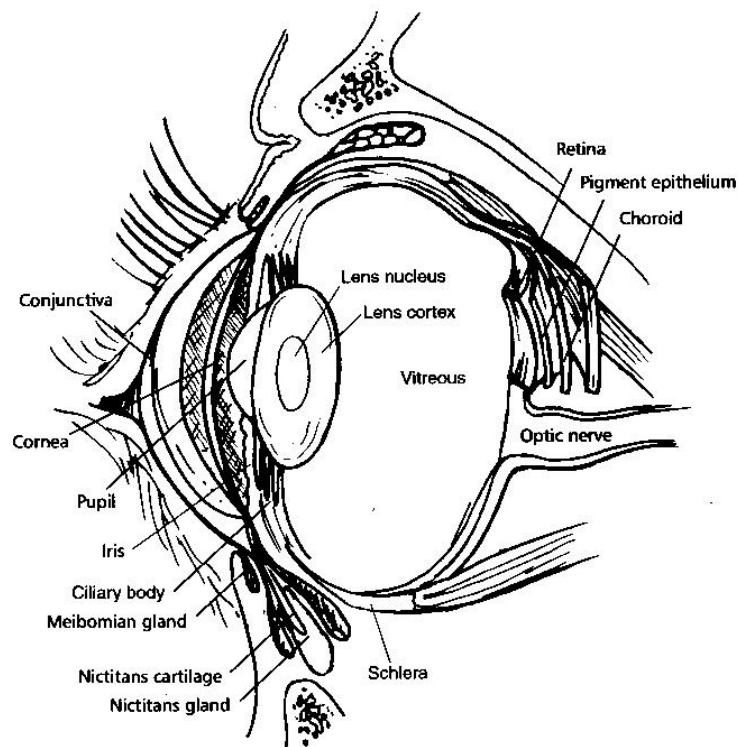


Fig 1: Øjets anatomi (4)

Iris

Det anterior lag af iris består hovedsageligt af bindevæv med spredte fibroblaster og melanocytter. Posterior herfor ligger stroma, som består af collagen fibre, som støtter et karpleksus. I stroma ligger ligeledes to forskellige muskler, m. constrictor pupillae samt m. dilator pupillae, som forårsager henholdsvis miosis og mydriasis. Den mest posterior del af iris består af pigmenteret dobbeltlaget epitel, som dorsalt danner corpora nigra (5). Funktionen af iris er at regulere pupillens størrelse og dermed den lysmængde, der kommer ind i øjet. Derudover giver iris øjet dets farve (3).

Corpus cilliare

Corpus cilliare består af pars plicata og pars plana. Pars plicata er den foldede del og danner processus cilliare, hvorfra zonulære fibre er forbundet til linsen. Ved kontraktion af corpus cilliare muskulatur regulerer disse fibre akkommodation af linsen. Pars plana ligger posterior for pars plicata og har en glat overflade (5).

På overfladen mod corpus vitreum er hele corpus cilliare dækket af dobbeltlaget epitel. Et pigmenteret og et nonpigmenteret lag. Hver processus cilliare består under dette epitel af et karpleksus, som er fenestret og tillader udsivning af plasma til stroma. Epitelceller i det

nonpigmenterede epitellag filtrerer plasmaet og fjerner celler og plasmaproteiner (en del af blod-øje barrieren). Dette filtrat udgør kammervæsken, som herfra føres til camera posterior og derefter gennem pupillen til camera anterior og via kammervinklen til øjets vener (5). En alternativ dræning forgår via corpus ciliare til choroidea (6).

Choroidea

Choroidea er sammenhængende med iris og corpus ciliare og består af større blodkar og udgør hovedblodforsyningen til retina. Dorsalt i choroidea ligger tapetum lucidum (4).

Blod-øje barrieren

Serumproteiner og antistoffer entrer under normale omstændigheder ikke øjet. Dette skyldes den såkaldte blod-øje barriere. Barrieren udgøres af tight junctions mellem epitelceller i processus ciliare samt i retina. Desuden er blodkarrene i retina ligeledes impermeable for molekyler af denne størrelse (7). Blod-øje barrieren er medvirkende til at holde kammervæsken og corpus vitreum klar samt at hindre immunreaktioner, som følge af systemiske infektioner, i at optræde i øjet.

Inflammation i forbindelse med recidiverende uveitis forårsager nedbrydning af blod-øje barrieren, hvorved celler og serumproteiner kan entre øjet. Akkumulation af disse produkter samt immunreaktioner med antistofproduktion til følge i øjet kan forårsage beskadigelser og dysfunktion dels af uvea, cornea, sclera, retina, linse samt nervus opticus (8).

Klinisk erkendes nedbrydning af blod-øje barrieren ved ”flare” som er defineret ved cellulær debris i camera anterior samt uklarer i kammervæske og corpus vitreum (8). Ved undersøgelse af corpus vitreum fra heste med recidiverende uveitis er beskrevet en gulfarvning, som skyldes serumlækage fra blodkar som følge af nedbrydning af blod-øje barrieren (9). Antistoffer mod tetanus er påvist i corpus vitreum fra heste med recidiverende uveitis, hvilket ligeledes tilskrives den nedbrudte blod-øje barriere (10).

Recidiverende uveitis

Definitionen på recidiverende uveitis er inflammation i uvea, med eller uden komplikationer, der optræder mere end en enkelt gang hos den enkelte hest. Ethvert tilfælde af uveitis bør som udgangspunkt betragtes som et potentielt tilfælde af recidiverende uveitis. Efter to år eller længere uden recidiv anses risikoen for recidiverende uveitis som værende minimal (8).

Ætiologi

Ætiologien til recidiverende uveitis er påvist at være mangeartet og er oftest et infektiøst agens (11). Leptospirosis udgør den hyppigste årsag til recidiverende uveitis (9,12,13,14,15,16). Andre agens, som kan forårsage recidiverende uveitis, er bl.a. herpesvirus, influenzavirus, *Streptococcus*, *E. coli*, *Rhodococcus equi*, *Borrelia* med flere (13). I mange tilfælde er det dog ikke muligt at påvise det initierende agens (17). Desuden findes en genetisk disponering for recidiverende uveitis hos hesteracen appaloosa (18). Ligeledes er ved undersøgelse af tyske varmblodsheste med recidiverende uveitis fundet en signifikant overvægt af heste med hovedvævstypekomplekset ELA-9, hvilket tyder på, at disponering for udvikling af recidiverende uveitis er associeret med dette genkompleks (19). Genetiske faktorer influerer sandsynligvis i de fleste tilfælde på, hvorvidt uveitis udvikler sig til recidiverende uveitis samt hvorvidt lidelsen bliver bi- eller unilateral. Af betydning herfor er ligeledes infektionsdosis, virulens af agens samt hestens egen immunkompetence (16).

Leptospirose

Leptospira er en bakterie af typen spirokæt. *Leptospira* er inddelt i to forskellige arter, *L. Biflexa* som er apatogen og *L. interrogans*, som er patogen. Arterne underinddeles i serogrupper som endvidere inddeles i serovarer (20). Hvilke serovarer, der forekommer i et område, er i høj grad afhængig af forekomsten af asymptomatiske bærere i det pågældende område, da de fleste serovarer er artsspecifikke mht. asymptomatiske bærere (21). Et eksempel på asymptomatiske bærere er rotter (22). Ved infektion af asymptomatiske bærere koloniseres typisk nyrer og kønsorganer og infektionen persisterer ofte hele livet (20). Smitten sker via beskadiget hud eller slimhinder og overføres fra urin fra smittede dyr eller inficerede omgivelser, oftest søer og kloakvand (23). Heste, der smittes med leptospirose, udviser sjældent kliniske symptomer. Der kan observeres forbigående feber og evt. ikterus (20). Føl, der smittes med leptospirose, kan udvikle interstitiel nephritis med uræmi til følge. Der er dog oftest tale om immunsvækkede føl (24). Leptospirose er desuden påvist som en væsentlig årsag til abort og dødfødte føl (25). Den hyppigst rapporterede sygdom i forbindelse med infektion med *Leptospira* hos heste er recidiverende uveitis (9,14,15,16,26). Med udvikling af behandlingsmetoden vitrektomi, hvor corpus vitreum fjernes og erstattes af saltvand, er det muliggjort at analysere corpus vitreum fra heste med recidiverende uveitis (10). Undersøgelse ved hjælp af PCR, elektronmikroskopi samt MAT af corpus vitreum og kammervæske har påvist *Leptospira*, i form af henholdsvis DNA fragmenter, intakte *Leptospira*

bakterier eller antistoffer imod *Leptospira*. Dyrkning af *Leptospira* er ligeledes beskrevet, men ved sammenligning med resultater opnået ved PCR er dyrkningsmetoden mindre effektiv (9)

Patogenese

Patogenesen for leptospiroseassocieret recidiverende uveitis er trods intensiv forskning på området ikke definitivt klarlagt og diskuteres til stadighed (1).

Ved undersøgelse af corpus vitreum efter vitrektomi foretaget på heste med recidiverende uveitis er påvist retinaspecifikke antistoffer hos 73 % af hestene og patogenesen angives at være en autoimmun reaktion (10). Dette er efterfølgende bevist ved induktion af sygdommen vha. injektion af retinoid antigen (27).

Wollanke *et al* (16) har foretaget vitrektomi på 150 heste med *Leptospira* antistoffer eller *Leptospira* påvist ved dyrkning eller PCR i corpus vitreum. Helbredelsesprocenten er 98 % og forfatterne konkluderer, at da vitrektomi eliminerer *Leptospira* fra corpus vitreum, men ikke fjerner intraokulare autoantigener fra retina eller andre intraokulare strukturer, må tilstedeværelsen af *Leptospira* i corpus vitreum være den udløsende årsag til den autoimmune reaktion.

Autoimmune lidelser er i humanmedicinen ofte associeret med infektiøse lidelser. Mekanismen, hvormed et infektiøst agens er i stand til at udløse en autoimmun reaktion, benævnes ”molecular mimicry” og er defineret ved, at agens har strukturer tilfælles med et selvantigen og derved udløser et immunsvær, der rettes mod selvantigenet (28). Antistoffer mod *Leptospira* er vist at krydsreagere med antistoffer mod cornea samt linsen. Heste inokuleret med *Leptospira* antigener har i kammer- og tårevæske antistoffer mod cornea og linse og heste inokuleret med corneaantigener har antistoffer mod *Leptospira*. Ovennævnte forsøg viser, at *Leptospira* sandsynligvis forårsager recidiverende uveitis ved hjælp af molecular mimicry (29). Denne krydsreaktion er senere kortlagt ved identifikation af det DNA fragment, der koder for de krydsreagerende epitoper på henholdsvis *Leptospira* og cornea (30).

Overfladeproteiner i *Leptospira* udtrykkes forskelligt under *in vivo* og *in vitro* forhold (31). Ved undersøgelse af *Leptospira* fra kammervæske er identificeret lipoproteiner, som er specifikke for *Leptospira* i forbindelse med recidiverende uveitis. Antiserum specifikt mod disse lipoproteiner krydsreagerer med væv fra corpus vitreum, linsen samt retina, dvs. forårsager en autoimmun reaktion (32).

Da *Leptospira* er i stand til at persistere i øjet på trods af en høj antistoftiter i corpus vitreum samt kammervæske, må bakterien besidde en form for forsvarsmekanisme (13). Ved undersøgelse af

Leptospira fra corpus vitreum erkendes et omgivende proteinlag. Dette proteinlag kan fungere som beskyttelse mod værtens antistoffer (9). *Leptospira* kan desuden ændre overfladeproteiner *in vivo*, hvilket ligeledes kan være en metode til at overleve på trods af tilstedeværelsen af antistoffer (33,34). En anden overlevelsesmekanisme, som er påvist hos patogene *Leptospira*, er evnen til at hæmme complementsystemets alternative aktiveringsvej og derved overleve i serum (35).

Kliniske symptomer

Symptombilledet afhænger dels af hvilke strukturer, der er involveret, og dels af sygdommens stadium. Der skelnes imellem anterior, posterior og pan- uveitis (36). Denne opdeling af lidelsen i henhold til lokalisation er dog teoretisk og histopatologiske studier har desuden vist, at retina, linse og cornea ligeledes er involveret i samtlige stadier af recidiverende uveitis (37).

Symptomerne i det akutte stadium er miosis, fotofobi, blepharospasmer, enoftalmos samt tåreflåd. Ved oftalmologisk undersøgelse erkendes karkongestion i sclera, konjunktiva og iris, cornea- og irisødem, miosis og flare. Desuden kan varierende grader af retinadegeneration og evt. retinaløsning samt uklarheder i og hensmeltning af corpus vitreum ses (36).

I det kroniske stadium som også benævnes slutstadiet er øjets strukturer irreversibelt beskadigede og synsevnen forsvinder. Blandt de hyppigste forandringer ses permanent corneaødem og –fibrose, synnechiedannelser i camera anterior, retinaløsning, katarakt og linseluksation og phtisis bulbi (36).

I det kroniske slutstadium er inflammationen permanent frem for intermitterende og nogle heste udviser konstant lavgradige symptomer på ubehag, mens andre synes upåvirkede (8).

Recidiverende uveitis forekommer i to forskellige former, som har et forskelligt klinisk billede men ofte resulterer i de samme kroniske forandringer. Den klassiske og mest almindelige form er defineret ved perioder med aktiv inflammation og udtalte kliniske symptomer, som afløses af symptomfrie perioder. Med tiden bliver symptomerne hyppigere og mere udtalte. Den snigende form af recidiverende uveitis er en lavgradig inflammation, som er kronisk tilstede. Den forårsager oftest kun få kliniske symptomer og erkendes kun ved en grundig oftalmologisk undersøgelse, men den vedvarende inflammation fører ligesom den klassiske form til det kroniske slutstadium (8).

Diagnostik

I den beskrevne litteratur påvises leptospirose i forbindelse med recidiverende uveitis enten i serum, kammervæske eller corpus vitreum (14). Da seropositivitet ofte påvises hos heste, der ikke har recidiverende uveitis, kan der stilles spørgsmålstegn ved pålideligheden af antistofpåvisning i serum som diagnostisk test (12, 14,16). Undersøgelse af kammervæske foretages efter paracentese, som bedst foretages på anæsteseret dyr (29). Proceduren indebærer en vis risiko for at inducere yderligere beskadigelser i øjet pga. prostaglandinfrigivelse (38). Desuden er der stor risiko for at inducere blødninger i iris på grund af pludselige ændringer i trykforholdene i øjet samt for kontamination af camera anterior (39). Det anbefales derfor at begrænse udtagning af kammervæske til øjne, der allerede er blinde eller kun har få chancer for bedring (38,39). Prøver fra corpus vitreum kan udelukkende opnås ved vitrektomi, et kirurgisk indgreb som stadig er forbeholdt øjenspecialister (16).

Hypotese

Nærværende studium betragtes som et pilotstudium med det formål at afprøve arbejdshypotese og metode for et større studium vedrørende recidiverende uveitis og leptospirose. Den hypotese der ønskes afprøvet er, at *Leptospira* vil kunne påvises ved hjælp af PCR i en svaberprøve fra cornea hos heste med leptospiroseassocieret recidiverende uveitis. Desuden ønskes undersøgt, hvorvidt den danske hestebestand er udsat for smitte med *Leptospira*.

På trods af at recidiverende uveitis traditionelt betragtes som en lidelse, der vedrører dybere strukturer i øjet, er cornea i langt de fleste tilfælde involveret (3) og corneaødem er et af de karakteristiske symptomer på recidiverende uveitis (1). Desuden er påvist molecular mimicry mellem cornea og *Leptospira* (29).

Kammervæsken drænes i kammervinklen, som anteriort udgøres af cornea og sclera og posteriort af iris og corpus cilliare. Den ernærer cornea og linse, som normalt er avaskulære strukturer (39a).

Da det er muligt at påvise *Leptospira* og *Leptospira* antistoffer i kammervæsken og antistoffer i tårevæsken (29), kan der ud fra ovenstående opstilles den hypotese, at *Leptospira* eller antistoffer bliver ført til cornea via kammervæsken.

Arbejdshypotesen for studiet er dels udarbejdet på basis af ovenstående argumentation og dels på basis af, at der i to tidligere uveitis cases er påvist *Leptospira* (2).

Materiale og metoder

Heste

I undersøgelsen indgik 15 tilfældigt udvalgte slagteheste. Desuden indgik en enkelt hest med diagnosticeret recidiverende uveitis i undersøgelsen. I alt var 16 heste inkluderet i undersøgelsen.

Prøvemateriale

Prøvemateriale fra øjne blev udtaget fra et øje pr hest. Prøverne blev udtaget umiddelbart efter, at hesten var blevet aflivet. Prøverne blev udtaget fra det øje, der vendte opad, når hesten lå på gulvet. Det vil sige, at det var tilfældigt hvorvidt det var højre eller venstre øje. Svaberprøve på cornea udførtes med en tynd svaber med metalskaft. Svaberen var steril og tør og der anvendtes ikke transportmedium. Kammervæske blev udtaget ved aquacentese ved hjælp af en 21 G kanyle og en 2,5 ml sprøjte. Der blev udtaget ca 1,5 ml pr øje. Prøven overførtes herefter til et serumbloodprøveglas.

Blodprøver blev udtaget i serumbloodprøveglas i forbindelse med afblødning. Prøverne blev centrifugeret og serum afpippeteret.

Prøverne blev herefter opbevaret køligt og transporteret til laboratoriet den samme dag

Laboratorieundersøgelser

Kammervæske og svaberprøver blev undersøgt for *Leptospira* DNA ved hjælp af PCR og serum blev undersøgt for antistoffer mod *Leptospira* ved hjælp af MAT.

Resultater

Af tabel 1 fremgår, at 9 ud af 16 heste var seropositive for *Leptospira*, hvilket giver en prævalens på 56,25 %. Af de seropositive heste var 100 % positive for *L. Copenhageni*, 50 % for *L. Autumnalis* og 12,5 % for *L. Grippotyphosa*. Fire af de seropositive heste havde antistoffer mod en til flere *Leptospira* serovarer.

Hest	<i>L. Australis</i> serumtitere	<i>L. Autumnalis</i> serumtitere	<i>L. Copenhageni</i> serumtitere	<i>L. Grippytyphosa</i> serumtitere	<i>L. Pomona</i> serumtitere
1	0	0	1:100	0	0
2	0	1:100	1:400	1:200	0
3	0	0	1:100	0	0
4	0	0	1:200	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	1:100	1:100	0	0
7	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0
13	0	1:200	1:100	0	0
14	0	0	1:400	0	0
15	0	1:100	1:100	0	0
16	0	0	1:400	0	0
Total antal seropositive	0	4	9	0	0

Tabel 1: Resultater af MAT udført på serum

Ved PCR undersøgelse af svaberprøver fra cornea og kammervæske blev hos ingen af de 15 slagteheste påvist *Leptospira* DNA. I kammervæsken fra hesten med diagnosticeret uveitis blev påvist *Leptospira* DNA.

Diskussion

Prævalensen af leptospirose er større i lande med et varmt frem for et tempereret klima. Dette skyldes primært, at bakterien kan overleve længere tid i miljøet under varme og fugtige forhold (40). Ved en undersøgelse foretaget i England er påvist antistoffer imod *Leptospira* i serum hos 9,1 % af alle raske heste (138 heste) og hos 11,1 % af de 27 heste med recidiverende uveitis, der indgik i forsøget. Det konkluderes derfor at *Leptospira* ikke er en væsentlig faktor ved udvikling af recidiverende uveitis i England (41). Klimaet i Danmark ligner det engelske og man kunne formode, at *Leptospira* derfor også kun spiller en mindre rolle i Danmark. Humant er foretaget optællinger over antallet af leptospirosetilfælde og lidelsen betragtes stadig som sjælden (23). Der

er ikke tidligere foretaget undersøgelser af forekomsten af leptospirose hos danske heste. Et af formålene med dette studie var derfor at undersøge, hvorvidt *Leptospira Interrogans* er til stede i den danske hestebestand. Den høje prævalens af seropositive heste i nærværende undersøgelse indikerer, at leptospirose kan være en almindelig infektion hos danske heste. Samtlige påviste antistoftitre for de forskellige *Leptospira* serovarer inkluderet i undersøgelsen tilhørte den patogene *L.interrogans* serogruppe.

Den fundne prævalens stemmer overens med en lignende undersøgelse foretaget på 145 slagteheste i Portugal (42). Hvorvidt prævalensen er repræsentativ for den danske hestebestand er usikkert, idet stikprøvestørrelsen er for lille. Et prøveantal af den nødvendige størrelse er ikke praktisk og økonomisk muligt i nærværende undersøgelse.

Risikoen for at heste med recidiverende uveitis bliver blinde vurderes at være ca. 4 gange større hos heste, hvor lidelsen er leptospiroseassocieret end i de tilfælde, hvor ætiologien er en anden (43).

Derfor er påvisning af leptospirose som ætiologi især væsentlig med henblik på prognosevurdering. I behandlingsøjemed er ætiologien mindre vigtig, da behandlingen for nuværende primært er defineret ved symptombehandling, der har til formål at bremse udviklingen af kronicitet samt at holde hesten smertefri. Eksisterende diagnosticeringsmuligheder er enten usikre eller indbefatter et større indgreb. Derfor er der et behov for simple tests til påvisning af leptospiroseassocieret recidiverende uveitis.

Der er i undersøgelsen ikke fundet heste med *Leptospira* DNA på cornea og kun en enkelt hest med *Leptospira* DNA i kammervæsken. Sandsynligvis kan dette også forklares ud fra et for lille antal prøver samt ud fra, at 15 ud af 16 prøver er udtaget fra raske heste. Desuden var svaberprøven fra hesten med uveitis foretaget med en forkert type svaber og er derfor ikke pålidelig. Følgelig kan det ikke ud fra denne undersøgelse vurderes, hvorvidt svaberprøver fra cornea har diagnostisk værdi ved leptospiroseassocieret recidiverende uveitis.

Konklusion

Det konkluderes, at infektion med *Leptospira* i den danske hestebestand er forekommende. I et enkelt tilfælde diagnosticeres leptospiroseassocieret recidiverende uveitis. Det har i undersøgelsen ikke været muligt at afprøve den opstillede arbejdshypotese på grund af for få prøver fra diagnosticerede tilfælde af recidiverende uveitis. Metoden for udførelsen af undersøgelsen er anvendelig ved et senere studie af leptospiroseassocieret uveitis. Antistofmålinger i serum bør ikke ukritisk anvendes som diagnostisk test for lidelsen.

Perspektivering

For i et fremtidigt studium at undersøge den diagnostiske værdi af svaberprøver fra cornea i forbindelse med leptospiroseassocieret recidiverende uveitis, bør undersøgelserne foretages på heste med diagnosticeret uveitis. For at få et tilstrækkeligt patientmateriale kan flere dyrlæger indgå i undersøgelsen. Da udtagelse af kammervæske indgår i undersøgelsen, kan kun heste i det kroniske slutstadium indgå og udtagelsen kan evt. ske i forbindelse med aflivning eller enukleation.

Leptospirose forårsager ligeledes recidiverende uveitis hos mennesker (10) og er desuden sat i forbindelse med multipel sclerose (44). Den equine variant kan på mange områder anvendes som model for den humane infektion (10). Dette kan måske øge incitamentet til en øget forskning indenfor området.

En genetisk disponering for recidiverende uveitis er påvist hos tyske varmblodsheste (19). Det kunne være interessant at undersøge, om den samme disponering findes hos danske varmblodsheste. Påvisning af *Leptospira* antistoffer hos over halvdelen af hestene i nærværende undersøgelse fordrer en øget opmærksomhed overfor muligheden af leptospiroseinfektioner hos danske heste. I forbindelse med hopper, der aborterer eller føder dødfødte føl, bør diagnosen leptospirose sandsynligvis i højere grad overvejes.

Forsøg med vaccination imod leptospirose af heste i stalde, hvor leptospirose er et kendt problem, er foretaget med gode resultater (45). Mangelfuld kortlægning af patogenesen for leptospiroseassocieret recidiverende uveitis vanskeliggør dog tolkningen af disse resultater. Diver *et al.* (46) har opnået terapeutiske doser af enrofloxacin i kammervæsken efter IV injektion hos heste med inflammationsinduceret nedbrudt blod-øje barriere og konkluderer følgelig, at behandlingen kan anvendes til heste med leptospiroseassocieret recidiverende uveitis. Der foreligger dog ikke lignende undersøgelser udført på heste med diagnosticeret leptospiroseassocieret recidiverende uveitis. Hvis forfatterne har ret, er denne undersøgelse måske af revolutionerende betydning for behandling af disse patienter i fremtiden. Det er dog som følge af de mange ubesvarede spørgsmål i forbindelse med patogenesen usikkert, hvorvidt eliminering af *Leptospira* alene vil være tilstrækkelig til at bremse udviklingen af recidiverende uveitis.

Litteraturliste

1. Brooks DE, Kallberg ME, Utter ME, Plummer C & Dwyer AE. Survival methods for the Equine Practitioner in Equine Ophthalmology. AAEP Proc. 2007, 53, 374-396.
2. Kamstrup N, Dyrklæge, Vordingborg Dyrehospital, Mundtlig meddelelse, 2007.
3. Slatter D. Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. Second edition. W.B. Saunders Company. 1990, kapitel 12.
4. Brooks DE. Equine ophthalmology for the equine practitioner. TentonNewMedia. 2002, kapitel 1.
5. Gilger BC. Equine Ophthalmology. Elsevier saunders. 2005, kapitel 5.
6. Smith PJ, Samuelson DA, Brooks DE & Whitley RD. Unconventional aqueous humor outflow of microshres perfused into the equine eye. Am J Vet Res. 1986, 47 (11), 2445-2453.
7. Bellhorn RW. An Overview of the Blood-Ocular Barriers. Progr. Vet. Comp. ophthal. 1991, 1(3), 205-217.
8. Gilger BC. Equine Ophthalmology. Elsevier saunders. 2005, kapitel 7.
9. Brandes K, Wollanke B, Niedermaier G, Brem S & Gerhards H. Recurrent Uveitis in Horses: Vitreal Examinations with Ultrastructural Detection of Leptospire. J. Vet. Med. A. 2007, 54, 270-275.
10. Deeg CA, Kaspers B, Gerhards H, Thureau SR, Wollanke B & Wildners G. Immune Responses to Retinal Autoantigens and Peptides in Equine Recurrent Uveitis. IOVS. 2001, 42 (2), 393-398.
11. Brooks DE. Equine ophthalmology for the equine practitioner. TentonNewMedia. 2002, kapitel 7.
12. Wollanke B, Gerhards H, Brem S, Kopp H & Meyer P. Intraokulare und Serumantiörpertiter gegen Leptospiren bei 150 wegen equiner rezidivierende Uveitis (ERU) vitrektomierten Pferden. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 1998, 111, 134-139.
13. Brem S, Gerhards H, Wollanke B, Meyer & kopp H. 35 Leptospirenisolationen aus Glaskörpern von 32 Pferden mit rezidivierender Uveitis (ERU). Münch. Tierärztl. Wschr. 1999, 112, 390-393.
14. Wollanke B, Rohrbach BW, & Gerhards H. serum and vitreous humor antibody titers in and isolation of *Leptospira interrogans* from horses with recurrent uveitis. JAVMA, 2001, 219 (6), 795-800.
15. Faber NA, Crawford M, Lefebvre RB, Buyukmihci NC, Madigan JE & Willits NH. Detection of *Leptospira* in the Aqueous Humor of Horses with Naturally Acquired Recurrent Uveitis. J. Clin. Microbio. 2000, July, 2731-2733.

16. Wollanke B, Gerhards H, Brem S, Meyer P & Kopp H. Ätiologie der equinen recidivierenden Uveitis (ERU): Autoimmunkrankheit oder intraokulare Leptospireninfektion ?. *Pferdeheilk.* 2004,20 (4), 327-340.
17. Rebhun WC. Diagnosis and Treatment of Equine Uveitis. *JAVMA.* 1979, 175 (8), 803-808.
18. Dwyer A, Crockett RS and Kalsow CM. Association of Leptospiral Seroreactivity and Breed with Uveitis and Blindness in Horses in Western New York. *Am.Soc.Vet.Ophthal.* 1998, March 14.
19. Deeg CA, Marti E, Gaillard C & Kaspers B. Equine recurrent uveitis is strongly associated with the MHC class I haplotype ELA-A9. *EVJ* 2004, 36 (1), 73-75.
20. Bernard WV. Leptospirosis. *Vet. Clin. North. Am.: Equine Pract.* 1993, 9 (2), 435-443.
21. Williams DM, Smith BJ, Donahue JM & Poonacha KB. Serological and microbiological findings on 3 farms with equine leptospiral abortions. *EVJ.* 1994, 26 (2), 105-108.
22. Athanazio DA, Silva EF, Santos CS, Rocha GM, Vannier-Santos MA, McBride AJA, Ko AI & Reis MG. *Rattus norvegicus* as a model for persistent renal colonization by pathogenic *Leptospira interrogans*. *Acta Trop* 2008, 105 (2), 176-180.
23. Lemcke A, Rasmussen E, Glismann SO & Krogfelt KA. Leptospirose I Danmark 1980-2002. *Ugeskr Læger* 2004, 166 (32), 2659.
24. Hogg GG. The isolation of *Leptospira Pomona* from a sick foal. *Aust. Vet. J.* 1974, 50, 326.
25. Poonacha KB, Donahue JM, Giles RC, Hong CB, Petrites-Murphy MB, Smith BJ, Swerczek TW, Tramontin RR & Tuttle PA. Leptospirosis in Equine Fetuses, Stillborn Foals, and Placentas. *Vet Pathol.* 1993, 30, 362-369.
26. Hartskeerl RA, Goris MGA, Brem S, Kopp H, Meyer P, Gerhards H & Wollanke B. Classification of *Leptospira* from the Eyes of Horses Suffering from Recurrent Uveitis. *J. Vet. Med. B.* 2004, 51, 110-115.
27. Deeg CA, Thurau SR, Gerhards H, Ehrenhofer M, Wildner G & Kaspers B. Uveitis in horses induced by interphotoreceptor retinod-binding protein is similar to the spontaneous disease. *Eur. J. Immunol.* 2002, 32, 2598-2606.
28. Oldstone MBA. Molecular Mimicry and immune-mediated disease. *FASEB J.* 1998, 12, 1255-1265.
29. Parma AE, Fernandez AS, Santisteban CG, Bowden RA & Cerone SI. Tears and aqueous humor from horses inoculated with *Leptospira* contain antibodies which bind to cornea. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1987, 14, 181- 185.
30. Lucchesi PMA, Parma AE & Arroyo GH. Serovar distribution of a DNA sequence in the antigenic relationship between *Leptospira* and equine cornea. *BMC Micribio.* 2002, 2 (3), 1-5.

31. Raghavan UMP, Ramanujam S & Chang Y-F. Leptospirosis: Pathogenesis, immunity and diagnosis. *Curr Opin Infect Dis.* 2007, 20, 284-292.
32. Verma A, Artiushin S, Matsunage J, Haake DA & Timoney JF. LruA and LruB, Novel Lipoproteins of Pathogenic *Leptospira interrogans* Associated with Equine Recurrent Uveitis. *Inf. and Immun.* 2005, nov, 7259-7266.
33. Barnett JK, Barnett D, Bolin CA, Summers TA, Wagar EA, Cheville NF, Hartskeerl RA & Haake DA. Expression and Distribution of leptospiral Outer Membrane Components during Renal Infection of Hamsters. *Inf. And Immun.* 1999, 67 (2), 853-861.
34. Nally JE, Timoney JF & Stevenson B. Temperature-Regulated Protein Synthesis by *Leptospira interrogans*. *Inf and Immun.* 2001, jan, 400-404.
35. Meri T, Murgia R, Stefanel P, Meri S & Cinco M. Regulation of complement activation at the C3-level by serum resistant leptospires. *Microb. Pathogen.* 2005, 39, 139-147.
36. Schwink KL. Equine Uveitis. *Vet. Clin. North. Am.* 1992, 8 (3), 557-574.
37. Deeg CA, Ehrenhofer M, Thureau SR, Reese S, Wildner G & Kaspers B. Immunopathology of Recurrent Uveitis in Spontaneously Diseased Horses. *Exp. Eye. Res.* 2002, 75, 127-133.
38. Wada S, Yoshinara M, Katayama Y, Anzai T & Wada R. Nonulcerative keratouveitis as a manifestation of Leptospiral infection in a horse. *Vet Ophthal.* 2003, 6 (3), 191-195.
39. Shwink K, Crisman M & Rigg D. Chronic Recurrent Uveitis in a Horse with an Elevated Aqueous Humor Antibody Titer to *Leptospira interrogans* serovar *autumnalis*. *Eq. Pr.* 1989, 11 (3).
- 39a. Gilger BC. *Equine Ophthalmology.* Elsevier saunders. 2005, kapitel 8
40. Levett P. Leptospirosis. *Clin. Microbio. Reviews,* 2001, Apr, 296- 326.
41. Matthews AG, Waitkins SA & Palmer MF. Serological study of leptospiral infections and endogenous uveitis among horses and ponies in the United Kingdom. *EVJ* 1987, 19 (2), 125-128.
42. Rocha T, Ellis WA, Montgomery J, Gilmore C, Regalla J & Brem S. Microbiological and serological study of leptospirosis in horses at slaughter: first isolations. *Res. in Vet. Sci.* 2004, 76, 199-202.
43. Dwyer AE, Crockett RS & Kalsow CM. Association of leptospiral seroreactivity and breed with uveitis and blindness in horses: 372 cases (1986-1993). *JAVMA* 1995, 207 (10), 1327-1331.
44. Pedersen TB, Dyrklæge PhD, KU-Life, Mundtlig meddelelse, 2008.
45. Wollanke B, Brem S, Meyer P, Forbrig T, Grassl P, Gerhards H & Kopp H. Prophylaxe der equinen rezidivierenden Uveitis (ERU): Erste Erfahrungen mit einem Leptospiren- Impfstoff bei Pferden. *Pferdheilk.* 2004, 20 (5), 447-454.

46. Divers TJ, Irby NL, Mohammed HO & Schwark WS. Ocular Penetration of Intravenously Administered Enrofloxacin in the Horse. AAEP Proc. 2007, 53, 213.