

***Encephalitozoon* of geen *Encephalitozoon*: dat is de vraag**

Encephalitozoon or not Encephalitozoon: that is the question

K. Hermans

Vakgroep Pathologie, Bacteriologie en Pluimveeziekten, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent,
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

katleen.hermans@UGent.be

SAMENVATTING

Encephalitozoon cuniculi is een protozoaire parasiet die bij konijnen aan de basis kan liggen van zenuwsymptomen, nierproblemen en oogproblemen. De grootste moeilijkheid is het stellen van een betrouwbare diagnose van deze parasiet bij het levende dier. De meest gebruikte en eenvoudigste diagnosemethode is serologie. Helaas is een positief serologisch onderzoek onvoldoende om de diagnose met zekerheid te stellen, omdat veel konijnen serologisch positief zijn zonder symptomen te vertonen. Een negatief serologisch onderzoek is in de meeste gevallen wel betrouwbaar. In de praktijk wordt meestal op basis van de symptomen en van een positief serologisch onderzoek toch gestart met de behandeling. Deze bestaat uit fenbendazole aan een dosis van 20 mg/kg p.o. gedurende 4 weken. De prognose is matig. Een aantal konijnen herstelt volledig doch bij veel konijnen zijn de symptomen irreversibel.

ABSTRACT

Encephalitozoon cuniculi is a protozoan parasite that may cause nervous symptoms, kidney disease and eye lesions in rabbits. The main problem is to diagnose the parasite as the cause of the observed symptoms in the living animal. A simple, most frequently used method is serology. However, a positive serology result should not be regarded as a correct diagnosis, since many rabbits appear to possess antibodies without showing any symptoms of the disease. A negative serology result can usually be considered as truly negative. In practice, based on clinical signs and a positive serology result, a treatment is usually started. It consists of fenbendazole, 20 mg/kg orally sid, during 4 weeks. The prognosis is guarded. Some rabbits recover completely. However, in many other rabbits the clinical signs are irreversible.

INLEIDING

In België wordt het konijn reeds lang als gezelschapsdier gehouden. Daar waar vroeger snel gezegd werd “het is maar een konijn”, ziet men in de praktijk hedentendage een sterke groei van klanten die ver willen gaan in de diagnose en behandeling van ziekte bij hun gezelschapskonijn. Het is dan ook de taak van de dierenarts om mensen correct in te lichten over de mogelijkheden die bestaan om bepaalde aandoeningen te diagnosticeren en te behandelen.

Vaak voorkomende problemen bij gezelschapskonijnen zijn in de eerste plaats tandproblemen en spijsverteringsproblemen, doch ook urinewegproblemen en zenuwsymptomen komen relatief vaak voor.

Aan de basis van urinewegproblemen bij konijnen ligt dikwijls een klassieke cystitis, vaak in combinatie met *sludge* (blaasgruis) of blaasstenen. Een urineonderzoek en radiografie eventueel aangevuld met echografie zijn hier voldoende om de diagnose te stellen.

Het is niet eenvoudig om de oorzaak van zenuwsymptomen bij het konijn te achterhalen. Een klassiek neurologisch onderzoek zoals bij de hond of de kat is bij het konijn veel moeilijker te interpreteren. Verder onderzoek dringt zich op. Voor perifere zenuwsymptomen ligt een radiografie als eerste bijkomend onderzoek

voor de hand. Voor centrale zenuwsymptomen ligt dat net iets anders. Radiografieën leveren meestal niet veel op door de benige structuren. Eventueel zou een aantasting van de *bulla tympanica* kunnen opgemerkt worden. Wat is de volgende stap? Computed tomography (CT) of magnetic resonance imaging (MRI)? CT en MRI zijn prachtige tools, maar helaas vrij duur en voor de meeste klanten in België nog een brug te ver.

Bij zenuwsymptomen of urinewegproblemen is één van de eerste oorzaken in de differentiaaldiagnose *Encephalitozoon cuniculi*. Die diagnose kan niet met radiografie, CT of MRI gesteld worden. Hoe dan wel? Helaas is het antwoord op deze vraag niet eenvoudig. De bespreking van *E. cuniculi*, inclusief de mogelijke diagnosemethoden en de behandeling ervan, is het onderwerp van dit overzicht.

HET ETIOLOGISCH AGENS: *ENCEPHALITOZOON CUNICULI*

De oorzaak van encephalitozoönose is *Encephalitozoon cuniculi*, een protozoaire parasiet die behoort tot de *Microsporidia*. De sporen van *E. cuniculi* bezitten een opgerold polair filament, dat kan worden uitgestulpt. Het kan zich vasthechten aan een cel en de celwand penetreren. Vervolgens worden de nucleus en het

sporoplasma van de spore door deze polaire buis naar de gastheercel getransfereerd. Daarna worden in een vacuole in de cel achtereenvolgens meronten, sporonten en sporoblasten gevormd die vervolgens tot sporen transformeren. Door de druk van de vermenigvuldigende organismen barst de cel, de organismen komen in de omgeving vrij en infecteren nieuwe cellen, of- indien de gastheercel een niertubuluscel is- ze worden via de urine uitgescheiden (Harcourt-Brown, 2009).

EPIDEMIOLOGIE

De overdracht van *E. cuniculi* kan zowel horizontaal als verticaal gebeuren.

E. cuniculi sporen worden uitgescheiden via de urine van besmette konijnen. Voeder, drinkwater of bodemmateriaal kunnen besmet worden, waardoor andere dieren geïnfecteerd kunnen worden. Verticale overdracht gebeurt transplacentair en is waarschijnlijk zeer belangrijk. Gezelschapskonijntjes die individueel worden gehouden, ontwikkelen vaak plots encefalitozoonose. Deze dieren werden wellicht als jong dier of reeds in de uterus besmet.

Hoewel het konijn de meest bekende en de belangrijkste gastheer is voor *E. cuniculi*, werd ziekte ook al vastgesteld bij andere paarden, honden, katten, cavia's, ratten, hamsters, muizen, varkens, schapen en mensen (Valencakova *et al.*, 2008; Harcourt-Brown, 2009; Künzel en Joachim, 2010).

PATHOGENESE

De pathogenese van *E. cuniculi* is nog niet volledig opgehelderd. De opname kan oraal of via inhalatie gebeuren (Cox *et al.*, 1979). Vervolgens dringt de parasiet wellicht binnen in de epitheelcellen van het spijsverterings- of ademhalingsstelsel, en wordt daarna verder verspreid in de bloedbaan via het *Mucosa Associated Lymfoid Tissue* (MALT). De predilectieplaatsen zijn het centraal zenuwstelsel en de nieren, hoewel deze organen pas in een later stadium van de infectie bereikt worden (Cox *et al.*, 1979). In die organen ontstaat lokaal een granulomateuze ontstekingsreactie.

Via experimentele infecties werd aangetoond dat 31 dagen na infectie de parasiet via de urine uitgescheiden wordt. Deze uitscheidingsperiode kan tot minimum 98 dagen duren, maar de excretie is wel intermitterend (Cox *et al.*, 1979).

Een infectie van het oog, meer bepaald van de lens, gebeurt waarschijnlijk *in utero*, op het moment dat het achterste lenskapsel nog dun is (Künzel en Joachim, 2010).

Konijnen kunnen de infectie volledig overwinnen of kunnen asymptomatisch drager blijven van de parasiet. Onder invloed van bepaalde predisponerende factoren, waaronder stress en immuniteitsdaling (Harcourt-Brown, 2009), kan zich later plots een opflakking van *E. cuniculi* manifesteren met de daarbij horende symptomen.



Figuur 1. Dwergkonijn van 5 jaar oud dat de laatste weken intermitterend neurologische problemen vertoonde, zoals tremor van de kop, torticollis, apathie. Serologisch onderzoek was positief voor antistoffen tegen *E. cuniculi*. Een behandeling met fenbendazole aan 20 mg/kg p.o. werd gestart en verdergezet gedurende 6 weken. Na 1 week was er al een duidelijke verbetering zichtbaar, na afloop van de behandeling waren de symptomen verdwenen. Hoewel een serologische diagnose niet volledig betrouwbaar is, kan uit dit geval, omwille van de goede respons op de behandeling, besloten worden dat het hier wellicht om encefalitozoonose ging.

SYMPTOMEN EN LETSELS

De hersen-, nier- en oogafwijkingen kunnen apart of samen voorkomen. De symptomen variëren dus al naargelang de aangetaste organen.

Bij aantasting van het centraal zenuwstelsel kunnen vestibulair syndroom, tremoren, torticollis, ataxie, parese en paralyse optreden (Figuur 1). In zeer subtiele gevallen zijn er enkel nystagmus, wiegen of een verminderde alertheid aanwezig. In de ergste gevallen kan acute sterfte worden gezien. Bij histologisch onderzoek van het centraal zenuwstelsel worden meestal cerebrale granulomen aangetroffen (Csokai *et al.*, 2009a).

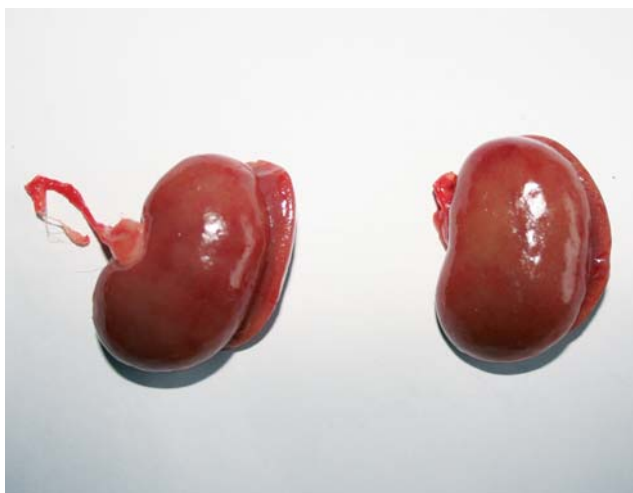
Bij aantasting van de nier worden polyurie en incontinentie gezien. De letsels die aanleiding geven tot deze symptomen zijn interstitiële nefritis en granulomateuze ontstekingsreactie in de nier (Csokai *et al.*, 2009a).

Bij infectie van de lens (meestal uni-, soms bilateraal) kan cataract worden gezien en kan het lenskapsel ruptureren met hypopyon of facoclastische uveïtis als gevolg (Harcourt-Brown, 2004; Künzel en Joachim, 2010).

Soms kan *E. cuniculi* aanleiding geven tot acute sterfte ten gevolge van een neurologische aanval of van myocardletsels (Harcourt-Brown, 2004).

DIAGNOSE

Er zijn verschillende mogelijkheden om de diagnose van *E. cuniculi* te stellen, doch ze hebben alle hun beperkingen.



Figuur 2. Nieren van een vierjarig dwergkonijn dat ataxie van de achterhand, erge polyurie en incontinentie vertoonde met huidirritatie als gevolg. Radiografisch en echografisch onderzoek bracht geen significante afwijkingen aan het licht. Het serum werd onderzocht op antistoffen tegen *E. cuniculi* en het dier bleek serologisch positief. Ondanks een behandeling met fenbendazole aan 20 mg/kg p.o. gedurende 3 weken verslechterde de toestand van het konijn. Uiteindelijk werd beslist het dier te euthanaseren en een lijkschouwing uit te voeren met het oog op de andere gezelschapskonijnen die met het dier in contact waren geweest. Hoewel de nieren macroscopisch bleek waren en een (licht) onregelmatig oppervlak vertoonden, suggestief voor een interstitiële nefritis ten gevolge van *E. cuniculi*, konden bij histologisch onderzoek enkel een inflammatie maar geen *Encephalitozoon* organismen worden vastgesteld. Dit illustreert de moeilijkheid om een zekere diagnose van deze parasiet te stellen.

Een eerste en meest gebruikte (Jeklova *et al.*, 2010) mogelijkheid is het opsporen van antistoffen in het serum van het verdachte konijn. De bloedafname gebeurt het gemakkelijkst uit de laterale oorvene of uit de *vena saphena lateralis*. Bij de kliniek voor vogels en bijzondere dieren van de UGent worden de serumstalen naar Nederland gestuurd, naar het diagnostisch laboratorium van de Sint-Radboud Universiteit in Nijmegen (www.qmdiagnosics.org), waar ook de serologische screening van laboratoriumkonijnen gebeurt. Aangezien konijnen de infectie volledig kunnen overwinnen of symptoomloos drager kunnen blijven, is de waarde van serologisch onderzoek eerder beperkt. In het Verenigd Koninkrijk, Slowakije, Oostenrijk en Italië bijvoorbeeld werden studies uitgevoerd waaruit bleek dat tot 70 procent van de ogenschijnlijk gezonde gezelschapskonijnen serologisch positief was voor *E. cuniculi*, hoewel in sommige van deze studies slechts een beperkt aantal symptoomloze konijnen werd opgenomen (Harcourt-Brown, 2004; Keeble en Shaw, 2006; Dipineto *et al.*, 2008; Valencakova, 2008). Lange tijd beweerde men dat de hoogte van de antistoffentiter gerelateerd was aan de ernst van de infectie. Dit blijkt echter niet zo te zijn (Harcourt-Brown, 2009). Gepaarde sera zouden wel een indicatie kunnen geven voor een eventuele stijging van de antistoffen-

titer en dus extra informatie kunnen opleveren over het al dan niet recent zijn van de infectie. Meestal kan men in de praktijk echter niet wachten op het resultaat van gepaarde sera, om een behandeling te starten. Bovendien is het niet duidelijk of bij een opflakking van een oude infectie de antistoffentiter ook zal stijgen. Recentelijk werd door Jeklova *et al.* (2010) in Brno (Tsjechië) een ELISA-test op punt gesteld voor het opsporen van IgG en IgM tegenover *E. cuniculi*. Deze auteurs schrijven dat de aanwezigheid van IgM indiceert dat er een recente infectie, een herinfectie of een reactivering van de infectie is opgetreden. Deze bewering wordt ook ondersteund door het onderzoek van Cox *et al.* (1979). Jeklova *et al.* (2010) vonden echter ook IgM-antistoffen tegenover *E. cuniculi* bij 24 % van de klinisch gezonde konijnen en bij 26 % van de dieren die niet-*E. cuniculi* gerelateerde ziektesymptomen vertoonden.

Door het feit dat de letsels en dus ook de symptomen bij encephalitozoonose meestal pas enkele maanden na de infectie met de parasiet gezien worden (Künzel en Joachim, 2010), kan men op basis van een negatief serologisch resultaat meestal wel stellen dat *E. cuniculi* niet de oorzaak is van de geobserveerde symptomen. Enkel bij jonge dieren (Harcourt-Brown, 2009) en binnen 3 weken na de infectie (Cox *et al.*, 1979) kunnen soms valsnegatieve resultaten gezien worden.

Een algemeen bloedonderzoek kan eventueel bijdragen tot de diagnose maar het is op zich niet diagnostisch. In een onderzoek waarbij eiwitelektroforese op plasma van konijnen die serologisch positief waren voor *E. cuniculi* antistoffen en ook de symptomen vertoonden, werden in vergelijking met de klinisch gezonde konijnen een stijging van gamma-globulinen en een verlaagde albumine/globulineratio aangetoond. Hetzelfde werd echter ook gezien bij zieke konijnen die niet verdacht waren van *E. cuniculi* maar deze vertoonden daarbij een stijging van bètaglobulinen (Cray *et al.*, 2009).

Een andere mogelijkheid om de diagnose te stellen, is het onderzoek van urinesediment. Men zou de sporen kunnen aantonen in de urine via bijvoorbeeld een gramkleuring of via immunofluorescentie. Een positief resultaat is sterk indicatief, hoewel sporen ook kunnen gevonden worden bij dieren die symptoomloos zijn. Een negatief resultaat van het urineonderzoek is echter nietszeggend. Niet alle konijnen die symptomen vertonen, scheiden immers op dat ogenblik sporen uit.

Polymerase chain reaction (PCR) wordt eveneens beschreven als mogelijke diagnosemethode, maar met een zeer beperkte gevoeligheid bij testen op stalen afgenomen van levende dieren. Onderzoeken in Duitsland en Oostenrijk tonen een lage gevoeligheid aan van de test op cerebrospinaal vocht en op urine van bekend positieve konijnen (Csokai *et al.*, 2009b). PCR is wel een zeer goede methode om *E. cuniculi* DNA in lensmateriaal aan te tonen (Künzel *et al.*, 2008; Csokai *et al.*, 2009b).

Zelfs de *post mortem* diagnose, die bestaat uit het histologisch onderzoek van de aangetaste organen, aangevuld met specifieke kleuringen voor de detectie

van de *E. cuniculi* organismen, is moeilijk (Harcourt-Brown, 2009). Vaak worden de letsels (granulomateuze ontstekingen of interstitiële nefritis) aangetoond maar de organismen zelf worden niet gezien (Figuur 2).

BEHANDELING EN PROGNOSE

De behandeling met fenbendazole aan een dosis van 20 mg/kg/dag gedurende 4 weken is de meest gebruikte en wordt in de literatuur beschreven als effectieve en ook als preventieve behandeling (Suter *et al.*, 2001). Verder wordt -zoals bij de behandeling van mensen met encefalitozoonose- albendazole gebruikt (Harcourt-Brown, 2004). Ook oxytetracycline wordt beschreven als behandeling bij gezelschapskonijnen (Ewringmann en Göbel, 1999) maar de efficaciteit van deze antibioticumbehandeling werd enkel *in vitro* onderzocht (Waller, 1979). Hoewel pyrimethamine *in vitro* niet effectief blijkt te zijn, wordt het toch gebruikt (Harcourt-Brown, 2009).

De prognose is matig. Een aantal konijnen herstelt volledig maar bij vele zijn de symptomen irreversibel. Uit de ervaring van de auteur en volgens Künzel *et al.* (2008) lijken konijnen met neurologische symptomen een betere prognose te hebben dan dieren met nierproblemen. Gezien het moeilijk is om een correcte diagnose te stellen, is het niet mogelijk om concrete cijfers te vermelden. Veel hangt af van de ernst van de letsels die reeds aanwezig zijn. Chronische weefselveranderingen kunnen immers niet meer ongedaan gemaakt worden door het afdoden van de parasieten (Harcourt-Brown, 2004).

PREVENTIE

Hoewel er geen wetenschappelijke studies over de preventie bestaan, raadt Harcourt-Brown (2009) aan om elk konijn minstens 1 maal preventief te behandelen met fenbendazole aan de hierboven beschreven dosis en gedurende 9 dagen. Zij raadt zelfs aan om bekend serologisch positieve konijnen elke 6 maanden met fenbendazole te behandelen en ook op het moment van een verwachte immuniteitsdaling of stress (bijvoorbeeld bij een chirurgische ingreep).

Aangezien Jeklova *et al.* (2010) anti-*E. cuniculi* IgM aantoonde bij een groot aantal klinisch gezonde konijnen en konijnen zonder symptomen van *E. cuniculi*, raden zij aan het serologisch onderzoek naar IgM tegen *E. cuniculi* op te nemen als een routinematige screening bij elk gezondheidsonderzoek van konijnen. Het is echter niet duidelijk of ELISA voor het opsporen van IgM in Europese diagnostische laboratoria op dit ogenblik routinematig wordt uitgevoerd.

De ontsmetting van hokken en materialen ter preventie van overdracht naar andere dieren, kan gebeuren met bijvoorbeeld ethanol 70% of bleekwater (1% natriumhypochloriet) (Waller, 1979; Jordan, 2006). De sporen zijn ook gevoelig voor hitte of bevriezing (Waller, 1979).

ZOÖNOTISCH BELANG

Encephalitozoon is bekend als oorzaak van ziekte beschreven bij immunosuppressieve mensen, voornamelijk bij HIV-patiënten. Zowat elk orgaan kan bij deze patiënten aangetast worden (Kodjikian *et al.*, 2005). Hoewel het belangrijk is dat de dierenarts zijn klanten goed inlicht over het zoönotisch aspect van de parasiet, dient het belang ervan toch gerelativeerd te worden (Harcourt-Brown, 2009). De handen wassen na het hanteren van het konijn en na het reinigen van het hok is uiteraard een gulden regel. Bij twijfel nemen klanten het best contact op met hun arts.

REFERENTIES

- Cox J., Hamilton R., Attwood H. (1979). An investigation of the route and progression of *Encephalitozoon cuniculi* infection in adult rabbits. *The Journal of Protozoology* 26, 260-265.
- Cray C., Arcia G., Schneider R., Kelleher S.A., Arheart K.L. (2009). Evaluation of the usefulness of an ELISA and protein electrophoresis in the diagnosis of *Encephalitozoon cuniculi* infection in rabbits. *American Journal of Veterinary Research* 70, 478-480.
- Csokai J., Gruber A., Künzel F., Tichy A., Joachim A. (2009a). Encephalitozoonosis in pet rabbits (*Oryctolagus cuniculus*): pathohistological findings in animals with latent infection versus clinical manifestation. *Parasitology Research* 104, 629-635.
- Csokai J., Joachim A., Gruber A., Tichy A., Pakodzy A., Künzel F. (2009b). Diagnostic markers for encephalitozoonosis in pet rabbits. *Veterinary Parasitology* 163, 18-26.
- Dipineto L., Rinaldi L., Santaniello A., Sensale M., Cuomo A., Calabria M., Menna L.F., Fioretti A. (2008). Serological survey for antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in pet rabbits in Italy. *Zoonoses and Public Health* 55, 173-175.
- Ewringmann A., Göbel T. (1999). Untersuchungen zur Klinik und Therapie der Encephalitozoonose beim Heimtierkaninchen. *Kleintierpraxis* 44, 357-372.
- Harcourt-Brown F. (2004). *Encephalitozoon cuniculi* infection in rabbits. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 13, 86-93.
- Harcourt-Brown F. (2009). *E. cuniculi*, a big mystery. In: *Proceedings van het K&K Symposium*. 27 en 28 November 2009, Amsterdam en Arnhem, Nederland.
- Jeklova E., Jekl V., Kovarcik K., Hauptman K., Koudela B., Neumayerova H., Knotek Z., Faldyna M. (2010). Usefulness of detection of specific IgM and IgG antibodies for diagnosis of clinical encephalitozoonosis in pet rabbits. *Veterinary Parasitology* 170, 143-148.
- Jordan N.J., DiCristina J.A., Lindsay S.D. (2006). Activity of bleach, ethanol and two commercial disinfectants against spores of *Encephalitozoon cuniculi*. *Veterinary Parasitology* 136, 343-346.
- Keeble E., Shaw D. (2006). Seroprevalence of antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* in domestic rabbits in the United Kingdom. *The Veterinary Record* 158, 539-544.
- Kodjikian L., Garweg J.G., Nguyen M., Schaffner T., Deplazes P., Zimmerli S. (2005). Intraocular microsporidiosis due to *Encephalitozoon cuniculi* in a patient with CD4+ T-lymphocytopenia. *International Journal of Medical Microbiology* 294, 529-533.
- Künzel F., Gruber A., Tichy A., Edelhofer R., Nell B., Has-

- san J., Leschnik M., Thalhammer J., Joachim A. (2008). Clinical symptoms and diagnosis of encephalitozoonosis in pet rabbits. *Veterinary Parasitology* 151, 115-124.
- Künzel F., Joachim A. (2010). Encephalitozoonosis in rabbits. *Parasitology Research* 106, 299-309.
- Suter C., Müller-Doblies U.U., Hatt J.-M., Deplazes P. (2001). Prevention and treatment of *Encephalitozoon cuniculi* infection in rabbits with fenbendazole. *The Veterinary Record* 148, 478-480.
- Valencakova A., Balent P., Petrovova E., Novotny F., Lup-takova L. (2008). Encephalitozoonosis in household pet Nederland Dwarf rabbits. *Veterinary Parasitology* 153, 265-269.
- Waller T. (1979). Sensitivity of *Encephalitozoon cuniculi* to various temperatures, disinfectants and drugs. *Laboratory Animals* 13, 227-230.

Uit het verleden

WOUDOPPERVLAKTEN UITGEDRUKT IN AANTALLEN VARKENS

Dat de varkensteelt in onze streken teruggaat op kudden gehouden in uitgestrekte bossen, vinden we op merkwaardige wijze geïllustreerd in de oudste documenten die gegevens bevatten over de uitgestrektheid van wouden in onze streken. Deze dateren uit de jaren 800 en beschrijven het bezit van de Sint-Bertijnsabdij van Sint-Omaars (Saint-Omer). Onder de abdijdomeinen hield men te Poperinge in die tijd met 1,5 stuks het hoogste aantal varkens per bunder (ongeveer 1,3 ha., grootte verschillend volgens de streek). Op andere plaatsen in het huidige Noord-Frankrijk was dit minder: 0,5 te Beingem, 0,6 te Audrehem en te Guines, 0,7 te Terwaan, ca. 1 te Wizernes.

Dergelijke gegevens laten historici toe te veronderstellen dat bijvoorbeeld een niet gelokaliseerd woud Dotnest (misschien ten noorden van Gent) waar 1000 varkens voedsel konden vinden, 2000 à 3000 hectare groot zou zijn geweest.

Bron

De brief van abt Othelbold aan gravin Otvinga, over de relikwieën en het domein van de Sint-Baafsabdij (1019 – 1030), Voet, L. (1949). Koninklijke Academie van België, Brussel, p. 88-89.

Luc Devriese