

Trudności w diagnostyce boreliozy u psów

Łukasz Adaszek, Marcin Kalinowski, Jacek Kutrzuba, Jerzy Ziętek, Stanisław Winiarczyk

z Katedry Epizootologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Borelioza (choroba z Lyme) jest endemicznie występującą, wielonarządową chorobą wywoływaną przez krętki z grupy *Borrelia burgdorferi* sensu lato, należące do rodziny Spirochetaceae (1, 2). Główną rolę w etiologii tej choroby u ludzi i zwierząt odgrywają drobnoustroje z gatunków *B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii* i *B. afzelii*. Przenoszone są one z osobnika na osobnika

przez kleszcze z rodzaju *Ixodes* (3, 4, 5), których głównym przedstawicielem w Europie jest *Ixodes ricinus* (6).

Najczęstszymi objawami klinicznymi stwierdzanymi w przebiegu boreliozy są: gorączka, apatia, zapalenie stawów (7), niewydolność nerek (8, 9), zapalenie opon mózgowych, mózgu i nerwów (10), a niekiedy także zapalenie mięśnia sercowego (11).

Pomimo zakażenia, u psów nie zawsze dochodzi do rozwoju objawów klinicznych. Na terenach, gdzie borelioza występuje endemicznie objawy kliniczne stwierdza się tylko u 5–10%, spośród 75% seropozytywnych zwierząt. Wy tłumaczeniem tego może być fakt zakażenia psów niepatogennymi szczepami zarazka lub zbyt małą jego ilością wprowadzoną do organizmu, przy sprawnie działających mechanizmach odpornościowych gospodarza (12).

Rozpoznanie boreliozy jest trudne. By móc je postawić, wymagane jest współistnienie przynajmniej czterech elementów, którymi są:

- 1) typowe dla boreliozy objawy kliniczne,
- 2) dodatnie miana przeciwciał przeciwko *Borrelia* w surowicy podejrzanych o zakażenie zwierząt,
- 3) kontakt zwierząt z kleszczami,
- 4) pozytywna reakcja pacjenta na zastosowane leczenie (12).

Na przestrzeni ostatnich lat wzrosła znacznie częstotliwość rozpoznawania boreliozy u ludzi i zwierząt. Można zaryzykować stwierdzenie, że stała się ona modną chorobą. W wielu przypadkach dochodzi jednak do zbyt pochopnego postawienia diagnozy, zwłaszcza jeżeli lekarze weterynarii bezkrytycznie opierają się na dodatnich wynikach badań laboratoryjnych, które bardzo często, jak wcześniej wspomniano, uzyskiwane są w następstwie zakażenia zwierząt niepatogennymi szczepami *Borrelia* lub innymi krętkami.

Celem tego artykułu jest przedstawienie metod diagnostycznych używanych do rozpoznawania boreliozy, z uwzględnieniem ich wad i zalet.

Wywiad i objawy kliniczne

Wywiad i obserwowane objawy kliniczne są pierwszymi elementami, które mogą nasycać podejrzenie boreliozy. Bardzo istotna jest znajomość sytuacji epizootycznej choroby na danym terenie. Jeżeli borelioza utrzymuje się stacjonarnie, ryzyko wystąpienia choroby u zwierząt jest duże. Znacznie częściej występuje ona u osobników zamieszkujących tereny leśne lub podmiejskie, lub przemieszczających się w takie rejony (13). Głównym rezerwuarem bakterii są saski leśne (sarny, jelenie, żubry, gryzonie), które same nie chorują, jednakże stanowią źródło zarazka dla kleszczy-vektorów zakażenia (14). Obecność tych pajęczaków na powłokach ciała zwierzęcia lub niestosowanie profilaktyki przeciwkleszczowej są elementami, które należy mieć na uwadze w czasie przeprowadzania diagnostyki różnicowej choroby.

Borelioza, w przeciwieństwie do innych chorób transmisyjnych, jak np. babeszjoza, nie jest chorobą sezonową. Co prawda do zakażenia zwierząt dochodzi w okresie aktywności kleszczy, niemniej jednak okres jej inkubacji jest na tyle długi, że objawy kliniczne mogą wystąpić dopiero po kilku miesiącach od zakażenia. Najczęściej obejmują one zapalenia stawów z powstawaniem obrzęków, zapalenie tkanki podskórnej, skóry, a także zaburzenia nerwowe (12, 13). Charakterystycznym objawem boreliozy, pojawiającym się krótko po zakażeniu jest rumień w miejscu ukąszenia psa przez kleszcza. Rumień w późniejszym okresie choroby może się przemieszczać na inne obszary ciała (rumień wędrujący). Często, ze względu na gęstą sieć zwierząt objaw ten jest jednak przeoczany (15).

W przebiegu boreliozy nie stwierdza się charakterystycznych dla choroby zmian w badaniach hematologicznych i biochemicznych. W płynie mózgowo-rdzeniowym, stawowym oraz w moczu można niekiedy wykazać obecność komórek zapalnych, wśród których na ogół

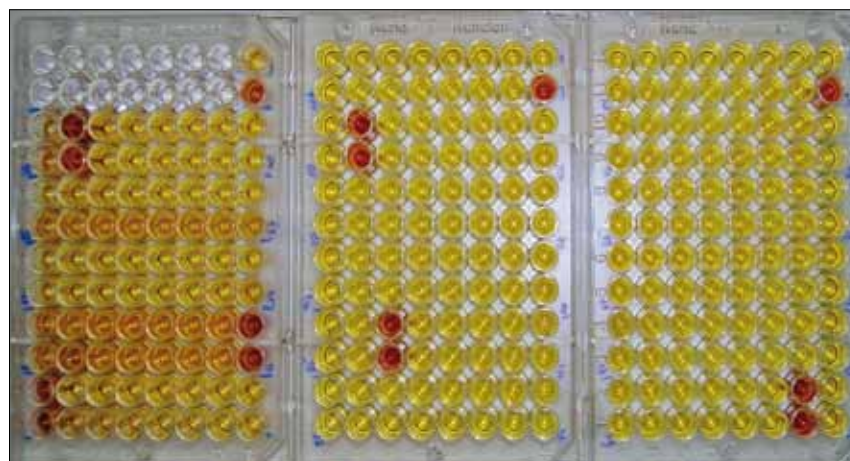
przeważają neutrofile. Często w materiale tym stwierdza się także podwyższone stężenie białka (16).

Badanie mikrobiologiczne

Standardowe techniki badania bakteriologicznego nie są stosowane w rozpoznawaniu boreliozy. Hodowla *Borrelia* jest trudna, wymaga użycia specjalnych podłoży (podłoże Barbour-Stonner-Kelly'ego – BSK), a w przypadku uzyskania wzrostu bakterii ich identyfikacja oparta jest nie na ocenie morfologii komórki, lecz właściwościach biochemicznych drobnoustrojów, ewentualnie na analizie ich DNA. Najlepszym materiałem, z którego izoluje się krętki są biopaty skóry pobrane z miejsca ukąszenia przez kleszcza. W diagnostyce *post mortem* materiałem do badania mikrobiologicznego mogą być mięśnie i ich powięź, opony mózgowo, nadnercza, osierdzie oraz torebki stawowe. Warto podkreślić, różne wymagania wzrostowe poszczególnych szczepów *Borrelia*, co powoduje, że w wielu przypadkach podłoże do hodowli określonego gatunku drobnoustroju musi być odpowiednio dla niego przygotowane (17). Efekt jest taki, że standardowe badanie bakteriologiczne wykonuje się najczęściej w celach naukowych i namnożenia bakterii celem poddawania ich dalszym analizom, natomiast do użytku klinicznego stosowane są testy serologiczne (13, 18, 19, 20).

Badania serologiczne

Najczęściej w diagnostyce serologicznej boreliozy stosowane są test ELISA (ryc. 1) oraz odczyn immunofluorescencji pośredniej (20). Ponieważ antygen do wspomnianych testów przygotowywany jest w różny sposób i brak ujednoliconej procedury otrzymania go, wyniki badań różnią się w zależności od laboratorium. Potwierdzeniem tego jest fakt, że wyniki badań serologicznych w kierunku boreliozy oznaczonych próbek surowic przeprowadzone



Ryc. 1. Dodatnie wyniki testu ELISA dla surowic psów, z użyciem jako antygenów całych komórek *B. afzelii*

Difficulties in diagnostic of canine borreliosis

Adaszek Ł., Kalinowski M., Kutrzuba J., Ziętek J., Winiarczyk S., Department of Epizootiology and Clinic of Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

Lyme disease (borreliosis), in dogs is a systemic disease with polyarthrits, caused by spiral Gram negative bacteria *Borrelia burgdorferi* belonging to *Spirochetaceae*. The disease is acute, often recurrent and the causative agent is transmitted by ticks *Ixodes* spp. Standard diagnostic approach is rather difficult since it is based on simultaneous occurrence of: 1/ characteristic clinical findings, 2/ presence of antibody against *B. burgdorferi*, 3/ an evidence that dog was exposed to ticks and 4/ positive response to antibiotic therapy. Routine bacteriological examination often cannot demonstrate *B. burgdorferi* and the organisms grow poorly due to the very small number of bacteria in the host. Better results are obtained if fluorescent antibody technique is applied for microscopic examination. The aim of this article was to present and discuss advantages and disadvantages of various laboratory methods that can be used in Lyme disease diagnosis in dog.

Keywords: *Borrelia burgdorferi*, diagnosis, dogs.

w 10 różnych komercyjnych laboratoriach wykazały ich zgodność tylko w 53% (21).

Kolejną wadą testów serologicznych jest to, iż jako antygen używane są całe komórki *Borrelia*. Powoduje to niebezpieczeństwo uzyskania wyników fałszywie dodatnich, w przypadku badania próbek surowic pobranych od zwierząt, które miały kontakt z podobnymi do *Borrelia* pod względem antygenowym krętkami, jak np. *Leptospira* (18, 22, 23). Ponadto u ludzi stwierdzono występowanie dodatnich reakcji w tych testach w przypadku badania osób z chorobami autoimmunologicznymi, reumatoidalnym zapaleniem stawów, kiłą, a także z chorobami przyzębia. Rzadko kiedy w badaniach tych uzyskiwane są natomiast wyniki fałszywie negatywne.



Ryc. 2. Dodatni wynik testu SNAP 3Dx (IDEXX) w kierunku boreliozy

Po zakażeniu bakteriami *Borrelia* miano przeciwciał IgG narasta powoli i w teście ELISA przeciwciała te mogą być wykazane dopiero po 4–6 tygodniach od zakażenia, a najwyższy ich poziom stwierdza się dopiero po około 3 miesiącach. Przeciwciała na wykrywalnym poziomie utrzymują się w organizmie psa przez około rok (16). Tak długi czas narastania przeciwciał IgG w surowicy powoduje, że testy serologiczne nie nadają się do wczesnej diagnostyki choroby, chociaż u zwierząt zakażonych doświadczalnie podwyższone miano przeciwciał wykazywano nim rozwinięły się objawy kulawizny (7). Podwyższony poziom przeciwciał IgG może być dowodem na kontakt z zarazkiem w przeszłości, skutkiem czego badanie serologiczne ma wartość diagnostyczną tylko w przypadku badania pary surowic pobranych w odstępie 3-tygodniowym. Wzrost miana przeciwciał w próbkach pomiędzy jednym a drugim pobraniem wskazuje na świeże zakażenie, podczas gdy utrzymywanie się stałego, podwyższonego poziomu przeciwciał przemawia za dawnym kontaktem z patogenem. Pewnym rozwiązaniem tego problemu mogłoby być jednoczesne badanie w surowicy krwi poziomu przeciwciał klas IgG i IgM. Obecność przeciwciał IgM w organizmie doświadczalnie zakażonych zwierząt stwierdzano wcześniej aniżeli przeciwciał IgG i utrzymywały się na poziomie wykrywalnym przez 2 miesiące od zakażenia. W przypadku zakażenia naturalnego okres ich utrzymywania się w surowicy krwi jest jednak dłuższy, nawet kilka miesięcy, w związku z czym wykazanie nawet tej klasy immunoglobulin nie przesądza o tym, że mamy do czynienia z wczesnym zakażeniem (16, 24).

Kolejnym czynnikiem utrudniającym diagnostykę serologiczną boreliozy jest brak rozróżnienia testami ELISA i IF zakażenia naturalnego od szczepienia. Osobniki poddane wakcynacji reagują dodatnio w tych badaniach, przy czym poziom przeciwciał w ich organizmie maleje z czasem upływającym od zaszczepienia (16). Z kolei poziom przeciwciał w surowicy osobników

zakażonych maleje wraz z podjęciem antybiotykoterapii.

W związku z możliwością wystąpienia reakcji krzyżowych (np. pomiędzy przeciwciałami przeciwko innym krętkom a antygenem *Borrelia*) zaleca się wykonanie powtórnego badania dodatnich w teście ELISA próbek surowic techniką immunoblottingu. Pozwala ona na podniesienie swoistości oraz czułości badań serologicznych przeprowadzanych w kierunku choroby z Lyme (12, 20). Przeciwciała powstałe w organizmie zwierząt zakażonych naturalnie reagują z odmiennymi białkami *Borrelia*, aniżeli przeciwciała powstałe w następstwie szczepienia. Technika immunoblottingu, bazując na zdolności wiązania się przeciwciał ze ściśle określonymi antygenami krętków, pozwala także na odróżnienie zakażeń *Borrelia* od zakażeń powstałych na tle innych przedstawicieli Spirochetacea. Przeciwciała powstałe w wyniku naturalnego zakażenia *B. burgdorferi* reagują z białkami bakterii o masie 22 kDa (OspC), 39 kDa (p39) i 41 kDa (białko flageliny). Z kolei u psów szczepionych stwierdzono nasilone reakcję przeciwciał z białkami bakterii o masie 31 kDa (OspA) i 34 kDa (OspB), których nie spotyka się w przypadku badania surowic pochodzących od psów zakażonych naturalnie. Na tej podstawie można przypuszczać, że opracowanie testów ELISA, do których jako antygeny używa się oczyszczonych białek OspA i OspB ułatwiłoby odróżnienie zwierząt szczepionych od tych z naturalnym zakażeniem.

Ekspresja białka OspC zachodzi jedynie w organizmie stałocieplnym. Nie stwierdza się go u bakterii izolowanych z kleszczy lub uzyskanych z hodowli *in vitro*. Wykorzystanie tego antygeny w teście ELISA pozwala uwiarygodnić diagnostykę choroby (16).

Potwierdzeniem konieczności dodatkowego badania surowic dodatnich w teście ELISA techniką immunoblottingu są wyniki badań własnych prowadzonych na koniach, bydło, świniami i psach. Wskazują one, że wiele z próbek pozytywnych w teście ELISA, w którym jako antygeny użyto pełnych komórek *Borrelia*, nie reaguje

z pojedynczymi antygenami krętków. Badając 25 surowic końskich, w których testem ELISA wykazano obecność przeciwciała dla krętków, techniką Western blott, obecność swoistych przeciwciał dla *Borrelia* potwierdzono jedynie w 15 próbkach (60%). W przypadku krów obecność przeciwciał techniką immunoblottingu potwierdzono w 5 z 6 próbek surowic dodatnich w teście ELISA (83,3%; 19). W innych badaniach prowadzonych na bydło i świniami zgodność wyników testu ELISA z Western blott wynosiła 61,54% w grupie bydła i 20% w grupie świń (18). Tylko w jednym doświadczeniu prowadzonym na psach (20) wyniki obu testów pokrywały się w stu procentach, co nie jest jednak regułą.

Na rynku produktów weterynaryjnych dostępne są szybkie zestawy diagnostyczne pozwalające na wykazanie w organizmie podejrzanego psa przeciwciał dla *Borrelia*. Przykładem takiego zestawu może być SNAP 3Dx firmy IDEXX (ryc. 2). Obok wykazania przeciwciał przeciwko krętko zestawy te pozwalają na jednoczesne wykrywanie przeciwciał przeciwko *Ehrlichia canis* oraz antygeny *Dirofilaria immitis*. Jak podaje producent, czułość testów dla *B. burgdorferi* wynosi 92%, a jego swoistość 100%, jednak, jak wykazują obserwacje własne, ich skuteczność w wykrywaniu zakażeń wczesnych u psów jest raczej niska.

Badania molekularne

Skuteczną metodą w rozpoznawaniu zakażeń na tle *Borrelia* wydaje się łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR). Jednak i ten test nie jest pozbawiony wad, a wyniki fałszywie ujemne spotykane są stosunkowo często. Zasadą testu jest amplifikacja, czyli namnożenie fragmentów bakteryjnego DNA wyizolowanego z tkanek zakażonego zwierzęcia do ilości kilku milionów kopii. Namnożeniu ulega nie całkowite DNA *Borrelia*, lecz jego odcinek ograniczony krótkim sekwencjami nukleotydowymi (starterami). Startery mogą być zaprojektowane dla konserwatywnego genu rodzaju *Borrelia*, skutkiem czego, jeżeli dojdzie do zakażenia psa niepatogenymi krętkami, wynik reakcji PCR będzie także dodatni. Aby ominąć tę nieprawidłowość, reakcję łańcuchowej polimerazy można przeprowadzać dwuetapowo. W pierwszym etapie amplifikację DNA przeprowadza się z użyciem starterów komplementarnych do konserwatywnego genu dla całego rodzaju *Borrelia*. W przypadku uzyskania dodatnich wyników w drugim etapie wykonuje się amplifikację z użyciem starterów gatunkowo swoistych. Celem ustalenia gatunku krętków możliwe jest także przeprowadzenie analizy sekwencji nukleotydowej produktów amplifikacji.

Jak wspomniano, wadą PCR jest możliwość uzyskania wyników fałszywie

ujemnych. Mogą być one spowodowane zanieczyszczeniem badanej próbki oraz nieodpowiednio dobranym materiałem do badania. Najczęściej używanym materiałem, z którego izolowane jest bakteryjne DNA jest krew. Zaznaczyć jednak należy, iż krętki we krwi występują tylko w okresie bakteriemii. Jeżeli drobnoustroje umiejscowią się w układzie nerwowym lub w stawach, badanie krwi metodą PCR może dać wynik ujemny.

Wyniki fałszywie dodatnie mogą być następstwem utrzymywania się w tkankach zakażonych zwierząt po antybiotykoterapii fragmentów DNA bakterii, które mogą zostać wykryte badaniem PCR. Dużą wadą łańcuchowej reakcji polimerazy jest więc brak odróżnienia drobnoustrojów żywych od martwych.

Podsumowanie

Reasumując, należy stwierdzić, iż brak doskonałej metody rozpoznawania choroby z Lyme u zwierząt. Schemat postępowania diagnostycznego, jaki przyjęto w Klinice Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie, obejmujące następujące elementy.

1. W przypadku jeżeli na powierzchni ciała psa stwierdzone zostaną kleszcze, należy je usunąć i poddać badaniu molekularnemu metodą PCR, z jednoczesnym badaniem krwi psa w kierunku boreliozy. Gdy w tkankach pajęczaka wykazane zostanie DNA krętków, niezależnie od ich gatunku oraz od tego czy pies zdradza lub nie objawy chorobowe, zwierzę zostaje poddane trzytygodniowej terapii tetracyklinami, po której ponownie wykonywane jest badanie PCR krwi.
2. W przypadku gdy na powłokach ciała nie stwierdza się pajęczaków, a zwierzę zdradza objawy kliniczne choroby, przeprowadzone zostają jednocześnie badania serologiczne oraz molekularne (materiał mogą stanowić: krew, biopłaty skóry, płyny stawowy lub mózgowy). W przypadku potwierdzenia obecności DNA krętków w tkankach zwierzęcia podjęta zostaje terapia za pomocą tetracyklin. Przy ujemnym wyniku reakcji PCR, a dodatnim wyniku testu ELISA, próbki surowic poddawane są dodatkowo badaniu Western blot. Uzyskanie dodatnich wyników w obu badaniach serologicznych wskazuje na zakażenie krętkami *Borrelia burgdorferi*.

Oprócz opisanych powyżej niedoskonałości technik rozpoznawania boreliozy, wadą ich są dosyć wysokie koszty badania, które w wielu przypadkach decydują o tym, iż właściciele zwierząt odstępują od ich przeprowadzenia i decydują się na postawienie rozpoznania poprzez skuteczność leczenia za pomocą tetracyklin.

Piśmiennictwo

1. Winiarczyk S., Grądzki Z., Wołoszyn S., Pejsak Z., Żmudziński J.E., Gundlach J., Sadzikowski A., Osek J.: Choroby zakaźne zwierząt domowych z elementami zoonoz. Lublin 2002.
2. Hovius J.W.R., Hovius K.E., Oei A., Houwers D.J., van Dam A.P.: Antibodies against specific proteins of and immobilizing activity against three strains of *Borrelia burgdorferi* sensu lato can be found in symptomatic but not in infected asymptomatic dogs. *J. Clin. Microbiol.* 2000, **38**, 2611-2621.
3. Van Dam A., Kuiper H., Vos A., Widjojokusomo A., de Jongh B., Spanjaard L., Ramselaar A., Kramer M., Dankert J.: Different genospecies of *Borrelia burgdorferi* are associated with distinct clinical manifestations in Lyme borreliosis. *J. Clin. Infect. Dis.* 1993, **17**, 707-717.
4. Wilske B., Preac-Mursic V., Jauris S., Hofmann A., Pradel I., Soutschek E., Schwab E., Zumstein G.: An OspA serotyping system for *Borrelia burgdorferi* based on reactivity with monoclonal antibodies and OspA sequence analysis. *J. Clin. Microbiol.* 1993, **31**, 340-350.
5. Bush U., Hizo-Teufel C., Boehmer R., Fingerle V., Nitschko H., Wilske B., Preac-Mursic V.: Three species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*B. burgdorferi* sensu stricto, *B. afzelii* and *B. garinii*) identified from cerebrospinal fluid isolates by pulsed-field gel electrophoresis and PCR. *J. Clin. Microbiol.* 1996, **34**, 1072-1078.
6. Wodecka B., Skotarczak J.: Genetic diversity of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected in north-west Poland. *Wiad. Parazytol.* 2000, **46**, 475-485.
7. Appel M.J.G., Allan S., Jacobson R.H.: Experimental Lyme diseases in dogs produce arthritis and persistent infection. *J. Infect. Dis.* 1993, **167**, 651-654.
8. Grauer G.F., Burgess E.C., Cooley A.J., Hagee J.H.: Renal lesions associated with *Borrelia burgdorferi* infection in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1988, **193**, 237-239.
9. Reusch C., Hoerauf A., Lechner J.: A new familial glomerulonephropathy in Bernese mountain dogs. *Vet. Rec.* 1994, **134**, 411-415.
10. Chang Y., Novosel V., Chang C.: Experimental induction of chronic borreliosis in adult dogs exposed to *Borrelia burgdorferi*-infected ticks and treated with dexamethasone. *Am. J. Vet. Res.* 2001, **62**, 1104-1112.
11. Breitschwerdt E.B., Geoly E.J., Meuten D.J.: Myocarditis in mice and guinea pigs experimentally infected with a canine-origin *Borrelia* isolate from Florida. *Am. J. Vet. Res.* 1996, **57**, 505-511.
12. Adaszek Ł., Winiarczyk S., Puchalski A., Garbal M., Górna M.: The diagnose of *Borrelia afzelii* infections in dogs. *Annales UMCS, Sec DD* 2009, **64**, 15-21.
13. Adaszek Ł., S. Winiarczyk, J. Kutrzuba, A. Puchalski, P. Dębiak.: Borelioza psów na terenie województwa lubelskiego. *Życie Wet.* 2008, **83**, 311-314.
14. Skotarczak B.: Canine borreliosis-epidemiology and diagnostics. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2002, **9**, 137-140.
15. Merchant S.R., Taboada J.: Dermatologic aspects of tick bites and tick-transmitted diseases. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 1991, **21**, 145-155.
16. Greene C.E.: Infectious diseases of the dog and cat. W.B Saunders Company 1998.
17. Rodríguez I., Lienhard R., Gern L., Veuve M.C., Jouda E., Siegrist H.H., Fernández C., Rodríguez J.E.: Evaluation of a modified culture medium for *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2007, **102**, 999-1002.
18. Winiarczyk S., Adaszek Ł., Štefančíková A., Pet'ko B., Cislakova L., Puchalski A.: Badania serologiczne w kierunku boreliozy i erlichiozy świń i krów na Lubelszczyźnie. *Medycyna Wet.* 2007, **63**, 561-565.
19. Štefančíková A., Adaszek Ł., Peško B., Winiarczyk S., Dudíňák V.: Serological and immunochemical evidence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in horses and cattle from Poland and diagnostic problems of Lyme borreliosis. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2008, **15**, 37-43.
20. Adaszek Ł., Winiarczyk S., Puchalski A.: The serological investigations towards borreliosis in populations of dogs in Lubelskie voivodship. *Ann. UMCS, sec DD.* 2008, **63**, 1-7.
21. Greene R.T., Hirsch D.A., Rottman P.L., Gerig T.M.: Interlaboratory comparison of titers of antibody to *Borrelia burgdorferi* and evaluation of a commercial assay using canine sera. *J. Clin. Microbiol.* 1991, **29**, 16-20.
22. Magnarelli L.A., Anderson J.F., Johnson R.C.: Cross-reactivity in serological tests for Lyme disease and other spirochetal infections. *J. Infect. Dis.* 1987, **156**, 183-188.
23. Bruckbauer H.R., Preac-Mursic V., Fuchs R., Wilske B.: Cross-reactive proteins of *Borrelia burgdorferi*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 1992, **11**, 224-232.
24. Jacobson R.H., Chang Y.F., Shin S.J.: Lyme disease: laboratory diagnosis of infected and vaccinated symptomatic dogs. *Semin. Vet. Med. Surg. (Small Anim)* 1996, **11**, 172-182.

Dr Łukasz Adaszek, Klinika Chorób Zakaźnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej UP, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: lukaszko@wp.pl

Zamów jeden z zestawów, a półkę dostaniesz w prezencie



Szczegółowe informacje dostępne u przedstawicieli handlowych.



FHU „OVER”
Stare Kozuby 63 A
98-160 Sędziejowice

Biuro Handlowe:
tel./ fax: +48 43 677 13 39
+48 43 677 13 49
e-mail: biuro@over.agro.pl
info@over.agro.pl
www.over.agro.pl