

Leptospireninfektion bei Katzen in Thailand

von Fabienne Christina Sprißler

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Leptospireninfektion bei Katzen in Thailand

von Fabienne Christina Sprißler

aus Pforzheim

München 2019

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Innere Medizin der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Katrin Hartmann

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Tag der Promotion: 27. Juli 2019

"Alles, alles ist möglich."

สุพล เลื่องยศสื่อชากุล

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT: LEPTOSPIROSE IN THAILAND.....	3
1.	Leptospirose bei Menschen in Thailand.....	3
1.1.	Geschichte und Entwicklung der Leptospirose in Thailand.....	3
1.2.	Verbreitung der Leptospirose in Thailand	4
1.2.1.	Prävalenz	5
1.2.2.	Geographische Verbreitung.....	6
1.2.3.	Vorkommende Serovare.....	7
1.2.4.	Erkrankung bei Thailand-Urlaubern	9
1.3.	Risikofaktoren und Übertragungswege.....	10
1.3.1.	Geschlecht und Alter	11
1.3.2.	Klima	12
1.3.3.	Umgebung des Hauses und Haushaltshygiene.....	13
1.3.4.	Kleidung	13
1.3.5.	Vorhandensein von Wunden	14
1.3.6.	Bewusstsein über Leptospirose und Bildungsstatus.....	15
1.3.7.	Berufliches Risiko	16
1.3.8.	Tierkontakt	17
2.	Leptospirose bei Tieren in Thailand.....	19
2.1.	Nager	19
2.2.	Haussäugetiere	23
2.2.1.	Wiederkäuer	23
2.2.2.	Schweine	26
2.2.3.	Hunde	28
2.3.	Andere Tierarten	32
III.	PUBLIKATION	33
IV.	DISKUSSION	43
V.	ZUSAMMENFASSUNG	57
VI.	SUMMARY.....	59
VII.	LITERATURVERZEICHNIS	61

VIII.	DANKSAGUNG.....	81
--------------	------------------------	-----------

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%	Prozent
<	Vergleichszeichen: kleiner als
≥	Vergleichszeichen: größer gleich
°C	Grad Celsius
μl	Mikroliter
5-FU	5-fluorouracil (5-Fluorouracil)
BCS	body condition score (Körperkondition)
BKK	Bangkok
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CI	confidence interval (Konfidenzintervall)
cm	Zentimeter
Ct	cycle threshold (Cycle-Threshold, Schwellenwert-Zyklus)
d. h.	das heißt
DNA	(deoxyribonucleic acid) Desoxyribonukleinsäure
dsh	domestic short hair (Europäisch Kurzhaar)
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay (enzymgekoppelter Immunadsorptionstest)
EMJH	Ellinghausen-McCullough/Johnson-Harris
et al.	et alii (und andere)
f	female (weiblich)
FeLV	feline leukaemia virus (Felines Leukämie-Virus)
FIV	feline immunodeficiency virus (Felines Immundefizienz-Virus)
g	Gramm
hr	hour (Stunde)
i	intact (intakt)
kg	Kilogramm

km	Kilometer
km ²	Quadratkilometer
lip	lipoprotein (Lipoprotein)
m	male (männlich)
MAT	microscopic agglutination test (Mikroagglutinationstest)
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MOPH	Ministry of Public Health (Gesundheitsministerium)
n	neutered (kastriert)
<i>n</i>	number of cats in every group (Anzahl der Katzen in jeder Gruppe)
neg	negative (negativ)
OR	odds ratio (Chancenverhältnis)
p	probability (Wahrscheinlichkeit)
PBS	phosphate-buffered saline (Phosphat-gepufferte Salzlösung)
PCR	polymerase chain reaction (Polymerasekettenreaktion)
pH	potentia hydrogenii (Stärke des Wasserstoffs)
pos	positive (positiv)
rpm	revolutions per minute (Umdrehungen pro Minute)
WHO	World Health Organisation (Weltgesundheitsorganisation)
z. B.	zum Beispiel

I. EINLEITUNG

Katzen können sich mit Leptospiren infizieren, bislang ist die Rolle der Katze als Reservoir für Leptospiren und Infektionsquelle für Menschen jedoch nicht genau geklärt (DESVARS et al., 2013; RODRIGUEZ et al., 2014; TALEBKHAN GAROUSSI et al., 2015). In einigen Ländern wurden bereits Studien zur Prävalenz der Ausscheidung pathogener Leptospiren im Urin von Katzen durchgeführt. Die Ausscheidungsprävalenz lag zwischen 3,3 % in Deutschland (WEIS et al., 2017), 11,7 % in den Vereinigten Staaten (FENIMORE et al., 2012) und 67,8 % in Taiwan (CHAN et al., 2014). In tropischen und subtropischen Regionen werden die höchsten Prävalenzen erwartet (WORLD HEALTH ORGANIZATION WESTERN PACIFIC REGION, 2012).

Leptospirose ist ein großes Problem der öffentlichen Gesundheit in Thailand (WORLD HEALTH ORGANIZATION). Etwa sieben pro 100.000 Menschen erkranken jedes Jahr. Bei einem Ausbruch im Nordosten Thailands im Jahr 2000 erkrankten mehr als 14.000 Menschen und mehr als 350 davon starben (MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2017a). Das tropische Klima und Überschwemmungen, die aufgrund von starken Regenfällen in der Regenzeit in Thailand häufig vorkommen, bieten gute Lebensbedingungen für Leptospiren (TANGKANAKUL et al., 2001). Nagetiere sind das Hauptreservoir für pathogene Leptospiren in Thailand. Etwa ein Drittel aller Ratten in Bangkok sind infiziert (DOUNGCHAWEE et al., 2005). Das Jagen von Nagetieren scheint die Hauptinfektionsquelle für Katzen zu sein (HARTMANN et al., 2013).

Untersuchungen zur Prävalenz der Leptospirose bei Katzen in Thailand gibt es bisher keine. Ziel dieser Studie war es, die Ausscheidung von pathogenen Leptospiren im Urin und die Antikörperprävalenz bei Katzen in Thailand zu untersuchen. Zusätzlich sollten Risikofaktoren, die mit einer Leptospireninfektion assoziiert sind, ermittelt werden.

II. LITERATURÜBERSICHT: LEPTOSPIROSE IN THAILAND

1. Leptospirose bei Menschen in Thailand

Leptospirose zählt laut des Gesetzes für Communicable Diseases 2015 zu den 57 meldepflichtigen Krankheiten in Thailand (DEPARTMENT OF DISEASE CONTROL, 2015). Etwa sieben pro 100.000 Menschen erkranken jedes Jahr (MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2017a). Bei einem aktuellen Ausbruch in der Sisaket-Provinz wurden 25 Erkrankte pro 100.000 Menschen gemeldet (MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2017b).

1.1. Geschichte und Entwicklung der Leptospirose in Thailand

Der erste Ausbruch von Leptospirose in Thailand wurde 1943 in Bangkok dokumentiert. Im Oktober 1942 kam es durch starke Regenfälle zu einer Überflutung Bangkoks, da es zu diesem Zeitpunkt nicht genügend Staudämme gab, um die Stadt vor den Wassermassen zu schützen. Während der ersten Wochen der Überflutung war das Wasser noch flach, und viele Menschen hatten Kontakt zu Überflutungswasser, da sie durch die mit Wasser gefüllten Straßen waten mussten. Vier Menschen infizierten sich in dieser Zeit und erkrankten. Zwei der vier Erkrankten verstarben. Im späteren Verlauf der Überflutung stieg der Wasserpegel so stark an, dass die Menschen mit kleinen Booten durch Bangkok paddelten, um sich fortzubewegen. In dieser Zeit kam es zu keiner Infektion mehr, vermutlich da die Menschen weniger Kontakt zu Wasser hatten (YUNIBANDHU, 1943).

Im Jahr 1946 wurde bei drei Menschen ein Leptospirose-Verdacht in Nakhon Si Thammarat, einer Provinz im Süden Thailands, ausgesprochen; alle drei Patienten hatten Fieber und zeigten für Leptospirose charakteristische Symptome (SUNDHARAGIATI und BUSPAVANICH, 1951). Bis 1948 wurden keine weiteren Fälle von Leptospirose beschrieben. Die Autoren führen dies aber eher auf fehlende Untersuchungen zurück (SUNDHARAGIATI und BUSPAVANICH, 1951).

Von Juli 1948 bis Februar 1950 wurde bei 52 Patienten Leptospirose im Chulalongkorn-Krankenhaus in Thailand diagnostiziert; 9,6 % (5/52) der Erkrankten verstarben (SUNDHARAGIATI und BUSPAVANICH, 1951).

Zwischen 1950 und 1961 wurden 65 Fälle von Leptospirose (in der Chiang Mai- und Pitsanuloke-Provinz im Norden Thailands) gemeldet, von denen etwa 10 % tödlich verliefen (ADTHAMSOONTORN et al., 1960).

Im Jahr 1962 kam es zu einem Ausbruch in der Gegend um Bangkok. Im Chulalongkorn-Krankenhaus wurden in diesem Jahr 54 Fälle von Leptospirose diagnostiziert; 7,4 % (4/54) der Erkrankten verstarben. Die meisten Erkrankungsfälle traten in der Regenzeit auf, und die Krankheit schien mit einem niedrigen sozialen Status in Verbindung zu stehen, da vor allem Arbeiter erkrankten. Alle Erkrankten hatten vorberichtlich Kontakt zu Wasser (CHAROONRUANGRIT und BOONPACKNAVIG, 1964).

In einer großangelegten Studie im Jahr 1968 wurden 1.377 Leptospiroseverdächtige Patienten aus 39 Krankenhäusern Thailands untersucht. Von diesen hatten 14,3 % (97/1.377) tatsächlich Leptospirose (SUNDHARAGIATI, 1969). In einer anderen Untersuchung zum gleichen Zeitpunkt waren 8,6 % (37/432) der Leptospiroseverdächtigen Patienten aus zehn verschiedenen Krankenhäusern Bangkoks an Leptospirose erkrankt (SUNDHARAGIATI und HARINASUTA, 1964; SUNDHARAGIATI, 1969).

Ab 1972 gab es eine offizielle Dokumentations- und Meldepflicht für Leptospirose (Abbildung 1). Es kam zu einem stetigen Anstieg der gemeldeten Fälle von 1972 bis 2000 (MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2017a).

Im Jahr 1996 kam es nach einer Überflutung des Nong Bunnak-Bezirks in Nakhon Ratschasima im Nordosten Thailands zu einem Leptospirose-Ausbruch mit einer hohen Zahl an Erkrankten (bis zu 50 pro 100.000 Menschen). Ein Jahr später erkrankten in 16 von 19 Provinzen im Nordosten Thailands bis zu 50 pro 100.000 Menschen (TANGKANAKUL et al., 2005).

1.2. Verbreitung der Leptospirose in Thailand

Leptospirose ist in ganz Thailand verbreitet (MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2017a). Die meisten Menschen erkrankten im Süden und Nordosten Thailands (MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2017a). Es kommt immer wieder zu lokalen Ausbrüchen von Leptospirose (MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2017b).

1.2.1. Prävalenz

Abbildung 1 gibt einen Überblick über die Prävalenz von Leptospirose in Thailand zwischen den Jahren 1971 bis 2016.

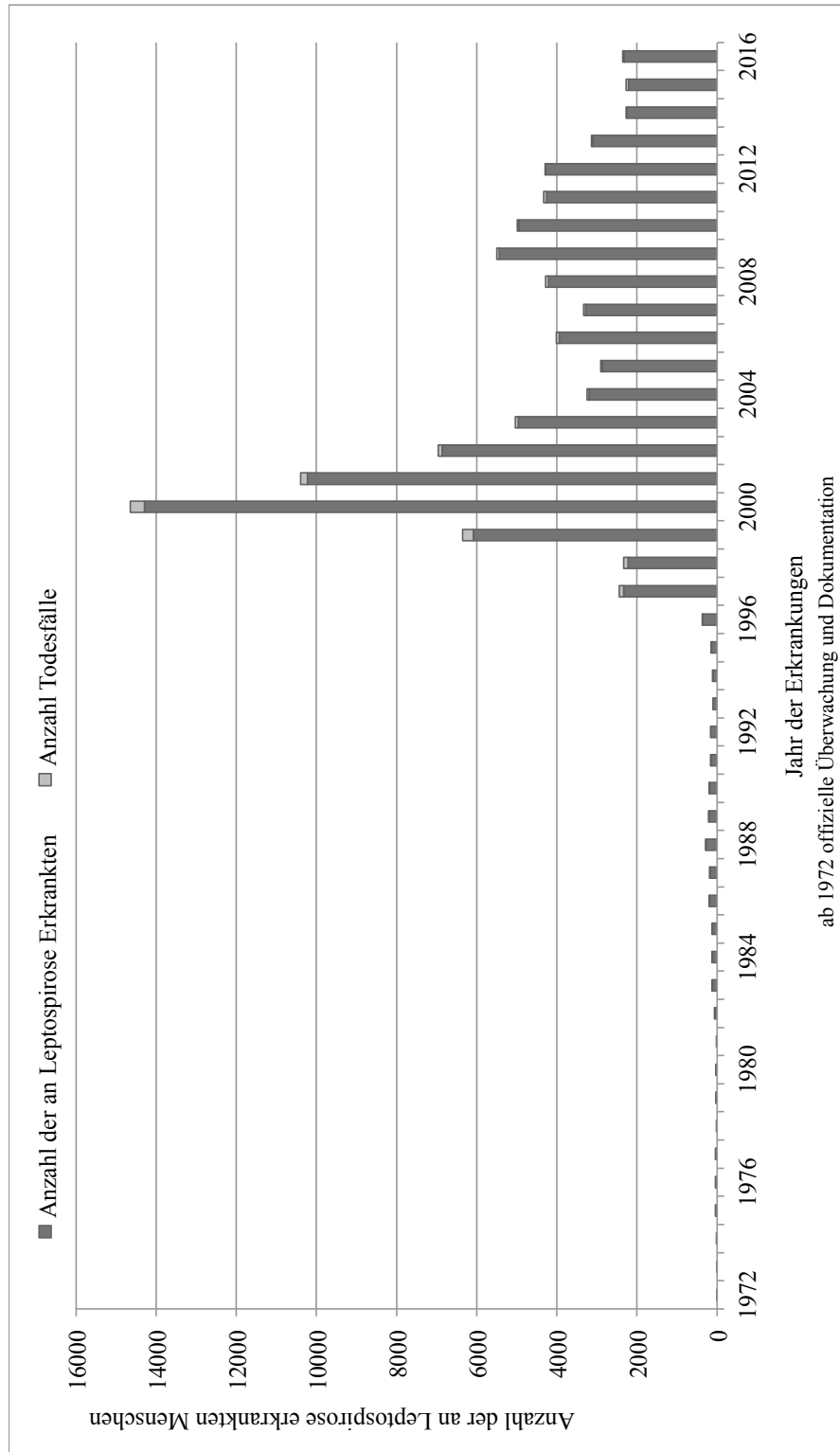


Abbildung 1: Leptospirose in Thailand 1972-2016, erstellt mit Daten des Ministry of Public Health, Annual Surveillance Reports 2017 ab 1972 offizielle Überwachung und Dokumentation

Während von 1971 bis 1995 nicht mehr als 272 Menschen pro Jahr an Leptospirose erkrankten, stieg die Zahl der Erkrankten ab 1996 deutlich an und nahm ab 2001 wieder ab. Es wurden epidemiologische Untersuchungen durchgeführt, Aufklärungsarbeit zur Übertragung und Schutz vor Leptospirose geleistet und Rattenpopulationen in vielen Regionen reduziert (TANGKANAKUL et al., 2005). Dadurch sank die Anzahl wieder. Seit 2003 bis heute erkranken 3.000 bis 5.000 Menschen jährlich (Abbildung 1) (MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2017a).

1.2.2. Geographische Verbreitung

Leptospirose tritt in ganz Thailand auf, besonders häufig im Süden und Nordosten Thailands. Im Jahr 2017 erkrankten 6,0 von 100.000 Menschen im Süden und 4,4 von 100.000 Menschen im Nordosten Thailands (MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2017b). Abbildung 2 gibt einen Überblick über die Anzahl der an Leptospirose erkrankten Menschen in Thailand pro 100.000 Menschen, aufgeteilt nach Regionen, von 2012 bis 2016.

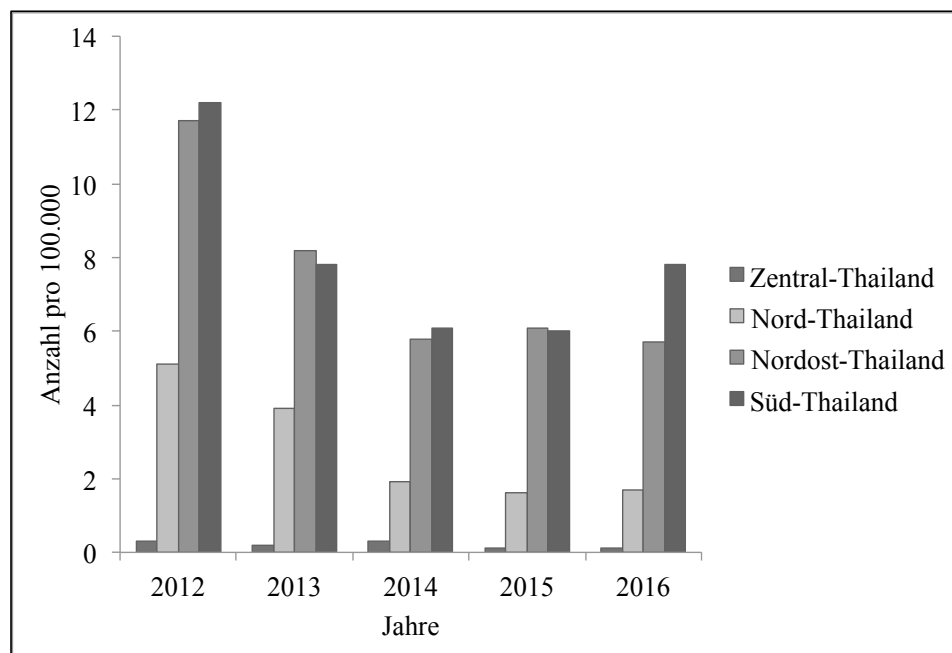


Abbildung 2: Anzahl der an Leptospirose erkrankten Menschen in Thailand pro 100.000 Menschen nach Regionen von 2012 bis 2016 (mit Genehmigung des Bureau of Epidemiology, MOPH, Thailand)

1.2.3. Vorkommende Serovare

Vor der Jahrtausendwende wurden wenige Untersuchungen zur Verteilung von Serovaren durchgeführt. In einer Studie der frühen 1960er-Jahre wurden die ersten Daten erhoben (Tabelle 1).

Tabelle 1 : Prävalenz von Leptospiren und Serovare, die bei Menschen in Thailand gefunden wurden

Jahr der Untersuchung	Anzahl der Untersuchten	Anzahl positive (%)	Serovare	Provinz	Region	Studien-population	Nachweis-methode	Kommentar	Studie
nicht angegeben	3.746	1.821 (27,0)	Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Bataviae	landesweit		Allgemeinbevölkerung	MAT		SUNDHARAGIATI et al., 1966b
1983 und 1984	73	26 (35,6)	Bataviae, Javanica, Autummalis, Hebdomadis, Pyrogenes	Bangkok	Z	Kinder	MAT	nach einer Überschwemmung	HEISEY et al., 1988
2000	527	171 (32,5)	Bataviae, Bratislava, Javanica	Hat Yai	S	Patienten mit Fieber	MAT	nach einer Überschwemmung	PRADUTKANCHANA et al., 2002
2000	180	49 (27,2)	Bataviae, Bratislava, Canticola, Hyos, Wolffii	Hat Yai	S	Kinder mit Fieber	MAT	nach einer Überschwemmung	PRADUTKANCHANA et al., 2003
2004	2.207	280 (12,7)	Bratislava	Nakhon Ratschasima	NO	Landwirte	MAT		FUNGLADDA et al., 2005
2002	148	22 (14,9)	Autummalis, Djasiman	unbekannt	NO	Leptospiroseverdächtige	MAT		KUSUM et al., 2005
2002	63	49 (77,8)	Autummalis, New, Australis, Bangkok, Copenhageni, Sejroe, Djasiman, Saigon, Ranarum, Patoc, Hebdomadis, Canticola, Bataviae, Grippotyphosa	Loei	NO	stationäre Patienten	MAT	nach einer Überschwemmung	NIWETPATHOMWAT et al., 2005
2002 bis 2006	219	41 (18,2)	Autummalis, Australis, Louisiana	Saraburi	Z	Leptospiroseverdächtige	MAT		CHITTSAMARAT et al., 2007
1998 bis 2003	106	69 (65,1)	Bratislava, Autummalis, Icterohaemorrhagiae, australis, Bataviae, Canticola, Grippotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Javanica, Pomona, Hardjo	Kamphaeng Phet	N	Leptospiroseverdächtige	MAT		MYINT et al., 2007
2003 bis 2004	700	143 (20,4)	Autummalis, Bataviae, Pyrogenes, Javanica, Hebdomadis, Grippotyphosa	landesweit		Leptospiroseverdächtige	MAT		WUTHIEKANUN et al., 2007
nicht angegeben	17	6 (35,3)	Shermani, Australis, Autummalis, Louisiana, Cynopteri, Mini, Panama, Pyrogenes, Ranarum, Grippotyphosa, Manhao	Bangkok	Z	Leptospiroseverdächtige	MAT		CHIRATHAWORN et al., 2014
2001 bis 2002	245	98 (40,0)	Autummalis	Nakhon Ratschasima	NO	Patienten mit Fieber	MAT		THIPMONTREE et al., 2014

2011 bis 2012	481	61 (12,7)	Autumnalis	Nakhon Ratschasima	NO	Patienten mit Fieber	MAT	THIPMONTREE et al., 2014
2010 bis 2015	1.990	471 (23,8)	Shermani, Bratislava, Panama, Sejroe, Hebdomadis, Autumnalis Ballum, Cynopteri	landesweit		Leptospiroseverdächtige	MAT	CHADSUTHI et al., 2017

N = Norden, NO = Nordosten, O = Osten, S = Süden, W = Westen, Z = Zentral, MAT = Mikroagglutinationstest

Zu dieser Zeit kamen vorwiegend die Serovare Bataviae (35/37; 94,6 %) und Icterohaemorrhagiae (2/37; 5,4 %) in Thailand vor (CHAROONRUANGRIT und BOONPACKNAVIG, 1964). Eine Studie von 1966 gibt die Serovare Grippothyphosa, Icterohaemorrhagiae und Bataviae als die häufigsten an. Angaben bezüglich der prozentualen Verteilung der Serovare liegen allerdings nicht vor (SUNDHARAGIATI et al., 1966b). In Bangkok im Jahr 1968 wurde mehrheitlich das Serovar Bataviae (22/37; 59,5 %) nachgewiesen (SUNDHARAGIATI, 1969).

Die nächste Studie, die Serovare in Thailand bestimmte, wurde erst 1988, also zwanzig Jahre später veröffentlicht. Erneut wurde das Serovar Bataviae am häufigsten bestimmt (22/26; 92,3 %) (HEISEY et al., 1988). In den folgenden Studien (2002 bis 2007) traten vor allem die Serovare Bratislava und Autumnalis auf (Tabelle 2) (PRADUTKANCHANA et al., 2002; PRADUTKANCHANA et al., 2003; FUNGLADDA et al., 2005; KUSUM et al., 2005; NIWETPATHOMWAT et al., 2005; CHITTSAMARAT et al., 2007; MYINT et al., 2007; WUTHIEKANUN et al., 2007). Zwischen 2010 und 2015 war das Serovar Shermani in ganz Thailand am häufigsten, gefolgt von den Serovaren Bratislava, Panama und Sejroe (CHADSUTHI et al., 2017). Auch in Bangkok fanden CHIRATAWORN und Mitarbeiter (2014) am häufigsten (16/17; 94,1 %) das Serovar Shermani (CHIRATHAWORN et al., 2014).

1.2.4. Erkrankung bei Thailand-Urlaubern

Reise-assoziierte Leptospireninfektionen werden in Deutschland und Europa zunehmend diagnostiziert. Während sich von 1997 bis 2003 15,7 % (39/248) (JANSEN et al., 2005) der deutschen an Leptospirose Erkrankten außerhalb von Deutschland infiziert hatten, waren es von 1998 bis 2008 40,7 % (24/59) (HOFFMEISTER et al., 2010).

Von 1997 bis 2003 hatten sich 7,7 % (3/39) der Reisenden aus Deutschland, die sich außerhalb von Deutschland mit Leptospiren infiziert hatten, in Thailand infiziert (JANSEN et al., 2005). Auch 33,3 % (5/15) der Franzosen, die sich bei Reisen von 2008 bis 2011 (VAN DE WERVE et al., 2013) und 75,0 % der Niederländer, die sich bei Reisen von 1987 bis 1991 mit Leptospiren angesteckt hatten (24/32), hatten sich in Thailand infiziert (VAN CREVEL et al., 1994).

GeoSentinel ist ein globales Netzwerk zur Überwachung von Reise-assoziierten

Krankheiten, zu dem 70 Krankenhäuser aus 31 Ländern auf sechs Kontinenten, die auf Tropen- und Reisekrankheiten spezialisiert sind, gehören. In einer aktuellen Studie von 2018 von GeoSentinel, wurden 180 Menschen mit Leptospirose untersucht. Davon hatten sich 81,1 % (146/180) als Touristen infiziert, von denen sich wiederum 28,9 % (52/180) in Thailand angesteckt hatten (VRIES DE et al., 2018).

Reisende infizieren sich meist durch Kontakt zu Wasser bei Freizeitaktivitäten (MORGAN et al., 2002; SEJVAR et al., 2003; RICALDI und VINETZ, 2006; PAPPAS et al., 2008). So hatten sich die Reisenden beim Rafting (VAN CREVEL et al., 1994; KAGER et al., 2001; GALLARDO et al., 2015), beim Baden im Mekong Fluss (SEILMAIER und GUGGEMOS, 2008), im Wasserfall auf Koh Samui (CHRISTEN et al., 2015), durch Kontakt zu Überschwemmungswasser (CALVO-CANO et al., 2014), beim Wandern durch den Dschungel Thailands (GURON et al., 2006) und dem Überqueren nasser Felder infiziert (STEFFENS et al., 2006). Außerdem hatten manche erkrankte Urlauber Ratten im Hotelzimmer oder am Strand gesehen (KAGER et al., 2001; PAZ et al., 2004; CALVO-CANO et al., 2014).

In einer Studie von PIYPHANEE und Mitarbeiter (2012) wurden nach einer Überflutung Bangkoks Backpacker in der Khao San Road befragt. Fast Dreiviertel (295/422; 70,0 %) der Befragten waren Europäer. In Kontakt mit Überschwemmungswasser waren 15,4 % (65/422) der Befragten gekommen; nur 30,8 % (20/65) davon wuschen danach ihre Füße und/oder Beine. Obwohl sie sich der Überschwemmungen bewusst waren, war keiner der Befragten über das Risiko einer Leptospireninfektion oder deren Prophylaxe informiert (PIYAPHANEE et al., 2012).

1.3. Risikofaktoren und Übertragungswege

Eine Infektion mit Leptospiren kann durch verschiedene direkte Faktoren, wie z. B. Kontakt zu kontaminiertem Wasser, aber auch durch indirekte Faktoren, wie z. B. das Klima beeinflusst werden (SUNDHARAGIATI et al., 1965; SUDJANHAN, 2005; CHADSUTHI et al., 2012). Das folgende Kapitel gibt einen Überblick über die wichtigsten Faktoren.

1.3.1. Geschlecht und Alter

Männliche Personen infizieren sich häufiger mit Leptospiren als Frauen. YUNIBANDHU (1943) beschreibt, dass beim ersten Ausbruch von Leptospirose in Thailand nur Männer (4/4; 100 %) erkrankt waren (YUNIBANDHU, 1943). Auch die von 1948 bis 1950 an Leptospirose erkrankten Menschen, die im Chulalongkorn-Krankenhaus in Bangkok behandelt wurden, waren vor allem Männer (44/52; 84,6 %) (SUNDHARAGIATI und BUSPAVANICH, 1951). Auch waren mehr als Dreiviertel der Patienten (43/55; 78,2 %), bei denen im Siriraj-Krankenhaus in Bangkok Leptospirose diagnostiziert wurde, männlich (BUNNAG et al., 1965). Zur selben Zeit waren im Chulalongkorn-Krankenhaus in Bangkok sogar 87,0 % (47/54) der Erkrankten Männer (CHAROONRUANGRIT und BOONPACKNAVIG, 1964). Im Jahr 2016 waren im Ramathibodi-Krankenhaus in Bangkok 84,7 % (50/59) der Patienten männlich (BUTSORN, 2016).

Männer erkrankten laut Ministry of Public Health (MOPH) Thailand viermal häufiger als Frauen, in Gebieten mit einer hohen Inzidenz von Leptospirose sogar bis zu 30-mal häufiger (TANGKANAKUL und KINGNATE, 1998; MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2016). Grund dafür ist vermutlich ein erhöhtes Expositionsrisiko der Männer. So wird die Arbeit auf Reisfeldern in Thailand überwiegend von Männern durchgeführt (NATIONAL STATISTIC OFFICE, 2017). Auf den Reisfeldern finden Nagetiere genügend Nahrung und scheiden Leptospiren monatelang mit dem Urin aus (SUNDHARAGIATI et al., 1965; HINJOY, 2016) (siehe Kapitel 1.3.7.). Im stehenden Wasser der Reisfelder können Leptospiren monatelang überleben (LEVETT, 2001). Des Weiteren haben Männer ein höheres Risiko, da sie signifikant häufiger barfuß laufen als Frauen. Dies wurde in einer Studie von HINJOY (2016) ermittelt. Haben Personen ohne Schuhe zusätzlich Kratzer oder Wunden an den Füßen, können sie sich leicht mit Leptospiren infizieren. Frauen in Thailand haben häufiger Angst, sich zu verletzen und tragen daher eher Sandalen als Männer. Außerdem schwimmen Männer häufiger in Seen und sammeln eher Holz als Frauen (HINJOY, 2016).

Leptospirose ist vor allem bei Männern mittleren Alters beschrieben (MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2017a). Schon in einer Studie von 1951 waren 69,7 % (39/56) der Erkrankten zwischen 20 und 50 Jahre alt (SUNDHARAGIATI und BUSPAVANICH, 1951). In diesem Alter sind Männer in Thailand erwerbsfähig

und verbringen viel Zeit mit der Arbeit auf den Reisfeldern (TANGKANAKUL et al., 2001; PANAPHUT et al., 2002). Abbildung 3 zeigt die Anzahl der an Leptospirose Erkrankten in Thailand im Jahr 2016, aufgeteilt nach Altersgruppen.

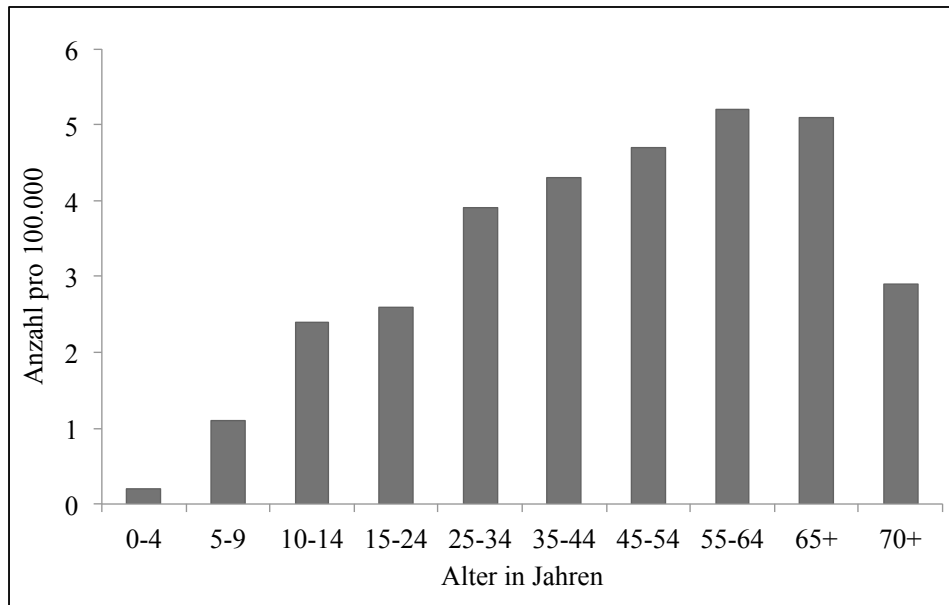


Abbildung 3: Anzahl der an Leptospirose Erkrankten in Thailand nach Altersgruppen im Jahr 2016 (mit Genehmigung des Bureau of Epidemiology, MOPH, Thailand)

1.3.2. Klima

Das Klima in Thailand ist tropisch und wird meteorologisch in drei Jahreszeiten unterteilt. Die Regenzeit, während der es in ganz Thailand zu starken Regenfällen kommt, dauert von Juni bis Oktober. Der Winter, der von November bis Februar andauert, ist mit Temperaturen von 24 bis 27 °C mild und abgesehen vom Süden und der Ostküste Thailands trocken. Im Sommer, der von März bis Mai andauert, werden Temperaturen von 40 °C oder höher erreicht. Die Regenmenge in Thailand beträgt 1.200 bis 1.600 mm pro Jahr, in den Provinzen Trat und Ranong sogar mehr als 4.500 mm (THAI METEOROLOGICAL DEPARTMENT, 2017).

Leptospiren können bei feucht-warmem Klima, bei einer Optimaltemperatur von 28 bis 30 °C, in stehendem Wasser über Monate überleben und finden daher während der Regenzeit Thailands ideale Lebensbedingungen (LEVETT, 2001).

So tritt Leptospirose in der Regenzeit gehäuft auf, mit höchsten Infektionsraten von Juli bis Oktober (MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2016).

Schon die ersten vier Fälle von Leptospirose in Thailand traten im Oktober, während der großen Flut von Bangkok 1942, auf (YUNIBANDHU, 1943). Im Jahr 1948 wurden im Chulalongkorn-Krankenhaus über zwei Jahre alle diagnostizierten Leptospirose-Fälle dokumentiert. Demnach wurden 81,8 % (9/11) der Fälle in der Regenzeit (Juli bis Oktober) vorgestellt, wohingegen von November bis Juli nur 18,2 % (2/11) der Fälle diagnostiziert wurden. Im Jahr 1949 erkrankten 89,2 % (33/37) während der Regenzeit, nur 10,8 % (4/37) der diagnostizierten Fälle traten außerhalb der Regenzeit auf (SUNDHARAGIATI und BUSPAVANICH, 1951). Auch in einer Studie von 1964 im Chulalongkorn-Krankenhaus wurde die höchste Anzahl von Leptospirose-Fällen während der Regenzeit dokumentiert (45/54; 83,3 %); nur 16,7 % (9/54) der Patienten erkrankten außerhalb der Regenzeit (CHAROONRUANGRIT und BOONPACKNAVIG, 1964).

1.3.3. Umgebung des Hauses und Haushaltshygiene

Der Standort des Wohnhauses, die sanitären Bedingungen sowie die Lebensweise können das Infektionsrisiko beeinflussen. SUDJAHAN (2005) nahm ein 4,3-mal höheres Infektionsrisiko an, wenn es um das Wohnhaus herum nass, feucht oder überschwemmt war (SUDJAHAN, 2005). Außerdem schätzten CHUXNUM und Mitarbeiter (2007) es als erhöhtes Infektionsrisiko ein, wenn Bewohner ihr Haus reinigten und beim Fangen von Ratten für das Abendessen durch Überschwemmungswasser liefen (CHUXNUM et al., 2007).

Mangelnde Hygiene im Haus kann dazu führen, dass Nagetiere ins Haus kommen. In einer Studie in Nakhon Ratschasima gaben mehr als doppelt so viele (7/56; 12,5 %) der an Leptospirose Erkrankten an, zu Hause unter schlechten sanitären Bedingungen zu leben, als Personen der nicht infizierten Kontrollgruppe (7/145; 4,8 %) (TANGKANAKUL et al., 2001).

1.3.4. Kleidung

CHUXNUM und Mitarbeiter (2007) ermittelten ein signifikant höheres Risiko, sich mit Leptospiren zu infizieren, wenn keine Schuhe getragen wurden. Menschen infizierten sich häufig, wenn sie ohne Schuhe und ohne lange Hosen oder Röcke durch Wasser waten, vor allem nach Überschwemmungen

(CHUXNUM et al., 2007). So hatten bei einem Ausbruch nach der Reinigung eines Teiches 25,6 % (11/43) der Infizierten Schuhe getragen, während bei den nicht infizierten Personen 50,8 % (31/61) Schuhe getragen hatten. Hosen oder lange Röcke zu tragen, war signifikant protektiv für eine Leptospiroseinfektion. Hosen oder lange Röcke hatten 74,4 % (32/43) der Infizierten getragen, wohingegen 90,2 % (55/61) der nicht infizierten Kontrollgruppe mit Hosen oder langen Röcken bekleidet gewesen waren (PHRAISUWAN et al., 2002).

Das Risiko, sich mit Leptospiren zu infizieren, kann daher z. B. durch das Tragen von Gummistiefeln während der Arbeit im Reisfeld oder im Matsch sowie nach Überschwemmungen minimiert werden (CHOOMKASIEN und PETKANACHANAPONG, 2007). Das MOPH rät dazu, falls nötig, Gummistiefel, die bis über den Oberschenkel reichen, zu tragen (MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2016).

1.3.5. Vorhandensein von Wunden

Leptospiren können bei Kontakt mit kontaminiertem Wasser über Hautwunden oder Schleimhäute in den Körper des Wirtes eindringen (LEVETT, 2001). Das Vorhandensein von Hautabschürfungen oder Schnittwunden wurde bei River-Raftern in Süd-Thailand als signifikanter Risikofaktor ermittelt. Infizierte Rafter wiesen fast alle (10/11; 90,9 %) Schürfwunden oder Lacerationen auf. Eine Korrelation zwischen einer Infektion und dem Schweregrad der Verletzungen konnte in dieser Studie jedoch nicht festgestellt werden (CHUSRI et al., 2012).

Bei der Arbeit auf den Feldern kann man sich leicht kleinere Verletzungen zuziehen. Wunden an den Füßen mit Kontakt zu Wasser oder Dreck waren in einer Studie von TANGKANAKUL und Mitarbeiter (2000) bei 23,7 % (14/59) der an Leptospirose erkrankten Menschen festgestellt worden. Bei der nicht infizierten Kontrollgruppe hatten dagegen nur 9,1 % (10/110) Wunden am Körper (TANGKANAKUL et al., 2000). Landwirte, die mehr als zwei Wunden am Körper hatten, waren signifikant häufiger infiziert. Fast die Hälfte aller Infizierten (21/43; 48,8 %) hatten mehr als zwei Wunden am Körper, wohingegen 21,3 % (13/61) der nicht infizierten Menschen mehr als zwei Wunden am Körper hatten (PHRAISUWAN et al., 2002). Hautabschürfungen können z. B. durch Schalen toter Schnecken (*Pomacae canaliculata*), die sich oft auf Reisfeldern befinden, verursacht werden (CHOOMKASIEN und PETKANACHANAPONG, 2007).

1.3.6. Bewusstsein über Leptospirose und Bildungsstatus

TANGKANAKUL und Mitarbeiter (2001) untersuchten, ob Menschen, die sich der Gefahr einer Leptospireninfektion bewusst sind, sich weniger häufig mit Leptospiren infizieren, als Menschen, die sich der Gefahr einer Infektion nicht bewusst sind. In der nicht infizierten Kontrollgruppe wussten mehr als doppelt so viele (49/144; 34,0 %) über eine Leptospireninfektion Bescheid als in der Gruppe der Infizierten (9/56; 16,1 %). Daraus schlossen TANGKANAKUL und Mitarbeiter (2001), dass Menschen, die sich der Gefahr einer Infektion bewusst sind, sich eher schützen (TANGKANAKUL et al., 2001).

In einer Studie von BUTSORN (2016) wurde untersucht, ob sich Menschen, die über die Infektionswege und Symptome einer Leptospirose informiert sind, schneller behandeln lassen als Menschen, die nicht informiert sind. Mehr als ein Drittel (119/157; 75,8 %) der Patienten, die erst verzögert eine Behandlung erhalten hatten, waren nicht über die Gefahr der Leptospirose aufgeklärt, wohingegen Patienten, die ohne Verzögerung medizinisch behandelt wurden, besser über Leptospirose informiert waren (97/157; 61,8 %). Menschen, die über Leptospirose Bescheid wussten, waren sich ihrer Symptome bewusst und gingen entsprechend früher zur Behandlung ins Krankenhaus, als Menschen, die sich nicht mit Leptospirose auskannten (BUTSORN, 2016).

Eine Studie wurde im Kok Yang-Bezirk in der Buriram-Provinz durchgeführt, als die Prävalenz für Leptospirose gerade sehr hoch war (1,0 %) (WIWANITKIT, 2006). WIWANITKIT (2006) ermittelte, wie gut die Bewohner dieses Bezirks über Leptospirose Bescheid wussten und fand einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem allgemeinen Bildungsniveau und dem Wissen über Leptospirose. Von den Teilnehmern mit geringem Bildungsstatus waren 70,0 % (210/300) nicht gut über Leptospirose informiert. Fast alle Teilnehmer (270/300; 90,0 %) glaubten, dass sie sich durch kontaminierte Nahrungsmittel und kontaminiertes Wasser mit Leptospiren infizieren könnten oder auch, dass Insekten Nahrungsmittel kontaminieren könnten. "Schreien wie eine Ratte" wurde von den Befragten häufig als ein Hauptsymptom der Krankheit beschrieben. Das mangelnde Wissen über Leptospirose könnte die hohe Prävalenz in diesem Bezirk erklären (WIWANITKIT, 2006).

1.3.7. Berufliches Risiko

Im Jahr 2016 waren 59,6 % aller Erkrankten Landwirte, 19,9 % Angestellte und 11,2 % Studierende (MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2016). Menschen, die im Landwirtschaftssektor in Thailand arbeiteten, erkrankten häufiger an Leptospirose als Menschen, die nicht im Landwirtschaftssektor arbeiteten (TANGKANAKUL et al., 2005; DELLA ROSSA et al., 2016). Im Dorf Phraroj in der Ubon Ratchathani-Provinz waren bei einem Ausbruch im Jahr 2013 83,7 % (87/104) der Infizierten Landwirte (WONGBUTDEE et al., 2016).

Die Hälfte der gesamten Landfläche Thailands wird für den Reisanbau genutzt (NATIONAL STATISTIC OFFICE, 2017). Das Wasser in den Reisfeldern hat einen medianen pH-Wert von 7,6 (6,7–8,5) und eine mediane Temperatur von 34,5 °C (30,0–37,0 °C) und ist damit ein ideales Habitat für Leptospiren, die in stehendem Wasser mit einem pH-Wert von 7,0 bis 7,4 und einer Temperatur zwischen 28 bis 30 °C Monate überleben können. Landwirte haben ein hohes Risiko, mit Urin von Reisfeldratten (*Bandicota indica*) in Kontakt zu kommen. Entweder haben sie direkten Kontakt zu kontaminiertem Urin oder indirekten Kontakt mit Wasser oder Dreck, der durch Rattenurin kontaminiert ist (SUNDHARAGIATI et al., 1965). Beim Reisanbau gibt es Arbeiten, die im nassen Reisfeld ausgeführt werden, wie das Pflügen der Reisfelder, Einpflanzen der Jungpflanzen und Düngen und Jäten der Reisfelder. Beim Aussäen ist noch nicht sehr viel Wasser im Reisfeld, und bei der Ernte sind die Reisfelder bereits abgetrocknet. Bei der Arbeit auf dem Reisfeld kommen die Landwirte oft in Kontakt mit Wasser und können sich so mit Leptospiren infizieren (FAINE, 1982; TANGKANAKUL et al., 2000). In einer Studie in Nakhon Ratschasi pflügten 28,8 % (17/59) der an Leptospirose Erkrankten mehr als sechs Stunden am Tag Reisfelder (dagegen nur 8,2 % (9/110) der nicht infizierten Kontrollgruppe). Mehr als die Hälfte (33/59; 55,9 %) der Erkrankten, aber 23,6 % (26/110) der nicht infizierten Kontrollgruppe düngten mehr als sechs Stunden am Tag Reisfelder. Allerdings säten 11,9 % (7/59) der an Leptospirose Erkrankten und 10,9 % (12/110) der nicht infizierten Kontrollgruppe Reis aus. Während das Düngen und Pflügen mit einem Risiko assoziiert ist, scheint beim Aussäen von Reis also kaum ein Risiko zu bestehen, da man beim Aussäen von Reis nur selten in Kontakt mit Wasser kommt. Beim Düngen und Pflügen von Reisfeldern dagegen ist ein Kontakt zu Wasser unvermeidbar (TANGKANAKUL et al., 2000).

1.3.8. Tierkontakt

Der Kontakt zu Tieren, die pathogene Leptospiren ausscheiden, spielt ebenfalls eine große Rolle als Risikofaktor für eine Infektion mit Leptospiren. Die Infektion kann entweder direkt durch den Kontakt mit Urin, durch Bisse, durch Essen von Tieren oder indirekt durch Kontakt zu kontaminiertem Wasser oder Dreck erfolgen (LEVETT, 2001). Tiere werden als Reservoir für humane Infektionen angesehen. In ländlichen Gebieten Thailands leben Tiere oft in engem Kontakt mit den Hausbewohnern (CHADSUTHI et al., 2017). Zudem werden Ratten in Thailand verzehrt. CHUXNUM und Mitarbeiter (2007) vermuten, dass das Fangen und Zubereiten der Ratten, welches mit bloßen Händen durchgeführt wird, ein Risiko für eine Infektion darstellt (CHUXNUM et al., 2007).

In dem Dorf Phraroj, in dem laut Autoren Leptospirose endemisch ist (leider keine weiteren Angaben oder Zahlen), wurden 104 Haushalte zu ihrem Kontakt zu Tieren befragt. Von den Befragten hatten 67,3 % (70/104) Hunde, Katzen, Kühe, Büffel oder Schweine; 95,2 % (99/104) der Befragten berichteten, dass sie jeden Tag mit dem Urin von Kühen, Ratten und/oder Schweinen in Kontakt kommen (WONGBUTDEE et al., 2016). Die Serovare, die man bei Nutztieren in Thailand findet, sind überwiegend auch die, die man bei infizierten Menschen finden kann (CHADSUTHI et al., 2017).

In einer Studie in Nakhon Ratschasima hatten 87,5 % der Erkrankten und 86,2 % der nicht erkrankten Kontrollgruppe Haustiere. Ein erhöhtes Infektionsrisiko durch Kontakt zu Tieren sowie ein Unterschied zwischen den Tierarten konnte in dieser Studie daher nicht nachgewiesen werden. Interessanterweise hatten aber doppelt so viele Personen der nicht infizierten Kontrollgruppe Katzen (25/129; 19,7 %) als infizierte Personen (5/49; 10,2 %) (TANGKANAKUL et al., 2001). Katzen reduzieren den Kontakt von Menschen zu Nagern, da Nager eine Nahrungsquelle für Katzen darstellen. Auch in einer Studie von CHILDS und Mitarbeiter (1999) waren Katzen als Haustiere als protektiver Faktor für eine Infektion mit Leptospiren ermittelt worden (CHILDS et al., 1992).

2. Leptospirose bei Tieren in Thailand

Leptospirose bei Tieren zählt laut Animal Epidemics Gesetz 2015, Artikel Nr. 4, in Thailand zu den anzeigepflichtigen Seuchen. Folgende Tiere werden im Abschnitt vier dieses Gesetzes genannt: Elefant, Pferd, Kuh, Büffel, Esel, Maultier, Ziege, Schaf, Reh, Schwein, Wildschwein, Hund, Katze, Kaninchen, Hase, Affe und Gibbon (THAI PARLIAMENT, 2015).

2.1. Nager

Schon SUNDHARAGIATI und Mitarbeiter (1964) beschrieben, dass Ratten die häufigsten Reservoirwirte für Leptospiren in Thailand sind (SUNDHARAGIATI et al., 1964). Bei Mäusen (*Mus musculus*) werden Leptospiren dagegen nur selten nachgewiesen (SUNDHARAGIATI und BUSPAVANICH, 1951; SUNDHARAGIATI et al., 1969). Nager können Leptospiren lebenslang ausscheiden, ohne selbst zu erkranken (WORLD HEALTH ORGANIZATION WESTERN PACIFIC REGION, 2012). Tabelle 2 gibt einen Überblick über Prävalenz und Serovare von Leptospiren, die bei Nagern in Thailand vorkommen. Menschen infizieren sich häufig an Orten, an denen auch infizierte Nagetiere gefunden wurden (JITTIMANEE und WONGBUTDEE, 2014; DELLA ROSSA et al., 2016).

KOSITANONT und Mitarbeiter (2003) untersuchten die Prävalenz von Antikörpern gegen Leptospiren bei Ratten aus vier verschiedenen Gebieten Thailands. Gebiet 1 umfasste Bangkok mit 0,07 pro 100.000 an Leptospirose erkrankten Menschen. Gebiete 2, 3 und 4 waren ländliche Gebiete mit hoher Leptospirose-Prävalenz (0,2 Erkrankte pro 100.000 Menschen in Gebiet 2; 2,0 Erkrankte pro 100.000 Menschen in Gebiet 3; 48,2 erkrankten Menschen pro 100.000 Menschen in Gebiet 4). Die Antikörperprävalenz bei Ratten nahm in den ländlichen Gebieten mit steigender Prävalenz beim Menschen signifikant zu (2,9 % in Gebiet 2; 4,6 % in Gebiet 3; 7,1 % in Gebiet 4). Allerdings war trotz der relativ niedrigen Prävalenz bei Menschen in Bangkok die Prävalenz bei Ratten in Bangkok in dieser Studie am höchsten (7,6 %). KOSITANONT und Mitarbeiter (2003) schlossen daraus, dass Ratten nicht die einzige Quelle für humane Infektionen sein können (KOSITANONT et al., 2003).

In Thailand kommen die Bandikutratte (*Bandicota indica*), die Wanderratte (*Rattus norvegicus*) und die Hausratte (*Rattus rattus*) vor (BOONSONG et al.,

1999). Die Wanderratte und Hausratte leben vor allem in städtischen Gebieten; auf dem Land findet man eher die Bandikutratte (KOSITANONT et al., 2003).

Tabelle 2 : Prävalenz von Leptospiren und Serovare, die bei Nagetieren Thailand gefunden wurden

Jahr der Untersuchung	Anzahl der Untersuchten	Anzahl positive (%)	Serovare	Provinz	Region	Studien-population	Nachweis-methode	Studie
1948 bis 1950	220	2 (0,9)	nicht bestimmt	Bangkok	Z	Rattus norvegicus, Rattus rattus	MAT	SUNDHARAGIATI und BUSPAVANICH, 1951
1964 und 1965	467	311 (66,6)	Autumnalis, Bataviae, Javanica, Hebdomadis	Bangkok	Z	Rattus norvegicus	Isolate aus Nierenkulturen	SUNDHARAGIATI et al., 1965
1968	2.138	438 (20,5)	Bataviae, Javanica, Akiyami, Pyrogenes, Hebdomadis, Pomona	Bangkok, Ayutthaya, Saraburi, Ratchaburi, Petchaburi, Kanchanaburi, Supanburi, Singburi, Nonthaburi, Samutsakon, Nakhon Sawan, Uthaitthani	Z	Bandicola indica, Rattus norvegicus, Rattus rattus	Isolate aus Nierenkulturen	SUNDHARAGIATI, 1969
1968	2.138	776 (36,3)	Bataviae, Javanica, Akiyami, Pyrogenes, Hebdomadis, Pomona	Bangkok, Ayutthaya, Saraburi, Ratchaburi, Petchaburi, Kanchanaburi, Supanburi, Singburi, Nonthaburi, Samutsakon, Nakhon Sawan, Uthaitthani	Z	Bandicola indica, Rattus norvegicus, Rattus rattus	MAT	SUNDHARAGIATI, 1969
1968	868	123 (14,2)	Javanica	Pitsanulok, Sukothai, Chiang Mai, Uttaradit, Prae, Nan, Lampang	N	Bandicola indica, Rattus rattus	Isolate aus Nierenkulturen	SUNDHARAGIATI, 1969
1968	682	26 (3,8)	Akiyami, Javanica	Pitsanulok, Sukothai, Chiang Mai, Uttaradit, Prae, Nan, Lampang	N	Bandicola indica, Rattus rattus	MAT	SUNDHARAGIATI, 1969
1968	637	97 (15,2)	Akiyami, Javanica	Nakhon Ratschasima, Chaipum, Khon Kaen, Udonthani	NO	Bandicola indica, Rattus rattus	Isolate aus Nierenkulturen	SUNDHARAGIATI, 1969
1968	712	20 (2,8)	Javanica	Nakhon Ratschasima, Chaipum, Khon Kaen, Udonthani	NO	Bandicola indica, Rattus rattus	MAT	SUNDHARAGIATI, 1969
1968	1.011	220 (21,8)	Bataviae	Cholburi, Rayong, Chantburi, Trat, Nakhonnayok, Prachinburi	O	Bandicola indica, Rattus norvegicus, Rattus rattus	Isolate aus Nierenkulturen	SUNDHARAGIATI, 1969
1968	1.199	112 (9,3)	Bataviae, Javanica, Hebdomadis	Cholburi, Rayong, Chantburi, Trat, Nakhonnayok, Prachinburi	O	Bandicola indica, Rattus norvegicus, Rattus rattus	MAT	SUNDHARAGIATI, 1969

1968	401	107 (26,7)	Bataviae, Icterohaemorrhagiae, Javanica	Chumpon, Ranong, Surathani, Nakhon Si Thammarat	S	Rattus norvegicus, Rattus rattus	Isolate aus Nierenkulturen	SUNDHARAGIATI, 1969
1968	435	41 (9,4)	Icterohaemorrhagiae, Javanica, Bataviae	Chumpon, Ranong, Surathani, Nakhon Si Thammarat	S	Rattus norvegicus, Rattus rattus	MAT	SUNDHARAGIATI, 1969
1971 bis 1982	1.041	92 (8,8)	Javanica, Autumnalis	Nakhon Ratschasima, Khon Kaen, Pisanulok	N, NO	Bandicota indica, Rattus spp.	MAT	BUNNAG et al., 1983
1984	75	23 (30,7)	Bataviae, Javanica	Bangkok	Z	Rattus norvegicus	MAT	HEISEY et al., 1988
1998 bis 2000	1.664	94 (5,6)	Pyrogenes, Sejroe, Bataviae, Pomona, Autumnalis, Copenhageni, Javanica	landesweit		Bandicota spp., Mus spp., Rattus spp., Suncus spp.	MAT	KOSITANONT et al., 2003
1999 bis 2000	1.310	190 (14,5)	Pyrogenes, Bataviae, Autumnalis, Australis, Javanica	unbekannt	NO	Bandicota spp., Mus spp., Rattus spp., Suncus spp.	Isolate aus Nierenkulturen	DOUNGCHAWEE et al., 2005
1999 bis 2000	42	14 (33,3)	Autumnalis, Canicola	Bangkok	Z	Rattus spp., Suncus spp.	Isolate aus Nierenkulturen	DOUNGCHAWEE et al., 2005
2004	1.126	10 (0,9)	Autumnalis	Nakhon Ratschasima	NO	Rodentia	Isolate aus Nierenkulturen	FUNGLADDA et al., 2005
2008 bis 2010	46	4 (8,7)	nicht bestimmt	Sisaket	NO	Rattus spp.	PCR aus Nierengewebe	JITTIMANEE und WONGBUTDEE, 2014

N = Norden, NO = Nordosten, O = Osten, S = Süden, W = Westen, Z = Zentral, MAT = Mikroagglutinationstest, spp. = species

Die Bandikutratte (*Bandicota indica*) kommt nur in Südostasien vor, kann über 30 Zentimeter (cm) (Kopf-Rumpf-Länge) lang und bis zu einem Kilogramm (kg) schwer werden. Sie ist die größte aller Ratten in Thailand und wird deshalb besonders gerne gegessen (SMITH und XIE, 2008). Sie hält sich vor allem in Gebieten nahe am Wasser auf, z. B. in der Nähe von Reisfeldern, und wird daher auch Reisfeldratte genannt (SUNDHARAGIATI et al., 1964). Sie wurde mit humanen Leptospirose-Ausbrüchen aus dem Jahr 2000 in Verbindung gebracht, da der pathogene Leptospiren-Stamm, der aus Menschen sequenziert wurde, auch bei Bandikutratten nachgewiesen wurde. Dieser Stamm kann bis zu zwölf Wochen in Reisfeld- und in Teichwasser bei 37 °C überleben (THAIPADUNGPANIT et al., 2007; STODDARD et al., 2014).

Die Wanderratte (*Rattus norvegicus*) hat eine Kopf-Rumpf-Länge von 18 bis 28 cm und kann bis zu 370 Gramm (g) schwer werden. Sie hält sich ebenfalls vorwiegend in der Nähe von Wasser auf (RESCH und RESCH, 2019), wird aber auch häufig in Innenstädten angetroffen (SUNDHARAGIATI et al., 1964). SUNDHARAGIATI (1969) wies in 66,6 % (311/467) der untersuchten Nierenkulturen von Wanderratten in Bangkok Leptospiren nach und beschrieb die Wanderratte als eine sehr gefährliche Spezies im Hinblick auf die Verbreitung von Leptospirose beim Menschen (SUNDHARAGIATI, 1969).

Die Hausratte (*Rattus rattus*) hat eine Kopf-Rumpf-Länge von 16 bis 24 cm und kann bis zu 250 g schwer werden. Sie stammt von der Wanderratte ab, bevorzugt allerdings trockene Wohn- und Vorratsgebäude (RESCH und RESCH, 2019). Bei Hausratten wurden Antikörperprävalenzen von 0 % (in Bangkok) bis 8,2 % (4/49) (im Nordosten Thailands) bestimmt (BUNNAG et al., 1983; KOSITANONT et al., 2003). Bei 1,7 bis 5,4 % der Hausratten wurden Leptospiren aus Nierenkulturen isoliert (BUNNAG et al., 1983; PHULSUKSOMBATI et al., 2001; DOUNGCHAWEE et al., 2005).

2.2. Haussäugetiere

Die Prävalenz von Leptospirenantikörpern bei Haussäugetieren in Thailand war in einer Studie von 2009 generell sehr hoch (JITTAPALAPONG et al., 2009). Insbesondere Rinder, Schweine und Hunde stellen in Thailand ein Reservoir für Leptospiren dar. Bei Straßenhunden in Bangkok lag die Prävalenz bei 83,5 % (JITTAPALAPONG et al., 2009). Studien über Leptospirose bei Katzen in Thailand gibt es bislang keine (SUNDHARAGIATI und HARINASUTA, 1964; NIWETPATHOMWAT und ASSARASAKORN, 2007; SUWANCHAROEN et al., 2016; CHADSUTHI et al., 2017).

2.2.1. Wiederkäuer

Im Jahr 2017 gab es 7.198.731 Wiederkäuer in Thailand. Hiervon waren 67,7 % (4.876.228) Fleischrinder, 14,3 % (1.029.924) Büffel, 9,1 % (652.964) Ziegen, 8,1 % (584.327) Milchkühe und 0,7 % (53.228) Schafe (DEPARTMENT OF LIVESTOCK DEVELOPMENT, 2017). Die Leptospirenantikörper-Prävalenz bei Rindern lag bei 9,9–77,2 %, bei Büffeln bei 24,1–86,1 %, bei Ziegen bei 7,9 % und bei Schafen bei 4,7 % (SUWANCHAROEN et al., 2000; HINJOY, 2001; WONGPANIT et al., 2012; SUWANCHAROEN et al., 2013; CHADSUTHI et al., 2017). Tabelle 3 zeigt die bei Wiederkäuern vorkommenden Prävalenzen und Serovare, die in den einzelnen Studien ermittelt wurden.

In landwirtschaftlichen Betrieben in der Chiang Mai- und Lamphun-Provinz hatten 31,8 % (103/324) der Milchkühe Antikörper gegen Leptospiren. Alle (68/68; 100,0 %) Milchkühe mit einem Antikörpertiter höher als 80 schieden Leptospiren auch mit dem Urin aus (ROJANASTHIEN et al., 2012). In einer aktuellen Studie von 2016 zur Ausscheidung von Leptospiren im Urin schieden 9,3 % (95/1.027) der untersuchten Milchkühe und 8,0 % (171/2.142) der Fleischrinder Leptospiren aus (SUWANCHAROEN et al., 2016).

In verschiedenen Studien ist beschrieben, dass die Antikörperprävalenz bei Rindern mit fortschreitendem Alter zunimmt (HEISEY et al., 1988; SUWANCHAROEN et al., 2013; SUWANCHAROEN et al., 2016). HEISEY und Mitarbeiter (1988) untersuchten Rinder in der Umgebung Bangkoks (HEISEY et al., 1988). Je älter die Tiere waren, desto wahrscheinlicher war es, dass sie Antikörper hatten. So waren 61,3 % (92/150) der Kühe und nur 7,5 % (11/150) der untersuchten Kälber infiziert (HEISEY et al., 1988). Je älter die Tiere sind,

desto höher ist auch das Expositionsrisiko und damit das Risiko einer Infektion mit pathogenen Leptospiren (SUWANCHAROEN et al., 2013). Rinder können chronische Carrier und Ausscheider von Leptospiren sein und diese monatelang, möglicherweise sogar jahrelang ausscheiden (LEONARD et al., 1992).

Tabelle 3 : Prävalenz von Leptospiren und Serovare, die bei Wiederkäuern in Thailand gefunden wurden

Jahr der Untersuchung	Anzahl der Untersuchten	Anzahl positive (%)	Serovare	Provinz	Region	Studienpopulation	Nachweismethode	Kommentar	Studie
nicht angegeben	105	49 (46,7)	Canicola, Pomona, Icterohaemorrhagiae, Hardjo,	Rachaburi	Z	Milchkühe	MAT	vorberichtlich wiederholter Abort	SRISUPARBH, 1983
nicht angegeben	20	5 (25,0)	Tarassovi, Sejroe, Ballum, Pomona, Autumnalis	Buriram	NO	Rinder	MAT	nach einem Ausbruch	HINJOY, 2001
nicht angegeben	36	11 (30,6)	Tarassovi, Sejroe, Ballum, Pomona, Autumnalis	Buriram	NO	Büffel	MAT	nach einem Ausbruch	HINJOY, 2001
2004	nicht angegeben	nicht angegeben	Pomona, Ranarum, Sarmin, Sejroe, Shermani, Tarassovi	Nakhon Ratschasima	NO	Büffel, Rinder	MAT		FUNGLADDA et al., 2005
nicht angegeben	324	237 (73,0)	Ranarum, Tarassovi, Sejroe	Chiang Mai, Lamphun	N	Milchkühe	MAT		ROJANASTHIEN et al., 2012
2010	206	131 (63,6)	Shermani, Tarassovi	Sakhon Nakon	NO	Büffel	MAT		WONGPANIT et al., 2012
2001	9.288	920 (9,9)	Ranarum, Sejroe, Mini	landesweit		Rinder	MAT		SUWANCHAROEN et al., 2013
2001	1.376	420 (30,5)	Mini, Sejroe, Braitslava	landesweit		Büffel	MAT		SUWANCHAROEN et al., 2013
2001	1.110	52 (4,7)	Mini, Shermani, Ranarum	landesweit		Schafe	MAT		SUWANCHAROEN et al., 2013
2001	516	41 (7,9)	Mini, Shermani, Ranarum	landesweit		Ziegen	MAT		SUWANCHAROEN et al., 2013
2010 bis 2015	432	107 (24,8)	Shermani, Ranarum, Tarassovi	landesweit		Büffel	MAT		CHADSUTHI et al., 2017
2010 bis 2015	3.648	1.026 (28,1)	Shermani, Ranarum	landesweit		Rinder	MAT		CHADSUTHI et al., 2017

N = Norden, NO = Nordosten, O = Osten, S = Süden, W = Westen, Z = Zentral, MAT = Mikroagglutinationsstest

WONGPANIT und Mitarbeiter (2012) spekulierten, dass sich Leptospiren durch Rinder- und Büffelmärkte in der Sakon Nakhon-Provinz, im Nordosten Thailands stark verbreiten (WONGPANIT et al., 2012). Bei Sumpfbüffeln in der Sakon Nakhon-Provinz, im Nordosten Thailands betrug die Antikörperprävalenz 63,6 % (131/206). Das Serovar Shermani wurde mit 30,6 % (63/206) am häufigsten von allen getesteten Serovaren detektiert (WONGPANIT et al., 2012). Das Serovar Shermani kam auch bei Menschen in ganz Thailand seit 2010 am häufigsten vor (CHIRATHAWORN et al., 2014; CHADSUTHI et al., 2017) und eine Infektion beim Mensch war in einer Studie von 2017 signifikant mit dem Kontakt zu Büffeln assoziiert (CHADSUTHI et al., 2017). In einer aktuellen Studie schieden 9,4 % (46/488) der untersuchten Büffel Leptospiren mit dem Urin aus (SUWANCHAROEN et al., 2016).

In einer Studie über 36 thailändische Provinzen waren Büffel mehr als dreimal häufiger (420/1.376; 30,5 %) als Rinder (920/9288, 9,9 %) mit Leptospiren infiziert. Bei den meisten Büffeln in Thailand handelt es sich um Sumpfbüffel (*Bubalus bubalis*), die sich gerne in Wasser und Schlamm aufhalten, um sich vor Insektenstichen zu schützen und abzukühlen. Sie haben daher mehr Kontakt zu Wasser, welches mit Leptospiren kontaminiert sein kann (SUWANCHAROEN et al., 2013).

Bei Schafen und Ziegen in Thailand gibt es bislang nur Daten zur Antikörperprävalenz (SUWANCHAROEN et al., 2013) (Tabelle 3). SUWANCHAROEN und Mitarbeiter (2013) bestimmten landesweit eine Antikörperprävalenz bei Schafen von 4,7 % (52/1.110) und bei Ziegen von 7,9 % (41/516) (SUWANCHAROEN et al., 2013). Schafe und Ziegen waren in dieser Studie im Vergleich zu Rindern, Büffeln und Schweinen nur mit drei verschiedenen Serovaren (Mini, Shermani, Ranarum) infiziert. Dies erklärten SUWANCHAROEN und Mitarbeiter (2013) zum einen durch die geringere Anzahl an Proben, die bei kleinen Wiederkäuern genommen wurden, zum anderen dadurch, dass Schafe und Ziegen normalerweise in trockener Umgebung gehalten werden (SUWANCHAROEN et al., 2013).

2.2.2. Schweine

Im Jahr 2017 gab es 10.191.784 Schweine in Thailand. Fast 50 % der Schweine lebten in Zentral-Thailand (DEPARTMENT OF LIVESTOCK DEVELOPMENT, 2017). SUNDHARAGIATI (1969) war der Meinung, dass Schweine in Thailand nicht als signifikante Reservoirwirte für Leptospiren fungieren (SUNDHARAGIATI, 1969). Nur 1,8 % (4/219) der Schweine, die im Schlachthof in Bangkok geschlachtet wurden, waren mit Leptospiren infiziert, verglichen mit 9,4 % (36/384) im Norden und 5,5 % (8/146) im Osten Thailands (SUNDHARAGIATI, 1969).

Fünfzehn Jahre später untersuchten THONGMA und Mitarbeiter (1985) Schweine in Zentral- und Nordost-Thailand, bei denen vorberichtlich Aborte, Totgeburten, Unfruchtbarkeit und Haemoglobinurie beschrieben wurden. Davon hatten 26,6 % (25/94) der Sauen und 30,8 % (8/26) der Eber Antikörper gegen Leptospiren (THONGMA et al., 1985). Spätere Studien ermittelten Antikörperprävalenzen von 10,0 bis 11,3 % (NIWETPATHOMWAT et al., 2006; SUWANCHAROEN et al., 2013; CHADSUTHI et al., 2017) (Tabelle 4).

CHADSUTHI und Mitarbeiter (2017) analysierten Daten von 2010 bis 2015 zur Prävalenz von Antikörpern bei Schweinen von 3.138 Schweinen aus ganz Thailand. Die Prävalenz war im Süden Thailands am höchsten (23,2 %), gefolgt von Zentral-Thailand (12,0 %), dem Nordosten (8,2 %), dem Osten (1,9 %) und 0 % im Norden. Die relativ niedrige Antikörperprävalenz bei Schweinen ist wahrscheinlich dadurch zu erklären, dass Schweine in der Regel an einem Ort eingezäunt verbleiben. Da Schweine in Thailand zudem nur zwei bis drei Jahre alt werden, sind sie dem Risiko einer Infektion kürzer ausgesetzt als beispielsweise Rinder und Büffel (CHADSUTHI et al., 2017).

Tabelle 4 : Prävalenz von Leptospiren und Serovare, die bei Schweinen in Thailand gefunden wurden

Jahr der Untersuchung	Anzahl der Untersuchten	Anzahl positive (%)	Serovare	Provinz	Region	Studien-population	Nachweis-methode	Studie
1968	219	4 (1,8)	Pomona	Bangkok	Z	Schweine	Isolate aus Nierenkulturen	SUNDHARAGIATI, 1969
1968	416	19 (4,6)	Bataviae, Pomona	Ayutthaya, Saraburi, Ratchaburi, Peichaburi, Kanchanaburi, Supanburi, Singburi, Samutsakorn, Uthathani	Z	Schweine	MAT	SUNDHARAGIATI, 1969
1968	384	36 (9,4)	Pomona, Wolffii	Pitsanulok, Sukothai, Uttaradit, Prae, Nan, Lampang	N	Schweine	MAT	SUNDHARAGIATI, 1969
1968	146	8 (5,5)	Bataviae, Hyos, Ieterohaemorrhagiae	Rayong, Chanburi, Trat, Prachinburi	O	Schweine	MAT	SUNDHARAGIATI, 1969
1968	185	16 (8,6)	Akiyami, Pomona, Pyrogenes	Chumpon, Ranong, Nakhon Si Thammarat	S	Schweine	MAT	SUNDHARAGIATI, 1969
1982 bis 1984	94	33 (34,1)	Pomona, Canicola, Javanica, Hardjo	Nakhon Pathom, Ratchaburi, Nonthaburi, Pathumthani, Mahasarakam	Z, NO	Sauen und Eber	MAT	THONGMA et al., 1985
2004	nicht angegeben	(3,0)	Bratislava	Nakhon Ratschasima	NO	Sauen und Eber	MAT	FUNGLADDA et al., 2005
2004 bis 2005	400	40 (10,0)	Grippophyosa, Canicola, Patoc	unbekannt	Z	Sauen	MAT	NIWETPATHOMW AT et al., 2006
2001	1.898	205 (10,8)	Ranarum, Pomona, Bratislava	landesweit		Schweine	MAT	SUWANCHAROEN et al., 2013
2010 bis 2015	3.138	356 (11,3)	Shermani, Ranarum	landesweit		Schweine	MAT	CHADSUTHI et al., 2017

N = Norden, NO = Nordosten, O = Osten, S = Süden, W = Westen, Z = Zentral, MAT = Mikroagglutinationstest

2.2.3. Hunde

Im Jahr 2016 gab es ca. 7,3 Millionen Hunde in ganz Thailand (DEPARTMENT OF LIVESTOCK DEVELOPMENT, 2016) und mehr als 140.000 Straßenhunde in Bangkok. Die Anzahl der Hunde steigt jährlich an (DEPARTMENT OF LIVESTOCK DEVELOPMENT, 2016).

In der ersten Studie im Jahr 1965, in der Hunde in Bangkok auf Leptospirenantikörper untersucht wurden, ermittelten SUNDHARAGIATI und Mitarbeiter (1966) eine Antikörperprävalenz von 56,0 % (572/1022) (SUNDHARAGIATI et al., 1966a). Im Zuge einer groß angelegten Studie im Jahr 1968 wurden Straßenhunden im Rahmen von Eradikationsprogrammen in Bangkok Nieren entnommen. Bei 8,0 % (13/163) der Nierenkulturen von Hunden wurden Leptospiren isoliert (SUNDHARAGIATI, 1969). In einer aktuellen Studie von 2017 waren 6,9 % (4/58) der Urinkulturen von Hunden in Thailand positiv (KURILUNG et al., 2017). Hunde können Leptospiren mit dem Urin ausscheiden und somit zur Verbreitung von Leptospiren beitragen (HARKIN et al., 2003; ROJAS et al., 2010; LLEWELLYN et al., 2016; KURILUNG et al., 2017).

Das Serovar Bataviae wurde in der Studie von 1969 mittels Mikroagglutinationstest (MAT) bei Hunden in Bangkok am häufigsten (420/632; 66,5 %) bestimmt (SUNDHARAGIATI, 1969). Das Serovar Bataviae kommt auch bei Ratten in Bangkok vor (SUNDHARAGIATI, 1969). In der Chiang Mai-Provinz, im Norden Thailands, wurde das Serovar Icterohaemorrhagiae am häufigsten gefunden (13/29; 44,8 %). Zur selben Zeit wurde das Serovar Icterohaemorrhagiae bei Patienten im Chiang Mai-Krankenhaus am häufigsten nachgewiesen (SUNDHARAGIATI, 1969). Tabelle 5 zeigt Prävalenzen und Serovare, die bei Hunden in Thailand vorkommen.

Hunde infizieren sich besonders häufig in der Regenzeit (SUNDHARAGIATI et al., 1966a; SITHISARN et al., 2005; MEEYAM et al., 2006). Schon in einer Studie im Jahr 1966 hatten Hunde in Bangkok in der Regenzeit (Juli bis Dezember) viermal häufiger (71/290; 23,7 %) hohe Antikörpertiter ($\geq 1:3.000$) als in der Trockenzeit (16/281; 5,7 %). Am höchsten war die Prävalenz im Oktober (31/53; 58,5 %) (SUNDHARAGIATI et al., 1966a). Im Jahr 2005 hatten mehr als die Hälfte (115/181; 63,6 %) der Hunde in Bangkok, die in der Regenzeit beprobt wurden, Antikörper, während 25,4 % (46/181) der Hunde Antikörper aufwiesen, bei denen außerhalb der Regenzeit Proben genommen wurden. Bei streunenden

Hunden war eine "Entnahme in der Regenzeit" ein signifikanter Risikofaktor ($p < 0,05$) für eine Infektion mit Leptospiren. Dies galt allerdings nicht bei im Haus lebenden Hunden (SITHISARN et al., 2005).

Tabelle 5 : Prävalenz von Leptospiren und Serovare, die bei Hunden in Thailand gefunden wurden

Jahr der Untersuchung	Anzahl der Untersuchten	Anzahl positive (%)	Serovare	Provinz	Region	Studienpopulation	Nachweis-methode	Kommentar	Studie
1964 und 1965	1.022	572 (56,0)	Canicola, Icterohaemorrhagiae	Bangkok	Z	alle Hunde	MAT		SUNDHARAGIATI et al., 1966a
1968	163	13 (8,0)	nicht bestimmt	Bangkok	Z	alle Hunde	Isolate aus Nierenkulturen		SUNDHARAGIATI, 1969
1968	1.157	632 (54,6)	Bataviae	Bangkok	Z	alle Hunde	MAT		SUNDHARAGIATI, 1969
1968	1.965	773 (39,3)	Canicola, Bataviae, Javanica	Bangkok, Ayuthaya, Saraburi, Ratchaburi, Petchaburi, Kanchanaburi, Supanburi, Singburi, Nonthaburi, Samutsakon, Nakhon Sawan, Uthathani	Z	alle Hunde	MAT		SUNDHARAGIATI, 1969
1968	51	29 (56,8)	Icterohaemorrhagiae	Chiang Mai	N	alle Hunde	MAT		SUNDHARAGIATI, 1969
1968	582	107 (18,4)	Canicola, Icterohaemorrhagiae, Wolfii, Hyos	Pitsanulok, Sukhothai, Chiang Mai, Uttaradit, Prae, Nan, Lampang	N	alle Hunde	MAT		SUNDHARAGIATI, 1969
1968	60	0 (0)	keine	Nakhon Ratsasima	NO	alle Hunde	MAT		SUNDHARAGIATI, 1969
1968	350	13 (3,7)	Icterohaemorrhagiae, Javanica	Nakhon Ratsasima, Chaipum, Khonkaen, Udonthani	NO	alle Hunde	MAT		SUNDHARAGIATI, 1969
1968	470	38 (8,1)	Icterohaemorrhagiae, Bataviae, Grippityphosa, Hebdomadis	Cholburi, Rayong, Chianburi, Trat, Nakhonayok, Prachinburi	O	alle Hunde	MAT		SUNDHARAGIATI, 1969
1968	363	38 (10,5)	Canicola, Bataviae, Wolfii	Chumpon, Ranong, Surathani, Nakhon Si Thammarat	S	alle Hunde	MAT		SUNDHARAGIATI, 1969
2003 bis 2004	369	181 (49,1)	Bataviae, Ranarum, Patoc, Tarassovi, Sejroe	Bangkok	Z	Straßen- und Haushunde	MAT		SITHISARN et al., 2005
2004	210	23 (11,0)	Bataviae, Canicola	Chiang Mai	N	alle Hunde	MAT	ambulant vorgestellt	MEEYAM et al., 2006

2006	153	88 (57,5)	Tarassovi	Nakhon Pathom	Z	alle Hunde	MAT	NIWETPATHOMWAT und ASSARASAKORN, 2007
nicht angegeben	230	192 (83,5)	Bataviae	Bangkok	Z	Straßenhunde	MAT	JITTAPALAPONG et al., 2009

N = Norden, NO = Nordosten, O = Osten, S = Süden, W = Westen, Z = Zentral, MAT = Mikroagglutinationstest

Vor allem mittelalte Hunde scheinen sich in Thailand mit Leptospiren zu infizieren. In einer Studie von 1988 hatten 19,1 % (50/262) der ungeimpften Straßenhunde in Bangkok Antikörper im MAT. Erwachsene Hunde hatten häufiger Antikörper (54,0 %) gegen Leptospiren als junge Hunde (23,0 %) oder Welpen (6,0 %). HEISEY und Mitarbeiter (1988) gaben allerdings nicht an, ob die Altersprädisposition ihrer Studie signifikant war (HEISEY et al., 1988). In einer Studie von 2007 waren ungeimpfte Hunde im Alter von drei bis sechs Jahren signifikant ($p < 0,05$) häufiger mit Leptospiren infiziert als Hunde anderer Altersgruppen (NIWETPATHOMWAT und ASSARASAKORN, 2007). Dies ist im Einklang mit einer Studie, bei der Hunde in den Vereinigten Staaten und Kanada untersucht wurden. In dieser Studie hatten Hunde, die zwischen vier und zehn Jahre alt waren ein signifikant höheres Infektionsrisiko als Hunde, die jünger als ein Jahr alt waren (WARD et al., 2002).

In Thailand wurde keine Geschlechtsprädisposition bei Hunden ermittelt (MEEYAM et al., 2006; JITTAPALAPONG et al., 2009). Im Gegensatz dazu waren in einer Studie, in der Hunde in den Vereinigten Staaten und Kanada untersucht wurden, Rüden signifikant häufiger mit Leptospiren infiziert als Hündinnen (WARD et al., 2002).

Während der Gesundheitsstatus und die Umwelt keinen Einfluss auf das Risiko einer Leptospireninfektion bei Hunden in Thailand hatten, beeinflusste die Haltungform und Lebensweise das Risiko einer Leptospireninfektion (MEEYAM et al., 2006). Mehr als die Hälfte (11/21; 52,4 %) der Hunde, die sich vorwiegend (mehr als die Hälfte des Tages) im Freien aufhielten, waren in der Studie in Chiang Mai mit Leptospiren infiziert (MEEYAM et al., 2006). MEEYAM und Mitarbeiter (2006) ermittelten außerdem ein erhöhtes Risiko für Hunde, die im Dreck spielten (2/21; 9,5 %) (MEEYAM et al., 2006).

Die Fütterung scheint ein weiterer Faktor, der das Risiko bei Hunden für eine Leptospireninfektion erhöht, zu sein. Zwei von 21 (9,5 %) mit Leptospiren infizierten Hunde in Chiang Mai bekamen rohes Fleisch zu fressen (MEEYAM et al., 2006). Auch in der Studie von WARD und Mitarbeiter (2002) wurde das "Fressen von rohem Fleisch" als Risikofaktor für eine Leptospireninfektion bei Hunden erwähnt (WARD et al., 2002).

2.3. Andere Tierarten

Elefanten können sich mit Leptospiren infizieren (ONI et al., 2007). 58,0 % (76/131) der asiatischen Elefanten aus Elefantencamps in Nord-Thailand (Chiang Mai und Lampang) hatten Antikörper im MAT. Die Antikörperprävalenz im Westen Thailands (Kanchanaburi) lag bei 57,3 % (75/131). Neun von zehn untersuchten Elefantencamps im Norden und Westen lagen am Ufer eines Flusses und in der Nähe eines Waldes. Alle getesteten Elefanten wurden zum Reiten für Touristen genutzt und hatten freien Zugang zu Flusswasser. Ein Zusammenhang zwischen Antikörper-positiven Tieren und verschiedenen Faktoren, wie Alter, Geschlecht, Herkunft der Elefanten, der Zeit, die sie im Camp verbracht hatten, dem Vorhandensein von Hautverletzungen, Nagetieren, Hunden oder Rindern im Camp, konnte nicht festgestellt werden. Klinische Symptome, verursacht durch eine Leptospireninfektion, sind bei asiatischen Elefanten nicht beschrieben. Dies könnte darauf hinweisen, dass Elefanten Reservoirwirte für Leptospiren sind. Es gibt keine rechtlichen Rahmenbedingungen zur Überwachung der Gesundheit von Elefanten in Thailand. Ihre epidemiologische Rolle als Ausscheider von Leptospiren ist bis jetzt nicht bekannt (ONI et al., 2007).

In einer Studie von 2015 wurden Antikörper gegen Leptospiren bei 30 Javaneraffen (*Macaca fascicularis*) im Kosumpee Forest Park in der Maha Sarakham-Provinz im Nordosten Thailands bestimmt. Von diesen Affen hatten 10,0 % (3/30) Antikörper im MAT. Der Park ist neben dem Chi-Fluss gelegen, in dem drei Gruppen von Javaneraffen in der Nähe einer menschlichen Siedlung leben (PUMIPUNTU, 2015). Bisher liegen keine weiteren Studien zu Leptospireninfektionen bei Affen in Thailand vor.

III. PUBLIKATION

***Leptospira* infection and shedding in cats in Thailand**

Fabienne Sprißler¹

Prapaporn Jongwattanapisan², PhD, DVM

Supol Luengyosluechakul², Dr. med. vet., DVM

Rosama Pusoonthornthum², PhD, DVM

Nuvee Prapasarakul³, PhD, DVM

Alongkorn Kurilung³, PhD, DVM

Marga Goris⁴, PhD, MSc

Ahmed Ahmed⁴, PhD, MSc

Sven Reese⁵, Dr. med. vet.

Michèle Bergmann¹, Dr. med. vet.

Roswitha Dorsch¹, Dr. med. vet., Dr. med. vet. habil.

Henricus L.B.M. Klaasen⁶, PhD, DVM

Katrin Hartmann¹, Prof. Dr. med. vet., Dr. med. vet. habil., Dipl. ECVIM-CA
(Internal Medicine)

¹Clinic of Small Animal Internal Medicine, Centre of Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Munich

²Department of Veterinary Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok

³Veterinary Microbiology Department, Chulalongkorn University, Bangkok

⁴Leptospirosis Reference Laboratory, Academic Medical Center, Amsterdam


⁵Institute of Veterinary Anatomy, Histology and Embryology, LMU Munich, Munich

⁶Department of Global Companion Animals R&D, MSD Animal Health, Boxmeer


Received: 21 August 2018 | Revised: 13 November 2018 | Accepted: 16 December 2018

DOI: 10.1111/tbed.13110

ORIGINAL ARTICLE

WILEY  Transboundary and Emerging Diseases

Leptospira infection and shedding in cats in Thailand

Fabienne Sprißler¹  | Prapaporn Jongwattanapisan² | Supol Luengyosluechakul² |
Rosama Pusoonthornthum² | Nuvee Prapasarakul³ | Alongkorn Kurilung³ |
Marga Goris⁴ | Ahmed Ahmed⁴ | Sven Reese⁵ | Michèle Bergmann¹ |
Roswitha Dorsch¹ | Henricus L. B. M. Klaasen⁶ | Katrin Hartmann¹

¹Clinic of Small Animal Internal Medicine, Centre of Clinical Veterinary Medicine LMU Munich, Munich, Germany

²Department of Veterinary Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

³Veterinary Microbiology Department, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

⁴Leptospirosis Reference Laboratory, Department of Medical Microbiology, Academic Medical Center, Amsterdam, the Netherlands

⁵Institute of Veterinary Anatomy, Histology and Embryology, LMU Munich, Munich, Germany

⁶Department of Global Companion Animals R&D, MSD Animal Health, Boxmeer, the Netherlands

Correspondence

Fabienne Sprißler, Clinic of Small Animal Internal Medicine, Centre of Clinical Veterinary Medicine LMU Munich, Munich, Germany.
Email: fsprissler@web.de

Funding information

MSD Animal Health, the Netherlands

Abstract

In Thailand, leptospirosis is considered an emerging disease in humans and animals. Many species can shed pathogenic *Leptospira*, including domestic cats (*felis catus*), which might be able to pose a risk to humans. There are no studies on *Leptospira* infections in cats in Thailand, but in other countries, it was demonstrated that cats can shed pathogenic *Leptospira* with high prevalences. The aims of this study were to evaluate whether outdoor cats in Thailand shed pathogenic *Leptospira* in their urine, and to determine antibody prevalence and risk factors associated with *Leptospira* infection. Two hundred and sixty outdoor cats were prospectively recruited. Urine samples were tested by real-time PCR targeting the *lipL32* gene of pathogenic *Leptospira*. Urine was additionally cultured for 6 months in Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris medium to grow *Leptospira*. Antibodies against 24 serovars (Anhoa, Australis, Autumnalis, Ballum, Batavia, Bratislava, Broomi, Canicola, Celledoni, Copenhageni, Coxi, Cynopteri, Djasiman, Grippotyphosa, Haemolytica, Ictero-haemorrhagiae, Khorat, Paidja, Patoc, Pomona, Pyrogenes, Rachmati, Saxkoebing, Sejroe) belonging to 16 serogroups were determined using microscopic agglutination tests. Risk factors were analysed by Fisher's exact test. Urine samples of 2/260 cats (0.8%; 95% confidence interval (CI): 0.1%–2.8%) were PCR-positive, but none of the 260 urine samples were culture positive. *Leptospira* antibodies were detected in 14/260 cats (5.4%; 95% CI: 3.0%–8.6%) with titers ranging from 1:20 to 1:160 (serovars: Anhoa, Autumnalis, Celledoni, Copenhageni, Djasiman, Icterohaemorrhagiae, Patoc). Cats aged ≥ 4 years were significantly more often infected with *Leptospira* than younger cats. No other significant risk factors were found. In conclusion, outdoor cats in Thailand can shed DNA and, possibly, viable, pathogenic *Leptospira* in their urine, although at a much lower prevalence than expected when compared to countries with similar climate. Thus, cats can be a potential source of infection for people. Further studies are needed to determine the role of cats in transmitting this zoonotic disease in Thailand.

KEYWORDS

feline, leptospirosis, microscopic agglutination test

1 | INTRODUCTION

Cats can be infected with *Leptospira*, and it is currently a matter of discussion as to whether cats are an important reservoir and might play a role for infection of humans (Desvars, Naze, Benneveau, Cardinale, & Michault, 2013; Rodriguez et al., 2014; Talebkhan Garoussi, Mehravaran, Abdollahpour, & Khoshnegah, 2015; Zaidi et al., 2018). Studies to detect *Leptospira* in urine of cats have only been conducted in a few countries so far. Prevalences have ranged from 3.3% in Germany (Weis et al., 2017), 11.7% in the United States (Fenimore, Carter, & Lunn, 2012) to 67.8% in Taiwan (Chan et al., 2014).

Leptospirosis in humans and animals is most prevalent in tropical and subtropical regions (World Health Organization Western Pacific Region, 2012) including Thailand, where leptospirosis is a major public health problem (Hinjoy, 2016), with an average of 6.6 per 100,000 people per year who get infected with leptospirosis, and up to 25 per 100,000 who get infected with leptospirosis during outbreaks (Ministry of Public Health, 2017). In Thai livestock, *Leptospira* antibody prevalences of 24.8% in buffalos, 28.1% in cattle and 11.3% in pigs were recently reported (Chadsuthi et al., 2017). Antibody prevalence in dogs ranged from 11% in Chiang Mai (Meeyam, Tablerk, Petchanok, Pichpol, & Padungtod, 2006) to 83% in Bangkok (Jittapalpong et al., 2009).

In the Bangkok area, the estimated number of cats is about 400,000, of which about 90,000 are stray (Department of Livestock Development, 2016). Rodents are known to serve as a main reservoir of pathogenic *Leptospira*, and 33% of rats in Bangkok were reported to be infected with *Leptospira* (Dounghawee et al., 2005). Thus, the number of infected cats might also be high, since rodent hunting is believed to be the main source of infection in cats (Hartmann et al., 2013). So far, however, there are no studies on *Leptospira* infections in cats in Thailand. A study in Taiwan demonstrated that cats can shed pathogenic *Leptospira* in their urine with a prevalence of 67.8% (Chan et al., 2014). Taiwan and Thailand are located in similar climate zones, subtropical as well as monsoonal tropical areas, which facilitates the survival of *Leptospira* in the environment. Thus, many cats in Thailand might be infected and could be a potential source of infection for their owners through close contact or litter box cleaning. This study aimed to determine the prevalence of urinary shedding of pathogenic *Leptospira* and the antibody prevalence against 24 different serovars in cats in Thailand. In addition, risk factors for *Leptospira* infection in cats were evaluated.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Cats

In total, 260 cats were prospectively recruited from December 2016 to March 2017. A minimum sample size of at least 245 cats had been estimated by power analysis, using MedCalc 17.9 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium) based on an assumed shedding prevalence of 5% and antibody prevalence of 20% with a 95% CI and a 5% margin of error.

Cats originated from 13 different locations (7 in Bangkok, 6 outside of Bangkok) in North-, Northeast- and Central Thailand and were presented for either preventive health care and/or neutering (Table 3). All 260 cats were asymptomatic, with the exception of three cats in which vomiting was reported and two cats that had a history of diarrhoea. Animal ethics committee approval of the Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University of Bangkok, Thailand (approval number: 1731042), and informed consent of cat owners were obtained. Only cats with outdoor access and without antibiotic treatment during the last 4 weeks were included. All cats were domestic short hair (DSH) and ranged in age from 6 months to 10 years (median age: 1.8 years) (Tables 1 and 2).

2.2 | Risk factor analysis

To determine risk factors associated with *Leptospira* infection, data on signalment (gender, age), place of sampling, reason for presentation, origin (domestic/feral), environment (urban/rural), environmental factors (drinking out of puddles), contact with other animals (other cats, rodents, dogs, cattle, pigs), food quality (raw meat), hunting (rodents), water intake (normal, polydipsia), urination (normal, polyuria, oliguria, anuria), food intake (normal, reduced) and gastrointestinal symptoms (vomiting, diarrhoea) were obtained from the owners or the caregivers by a questionnaire. Infected cats were defined as cats which had previous exposure to pathogenic *Leptospira* and therefore were either positive in microscopic agglutination test (MAT) and/or in which *Leptospira* were detected in the urine by PCR.

In each cat, a physical examination was performed and feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukaemia virus (FeLV) status were determined using a commercial rapid enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (SNAP Combo Plus FeLV/FIV antibody test[®], IDEXX GmbH, Ludwigsburg, Germany).

2.3 | Urine and blood sampling

Urine was collected aseptically by cystocentesis and either directly inoculated into the culture medium or cooled on ice for a maximum of 2 hr before inoculation. For DNA extraction, urine was cooled on ice for a maximum of 24 hr. Serum samples were stored at -20°C until performance of the MAT.

2.4 | DNA extraction and PCR

Urine samples were centrifuged at 13,000 rpm for 15 min at room temperature. Supernatants were discarded and pellets were washed with phosphate buffered saline (PBS) and transferred into an Eppendorf tube (Eppendorf AG). After a second centrifugation step (13,000 rpm, room temperature, 15 min), the supernatant was discarded, and the pellet was resuspended with 180 μl animal tissue lysis (ATL) buffer (Qiagen GmbH) and stored at -20°C until further DNA extraction.

TABLE 1 Signalment, place of sampling, reason for presentation, origin, feline immunodeficiency (FIV) virus and feline leukaemia virus (FeLV) status, microscopic agglutination test (MAT) titers, results of urine polymerase chain reaction (PCR) and urine culture of the microscopic agglutination test (MAT)-positive and of the polymerase chain reaction (PCR)-positive cats

Cat	Gender	Age (years)	Place of sampling	Environment	Origin	Reason for presentation	FIV	FeLV	MAT titer	Urine PCR	Urine culture
1	m, n	4	Phraikanong, BKK	Urban	Privately owned	General health check	Neg	Neg	1:20 Patoc	Neg	Neg
2	f, n	6	Phraikanong, BKK	Urban	Privately owned	General health check	Neg	Neg	1:20 Djasiman	Neg	Neg
3	m, i	Unknown	Bang Mot, BKK	Urban	Privately owned	Neutering	Neg	Neg	1:40 Djasiman	Neg	Neg
4	m, i	3	Nakhon Ratschasima	Urban	Privately owned	Neutering	Neg	Neg	1:40 Patoc	Neg	Neg
5	f, i	1.5	Nong Jog, BKK	Urban	Privately owned	Neutering	Neg	Neg	1:20 Icterohaemorrhagiae	Neg	Neg
6	f, i	0.75	Nong Jog, BKK	Urban	Privately owned	Neutering	Neg	Neg	1:160 Celledoni 1:20 Patoc	Neg	Neg
7	f, i	1	Bang Khun Tian, BKK	Urban	Privately owned	Neutering	Neg	Neg	1:20 Autummalis 1:80 Djasiman	Neg	Neg
8	f, n	5	Sathom, BKK	Urban	Feral	Neutering	Neg	Neg	1:40 Anhoa 1:80 Patoc	Neg	Neg
9	m, i	0.5	Nakhon Ratschasima	Rural	Privately owned	Neutering	Neg	Neg	1:40 Icterohaemorrhagiae	Neg	Neg
10	m, i	0.8	Nakhon Ratschasima	Rural	Privately owned	Neutering	Neg	Neg	1:20 Djasiman	Neg	Neg
11	f, i	0.5	Nakhon Ratschasima	Rural	Privately owned	Neutering	Neg	Neg	1:20 Copenhageni 1:40 Icterohaemorrhagiae	Neg	Neg
12	f, i	5	Prawet, BKK	Urban	Privately owned	Neutering	Pos	Neg	1:20 Patoc	Neg	Neg
13	f, i	2	Meenburi, BKK	Urban	Privately owned	Neutering	Neg	Neg	1:20 Patoc	Neg	Neg
14	f, i	1	Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom	Urban	Privately owned	Neutering	Neg	Neg	1:160 Celledoni	Neg	Neg
15	f, i	0.5	Bang Mot, BKK	Urban	Privately owned	Neutering	Neg	Neg	Neg	Pos	Neg
16	f, i	1	Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom	Urban	Privately owned	Neutering	Neg	Neg	Neg	Pos	Neg

BKK: Bangkok; f, female; FeLV: feline leukaemia virus; FIV: feline immunodeficiency virus; i, intact; m, male; MAT: microscopic agglutination test; n, neutered; Neg, negative; PCR: polymerase chain reaction; Pos, positive.

TABLE 2 Comparison of cats with and without *Leptospira* infection (PCR or MAT positive) with univariate and multivariate logistic regression analysis on environmental factors, history, feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukaemia virus (FeLV) infection status

1.1.1 Cats	Risk factor	n cats	<i>Leptospira</i> infection positive number (%)	<i>Leptospira</i> infection negative number (%)	Univariate analysis			Multivariate analysis
					Odds ratio	95% CI	p	p
Total	Risk factor	260	16 (6.2)	244 (93.8)	-	-	-	-
Age (n = 233)	≥4 years	16	4 (25.0)	12 (75.0)	3.091	0.840–11.250	0.093	0.023
	<4 years	217	11 (5.1)	206 (94.9)				
Gender (n = 250)	Male	113	5 (4.4)	108 (95.5)	0.530	0.179–1.574	0.305	
	Female	137	11 (8.0)	126 (92.0)				
Reproduction status (n = 256)	Neutered	19	3 (15.8)	16 (84.2)	3.231	0.834–12.520	0.105	0.440
	Intact	237	13 (5.5)	224 (94.5)				
Origin (n = 250)	Urban	207	13 (6.3)	194 (93.7)	0.995	0.272–3.639	1.000	
	Rural	48	3 (6.3)	45 (93.7)				
Part of Thailand (n = 260)	Northeast	79	4 (5.1)	75 (95.0)	0.751	0.235–2.406	0.783	
	North and Central	181	12 (6.6)	169 (93.4)				
Breed (n = 260)	DSH	260	16 (6.2)	244 (93.8)	-	-	-	-
	other	0	0 (0.0)	0 (0.0)				
BCS (n = 237)	<3	23	1 (4.3)	22 (95.7)	0.650	0.081–5.179	1.000	
	≥3	214	14 (6.5)	200 (93.5)				
Reason for presentation (n = 255)	General health check	14	2 (14.3)	12 (85.7)	2.923	0.591–14.450	0.195	
	Neutering	241	13 (5.4)	228 (94.6)				
Food intake (n = 256)	Yes	248	16 (6.5)	232 (93.5)	0.829	0.046–15.010	1.000	
	No	8	0 (0.0)	8 (100.0)				
Vomiting (n = 256)	Yes	3	0 (0.0)	3 (100.0)	2.056	0.102–41.540	1.000	
	No	253	16 (6.3)	237 (93.7)				
Diarrhoea (n = 256)	Yes	2	0 (0.0)	2 (100.0)	2.891	0.133–62.770	1.000	
	No	254	16 (6.3)	238 (93.7)				
Drinking out of puddles (n = 255)	Yes	239	15 (6.3)	224 (93.7)	1.004	0.124–8.130	1.000	
	No	16	1 (6.3)	15 (93.7)				
Contact with rodents (n = 256)	Yes	250	15 (6.0)	235 (94.0)	3.139	0.035–2.910	0.324	0.386
	No	6	1 (16.7)	5 (83.3)				
Eating rodents (n = 238)	Yes	226	13 (5.8)	213 (94.2)	0.671	0.080–5.609	0.526	
	No	12	1 (8.3)	11 (91.7)				
Consumption of raw meat (n = 256)	Yes	231	15 (6.5)	216 (93.5)	1.667	0.211–13.180	1.000	
	No	25	1 (4.0)	24 (96.0)				
Origin (n = 256)	Privately owned	247	15 (6.1)	232 (93.9)	1.933	0.227–16.500	0.446	
	Feral	9	1 (11.1)	8 (88.8)				
Contact with other cats (n = 256)	Yes	254	16 (6.3)	238 (93.7)	0.346	0.016–7.510	1.000	
	No	2	0 (0.0)	2 (100.0)				
Contact with dogs (n = 253)	Yes	234	13 (5.6)	221 (94.4)	0.500	0.104–2.400	0.313	
	No	19	2 (10.5)	17 (89.5)				
FIV (progressive) infection (n = 260)	Positive	15	1 (6.7)	14 (93.3)	1.095	0.135–8.903	1.000	
	Negative	245	15 (6.1)	230 (93.9)				
FeLV infection (n = 260)	Positive	11	0 (0.0)	11 (100.0)	0.615	0.035–10.920	1.000	
	Negative	249	16 (6.4)	233 (93.6)				

The total number of cats ranges from 233 to 260 according to incomplete information of the owners. Multivariate logistic regression analysis was performed in all factors with $p \leq 0.05$ and/or odds ratio ≥ 3 in univariate analysis. Bold values: odds ratio ≥ 3 in univariate analysis and therefore multivariate logistic regression analysis of these risk factors was performed.

BCS: body condition score; DSH: domestic short hair; FeLV: feline leukaemia virus; FIV: feline immunodeficiency virus; n: numbers of cats in every group; p: p-value; -: calculation due to no comparable group not available.

For DNA extraction, a Qiagen DNA Micro Extraction kit was used, according to the manufacturer's protocol, although with the lysis period reduced to 1 hr. The quality and concentration of DNA were determined by nanodrop 1000 (ThermoFisher).

Real-time PCR was performed as described before (Stoddard, Gee, Wilkins, McCaustland, & Hoffmaster, 2009) using primers (forward primer lip32-45F: 5'-AAG CAT TAC CGC TTG TGG TG-3'; reverse primer lip32-256R: 5'-GAA CTC CCA TTT CAG CGA TT-3') and TaqMan probe (lip32-189P: FAM-5'-AAAGCCAGACAAGC GCCG-3'-BHQ1) targeting the *lipL32* gene of pathogenic *Leptospira*.

A standard curve for quantification of *Leptospira* in 1 ml of urine samples was prepared with urine from a cat with no outdoor access that was spiked with *Leptospira* serovars Ballum, Bratislava and Grippotyphosa. All samples as well as positive controls and negative controls were tested in duplicates. No discrepancies were found within the results. The average cycle threshold values ranged from 22.8 (10^5 leptospires/ml) to 36.0 (10^2 leptospires/ml).

2.5 | Culture

For culturing, 0.5 ml of each urine sample was diluted 1:10 and 1:100, and both dilutions were cultured in EMJH medium as modified by Johnson and Harris supplemented with 5-fluorouracil (200 µg/ml) (EMJH-FU) for a total of 6 months at 28–30°C (Faine, Adler, Bolin, & Perolat, 1999; World Health Organisation, 2003). Potential growth of *Leptospira* was determined by dark-field microscopy (Olympus BH, E for L international CO., LTD., Japan) approximately every 7 days.

2.6 | Microscopic agglutination test

Microscopic agglutination test (Goris & Hartskeerl, 2014) was performed with serial twofold dilutions from 1:20 to 1:160. Twenty-four serovars (Anhoa, Australis, Autumnalis, Ballum, Bataviae, Bratislava, Broomi, Canicola, Celledoni, Copenhageni, Coxi, Cynopteri, Djasiman, Grippotyphosa, Haemolytica, Icterohaemorrhagiae, Khorat, Paidja, Patoc, Pomona, Pyrogenes, Rachmati, Saxkoebing, Sejroe) belonging to 16 serogroups (Australis, Autumnalis, Ballum, Bataviae, Canicola, Celledoni, Cynopteri, Djasiman, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Pomona, Pyrogenes, Sejroe, Semarang, unknown) were used as antigens.

2.7 | Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SPSS 24.0. The prevalence of *Leptospira* infection and its 95% CI were calculated. In a first univariate analysis, possible risk factors for a *Leptospira* infection were evaluated by Fisher's exact test. In the following multivariate analysis, all risk factors with OR > 3 in the univariate analysis were analysed by binary logistic regression. A *p*-value < 0.05 was determined as statistically significant.

3 | RESULTS

3.1 | Prevalence of *Leptospira* shedding

Urine samples of 2/260 cats (0.8%; 95% CI: 0.1%–2.8%) were PCR-positive. All PCR-negative controls tested negative and PCR-positive controls positive. None of the 260 urine samples were positive in culture (Table 1).

One of the two PCR-positive cats was a 6 month old, intact, female DSH. The cat lived in Bang Mot subdistrict, Rajburana district, Southwestern Bangkok (urban region) close to the border of Samut Prakan. Rats had been seen in this area on the day of sampling. The cat was privately owned, drank out of puddles, potentially had contact to rodents, dogs and other cats. Further physical examination and urine analysis were unremarkable, and the cat was FIV- and FeLV-negative. The PCR Ct value was 35.9 (corresponding to 148.5 leptospires/ml urine). No antibodies were detected by MAT.

The second PCR-positive cat was a 1 year old, intact, female DSH. The cat came from Kamphaengsan, an urban district of Nakhon Pathom. It was privately owned, drank out of puddles, potentially had contact to rodents, dogs and other cats. Physical examination and urine analysis were unremarkable, and the cat was FIV- and FeLV-negative. The PCR Ct value was 35.0 (corresponding to 286.2 leptospires/ml urine). No antibodies were detected by MAT.

3.2 | Antibody prevalence

Leptospira antibodies were identified in 14/260 cats (5.4%; 95% CI: 3.0%–8.6%) with titers ranging from 1:20 to 1:160 (Tables 1 and 3). Sera reacted to serovars Anhoa, Autumnalis, Celledoni, Copenhageni, Djasiman, Icterohaemorrhagiae and Patoc. The highest titer detected was 1:160 against serovar Celledoni. No *Leptospira* shedding was detected in any of the MAT-positive cats.

3.3 | Risk factor analysis

Several risk factors for infection with *Leptospira* (PCR-positive or MAT-positive cats) were evaluated. Of the 260 cats, 15 (5.8%) were FIV-positive and 11 (4.2%) were FeLV-positive but retrovirus infection was not a significant risk factor. Multivariate logistic regression revealed only one significant risk factor for *Leptospira* infection; infection was more often found in cats ≥4 years than in cats <4 years (*p* = 0.023, OR: 4.96; 95% CI: 2.6–8.9).

4 | DISCUSSION

A few recent studies have shown that cats can shed pathogenic *Leptospira* in their urine and, therefore, cats can act as a potential source of *Leptospira* infection in humans (Chan et al., 2014; Weis et al., 2017). A high prevalence in outdoor cats in Thailand would suggest that cats represent a high risk, not only for the citizens of Thailand, but also for millions of tourists visiting Thailand every year. In

TABLE 3 Number and percentage of microscopic agglutination test (MAT)-positive cats among 260 outdoor cats (4/14 MAT-positive cats had antibodies to more than one serovar)

Serovar	Serogroup	<1:20 = negative	1:20	1:40	1:80	1:160	Total cats with titer \geq 1:20	Percentage of cats with titer \geq 1:20 (95% CI)
Autumnalis	Autumnalis	259	1	0	0	0	1	0.4% (0%–1.1%)
Anhoa	Celledoni	259	0	1	0	0	1	0.4% (0%–1.1%)
Celledoni	Celledoni	258	0	0	0	2	2	0.8% (0%–1.8%)
Djasiman	Djasiman	256	2	1	1	0	4	1.5% (0%–3.0%)
Copenhageni	Icterohaemorrhagiae	259	1	0	0	0	1	0.4% (0%–1.1%)
Icterohaemorrhagiae	Icterohaemorrhagiae	257	1	2	0	0	3	1.2% (0%–2.5%)
Patoc	Semarangana	254	4	1	1	0	6	2.3% (0.5%–4.1%)

CI: confidence interval; MAT: microscopic agglutination test.

developed countries, international travelling is now considered the most important risk factor for leptospirosis (Lau, Smythe, & Weinstein, 2010). The present study investigated the role of cats as a potential source of *Leptospira* infection in humans and animals and represents the first survey of *Leptospira* infections in cats in Thailand. Shedding of *Leptospira* was found in 0.8% (95% CI: 0.1%–2.8%) of cats in this study. Thus, according to these data, humans in Thailand are not at high risk through direct contact to cats. In contrast, shedding by cats in a previous study in Taiwan was much higher with a prevalence of 67.8% (Chan et al., 2014). In the Taiwan study, 159/233 cats were strays. The likelihood of stray cats hunting and eating rodents is higher than in well-fed outdoor cats, and this might be an explanation for the higher prevalence. As the climate in Thailand is not much different from Taiwan's climate and leptospires survive well in subtropical and monsoonal tropical climates, a much higher prevalence of *Leptospira* infection in cats in Thailand was expected. Differences in prevalences between the two studies could be explained by the timepoint and region of sampling as well as by a natural disaster that occurred in Taiwan shortly before sampling (Chan et al., 2014; Su, Chan, & Chang, 2011).

In another study on Christmas Island, located south of Surabaya, Indonesia, 42.4% of feral cats were positive by PCR on kidney tissue (Dybing, Jacobson, Irwin, Algar, & Adams, 2017). On Christmas Island, climate is tropical as it is in Thailand, and prevalence in kidney tissue of cats, was even higher than in black rats (2.9%). Due to the higher population density on the island, potential hosts, such as rats, feral cats and others, might have closer contact to each other and a fast transmission and reinfection are possible. Dybing et al. (2017) mentioned even birds as a possible source of leptospiral infection to feral cats.

In this study, none of all 260 urine samples were found to be culture positive. Although urine was inoculated in the medium within 2 hours after sampling and 5-fluorouracil was used to inhibit the growth of other bacteria, *Leptospira* culture remains an insensitive method (Greene, Sykes, Moore, Goldstein, & Schultz, 2012; Levett, 2001). Only two cats were PCR-positive, and thus, the likelihood of being able to culture the *Leptospira* in either of these two cats was low. Moreover, PCR might only detect DNA and not viable *Leptospira*. However, in another study recently performed in Chile, in 3/

231 feline urine samples *Leptospira* could be cultured using the same method, confirming that cats can shed living *Leptospira* and not only DNA (Dorsch et al., 2017). In addition, shedding of viable leptospires by cats was previously demonstrated in studies describing either natural or experimental infection of cats (Carlos et al., 1971; Fessler & Morter, 1964; Harkness, Smith, & Fowler, 1970; Millan et al., 2009). It is of course possible that no positive cultures were detected due to storage and transport, but this is unlikely because at the same time urine samples from dogs were processed and cultured using the same methods. Of the dog samples, one was positive, which is a proof that the method of storage, transport, processing and culturing of cat and dog urine samples were adequate (Alzheimer et al., 2017).

Antibodies against *Leptospira* were detected in 14/260 cats (5.4%; 95% CI: 2.6%–8.1%) by MAT with titers ranging from 1:20 to 1:160. In cats, antibody levels are commonly low and often lower than those in other animals (Agunloye & Nash, 1996; Millan et al., 2009; Mylonakis et al., 2005; Shophet, 1979). One reason for the low antibody titers might be that they represent cross-reactions from serovars not yet described (Rodriguez et al., 2014). Surveys in cats in Asia found antibody prevalences ranging from 7.7% in Japan (Akuzawa, Maruyama, Endo, Oishi, & Nakamura, 2006) and 9.3% in Taiwan (Chan et al., 2014) to 66.6% in South India (Natarajaseenivasan, Boopalan, Selvanayaki, Suresh, & Ratnam, 2002). In the Taiwan study, only 9.3% of cats had antibodies although 67.8% were shedding (Chan et al., 2014). Thus, many cats shedding *Leptospira* had no antibodies. However, in that study, only 11 serovars were tested by MAT. It is possible that cats were infected with serovars not included in the panel or not known yet. The high antibody prevalence (66.6%) in South India can be explained by the fact that the study population consisted of only nine cats that lived in a rice mill in which a rice mill worker was diagnosed with leptospirosis. Of the other rice mill workers, 225/329, 18/34 cattle, 12/23 rats and 2/4 dogs had antibodies (Natarajaseenivasan et al., 2002).

Most common reactivity was found against the saprophytic serovar Patoc (6/260 cats) in this study. This could indicate that those cats actually had antibodies to another serovar which was not included in the panel, potentially a yet unknown serovar. According to the Guidelines of International Leptospirosis Society (Wilson, Bovens, & Murphy, 2015; World Health Organisation, 2003), the

range of serovars should not be limited to local strains and thus, serovar Patoc should be included, which cross-reacts with human or animal antibodies generated by a number of pathogenic serovars. In humans, antibodies against Patoc were determined in 10.0% of the positively tested samples in Loei Province after flooding (Niwetpathomwat, Niwatayakul, & Doungchawee, 2005) indicating the presence of unknown serovars, crossreacting with the saprophytic serovar Patoc. Based on MAT results, it is however impossible to draw conclusions as to which serovar was the infecting serovar, even when titers to one particular serovar are significantly higher than titers to the other serovars of the panel. Since cross-reactivity within serogroups is very strong, MAT results in the best case can give an indication of the serogroup of the infecting strain and not the serovar (Levett, 2001).

The two cats that shed leptospiral DNA in their urine were not positive on MAT testing. Most likely reasons would be that the cats had a very early infection, that the infecting serovar was not included in the MAT panel or the titers of agglutinating antibodies have declined to levels below detection limit of the MAT by the time of sampling. In addition, MAT is problematic for detection of renal carrier animals, which can have titers below the accepted minimal significant value (Klaasen & Adler, 2015). None of the cats with MAT antibodies shed *Leptospira* DNA in their urine. This could be explained by intermittent shedding of leptospire which is a common finding (Levett, 2001). This also shows that the prevalence of shedding is likely underestimated.

Infected cats are defined as cats which had previous exposure to pathogenic *Leptospira* and which are therefore positive in MAT or *Leptospira* have been detectable in urine of the cats by PCR. As an infection is defined as the invasion of pathogens into a host, infected cats are not necessarily shedding.

In the risk factor analysis, almost no significant differences between infected and non-infected cats regarding signalment and environmental factors were found, with only one exception. Cats aged ≥ 4 years were significantly ($p = 0.023$) more likely to have *Leptospira* infection than young cats. Older age was already mentioned in other studies as a risk factor for *Leptospira* infection in cats (Brasil de Lima et al., 2014; Larsson, Santa Rosa, Hagiwara, Paim, & Guerra, 1984; Mosallanejad, Ghorbanpoor Najafabadi, Avizeh, Abdollahpoor, & Abadi, 2011). This can be explained by an increased likelihood of acquiring infection in older cats. It is unknown, how long cats remain carrier and thus, remain antibody-positive. On the other hand, it is also unknown how long cats have detectable antibodies after they have cleared infection. The fact that cats at higher age have an increased risk of being antibody-positive invites the conclusion that cats remain carrier for a long period of time after infection if not lifelong. Alternatively, this could indicate that antibodies are long lasting after infection.

In this study, gender and reproduction status were not significantly associated with *Leptospira* infection as described in earlier studies (Azocar-Aedo, Monti, & Jara, 2014; Brasil de Lima et al., 2014; Larsson et al., 1984; Mosallanejad et al., 2011; Mylonakis et al., 2005; Rodriguez et al., 2014). Environmental factors also did not influence the risk of a *Leptospira* infection, although it would be

expected that cats living in rural areas have a higher risk (Azocar-Aedo et al., 2014). Most of the cats (207/260) were sampled in urban areas, but the percentage of positive cats in urban and rural areas was identical (6.3%). It should be considered that in Thailand, urban and rural environments are not that different in terms of living conditions and open water sources. Stray cats and dogs as well as rodents can be found in both urban and rural areas. Furthermore, human cases of leptospirosis in Bangkok residents without recent travel history have occurred (Ariyapruhya, Sungkanuparph, & Dumrongkitchaiporn, 2003).

All except one of the 16 *Leptospira*-infected cats had a history of contact with rodents. As rodents are the main infection source for cats (Hartmann et al., 2013), it is likely that contact with rodents is an important risk factor (Brasil de Lima et al., 2014). Due to the low number of infected cats in this study, no significant association between contact to rodents and *Leptospira* infection was found, but there might have been a significant difference if a higher number of cats had been evaluated. Contact to other cats and dogs did not significantly increase the risk of infection, but all of the 16 infected cats had contact with other cats and 14/16 had contact with dogs. Transmission between cats and other pets is possible through contact with contaminated urine, and a higher risk for cats having contact with other cats and other pets in the household has been determined (Rodriguez et al., 2014).

One limitation of this study was that sampling was performed only from December to March; consecutive sampling over a year within the same areas would have potentially increased the number of infected cats. Future studies should investigate the prevalence of *Leptospira* infection in cats after periods of flooding. No blood samples were tested by PCR because the MAT performed with a panel of 24 serovars already required a lot of blood to be collected. It would, however, be interesting to include also PCR on blood in future studies.

5 | CONCLUSIONS

The prevalence of shedding of DNA from pathogenic *Leptospira* in cats in Thailand was 0.8%. Antibody prevalence was 5.4%. Thus, cats in Thailand can shed DNA and, possibly, viable pathogenic *Leptospira* in their urine, although at a much lower prevalence than expected when compared to Taiwan, a country with a similar tropical climate. Further studies are needed to determine the role of cats as a source of infection for animals and humans in Thailand.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to the Department of Livestock Development, Bangkok Metropolitan Administration, Paws Bangkok and Obstetrics Unit of Chulalongkorn University Veterinary Clinic, Bangkok, Thailand, for cooperation during sampling process. We thank David Sutton from MSD Animal Health for his valuable input. This research was funded by MSD Animal Health, the Netherlands.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship and/or publication of this article.

ORCID

Fabienne Sprijler  <https://orcid.org/0000-0003-1072-2464>

REFERENCES

- Agunloye, C., & Nash, A. (1996). Investigation of possible leptospiral infection in cats in Scotland. *Journal of Small Animal Practice*, 37(3), 126–129. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1996.tb02360.x>
- Akuzawa, M., Maruyama, T., Endo, Y., Oishi, A., & Nakamura, K. (2006). Survey of *Leptospira* antibodies in domestic cats in the Southern Kyushu District. *Journal of the Japanese Veterinary Medical Association*, 59, 45–48. <https://doi.org/10.12935/jvma1951.59.45>
- Altheimer, K., Jongwattanasipan, P., Luengyosuechakul, S., Pusoonthorn-tum, R., Prapasarakul, N., Kurilung, A., ... Hartmann, K. (2017, 27.11.–1.12.2017). *Leptospira* species infection in dogs in Thailand. Paper presented at the 10th International Leptospirosis Society Meeting, Palmerstone North, New Zealand.
- Ariyaprichya, B., Sungkanuparph, S., & Dumrongkitchaiporn, S. (2003). Clinical presentation and medical complication in 59 cases of laboratory-confirmed leptospirosis in Bangkok.
- Azocar-Aedo, L., Monti, G., & Jara, R. (2014). *Leptospira* spp. in domestic cats from different Environments: prevalence of Antibodies and Risk Factors associated with the Seropositivity. *Animals (Basel)*, 4(4), 612–626. <https://doi.org/10.3390/ani4040612>
- Brasil de Lima, A. W., Parantoni, R. N., Feitosa, T. F., Vilela, V. L. R., Alves, C. J., Vasconcellos, S. A., & de Azevedo, S. S. (2014). Anti-*Leptospira* spp. antibodies in cats from the semiarid of the Paraíba State. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(6), 3215–3220.
- Carlos, E. R., Kundin, W. D., Watten, R. H., Tsai, C. C., Irving, G. S., Carlos, E. T., & Directo, A. C. (1971). Leptospirosis in the Philippines: Feline studies. *American Journal of Veterinary Research*, 32(9), 1455–1456.
- Chadsuthi, S., Bicut, D. J., Wiratsudakul, A., Suwancharoen, D., Petkanchanapong, W., Modchang, C., ... Chalvet-Monfray, K. (2017). Investigation on predominant *Leptospira* serovars and its distribution in humans and livestock in Thailand, 2010–2015. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 11(2), e0005228. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005228>
- Chan, K. W., Hsu, Y. H., Hu, W. L., Pan, M. J., Lai, J. M., Huang, K. C., & Chou, S. J. (2014). Serological and PCR detection of feline leptospira in southern Taiwan. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 14(2), 118–123. <https://doi.org/10.1089/vbz.2013.1324>
- Department of Livestock Development, B. o. D. C. a. V. S., Thailand. (2016). Survey of dog and cat, Rabies campaign 2016. Retrieved from <http://dcontrol.dld.go.th/dcontrol/index.php/rabies/747-dogpop2016>
- Desvars, A., Naze, F., Benneveau, A., Cardinale, E., & Michault, A. (2013). Endemicity of leptospirosis in domestic and wild animal species from Reunion Island (Indian Ocean). *Epidemiology and Infection*, 141(6), 1154–1165. <https://doi.org/10.1017/S0950268812002075>
- Dorsch, R., Salgado, M., Monti, G., Avilez, C., Collado, B., Tomckoviack, C., ... Hartmann, K. (2017, 27.11.–1.12.2017). Urine shedding of *Leptospira* species in cats in Southern Chile. Paper presented at the 10th International Leptospirosis Society Meeting, Palmerstone North, New Zealand.
- Doungchawee, G., Phulsuksombat, D., Naigowit, P., Khoaprasert, Y., Sangjun, N., Kongtim, S., & Smythe, L. (2005). Survey of leptospirosis of small mammals in Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 36(6), 1516–1522.
- Dybing, N. A., Jacobson, C., Irwin, P., Algar, D., & Adams, P. J. (2017). *Leptospira* species in feral cats and black rats from Western Australia and Christmas Island. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 17(5), 319–324. <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.1992>
- Faine, S., Adler, B., Bolin, C., & Perolat, P. (1999). *Leptospira and leptospirosis*, 2nd ed. Melbourne: MediSci.
- Fenimore, A., Carter, K., & Lunni, K. (2012). Detection of leptospirosis in shelter cats in Colorado. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26(3), 783.
- Fessler, J. F., & Morter, R. L. (1964). Experimental feline leptospirosis. *Cornell Veterinarian*, 54, 176–190.
- Goris, M. G., & Hartskeerl, R. A. (2014). Leptospirosis serodiagnosis by the microscopic agglutination test. *Current Protocols in Microbiology*, 32, Unit 12E.15. <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc12e05s32>
- Greene, C. E., Sykes, J. E., Moore, G. E., Goldstein, E. J., & Schultz, R. D. (2012). *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 4th ed. St. Louis: Elsevier Saunders.
- Harkness, A. C., Smith, B. L., & Fowler, G. F. (1970). An isolation of *Leptospira* serotype pomona from domestic cat. *New Zealand Veterinary Journal*, 18(8), 175–176. <https://doi.org/10.1080/00480169.1970.33893>
- Hartmann, K., Egberink, H., Pennis, M. G., Lloret, A., Addie, D., Belak, S., ... Horzinek, M. C. (2013). *Leptospira* species infection in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15(7), 576–581. <https://doi.org/10.1177/1098612x13489217>
- Hinjoy, S. (2016). Epidemiology of leptospirosis from Thai national disease surveillance system, 2003–2012. *Outbreak, Surveillance and Investigation Reports Journal*, 7(2), 1–5.
- Jittapalopong, S., Sittisan, P., Sakpuaram, T., Kabeya, H., Maruyama, S., & Inpankaew, T. (2009). Coinfection of *Leptospira* spp and *Toxoplasma gondii* among stray dogs in Bangkok, Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 40(2), 247–252.
- Klaasen, H. L. B. M., & Adler, B. (2015). Recent advances in canine leptospirosis: Focus on vaccine development. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 6, 245–260.
- Larsson, C. E., Santa Rosa, C. A., Hagiwara, M. K., Paim, G. V., & Guerra, J. L. (1984). Prevalence of feline leptospirosis: Serologic survey and attempts of isolation and demonstration of the agent. *International Journal of Zoonoses*, 11(2), 161–169.
- Lau, C., Smythe, L., & Weinstein, P. (2010). Leptospirosis: An emerging disease in travellers. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 8(1), 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2009.12.002>
- Levett, P. N. (2001). Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(2), 296–326. <https://doi.org/10.1128/cmr.14.2.296-326.2001>
- Meeyam, T., Tablerk, P., Petchanok, B., Pichpol, D., & Padungtod, P. (2006). Seroprevalence and risk factors associated with leptospirosis in dogs. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 37(1), 148–153.
- Millan, J., Candela, M. G., Lopez-Bao, J. V., Pereira, M., Jimenez, M. A., & Leon-Vizcaino, L. (2009). Leptospirosis in wild and domestic carnivores in natural areas in Andalusia, Spain. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 9(5), 549–554. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0081>
- Ministry of Public Health, B. o. C. D., Thailand. (2017). Leptospirosis in Thailand, Situation Update, No. 5 (2017). Retrieved from http://thaigcd.ddc.moph.go.th/en/disease_alerts/view/30
- Mosallanejad, B., Ghorbanpoor Najafabadi, M., Avizeh, R., Abdollahpoor, G., & Abadi, K. (2011). A serological survey of Leptospiral infection of cats in Ahvaz, south-western of Iran. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 5(1), 49–52. <https://doi.org/10.22059/ijvm.2011.22671>
- Mylonakis, M. E., Bourtzli-Hatzopoulou, E., Koutinas, A. F., Petridou, E., Saridomichelakis, M. N., Leontides, L., & Siochu, A. (2005). Leptospiral seroepidemiology in a feline hospital population in Greece. *Veterinary Record*, 156(19), 615–616. <https://doi.org/10.1136/vr.156.19.615>
- Natarajaseenivasan, K., Boopalan, M., Selvanayagi, K., Suresh, S. R., & Ratnam, S. (2002). Leptospirosis among rice mill workers of Salem, South India. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 55(5), 170–173.

- Niwetpathomwat, A., Niwatayakul, K., & Douchawee, G. (2005). Surveillance of leptospirosis after flooding at Loei Province, Thailand by year 2002. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 36(Suppl 4), 202–205.
- Rodriguez, J., Blais, M. C., Lapointe, C., Arseneault, J., Carioto, L., & Harel, J. (2014). Serologic and urinary PCR survey of leptospirosis in healthy cats and in cats with kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(2), 284–293. <https://doi.org/10.1111/jvim.12287>
- Shophet, R. (1979). A serological survey of leptospirosis in cats. *The New Zealand Veterinary Journal*, 27(11), 236–245. <https://doi.org/10.1080/00480169.1979.34662>
- Stoddard, R. A., Gee, J. E., Wilkins, P. P., McCaustland, K., & Hoffmaster, A. R. (2009). Detection of pathogenic *Leptospira* spp. through Taq-Man polymerase chain reaction targeting the LipL32 gene. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 64(3), 247–255. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.03.014>
- Su, H. P., Chan, T. C., & Chang, C. C. (2011). Typhoon-related leptospirosis and melioidosis, Taiwan, 2009. *Emerging Infectious Diseases*, 17(7), 1322–1324. <https://doi.org/10.3201/eid1707.101050>
- Talebkhan Garoussi, M., Mehravaran, M., Abdollahpour, G., & Khoshnegah, J. (2015). Seroprevalence of leptospiral infection in feline population in urban and dairy cattle herds in Mashhad. *Iran. Veterinary Research Forum*, 6(4), 301–304.
- Weis, S., Rettinger, A., Bergmann, M., Llewellyn, J. R., Pantchev, N., Straubinger, R. K., & Hartmann, K. (2017). Detection of *Leptospira* DNA in urine and presence of specific antibodies in outdoor cats in Germany. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 19(4), 470–476. <https://doi.org/10.1177/1098612x16634389>
- Wilson, H., Bovens, C., & Murphy, K. (2015). Increase in canine leptospirosis cases. *Veterinary Record*, 176(9), 235. <https://doi.org/10.1136/vr.h929>
- World Health Organisation. (2003). Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. Retrieved from <http://www.who.int/topics/leptospirosis/en/>
- World Health Organization Western Pacific Region. (2012, 2012, August 13). Leptospirosis Fact Sheet. Retrieved from http://www.wpro.who.int/mediacentre/factsheets/fs_13082012_leptospirosis/en/
- Zaidi, S., Bouam, A., Bessas, A., Hezil, D., Ghaoui, H., Ait-Oudhia, K., ... Bitam, I. (2018). Urinary shedding of pathogenic *Leptospira* in stray dogs and cats, Algiers: A prospective study. *PLoS ONE*, 13(5), e0197068. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197068>

How to cite this article: Spribler F, Jongwattanapisan P, Luengyosuechakul S, et al. *Leptospira* infection and shedding in cats in Thailand. *Transbound Emerg Dis*. 2018;00:1–9. <https://doi.org/10.1111/tbed.13110>

IV. DISKUSSION

Erstmals wurde Leptospirose in Thailand im Jahr 1943 beschrieben. Während einer Überschwemmung Bangkoks erkrankten vier Menschen. In den folgenden Jahren stieg die Zahl der an Leptospirose Erkrankten zwar stetig, bis 1995 erkrankten jährlich allerdings nicht mehr als etwa 200 Menschen in ganz Thailand. Seit dem Ausbruch im Jahr 1996, bei dem bis zu 50 pro 100.000 Menschen in Nakhon Ratschasima, im Nordosten Thailands, erkrankten, breitete sich Leptospirose über Nord- und Zentral-Thailand aus. Im Jahr 2000 wurden landesweit 14.285 Erkrankte gezählt (TANGKANAKUL et al., 2005; MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2017a). Seit dieser Epidemie wurden vermehrt Studien zu Leptospireninfektionen bei Nagetieren, Nutz- und Haustieren durchgeführt, um das Risiko für Leptospireninfektionen bei Menschen besser einschätzen zu können (SUWANCHAROEN et al., 2000; HINJOY, 2001; PHULSUKSOMBATI et al., 2001; PRADUTKANCHANA et al., 2002; KOSITANONT et al., 2003; DOUNGCHAWEE et al., 2005; FUNGLADDA et al., 2005; SITHISARN et al., 2005; MEEYAM et al., 2006).

Während bei Nagetieren in 0,9 bis 33,3 % der Isolate aus Nierenkulturen Leptospiren nachgewiesen werden konnten (DOUNGCHAWEE et al., 2005; FUNGLADDA et al., 2005), reichten Antikörperprävalenzen bei Nutztieren von 3,0 % bei Schweinen in Nakhon Ratschasima bis 73,0 % bei Milchkühen im Norden Thailands (ROJANASTHIEN et al., 2012). Von 210 untersuchten Hunden in Chiang Mai hatten 11,0 % Antikörper gegen Leptospiren, bei Straßenhunden in Bangkok sogar 83,5 %. Beide Hundepopulationen waren nicht geimpft; es handelte sich daher um echte Infektionen und nicht um Impfantikörper (MEEYAM et al., 2006; JITTAPALAPONG et al., 2009).

Antikörperprävalenzen bei Katzen in Thailand wurden bisher nicht bestimmt, obwohl kürzlich in einigen Studien die Ausscheidung von DNA pathogener Leptospiren im Urin bei Katzen nachgewiesen wurde (FENIMORE et al., 2012; RODRIGUEZ et al., 2014; WEIS et al., 2017). In den Vereinigten Staaten von Amerika (FENIMORE et al., 2012), Kanada (RODRIGUEZ et al., 2014) und Deutschland (WEIS et al., 2017), die alle in gemäßigten Klimazonen liegen, schieden 3,3–11,7 % der Katzen Leptospiren-DNA aus.

In Taiwan, welches wie Thailand in der tropischen Klimazone liegt, konnte eine außergewöhnlich hohe Ausscheidungsprävalenz von Leptospiren bei Katzen von 67,8 % (CHAN et al., 2014) nachgewiesen werden. Die Urinproben wurden von 92 Straßenkatzen und 26 Katzen mit Besitzern in drei verschiedenen Tierkliniken und fünf Tierheimen in Süd-Taiwan entnommen und mittels konventioneller PCR untersucht (CHAN et al., 2014). Wie in Taiwan herrschen auch in Thailand ideale Lebensbedingungen für Leptospiren. In der Regenzeit werden regelmäßig Teile beider Länder überflutet, und es herrscht tropisches Klima. Daher wurde auch in Thailand eine hohe Prävalenz der Ausscheidung von Leptospiren bei Katzen erwartet.

Ziel dieser Doktorarbeit war es daher, Leptospiren-DNA in Urinproben von Freigänger-Katzen in Nord-, Nordost- und Zentral-Thailand mittels Nachweis des *lipL32*-Gen durch real-time PCR zu detektieren. Außerdem wurde der Urin für sechs Monate in Ellinghausen-McCullough/Johnson-Harris-Medium (EMJH-Medium) kultiviert. Weiterhin wurde die Antikörperprävalenz bestimmt und Risikofaktoren, die mit einer Leptospireninfektion assoziiert waren, ermittelt.

Die PCR ist die sensitivste Methode für den direkten Erregernachweis, da bereits geringe Erregermengen nachgewiesen werden können (VAN EYS et al., 1989). Die Sensitivität der real-time PCR ist im Vergleich zur konventionellen PCR 100-fach höher (PICARDEAU et al., 2014; FINK et al., 2015). Zudem ist sie spezifischer, da sie weniger anfällig für Kontaminationen ist. Das in der vorliegenden Studie verwendete Protokoll, welches das *lipL32*-Gen nachweist, ist für pathogene Leptospiren nahezu 100 % sensitiv und spezifisch (WAGENAAR et al., 1994; STODDARD et al., 2009; VILLUMSEN et al., 2012; FINK et al., 2015). Da im Urin die höchste Leptospirenkonzentration nachweisbar ist, wurden Urinproben mittels PCR getestet. Leptospiren werden im Urin schon in der ersten Woche der Infektion und etwa drei Wochen länger als im Blut nachgewiesen (BAL et al., 1994; SYKES et al., 2011).

Die Kultivierung von Leptospiren gilt nach wie vor als Goldstandard zum Nachweis lebender, infektiöser Leptospiren. Sie hat eine Spezifität von 100 % (FAINE, 1982; BOLIN, 1996; AHMED et al., 2009; SAITO et al., 2017). Daher wurden zusätzlich zur PCR Urinkulturen von allen 260 Katzen angelegt. Das zur Kultivierung von Leptospiren übliche EMJH-Medium (FAINE, 1981) wurde mit 5-Fluorouracil (5-FU) versetzt, um unerwünschtes bakterielles Wachstum zu

hemmen (LEVETT, 2001; ADLER und DE LA PENA MOCTEZUMA, 2010; WORLD HEALTH ORGANISATION, 2017). Um falsch negative Ergebnisse auszuschließen, wurden Katzen, die in den letzten vier Wochen antibiotisch behandelt worden waren, von der Studie ausgeschlossen.

Der MAT gilt als Goldstandard für den Nachweis von Antikörpern gegen Leptospiren (SAITO et al., 2017). Serum von 260 Katzen wurde mittels MAT auf 24 Serovare untersucht. Die 24 Serovare wurden aufgrund zahlreicher Studien, in denen verschiedene Serovare bei Menschen und Tieren in Thailand und Asien nachgewiesen wurden, ausgewählt (SUNDHARAGIATI et al., 1966a; FUNGLADDA et al., 2005; MEEYAM et al., 2006; CHITTSAMARAT et al., 2007; JITTAPALAPONG et al., 2009; PUMIPUNTU und PROMSATIT, 2013; CHIRATHAWORN et al., 2014; CHADSUTHI et al., 2017).

In der vorliegenden Studie schieden 0,8 % (2/260; 95 % Konfidenzintervall (CI): 0,1–2,8 %) der Katzen Leptospiren aus. Die Ausscheidungsprävalenz bei Katzen in Thailand ist somit erstaunlich niedrig und sogar niedriger als beispielsweise in Deutschland (WEIS et al., 2017). Im Vergleich zur hohen Ausscheidungsprävalenz von 67,8 % bei Katzen in Taiwan (CHAN et al., 2014) überraschte die niedrige Ausscheidungsprävalenz der vorliegenden Studie. Sowohl Thailand als auch Taiwan liegen in der tropischen Klimazone. Daher würde man eine ähnliche Ausscheidungsprävalenz erwarten. Allerdings unterscheiden sich die Studienpopulationen. In der vorliegenden Studie waren nur 3,5 % (9/256) der Studienpopulation Straßenkatzen, in Taiwan mehr als die Hälfte (159/233; 68,2 %) (CHAN et al., 2014). Straßenkatzen ernähren sich hauptsächlich von Nagetieren, die häufig mit Leptospiren infiziert sind (LEVETT, 2001; DOUNGCHAWEE et al., 2005). Somit besteht für Straßenkatzen ein höheres Risiko, sich mit Leptospiren zu infizieren. Zusätzliche Infektionsgefahr besteht durch die Aufnahme von Wasser aus Pfützen, die mit pathogenen Leptospiren kontaminiert sein können (TANGKANAKUL et al., 2001). Ein weiterer Faktor, der die Unterschiede der Ausscheidungsprävalenz erklären könnte, ist die Zeit der Probenentnahme. Die Urinproben der vorliegenden Studie wurden während der Trockenzeit in Thailand, von Dezember 2016 bis März 2017, entnommen. In Taiwan wurden die Urinproben von Januar 2010 bis September 2011 entnommen (CHAN et al., 2014). In Taiwan kommt es in der Regenzeit von Juni bis Oktober zu starken Regenfällen, und ein Großteil der Proben wurden in

dieser Zeit entnommen (LEVETT, 2001). SUNDHARAGIATI und Mitarbeiter (1966) beschrieben eine höhere Prävalenz der Leptospirose in der Regenzeit als in der Trockenzeit (SUNDHARAGIATI et al., 1966a). Von Januar bis August 2009 überflutete der Taifun Morakot Taiwan. Im Anschluß daran kam es zu einer Epidemie humaner Leptospirose. Leptospirose trat nach dem Taifun bei Menschen signifikant häufiger ($p < 0,05$) auf als vor dem Taifun (SU et al., 2011). Durch die lange Überschwemmungszeit hatten Leptospiren ideale Lebensbedingungen (LEVETT, 2001). Folglich war auch die Infektionsgefahr für Katzen höher. Daten zu zeitgleichen Untersuchungen zu Leptospireninfektionen bei anderen Tierarten liegen nicht vor. Verschiedene Studien belegen, dass Katzen noch mehrere Wochen nach der Infektion Leptospiren ausscheiden können (FESSLER und MORTER, 1964; LARSSON et al., 1984). Es ist daher denkbar, dass sich viele Katzen im Anschluss an den Taifun mit Leptospiren infizierten und diese während der Zeit der Probenentnahme in Taiwan ausschieden.

Die PCR-Methode, mit der die Leptospiren im Urin in der vorliegenden Studie nachgewiesen wurden, unterscheidet sich von der Methode in der Studie von CHAN und Mitarbeiter (2014). In der vorliegenden Studie wurden die Leptospiren im Urin mittels real-time PCR nachgewiesen. Die real-time PCR ist weniger empfindlich gegenüber Kontaminationen im Vergleich zur konventionellen PCR (PICARDEAU et al., 2014). In der vorliegenden Studie wurde das *lipL32*-Gen detektiert, welches 100 % spezifisch für pathogene Leptospiren ist (STODDARD et al., 2009). Falsch positive PCR-Ergebnisse sind daher in der vorliegenden Studie sehr unwahrscheinlich. CHAN und Mitarbeiter (2014) benutzten eine konventionelle PCR (CHAN et al., 2014). Bei der konventionellen PCR kann es zu einer Kontamination von Probe zu Probe und daher zu falsch positiven Ergebnissen kommen. In der Studie von CHAN und Mitarbeiter (2014) wurde eine 16S-rRNA-PCR benutzt (CHAN et al., 2014), für die in einer anderen Studie eine Spezifität von nur 87 % bestimmt wurde (FINK et al., 2015). Allerdings werteten CHAN und Mitarbeiter (2014) nur Proben als positiv, bei denen pathogene Leptospiren sequenziert wurden (CHAN et al., 2014). Daher sind falsch positive PCR-Ergebnisse unwahrscheinlich.

In einer aktuellen Studie auf Christmas Island, das ebenfalls in der tropischen Klimazone liegt, wurden bei 42,4 % (25/59) der untersuchten Straßenkatzen im Nierengewebe Leptospiren mittels PCR nachgewiesen (DYBING et al., 2017). Im

Vergleich zur vorliegenden Studie wurden Straßenkatzen untersucht, die auf einer Insel lebten. Die Artenvielfalt auf Christmas Island ist sehr gering, außer wildlebenden Hühnern gibt es keine anderen Nutztiere. DYBING und Mitarbeiter (2017) vermuten, dass sich Katzen auf Christmas Island nicht nur bei Ratten, sondern auch bei Vögeln mit Leptospiren infizieren (DYBING et al., 2017). Straßenkatzen sind dort eine überhandnehmende Spezies. Durch die hohe Katzen-Populationsdichte auf dem begrenzten Raum der Insel und den dadurch bedingten engen Kontakt können sich Katzen leichter gegenseitig infizieren (DYBING et al., 2017).

Eine weitere Studie mit einer hohen Prävalenz wurde in Südkorea durchgeführt. Hier wurden bei 62,5 % (15/24) der untersuchten Katzen Leptospiren im Nierengewebe nachgewiesen (TRUONG et al., 2013). Die Studienpopulation bestand in dieser Studie ebenfalls aus Straßenkatzen, die auf neun verschiedenen Schweinebetrieben lebten. Zudem wurden bei 63,7 % (65/102) der Nager, welche in der Umgebung der Schweinebetriebe gefangen wurden, im Nierengewebe Leptospiren nachgewiesen. Da sich Schweine ebenfalls mit Leptospiren infizieren und diese ausscheiden können (NIWETPATHOMWAT et al., 2006), ist es sehr wahrscheinlich, dass sich Nagetiere, Schweine und Katzen gegenseitig infizieren. Somit scheint das Infektionsrisiko in dieser Umgebung besonders hoch zu sein (TRUONG et al., 2013).

Eine ähnlich niedrige Ausscheidungsprävalenz (1/103; 1,0 %) wie in der vorliegenden Studie wurde bei Katzen in St. Kitts, einer Insel in der Karibik, ermittelt (BETANCE et al., 2017). Im Gegensatz zur vorliegenden Studie in Thailand wurden in St. Kitts nur Straßenkatzen untersucht, und die Urinproben wurden sowohl in der Trocken- als auch in der Regenzeit entnommen. Da die Studienpopulation, das Klima und die Zeit der Probenentnahme ähnlich zu der Studie in Taiwan sind, ist es möglich, dass noch andere Faktoren die Ausscheidungsprävalenz beeinflussen (CHAN et al., 2014). Die Urinproben in St. Kitts wurden mittels PCR untersucht, die genaue Methode ist allerdings nicht angegeben (BETANCE et al., 2017). Es bleibt damit unklar, ob die Prävalenz der Studie durch falsch negative Ergebnisse unterschätzt wurde. Die Artenvielfalt auf St. Kitts ist größer als auf Christmas Island. Bei einer höheren Anzahl möglicher Reservoirwirte für pathogene Leptospiren ist die Wahrscheinlichkeit, dass ein Wirt mit pathogenen Leptospiren in Kontakt kommt, geringer. Da Inseln durch

die natürliche Barriere aus Wasser gewissermaßen von der Außenwelt abgegrenzt sind, könnten sie besser vor Infektionserregern geschützt sein als ein Gebiet auf dem Festland. So kommen infizierte Nagetiere, Hunde oder Katzen nur bedingt auf die Insel. Gelangt allerdings ein Infektionserreger auf diesen abgegrenzten Raum, können sich verschiedene Risikofaktoren, wie z. B. klimatische Bedingungen, schlechte sanitäre Bedingungen, Vorhandensein oder Abwesenheit verschiedener Reservoirwirte schnell multiplizieren und zu einer hohen Prävalenz führen (LAU et al., 2010). Die Inseln St. Kitts und Christmas Island sind etwa gleich groß (169 km² und 135 km²); die durchschnittlichen Temperaturen von 26 bis 29 °C auf St. Kitts und 23 bis 28 °C auf Christmas Island unterscheiden sich ebenfalls kaum. Die Niederschlagsmenge von Mai bis Dezember ist auf Christmas Island im Durchschnitt mehr als doppelt so hoch (250 mm) als auf St. Kitts (120 mm). Von Januar bis April beträgt die Niederschlagsmenge im Durchschnitt 90 mm auf Christmas Island und 70 mm auf St. Kitts (HOLIDAY WEATHER; WORLD METEOROLOGICAL ORGANIZATION, 2019). Da Leptospiren monatelang in stehenden Gewässern überleben können (LEVETT, 2001), ist die höhere Niederschlagsmenge auf Christmas Island eine weitere mögliche Erklärung für die höhere Prävalenz. Höhere Niederschlagsmengen begünstigen Leptospireninfektionen (SUNDHARAGIATI et al., 1966a).

Neben der Durchführung der PCR wurde in der vorliegenden Studie Urin von 260 Katzen kultiviert. Keine der 260 Urinkulturen zeigte ein positives Ergebnis. Die Kultivierung ist wenig sensitiv und oft falsch negativ. Da Leptospiren in saurem Urin von fleischfressenden Tieren nur kurzzeitig überleben können (WEIS und HARTMANN, 2017), wurden die mittels Zystozentese gewonnenen sterilen Urinproben innerhalb von zwei Stunden in das Medium überführt. Leptospiren finden bei 28 bis 30 °C ideale Wachstumsbedingungen, deshalb wurden sie bei diesen Temperaturen für insgesamt sechs Monate kultiviert. Die Kultur wurde etwa einmal wöchentlich kontrolliert. Die real-time PCR weist Leptospiren-DNA nach. Die Methode differenziert aber nicht zwischen lebenden und toten Leptospiren. Bei den zwei Urinproben, die PCR-positiv waren, könnte Leptospiren-DNA toter Leptospiren nachgewiesen worden sein, welche nicht kultivierbar sind.

Zur selben Zeit wurde, ebenfalls in der Region, eine Parallelstudie beim Hund durchgeführt. Eine gleichfalls geringe Ausscheidungsprävalenz von 4,4 %

(12/273) wurde bestimmt (ALTHEIMER et al., 2017). Eine der zwölf Hundeurinproben, welche in der PCR positiv war, konnte mittels derselben Methode kultiviert werden (ALTHEIMER et al., 2017), mit der auch der Katzenurin kultiviert wurde. In einer Studie in Süd-Chile, wo gemäßigt Klima herrscht, es aber immer wieder zu starken Niederschlägen kommt, wurden Urinproben von Freigänger-Katzen genommen und mittels *lipL32*-PCR auf pathogene Leptospiren getestet. Davon schieden 13,0 % (30/231) der Katzen Leptospiren mit dem Urin aus. Außerdem waren drei von 231 Urinkulturen der Katzen positiv, die nach der gleichen Methode wie in der vorliegenden Studie entnommen und kultiviert wurden (DORSCH et al., 2017). Dies bestätigt, dass die Methode zum Nachweis von Leptospiren geeignet ist und dass Katzen lebende Leptospiren ausscheiden können.

Leptospirenantikörper wurden bei 5,4 % (14/260; 95 % CI: 2,6–8,1 %) der Katzen nachgewiesen, mit Titern von 1:20 bis 1:160 gegen ein oder mehrere der 24 getesteten Serovare. In Asien wurden bei Katzen Antikörperprävalenzen von 7,7 % in Japan (AKUZAWA et al., 2006), 9,3 % in Taiwan (CHAN et al., 2014) und 66,6 % in Indien (NATARAJASEENIVASAN et al., 2002) ermittelt. Die Antikörperprävalenz der vorliegenden Studie ist vergleichbar mit der Antikörperprävalenz in Taiwan. Aufgrund der hohen Ausscheidungsprävalenz (67,8 %) in Taiwan wäre jedoch eine viel höhere Antikörperprävalenz zu erwarten gewesen. Möglicherweise wurde die Antikörperprävalenz in Taiwan unterschätzt. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass CHAN und Mitarbeiter (2014) ihre Serumproben nur auf elf Serovare testeten (CHAN et al., 2014). Möglicherweise hatten die in Taiwan untersuchten Katzen Antikörper gegen andere Serovare, auf die nicht untersucht wurde. Der MAT ist bestenfalls serogruppenspezifisch, das heißt, es kann nicht unterschieden werden, mit welchem Serovar die Serumprobe des Tieres kreuzreagiert, sondern lediglich innerhalb welcher Serogruppe (LEVETT, 2001). CHAN und Mitarbeiter (2014) hatten das saprophytäre Serovar Patoc, welches mit vielen pathogenen Serovaren kreuzreagiert und ein Indikator für Antikörper gegen andere Serogruppen sein kann, nicht ins Untersuchungspanel eingeschlossen (CHAN et al., 2014). Es ist möglich, dass die Katzen in Taiwan Antikörper gebildet hatten, die mit einer anderen Serogruppe, die nicht im Untersuchungspanel enthalten war, reagiert hätten. Eine weitere mögliche Erklärung wäre, dass die Katzen in Taiwan mit bisher unbekanntem

Serovaren infiziert und daher keine Antikörper im MAT nachweisbar waren. Möglicherweise waren die Antikörper in einer frühen Phase der Infektion noch nicht gebildet.

Die bisher höchste Antikörperprävalenz von 66,6 % (6/9) wurde bei Katzen in einer Reismühle in Südindien ermittelt. Die Studie beschreibt einen Ausbruch von Leptospirose, bei dem ein Arbeiter in der Reismühle an Leptospirose erkrankte. Daraufhin wurden die anderen Arbeiter, Rinder, Ratten, Hunde, und Katzen, die sich in der Umgebung aufhielten, untersucht. Bei allen Spezies wurden Antikörper gegen Leptospiren nachgewiesen (NATARAJASEENIVASAN et al., 2002).

Das Serovar Patoc wurde in der vorliegenden Studie am häufigsten bestimmt. Die Leitlinien der International Leptospirosis Society empfehlen, das saprophytäre Serovar Patoc in das Untersuchungspanel mit aufzunehmen, da es mit einer Reihe pathogener Serovare von Tieren und Menschen, die nicht im Untersuchungspanel enthalten sind oder noch unbekannt sind, kreuzreagiert. Das Vorhandensein von Antikörpern gegen das Serovar Patoc kann daher ein Hinweis auf ein noch nicht bekanntes oder im Untersuchungspanel nicht enthaltenes Serovar sein (WILSON et al., 2015; WORLD HEALTH ORGANISATION, 2017).

Da eine Kreuzreaktivität gegen Patoc bei sechs von 16 infizierten Katzen nachgewiesen wurde, ist es möglich, dass bei Katzen in Thailand noch weitere, bis jetzt nicht entdeckte Serovare vorkommen. Eine Kreuzreaktivität zum Serovar Patoc wurde in verschiedenen Studien bei Schweinen, Hunden und Menschen in Thailand gefunden (NIWETPATHOMWAT et al., 2005; NIWETPATHOMWAT et al., 2006; JITTAPALAPONG et al., 2009). In einer Studie, die die Antikörperprävalenz bei Schweinen in Thailand bestimmte, machte eine Kreuzreaktivität gegen das Serovar Patoc sogar 32,5 % aller reagierenden Serovare aus (NIWETPATHOMWAT et al., 2006).

Beide Katzen der vorliegenden Studie, bei denen Leptospiren-DNA im Urin nachgewiesen wurde, waren negativ im MAT. Am wahrscheinlichsten ist, dass die Blutentnahme in einem frühen Stadium der Infektion erfolgte und die Katzen noch keine Antikörper gebildet hatten. Interessant wäre eine erneute Blutentnahme zu einem späteren Zeitpunkt gewesen, um dies zu beweisen. Da die beiden Katzen nur einmalig zur Kastration vorgestellt worden waren, war eine zweite Blutentnahme nicht möglich. Dass die Katzen mit einem Serovar infiziert

waren, das nicht mit den im Untersuchungspanel enthaltenen Serovaren reagierte, erscheint eher unwahrscheinlich, da auf sehr viele Serovare (insgesamt 24) getestet wurde. Eine weitere Erklärung wäre, dass sich die Katzen bereits lange vorher, z. B. in der Regenzeit (Mai bis Oktober), infiziert hatten und die Antikörper zum Zeitpunkt der Probenentnahme (Dezember bis März) bereits abgesunken waren. Dies erscheint jedoch sehr unwahrscheinlich.

Keine der Katzen der vorliegenden Studie, bei denen Antikörper nachweisbar waren, schieden auch Leptospiren mit dem Urin aus. Dies ist durch die intermittierende Ausscheidung von Leptospiren mit dem Urin erklärbar (LEVETT, 2001). Die Ausscheidungsprävalenz könnte unterschätzt worden sein.

In der vorliegenden Studie wurden die höchsten Titer (1:160) gegen das Serovar Celledoni bestimmt. Das Serovar Celledoni wurde bei einem holländischen Touristen nachgewiesen, der sich in Thailand infiziert hatte und an Leptospirose erkrankt war (VAN CREVEL et al., 1994). Allerdings sollte die Serogruppenspezifität des MATs berücksichtigt werden. MAT-Ergebnisse können bestenfalls auf die Serogruppe, welche die Infektion verursacht, hinweisen, nicht aber auf das Serovar (LEVETT, 2001).

Das in der vorliegenden Studie am häufigsten (4/14) nachgewiesene pathogene Serovar war Djasiman. PARREIRA und Mitarbeiter (2010) fanden Djasiman als häufig vorkommendes (13,3 % aller Serovare) Serovar bei Katzen in Brasilien (PARREIRA et al., 2010). Darüberhinaus wurde das Serovar Djasiman bei an Leptospirose erkrankten Menschen im Nordosten Thailands nachgewiesen (KUSUM et al., 2005; NIWETPATHOMWAT et al., 2005; SMYTHE et al., 2009). Möglicherweise könnten Katzen als Überträger dieses Serovars fungieren.

In der vorliegenden Studie wurden Risikofaktoren für eine Leptospireninfektion bei Katzen in Thailand untersucht. Bis auf das Alter der Katzen konnten keine signifikanten Risikofaktoren für eine Leptospireninfektion bestimmt werden. Katzen im Alter von vier Jahren und älter waren in der multivariaten logistischen Regressionsanalyse signifikant ($p = 0,023$) häufiger mit Leptospiren infiziert als jüngere Katzen. Dies wurde bereits in vorausgegangenen Studien belegt. In einer Studie in Brasilien waren Katzen, die älter als vier Jahre alt waren, häufiger mit Leptospiren infiziert (LARSSON et al., 1984; MOSALLANEJAD et al., 2011; BRASIL DE LIMA et al., 2014). MOSALLANEJAD und Mitarbeiter (2011)

erklärten das steigende Risiko mit dem Alter durch ein zunehmendes Expositionsrisiko (MOSALLANEJAD et al., 2011). Es ist unbekannt, wie lange Katzen als Carrier fungieren. Zudem ist nicht klar, wie lange Antikörper nach einer überstandenen Infektion bei Katzen nachgewiesen werden können. Die Tatsache, dass ältere Katzen eher Antikörper hatten, lässt darauf schließen, dass Katzen entweder nach einer Infektion sehr lange Carrier bleiben oder, dass Antikörper auch nach einer überstandenen Infektion sehr lange nachweisbar sind (LARSSON et al., 1985). Dass ältere Katzen eher Antikörper haben, könnte auch auf eine lebenslange Infektion hinweisen (SHOPHET, 1979; SHOPHET und MARSHALL, 1980).

In vorhergehenden Studien waren männliche, unkastrierte Tiere häufiger mit Leptospiren infiziert (LARSSON et al., 1984; MYLONAKIS et al., 2005; MOSALLANEJAD et al., 2011; AZOCAR-AEDO et al., 2014; BRASIL DE LIMA et al., 2014; RODRIGUEZ et al., 2014). In der vorliegenden Studie konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und dem Reproduktionsstatus und einer Leptospireninfektion nachgewiesen werden.

Der Nordosten Thailands gilt als die Region mit der höchsten Prävalenz für Leptospirose bei Menschen (MINISTRY OF PUBLIC HEALTH, 2017a). In der vorliegenden Studie waren nur 4/16 Katzen, die im Nordosten Thailands beprobt wurden, infiziert. Die Mehrheit (12/16) der infizierten Katzen wurden in Zentral- und Nord-Thailand gefunden. Um die Zahl der Neuinfektionen bei Menschen im Norden zu senken, wurde die Nagerpopulation, die ein Reservoir für Leptospiren darstellt, in dieser Region gezielt reduziert (PHULSUKSOMBATI et al., 2001; PRADUTKANCHANA et al., 2002; WANGROONGSARB et al., 2002). In aktuellen Studien zu Leptospireninfektionen in Nordost-Thailand wurden niedrige Prävalenzen bei Nagetieren bestimmt (JITTIMANEE und WONGBUTDEE, 2014; WONGBUTDEE und JITTIMANEE, 2016). In der vorliegenden Studie war keine der sieben Proben, die bei Katzen in Amnacharoen entnommen wurden, positiv. Amnacharoen liegt etwa 80 Kilometer (km) nördlich von Ubon Ratchathani. In einer Studie bei Ratten in Ubon Ratchathani war keine der untersuchten Ratten mit Leptospiren infiziert (WONGBUTDEE und JITTIMANEE, 2016). Die geringe Prävalenz bei Nagetieren könnte die negativen Proben der Katzen erklären, da Nagetiere die Hauptinfektionsquelle für Katzen darstellen. Um einen genauen Zusammenhang zwischen bestimmten Regionen

Thailands und der Prävalenz bei Katzen herzustellen, wären weitere Studien notwendig.

Obwohl erwartet wurde, dass Katzen sich in ländlichen Gebieten eher mit Leptospiren infizieren können als in urbanen, bestätigte sich dies in der vorliegenden Studie nicht (AZOCAR-AEDO et al., 2014). Obwohl die meisten Katzen (207/260) in urbanen Regionen beprobt wurden, war der prozentuale Anteil der mit Leptospiren infizierten Katzen in urbanen und ländlichen Gebieten identisch (6,3 %). Es sollte berücksichtigt werden, dass sich die Lebensbedingungen in Thailand in städtischen und ländlichen Gebieten teilweise nicht wesentlich unterscheiden. So trifft man auch in urbanen Gebieten auf offene Wasserstellen, in denen Leptospiren lange Zeit überleben können (LEVETT, 2001). Straßenkatzen, Straßenhunde und Nagetiere bekommt man sowohl auf dem Land, als auch in der Stadt zu Gesicht. In der Metropole Bangkok wurden z. B. in einer Erhebung 90.000 Straßenkatzen und 140.000 Straßenhunde gezählt (DEPARTMENT OF LIVESTOCK DEVELOPMENT, 2016). Es ist auch bekannt, dass Menschen, die Bangkok zuvor nicht verlassen hatten, an Leptospirose erkrankten (ARIYAPRUCHYA et al., 2003).

In der vorliegenden Studie hatten 15/16 Katzen, die mit Leptospiren infiziert waren, vorberichtlich Kontakt zu Nagetieren. Es konnte allerdings kein signifikanter Zusammenhang zwischen Kontakt zu Nagetieren und einer Leptospireninfektion festgestellt werden. Dies liegt möglicherweise an der geringen Anzahl der infizierten Katzen. Obwohl alle 16 infizierten Katzen der vorliegenden Studie in Kontakt mit anderen Katzen gekommen waren und 14/16 Kontakt zu anderen Hunden hatten, war das Risiko einer Leptospireninfektion dadurch nicht signifikant erhöht. Die Übertragung zwischen Katzen und anderen Tieren durch Kontakt zu kontaminiertem Urin sowie ein höheres Risiko für Katzen, sich mit Leptospiren zu infizieren, wenn sie Kontakt zu anderen Katzen oder Tieren haben, wurde in anderen Studien jedoch beschrieben (AZOCAR-AEDO et al., 2014; RODRIGUEZ et al., 2014).

Während einerseits bei Kontakt mit Katzenurin die Gefahr einer Infektion mit Leptospiren bestehen könnte, gibt es andererseits Studien, die eine protektive Rolle von Katzen beschrieben (CHILDS et al., 1992; TANGKANAKUL et al., 2001). Katzen fressen Nagetiere und reduzieren auf diese Weise den Kontakt von Menschen zu Nagerurin (CHILDS et al., 1992). In einer Studie in Thailand

wurden zwei verschiedene Personengruppen untersucht. Bei der ersten Personengruppe waren Antikörper gegen Leptospiren nachweisbar, bei der zweiten Personengruppe waren keine Antikörper gegen Leptospiren nachweisbar. Die Menschen der zweiten Personengruppe ohne Antikörper gegen Leptospiren besaßen doppelt so häufig (25/129; 19,2 %) Katzen wie die Personengruppe mit Antikörpern (5/49; 10,2 %). In einer Studie in Baltimore, USA, hatten Menschen, die mit Katzen zusammenlebten, signifikant seltener Antikörper gegen Leptospiren als Menschen, die ohne Katze lebten (CHILDS et al., 1992). In einer Studie in Deutschland hatten Forstarbeiter, die eine Freigänger-Katze besaßen, kein höheres Risiko, Antikörper gegen Leptospiren zu haben, als Forstarbeiter, die keine Katzen besaßen (JURKE et al., 2015).

Limitationen der vorliegenden Studie waren zum einen, dass die Proben nur in einem kurzen Zeitraum von Dezember bis März entnommen wurden. Dieser Zeitraum fällt in die thailändische Trockenzeit. Dadurch könnte eine falsch niedrige Prävalenz bestimmt worden sein. Es ist wahrscheinlich, dass das Risiko für eine Leptospireninfektion während der Regenzeit und vor allem nach Überschwemmungen höher ist. In zukünftigen Studien sollten Proben über ein gesamtes Jahr gesammelt werden, sodass verschiedene klimatische Bedingungen erfasst werden. Ebenfalls interessant wäre es gewesen, mehr Streunerkatzen zu untersuchen, da diese stärker darauf angewiesen sind, sich Nager als Futter zu fangen. Da Nagetiere ein Reservoir für Leptospiren darstellen, sind Katzen, die viele Nagetiere fressen, einem höheren Risiko ausgesetzt (AZOCAR-AEDO et al., 2014). Um das Infektionsstadium der Katzen besser eingrenzen zu können, wäre auch eine PCR aus dem Serum interessant gewesen. Da für den MAT jedoch bereits eine große Menge Blut benötigt wurde, war dies nicht möglich. Um falsch negative Urinproben aufgrund von intermittierendem Ausscheiden auszuschließen, wäre eine zweite Urinprobe wünschenswert gewesen. Da allerdings die meisten Katzen (241/255) einmalig zur Kastration vorgestellt wurden, war dies nicht möglich.

Zusammenfassend betrachtet können Katzen DNA und möglicherweise lebende, pathogene Leptospiren mit dem Urin ausscheiden. Damit sind sie eine potentielle Gefahr für andere Tiere und Menschen. Die Thailänder selbst sowie die über 30 Millionen Touristen, die jährlich nach Thailand reisen, könnten sich bei Katzen in Thailand mit Leptospiren infizieren (MINISTRY OF TOURISM AND SPORT,

2018). Verglichen mit der Studie in Taiwan (CHAN et al., 2014) war die Prävalenz bei Katzen in Thailand allerdings gering. Um die Rolle der Katze als Transmitter pathogener Leptospiren besser einschätzen zu können, sind weitere Studien nötig.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Leptospirose ist in Thailand endemisch und tritt in den letzten Jahren bei Menschen und Tieren mit zunehmender Häufigkeit auf. Katzen können pathogene Leptospiren mit dem Urin ausscheiden. In einer Studie in Taiwan war die Ausscheidungsprävalenz sogar 67,8 %. Bisher gibt es keine Studien über Infektionen mit Leptospiren bei Katzen in Thailand. Ziel der Studie war es daher, die Prävalenz der Ausscheidung pathogener Leptospiren im Urin und die Antikörperprävalenz bei Katzen zu bestimmen und Risikofaktoren zu analysieren. Von Dezember 2016 bis März 2017 wurden 260 Freigängerkatzen an 13 verschiedenen Orten (sieben verschiedene Lokalisationen in Bangkok und sechs außerhalb von Bangkok) in Nord-, Nordost-, und Zentral-Thailand prospektiv untersucht. Die Katzen wurden entweder zur Kastration oder zur Gesundheitsvorsorge vorgestellt. Ihr Urin wurde mittels einer für das *lipL32*-Gen spezifischen real-time PCR auf pathogene Leptospiren untersucht und in EMJH-Medium für sechs Monate kultiviert. Das Vorhandensein von Antikörpern gegen 24 Serovare (Anhoa, Australis, Autumnalis, Ballum, Bataviae, Bratislava, Broomi, Canicola, Celledoni, Copenhageni, Coxi, Cynopteri, Djasiman, Grippotyphosa, Haemolytica, Icterohaemorrhagiae, Khorat, Paidjan, Patoc, Pomona, Pyrogenes, Rachmati, Saxkoebing, Sejroe), die 16 Serogruppen angehörten, wurden mittels MAT bestimmt. Risikofaktoren für eine Leptospireninfektion wurden mittels Fischer's Exakt Test ermittelt. Urinproben von 2/260 Katzen (0,8 %; 95 %-Konfidenzintervall: 0–1,8 %) waren PCR-positiv, allerdings keine der 260 Urinkulturen. Leptospiren-Antikörper wurden bei 14/260 Katzen (5,4 %; 95 %-Konfidenzintervall: 2,6–8,1 %) mit Titern von 1:20–1:160 (Serovare: Anhoa, Autumnalis, Celledoni, Copenhageni, Djasiman, Icterohaemorrhagiae, Patoc) gefunden; davon trat bei 4/14 Katzen nur eine Kreuzreaktivität gegen das saprophytäre Serovar Patoc auf. Katzen, die vier Jahre alt oder älter waren, hatten in der multivariaten Regressionsanalyse signifikant häufiger eine Leptospireninfektion als jüngere Katzen. Katzen in Thailand können DNA pathogener Leptospiren mit dem Urin ausscheiden, wobei die Prävalenz niedriger ist, als erwartet. Weitere Studien sind notwendig zur Beurteilung der Rolle von Katzen als Infektionsquelle für Mensch und Tier.

VI. SUMMARY

In Thailand, leptospirosis is considered an emerging disease in people and animals. Many animal species can shed *Leptospira*, including the domestic cat (*felis catus*), which thus might pose a certain risk to humans. There are no studies on *Leptospira* infections in cats in Thailand, although it was recently demonstrated that cats can shed pathogenic *Leptospira* in their urine with a prevalence of up to 67.8%, e.g. in Taiwan. Aim of this study was to evaluate if outdoor cats in Thailand shed pathogenic *Leptospira* in their urine, to determine antibody prevalence and to evaluate risk factors associated with leptospiral infection in the feline population. From December 2016 to March 2017 260 outdoor cats were prospectively recruited. Cats came from 13 different locations (7 locations in Bangkok and 6 locations outside of Bangkok) in North, Northeast and Central Thailand and were presented for either neutering and/or preventive health care. Urine samples were tested by real-time PCR targeting the *lipL32* gene of pathogenic *Leptospira*. Urine was additionally cultured for 6 months in EMJH medium to grow *Leptospira*. Antibody titers against 24 serovars (Anhoa, Australis, Autumnalis, Ballum, Bataviae, Bratislava, Broomi, Canicola, Celledoni, Copenhageni, Coxi, Cynopteri, Djasiman, Grippotyphosa, Haemolytica, Icterohaemorrhagiae, Khorat, Paidjan, Patoc, Pomona, Pyrogenes, Rachmati, Saxkoebing, Sejroe) belonging to 16 serogroups were determined by MAT. Risk factors were analysed using Fisher's exact test. Urine samples of 2/260 cats (0.8%; 95% confidence interval: 0–1.8%) were PCR-positive, but none of all 260 urine samples were positive in culture. *Leptospira* antibodies were detected in 14/260 cats (5.4%; 95% confidence interval: 2.6–8.1%) with titers ranging from 1:20 to 1:160 (serovars: Anhoa, Autumnalis, Celledoni, Copenhageni, Djasiman, Icterohaemorrhagiae, Patoc). Cats aged 4 years or older were significantly more often infected with *Leptospira* than cats at younger age. No other risk factor was found to be significantly associated with *Leptospira* infection. In conclusion, outdoor cats in Thailand can shed DNA from pathogenic *Leptospira* in their urine, although with much lower prevalence than expected when compared to Taiwan. Thus, cats can be a potential source of infection for their owners and veterinarians. Further studies are needed to determine the role of cats in transmitting this zoonotic disease in Thailand.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

Adler B, de la Pena Moctezuma A. *Leptospira* and leptospirosis. Vet Microbiol 2010; 140: 287-96.

Adthamsoontorn L, Boonyaplika P, Sundharagiati B. Leptospirosis in Pitsanuloke Province. Vejasarn Med J 1960; 9: 223-32.

Ahmed A, Engelberts MF, Boer KR, Ahmed N, Hartskeerl RA. Development and validation of a real-time PCR for detection of pathogenic *Leptospira* species in clinical materials. PLoS One 2009; 4: e7093.

Akuzawa M, Maruyama T, Endo Y, Oishi A, Nakamura K. Survey of *Leptospira* antibodies in domestic cats in the Southern Kyushu District [in Japanese]. J Jpn Vet Med Assoc 2006; 59: 45-8.

Altheimer K, Jongwattanapisan P, Luengyosluechakul S, Pusoonthorntum R, Prapasarakul N, Kurilung A, Goris MG, Hartmann K. *Leptospira* species infection in dogs in Thailand. 10th International Leptospirosis Society Meeting, 27.11.-1.12.2017. Palmerstone North, New Zealand, 2017: 9-10.

Ariyapruchya B, Sungkanuparph S, Dumrongkitchaiporn S. Clinical presentation and medical complication in 59 cases of laboratory-confirmed leptospirosis in Bangkok. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2003; 34: 159-64.

Azocar-Aedo L, Monti G, Jara R. *Leptospira* spp. in domestic cats from different environments: prevalence of antibodies and risk factors associated with the seropositivity. Animals 2014; 4: 612-26.

Bal AE, Gravekamp C, Hartskeerl RA, De Meza-Brewster J, Korver H, Terpstra WJ. Detection of leptospire in urine by PCR for early diagnosis of leptospirosis. J Clin Microbiol 1994; 32: 1894-8.

Betance L, Peda A, Conan A, Ribeiro J. Seroprevalence of leptospirosis in the

feral cat population of St. Kitts. *J Animal Res Tech* 2017; 38-42.

Bolin CA. Diagnosis of leptospirosis: A reemerging disease of companion animals. *Semin Vet Med Surg (Small Anim)* 1996; 11: 166-71.

Boonsong P, Hongnark S, Suasa-Ard K, Khoprasert Y, Promkerd P, Hamarit G, Nookarn P, Jäkel T. Rodent management in Thailand. Ecologically-based management of rodent pests. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra 1999: 338-57.

Brasil de Lima AW, Parantoni RN, Feitosa TF, Vilela VLR, Alves CJ, Vasconcellos SA, de Azevedo SS. Anti-*Leptospira* spp. antibodies in cats from the semiarid of the Paraíba State [in Portuguese]. *Semina: Ciências Agrárias* 2014; 35: 3215-20.

Bunnag D, Jaroonvesama N, Harinasuta T. A clinical study of leptospirosis: a comparison of jaundiced and non-jaundiced cases. *J Med Assoc Thai* 1965; 48: 231-45.

Bunnag T, Potha U, Thirachandra S, Impand P. Leptospirosis in man and rodents in North and Northeast Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1983; 14: 481-7.

Butsorn A. Factors affecting delay in receiving medical treatment among patients with leptospirosis in Sisaket Province. *J Med Assoc Thai* 2016; 99: 47-55.

Calvo-Cano A, Aldasoro E, Ramirez M, Martinez M, Requena-Mendez A, Gascon J. Two cases of laboratory-confirmed leptospirosis in travellers returning to Spain from Thailand, September 2013. *Euro Surveill* 2014; 19.

Chadsuthi S, Modchang C, Lenbury Y, Iamsirithaworn S, Triampo W. Modeling seasonal leptospirosis transmission and its association with rainfall and temperature in Thailand using time-series and ARIMAX analyses. *Asian Pac J*

Trop Med 2012; 5: 539-46.

Chadsuthi S, Bicout DJ, Wiratsudakul A, Suwancharoen D, Petkanchanapong W, Modchang C, Triampo W, Ratanakorn P, Chalvet-Monfray K. Investigation on predominant *Leptospira* serovars and its distribution in humans and livestock in Thailand, 2010-2015. PLoS Negl Trop Dis 2017; 11: e0005228.

Chan KW, Hsu YH, Hu WL, Pan MJ, Lai JM, Huang KC, Chou SJ. Serological and PCR detection of feline *Leptospira* in Southern Taiwan. Vector Borne Zoonotic Dis 2014; 14: 118-23.

Charoonruangrit S, Boonpacknavig S. Leptospirosis at Chulalongkorn Hospital: A report of 54 cases. J Med Assoc Thai 1964; 47: 653.

Childs JE, Schwartz BS, Ksiazek TG, Graham RR, LeDuc JW, Glass GE. Risk factors associated with antibodies to leptospires in inner-city residents of Baltimore: A protective role for cats. Am J Public Health 1992; 82: 597-9.

Chirathaworn C, Inwattana R, Poovorawan Y, Suwancharoen D. Interpretation of microscopic agglutination test for leptospirosis diagnosis and seroprevalence. Asian Pac J Trop Biomed 2014; 4: S162-4.

Chittsamarat B, Ungkasriththonkul M, Boonamma S, Liengaksorn A, Sudjai U (2007). Sentinel surveillance on *Leptospira interrogans* serogroups in Saraburi Province 2002-2006. 5th International Leptospirosis Society Meeting, 17.9.-20.9.2007. Quito, Ecuador, 2007: 16.

Choomkasien P, Petkanchanapong V. Review of geographical epidemiology of leptospirosis in Thailand. 5th International Leptospirosis Society Meeting, 17.9.-20.9.2007. Quito, Ecuador, 2007: 17-20.

Christen JR, Savini H, Pierrou C, Boisnault G, Fournier PE, Kraemer P, Simon F. Two cases of leptospirosis in french travelers returning from Koh Samui,

Thailand. *J Travel Med* 2015; 22: 419-21.

Chusri S, Sritrairatchai S, Hortiwahul T, Charoenmak B, Silpapojakul K. Leptospirosis among river water rafters in Satoon, Southern Thailand. *J Med Assoc Thai* 2012; 95: 874-7.

Chuxnum T, Sutdan D, Chalamaat M. Leptospirosis following the flooding in Thailand 2006. 5th International Leptospirosis Society Meeting, 17.9.-20.9.2007. Quito, Ecuador, 2007: 21.

Della Rossa P, Tantrakarnapa K, Sutdan D, Kasetsinsombat K, Cosson JF, Supputamongkol Y, Chaisiri K, Tran A, Supputamongkol S, Binot A, Lajaunie C, Morand S. Environmental factors and public health policy associated with human and rodent infection by leptospirosis: a land cover-based study in Nan Province, Thailand. *Epidemiol Infect* 2016; 144: 1550-62.

Department of Disease Control, Ministry of Public Health, Thailand. Communicable Diseases Act. <http://www.interfetpthailand.net/file/June2007/Presentation/Dr.Somsak/COMUNIC-%20DISEASE%20SURVEILLANCE.pdf>. 12.03.2019.

Department of Livestock Development BoDCaVS, Thailand. Survey of dog and cat. Rabies campaign 2016 [in Thai]. <http://dcontrol.dld.go.th/dcontrol/index.php/rabies/747-dogpop2016>. 18.09.2017.

Department of Livestock Development IaCTC, Thailand. Livestock Statistic 2017 [in Thai]. <http://ict.dld.go.th/th2/index.php/en/report-menu-en/529-report-thailand-livestock/reportservey2560/1241-2560-1-country>. 27.12.2017.

Desvars A, Naze F, Benneveau A, Cardinale E, Michault A. Endemicity of leptospirosis in domestic and wild animal species from Reunion Island (Indian Ocean). *Epidemiol Infect* 2013; 141: 1154-65.

Dorsch R, Salgado M, Monti G, Avilez C, Collado B, Tomckoviack C, Tejada C, Müller-Pereira A, Ojeda J, Eberhard T, Hartmann K. Urine shedding of *Leptospira* species in cats in Southern Chile. 10th International Leptospirosis Society Meeting, 27.11.-1.12.2017. Palmerstone North, New Zealand, 2017: 227-8.

Doungchawee G, Phulsuksombat D, Naigowit P, Khoaprasert Y, Sangjun N, Kongtim S, Smythe L. Survey of leptospirosis of small mammals in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2005; 36: 1516-22.

Dybing NA, Jacobson C, Irwin P, Algar D, Adams PJ. *Leptospira* species in feral cats and black rats from Western Australia and Christmas Island. Vector Borne Zoonotic Dis 2017; 17: 319-24.

Faine S. Leptospirosis - here, now. Pathology 1981; 13: 1-5.

Faine S. Guidelines for the control of leptospirosis. WHO Offset Publ 1982; 67: 1-171.

Fenimore A, Carter K, Lunn K. Detection of leptospirosis in shelter cats in Colorado [abstract]. J Vet Intern Med 2012; 26: 783.

Fessler JF, Morter RL. Experimental feline Leptospirosis. Cornell Vet 1964; 54: 176-90.

Fink JM, Moore GE, Landau R, Vemulapalli R. Evaluation of three 5' exonuclease-based real-time polymerase chain reaction assays for detection of pathogenic *Leptospira* species in canine urine. J Vet Diagn Invest 2015; 27: 159-66.

Fungladda W, Wongwit W, Okanurak K, Kaewkungwal J, Kitayaporn D, Suwancharoen D, Sawanpanyalert P, Petkanchanapong W, Imvitaya A, Bunyawongwiroj J, Yuthayong P, Tangkanakul W. Seroepidemiological investigations of human and animal leptospirosis in a rural community, Nakhon

Ratchasima, Northeastern Thailand. 4th International Leptospirosis Society Meeting, 14.11.-16.11.2005. Chiang Mai, Thailand, 2005: 1-2 .

Gallardo C, Williams-Smith J, Jatou K, Asner S, Cheseaux JJ, Troillet N, Manuel O, Berthod D. Leptospirosis in a family after whitewater rafting in Thailand. Rev Med Suisse 2015; 11: 872-6.

Guron G, Holmdahl J, Dotevall L. Acute renal failure after a holiday in the tropics. Clin Nephrol 2006; 66: 468-71.

Harkin KR, Roshto YM, Sullivan JT. Clinical application of a polymerase chain reaction assay for diagnosis of leptospirosis in dogs. J Am Vet Med Assoc 2003; 222: 1224-9.

Hartmann K, Egberink H, Pennisi MG, Lloret A, Addie D, Belak S, Boucraut-Baralon C, Frymus T, Gruffydd-Jones T, Hosie MJ, Lutz H, Marsilio F, Mostl K, Radford AD, Thiry E, Truyen U, Horzinek MC. *Leptospira* species infection in cats: ABCD guidelines on prevention and management. J Feline Med Surg 2013; 15: 576-81.

Heisey GB, Nimmanitya S, Karnchanachetane C, Tingpalapong M, Samransamruajkit S, Hansukjariya P, Elwell MR, Ward GS. Epidemiology and characterization of leptospirosis at an urban and provincial site in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1988; 19: 317-22.

Hinjoy S. The survey of serological conditions and maintenance host of leptospirosis in cattle around the outbreak area of human leptospirosis at Kumuang District, Buriram Province. 3rd International Leptospirosis Society Meeting, 28.10.-30.10.2002. Barbados, 2002: 74.

Hinjoy S. Epidemiology of leptospirosis from Thai National Disease Surveillance System, 2003-2012. Outbreak Surveill Investig Rep 2016; 7: 1-5.

Hoffmeister B, Peyerl-Hoffmann G, Pischke S, Zollner-Schwetz I, Krause R, Muller MC, Graf A, Kluge S, Burchard GD, Kern WV, Suttorp N, Cramer JP. Differences in clinical manifestations of imported versus autochthonous leptospirosis in Austria and Germany. *Am J Trop Med Hyg* 2010; 83: 326-35.

Holiday Weather. St. Kitts, Federation of St Kitts & Nevis: Annual Weather Averages. https://www.holiday-weather.com/st_kitts/averages/. 2.2.2019.

Jansen A, Schoneberg I, Frank C, Alpers K, Schneider T, Stark K. Leptospirosis in Germany, 1962-2003. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1048-54.

Jittapalapong S, Sittisan P, Sakpuaram T, Kabeya H, Maruyama S, Inpankaew T. Coinfection of *Leptospira* spp and *Toxoplasma gondii* among stray dogs in Bangkok, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2009; 40: 247-52.

Jittimane J, Wongbutdee J. Survey of pathogenic *Leptospira* in rats by polymerase chain reaction in Sisaket Province. *J Med Assoc Thai* 2014; 97 Suppl 4: S20-4.

Jurke A, Bannert N, Brehm K, Fingerle V, Kempf V, Kömpf D, Lunemann M, Mayer-Scholl A, Niedrig M, Nöckler K. Serological survey of *Bartonella* spp., *Borrelia burgdorferi*, *Brucella* spp., *Coxiella burnetii*, *Francisella tularensis*, *Leptospira* spp., *Echinococcus*, Hanta-, TBE- and XMR-virus infection in employees of two forestry enterprises in North Rhine–Westphalia, Germany, 2011–2013. *Int J Med Microbiol* 2015; 305: 652-62.

Kager PA, van Gorp EC, van Thiel PP. Fever and chills due to leptospirosis after travel to Thailand. *Ned Tijdschr Geneesk* 2001; 145: 184-6.

Kositanont U, Naigowit P, Invithaya A, Singchai C, Puthavathana P. Prevalence of antibodies to *Leptospira* serovars in rodents and shrews trapped in low and high endemic areas in Thailand. *J Med Assoc Thai* 2003; 86: 136-42.

Kurilung A, Chanchaithong P, Lugsomya K, Niyomtham W, Wuthiekanun V, Prapasarakul N. Molecular detection and isolation of pathogenic *Leptospira* from asymptomatic humans, domestic animals and water sources in Nan Province, a rural area of Thailand. Res Vet Sci 2017; 115: 146-54.

Kusum M, Boonsarthorn N, Biaklang M, Sina U, Sawanpanyalert P, Naigowit P. Comparison of leptospiral serovars identification by serology and cultivation in Northeastern Region, Thailand. J Med Assoc Thai 2005; 88: 1098-102.

Larsson CE, Santa Rosa CA, Hagiwara MK, Paim GV, Guerra JL. Prevalence of feline leptospirosis: serologic survey and attempts of isolation and demonstration of the agent. Int J Zoonoses 1984; 11: 161-9.

Larsson CE, Santa Rosa CA, Larsson MH, Birgel EH, Fernandes WR, Paim GV. Laboratory and clinical features of experimental feline leptospirosis. Int J Zoonoses 1985; 12: 111-9.

Lau CL, Smythe LD, Craig SB, Weinstein P. Climate change, flooding, urbanisation and leptospirosis: fuelling the fire? Trans R Soc Trop Med Hyg 2010; 104: 631-8.

Leonard F, Quinn P, Ellis W, O'farrell K. Duration of urinary excretion of leptospires by cattle naturally or experimentally infected with *Leptospira interrogans* serovar hardjo. Vet Rec 1992; 131: 435-9.

Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 296-326.

Llewellyn JR, Krupka-Dyachenko I, Rettinger AL, Dyachenko V, Stamm I, Kopp PA, Straubinger RK, Hartmann K. Urinary shedding of leptospires and presence of *Leptospira* antibodies in healthy dogs from Upper Bavaria. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 2016; 129: 251-7.

Meeyam T, Tablerk P, Petchanok B, Pichpol D, Padungtod P. Seroprevalence and

risk factors associated with leptospirosis in dogs. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2006; 37: 148-53.

Ministry of Public Health. Annual Epidemiological Surveillance Report 2016. Ministry of Public Health, Bangkok, Thailand; 2016: 6-10.

Ministry of Public Health. Annual Surveillance Reports. http://www.boe.moph.go.th/Annual/Total_Annual.html. 30.12.2017.

Ministry of Public Health BoCD, Thailand. Leptospirosis in Thailand, Situation Update, No. 5 (2017). http://thaigcd.ddc.moph.go.th/en/disease_alerts/view/30. 31.08.2017.

Ministry of Tourism and Sport, Thailand. Inbound Tourism 2016. http://www.mots.go.th/mots_en57/more_news.php?cid=337&filename=index. 9.01.2018.

Morgan J, Bornstein SL, Karpati AM, Bruce M, Bolin CA, Austin CC, Woods CW, Lingappa J, Langkop C, Davis B, Graham DR, Proctor M, Ashford DA, Bajani M, Bragg SL, Shutt K, Perkins BA, Tappero JW. Outbreak of leptospirosis among triathlon participants and community residents in Springfield, Illinois, 1998. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 1593-9.

Mosallanejad B, Ghorbanpoor Najafabadi M, Avizeh R, Abdollahpoor G, Abadi K. A serological survey of leptospiral infection of cats in Ahvaz, south-western of Iran. *Int J Vet Res* 2011; 5: 49-52.

Myint KS, Gibbons RV, Murray CK, Rungsimanphaiboon K, Supornpun W, Sithiprasasna R, Gray MR, Pimgate C, Mammen MP, Jr., Hospenthal DR. Leptospirosis in Kamphaeng Phet, Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76: 135-8.

Mylonakis ME, Bourtzi-Hatzopoulou E, Koutinas AF, Petridou E,

Saridomichelakis MN, Leontides L, Siochu A. Leptospiral seroepidemiology in a feline hospital population in Greece. *Vet Rec* 2005; 156: 615-6.

Natarajaseenivasan K, Boopalan M, Selvanayaki K, Suresh SR, Ratnam S. Leptospirosis among rice mill workers of Salem, South India. *Jpn J Infect Dis* 2002; 55: 170-3.

National Statistic Office, Thailand. Report on Agricultural Census. <http://popcensus.nso.go.th/web/kaset/report.html>. 10.01.2017.

Niwetpathomwat A, Niwatayakul K, DOUNGCHAWEE G. Surveillance of leptospirosis after flooding at Loei Province, Thailand by year 2002. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005; 36 Suppl 4: 202-5.

Niwetpathomwat A, Luengyosluechakul S, Geawduanglek S. A serological investigation of leptospirosis in sows from Central Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2006; 37: 716-9.

Niwetpathomwat A, Assarasakorn S. Preliminary investigation of canine leptospirosis in a rural area of Thailand. *Medycyna Wet.* 2007; 63: 59-61.

Oni O, Sujit K, Kasemsuwan S, Sakpuaram T, Pfeiffer DU. Seroprevalence of leptospirosis in domesticated Asian elephants (*Elephas maximus*) in North and West Thailand in 2004. *Vet Rec* 2007; 160: 368-71.

Panaphut T, Domrongkitchaiporn S, Thinkamrop B. Prognostic factors of death in leptospirosis: a prospective cohort study in Khon Kaen, Thailand. *Int J Infect Dis* 2002; 6: 52-9.

Pappas G, Papadimitriou P, Siozopoulou V, Christou L, Akritidis N. The globalization of leptospirosis: worldwide incidence trends. *Int J Infect Dis* 2008; 12: 351-7.

Parreira I, Jayme V, Walburga E, Guimarães L, De Abreu D. Epidemiological features of infection through *Leptospira* spp. in domestic cats (*Felis catus*) apparently healthy within the metropolitan area of Goiania, Brazil. Brazil Enciclopédia Biosf 2010; 6: 1-5.

Paz A, Krimerman S, Potasman I. Leptospirosis masquerading as infectious enteritis. Travel Med Infect Dis 2004; 2: 89-91.

Phraisuwan P, Whitney EA, Tharmaphornpilas P, Guharat S, Thongkamsamut S, Aresagig S, Liangphongphanthu J, Junthima K, Sokampang A, Ashford DA. Leptospirosis: skin wounds and control strategies, Thailand, 1999. Emerg Infect Dis 2002; 8: 1455-9.

Phulsuksombati D, Sangjun N, Khoprasert Y, Kingnate D, Tangkanakul W. Leptospire in rodent, Northeastern Region 1999-2000. Health Sci 2001: 516-25.

Picardeau M, Bertherat E, Jancloes M, Skouloudis AN, Durski K, Hartskeerl RA. Rapid tests for diagnosis of leptospirosis: current tools and emerging technologies. Diagn Microbiol Infect Dis 2014; 78: 1-8.

Piyaphanee W, Olanwjitwong J, Kusolsuk T, Silachamroon U. Awareness, practices, and health problems of backpackers traveling during flooding in Thailand during 2011. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2012; 43: 1193-200.

Pradutkanchana J, Pradutkanchana S, Kemapanmanus M, Wuthipum N, Silpapojakul K. The etiology of acute pyrexia of unknown origin in children after a flood. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2003; 34: 175-8.

Pradutkanchana S, Pradutkanchana J, Kanjanapin W, Siripaitoon P. An outbreak of leptospirosis after severe flood in Hat Yai in 2000. J Infect Dis Antimicrob Agents 2002; 19: 9-13.

Pumipuntu N, Promsatit S. Survey and surveillance of infection rates in animals reservoir of leptospirosis in flooded areas of Muang District, Maha Sarakham Province [in Thai]. Thesis. Maha Sarakam: Faculty of Veterinary Science, Mahasarakham University, 2013.

Pumipuntu N. Detection of anti-*Leptospira* antibodies and study on hematological values of long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) at Kosumpee Forest Park, Maha Sarakham [in Thai]. J Wildlife Thai 2015; 22: 37-45.

Resch C, Resch S. Hausratte - *Rattus rattus*. <https://kleinsaeuger.at/rattus-rattus.html>. 9.3.2019.

Ricaldi JN, Vinetz JM. Leptospirosis in the tropics and in travelers. Curr Infect Dis Rep 2006; 8: 51-8.

Rodriguez J, Blais MC, Lapointe C, Arsenault J, Carioto L, Harel J. Serologic and urinary PCR survey of leptospirosis in healthy cats and in cats with kidney disease. J Vet Intern Med 2014; 28: 284-93.

Rojanasthien S, Tiwanunthakorn W, Suwanjalern D, Arpairoj C. Seroprevalence and infection rate of leptospirosis in dairy cattle in Chiang Mai - Lumphun Provinces [in Thai]. Thesis. Chiang Mai: Faculty of Veterinary Medicine, Chiang Mai University, 2012.

Rojas P, Monahan AM, Schuller S, Miller IS, Markey BK, Nally JE. Detection and quantification of leptospire in urine of dogs: a maintenance host for the zoonotic disease leptospirosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2010; 29: 1305-9.

Saito M, Nikaido Y, Matsumoto M, Ogawa M, Villanueva S. The current status of diagnostic tools for leptospirosis. Rinsho Biseibutshu Jinsoku Shindan Kenkyukai Shi 2017; 27: 65-72.

Seilmaier M, Guggemos W. Severe febrile illness with renal impairment after

travel to Southeast Asia [in German]. *Internist (Berl)* 2008; 49: 1372, 4-6, 8.

Sejvar J, Bancroft E, Winthrop K, Bettinger J, Bajani M, Bragg S, Shutt K, Kaiser R, Marano N, Popovic T, Tappero J, Ashford D, Mascola L, Vugia D, Perkins B, Rosenstein N. Leptospirosis in "Eco-Challenge" athletes, Malaysian Borneo, 2000. *Emerg Infect Dis* 2003; 9: 702-7.

Shophet R. A serological survey of leptospirosis in cats. *N Z Vet J* 1979; 27: 236, 45-6.

Shophet R, Marshall RB. An experimentally induced predator chain transmission of *Leptospira ballum* from mice to cats. *Br Vet J* 1980; 136: 265-70.

Sithisarn P, Sacholsawatwong W, Phruksakorn S, Sujiputto S, Sakpuaram T, Jittapalpong S. Seroprevalence of canine leptospirosis, Dusit District, Bangkok, Thailand, 2003-2004. 4th International Leptospirosis Society Meeting, 16.11.-18.11.2005. Chaing Mai, Thailand, 2005: 327.

Smith AT, Xie Y. A guide to the mammals of China. Princeton University Press, Princeton; 2008: 257.

Smythe LD, Wuthiekanun V, Chierakul W, Suputtamongkol Y, Tiengrim S, Dohnt MF, Symonds ML, Slack AT, Apiwattanaporn A, Chueasuwanchai S, Day NP, Peacock SJ. The microscopic agglutination test (MAT) is an unreliable predictor of infecting *Leptospira* serovar in Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 2009; 81: 695-7.

Steffens F, Landwehrs A, Goke MN. Leptospirosis after a stay in Thailand. *Dtsch Med Wochenschr* 2006; 131: 1521-4.

Stoddard RA, Gee JE, Wilkins PP, McCaustland K, Hoffmaster AR. Detection of pathogenic *Leptospira* spp. through TaqMan polymerase chain reaction targeting the *LipL32* gene. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 64: 247-55.

Stoddard RA, Bui D, Haberling DL, Wuthiekanun V, Thaipadungpanit J, Hoffmaster AR. Viability of *Leptospira* isolates from a human outbreak in Thailand in various water types, pH, and temperature conditions. *Am J Trop Med Hyg* 2014; 91: 1020-2.

Su HP, Chan TC, Chang CC. Typhoon-related leptospirosis and melioidosis, Taiwan, 2009. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 1322-4.

Sudjanhan W. Factors related to leptospirosis in Khon Kaen Province. 4th International Leptospirosis Society Meeting, 14.11.-16.11.2005. Chiang Mai, Thailand, 2005: 125-126.

Sundharagiati B, Buspavanich S. A study on leptospirosis. *J Med Assoc Thai* 1951; 34: 39-57.

Sundharagiati B, Boonpaknavig S, Panasampol K, Harinasuta C. Leptospirosis in rats of Pitsanuloke and Chiangmai Provinces. *J Med Assoc Thai* 1964; 47: 680-4.

Sundharagiati B, Harinasuta C. Studies on leptospirosis in Thailand (a review). *J Med Assoc Thai* 1964; 47: 662-79.

Sundharagiati B, Harinasuta C, Pholpothi T. Leptospirosis in rats. *J Med Assoc Thai* 1965; 48: 759-69.

Sundharagiati B, Boonpaknavig S, Harinasuta C, Pholpothi T. Seasonal incidence of canine leptospirosis in Bangkok. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1966a; 60: 366-8.

Sundharagiati B, Harinasuta C, Photha U. Human leptospirosis in Thailand. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1966b; 60: 361-5.

Sundharagiati B. Studies on leptospirosis in Thailand, with special reference to the epidemiology, pathology, and clinical aspects, and its relation to the animal

reservoir hosts. The Bangkok School of Tropical Medicine, Faculty of Tropical Medicine, University of Medical Science, Bangkok, Thailand, Bangkok. 1969 Report No. J-210-8, Giant No. DA-CRD-AFE-S92-544-68-G107.

Sundharagiati B, Potha U, Pholpothi T, Naebnien K, Intarakao C. Leptospirosis in rats of thirty one provinces: A study of 3,658 rats (eleven species). J Dept Med Serv 1969: 485-95.

Suwancharoen D, Indrakamhang P, Neramitmansook P, Tangkanakul W. Serological survey of leptospiral antibodies in livestock in 5 Northeastern Provinces. J Vet Med Assoc Thai 2000; 51: 9-18.

Suwancharoen D, Chaisakdanugull Y, Thanapongtharm W, Yoshida S. Serological survey of leptospirosis in livestock in Thailand. Epidemiol Infect 2013; 141: 2269-77.

Suwancharoen D, Limlertvatee S, Chetiyawan P, Tongpan P, Sangkaew N, Sawaddee Y, Inthakan K, Wiratsudakul A. A nationwide survey of pathogenic leptospires in urine of cattle and buffaloes by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method in Thailand, 2011-2013. J Vet Med Sci 2016; 78: 1495-500.

Sykes JE, Hartmann K, Lunn KF, Moore GE, Stoddard RA, Goldstein RE. 2010 ACVIM small animal consensus statement on leptospirosis: diagnosis, epidemiology, treatment, and prevention. J Vet Intern Med 2011; 25: 1-13.

Talebkhani Garoussi M, Mehravaran M, Abdollahpour G, Khoshnegah J. Seroprevalence of leptospiral infection in feline population in urban and dairy cattle herds in Mashhad, Iran. Vet Res Forum 2015; 6: 301-4.

Tangkanakul W, Kingnate D. Leptospirosis epidemic in North-Eastern Provinces of Thailand, 1997. Health Sci 1998; 7: 386-95.

Tangkanakul W, Tharmaphornpil P, Plikaytis BD, Bragg S, Poonsuksombat D, Choomkasien P, Kingnate D, Ashford DA. Risk factors associated with leptospirosis in Northeastern Thailand, 1998. *Am J Trop Med Hyg* 2000; 63: 204-8.

Tangkanakul W, Siriarayaporn P, Pool T, Ungchusak K, Chunsuttiwat S. Environmental and travel factors related to leptospirosis in Thailand. *J Med Assoc Thai* 2001; 84: 1674-80.

Tangkanakul W, Smits HL, Jatanasen S, Ashford DA. Leptospirosis: an emerging health problem in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005; 36: 281-8.

Thai Meteorological Department. The climate of Thailand. [https://www.tmd.go.th/en/downloads.php/Climate of Thailand.pdf](https://www.tmd.go.th/en/downloads.php/Climate%20of%20Thailand.pdf). 06.09.2017.

Thai Parliament. Animal Epidemis Act, B.E. 2558 (2015). <http://www.krisdika.go.th/wps/wcm/connect/2fba9780402935258450944efdad0a77/ANIMAL+EPIDEMICS+ACT%2C+B.E.+2558+%282015%29.pdf?MOD=AJPERES&CACHEID=2fba9780402935258450944efdad0a77>. 15.01.2018.

Thaipadungpanit J, Wuthiekanun V, Chierakul W, Smythe LD, Petkanchanapong W, Limpaboon R, Apiwatanaporn A, Slack AT, Suputtamongkol Y, White NJ, Feil EJ, Day NP, Peacock SJ. A dominant clone of *Leptospira interrogans* associated with an outbreak of human leptospirosis in Thailand. *PLoS Negl Trop Dis* 2007; 1: e56.

Thongma C, Srivoranart P, Srisubharp K, Santivatr D. Serological study on the prevalence of leptospirosis in boars and sows [in Thai]. *Kasetsart Vets Thai* 1985; 6: 175-85.

Truong QL, Seo TW, Yoon B-I, Kim H-C, Han JH, Hahn T-W. Prevalence of swine viral and bacterial pathogens in rodents and stray cats captured around pig farms in Korea. *J Vet Med Sci* 2013; 75: 1647-50.

Van Crevel R, Speelman P, Gravekamp C, Terpstra WJ. Leptospirosis in travelers. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 132-4.

Van de Werve C, Perignon A, Jauréguiberry S, Bricaire F, Bourhy P, Caumes E. Travel-related leptospirosis: A series of 15 imported cases. *J Travel Med* 2013; 20: 228-31.

Van Eys GJ, Gravekamp C, Gerritsen MJ, Quint W, Cornelissen MT, Schegget JT, Terpstra WJ. Detection of leptospires in urine by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 2258-62.

Villumsen S, Pedersen R, Borre MB, Ahrens P, Jensen JS, Krogfelt KA. Novel TaqMan(R) PCR for detection of *Leptospira* species in urine and blood: pit-falls of in silico validation. *J Microbiol Methods* 2012; 91: 184-90.

Vries de SG, Visser BJ, Stoney RJ, Wagenaar JFP, Bottieau E, Chen LH, Wilder-Smith A, Wilson M, Rapp C, Leder K, Caumes E, Schwartz E, Hynes NA, Goorhuis A, Esposito DH, Hamer DH, Grobusch MP. Leptospirosis among returned travelers: A GeoSentinel site survey and multicenter analysis-1997-2016. *Am J Trop Med Hyg* 2018; 99: 127-35.

Wagenaar JA, Segers RP, Van der Zeijst BA. Rapid and specific detection of pathogenic *Leptospira* species by amplification of ribosomal sequences. *Mol Biotechnol* 1994; 2: 1-14.

Wangroongsarb P, Petkanchanapong W, Yasaeng S, Imvithaya A, Naigowit P. Survey of leptospirosis among rodents in epidemic areas of Thailand. *J Trop Med Parasitol* 2002; 25: 56-8.

Ward MP, Glickman LT, Guptill LE. Prevalence of and risk factors for leptospirosis among dogs in the United States and Canada: 677 cases (1970-1998). *J Am Vet Med Assoc* 2002; 220: 53-8.

Weis S, Rettinger A, Bergmann M, Llewellyn JR, Pantchev N, Straubinger RK, Hartmann K. Detection of *Leptospira* DNA in urine and presence of specific antibodies in outdoor cats in Germany. *J Feline Med Surg* 2017; 19: 470-6.

Weis S, Hartmann K. Infektionen mit Leptospiren bei der Katze. *Tierarztl Prax Ausg K* 2017; 45: 103-8.

Wilson H, Bovens C, Murphy K. Increase in canine leptospirosis cases. *Vet Rec* 2015; 176: 235.

Wiwanitkit V. A note from a survey of some knowledge aspects of leptospirosis among a sample of rural villagers in the highly endemic area, Thailand. *Rural Remote Health* 2006; 6: 526.

Wongbutdee J, Jittimane J. Detection of *Leptospira* in rats trapped from households in Phraroj Village, Muang Sam Sip District, Ubon Ratchathani Province using polymerase chain reaction technique. *J Med Assoc Thai* 2016; 99 Suppl 1: S17-21.

Wongbutdee J, Saengnil W, Jittimane J, Daendee S. Perceptions and risky behaviors associated with leptospirosis in an endemic area in a village of Ubon Ratchathani Province, Thailand. *Afr Health Sci* 2016; 16: 170-6.

Wongpanit K, Suwanacharoen D, Srikrum A. Serological survey of leptospirosis in thai swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) in Sakon Nakhon Province, Thailand. *Kasetsart J (Nat Sci)* 2012; 46: 736-41.

World Health Organisation. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. <http://www.who.int/topics/leptospirosis/en/>. 17.01.2017.

World Health Organization, Regional Office for South East Asia. Leptospirosis situation in the WHO South-East Asia Region. http://www.searo.who.int/entity/emerging_diseases/topics/leptospirosis/en/.

12.09.2017.

World Health Organization Western Pacific Region. Leptospirosis Fact Sheet.
http://www.wpro.who.int/mediacentre/factsheets/fs_13082012_leptospirosis/en/.
09.09.2017.

World Meteorological Organization. Klimainformationen Christmas Island [in German]. <http://worldweather.wmo.int/en/city.html?cityId=681>. 2.2.2019.

Wuthiekanun V, Sirisukkarn N, Daengsupa P, Sakaraserane P, Sangkakam A, Chierakul W, Smythe LD, Symonds ML, Dohnt MF, Slack AT. Clinical diagnosis and geographic distribution of leptospirosis, Thailand. *Emerg Infect Dis* 2007; 13: 124.

Yunibandhu J. First report of Weil's disease in Thailand. *J Med Assoc Thai* 1943; 26: 83-136.

VIII. DANKSAGUNG

Ganz besonders herzlich möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. Katrin Hartmann bedanken, die mir die Möglichkeit gab, diese Doktorarbeit anzufertigen. Für alles Erlebte, Neuentdeckte, Erfahrene, Lustige, Verwirrende, Ernsthafte und Gelernte. Danke!

Von Herzen möchte ich mich bei ihr, bei Dr. Supol Luengyosluetchakul, bei Dr. Michèle Bergmann, bei Dr. Eric Klaasen, bei Dr. David Sutton und MSD, bei Dr. Rosama Pusoonthornthum, bei Dr. Prapaporn Jongwattanapisan, bei Dr. Sven Reese, bei Dr. Marga Goris, bei Dr. Ahmed Ahmed, bei Dr. Nuvée Prapasarakul, bei Dr. Alongkorn Kurilung und bei Dr. Karin Weber für die Geduld, die offenen Ohren, das Korrekturlesen, das Möglichmachen von scheinbar Unmöglichem, für die schnellen, fachlichen, tröstenden, aufmunternden, lustigen, ernsten Antworten und die Unterstützung bedanken.

กราบขอบพระคุณในทุกๆความช่วยเหลือที่มีค่ายิ่ง

Allerhöchsten Dank für jede wertvolle Hilfe

และในทุกๆสิ่งที่ได้กรุณาอนุเคราะห์อนุญาตจากทุกๆท่าน

und für alle Dinge, die mit freundlicher Genehmigung von jeder Person freundlicherweise zur Verfügung gestellt wurden,

ซึ่งได้ทำให้งานการศึกษานี้สำเร็จสมบูรณ์ลงได้

die diese Studie erfolgreich zum Abschluß gebracht haben.

Danke auch meinen Eltern und meiner gesamten Familie.