

## Teken en door teken overdraagbare pathogenen bij gezelschapsdieren in Nederland

Christa Bodaan<sup>1</sup>, Ard M. Nijhof<sup>1</sup>, Milagros Postigo<sup>1</sup>, Hans Nieuwenhuijs<sup>1</sup>, Marieke Opsteegh<sup>1</sup>, Linda Franssen<sup>1</sup>, Florian Jebbink<sup>1</sup>, Sabrina Jansen<sup>2</sup> en Frans Jongejan<sup>1,3</sup>

Uit en  
voor de  
praktijk

In een landelijke campagne, georganiseerd door de 'Tickbusters' en gefinancierd door de Groep Geneeskunde Gezelschapsdieren van de KNMvD, zijn in de afgelopen twee jaar meer dan 6500 teken ingezonden naar het Utrecht Centrum voor Teken-gebonden Ziekten (UCTD) van de Faculteit der Diergeneeskunde. In dit artikel zijn 4298 teken opgenomen die tussen juli 2005 en oktober 2006 werden verwijderd van 1761 honden en 695 katten in 249 dierenartspraktijken. Verder werden teken bekeken die afkomstig waren van egels, reëen, paarden, fretten, runderen, konijnen en geiten.

Honden en katten zijn vooral besmet met volwassen *Ixodes ricinus*-teken (93,3 procent), daarnaast werd *Ixodes hexagonus* ook frequent gevonden. Op basis van ingestuurde *Dermacentor reticulatus*-teken, gevonden op honden die nooit in het buitenland waren geweest, werden zes locaties geïdentificeerd in Nederland waar een groot aantal *Dermacentor*-teken in de vegetatie werd aangetroffen. Daarnaast werden op diverse gastheren verschillende exotische tekensoorten aangetroffen, waaronder *Amblyomma flavomaculatum*, *Hyalomma marginatum rufipes*, *Rhipicephalus sanguineus* en *Rhipicephalus turanicus*.

Een representatief aantal willekeurig geselecteerde *I. ricinus*-, *I. hexagonus*- en *D. reticulatus*-teken zijn met behulp van moleculaire diagnostiek onderzocht op pathogenen. In *I. ricinus* werden *Borrelia valaisiana*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii* en *Borrelia burgdorferi* gevonden, veroorzakers van de ziekte van Lyme. Bijna een kwart van de onderzochte *I. ricinus*-teken bleek geïnfecteerd met *Rickettsia helvetica*, een humaan pathogeen. Naast *Anaplasma phagocytophilum* en *Babesia divergens* werden voor het eerst in Nederland in *I. ricinus*-teken *Babesia venatorum* en *Babesia microti* gevonden, beide pathogeen voor de mens. *A. phagocytophilum* en *R. helvetica* werden ook in *I. hexagonus*-teken gedetecteerd en van de onderzochte *D. reticulatus*-teken was 14,0 procent besmet met *Rickettsia raoultii*, eveneens pathogeen voor de mens.

Naast teken die in Nederland als vector optreden voor ziekteverwekkers bij de hond, zoals *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* en *Borrelia burgdorferi*, dient er naast 'Lyme disease' bij de mens ook rekening te worden gehouden met ziekteverwekkers zoals *Rickettsia helvetica*, *Rickettsia raoultii*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Babesia venatorum* en *Babesia microti*.

Wij concluderen dat een veel breder spectrum aan teken en tekengebonden pathogenen van veterinair en medisch belang voorkomt in Nederland dan tot dusver werd aangenomen.

### Introductie

Teken kunnen een grote verscheidenheid aan pathogenen van veterinair en medisch belang overdragen zoals anaplasmoose, babesiose, borreliose, ehrlichiose, rickettsiose en vele virussen (1). De tekensoorten die in Nederland inheems voorkomen bij gezelschaps- en landbouwhuisdieren, zijn *Haemaphysalis punctata*, *Ixodes canisuga*, *Ixodes hexagonus*, en *Ixodes ricinus*. Deze laatste is qua aantal veruit het belangrijkste (2). *H. punctata* wordt voornamelijk gevonden op de waddeneilanden en is een vector van *Babesia motasi* bij schapen, welke milde klinische verschijnselen geeft (3). *I. canisuga* infesteert met name wilde carnivoren en *I. hexagonus* egels, maar beide teken worden incidenteel ook op honden en katten gevonden. *I. ricinus* is minder gastheerspecifiek en van deze teek is bekend dat hij de ziekte van Lyme, *Babesia divergens*, *Anaplasma phagocytophilum* en Tick-Borne Encephalitis Virus (TBEV) op mens en dier kan overdragen. Ook worden er met enige regelmaat teken in Nederland geïntroduceerd door dieren geïmporteerd uit of reizend door endemische gebieden, zoals de bruine hondenteek *Rhipicephalus sanguineus*, vector van *Rickettsia conorii*, *Ehrlichia canis*, *Babesia gibsoni* en *Babesia vogeli* en de teek *Dermacentor reticulatus*, vector van *Rickettsia slovaca*, *Coxiella burnetii* en *Babesia canis*, de veroorzaker van canine babesiose.

In het voor- en najaar van 2004 zijn er in Arnhem en Den Haag 23 gevallen van autochtone babesiose bij de hond gediagnosticeerd, waarvan vier met fatale afloop (4). Bij drie van deze honden werd *Dermacentor reticulatus*, de vector van *B. canis*, aangetroffen. Reverse Line Blot hybridisatie (RLB) op DNA-extracten van deze teken bevestigde de aanwezigheid van *B. canis*, in de teken en hun nakomelingen (5). Hoewel het distributiegebied van deze teek groot is en zich uit-

Figuur 1. Het 'Tickbusters' team, Utrecht Centrum voor Teken-gebonden Ziekten.



<sup>1</sup> Utrecht Centrum voor Teken-gebonden Ziekten (UCTD), Departement Infectieziekten en Immunologie, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Utrecht, Yalelaan 1, 3584 CL, Utrecht, Nederland. Prof. F. Jongejan (F.Jongejan@vet.uu.nl)

<sup>2</sup> Dierenartsenpraktijk Steenberg, Kruispoort 34, 4651 AM, Steenberg, Nederland.

<sup>3</sup> Department of Veterinary Tropical Diseases, Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria, Private Bag X04, 0110, Onderstepoort, Zuid-Afrika.

strekt van de voormalige Sovjet-Unie tot aan de Britse eilanden werd tot dusver aangenomen dat deze teek niet in Nederland voorkwam.

Deze bevindingen vormden de directe aanleiding voor de start van het zogenaamde 'Tickbusters'-project, gefinancierd door de Groep Geneeskunde Gezelschapsdieren van de Koninklijke Nederlandse Maatschappij voor Diergeneeskunde. Hierbij zijn dierenartsen en diereigenaren in Nederland opgeroepen teken gevonden op dieren naar het Utrecht Centrum voor Teken-gebonden Ziekten op te sturen. Een representatief aantal van de drie meest voorkomende tekensoorten, *I. hexagonus*, *I. ricinus* en *D. reticulatus*, is vervolgens getest met behulp van RLB op de aanwezigheid van *Borrelia*-, *Babesia*-, *Theileria*-, *Anaplasma*-, *Ehrlichia*- en *Rickettsia*-soorten. Er is niet op TBEV getest aangezien deze ziekte niet endemisch in Nederland voorkomt én TBEV RNA in een recent onderzoek van Nederlandse teken niet kon worden aangetoond (6).

Tenslotte zijn er op basis van interviews met personen die *D. reticulatus* teken ingezonden hadden, acht locaties geïdentificeerd waar lokale populaties van *D. reticulatus* mogelijk aanwezig waren. In zes van deze locaties is deze teek vervolgens in de vegetatie aangetoond.

## Materiaal & Methode

### Verzamelen en identificatie van teken

Het project is in april 2005 van start gegaan met een oproep gericht aan alle gemengde en gezelschapsdierenartspraktijken in Nederland. Een 'Tickbuster'-pakket bestaande uit folders, een poster en verzendbuisjes werd naar ruim tweehonderd praktijken verzonden die hun interesse hiervoor kenbaar hadden gemaakt. De folder bevat informatie over teken, tekengebonden infecties en het project en werd in de klinieken beschikbaar gesteld om diereigenaren te informeren. Aan dierenartsen/eigenaren welke teken inzonden, werd gevraagd een standaardformulier in te vullen met gegevens omtrent de gastheer, locatie, datum en een eventuele buitenlandanamnese. Ingezonden teken werden individueel geïdentificeerd naar species, stadium en sexe met behulp van een prepareermicroscop. Elke ingezonden teek kreeg een uniek nummer toebedeeld alvorens te worden opgeslagen in 70 procent alcohol. De determinatiegegevens werden door het 'Tickbuster'-team (figuur 1) direct naar de praktijken teruggekoppeld. Wanneer *D. reticulatus* werd gevonden bij een dier zonder buitenlandanamnese werd contact opgenomen met de dierenarts

Figuur 2. Het verzamelen van teken uit de vegetatie gebeurt met behulp van flanelle doeken welke over de vegetatie worden gesleept. Vervolgens worden deze doeken onderzocht op aangehechte teken.



en/of eigenaar om meer informatie te verkrijgen omtrent het uitlaatgebied. Deze gebieden werden vervolgens met behulp van flanelle slaapdoeken bemonsterd op teken (figuur 2).

### DNA-extractie

DNA werd geëxtraheerd van 248 *I. ricinus*, 237 *I. hexagonus* en 330 *D. reticulatus* willekeurig geselecteerde adulten met behulp van de Nucleospin Tissue kit (Macherey-Nagel, Düren, Duitsland) volgens het protocol van de producent voor het purificeren van DNA van insecten.

### PCR-amplificatie, klonering en sequencing

PCR-producten die gebruikt zijn voor de detectie van *Borrelia*-, *Theileria*-, *Babesia*-, *Anaplasma* en *Ehrlichia* soorten door middel van de RLB, werden verkregen zoals elders beschreven (7, 8). Voor de detectie van *Rickettsia* spp. door RLB, werd een 364 bp fragment van het 16S rRNA-gen geamplificeerd door PCR gebruikmakend van primers Rick-F1 (5'-GAA CGC TAT CGG TAT GCT TAA CAC A-3') en Rick-R2 (biotin-5'-CAT CAC TCA CTC GGT ATT GCT GGA-3'). *Rickettsia* RLB-PCR-condities waren gelijk aan de PCR-condities voor het amplificeren van *Theileria*-, *Babesia*-, *Anaplasma* en *Ehrlichia* spp.

Om de door RLB gedetecteerde *Rickettsia*-infecties te bevestigen, werden additionele PCR's uitgevoerd op een aantal positief voor *Rickettsia* geteste monsters die het *Rickettsia* outer membrane protein B (*ompB*), het celoppervlakteantigeen *sca4* of het citraatsynthase gen *gltA* amplificeren. Voor de amplificatie van het *ompB* gen werden de 120-2788 en 120-3599 primers gebruikt (9). Primers D1f en D928r werden gebruikt voor de amplificatie van een 928 bp fragment van het *sca4* gen (10) en primers Rp877p and Rp1258n voor amplificatie van een 380 bp fragment van het *gltA* gen (11). PCR-producten werden vervolgens gekloneerd met behulp van de GeneJET PCR cloning en TransformAid bacterial transformation kits (Fermentas GmbH, St. Leon Rot, Germany) volgens de aanwijzingen van de fabrikant. De sequentie bepaling werd uitgevoerd door Baseclear (Leiden, Nederland).

### Reverse Line Blot hybridisatie

De RLB werd uitgevoerd zoals recentelijk elders beschreven (12).

## Resultaten

### Ingezonden teken

In de periode van juli 2005 tot oktober 2006 zijn er in totaal 4298 teken ingestuurd en gedetermineerd. Deze waren afkomstig van 23 mensen en 1806 dieren: 1281 honden, 448 katten, 39 egels, 11 reeën, 7 paarden, 5 fretten, 5 koeien, 5 konijnen, 3 geiten, 1 bunzing en 1 steppenvaraan (*Varanus exanthematicus*) en werden ingezonden door 249 dierenartspraktijken en 228 diereigenaren. De verdeling naar soort, stadium en gastheer is samengevat in tabel 1. Tweeëntwintig teken waren dusdanig beschadigd dat ze niet meer gedetermineerd konden worden. Het aantal teken per inzending varieerde tussen 1 en 130 (*Ixodes*-larven afkomstig van een kat), 498 inzendingen bevatten meer dan één teek. Tekenen werden gedurende het gehele jaar ingezonden, met een piek in het aantal inzendingen in juni 2006 (271 teken). Honderd inzendingen bevatten 321 teken afkomstig van dieren met een recente buitenlandanamnese. Dit waren 7 *D. reticulatus*-vrouwtjes en 1 *D. reticulatus*-mannetje, 5 *R. sanguineus*-vrouwtjes en 1 *R. sanguineus*-mannetje, 2 *R. turanicus*-vrouwtje, 1 on-

Tabel 1. Soort, stadium en gastheren van ingezonden teken. Het aantal weergegeven tussen haakjes is het aantal gastheren waarvan de teken afkomstig waren. N/A, niet beschikbaar.

Species	<i>A. flavomaculatum</i>	<i>D. reticulatus</i>	<i>Hy. m. rufipes</i>	<i>I. hexagonus</i>	<i>I. ricinus</i>	<i>Ixodes spp.</i>	<i>R. sanguineus</i>	<i>R. turanicus</i>	<i>Rhipicephalus spp.</i>	Niet gedetermineerd	Totaal
	36	72	1	328	2,907	914	12	2	4	22	4,298
<b>Stadium</b>											
Vrouwetje	12	33	0	316	2,533	0	9	2	1	N/A	2,906
Mannetje	4	39	1	12	374	0	3	0	0	N/A	433
Nimf	20	0	0	0	0	529	0	0	3	N/A	552
Larve	0	0	0	0	0	385	0	0	0	N/A	385
<b>Gastheer</b>											
Kat	0	0	0	55 (45)	709 (358)	390 (55)	0	0	0	2 (2)	1,156
Rund	0	30 (2)	0	0	16 (3)	0	0	0	0	0	46
Hond	0	40 (19)	0	110 (94)	2030 (1101)	347 (77)	12 (10)	2 (1)	4 (2)	10 (10)	2,555
Fret	0	0	0	11 (4)	12 (1)	27 (4)	0	0	0	0	50
Geit	0	0	0	0	9 (3)	0	0	0	0	0	9
Egel	0	0	0	149 (19)	54 (15)	92 (9)	0	0	0	9 (1)	304
Paard	0	2 (2)	1 (1)	0	9 (3)	5 (1)	0	0	0	0	17
Mens	0	0	0	1 (1)	14 (14)	9 (7)	0	0	0	1 (1)	25
Bunzing	0	0	0	2 (1)	0	2 (1)	0	0	0	0	4
Konijn	0	0	0	0	4 (4)	23 (2)	0	0	0	0	27
Hert	0	0	0	0	50 (11)	19 (2)	0	0	0	0	69
Steppenvaraan	36 (1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	36

gedetermineerd *Rhipicephalus*-vrouwetje, 3 *Rhipicephalus* spp.-nimfen, 9 *I. hexagonus*-vrouwtjes, 126 *I. ricinus*-vrouwtjes, 6 *I. ricinus*-mannetjes, 124 onvolwassen *Ixodes* spp. en 36 *A. flavomaculatum*-teken verzameld van een geïmporteerde steppenvaraan.

#### Teken verzameld uit de vegetatie

Vijftien inzendingen bevatten 64 *D. reticulatus*-teken, welke afkomstig waren van zeventien dieren: dertien honden, twee koeien en twee paarden zonder buitenlandanamnese. Op basis van interviews met de eigenaren van deze dieren is besloten om acht verschillende locaties verder te onderzoeken op aanwezigheid van *Dermacentor*-teken. *D. reticulatus*-adulten en -nimfen werden in zes van deze locaties verzameld met behulp van slaapdoeken (figuur 3 en tabel 2). In de Dintelse Gorzen en St. Philipsland werden daarnaast ook van een aantal paarden en runderen *D. reticulatus*-teken verzameld.

#### Pathogenen

In totaal werden 834 adulte teken met behulp van RLB op de aanwezigheid van *Borrelia*-, *Babesia*-, *Theileria*-, *Anaplasma*-, *Ehrlichia*- en *Rickettsia*-soorten getest: 253 *I. ricinus*-, 237 *I. hexagonus*- en 344 *D. reticulatus*-teken (tabel 3). Spirocheten van de *Borrelia burgdorferi* sensu lato groep werden zowel in achttien *I. ricinus*-teken als in één van de *D. reticulatus*-teken gevonden. Binnen deze groep werd voornamelijk *Borrelia afzelii* gevonden (n=9, 3,6 procent), gevolgd door

Figuur 3. Kaart van Nederland met daarin aangegeven de locaties waar *D. reticulatus* uit de vegetatie werd verzameld. De letters komen overeen met de locaties zoals weergegeven in tabel 2.



Tabel 2. Locaties in Nederland waar *D. reticulatus* werd verzameld uit de vegetatie met behulp van slaapdoeken.

Locatie	Naam	Coördinaten (Latitude, Longitude)	Maand van inspectie	Aantal en stadium van verzamelde teken
A	Dintelse Gorzen	51° 37' 45"	november 2005	68 vrouwtjes, 57 mannetjes
		4° 15' 32"	mei 2006	circa 220 volwassenen
B	St. Philipsland	51° 35' 22"	oktober 2006	221 vrouwtjes, 175 mannetjes en 2 nimfen
		4° 11' 26"	november 2005	28 vrouwtjes, 18 mannetjes
C	Slikken van de Heen	51° 37' 21" 4° 11' 28"	november 2005	3 vrouwtjes, 1 mannetjes
D	St. Maartenszee	52° 46' 50" 4° 40' 35"	mei 2006	7 vrouwtjes, 5 mannetjes
E	de Piet	51° 31' 35" 3° 43' 46"	mei 2006	1 vrouwtje, 2 mannetjes
F	de Maashorst	51° 41' 45" 5° 36' 54"	oktober 2006	6 vrouwtjes, 6 mannetjes



*Borrelia burgdorferi* sensu stricto (n=8, 3,2 procent) en *B. valaisiana* (n=7, 2,8 procent). Vier *I. ricinus*-teken (1,6 procent) en een *D. reticulatus*-teek waren geïnfecteerd met meer dan één *Borrelia* soort. Er werd geen *B. canis* aangetoond in de *D. reticulatus*-teken, maar wel drie verschillende *Babesia* soorten in vijf *I. ricinus*-teken: *B. divergens* (n=1, 0,4 procent), *B. microti* (n=1, 0,4 procent) en *B. sp.* (EU1) (n=3, 1,2 procent). Deze infecties zijn vervolgens bevestigd door het sequencen van de RLB-PCR-producten; de sequenties lieten een 100 procent homologie zien met de sequenties van de 18S rRNA-gen sequenties van de corresponderende pathogenen in GenBank.

*Anaplasma phagocytophilum* werd aangetoond in zowel *I. ricinus*- (n=4, 1,6 procent) als *I. hexagonus*-teken (n=14, 5,9 procent). Een bacterie, identiek aan de ongekaracteriseerde *Ehrlichia*-achtige 'Schotti'-variant welke geïsoleerd is uit *I. ricinus* (7), werd gedetecteerd in zes *I. ricinus*-teken (2,4 procent). Zowel *I. hexagonus* (n=2, 0,8 procent) als *I. ricinus*-teken (n=63, 25,4 procent) waren geïnfecteerd met *R. helvetica*. Dit is bevestigd door middel van klonering en sequencing van het RLB-PCR-fragment en een citraatsynthase-fragment van twee positieve monsters, aangezien de nucleotidesequenties 100 procent en 99,8 procent identiek zijn aan die van *R. helvetica*. Achtenveertig *D. reticulatus*-teken (14,0 procent) waren geïnfecteerd met een *Rickettsia*-soort die oorspronkelijk geïsoleerd is uit teken uit de voormalige Sovjet-Unie en is beschreven als *Rickettsia* sp. RpA4 / DnS28 (13). Deze *Rickettsia* soort is recentelijk verder ge-

karacteriseerd en hernoemd als *Rickettsia raoultii* (Fournier, persoonlijke communicatie). Het 16S rRNA-gen van vier en de *sca4* en *ompB*-genen van twee van de *R. raoultii*-positieve monsters werden gekloneerd en gesequencd. De nucleotide-sequenties van de 16S-, *ompB*- en *sca4*-genen waren 100 procent, 100 procent en 99,7 procent identiek aan de corresponderende nucleotide gensequenties van *R. raoultii*-isolaat Marne uit GenBank, hetgeen de validiteit van onze RLB assay voor de detectie van *R. raoultii* bevestigd.

### Discussie

Dit onderzoek heeft bevestigd dat gezelschapsdieren in Nederland overwegend geïnfecteerd worden door *I. ricinus* (2); 92,3 procent (2739/2966) van alle ingestuurde adulte teken afkomstig van honden en katten behoorde tot deze soort. Ook werden frequent *I. hexagonus*-adulten gevonden op katten (n=55) en op honden (n=110). De overige *I. hexagonus* teken waren afkomstig van egels (n=149), fretten (n=11) en een bunzing (n=2). Ondanks het feit dat in dit onderzoek voornamelijk teken voedend op gezelschapsdieren werden onderzocht, ontvingen wij ook teken afkomstig van mensen. Dit waren voornamelijk *I. ricinus* adulten (n=14) of nimfen (n=9) maar er werd ook een *I. hexagonus*-vrouwje ingezonden die voedde op de arm van een vijf weken oude baby. Dit bevestigd eerdere verslagen dat ook *I. hexagonus* op mensen voedt (1).

De aanwezigheid van *D. reticulatus* in de Nederlandse vegetatie is een nieuwe bevinding. Hoewel de teek in 2004 op een

Tabel 3. Pathogenen aangetoond in ingezonden volwassen teken met behulp van RLB. De gasthe(e)r(en) waar deze teken van afkomstig waren, is/zijn aangegeven tussen haakjes.

	<i>D. reticulatus</i>	<i>I. hexagonus</i>	<i>I. ricinus</i>
<i>A. phagocytophilum</i>	0	15 (3 egels)	4 (1 kat, 3 honden)
<i>B. burgdorferi sensu stricto</i>	0	0	4 (4 honden)
<i>B. afzelii</i>	0	0	6 (1 teek van 1 kat 5 teken van 4 honden)
<i>B. valaisiana</i> & <i>R. helvetica</i>	0	0	3 (2 honden, 1 mens)
<i>B. valaisiana</i>	0	0	1 (1 hond)
<i>B. divergens</i>	0	0	1 (1 hond)
<i>B. microti</i>	0	0	1 (1 hond)
<i>B. sp.</i> (EU1)	0	0	3 (3 honden)
<i>E. sp.</i> (schotti)	0	0	1 (1 hond)
<i>R. helvetica</i>	0	2 (1 kat, 1 egel)	54 (12 teken van 10 katten 42 teken van 41 honden)
<i>R. helvetica</i> & <i>E. sp.</i> (Schotti)	0	0	5 (1 kat, 4 honden)
<i>R. raoultii</i>	48 (4 teken van 2 koeien 1 teek van 1 hond 10 teken van 4 paarden 33 teken uit vegetatie)	0	0
<i>B. afzelii</i> , <i>B. burgdorferi</i> & <i>B. valaisiana</i>	0	0	2 (2 honden)
<i>B. afzelii</i> , <i>B. burgdorferi</i> , <i>B. valaisiana</i> & <i>B. garinii</i>	0	0	1 (1 hond)
<i>B. burgdorferi</i> , <i>B. garinii</i>	0	0	1 (1 hond)
<i>B. burgdorferi</i> , <i>B. afzelii</i>	1 (vegetatie)	0	0
<i>Anaplasma</i> / <i>Ehrlichia</i> spp. (niet verder gedetermineerd)	0	0	2 (1 hond, 1 mens)
Negatief	295	219	164
	(17 teken van 12 honden 29 teken van 6 koeien 68 teken van 10 paarden 181 teken uit vegetatie)	(121 teken van 18 egels 8 teken van 2 fretten 36 teken van 26 katten 53 teken van 46 honden 2 teken van 1 bunzing)	(32 teken van 28 katten 132 teken van 112 honden)
Totaal	344 (215 teken uit vegetatie 33 teken van 6 koeien 18 teken van 13 honden 78 teken van 10 paarden 37 teken van 27 katten)	237 53 teken van 47 honden 8 teken van 2 fretten 137 teken van 18 egels 2 teken van 1 bunzing)	253 (47 teken van 40 katten 204 teken van 166 honden 2 teken van 2 mensen)

aantal patiënten met autochtone babesiose werd gevonden (5) kon de teek destijds niet in de uitlaatgebieden van deze honden gevonden worden. Gedurende ons onderzoek werden *D. reticulatus*-teken ingezonden afkomstig van dieren zonder buitenlandse afkomst. Acht verschillende locaties werden bemonsterd en *D. reticulatus*-adulten en -nimfen werden gevonden op zes van deze locaties. De vegetatie op deze plaatsen lijkt geschikt te zijn voor het huisvesten van een permanente populatie. In zoetwater natuurgebieden als de Dintelse Gorzen, St. Philipsland en de Slikken van de Heen zijn voldoende plekken waar een vochtige grond met voldoende begroeiing om beschutting te bieden tegen extreme omgevingsinvloeden, een ideale ecologische niche voor *D. reticulatus* creëren. Hier zijn ook voldoende gastheren aanwezig voor de verschillende stadia van de teek, zoals kleine knaagdieren, vogels, ponies en grote herkauwers zoals reeën en runderen.

De teek zelf is mogelijk geïntroduceerd door het importeren van Zuid-Europese runderrassen in deze gebieden en verder verspreid door vervoer. De andere locaties waar *D. reticulatus* werd gevonden was in vochtig duingebied (St. Maartenszee), braakliggend land (de Piet) en nabij vennetjes in loofbos (de Maashorst). Om verdere verspreiding van deze teek in Nederland tegen te gaan zou het raadzaam zijn runderen grazend in deze gebieden voor elk transport naar nieuwe begrazingsgebieden te behandelen met een acaricide. Voor de bestrijding van teken bij niet-melkgevende runderen zijn zowel Panomec® en Ivomec® (beiden van Merial, met ivermectine als werkzame stof) geregistreerd in Nederland.

De ingezonden *A. flavomaculatum*-adulten en -nimfen waren afkomstig van een Afrikaanse steppenvaraan, zeven maanden na import uit Ghana. Deze late detectie kan worden verklaard doordat deze tekensoort zich vaak in de neus- en oorgangen en onder de schubben van reptielen schuilt (14). Het is bekend dat geïmporteerde reptielen vaker exotische teken zoals *A. flavomaculatum* met zich meedragen (15) en dat deze zich soms zelfs kunnen vestigen in de nieuwe leefomgeving. *Hyalomma aegyptium* (2), *Amblyomma marmoreum* en *Amblyomma dissimile* (16) zijn voorbeelden van andere exotische teken die incidenteel op geïmporteerde schildpadden en slangen in Nederland zijn gevonden. Een voorbeeld van een voedende *Amblyomma*-teek op een schildpad is te zien in figuur 4. Hoewel weinig bekend is over de bestrijding van teken op en in de terraria van reptielen, wordt in de literatuur permethrine als meest veilige acaricide aangegeven (15).

*Hyalomma marginatum rufipes* komt in grote delen van Afrika voor. Het merendeel van de larven of nimfen welke gevonden worden op trekvogels die in de lente van Afrika naar Europa vliegen, behoort tot deze tekensoort (17). Het is dus aanneembaar dat de oorsprong van het gevonden *Hy. m. rufipes*-mannetje ligt bij een nimf welke op een trekvogel meegereisd is. Hoewel het op basis van de incidentele import niet waarschijnlijk is dat deze teek zich in Nederland kan vestigen, ligt het belang van deze teek in de pathogenen die hij bij zich kan dragen: *Hy. m. rufipes* is een bewezen vector voor 'Crimean-Congo hemorrhagic fever', een virale hemorrhagische koorts, welke sinds 2002 enkele tientallen slachtoffers heeft geëist bij uitbraken in Turkije (18, 19). *Hy. m. rufipes* is daarnaast ook een potentiële vector van *Anaplasma marginale*, die anaplasmosis bij het rund veroorzaakt (20).

*Rhipicephalus sanguineus* is een tekensoort die in de tropen en subtropen voorkomt en hoofdzakelijk op honden voedt. Deze teek kan zijn cyclus volbrengen in hondenkennels in gematigde klimaten en is dan ook incidenteel binnenshuis ge-

Figuur 3. Een *Amblyomma hebraeum*-vrouwtje voedend op een panter-schildpad (*Geochelone pardalis*).



vonden in Nederland (16). Tijdens het onderzoek zijn twaalf *R. sanguineus*-teken ingezonden waarvan zes afkomstig van honden zonder buitenlandse afkomst. Aangenomen wordt dat deze teken zijn opgelopen door direct of indirect contact met honden die in voor deze teek endemische gebieden waren geweest. *R. sanguineus* is een belangrijke vector voor *Rickettsia conorii*, de veroorzaker van 'Mediterranean spotted fever', *Babesia vogeli* en *Ehrlichia canis* welke canine babesiose en ehrlichiose veroorzaken.

*Rhipicephalus turanicus* lijkt sterk op *R. sanguineus* maar is minder gastheerspecifiek (21). Twee *R. turanicus*-vrouwtjes werden gevonden op een hond die in Frankrijk was geweest, wat aangeeft dat ook deze teek incidenteel in Nederland wordt geïntroduceerd. *R. turanicus* is een vector van *Rickettsia massiliae*, onderdeel van de 'spotted fever'-groep Rickettsiae en recentelijk beschreven als humaan pathogeen (22).

Granulocytair anaplasmosis veroorzaakt door *Anaplasma phagocytophilum* (voorheen bekend als *Ehrlichia phagocytophilum* en *Ehrlichia equi*) is in Nederland onder andere beschreven bij de mens, het paard, herkauwers en honden (16, 23-25). De symptomen van een infectie variëren van subklinische verschijnselen tot gecompliceerde en soms zelfs fatale ziektebeelden, vaak ten gevolge van secundaire infecties door de optredende leucopenie (16). *I. ricinus* wordt beschreven als de belangrijkste vector voor *A. phagocytophilum* in Europa en verscheidene dieren, met name knaagdieren, dienen als gastheerreservoir (26). In dit onderzoek was de *A. phagocytophilum*-infectiegraad echter hoger in *I. hexagonus* dan in *I. ricinus* en de positieve teken waren allen afkomstig van egels (*Erinaceus europaeus*). Dit suggereert dat *I. hexagonus* en/of egels een rol spelen in de ecologie van *A. phagocytophilum* en dat er verder gekeken dient te worden naar de rol van deze soorten als vector en reservoir.

In *I. ricinus* werden drie verschillende *Babesia*-soorten gevonden: *B. divergens*, *B. microti* en *Babesia* sp. (EU 1). Voor de laatste is ook de naam *Babesia venatorum* aangedragen (Latijn: *venator* = jager), wat refereert aan het feit dat de twee patiënten waarin deze infectie oorspronkelijk beschreven is, regelmatig jaagden in hun vrije tijd (27). Hoewel uitbraken van babesiose in Nederlands rundvee, veroorzaakt door *B. di-*

vergens en geassocieerd met *I. ricinus*, bekend zijn (28) is de detectie van *B. microti* en *Babesia* sp. (EU 1) in Nederlandse teken een nieuwe bevinding. Beide soorten zijn van medisch belang en kunnen humane babesiose veroorzaken (27, 29).

*Babesia canis*, de veroorzaker van canine babesiose is niet aangetoond in de geteste *D. reticulatus*-tekenen. Dit strookt niet met de beschreven infectiegraad van *B. canis* in *D. reticulatus*-tekenen uit Slovenië en West-Siberië, welk varieerde tussen 1 en 3,6 procent (30, 31). Een mogelijke verklaring hiervoor is dat honden niet toegestaan zijn in een aantal van de locaties waar wij *D. reticulatus* hebben aangetoond, en eventuele dragers de tekenpopulatie dus niet kunnen infecteren. Vaccinatie van honden tegen *B. canis* is mogelijk, hiervoor zijn in Nederland twee middelen geregistreerd: Pirodog® (Merial) en Nobivac Piro® (Intervet). Gezien het locale voorkomen van *D. reticulatus* en de lage besmettingsgraad van *B. canis* in deze populaties in Nederland lijkt het vooralsnog niet nodig honden welke niet naar endemische gebieden reizen, preventief te vaccineren of behandelen. Wel dienen dierenartsen alert te zijn op honden aangeboden met verschijnselen die mogelijk duiden op een *B. canis*-infectie: lusteloosheid, anorexie, hoge koorts, haemoglobulinurie en een tekenbeet in de anamnese, met name tijdens of vlak na de activiteitspiek van *D. reticulatus*, welke ligt in het voor- en najaar.

De *Rickettsia helvetica*-infectiegraad van 25 procent van de *I. ricinus*-tekenen komt overeen met eerdere studies in Europa, het is hiermee de meest voorkomende *Rickettsia*-soort gevonden in deze tekensoort (32-35). *R. helvetica* wordt geassocieerd met een vaak subklinische milde griepachtige ziekte bij de mens (36), maar de chronische vorm zou ook een rol spelen in sarcoidose en chronische perimyocarditis (37, 38). Ondanks de hoge infectiegraad in Nederlandse teken zijn er nog geen gevallen van *Rickettsia*-infecties gerapporteerd. Wellicht wordt de diagnose te weinig gesteld en zou de infectie hoger op de differentieeldiagnoselijst geplaatst moeten worden.

*Rickettsia* sp. genotypen RpA4, DnS14 en DnS28 maken deel uit van de 'spotted fever'-groep Rickettsiae (SFG) en worden sinds kort erkend als een enkele soort waarvoor de naam *Rickettsia raoultii* gesuggereerd is (E.P. Fournier, persoonlijke communicatie). Deze soort werd oorspronkelijk gedetecteerd in *Rhipicephalus pumilio*- en *Dermacentor nutalli*-tekenen verzameld in zuidelijke streken van de voormalig Sovjet-Unie (13) en werd vervolgens gevonden in *D. reticulatus*, *Dermacentor niveus* en *Dermacentor silvarum* tekenen uit verschillende regio's van de voormalige Sovjet-Unie (39), *Dermacentor marginatus*-tekenen uit Frankrijk (40) en Spanje (41-43) en *D. reticulatus*-tekenen uit Duitsland (44). *R. raoultii* werd ook gedetecteerd in twee *D. marginatus*-tekenen verwijderd van patiënten met een *Dermacentor*-borne necrosis erythema lyphadenopathie (DEBONEL) of 'tick-borne' lymphadenitis (TIBOLA) syndroom, wat een mogelijke rol van *R. raoultii* in de pathogenese van deze ziekte impliceert naast *R. slovaca*, de belangrijkste veroorzaker van DEBONEL/TIBOLA (45). *R. raoultii* werd in 14,0 procent (48/344) van de geteste *D. reticulatus*-tekenen gevonden, dit is lager dan de *R. raoultii*-infectiegraad gevonden in Duitse *D. reticulatus*-tekenen van 23 procent (44).

*Ixodes ricinus* is de meest belangrijke Europese vector voor spirochetes die de ziekte van Lyme veroorzaken. De aanwezigheid van soorten behorende tot de *Borrelia burgdorferi* sensu lato groep in Nederlandse *I. ricinus*-tekenen is meerdere malen beschreven, met infectiegraden variërend van 0,8 tot

46 procent, afhankelijk van het stadium van de teek, het seizoen en de gastheer (7, 46-48). In dit onderzoek was *B. afzelii* de meest gevonden soort (3,6 procent), wat overeenkomt met een recente studie waarbij de infectiegraad van *B. afzelii* in teken uit de vegetatie van vier verschillende gebieden 2,5 procent was (48).

Ook werden zowel *B. burgdorferi* als *B. afzelii* gevonden in een *D. reticulatus*-mannetje verzameld uit de vegetatie. Ondanks dat de infectie van *D. reticulatus*-tekenen met *B. burgdorferi* sensu lato is beschreven (49), is de rol die deze soort speelt als vector nog onbekend (1). De vectorrol van *I. hexagonus* voor *B. burgdorferi*-infecties is experimenteel aangetoond (50) maar er werd in dit onderzoek geen *Borrelia* spp. in *I. hexagonus*-tekenen aangetoond.

Dit onderzoek bevestigt dat *I. ricinus* de meest voorkomende teek is die op gezelschapsdieren gevonden wordt, gevolgd door *I. hexagonus*. Ook is de aanwezigheid van *D. reticulatus* in de vegetatie aangetoond en kan deze teek hiermee toegevoegd worden aan de Nederlandse faunalijst. Daarnaast worden er regelmatig exotische tekensoorten in ons land geïntroduceerd via reptielen, huisdieren en migrerende vogels die van veterinaire en medisch belang kunnen zijn, zoals *A. flavomaculatum*, *Hy. m. rufipes*, *R. sanguineus*, en *R. turanicus*. De detectie van pathogenen als *Rickettsia helvetica*, *Rickettsia raoultii*, *Babesia microti* en *Babesia* sp. (EU1) in de Nederlandse tekenpopulatie naast al bekende veterinaire en zoönotische pathogenen als *Borrelia burgdorferi* en *Anaplasma phagocytophilum* geeft aan dat het van belang is om tekenen en tekengebonden pathogenen te blijven monitoren in Nederland.

### Dankbetuiging

Dit onderzoek is mogelijk gemaakt door een financiële ondersteuning van de Commissie Preventieve Gezondheidszorg Gezelschapsdieren (opbrengst uit verkoop KNMvD-dierenpaspoort) van de Groep Geneeskunde Gezelschapsdieren van de Koninklijke Nederlandse Maatschappij voor Diergeneeskunde. Sinds april 2007 wordt het onderzoek tevens financieel ondersteund door Merial Benelux. Amar Taoufik, Mark van Zuijlen en Liliane Hamming worden bedankt voor hun hulp in het laboratorium. Graag willen wij alle dierenartsen en diereigenaren bedanken voor het insturen van tekenen, zonder hen was dit onderzoek niet mogelijk geweest.

### Literatuur

1. Estrada-Pena A and Jongejan F. Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. *Exp Appl Acarol* 1999; 23 (9): 685-715.
2. Bronswijk JEMHv, Rijntjes RH en Garben AFM. De teken (Ixodidae) van de Beneluxlanden: KNNV, Utrecht; 1979.
3. Uilenberg G, Rombach MC, Perie NM and Zwart D. Blood parasites of sheep in the Netherlands. II. *Babesia motasi* (Sporozoa, Babesiidae). *Tijdschr Diergeneeskd* 1980; 105 (2): 3-14.
4. Lange T de, Nijhof A, Taoufik A, Houwers D, Teske E and Jongejan F. [Autochthonous babesiosis in dogs in The Netherlands associated with local *Dermacentor reticulatus* ticks]. *Tijdschr Diergeneeskd* 2005; 130 (8): 234-238.
5. Matjila PT, Penzhorn BL, Bekker CP, Nijhof AM and Jongejan F. Confirmation of occurrence of *Babesia canis vogeli* in domestic dogs in South Africa. *Vet Parasitol* 2004; 122 (2): 119-125.
6. Poel WH van der, Heide R van der, Bakker D, Loeff M de, Jong J de, Manen N van et al. Attempt to detect evidence for tick-borne encephalitis virus in ticks and mammalian wildlife in The Netherlands. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2005; 5 (1): 58-64.
7. Schouls LM, Pol I van de, Rijpkema SG and Schot CS. Detection and identification of *Ehrlichia*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and *Barto-*



- nella species in Dutch *Ixodes ricinus* ticks. J Clin Microbiol 1999; 37 (7): 2215-2222.
8. Nijhof AM, Pillay V, Steyl J, Prozesky L, Stoltz WH, Lawrence JA *et al.* Molecular characterization of Theileria species associated with mortality in four species of African antelopes. J Clin Microbiol 2005; 43 (12): 5907-5911.
  9. Roux V and Raoult D. Phylogenetic analysis of members of the genus Rickettsia using the gene encoding the outer-membrane protein rOmpB (ompB). Int J Syst Evol Microbiol 2000; 50 Pt 4: 1449-1455.
  10. Sekeyova Z, Roux V and Raoult D. Phylogeny of Rickettsia spp. inferred by comparing sequences of 'gene D', which encodes an intracytoplasmic protein. Int J Syst Evol Microbiol 2001; 51(Pt 4): 1353-1360.
  11. Roux V, Rydkina E, Eremeeva M and Raoult D. Citrate synthase gene comparison, a new tool for phylogenetic analysis, and its application for the rickettsiae. Int J Syst Bacteriol 1997; 47 (2): 252-261.
  12. Nijhof AM, Bodaan C, Postigo M, Nieuwenhuijs J, Opsteegh M, Franssen LC, *et al.* Vectorial capacity and zoonotic potential of ticks infesting companion animals in the Netherlands. Vector Borne Zoonotic Dis 2007; (submitted).
  13. Rydkina E, Roux V, Rudakov N, Gafarova M, Tarasevich I, and Raoult D. New Rickettsiae in ticks collected in territories of the former soviet union. Emerg Infect Dis 1999; 5 (6): 811-814.
  14. BurrIDGE MJ. Ticks (Acari: Ixodidae) spread by the international trade in reptiles and their potential roles in dissemination of diseases. Bull Entomol Res 2001; 91 (1):3-23.
  15. BurrIDGE MJ and Simmons LA. Exotic ticks introduced into the United States on imported reptiles from 1962 to 2001 and their potential roles in international dissemination of diseases. Vet Parasitol 2003; 113 (3-4): 289-320.
  16. Jongejan F. Tekenen door teken overgedragen ziekten. Diergeneeskundig Memorandum 2001; 48 (1): 1-51.
  17. Hoogstraal H. Migrating birds and their ectoparasites in relation to disease. East Afr Med J 1961; 38: 221-226.
  18. Zeller HG, Cornet JP and Camicas JL. Experimental transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by west African wild ground-feeding birds to Hyalomma marginatum rufipes ticks. Am J Trop Med Hyg 1994; 50(6): 676-681.
  19. Tonbak S, Aktas M, Altay K, Azkur AK, Kalkan A, Bolat Y *et al.* Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: genetic analysis and tick survey in Turkey. J Clin Microbiol 2006; 44 (11): 4120-4124.
  20. Potgieter FT. Tick transmission of anaplasmosis in South Africa. In: Whitehead GB, Gibson JD, editors. International conference on tick biology and control.; 1981; Rhodes University, Grahamstown; 1981: p. 53-56.
  21. Jongejan F, Zivkovic D, Pegram RG, Tatchell RJ, Fison T, Latif AA *et al.* Ticks (Acari: Ixodidae) of the Blue and White Nile ecosystems in the Sudan with particular reference to the Rhipicephalus sanguineus group. Exp Appl Acarol 1987; 3 (4): 331-346.
  22. Vitale G, Manuela S, Rollin JM and Raoult D. Rickettsia massiliae human isolation. Emerg Infect Dis 2006; 12 (1): 174-175.
  23. Dobbenburgh A van, Dam AP van and Fikrig E. Human granulocytic ehrlichiosis in western Europe. N Engl J Med 1999; 340 (15): 1214-1216.
  24. Butler CM, Nijhof AM, Jongejan F and Kolk JOH van der. Anaplasma phagocytophilum infection in horses in the Netherlands. Vet Rec 2007; accepted for publication.
  25. Siebinga JT and Jongejan F. [Tick-borne fever (Ehrlichia phagocytophila infection) on a dairy farm in Friesland]. Tijdschr Diergeneesk 2000; 125 (3): 74-80.
  26. Grzeszczuk A, Karbowski G, Ziarko S and Kovalchuk O. The root-vole Microtus oeconomus (Pallas, 1776): a new potential reservoir of Anaplasma phagocytophilum. Vector Borne Zoonotic Dis 2006; 6 (3):240-243.
  27. Herwaldt BL, Caccio S, Gherlinzoni F, Aspöck H, Slemenda SB, Piccaluga P *et al.* Molecular characterization of a non-Babesia divergens organism causing zoonotic babesiosis in Europe. Emerg Infect Dis 2003; 9 (8): 942-848.
  28. Schreuder BE and Wijk C van. [An outbreak of babesiosis in Eastern Flevoland]. Tijdschr Diergeneesk 1984; 109 (13): 549-553.
  29. Gray JS. Identity of the causal agents of human babesiosis in Europe. Int J Med Microbiol 2006; 296 Suppl 40: 131-136.
  30. Duh D, Saksida A, Petrovec M, Dedushaj I and Avsic-Zupanc T. Novel one-step real-time RT-PCR assay for rapid and specific diagnosis of Crimean-Congo hemorrhagic fever encountered in the Balkans. J Virol Methods 2006; 133 (2): 175-179.
  31. Rar VA, Maksimova TG, Zakharenko LP, Bolykhina SA, Dobrotvorskoy AK and Morozova OV. Babesia DNA detection in canine blood and Dermacentor reticulatus ticks in southwestern Siberia, Russia. Vector Borne Zoonotic Dis 2005; 5 (3): 285-287.
  32. Nilsson K, Lindquist O, Liu AJ, Jaenson TG, Friman G and Pahlson C. Rickettsia helvetica in Ixodes ricinus ticks in Sweden. J Clin Microbiol 1999; 37 (2): 400-403.
  33. Beninati T, Lo N, Noda H, Esposito F, Rizzoli A, Favia G, *et al.* First detection of spotted fever group rickettsiae in Ixodes ricinus from Italy. Emerg Infect Dis 2002; 8 (9): 983-986.
  34. Christova I, Pol J van de, Yazar S, Velo E and Schouls L. Identification of Borrelia burgdorferi sensu lato, Anaplasma and Ehrlichia species, and spotted fever group Rickettsiae in ticks from Southeastern Europe. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2003; 22 (9): 535-542.
  35. Hartelt K, Oehme R, Frank H, Brockmann SO, Hassler D, and Kimmig P. Pathogens and symbionts in ticks: prevalence of Anaplasma phagocytophilum (Ehrlichia sp.), Wolbachia sp., Rickettsia sp., and Babesia sp. in Southern Germany. Int J Med Microbiol 2004; 293 Suppl 37: 86-92.
  36. Fournier PE, Allombert C, Supputamongkol Y, Caruso G, Brouqui P and Raoult D. Aneruptive fever associated with antibodies to Rickettsia helvetica in Europe and Thailand. J Clin Microbiol 2004; 42 (2): 816-818.
  37. Nilsson K, Pahlson C, Lukinius A, Eriksson L, Nilsson L, and Lindquist O. Presence of Rickettsia helvetica in granulomatous tissue from patients with sarcoidosis. J Infect Dis 2002; 185 (8): 1128-1138.
  38. Nilsson K, Lindquist O and Pahlson C. Association of Rickettsia helvetica with chronic perimyocarditis in sudden cardiac death. Lancet 1999; 354 (9185): 1169-1173.
  39. Shpynov S, Parola P, Rudakov N, Samoilenko I, Tankibaev M, Tarasevich I, *et al.* Detection and identification of spotted fever group rickettsiae in Dermacentor ticks from Russia and central Kazakhstan. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001; 20 (12): 903-905.
  40. Sanogo YO, Davoust B, Parola P, Camicas JL, Brouqui P, and Raoult D. Prevalence of Rickettsia spp. in Dermacentor marginatus ticks removed from game pigs (Sus scrofa) in southern France. Ann NY Acad Sci 2003; 990: 191-195.
  41. Merino FJ, Nebreda T, Serrano JL, Fernandez-Soto P, Encinas A and Perez-Sanchez R. Tick species and tick-borne infections identified in population from a rural area of Spain. Epidemiol Infect 2005; 133 (5): 943-949.
  42. Marquez FJ, Rojas A, Ibarra V, Cantero A, Rojas J, Oteo JA *et al.* Prevalence data of Rickettsia slovaca and other SFG Rickettsiae species in Dermacentor marginatus in the southeastern Iberian peninsula. Ann NY Acad Sci 2006; 1078: 328-330.
  43. Oteo JA, Portillo A, Santibanez S, Perez-Martinez L, Blanco JR, Jimenez S *et al.* Prevalence of spotted fever group Rickettsia species detected in ticks in La Rioja, Spain. Ann NY Acad Sci 2006; 1078: 320-323.
  44. Dautel H, Dippel C, Oehme R, Hartelt K and Schettler E. Evidence for an increased geographical distribution of Dermacentor reticulatus in Germany and detection of Rickettsia sp. RpA4. Int J Med Microbiol 2006; 296 Suppl 40: 149-156.
  45. Ibarra V, Oteo JA, Portillo A, Santibanez S, Blanco JR, Metola L *et al.* Rickettsia slovaca infection: DEBONEL/TIBOLA. Ann NY Acad Sci 2006; 1078: 206-214.
  46. Nohlmans MK, Boer de, Bogaard AE van den, Blaauw AA and Boven CP van. [Occurrence of Borrelia burgdorferi in Ixodes ricinus in The Netherlands]. Ned Tijdschr Geneesk 1990; 134 (27): 1300-1303.
  47. Rijpkema S, Nieuwenhuijs J, Franssen FF and Jongejan F. Infection rates of Borrelia burgdorferi in different instars of Ixodes ricinus ticks from the Dutch North Sea Island of Ameland. Exp Appl Acarol 1994; 18 (9): 531-542.
  48. Wielinga PR, Gaasenbeek C, Fonville M, Boer A de, Vries A de, Dimmers W *et al.* Longitudinal analysis of tick densities and Borrelia, Anaplasma, and Ehrlichia infections of Ixodes ricinus ticks in different habitat areas in The Netherlands. Appl Environ Microbiol 2006; 72 (12): 7594-7601.
  49. Kahl O, Janetzki C, Gray JS, Stein J and Bauch RJ. Tick infection rates with Borrelia: Ixodes ricinus versus Haemaphysalis concinna and Dermacentor reticulatus in two locations in eastern Germany. Med Vet Entomol 1992; 6 (4): 363-366.
  50. Gern L, Toutoungi LN, Hu CM, Aeschlimann A. Ixodes (Pholeoixodes) hexagonus, an efficient vector of Borrelia burgdorferi in the laboratory. Med Vet Entomol 1991; 5 (4): 431-435.
  51. Arthur DR. The morphology of the British Prostriata, with particular reference to Ixodes hexagonus Leach. III. Parasitology 1956; 46 (3-4):