



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap

Behandling av *Anaplasma phagocytophilum* hos häst

Treatment of *Anaplasma phagocytophilum* in horses

Nikita Durchbach

*Uppsala
2019*

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

Behandling av *Anaplasma phagocytophilum* hos häst

Treatment of *Anaplasma phagocytophilum* in horses

Nikita Durchbach

Handledare: John Pringle, institutionen för kliniska vetenskaper

Biträdande handledare: Camilla Ahrenbring och Monika Wartel, Distriktsveterinärerna

Examinator: Jean-Francois Valarcher, institutionen för kliniska vetenskaper

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0869

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2019

Elektronisk publicering: <https://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: *Anaplasma phagocytophilum*, häst, behandling, tetracyklin, NSAID

Key words: *Anaplasma phagocytophilum*, horse, treatment, tetracycline, NSAID

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

SAMMANFATTNING

Ekvin granulocytär anaplasmos orsakas av bakterien *Anaplasma phagocytophilum*, som sprids med fästingen *Ixodes ricinus*. *Anaplasma phagocytophilum* är en strikt intracellulär bakterie som kan infektera många olika djurarter, så som nötkreatur, får, hund, häst och människa. Bakterien infekterar värddjurets neutrofiler och kan hos häst orsaka symtom som feber, ödem, nedsatt allmäntillstånd och ataxi, även subkliniska infektioner är vanligt. Diagnos kan ställas med blodutstryk där inklusionskroppar ses, analys för antikroppar (IFA eller ELISA) eller PCR.

Behandlingen av hästar med symtom varierar i Sverige, vissa behandlas endast med NSAID medan andra får både antibiotika och NSAID. Antibiotikan som används vid behandling är tetracykliner, många hästar tillfrisknar dock bra utan antibiotika. Med ökande resistensproblem vid antibiotikaanvändning är det önskvärt att minska administreringen av antibiotika. Dödsfall har förekommit hos häst vid experimentell infektion av anaplasma där infektionen inte har behandlats med antibiotika, men tycks vara mycket ovanligt. Tidigare har kronisk anaplasmos diskuterats, men i dagsläget finns ingen forskning som styrker att det skulle förekomma. Sammantaget är det intressant att granulocytär anaplasmos hos häst behandlas så olika.

I den här studien har djurägarenkät skickats till djurägare vars hästar testade positivt för anaplasma med PCR-analys via Distriktsveterinärerna år 2017, totalt 74 fullständiga enkätsvar erhöles. Resultatet visar att hästarna blev feberfria snabbare vid behandling med oxitetracyklin, 93 % blev feberfria inom 1-2 dagar efter första oxitetracyklingivan medan 47 % av de som inte fick oxitetracyklin blev feberfria på 1-2 dagar och för övriga 53 % tog det 3-6 dagar från första veterinärbesöket. Även tiden till tillbaka till full träning var snabbare i gruppen som fick oxitetracyklin, dock var denna skillnad ej statistiskt signifikant. Det tog mer än 4 veckor för ca 40 % av hästarna oavsett om de fick oxitetracyklin eller inte. Risken för biverkningar var cirka tre gånger högre i gruppen som antibiotikabehandlades jämfört med gruppen som inte fick antibiotika.

SUMMARY

Equine granulocytic anaplasmosis (EGA) is caused by the bacteria *Anaplasma phagocytophilum*, spread by the tick *Ixodes ricinus*. *Anaplasma phagocytophilum* is an obligate intracellular organism that can infect many species such as cattle, sheep, dogs, horses and humans. The bacterium predominantly infects the neutrophils of the host and may in horses cause symptoms as fever, edema, depression and ataxia, but subclinical infections are common. Diagnostic tools include blood smears showing occlusion bodies, antibody analysis or PCR-assay.

The treatment of horses with symptoms in Sweden vary, some horses are treated with non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) alone while others receive both antibiotics and NSAIDs. Antibiotics used for treatment are tetracyclines, but according to empirical experience among Swedish veterinarians many horses are comfortable and recover without antibiotics. With increasing development of antibiotic resistance, it is desirable to reduce the administration of antibiotics. It is therefore interesting that equine granulocytic anaplasmosis is treated differently. Fatal cases in experimental studies of EGA has occurred but is very rare. Previously, chronic anaplasmosis has been discussed, but currently there is no research that proves the occurrence of chronic EGA.

In this study, questionnaires have been sent to owners whose horses tested positive for anaplasmosis with PCR-assay at Distriktsveterinärerna in 2017, a total of 74 completed questionnaires were received. The results show that the horses became free from fever faster when treated with oxytetracyclines, 93% became free from fever within 1-2 days after the first administration of oxytetracycline while 47% of the horses not receiving oxytetracycline became free from fever within 1-2 days and for the other 53% it took 3-6 days from the first veterinary appointment. The group receiving oxytetracycline went back to full training faster, however, it took more than 4 weeks for about 40% of the horses whether or not they received oxytetracycline. However, the risk of adverse reactions was three times higher in the group treated with antibiotics compared with the non-antibiotic group.

INNEHÅLL

INLEDNING	1
LITTERATURÖVERSIKT	2
<i>Bakterien</i>	2
Vektorer	2
Patogenes	3
Kliniska tecken	3
Kronisk infektion	4
<i>Diagnostik</i>	4
<i>Behandling</i>	5
Antibiotika	5
NSAID	6
MATERIAL OCH METODER	6
RESULTAT	8
DISKUSSION	10
POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING	13
<i>Bakterien</i>	13
<i>Diagnostik</i>	13
<i>Behandling</i>	13
<i>Resultat</i>	14
<i>Diskussion</i>	15
REFERENSER	16
BILAGA 1	1

INLEDNING

Granulocytär anaplasmos, vardagligt kallat anaplasma, är en fästingburen infektion som orsakas av bakterien *Anaplasma phagocytophilum*. Bakterien infekterar värdjurets neutrofiler och kan infektera många olika djurslag inklusive häst, hund, idisslare och människa. Hos häst kan symtom som feber, ödem, nedsatt allmäntillstånd och ataxi ses, men studier har visat att många hästar endast genomgår subklinisk infektion. Behandlingen av hästar som visar symtom varierar, vissa behandlas med enbart NSAID medan andra får både antibiotika och NSAID. Syftet med det här arbetet var att jämföra behandlingsresultat vid behandling med och utan antibiotika samt undersöka hur djurägare upplevde behandlingsresultatet. Vid behandling av granulocytär anaplasmos hos häst med antibiotika används oxytetracykliner eftersom det är, med undantag från rifampicin som endast får användas till föl med *Rhodococcus equi*-infektion inom veterinärmedicinen i Sverige, den enda verksamma antibiotikan mot *A. phagocytophilum*. Med ökande resistensproblem vid antibiotikaanvändning är det önskvärt att minska på administreringen av antibiotika, därför är det intressant att granulocytär anaplasmos hos häst behandlas så olika. Samtidigt är det en avvägning, dödsfall vid anaplasma hos häst har rapporterats. Hästarna svarar snabbt på behandling med oxytetracykliner och mår ofta bättre inom 24 timmar, medan de kan ha symtom under längre tid vid enbart NSAID-behandling.

LITTERATURÖVERSIKT

Bakterien

Ehrlichia, *Neorickettsia*, *Wolbachia*, *Cowdria* och *Anaplasma* är bakteriesläkten som infekterar eukaryota celler. Historiskt har de placerats tillsammans i grupper baserat på morfologiska, epidemiologiska och kliniska drag. *Ehrlichia*-gruppen bestod av ett antal olika bakterier som gav upphov till olika sjukdomar. Nyligen gjorda genetiska analyser av 16s RNA, groESL och ytprotein har visat släktskap mellan bakterierna och det har resulterat i en ny klassificering (Dumler *et al.*, 2001). I den nya klassificeringen anses *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophila* och bakterierna som orsakar human granulocytär ehrlichios (HGE) vara så pass nära besläktade att de klassats om som samma och en ”ny” art med namnet *Anaplasma phagocytophilum*. *A. phagocytophilum* är små, pleomorfa och orörliga kocker med en diameter på 0,3-0,4 µm (VetBact, 2018a). Bakterien är en obligat intracellulär organism som framförallt infekterar neutrofiler. Inne i cellen undviker bakterien degradering genom att inhibera den separata fagocytom, som den inneslutits i, från att fusera med lysosomer (Carlyon & Fikrig, 2003; Rikihisa, 1991). Bakterien förökar sig genom binär fission och bildar sedan inklusionskroppar, så kallade morulae, i cytoplasman. Dessa inklusionskroppar kan, med hjälp av mikroskop, ses i blodutstryk från infekterade hästar under feberfasen (Rikihisa, 1991). Enligt flera studier krävs det att fästingen suger blod i 40-48 timmar innan infektionen överförs (Hodzic *et al.*, 1998; Katavolos *et al.*, 1998). Det skulle då räcka att plocka bort fästingen inom 36 timmar från att den sätter sig för att börja äta, för att skydda hästen från infektion med *A. phagocytophilum*.

Seroprevalensen bland hästar i Canada har uppskattats till 0,53 % år 2015 (Schvartz *et al.*, 2015). Den rapporterade seroprevalensen för EGA i USA är 17,6 % och 3,8 % respektive i endemiska och icke-endemiska områden (Bullock *et al.*, 2000). I en studie av Madigan *et al.* (1990) var 50 % av friska hästar på en gård i ett endemiskt område seropositiva. Seroprevalensen i Sverige bland 2018 friska hästar som besökte en hästklinik var 16,6 %, det finns dock stora geografiska skillnader kopplade till fästingens utbredning (Egenvall *et al.*, 2001).

Vektorer

Bakterien sprids med fästingar, i Sverige är det den vanliga fästingen, *Ixodes ricinus*, som sprider *A. phagocytophilum*. Smittan kan även spridas med blod, och det var så hästar i studien av Franzen (2007) infekterades. Den epidemiologiskt viktiga smittvägen anses dock vara den via fästingar. Fästingarna infekteras när de som larver suger blod från ett infekterat reservoardjur och kan sedan sprida bakterien vidare både som nymf och adult. Vertikal överföring av infektionen från den adulta fästinghonan till avkommorna har hittills inte ansetts förekomma (Severinsson *et al.*, 2010). Andra bakterier såsom *Babesia* och *Theileria* finns dock i spottkörtlarna hos fästingnymfer som inte har fått något blodmål (Binnington & Kemp, 1980; Karakashian *et al.*, 1983; Piesman *et al.*, 1986) och det skulle kunna vara möjligt att fästingarna har *A. phagocytophilum* i sig, men i så låg nivå att det inte går att detektera innan bakterien hunnit uppföröka sig under tiden som nymfen äter (Massung *et al.*, 2007). Eftersom hästar ofta vistas mycket utomhus löper de högre risk att drabbas av fästingburna sjukdomar än djurslag som inte vistas lika mycket utomhus (Butler *et al.*, 2005).

Patogenes

Patogenesen för ekvin granulocytär anaplasmos är inte helt känd (Madigan & Pusterla, 2015). *Anaplasma phagocytophilum* sprids i blodet efter fästingbettet och replikationen sker i vakuoler, i huvudsak i neutrofiler. Det är oklart om bakterien orsakar direkt skada på cellerna, men vid in vitro-försök har cytolytisk aktivitet kunnat observeras (Goodman & Dumler, 1996). En rad olika inflammationsprocesser startas igång när bakterien tar sig in i organ som lever, lungor och mjälte. Denna ansamling av inflammatoriska celler lokalt kan, tillsammans med den systemiska proinflammatoriska responsen, leda till vävnadsskador i organen (Dumler *et al.*, 2000). Obduktion av experimentellt infekterade hästar har visat inflammatoriska lesioner i flertalet organ. In vitro-studier har visat att bakterien blockerar frisättningen av IL-6, IL-13 och TNF- α från benmärgsderiverade mastceller (Ojogun *et al.*, 2011).

Kliniska tecken

Sjukdomen kan drabba många olika djurslag, inklusive människa, och ge varierande symtom. Subkliniska infektioner förekommer, det innebär att hästar kan infekteras utan att visa några kliniska tecken (Egenvall *et al.*, 2001; Madigan & Pusterla, 2000). Gemensamt för djurslag som till exempel får, getter, nötkreatur, människor, hundar och hästar är att de kan få hög feber vid anaplasma (Dumler *et al.*, 2001; Stuen *et al.*, 2002). Hos hästar är inkubationstiden mindre än 14 dagar. Hästar kan drabbas av kliniska tecken som hög feber, inappetens, nedsatt allmäntillstånd, svullna ben och ataxi. Det första kliniska tecknet som infekterade hästar får är feber och det sista är benödem, det kan ta flera dagar in i feberfasen innan svullna ben ses (Franzen *et al.*, 2009). På blodbilden kan förändringar som trombocytopeni, neutropeni, lymfopeni och mild anemi ses (Gribble, 1969). Förändringarna på blodbilden är övergående (Franzen *et al.*, 2005). Enligt vissa studier kan även petechiella blödningar och ikterus förekomma. De kliniska symtomen går över på 7-14 dagar om hästen ej behandlas, men med tetracyklinbehandling blir hästen normalt symptomfri inom 24-48 timmar (Madigan & Pusterla, 2000; Franzen *et al.*, 2007; Sveriges Veterinärmedicinska Sällskap, 2013). Dödsfall på grund av anaplasma är mycket ovanligt, men har förekommit (Franzen *et al.*, 2007). Det finns också risk att hästar skadar sig illa i samband med granulocytär anaplasmos på grund av ataxi eller dödsfall efter bakteriell sekundärinfektion (Madigan, 1993).

I en studie av Franzén (2008) infekterades sex hästar genom infusion med blod som härrörde från ett kliniskt fall av granulocytär anaplasmos hos en svensk häst, dock avled en häst plötsligt. I studien av Franzén (2008) försvann kliniska tecken inom 14 dagar och övriga fem infekterade hästar hade återhämtat sig efter 21 dagar. Hästarna avlivades då och obducerades. Vid obduktion kunde inga specifika fynd kopplade till infektionen göras förutom tromboflebit efter kanyler för provtagning under studiens gång. Dessa kateter-relaterade komplikationer kunde även ses kliniskt innan avlivning (Franzén *et al.*, 2009).

Anaplasma phagocytophilum orsakar hos människa human granulocytic ehrlichiosis (HGE) med liknande symtom som hos häst. Det vanligaste är subklinisk infektion eller milda kliniska symtom, men mer allvarliga fall och även dödsfall har rapporterats (Bakken *et al.*, 1996).

Kronisk infektion

Det har i Sverige, och övriga världen, funnits teorier om att *A. phagocytophilum* skulle kunna orsaka kroniska infektioner hos häst. Dessa teorier bygger på att hästar med diffusa symtom som exempelvis ovillighet till arbete, trötthet, diffus hälta, stelhet och muskelömheter ibland har konstaterats seropositiva (Bjöersdorff & Myrin-Carlsson, 1998) och sedan behandlats framgångsrikt med tetracykliner (Franzén, 2008). I studien av Egenvall *et al.* (2001) kunde ingen korrelation mellan symtom som hälta, ridbarhetsproblem, artrit eller trötthet och antikroppstitrar för *A. phagocytophilum* ses. Kronisk infektion har däremot påvisats hos gnagare och får (Hoar *et al.*, 2008).

Diagnostik

Det finns flera olika diagnostiska metoder för anaplasma hos häst. Det är inklusionskroppar i blodutstryk, serologiska tester för att mäta antikroppstitrar och PCR-analys. I blodutstryk kan morulae, inklusionskroppar, ses ifrån mindre än 1 % upp till 30 % av neutrofilerna under feberfasen (Hoar *et al.*, 2008) och kan därför missas. Hos en del hästar kan inklusionskroppar inte ses förrän flera dagar in i feberfasen (Franzen *et al.*, 2008). Ett annat problem med att använda inklusionskroppar i blodutstryk för diagnostik av granulocytär anaplasmos är att falskt positiva tolkningar kan göras av exempelvis toxisk granulation eller Döhlekroppar (Walker, 1999). Diagnostik genom serologiska tester där mängden antikroppar mäts är möjlig, det finns både SNAP 4Dx ELISA-test och laboratoriebaserade IFA-test. En studie som testade båda dessa serologiska tester på 94 hästar visade låg sensitivitet för SNAP-testet där endast 2 av de 67 hästar som testade positivt i IFA-testet testade positivt (Madigan and Pusterla, 2000). SNAP-testet använder en peptid från P44-proteinet, vilket är känt som major surface protein 2 (MSP2), medan IFA-testet använder hela *A. phagocytophilum*-organismen i HL-60 celler (Chandra-shekar *et al.*, 2008) vilket kan korsreagera med besläktade rickettsial-bakterier (Magnarelli *et al.*, 2000). Hästar som träffat på bakterien är seropositiva i minst 8-12 månader (Van Andel *et al.*, 1998; Artursson *et al.*, 1999), för att fastställa pågående infektion krävs därför parprov. Serokonvertering skulle även kunna bero på infektion med icke-patogena stammar (Franzen *et al.*, 2005).

Den mest pålitliga diagnostiska metoden är PCR-analys (Franzen *et al.*, 2005). 16S rRNA-genen som sekvenserades av Franzén (2005) har visats vara identisk med *A. phagocytophilum* som sekvenserats från svenska hästar av Johansson *et al.* (1995) och Engvall *et al.* (1996). Det finns flera olika primers som kan användas vid detektering av *A. phagocytophilum* (Massung & Slater, 2003). Vid experimentell infektion blir PCR-test positivt flera dagar innan de första kliniska tecken på infektion kan ses (Franzen *et al.*, 2005). Odling av bakterien i cellkultur är möjligt, men görs mest i forskningssammanhang. Var tredje fästing som var PCR-positiv gick att isolera vid odling i cellinjen ISE6 (Massung *et al.*, 2007).

Differentialdiagnoser till granulocytär anaplasmos är viral artrit, purpura hemorrhagica, encephalit, leversjukdom (Madigan & Pusterla, 2000) eller övrig systemisk infektion med feber.

Behandling

Antibiotika

Flera in vitro-studier har visat att *Anaplasma phagocytophilum* från häst, hund och människa är mest känsliga mot doxyciklin (tetracyclin), rifampin och ciprofloxacin (kinoloner). Total resistens har observerats mot penicillin, ampicillin, ceftiaxon och streptomycin. Kombination av sulfamethoxazol och trimetoprim har visats ha viss, men inte fullständig, effekt i höga koncentrationer (Maurin *et al.*, 2003; Woldehiwet, 2010). Den enda antibiotikagrupp som används inom veterinärmedicin mot *Anaplasma phagocytophilum* är oxytetracykliner. Oxytetracykliner hör till gruppen tetracykliner, vilket är en grupp bredspektrumantibiotika som är aktiv mot gramnegativa, grampositiva, anaeroba och intracellulära bakterier (Rang *et al.*, 2012). Tetracykliner tas upp av bakterien genom aktiv transport och verkar genom att binda till ribosomens 30s-enhet vilket inhiberar proteinsyntesen (del Castillo, 2013). På grund av utbredd resistens används inte tetracykliner så ofta inom humanvården. Resistensen överförs i huvudsak genom plasmider och eftersom generna som styr resistens mot tetracykliner är nära associerade med gener som är involverade i resistens mot andra antibiotikagrupper, kan organismer utveckla resistens mot många olika antibiotikagrupper samtidigt, så kallad korsresistens (Rang *et al.*, 2012). Resistens mot tetracykliner kan orsakas av flera olika resistensmekanismer. En av de vanligaste mekanismerna innebär att koncentrationen av antibiotika i bakterien sänks genom energiberoende effluxpumpar och minskar på så sätt antibiotikans effekt. En annan vanlig mekanism för resistens är ribosomal skyddsproteiner som motverkar att tetracyklinerna når sitt bindningsställe (del Castillo, 2013).

Rekommenderad dos för behandling av anaplasma hos häst är 6–7 mg/kg. Studier har visat att behandlingen är effektiv om den ges under 5–7 dagar (Madigan & Pusterla, 2000) men studier på optimal behandlingstid saknas. Vid tetracyklinbehandling av granulocytär anaplasma hos häst avtar symtomen snabbt och hästarna är ofta symtomfria inom

12–48 timmar, vilket talar för att tre dagars behandling skulle kunna räcka (Madigan & Pusterla, 2000). På grund av risken för biverkningar och resistensutveckling är en så kort behandlingstid som möjligt lämpligt att eftersträva (Sveriges Veterinärmedicinska Sällskap, 2013). Tetracykliner har många möjliga biverkningar, men anses trots det ha relativt säkra terapeutiska koncentrationer. Den vanligaste biverkningen är gastrointestinal påverkan genom direkt påverkan och irritation av tarmen och sedan på grund av förändrad tarmflora (Rang *et al.*, 2012). I en studie fick totalt 8 hästar en dos på 27–40 mg/kg och av dessa avled 6 stycken. Obduktion visade att de drabbats av akut hemorragisk tyflit och kolit med en överväxt av framför allt *Clostridium perfringens* (Andersson *et al.*, 1971). Andra biverkningar som kan förekomma är emaljhyperplasi, missfärgning av tänder, njurskador, tillväxtrubbningar, hepatotoxicitet och fototoxicitet, inom humanvården avrådes därför behandling av barn och gravida (FASS, 2016). Tetracykliner ska injiceras långsamt eftersom det annars finns risk för kardiovaskulär påverkan med blodtrycksfall och kollaps (Gyrd-Hansen *et al.*, 1981). Det finns fall beskriva där hästar kollapsat med snabb och ansträngd andning, hög puls, tegelröda slemhinnor och okontrollerade benrörelser (Potter, 1973).

Förutom sin antimikrobiella effekt har tetracykliner visat sig kunna förhindra nedbrytningen av kollagen och används därför inom humanvården vid artrit eftersom den inhiberar

brosknedbrytning (Attar, 2009). De har även en antiinflammatorisk effekt och används inom veterinärmedicinen för att relaxera kontraherade böjsenor hos föl (FASS, 2016; Kidd *et al.*, 2002). Konsensus idag är att kronisk ekvin granulocytär anaplasmos ej förekommer. Tidigare förekom försöksbehandling med tetracykliner av patienter med diffusa symtom, ibland med bra resultat. De positiva resultaten berodde dock sannolikt på en uttalad antiinflammatorisk effekt, vilket lett till en överdriven användning av tetracykliner som i sin tur drivit resistensen. Bland bakterier resistenta mot tetracykliner finns exempelvis gramnegativa tarmbakterier samt anaeroba bakterier (FASS, 2016). Resistensen anses fortfarande låg hos de intracellulära bakterierna *Anaplasma*, *Chlamydia* och *Ehrlichia* (del Castillo, 2013). Andra indikationer för tetracykliner är bland annat infektion med *Lawsonia intracellularis* hos äldre föl, ofta 3-7 månader gamla. *Lawsonia intracellularis* kan orsaka, diarré, kolik, hypoproteinemi och viktminskning hos äldre föl och infektioner har rapporterats i flera andra länder, men är ovanligt. Även klinisk borrelios är en indikation för användning av tetracykliner, men det är idag ej säkerställt att diagnosen existerar hos häst (Sveriges Veterinärmedicinska Sällskap, 2013).

NSAID

Icke-steroida antiinflammatoriska läkemedel (NSAID) kan användas ensamt eller i kombination med tetracykliner vid granulocytär anaplasmos för sin antipyretiska effekt. Monocytär "ehrlichios" hos häst, på engelska Potomac horse fever, orsakas av *Neorickettsia risticii* som tillhör familjen Anaplasmataceae och förekommer bland annat i USA och Kanada, men har även påvisats i både Frankrike och Italien (VetBact, 2018b). Till hästar med monocytär "ehrlichios" har NSAID som flunixin och fenylbutazon visat sig var välfungerande behandling i tidigt stadium (Rikihisa, 1991). Empirisk erfarenhet från svenska veterinärer i klinisk verksamhet visar att NSAID kan vara tillräckligt vid behandling av granulocytär anaplasmos (Statens Veterinärmedicinska Anstalt, 2018). Forskning angående NSAID vid granulocytär anaplasmos saknas dock (Gunnarsson, 2016).

Trots att behandling med oxytetracykliner har väldokumenterad effekt vid infektion med *Anaplasma phagocytophilum* så finns det nackdelar, dels i form av biverkningar av medicinen och dels stor risk för resistensutveckling vid användning av antibiotika. Det finns tydliga bevis för att hästar kan klara av att eliminera infektionen utan antibiotika och det skulle därför vara intressant och värdefullt att kontrollera skillnader i behandlingsresultat mellan de som får oxytetracykliner och de som inte får de vad gäller till exempel antal dagar med symtom, tid till tillfrisknade, risken för komplikationer etcetera.

MATERIAL OCH METODER

Litteratursökning har gjorts i databasen Web of Science med kombinationer av sökorden *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia*, horse OR equine, treatment, tetracycline OR oxytetracycline. Ytterligare referenser kunde hämtas från relevanta artiklar. Informationssökningar har även gjorts på aktuella myndigheters hemsidor, till exempel Läkemedelsverket och Statens veterinärmedicinska anstalt. Information om verkningsmekanism hos läkemedel har hämtats från boken Rang and Dale's Pharmacology (Rang *et al.*, 2012) och FASS hemsida.

För den praktiska delen med djurägarenkäter användes Distriktsveterinärernas databas över hästar som testats för *Anaplasma* med PCR under perioden 2017-01-01 till 2017-12-31 vid alla Distriktsveterinärernas stationer. Totalt testade Distriktsveterinärerna 355 hästar under 2017, av dessa testade 132 hästar positivt. Totalt skickades djurägarenkät ut till 128 av dessa hästars ägare, för resterande fyra hästar saknades mail och telefonnummer varför det ej gick att skicka enkäten till dessa. Djurägarenkäten besvarades av 79 personer, varav 76 slutförde enkäten. Detta ger en svarsfrekvens på 59,4 %. Djurägarenkäten bestod av 25 frågor där första frågan gällde hästens namn, övriga frågor var kryssfrågor med möjlighet till fritext (Bilaga 1). Hästens namn efterfrågades dels för att kunna kontrollera svaren mot journalen och dels för att stämma av så att djurägaren svarat för den häst som testat positivt med PCR. Enkäten inleddes med sex stycken deskriptiva frågor och därefter frågor angående sjukdomsförlopp, medicinering och eventuella biverkningar. I de fall djurägarens svar och journalen ej stämte överens har journalen ansetts korrekt, exempelvis för hästens kroppstemperatur vid veterinärbesök och medicinering. Eventuella kommentarer har noterats och i vissa fall redovisats, exempelvis gällande komplikationer till behandling. Studieresultaten baseras dock främst på kryssfrågorna och kommentarerna har främst använts för ökad förståelse av djurägarens upplevelse och som diskussionsunderlag. Frågorna var framtagna med biträdande handledare Camilla Ahrenbring och kontrollerades av handledare John Pringle.

RESULTAT

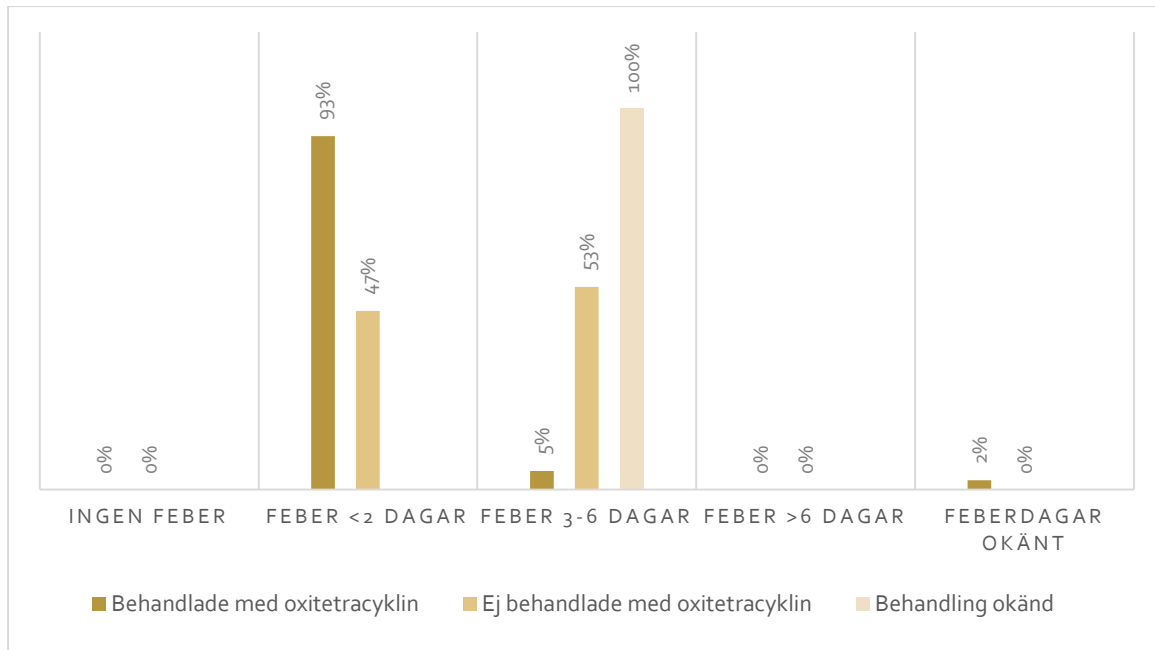
Totalt skickade Distriktsveterinärerna 367 prover från 355 hästar för analys för *Anaplasma* via PCR under 2017. Av dessa prover var det nio stycken prov som ej analyserades, 23 provsvar saknas i journalen, 136 prover var positiva och resterande 199 prover var negativa. Två hästar som testade positivt testades vid tre tillfällen, totalt var det alltså 132 hästar som testades positivt. Djurägarenkäten skickades till 128 av dessa hästars ägare, för resterande fyra ägare saknades mailadress och telefonnummer. Djurägarenkäten besvarades av 79 hästägare varav 76 slutförde enkäten, resterande tre djurägare svarade ej längre än till tredje frågan och har därför plockats bort. Två ägare hade svarat för en annan häst än den som testade positivt med PCR och dessa svar har därför tagits bort ur studien. Totalt har alltså 74 fullständiga enkätsvar kommit in och använts i studien. Det var fler hingstar och valacker bland svaren jämfört med ston, 57 % valacker, 4 % hingstar och 39 % ston. 73 % av hästarna i studien var i åldern 3-15 år, 18 % var äldre än 15 år och 9 % var under 3 år, endast en häst var under 1 år vid tiden för infektion.

55,4 % av hästarna behandlades med oxitetracyklin, 43,2 % fick endast NSAID, 2,7 % fick varken oxitetracyklin eller NSAID. En häst åkte till djursjukhus för behandling, för detta fall har djurägarens enkätsvar använts som enda källa då undertecknad ej haft tillgång till denna hästs journal. Hästar som behandlades med oxitetracyklin löpte tre gånger högre risk att drabbas av komplikationer som exempelvis reaktion på injektionsplatsen och lös avföring, jämfört med de som inte fick oxitetracyklin, 39 % respektive 12,5 % (Tabell 1). Detta är en signifikant statistisk skillnad, p-värdet för komplikationsrisk bland hästar där behandlingsmetod är känd är 0,0167. En häst avlivades i direkt samband med infektionen. Denna häst fick oxitetracyklin från första veterinärbesöket och i 5 dagar. Hästen svarade initialt på behandling men sedan förvärrades graden av ataxi och beslut om avlivning togs på grund av avvaktande prognos som tävlingshäst. En häst som inte fick oxitetracyklin avlivades drygt 6 månader efter konstaterad ekvin granulocytär anaplasmos. Hästen var vid igångsättning halt, vidare utredning visade även närliggande tornutskott och hästen avlivades då den ej svarade tillfredsställande på behandling.

Tabell 1. *Komplikationer vid olika behandlingsmetoder vid Anaplasma phagocytophilum hos häst*

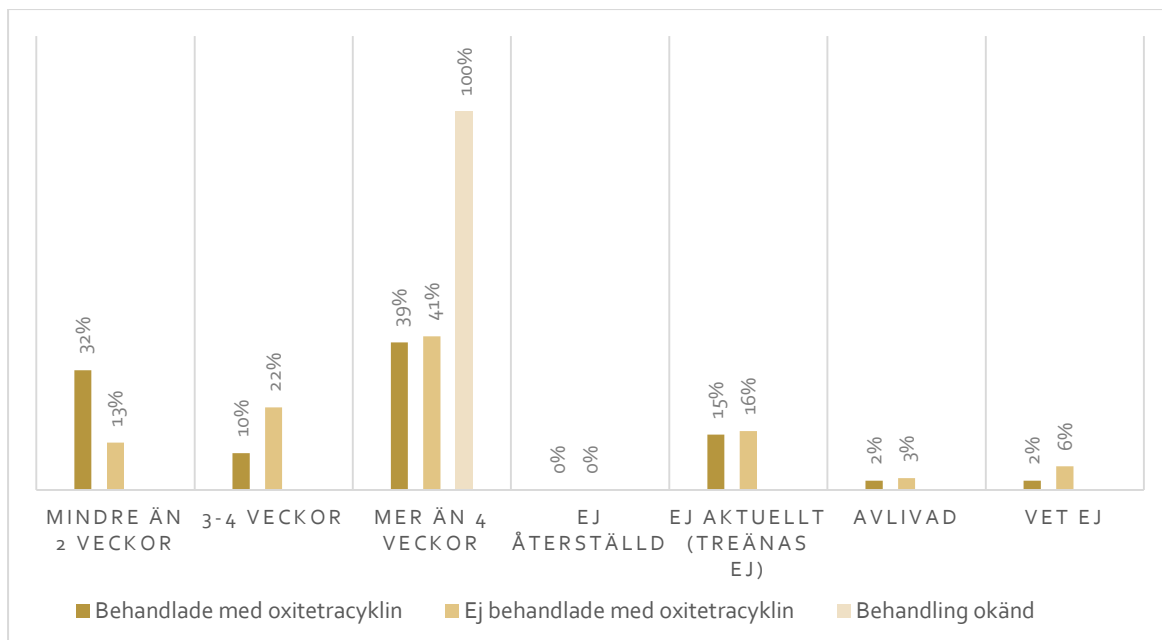
Oxitetracyklin	Ja	Nej	Vet ej	Totalt
Komplikationer				
Ja	16	4	0	20
Nej	25	28	1	54
Totalt	41	32	1	74

93 % av hästarna som behandlades med oxitetracykliner blev feberfria inom 2 dagar efter första givan av oxitetracykliner. I gruppen som ej behandlades med oxitetracykliner blev 47 % feberfria inom två dagar från första veterinärbesöket, medan resterande 53 % blev feberfria efter 3-6 dagar efter första veterinärbesöket (Figur 1). P-värdet för antal dagar med feber efter första behandlingsdag bland hästar där behandlingsmetod är känd är <0,0001.



Figur 1. Antal dagar med feber efter första behandlingsdag.

För ungefär 4 av 10 hästar tog det 4 veckor eller mer till de var tillbaka i full träning, oavsett om de behandlats med oxitetracykliner eller inte. 32 % av hästarna som behandlades med oxitetracykliner var tillbaka i full träning inom två veckor, medan samma siffra för gruppen som ej fick oxitetracykliner var 13 % (Figur 2). P-värdet för statistik gällande tid tillbaka till full träning bland hästar där träning var aktuell och behandlingsmetoden känd är 0,1. Median i återhämtningstid för de hästar som kommer tillbaka till full träning är 3-4 veckor i den grupp som behandlades med oxitetracyclin och mer än 4 veckor i den andra gruppen.



Figur 2. Presentation av resultat av återhämtningstid vid olika behandlingar.

En häst fick en reaktion vid andra givan av oxitetracyclin. Ungefär 10 minuter efter oxitetracyclingivan reagerade hästen med urtikaria, muskelfascikulationer och ataxi. Oxitetracyclin-behandlingen avbröts och hästen fick enbart NSAID under resterande behandling.

DISKUSSION

Infektion med *Anaplasma phagocytophilum* är relativt vanligt hos häst i Sverige med en seroprevalens på 16,6 % hos svenska hästar (Egenvall *et al.*, 2001). Seroprevalensen i Engvallstudien skulle, som de själva säger, kunna vara högre än i studien eftersom proverna togs på klinik där hobbyhästar, föl och avelsston ofta är underrepresenterade. Istället är det främst tävlingshästar och dessa går mer sällan i hagar med högt gräs, där risken för fästingbett är högre. Det är dock långt ifrån alla som får några kliniska symtom, subklinisk infektion är vanligt (Dumler *et al.*, 2000). I Sverige används oxytetracykliner för behandling av granulocytär anaplasmos, men risken för resistensutveckling vid användning av tetracykliner är stor (del Castillo, 2013). Empirisk erfarenhet av veterinärer i Sverige är att många hästar med ekvin granulocytär anaplasmos klarar sig bra på enbart NSAID, uppfattningen är dock att det är stor variation i behandling av anaplasmos hos häst. Utöver det faktum att både veterinärer och läkare ska eftersträva en mer återhållsam användning av antibiotika blir det också en ekonomisk fråga för djurägare, då de flesta hästar som fått oxitetracyklin i studien har fått det i 3-5 dagar. Oxitetracyklin måste ges intravenöst, vilket medför att veterinärer får administrera det. Det blir därför många veterinärbesök, och inte sällan blir det besök på helgen med jourtillägg för oxitetracyklinbehandling. Syftet med det här arbetet är att undersöka om det finns skillnader i behandlingsresultat, återhämtningstid och eventuella komplikationer mellan de hästar som behandlas med oxitetracyklin jämfört med hästar som ej behandlas med oxitetracyklin.

Anaplasma phagocytophilum kan orsaka patologiska förändringar med inflammatoriska lesioner i ett flertal organ och dödsfall har förekommit, men är ovanligt. Vid obduktion av häst som dött av ekvin granulocytär anaplasmos påträffades förändringar i enlighet med disseminerad intravasal koagulation (DIC) (Franzen *et al.*, 2007). Det är därmed inte riskfritt för en häst att drabbas av ekvin granulocytär anaplasmos och behandling bör avgöras från fall till fall. Självklart ska oxitetracyklin ges till hästar som är mycket påverkade eller har en ataxi som är så pass kraftig att det utgör en fara för antingen hästen själv eller personer runt hästen som ska hantera den, samt hästar som ej svarar tillräckligt tillfredsställande på endast NSAID och bedöms vara så pass påverkade att de lider under tiden som infektionen läker ut.

Resultatet av djurägarenkäten visar signifikant högre risk för biverkningar hos hästar som behandlades med oxitetracyklin, tre gånger högre i gruppen som behandlades med oxitetracyklin jämfört med gruppen som inte fick det. Majoriteten av de hästar som behandlades med oxitetracyklin fick även NSAID, antingen endast vid första besöket eller efterföljande dagar. Det går därför ej att med säkerhet fastställa vilket av dessa läkemedel som orsakat biverkningen. I det här arbetet har inte typ av komplikation redovisats, utan endast om hästen fick komplikationer eller inte. I djurägarenkäten efterfrågades dock typ av komplikation och vid genomgång av enkäten är en frekvent återkommande komplikation i oxitetracyklingroupen reaktion i kärlet och lös avföring. Andra rapporterade komplikationer är bland annat avmagering och svullna ben i över en vecka efter att febern sjunkit till normaltemperatur. En häst fick en misstänkt anafylaktisk reaktion ungefär 10 minuter efter andra oxitetracyklingsivan, men återhämtade sig utan ytterligare läkemedel. Ingen häst har dock fått dödliga biverkningar av oxitetracyklin i denna studie.

När det gäller behandlingsresultatet så visar djurägarenkäten att majoriteten av hästarna som fick oxitetracyklin blev feberfria inom 2 dagar från första givan. I gruppen som inte fick oxitetracyklin var det ungefär lika många hästar som hade feber i 1-2 dagar som de som hade feber i 3-6 dagar efter första veterinärbesöket. Det går alltså att se en signifikant skillnad i hur snabbt hästarna blir feberfria, men alla hästar har blivit feberfria inom 6 dagar. I arbetet har antalet dagar med feber för de hästar som fått oxitetracyklin beräknats från första givan, dock har vissa hästar inte fått oxitetracyklin vid första veterinärbesöket vilket, till viss del, skulle kunna förklara den stora skillnaden mellan grupperna.

Återhämtningstiden till full träning varierar något mellan grupperna, men det finns ingen signifikant skillnad. I båda grupperna var det ca 15 % av hästarna som ej tränades på grund av exempelvis ålder eller tidigare skador. För ungefär 40 % av hästarna tog det 4 veckor eller mer innan de var tillbaka till full träning, detta gäller båda grupperna. 32 % av alla hästar som behandlades med oxitetracyklin var tillbaka i full träning inom 2 veckor, medan motsvarande siffra för den andra gruppen var 13 %, men då p-värdet är 0,1 är denna skillnad inte signifikant. Några uppföljande blodprover eller andra undersökningar gjordes inte för att besluta om hästarna var redo att tränas igen utan var upp till djurägarna själva att avgöra. Det kan därför vara så att hästar både hade kunnat börja tränas tidigare, men också att vissa hästar börjar tränas för tidigt. Någon definition av full träning har inte angetts och det skulle därför kunna variera mellan djurägare när de anser att hästen är tillbaka i full träning. En annan faktor som kan påverka hur lång tid det tog innan hästarna kom tillbaka till full träning är att många hästar som drabbas av ekvin granulocytär anaplasmos drabbas under sommaren när många hästar ändå har en inplanerad viloperiod på bete. Någon skillnad mellan grupperna huruvida hästarna blev återställda eller inte kunde inte heller påvisas.

Det finns flera möjliga felkällor i studien. I urvalet har endast hästar som testades positivt för anaplasma via PCR hos Distriktsveterinärerna inkluderats. Det upplevs vara många hästar som ej testas via PCR, men som ändå får diagnosen ekvin granulocytär anaplasmos och vissa behandlas med oxitetracyklin. Det skulle kunna vara så att de hästar som är mest påverkade vid besöket får oxitetracyklin och om hästen svarar bra på det så skickas inget prov för PCR. Det bör även tas i beaktande vilka djurägare som svarat på djurägarenkäten och vilka som inte svarat. Det skulle kunna vara så att de som är mest missnöjda svarar i hopp om att deras svar ska leda till någon förändring som kan hjälpa andra hästar i framtiden. Vid genomgång av de djurägare som ej svarat på den utskickade enkäten är flera av den typen som har många hästar, som till exempel ridskolor och travtränare där sannolikheten att de haft flera sjuka hästar under året är stor och att de helt enkelt inte kommer ihåg sjukdomshistoria för den häst enkäten gällde. I det här arbetet har djurägaren svarat på frågor angående hästens återhämtning och djurägarens förväntningar skulle kunna påverka resultatet. I framtiden skulle det vara intressant med en blindad studie för att minska risken för att djurägarens förväntningar påverkar resultaten.

Sammanfattningsvis visar detta arbete att hästar som fått oxitetracyklin i genomsnitt blir feberfria snabbare än de som inte får oxitetracyklin, men endast 1–4 dagar snabbare. Risken för komplikationer är tre gånger högre vid oxitetracyklinbehandling. Däremot fanns det ingen signifikant skillnad i tiden det tog innan hästarna kom tillbaka till full träning. Tid tillbaka till full träning är dock ett något osäkert mått eftersom det kan variera mellan olika ägare, hur länge

de väljer att vila sina hästar och vad de klassar som full träning. Det finns därmed faktorer som talar både för och emot oxitetracyklinbehandling. Faktorer som talar mot oxitetracyklinbehandling är exempelvis risk för antibiotikaresistens, ökad komplikationsrisk, ekonomiska förluster för djurägaren och att det inte finns någon signifikant skillnad mellan grupperna i tid innan full träning. Faktorer som talar för oxitetracyklinbehandling är exempelvis att hästarna blir feberfria snabbare och att det har förekommit dödsfall kopplade till obehandlad ekvin granulocytär anaplasmos. Vilken typ av behandling som är mest lämplig varierar från fall till fall och avgörs alltid av behandlande veterinär, exempelvis utgör mycket vingliga hästar en fara för både sig själva och sina skötare. I de fall då hästen har kraftiga symtom eller är mycket allmänpåverkad är det alltså indicerat att ge oxitetracyklin eftersom de i snitt återhämtar sig något snabbare och symtomen minskar snabbare jämfört med de som inte får oxitetracyklin.

I enkäten framför en del djurägare ett missnöje över att antibiotika inte har satts in alls, eller att antibiotikan ej sattes in vid första veterinärbesöket. Många djurägare, både i gruppen som fått oxitetracyklin och gruppen som ej fått oxitetracyklin, är dock väldigt nöjda och tacksamma över den hjälp de fått av veterinärerna i fält.

POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Bakterien

Ekvin granulocytär anaplasmos, eller anaplasma, hos häst orsakas av bakterien *Anaplasma phagocytophilum*. Det är en intracellulär bakterie, vilket innebär att den lever och förökar sig inne i celler, som främst hittas i en typ av vita blodceller som heter neutrofiler. Bakterien sprids med fästingar och kan infektera många olika djurslag som exempelvis häst, hund, nötkreatur, får och människa. Många gånger kan inga kliniska tecken ses, en så kallad subklinisk infektion, men om symtom ses så yttrar sig anaplasma väldigt lika på de olika djurslagen med feber och nedsatt allmäntillstånd. Hos häst kan ibland andra kliniska tecken som till exempel svullna ben, vinglighet (ataxi), nedsatt aptit och gulaktiga (ikteriska) slemhinnor ses. Hos häst kan kroppstemperaturen snabbt stiga till över 40°C. Dödsfall har förekommit men är mycket ovanligt. Tidigare trodde många att hästar kunde drabbas av kronisk anaplasma, men flera studier har gjorts och det finns inga bevis för att kroniska fall förekommer.

Diagnostik

För att diagnosticera ekvin granulocytär anaplasmos finns flera olika metoder, som alla innefattar blodprov. Den första metoden innebär att veterinären letar efter så kallade inklusionskroppar i de vita blodcellerna som kallas neutrofiler. Det görs genom att en droppe blod stryks ut på ett mikroskopsglas och färgas med en speciell färgning, Giemsa-färgning, för att upptäcka inklusionskroppar i mikroskop. Inklusionskropparna innehåller bakterier som förökat sig, dessa kan dels vara svåra att upptäcka och vad som räknas som inklusionskroppar kan variera mellan olika betraktare. Dessutom kan inte inklusionskropparna ses förrän några dagar in i feberfasen, så i ett tidigt stadium kan diagnos ej ställas genom blodutstryk. Den andra metoden innebär att man analyserar blodet för antikroppar mot bakterien *Anaplasma phagocytophilum*. Ett positivt antikroppsprov visar dock bara att hästen har stött på bakterien, inte att bakterien orsakar någon sjukdom. Detta prov har visat sig kunna vara positivt i minst 8-12 månader efter experimentell infektion av hästar. För att kunna uttala sig om bakterien finns kvar i kroppen krävs ett så kallat parprov, vilket innebär att man mäter nivån av antikroppar med en tids mellanrum för att se om mängden antikroppar stiger. Det senaste metoden är den metod som anses ge mest pålitliga resultat idag och heter Polymerase Chain Reaction (PCR). PCR innebär att bakteriens genetiska material kopieras upp till så hög mängd att det går att detektera, finns inte bakterien så sker ingen kopiering. Med hjälp av PCR går det alltså att avgöra om bakterien fortfarande finns i kroppen, inte som med antikroppstest där det endast går att avgöra om hästen stött på bakterien de senaste 8-12 månaderna eller inte.

Behandling

I Sverige är erfarenheten bland veterinärer som jobbar kliniskt att många hästar som får symtom vid infektion med *A. phagocytophilum* klarar sig bra på enbart icke-steroid antiinflammatorisk medicin (NSAID) och utan antibiotika. Det är dock stor skillnad mellan olika veterinärer hur anaplasma behandlas. Antibiotikasorten som används vid anaplasma är oxitetracykliner. Risken för resistensutveckling vid användning av oxitetracykliner är stor och med tanke på de ökande resistensproblemen mot antibiotika, bör antibiotika endast användas när det är nödvändigt. Syftet med den här studien är att jämföra behandlingsresultat vid antibiotikaanvändning jämfört med att inte ge antibiotika vid kliniska fall av anaplasma hos häst.

Resultat

För att studera behandlingsresultatet vid oxitetracyklinbehandling vid ekvin granulocytär anaplasmos har en retrospektiv fall-kontrollstudie genomförts. En webbaserad djurägarenkät skickades till djurägare vars hästar testade positivt för *Anaplasma* via PCR genom Distriktsveterinärerna under 2017. Enkäten skickades till 128 hästägare och 74 fullständiga enkätsvar erhöles. Det var signifikant fler hingstar och valacker bland svaren jämfört med ston, 57 % valacker, 4 % hingstar och 39 % ston. 73 % av hästarna i studien var i åldern 3-15 år, 18 % var äldre än 15 år och 9 % var under 3 år, endast en häst var under 1 år vid tiden för infektion.

55,4 % av hästarna behandlades med oxitetracyklin, 43,2 % fick endast NSAID, 2,7 % fick varken oxitetracyklin eller NSAID. NSAID är antiinflammatoriska mediciner som även är febernedsättande. I Sverige säljs olika NSAIDs under produktnamn, som exempelvis Metacam© och Flunixin©. De som behandlades med oxitetracyklin löpte tre gånger högre risk att drabbas av komplikationer som exempelvis reaktion på injektionsplatsen och lös avföring, jämfört med de som inte fick oxitetracyklin, 39 % respektive 12,5 % (Tabell 1). P-värdet för komplikationsrisk bland hästar där behandlingsmetod är känd är 0,0167, vilket innebär att det är en signifikant skillnad.

Tabell 1. *Komplikationer vid olika behandlingsmetoder vid Anaplasma phagocytophilum hos häst*

Oxitetracyklin	Ja	Nej	Vet ej	Totalt
Komplikationer				
Ja	16	4	0	20
Nej	25	28	1	54
Totalt	41	32	1	74

93 % av hästarna som behandlades med oxitetracyklin blev feberfria inom 2 dagar efter första givan av oxitetracyklin. I gruppen som inte behandlades med oxitetracyklin blev 47 % feberfria inom två dagar från första veterinärbesöket, medan resterande 53 % blev feberfria efter 3-6 dagar från första veterinärbesöket. P-värdet är <0,0001 vilket innebär att skillnaden är signifikant.

För ungefär 4 av 10 hästar tog det 4 veckor eller mer till de var tillbaka i full träning, oavsett om de behandlats med oxitetracykliner eller inte. 32 % av hästarna som behandlades med oxitetracykliner var tillbaka i full träning inom två veckor, medan samma siffra för gruppen som ej fick oxitetracykliner var 13 %. Antalet hästar i det här arbetet var dock så pass lågt att detta inte är någon signifikant skillnad, p-värdet för statistik gällande tid tillbaka till full träning bland hästar där träning var aktuell och behandlingsmetoden känd är 0,1. Median i återhämtningstid för de hästar som kommer tillbaka till full träning är 3-4 veckor i den grupp som behandlades med oxitetracyklin och mer än 4 veckor i den andra gruppen.

En häst fick en reaktion vid andra givan av oxitetracyklin. Ungefär 10 minuter efter oxitetracyklingivan reagerade hästen med nässelutslag, muskeldarrningar och vinglighet.

Oxitetrazyklinbehandlingen avbröts och hästen fick enbart NSAID under resterande behandling, vilket den återhämtade sig bra med.

Diskussion

Resultatet i den här studien visar att risken för biverkningar är tre gånger högre i gruppen som fick oxitetrazyklin, jämfört med gruppen som inte fick någon antibiotika. De vanligaste biverkningarna i oxitetrazyklingroupen var diarré och reaktioner i kärlet där läkemedlet getts. Majoriteten av hästarna som fick oxitetrazyklin blev feberfria inom 2 dagar från första givan. I gruppen som inte fick oxitetrazyklin var det ungefär lika många hästar som hade feber i 1-2 dagar än de som hade feber i 3-6 dagar efter första veterinärbesöket. Det går alltså att se en tydlig skillnad i hur snabbt hästarna blir feberfria, men alla hästar har blivit feberfria inom 6 dagar.

När det gäller hur lång tid det tagit innan hästarna har kunnat tränas som vanligt igen tog det för 4 av 10 hästar mer än 4 veckor, oavsett om de fick oxitetrazyklin eller inte. I båda grupperna var det ca 15% av hästarna som ej tränades på grund av exempelvis ålder eller tidigare skador. Nästan en tredjedel av alla hästar som behandlas med oxitetrazyklin var åter i full inom 2 veckor medan motsvarande siffra för den andra gruppen var 13 % denna skillnad är dock inte statistiskt signifikant eftersom underlaget i det här arbetet är så pass litet. Några uppföljande blodprover eller andra undersökningar gjordes inte för att besluta om hästarna var redo att tränas igen utan var upp till djurägarna själva att avgöra i samråd med veterinärernas allmänna rekommendationer. Det innebär att vissa hästar kanske hade kunnat börja tränas tidigare, men också att vissa hästar kan ha börjat tränas för tidigt. Någon definition av full träning har inte angetts och det skulle kunna variera mellan djurägare när de anser att hästen är tillbaka i full träning. Många hästar som drabbas av anaplasma gör det under sommaren, det kan därför vara så att en del hästägaren väljer att låta hästen vila längre än det egentligen är nödvändigt för att hästen går på bete eller djurägaren är iväg på semester.

Sammanfattningsvis visar detta arbete att hästar som fått oxitetrazyklin i genomsnitt blir feberfria snabbare än de som inte får oxitetrazyklin, men endast 1-4 dagar snabbare. Risken för komplikationer är tre gånger högre vid oxitetrazyklinbehandling. Resultaten i den här undersökningen visar ingen signifikant skillnad i återhämtningstid tills hästen är tillbaka i full träning. Det finns därmed faktorer som talar både för och emot oxitetrazyklinbehandling. Fördelen med att inte ge oxitetrazyklin är dels att risken för komplikationer minskar och att antibiotikaresistensen drivs inte på. Det är även en ekonomisk fördel, oxitetrazyklin måste ges direkt i blodet vilket innebär att endast veterinärer får ge det och det leder till många veterinärbesök. Vilken typ av behandling som är mest lämplig varierar från fall till fall och avgörs alltid av behandlande veterinär. I de fall då hästen har kraftiga symtom eller är mycket allmänpåverkat är det alltså indicerat att ge oxitetrazyklin eftersom de i snitt återhämtar sig något snabbare och symtomen minskar snabbare jämfört med de som inte får oxitetrazyklin.

I den här undersökningen har djurägaren fått svara på frågor angående hästens återhämtning. I framtiden skulle det vara intressant med forskning där undersökningen är blindad så att djurägaren inte vet om hästen får oxitetrazyklin eller inte. Detta för att minska risken för att djurägarens förväntningar påverkar resultaten.

REFERENSER

- Andersson, G., Ekman, L., Månsson, I., Persson, S., Rubarth, S. & Tufvesson, G. (1971). Lethal complications following administration of oxytetracycline in the horse. *Nordisk Veterinärmedicin*, 1971(23), pp 9–22.
- Artursson, K., Gunnarsson, A., Wikström, U.-B. & Engvall, E. O. (1999). A serological and clinical follow-up in horses with confirmed equine granulocytic ehrlichiosis. *Equine Veterinary Journal*, 31(6), pp 473–477.
- Bakken, J. S., Krueh, J., Wilson-Nordskog, C., Tilden, R., Asanovich, K. & Dumler, J. S. (1996). Clinical and laboratory characteristics of human granulocytic ehrlichiosis. *Journal of American Medical Association*, (275(3)), pp 199–205.
- Binnington, K. C. & Kemp, D. H. (1980). Role of tick salivary glands in feeding and disease transmission. *Advances in Parasitology*, 1980(18), pp 315–339.
- Bjöersdorff A., Myrin-Carlsson I. (1998) Borrelios och ehrlichios hos häst – modediagnos eller reellt problem? *Svensk Veterinärtidning*, 50,197-201.
- Bullock, P. M., Ames, T. R., Robinson, R. A., Greig, B., Mellencamp, M. A. & Dumler, J. S. (2000). *Ehrlichia equi* infection of horses from Minnesota and Wisconsin: detection of seroconversion and acute disease investigation. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2000(14), pp 252–257.
- Butler, C. M., Houwers, D. J., Jongejan, F. & van der Kolk, J. H. (2005). *Borrelia burgdorferi* infections with special reference to horses. A review. *Veterinary Quarterly*, 27(4), pp 146–156.
- Carlyon, J. A. & Fikrig, E. (2003). Invasion and survival strategies of *Anaplasma phagocytophilum*. *Cellular Microbiology*, 5(11), pp 743–754.
- del Castillo, G. (2013). Tetracyclines. I: Giguère S., Prescott, J. F., Dowling, P. M. (red). *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. 5. ed, pp 257–268. John Wiley & Sons.
- Chandrashekar, R., Daniluk, D., Moffitt, S. & Lorentzen, L. (2008). Serologic diagnosis of equine borreliosis: evaluation of an in-clinic enzyme-linked immunosorbent assay (SNAP® 4Dx®). *The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 6(3), pp 145–150.
- Dumler, J. S., Barbet, A. F., Bekker, C. P. J., Dasch, G. A., Palmer, G. H., Ray, S. C., Rikihisa, Y. & Rurangirwa, F. R. (2001). Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and ‘ HGE agent ’ as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, p 21.
- Dumler, J. S., Lepidi, H., Bunnell, J. E., Martin, M. E., Madigan, J. E. & Stuenkel, S. (2000). Comparative pathology, and immunohistology associated with clinical illness after *Ehrlichia phagocytophila*-group infections. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 62(1), pp 29–37.
- Egenvall, A., Franzén, P., Gunnarsson, A., Engvall, E. O., Vågsholm, I., Wikström, U.-B. & Artursson, K. (2001). Cross-sectional study of the seroprevalence to *Borrelia burgdorferi* sensu lato and granulocytic *Ehrlichia* spp. and demographic, clinical and tick-exposure factors in Swedish horses. *Preventive Veterinary Medicine*, 49(3–4), pp 191–208.
- FASS (2019). *Tetracyklin* Meda. Available from: <https://www.fass.se/LIF/product?nplId=19730831000068&userType=2&docType=3&scrollPosition=561>. [Accessed 2019-01-07].
- Franzén, P. (2008). *On Anaplasma phagocytophilum in horses*. Diss. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet.
- Franzen, P., Aspan, A., Egenvall, A., Gunnarsson, A., Åberg L., & Pringle J. (2005). Acute clinical, hematologic, serologic, and polymerase chain reaction findings in horses experimentally infected

- with a European strain of *Anaplasma phagocytophilum*. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2005(19), pp 232–239.
- Franzén, P., Aspan, A., Egenvall, A., Gunnarsson, A., Karlstam, E. & Pringle, J. (2009). Molecular evidence for persistence of *Anaplasma phagocytophilum* in the absence of clinical abnormalities in horses after recovery from acute experimental infection. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(3), pp 636–642.
- Franzen, P., Berg, A.-L., Aspan, A., Gunnarsson, A. & Pringle, J. D. (2007). Death of a horse infected experimentally with *Anaplasma phagocytophilum*. *Veterinary Record*, 160(4), pp 122–125.
- Goodman, J. L. & Dumler, J. S. (1996). Direct cultivation of the causative agent of human granulocytic ehrlichiosis. *The New England Journal of Medicine*, p 7.
- Gunnarsson, K. (2016). *Granulocytär anaplasmos hos häst*. Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet (Kandidatarbete).
- Gyrd-Hansen, N., Rasmussen, F. & Smith, M. (1981). Cardiovascular effects of intravenous administration of tetracycline in cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 4(1), pp 15–25.
- Hoar, B. R., Nieto, N. C., Rhodes, D. M. & Foley, J. E. (2008). Evaluation of sequential coinfection with *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma marginale* in cattle. *American Journal of Veterinary Research*, 69(9), pp 1171–8.
- Hodzic, E., Fish, D., Maretzki, C. M., De Silva, A. M., Feng, S. & Barthold, S. W. (1998). Acquisition and transmission of the agent of human granulocytic ehrlichiosis by *Ixodes scapularis* Ticks. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(12), pp 3574–3578.
- Karakashian, S. J., Rudzinska, M. A., Spielman, A., Lewengrub, S., Piesman, J. & Shoukrey, N. (1983). Ultrastructural studies on sporogony of *Babesia microti* in salivary gland cells of the tick *Ixodes dammini*. *Cell and Tissue Research*, (231), pp 275–287.
- Katavolos, P., Armstrong, P. M., Dawson, J. E. & Telford III, S. R. (1998). Duration of tick attachment required for transmission of granulocytic ehrlichiosis. *The Journal of Infectious Diseases*, 177(5), pp 1422–1425.
- Madigan, J. E. (1993). Equine ehrlichiosis. *The Veterinary Clinics of North America Equine Practice*, 1993(9), pp 423–428.
- Madigan, J. E. & Pusterla, N. (2000). Ehrlichial diseases. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 16(3), pp 487–499 (Emerging Infectious Diseases).
- Madigan, J. E. & Pusterla, N. (2015). Equine granulocytic anaplasmosis (formerly ehrlichiosis). In: Sprayberry, K. A. & Robinson, N. E. (Eds). *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine*. 7. ed. Chapter 46, pp 193–195. Saunders Elsevier. ISBN 978-1-4557-4555-5.
- Magnarelli, L. A., IJdo, J. W., Andel, A. E. V., Wu, C., Padula, S. J. & Fikrig, E. (2000). Serologic confirmation of *Ehrlichia equi* and *Borrelia burgdorferi* infections in horses from the northeastern United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 217(7), pp 1045–1050.
- Massung, R. F., Levin, M. L., Munderloh, U. G., Silverman, D. J., Lynch, M. J., Gaywee, J. K. & Kurtti, T. J. (2007). Isolation and propagation of the Ap-variant 1 strain of *Anaplasma phagocytophilum* in a Tick Cell Line. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(7), pp 2138–2143.
- Maurin, M., Bakken, J. S. & Dumler, J. S. (2003). Antibiotic susceptibilities of *Anaplasma (Ehrlichia) phagocytophilum* strains from various geographic areas in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(1), pp 413–415.
- Ojogun, N., Barnstein, B., Huang, B., Oskeritzián, C. A., Homeister, J. W., Miller, D., Ryan, J. J. & Carlyon, J. A. (2011). *Anaplasma phagocytophilum* infects mast cells via α 1,3-fucosylated but not sialylated glycans and inhibits IgE-mediated cytokine production and histamine release. *Infection and Immunity*, 79(7), pp 2717–2726.

- Piesman, J., Karakashian, S. J., Lewengrub, S., Rudzinska, M. A. & Spielman, A. (1986). Development of *Babesia microti* sporozoites in adult *Ixodes dammini*. *International Journal for Parasitology*, 16(4), pp 381–385.
- Potter, W. L. (1973). Collapse following intravenous administration of oxytetracycline in two horses. *Australian Veterinary Journal*, 49(11), pp 547–548.
- Rikihisa, Y. (1991). The tribe *Ehrlichieae* and ehrlichial diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 4(3), pp 286–308.
- Rang, H. P., Dale, M. M., Ritter, J. Flower, R. J. & Henderson, G. (2012). *Rang and Dale's Pharmacology*. 7. ed. Edinburgh; New York: Elsevier/Churchill Livingstone.
- Schwartz, G., Epp, T., Burgess, H. J., Chilton, N. B., Pearl, D. L. & Lohmann, K. L. (2015). Seroprevalence of equine granulocytic anaplasmosis and lyme borreliosis in Canada as determined by a point-of-care enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *The Canadian Veterinary Journal*, (56), pp 575–590.
- Severinsson, K., Jaenson, T. G., Pettersson, J., Falk, K. & Nilsson, K. (2010). Detection and prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* and *Rickettsia helvetica* in *Ixodes ricinus* ticks in seven study areas in Sweden. *Parasites & Vectors*, 3, p 66.
- Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA) (2018). *Granulocytär anaplasmos*. Available from: <https://www.sva.se/djurhalsa/hast/infektionssjukdomar-hast/granulocytar-anaplasmos-hos-hast>. [Accessed 2018-11-14].
- Stuen, S., Bergström, K. & Palmér, E. (2002). Reduced weight gain due to subclinical *Anaplasma phagocytophilum* (formerly *Ehrlichia phagocytophila*) infection. 2002, p 7.
- Sveriges Veterinärmedicinska Sällskap (2013). *Riktlinjer för användning av antibiotika inom hästsjukvård*. Sveriges Veterinärmedicinska Sällskap.
- Van Andel, A. E., Magnarelli, L. A., Heimer, R. & Wilson, M. (1998). Development and duration of antibody response against *Ehrlichia equi* in horses. *Journal of Veterinary Medical Association*, 1998(212), pp 1910–4.
- VetBact (2018a) *Anaplasma phagocytophilum*. Available from: <http://www.vetbact.org/index.php?LANG=sv&artid=45&vbsearchstring=Anaplasma%20phagocytophilum#>. [Accessed 2018-11-06].
- VetBact (2018b). *Neorickettsia risticii*. Available from: <http://www.vetbact.org/index.php?artid=165&vbsearchstring=Neorickettsia%20risticii>. [Accessed 2018-11-14].
- Woldehiwet, Z. (2010). In-vitro studies on the susceptibility of ovine strains of *Anaplasma phagocytophilum* to antimicrobial agents and to immune serum. *Journal of Comparative Pathology*, 143(2–3), pp 94–100.

BILAGA 1

Anaplasmabehandling häst säsongen 2017

Tack för att du vill hjälpa oss att följa upp anaplasmaprovtagna hästar och deras konvalescens med hjälp av denna enkät! Kryssa i ett eller flera alternativ samt lägg till fritext vid behov. Om du har frågor är du varmt välkommen att mejla nidu001@stud.slu.se.

1) Hur gammal är din häst?

- <1 år
- 1-3 år
- 3-15 år
- >15 år

2) Vad är din häst för kön?

- Sto
- Valack
- Hingst

3) Vad är din häst för ras/typ av häst?

- Varmblod
- Kallblod
- Ponny

4) I vilket län befann sig din häst när den blev sjuk i Anaplasma?

- Blekinge län
- Dalarnas län
- Gotlands län
- Gävleborgs län
- Hallands län
- Jämtlands län
- Jönköpings län
- Kalmar län
- Kronobergs län
- Norrbottens län
- Skåne län
- Stockholms län
- Södermanlands län
- Uppsala län
- Värmlands län
- Västerbottens län
- Västernorrlands län
- Västmanlands län
- Västra Götalands län
- Örebro län
- Östergötlands län

5) Har din häst haft Anaplasma tidigare?

- Ja, samma år
- Ja, tidigare år
- Nej
- Vet ej

6) Har någon häst i samma stall eller på samma gård haft Anaplasma tidigare?

- Ja, samma år
- Ja, tidigare år
- Nej
- Vet ej

7) Vilka symtom hade din häst när du ringde veterinären (kryssa i ett eller flera alternativ)?

- Slutat äta
- Svullna ben
- Feber
- Vinglig
- Övriga symtom
- Vet ej

8) Hur länge hade din häst feber (mer än 38,2) innan du kontaktade veterinär?

- Den hade inte feber
- 1-2 dagar
- 3-5 dagar
- > 6 dagar
- Vet ej

9) Vad hade din häst för kroppstemperatur vid veterinärbesöket?

- Mindre än 37,0
- 37,0-38,2
- 38,2- 39
- 39,1 - 40,0
- > 40,1
- Vet ej

10) Vad hade din häst för maximal kroppstemperatur dagen efter veterinärbesöket?

- Mindre än 37,0
- 37,0-38,2
- 38,2- 39
- 39,1 - 40,0
- > 40,1
- Vet ej

11) Hur länge hade din häst feber (>38,2) räknat från veterinärbesök 1 (kryssa i ett eller flera alternativ)?

- Den hade aldrig feber
- 1-2 dygn
- 3-5 dygn

- > 6 dygn
- Den hade feber i ovan antal dygn, men var feberfri del av dygnet.
- Vet ej

12) Hur länge var din häst så sjuk att den inte ville äta/knappt åt?

- 1-2 dygn
- 3-5 dygn
- >6 dygn
- Den åt hela tiden
- Vet ej

13) Hur länge hade din häst någon form av symtom, räknat från veterinärbesök 1? Beskriv gärna symtomen.

- 1-2 dygn
- 3-5 dygn
- >6 dygn
- Vet ej

14) Hur fortlöpte behandlingen av din häst?

- Den behövde ett veterinärbesök i fält
- Den behövde 2-3 veterinärbesök i fält
- Den behövde >4 veterinärbesök i fält
- Den behövde åka in till djursjukhus
- Den behövde avlivas (beskriv gärna orsak)
- Vet ej

15) Fick din häst antiinflammatorisk/febernedsättande medicin (exempelvis Metacam, Flunixin eller liknande) vid veterinärbesöket första dagen?

- Ja
- Nej
- Vet ej

16) Fick din häst fortsatt behandling med antiinflammatorisk/febernedsättande medicin (exempelvis Metacam, Flunixin eller liknande), och i så fall hur länge?

- Ja, 1-2 dagar
- Ja, 3-5 dagar
- Ja, > 6 dagar
- Nej
- Vet ej

17) Fick din häst dropp i blodet vid veterinärbesöket första dagen?

- Ja
- Nej
- Vet ej

18) Fick din häst antibiotika (Engemycin) vid veterinärbesöket första dagen?

- Ja
- Nej

- Vet ej
- Nej, men annan antibiotika (beskriv gärna vilken)

19) Fick din häst antibiotika (Engemycin) efter att provsvaret hade kommit?

- Ja, 1 dgr
- Ja, 2-3 dgr
- Ja, 4-5 dgr
- Ja, > 6 dgr
- Nej
- Vet ej
- Nej, men annan antibiotika (beskriv gärna vilken samt behandlingstid)

20) Fick din häst några komplikationer i samband med sjukdom/behandling (kryssa i ett eller flera alternativ)?

- Ja, diarré
- Ja, nedsatt aptit
- Ja, reaktion i kärlet där den fick injektioner
- Ja, reaktion under medicingiva
- Ja, övriga komplikationer (beskriv gärna vilka)
- Nej
- Vet ej

21) När mådde din häst bra igen (kunde släppas i normal hage/på bete/börja ridas/börja köras), efter första veterinärbesöket?

- Efter 1-2 dagar
- Efter 3-5 dagar
- Efter ca 1 v
- Efter ca 2 veckor
- Efter mer än 2-3 veckor
- Hästen är ännu ej helt återställd (beskriv gärna orsak)
- Hästen behövde avlivas (beskriv gärna orsak)
- Vet ej

22) När kunde din häst tränas som vanligt efter första veterinärbesöket?

- Efter ca 1 vecka
- Efter ca 2 veckor
- Efter ca 3 veckor
- Efter mer än 4 veckor
- Hästen är ännu ej helt återställd (beskriv gärna orsak)
- Hästen behövde avlivas (beskriv gärna orsak)
- Vet ej

23) Upplever du att din häst har bestående men efter sjukdomen/behandlingen?

- Ja, beskriv besvären
- Nej
- Vet ej

24) Har du något övrigt att tillägga angående din hästs symtom, behandling eller konvalescens som ej tagits upp i ovan frågor?

- [] Ja (beskriv gärna)
- [] Nej
- [] Vet ej