



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap**  
Institutionen för kliniska vetenskaper

# **Granulocytär anaplasmos – andelen seropositiva hundar som är symptomlösa**

*Mattias Hellstedt*

*Uppsala  
2015*

*Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet*

*ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2015:16*



# Granulocytär anaplasmos - andelen seropositiva hundar som är symptomlösa

## Granulocytic anaplasmosis - the proportion of seropositive dogs who are asymptomatic

*Mattias Hellstedt*

*Handledare: Charina Gånheim, institutionen för kliniska vetenskaper*

*Examinator: Helene Hamlin, institutionen för kliniska vetenskaper*

*Examensarbete i veterinärmedicin*

**Omfattning:** 30 hp

**Nivå och fördjupning:** Avancerad nivå, A2E

**Kurskod:** EX0736

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2015

**Delnummer i serie:** Examensarbete 2015:16

**ISSN:** 1652-8697

**Elektronisk publicering:** <http://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** Granulocytär anaplasmos, *Anaplasma phagocytophilum*, subklinisk infektion, hund

**Key words:** Granulocytic anaplasmosis, *Anaplasma phagocytophilum*, subclinical infection, dog

**Sveriges lantbruksuniversitet**  
**Swedish University of Agricultural Sciences**

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för kliniska vetenskaper



## Sammanfattning

*Anaplasma phagocytophilum* är en fästingburen bakterie som kan orsaka en klinisk infektion, granulocytär anaplasmos, hos bland annat hundar. Enligt viss litteratur orsakar dock ofta bakterien endast en subklinisk infektion hos hundar, men det är inte utrett hur stor denna andel är. Syftet med denna pilotstudie är därför att bestämma hur stor andel av hundar, som påvisats vara seropositiva avseende *A. phagocytophilum*, som inte utvecklar en klinisk infektion av granulocytär anaplasmos.

Blodprover samlades från 100 stycken hundar som besökte Djurkliniken Norrköping - Evidensia, Sverige. Dessa undersöktes med FASTest ANAPLASMA, ett serologiskt snabbtest, för att hitta vilka hundar som var seropositiva mot *A. phagocytophilum*. De som var seropositiva på FASTest ANAPLASMA, eller positiva på serologi eller PCR på blodprover som skickades till Laboklin - Bad Kissingen, Tyskland, räknades som om de hade träffat på infektionen denna eller föregående fästingsäsong. För att bestämma om hundarna hade genomgått infektionen subkliniskt eller hade utvecklat kliniska tecken på granulocytär anaplasmos användes ett frågeformulär till djurägarna med anamnestiska frågor, samt även klinisk undersökning, hematologiska- och blodkemiska-analyser och kliniskt svar på behandling med doxycyklin.

Endast nio stycken av de 100 hundarna var seropositiva, vilket ger en seroprevalens på 9%. En av hundarna som var seronegativ hade ett positivt PCR resultat, och var den enda hunden som provtogs med PCR. Den bedöms inte ha hunnit bilda antikroppar än, men borde sannolikt ha serokonverterat senare. Sammanlagt räknades därför tio av de 100 stycken hundarna som om de hade träffat på infektionen denna eller föregående fästingsäsong. Av dessa tio hundar räknades fyra stycken ha genomgått infektionen subkliniskt och fem stycken räknades ha utvecklat en klinisk infektion. En av de tio hundarna inkluderades inte i resultatet då det är osäkert om dennes kliniska tillstånd dels berodde på granulocytär anaplasmos eller inte. Andelen som vid något tillfälle endast hade genomgått infektionen subkliniskt var därför i denna studie fyra av nio, cirka 44%. Dock på grund av det ringa antalet seropositiva hundar i denna studie så går det inte att dra några större slutsatser, då resultatet påverkas för mycket av slumpen. En större studie gjord i Minnesota, USA, visade där en seroprevalens på cirka 55% varav endast 15% av de seropositiva hundarna utvecklade kliniska tecken. Andelen som enbart genomgått infektionen subkliniskt är då hela 85%. Dock finns det väsentliga skillnader i studiernas utformning samt även geografiskt som gör att resultaten inte är jämförbara. Spekulativt kan andelen av de seropositiva hundarna som genomgår infektionen subkliniskt ligga någonstans mellan 44-85%, men en mer omfattande studie krävs för att bestämma detta.

## Summary

*Anaplasma phagocytophilum* is a tick-borne bacterium that can cause a clinical infection, granulocytic anaplasmosis, in dogs among other species. According to some literature, however, the bacterium often causes only a subclinical infection in dogs, but it is not investigated how large this proportion is. Thus, the purpose of this pilot study is to determine the proportion of dogs, recognized as being seropositive to *A. phagocytophilum*, which does not develop a clinical infection of granulocytic anaplasmosis.

Blood samples were collected from 100 dogs who visited Djurkliniken Norrköping - Evidensia, Sweden. These were tested with FASTest ANAPLASMA, a rapid serological test, to find the dogs that were seropositive to *A. phagocytophilum*. Those who were seropositive at FASTest ANAPLASMA, or positive at serology or PCR on blood samples sent to Laboklin - Bad Kissingen, Germany, were counted as if they had encountered the infection the current or the previous tick season. To determine whether the dogs had undergone the infection subclinically or had developed clinical signs of granulocytic anaplasmosis, a questionnaire to the owners of the dogs were used with questions of the medical history along with physical examination, hematological and blood chemical analysis and also clinical response to treatment with doxycycline.

Only nine of the 100 dogs were seropositive, giving a seroprevalence of 9%. One of the dogs who were seronegative had a positive PCR result, and was the only dog that was tested with PCR. It deemed not to have had time to form antibodies yet, but should probably have seroconverted later. Thus, altogether ten of the 100 dogs were counted as if they had encountered the infection the current or previous tick season. Of these ten dogs, four were counted to have undergone the infection subclinically and five were counted to have developed a clinical infection. One of the ten dogs was not included in the results because it is uncertain if its clinical condition was partly due to granulocytic anaplasmosis or not. Therefore, the proportion who, at some point, only had undergone the infection subclinically in this study is four out of nine, about 44%. However, because of the small number of seropositive dogs in this study, it is not possible to make any major conclusions as the result is affected too much by chance. A larger study, conducted in Minnesota, USA, showed a seroprevalence of approximately 55%, of which only 15% of the seropositive dogs developed clinical signs. The proportion who only undergone the infection subclinically was then 85%. Though, there are significant differences geographically and in the design of the studies, leading to the results are not comparable. Nevertheless, speculatively the proportion of the seropositive dogs who undergo the infection subclinically could be somewhere between 44-85%, but a more comprehensive study is required to determine this.

## INNEHÅLL

Inledning.....	1
Litteraturoversikt.....	2
<i>Anaplasma phagocytophilum</i> .....	2
Granulocytär anaplasmos .....	2
FASTest ANAPLASMA.....	3
Andra diagnostiska tester .....	4
Blodutstryk .....	4
PCR .....	4
Serologi .....	5
Material och metoder .....	6
Resultat.....	8
Diskussion.....	12
Slutsats .....	15
Referenser.....	16
Bilaga 1 .....	18

## INLEDNING

Granulocytär anaplasmos är en vanligt förekommande fästingburen infektion i fästingtäta områden i Sverige och ses bland annat hos hundar (Egenvall *et al.*, 1997; 2000a). Den orsakar klinisk sjukdom hos hund men den ger även ofta upphov till subkliniska infektioner enligt viss litteratur (Egenvall *et al.*, 2000a; Foley *et al.*, 2001; Beall *et al.*, 2008). Det saknas dock uppgifter om hur stor andel av de infekterade som utvecklar kliniska tecken, i jämförelse med de som endast får en tillfällig subklinisk form. Kroppen klarar dock av en subklinisk infektion på egen hand med tiden (Carrade *et al.*, 2009). Målet med denna pilotstudie är att grovt bestämma den subkliniska andelen med hund som modelldjur. Denna information är av intresse både ur ett kliniskt perspektiv och ur forskningssynpunkt.

Hur stor andel av de hundar som infekteras med *Anaplasma phagocytophilum* genomgår endast en tillfällig subklinisk infektion?



## LITTERATURÖVERSIKT

### ***Anaplasma phagocytophilum***

*Anaplasma phagocytophilum* är en gramnegativ obligat intracellulär bakterie som tillhör familjen *Anaplasmataceae* (Dumler *et al.*, 2001). Bakterien finns i ett flertal reservoardjur, bland annat vilda gnagare (Walls *et al.*, 1997.) och rådjur (Jaenson *et al.*, 2012). Från och mellan reservoardjuren sprids den via fästingar som agerar vektorer, i Sverige via fästingarten *Ixodes ricinus* (Severinsson *et al.*, 2010; Wallménus *et al.*, 2012). Prevalensen av *A. phagocytophilum* i fästingar, i delar av Sverige, var enligt Severinsson *et al.* (2010) 1,3 - 15,0% och bakterien hittades endast i nymfer. Prevalensen enligt Wallménus *et al.* (2012) var endast 0,7% men i denna studie var det endast adulta fästingar som undersöktes. Bakterien kan orsaka sjukdomen granulocytär anaplasmos hos ett flertal olika värdjur, bland annat hundar, katter, hästar, idisslare och även människor (Stuen *et al.*, 2013). Seroprevalensen av *A. phagocytophilum* hos hundar i Sverige var, enligt Egenvall *et al.* (2000a), i en undersökning 1991-1994 i medeltal 17,7%.

### **Granulocytär anaplasmos**

För att ett värdjur, till exempel en hund, ska bli smittad med *A. phagocytophilum* behöver fästingen bita sig fast i 24-48 timmar, för att överföringen av bakterien ska hinna ske (Katavolos *et al.*, 1998). Inkubationstiden varierar mellan ca fyra till 14 dagar (Egenvall *et al.*, 1998). Bakterien sprids från fästingbettet via lymfan eller blodet (Kohn *et al.*, 2008) för att sedan ta sig in i neutrofila granulocyter via endocytos (Herron *et al.*, 2000; Rikihisa 2006). Inne i neutrofilerna kan sedan bakterien replikeras inuti vesiklar och då bildas mikroskopiska kolonier, vilka kallas för inklusionskroppar eller morulae (Carrade *et al.*, 2009).

*A. phagocytophilum* har ett brett utbud av mekanismer för att undvika kroppens immunförsvar och därmed förbättra sina chanser att överleva. Ett flertal av dessa mekanismer beskrivs av Rikihisa (2006). Till exempel det faktum att bakterien lever intracellulärt gör att den undkommer stora delar av immunförsvaret. Cellväggen har även unika egenskaper i och med att den bland annat saknar lipopolysackarider (LPS) och peptidoglykaner, vilka fungerar som "pathogen-associated molecular patterns" (PAMPs). Avsaknaden innebär att bakterien kan undvika delar av det medfödda (innate) immunsvaret. Barbet *et al.* (2006) och Rejmanek *et al.* (2012) visade att på utsidan av cellväggen sitter ett antigen kallat "major surface protein 2" (msp2) som immunförsvaret kan reagera på. Dock har *A. phagocytophilum* utvecklat ca 100 olika varianter av detta antigen och kan byta ut det när det har blivit igenkänt av immunförsvaret och därmed fortsätta att undkomma det.

Bakterien kan via en kedja av händelser bland annat ändra neutrofilens reglering av försvarsgener. Exempelvis NADPH-oxidas är en viktig del i neutrofilens försvar som producerar syreradikaler, för att normalt sett avdöda bakterier. Bakterien kan dock blockera NADPH-oxidas och därmed hämma produktionen av syreradikaler i sin värdcell. Bakterien stör även signalvägar så att vesiklarna inte fuseras med lysosomer, där de annars hade brutits ned (Rikihisa 2006).

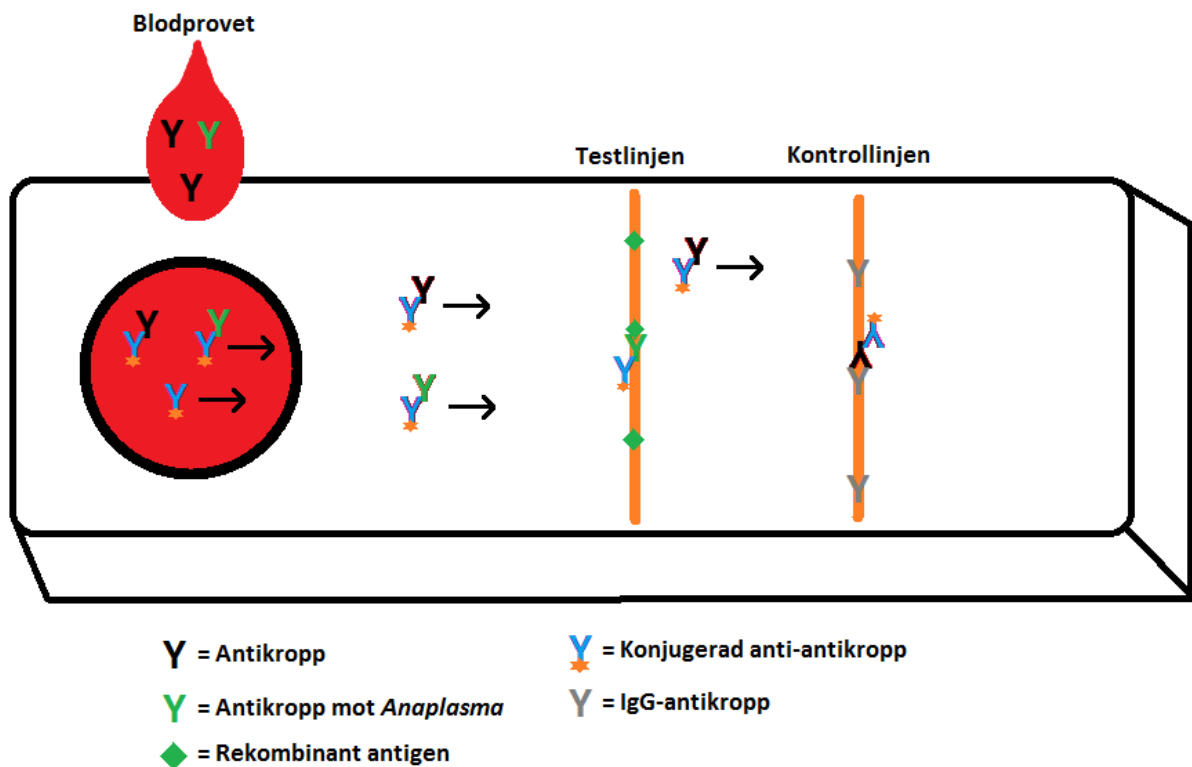
En neutrofil har normalt en kort livslängd, ca 12 timmar i genomsnitt, vilket begränsar dess egenskaper som värdcell för bakterier. Dock kan *A. phagocytophilum* även störa signalvägarna som inducerar apoptos hos värdcellen och därmed förlänga dess livslängd till över 24 timmar efter infektering, vilket ger bakterierna tid att replikera sig (Rikihisa 2006).

De vanligaste kliniska tecken som uppstår vid klinisk infektion, hos hund, är akut insatt hög feber med letargi och inappetenz. Ibland kan även stelhet och hälsa förekomma. Vid blodanalyser ses ofta trombocytopeni och ett förhöjt värde av alkaliskt fosfatas (ALP/ALKP), många gånger ses även lindrig anemi, leukopeni samt hypoalbuminemi (Kohn *et al.*, 2008). Dödsfall hos hund orsakad av anaplasmos har aldrig rapporterats enligt Carrade *et al.* (2009). Prognosen är god och de flesta hundar svarar snabbt på behandling med Doxycykliner i akutskedet (Kohn *et al.*, 2008). Som tidigare nämnts utvecklar dock långt ifrån alla hundar en klinisk infektion. Det pågår undersökningar för att utreda om hundar kan vara kroniskt infekterade, men det verkar som att hundar kan göra sig av med infektion själva utan behandling (Carrade *et al.*, 2009). En svensk studie, med experimentellt infekterade hundar som fick prednisolon, visar dock att positiva PCR resultat samt även förekomst av moruallae och trombocytopeni kunde påvisas upp till ett halvår efter inokulering (Egenvall *et al.*, 2000b).

### **FASTest ANAPLASMA**

FASTest ANAPLASMA är ett kommersiellt, immunokromatografiskt, "lateral flow", serologiskt snabbtest för att detektera antikroppar mot *A. phagocytophilum* och även *A. platys* i antingen helblod, serum eller plasma. Testet är semi-kvantitativt. Det är endast IgG, inte IgM, som kan detekteras och enligt produktbeskrivningen uppstår inte antikroppstitrar förrän efter två till tre veckor (Megacor, 2014). Däremot enligt en studie kunde man detektera antikroppstitrar serologiskt redan efter åtta dagar (Egenvall *et al.*, 1998).

Testet är utformat så att mobila anti-antikroppar konjugerade med en signalsubstans kan binda till antikropparna som finns i blodprovet som testas. Om dessa komplex består av antikroppar specifika mot *A. phagocytophilum* eller *A. platys* kan de binda till "testlinjen", via membranfixerade rekombinanta, högt specifika peptider (antigen). "Kontrollinjen" ger alltid utslag då det istället sitter membranfixerade IgG-antikroppar som alltså ospecifikt binder till olika IgG från blodprovet, se figur 1 (Megacor, 2014).



Figur 1. Illustration av uppbyggnaden av FASTest ANAPLASMA.

Testet har enligt tillverkaren en sensitivitet på 99,0% och en specificitet på 96,4% (Megacor, 2014). Det finns ingen vetenskaplig studie som utvärderar FASTest ANAPLASMA än men det finns en studie på ett annat kommersiellt serologiskt snabbtest. Där mätte de sensitiviteten till 93,2% och specificiteten till 99,2% och slutsatsen de drog var att testet kunde anses tillförlitligt (Stillman *et al.*, 2014).

## Andra diagnostiska tester

### Blodutstryk

Som tidigare nämnts bildar *A. phagocytophilum* så kallade inklusionskroppar/morulae i neutrofilerna. Vid mikroskopisk undersökning av perifera blodutstryk kan dessa tydligt ses. Inklusionskroppar är inte specifikt för granulocytär anaplasmos men tillsammans med anamnes, kliniska tecken och blodparametrar stärker det diagnosen. Fördelen med metoden är att ingen extraordinär laboratorisk utrustning krävs samt att den kan användas mycket tidigt i infektionsstadiet (Dumler *et al.*, 2007).

### PCR

Polymerase chain reaction, PCR, är en metod för att amplifiera specifika, korta sekvenser av DNA. Vid konventionell PCR kan ursprunget hos provets DNA bestämmas efter amplifieringen via gelelektrofores. Vid realtids-PCR sker detektionen direkt via mätning av fluorescens från en tillsatt fluorescerande probe. Flera olika konventionella och realtids-PCR-metoder har utvecklats för att diagnostisera granulocytär anaplasmos (Carrade *et al.*, 2009). En vanlig men mer ospecifik metod använder 16S rRNA-genen som markör. Den andra

vanligaste metoden använder istället tidigare nämnda (sida 2) *msp2*-genen och är vanligen specifik för *A. phagocytophilum* (Egenvall *et al.*, 2000b; Scorpio *et al.*, 2004). Det finns även ett flertal andra målgener som exempelvis *hsp60*-, *msp4*-, *troEL*-, *rrs*-, *epank1*- eller *ankA*-gener hos *A. phagocytophilum* (Carrade *et al.*, 2009). PCR kan med fördel användas för att diagnostisera granulocytär anaplasmos tidigt i infektionsstadiet, framför allt om man inte hittar morulae på ett blodutstryk eller även om man gör det men vill ha en säkrare diagnos (Dumler *et al.*, 2007). Man kan säga att PCR och även utstryk är direkta tester då man påvisar agenset, i jämförelse mot serologi som är ett indirekt test för att påvisa antikroppar mot agenset.

### **Serologi**

Förutom FASTest ANAPLASMA finns det flera olika serologiska tester att tillgå. Samtliga serologiska tester påvisar antikroppar, som hundens immunförsvar har producerat, mot just bakteriens antigen. De två vanligaste serologiska testerna är "indirect fluorescent-antibody test" (IFAT) och "enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA) (Carrade *et al.*, 2009). IFAT använder sig av antikroppar märkta med fluorescein, vilka kan detekteras med ett fluorescence-mikroskop. ELISA använder sig istället av antikroppar märkta med ett enzym som kan ge ett färgomslag när ett enzymsubstrat tillsätts.

Vanligen detekteras endast IgG vid serologiska tester, vilket innebär att resultatet blir negativt i tidigt infektionsstadium då antikroppar inte har hunnit bildats än (Carrade *et al.*, 2009). Det är inte tillförlitligt att använda serologiska tester förrän tidigast åtta dagar efter infektion, men tillförlitligheten ökar med tiden och är mycket god efter två till tre veckor (Egenvall *et al.*, 1998; Dumler *et al.*, 2007). Det mest tillförlitliga är att göra ett parprov där minst en fyra gångers titer-stegring erhålls. Nackdelarna med serologi, förutom fördröjningen, är att antikroppar kan kvarstå länge efter en tidigare infektion, att ett positivt provsvar inte behöver betyda att man har eller kommer att utveckla kliniska tecken, samt att specificiteten påverkas av korsreaktioner mot andra närbesläktade bakterier, exempelvis *A. platys* (Dumler *et al.*, 2007).

Det mest tillförlitliga för att ställa en korrekt diagnos är att se över helhetsbilden samt att använda en kombination av de olika tillgängliga testmetoderna.

## MATERIAL OCH METODER

För att undersöka hur stor andel av de hundar, som infekteras med *Anaplasma phagocytophilum*, som utvecklar klinisk sjukdom kontra de som får den subkliniska formen så måste först hundar som blivit infekterade hittas. För att hitta hundar som stött på infektionen och därmed blivit seropositiva användes det serologiska snabbtestet FASTest ANAPLASMA på blodprover från 100 stycken hundar, provtagna från den 23:e juni 2014 till den 5:e september 2014. Dessa var de 100 stycken första hundarna som inkom till Djurkliniken Norrköping - Evidensia, Sverige, oavsett besöksorsak, vilka antingen skulle genomgå en blodprovsundersökning eller få en permanentkanyl inlagd. På detta vis blev urvalet helt slumpmässigt och inga extra nålstick krävdes för provtagningen, då hundarna ändå skulle stickas av andra anledningar. Djurkliniken Norrköping - Evidensia ligger i Östergötland, vilket är ett fästingtätt landskap där en seroprevalens runt 20% hos hundar uppmättes åren 1991-1994 (Egenvall *et al.*, 2000a).

De hundar som var lämpade att inkludera i studien var dels de som var inbokade för operation under dagen. När de skulle sövas lades alltid en intravenös permanentkanyl i vena cephalica, för att man skulle kunna administrera läkemedlen, och då kunde blodprov tas till studien. Även de hundar som inkom till polikliniken och behövde provtas för diverse blodanalyser, för vidare diagnostik, var lämpade att inkludera i studien. Då togs antingen ett extra serumrör ut eller så användes serum eller plasma som kvarstod efter att önskade analyser var färdiga. De hundar som exkluderades ur studien var de som inkom för avlivning, inkom akut, var avsevärt allmänpåverkade, var kraftigt dehydrerade, hade avsevärda blodförluster, eller på andra sätt inte var lämpliga att inkludera. Likaså mycket stressade hundar som var svåra att provta exkluderades av praktiska skäl samt för hundens egen skull.

I samband med provtagning eller vid intag till operation fick djurägarna, som givit sitt samtycke att delta i studien, fylla i en blankett tillsammans med provtagaren eller personal som tog emot hunden, se bilaga 1. Blanketten daterades och innehöll uppgifter om djurägaren, så som namn och kontaktuppgifter, och uppgifter om hunden så som namn, ras, kön och ålder. Djurägaren skulle även kryssa i om hunden haft symptom på granulocytär anaplasmos denna eller förra fästingsäsongen. Dessa symptom var feber (över 39°C), hängig/loj, minskad aptit och hälta/stelhet. Anledningen till att även fråga om förra fästingsäsongen är att antikroppstitrar kan kvarstå från förgående fästingsäsong. Till sist följde tre stycken ja eller nej frågor att kryssa i om hunden hade haft symptom: Om symptom, uppkom dessa i samband med fästingbett? Blev din hund testad för Anaplasma? Fick din hund diagnosen anaplasmos?

Blodproverna togs oftast i serumrör men i undantagsfall i heparinrör. Samma dag som provtagningen skedde så separerades serumet eller plasman till nya provrör och dessa märktes och frystes in. Efter cirka en till två veckors insamlingar lades samtliga proverna i en kyl eller i rumstemperatur för att tina och sedan användes FASTest ANAPLASMA enligt bruksanvisningen för att bestämma om de hundarna var seropositiva eller inte. Resultatet skrevs upp på de tidigare ifyllda blanketterna.

Om resultatet på FASTest ANAPLASMA var negativt så behövde dessa hundar inte följas upp. Däremot de som var positiva mot *A. phagocytophilum* och visade kliniska tecken följdes upp omgående. De som var positiva men som inte hade en typisk symptombild följdes upp via ett telefonsamtal tidigast en vecka efter provtagningen. Då informerades djurägaren om det positiva resultatet och de tillfrågades om hunden hade utvecklat några symptom på granulocytär anaplasmos. Anledningen till att uppföljning tidigast skedde efter en vecka är att antikroppar tidigast kan detekteras åtta dagar efter infektion och inkubationstiden är maximalt 14 dagar (Egenvall *et al.*, 1998). Om hunden hade utvecklat några symptom fick de komma tillbaka till kliniken för vidare utredning.

De hundar som räknades som om de hade eller hade haft en klinisk infektion var de som sammantaget hade en tydlig klinisk bild av granulocytär anaplasmos. Minst tre typiska symptom innan (maximalt från förra fästingsäsongen) eller vid provtagning skulle ses i samband med fästingbett. Hematologiska samt blodkemiska analyser skulle visa tecken på granulocytär anaplasmos i form av trombocytopeni, lindrig anemi, leukopeni samt förhöjt alkaliskt fosfat (ALP/ALKP). Minst ett positivt testresultat för *A. phagocytophilum* skulle erhållas, antingen på FASTest ANAPLASMA, eller på serologi eller PCR på blodprover som skickades till Laboklin - Bad Kissingen, Tyskland. Det serologiska test för *A. phagocytophilum* som utfördes av Laboklin var ett "indirect fluorescent-antibody test" (IFAT), som är en kvantitativ mätmetod av IgG. Den PCR- metod de utför är en realtids-PCR med målgenen hsp60. Även snabbt terapi svar vid insatt behandling i akutskedet med Doxycykliner var ett krav för att en hund skulle få räknas som kliniskt infekterad. Om samtliga dessa kriterier var uppfyllda men tveksamheter ändå kvarstod, huruvida symptombilden hos hunden i fråga orsakades av granulocytär anaplasmos eller ej, så uteslöts de från uträkningarna i resultatet.

De hundar som räknades som om de vid något tillfälle hade genomgått en subklinisk infektion var de som fick ett positivt testresultat för *A. phagocytophilum* med FASTest ANAPLASMA och som inte hade en klinisk bild av granulocytär anaplasmos enligt ovan. De behövde dock inte vara friska utan fick ha symptom på andra sjukdomar.

## RESULTAT

Majoriteten av de hundar som provtogs var de som inkom till operationsavdelningen för bokade planerade operationer, så som kastreringar och munsaneringar, och bedömdes som friska. Resten av hundarna som provtogs var patienter på polikliniken som inkom på grund av diverse olika besöksorsaker. Den första seropositiva hunden påvisades den 15:e juli 2014 och den sista den 5:e september 2014, resterande påvisades jämnt fördelat mellan dessa datum.

Av de 100 stycken hundarna som provtogs var 91 stycken seronegativa, medan nio stycken var seropositiva. Seroprevalensen i denna studie räknades därför till 9,0% (9/100 hundar). Av de nio stycken seropositiva var sju stycken positiva på FASTest ANAPLASMA, varav en hund hade ett mycket svagt positivt resultat. Denna hund, samt två stycken hundar som var positiva och två stycken som var negativa på FASTest ANAPLASMA, var positiva på ett serologiskt test (IFAT) som utfördes av Laboklin - Bad Kissingen, Tyskland. En annan hund var negativ på FASTest ANAPLASMA men var i den akuta fasen av infektionen, så den hade därför inte hunnit bilda antikroppar vid provtagningen. Den hade sannolikt serokonverterat senare men detta undersöktes ej vidare. Däremot skickades ett blodprov till Laboklin för analys via PCR vilken gav ett positivt resultat. Det var endast denna hund som testades med PCR. Av de 100 stycken testerna, FASTest ANAPLASMA, var alltså 93 stycken negativa och sju stycken positiva, men av de 93 stycken negativa var två stycken seropositiva och ytterligare en var PCR- positiv på blodprover skickade till Laboklin. Sammantaget räknades därför 90 hundar som om de ej stött på infektionen denna eller föregående fästingsäsong medan tio hundar räknades som om de träffat på infektionsagens. För grafisk illustration se figur 2. De hundar där klinisk misstanke om granulocytär anaplasmos fanns valdes det att skicka blodprover för analys till Laboklin, antingen för serologisk undersökning eller för PCR, som komplement till FASTest ANAPLASMA. Som ovan nämnt så var det endast blodprover från en hund som skickades för analys med PCR, men blodprover från fem hundar skickades för serologisk undersökning. Samtliga fem serologiska testerna var positiva men på FASTest ANAPLASMA var det endast tre av dessa som var positiva.

Av dessa tio hundar som träffat på infektionsagens, räknades fyra stycken som att de har genomgått infektionen subkliniskt, då de inte har visat en klinisk bild av granulocytär anaplasmos enligt tidigare nämnda kriterier på sida 7. Tre av dessa bedömdes vara helt friska vid tillfället för provtagningen medan en var hängig/loj enligt ifylld blankett men detta hade inte satts i samband med fästingar. Dessa fyra hundar följdes upp via telefon minst en vecka efter provtagningarna och ingen av dem hade utvecklat några symptom på granulocytär anaplasmos, varför inga uppföljande besök var nödvändiga av den anledningen. Av de tio hundarna som stött på infektionen räknades fem stycken som om de var eller hade varit kliniskt infekterade i enlighet med tidigare nämnda kriterier på sida 7. För att tydligare beskriva dessa hundar namnges de vidare som hund 1-5 och deras sammantagna kliniska bild sammanfattas nedan i tabell 1. För vidare grafisk illustration se figur 2.

Tabell 1. *Sammantagen klinisk bild för de hundar som var eller hade varit kliniskt infekterade*

Hund	Anamnes	Hematologi & blodkemi	FASTest ANAPLASMA	Laboklin Serologi	Laboklin PCR	Terapisvar Doxycyklin
1	Feb, Let, Inap, h/s & Fäst	Trom, Leu & ALKP	Neg	Ej und	Pos	Pos
2	Let, Inap, h/s & Fäst	Trom, Leu, anemi & ALKP	Svagt pos	Pos	Ej und	Pos
3	Feb, Let, Inap & Fäst	Leu & anemi	Pos	Pos	Ej und	Pos
4	Let, Inap, h/s & Fäst	Trom & anemi	Pos	Starkt Pos	Ej und	Pos
5	Let, Inap, h/s & Fäst	Tromb & ALKP	Neg	Pos	Ej und	Pos

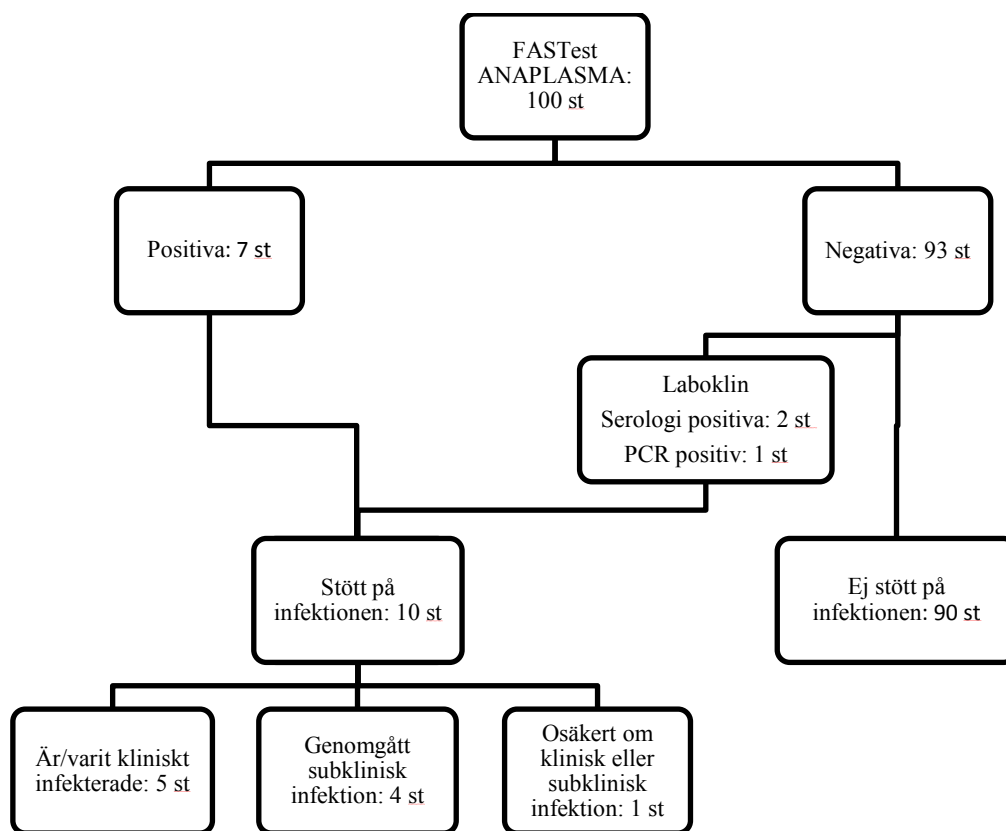
Feb = feber (över 39°C), Let = letargi. Inap = inappetens, h/s = hälta/stelhet, Fäst = samband med fästingbett. Trom = trombocytopeni, Leu = leukopeni, ALKP = förhöjt alkaliskt fosfatas. Neg = negativ, Pos = positiv. Ej und = ej undersökt.

Samtliga hundar, 1-5, uppnår kriterierna med minst 3 överensstämmande kliniska symptom samt att dessa sattes i samband med fästingbett. Dock saknades uppgifter om rektaltemperaturen på hund 2, 4 & 5 så om dessa hundar hade feber går ej att utesluta. Samtliga hundar hade även hematologiska och blodkemiska avvikelser som överensstämmer med granulocytär anaplasmos. Blodprover för serologisk undersökning skickades till Laboklin för hund 2-5 och då undersöktes även antikroppsförekomst mot *Borrelia Bugdorferi*, men samtliga dessa var negativa. Samtliga var dock positiva för *A. phagocytophilum* och hund 4 hade en mycket hög antikroppstiter, 1: 2 560. Samtliga hundarna svarade snabbt och bra på behandling med Doxycykliner. Hund 5 var negativ på FASTest ANAPLASMA när den provtogs den första augusti 2014 men den hade haft symptomen, förändringarna på blodvärdena samt positiv serologi skickad till Laboklin i maj 2014 och den svarade då även snabbt på behandling.

Av de tio hundarna som stött på infektionen var det en hund som uteslöts från uträkningarna i resultatet, då det fanns tveksamheter om den skulle räknas som kliniskt infekterad, eller som om den hade genomgått infektionen subkliniskt. Hunden i fråga uppfyllde samtliga kriterier för att räknas som kliniskt infekterad, men huruvida symptombilden orsakades av granulocytär anaplasmos eller ej lyckades inte fastställas. Rektaltemperaturen fanns inte heller här dokumenterad men symptomen letargi, inappetens samt hälta/stelhet förekom och dessa hade satts i samband med fästingbett. Hunden hade trombocytopeni, måttlig anemi samt förhöjt alkaliskt fosfatas (ALKP), men istället för leukopeni hade den leukocytos varav kraftig lymfocytos. FASTest ANAPLASMA var negativt men när serologi utfördes av Laboklin var testet positivt. Hunden svarade snabbt på behandling med doxycykliner men endast delvis, då en del symptom kvarstod. Senare konstaterades hunden lida av T-cells leukemi, varav det är svårt att avgöra om hunden led av både leukemi och klinisk granulocytär anaplasmos, eller om symptomen enbart orsakades av leukemin. På grund av osäkerheten uteslöts därför hunden från uträkningarna i resultatet.



Sammanfattningsvis illustreras resultatet via ett flödesschema i figur 2.



Figur 2. Flödesschema för FASTest ANAPLASMA till antal kliniskt kontra subkliniskt infekterade hundar.

Könsfördelningen av de 100 hundarna som provtogs var jämn, då 54 stycken var tikar och 46 stycken var hanar. 50 stycken tikar och 40 stycken hanar hade inte stött på infektionen denna eller föregående fästingsäsong. Sex stycken hanar och fyra stycken tikar hade stött på infektionen. Tre hanar och två tikar var eller hade varit kliniskt infekterade medan tre hanar och en tik hade genomgått infektionen subkliniskt. För en tik är det oklart om infektionen blev klinisk eller subklinisk, se tabell 2.

Tabell 2. Könsfördelning provtagna hundar

	Tikar (stycken)	Hanar (stycken)
Provtagna totalt	54	46
Ej stött på infektionen	50	40
Stött på infektionen	4	6
Är/varit kliniskt infekterad	2	3
Genomgått infektion subkliniskt	1	3
Klinisk eller subklinisk infektion	1	-

Åldersintervallet för samtliga provtagna hundar var från sex månaders till 14 års ålder, medelåldern var 7,0 år. Åldersintervallet samt medelåldern för de hundarna som ej stött på infektionen var densamma som för samtliga provtagna hundar. Åldersintervallet för de tio hundar som stött på infektionen var från ett års till tolv års ålder varav medelåldern var 7,4 år. För de fem stycken hundar som var eller hade varit kliniskt infekterade var åldersintervallet ett till tolv år och medelåldern var 6,4 år. För de fyra stycken hundar som genomgått infektionen subkliniskt var åldersintervallet två till tolv år och medelåldern var 8,3 år, se tabell 3. Det var 46 olika raser samt 18 olika blandraser som provtogs.

Tabell 3. *Åldersintervall och medelålder på provtagna hundar*

	Åldersintervall (år)	Medelålder (år)
Provtagna totalt	0,5 - 14	7,0
Ej stött på infektionen	0,5 - 14	7,0
Stött på infektionen	1 - 12	7,4
Är/varit kliniskt infekterad	1 - 12	6,4
Genomgått infektion subkliniskt	2 - 12	8,3

## DISKUSSION

Då seroprevalensen avseende *Anaplasma phagocytophilum* var cirka 20% hos hundar i Östergötland i en studie, med material från 1991-1994, så förväntades att cirka 20 stycken seropositiva hundar skulle hittas i denna studie (Egenvall *et al.*, 2000a). Dock hittades endast nio stycken seropositiva hundar samt en hund som var positiv på PCR. Detta ledde till att underlaget blev för litet för att några större slutsatser ska kunna dras. Resultaten blir inte statistiskt signifikanta i denna pilotstudie men i jämförelse med redan befintliga studier kan man antyda att vissa mönster överensstämmer vad till exempel gäller riskfaktorer, vilket beskrivs nedan.

Frågeställningen i denna studie var hur stor andel av de hundar som utvecklar antikroppar mot *Anaplasma Phagocytophilum* som endast genomgår infektionen subkliniskt. Med det ringa materialet i denna studie blev det fyra av nio hundar, det vill säga att cirka 44% vid något tillfälle genomgått infektionen subkliniskt medan fem av nio hundar, cirka 56%, utvecklade kliniska tecken. En liknande studie utfördes i Minnesota i USA men där var syftet att bestämma seroprevalensen av ett flertal fästingburna sjukdomar samt att utvärdera om kliniska tecken korrelerade med olika diagnostiska tester (Beall *et al.*, 2008). Säkrare slutsatser kan dras från den studiens data då den är mycket större. Totalt 731 hundar provtogs varav 405 var seropositiva för *A. phagocytophilum*, vilket ger en seroprevalens på cirka 55%. Av 89 misstänkta fall av granulocytär anaplasmos var 60 stycken hundar seropositiva och skulle därför ha räknats som om de var eller hade varit kliniskt infekterade i denna studie. Andelen som blir kliniskt infekterade blir då 60/405, vilket är cirka 15%. Andelen som endast utvecklat den subkliniska formen blir då alltså hela 85%. Detta talar för att en klar majoritet av hundar som blir infekterade med *A. phagocytophilum* inte utvecklar någon klinisk infektion. Riktlinjen om att inte behandla seropositiva djur utan kliniska tecken är därför i dagsläget mycket viktig att följa. Viktiga skillnader finns dock i studien i jämförelse med denna, vilket kan ha påverkat resultatet, främst så att andelen som räknas genomgå infektionen subkliniskt egentligen hade varit lägre. Dels skedde ingen uppföljning på seropositiva hundar som var friska vid provtagningen, så en liten del av dessa kan ha utvecklat kliniska tecken senare och skulle därmed ha undersökt på nytt i denna studie. Potentiellt hade några kunnat räknas som kliniska infektioner då istället. De seropositiva hundarnas ägare tillfrågades inte heller om deras hund hade haft en klinisk bild av, eller fått diagnosen, granulocytär anaplasmos tidigare vilket då inte utreddes vidare. Om detta hade gjorts så hade även vissa av dem kunnat räknas som om de hade haft en klinisk infektion i denna studie. Dessutom är studien gjord i USA där även *Anaplasma platys* förekommer. Serologiskt kan *A. platys* och *A. phagocytophilum* korsreagera, vilket innebär att seroprevalensen kan ha varit falskt hög (Dumler *et al.*, 2007). Seroprevalensen var hela 55%, vilket i jämförelse med seroprevalensen på 17,7% i medeltal i Sverige (Egenvall *et al.*, 2000a), talar för att en del kan bero på *A. platys*. *A. platys* ger mildare symptom och sannolikt mer subkliniska infektioner, varav andelen som räknades som subkliniska fall av granulocytär anaplasmos som faktiskt orsakades av *A. phagocytophilum* sannolikt skulle ha varit lägre. Sammanfattningsvis skulle sannolikt andelen subkliniska utfall med *A. phagocytophilum* inte vara så hög som 85% i svenska förhållanden, men jag tror inte heller att den är så låg som 44%, vilket ju är det ej signifikanta resultatet i denna studie. Den sanna andelen kan sannolikt

ligga någonstans mitt emellan dessa värden men vidare studier krävs för att kunna bestämma detta.

Eftersom denna studie är gjord under en relativt kort tidsperiod så går det inte att yttra sig om årstidsvariationer gällande seroprevalens eller antal kliniska fall. Vid andra undersökningar har man dock sett tydliga årstidsvariationer (Beall *et al.*, 2008; Carrade *et al.*, 2009). Detta kan förklaras av att infektionen är fästingburen och att fästingarnas livscykel är väldigt beroende av årstiden. Ökning av kliniska fall ses under säsongen med högst fästingaktivitet samt när hundägare med sina hundar är som mest ute på aktiviteter i naturen.

Könsfördelningen var jämn i denna studie och inga slutsatser kunde dras om könet var en riskfaktor för att bli infekterad eller ej, inte heller om det var en riskfaktor för att utveckla kliniska tecken eller endast genomgå infektionen subkliniskt. Något sådant samband har heller aldrig visats tidigare i någon annan studie. Åldersintervallet var ungefär detsamma för de hundar som hade eller inte hade stött på infektionen denna eller föregående fästingsäsong, samt även för de som genomgick infektionen kliniskt eller subkliniskt. I en svensk studie har man sett att seroprevalensen, och därmed infektionsrisken, ökar med åldern (Egenvall *et al.*, 2000a). Tecken på detta sågs även i denna studie, då medelåldern för de som stött på infektionen var något högre (7,4 år) än för de som inte stött på den (7,0 år), men som tidigare nämnts så är underlaget för litet för att kunna dra några slutsatser. Medianåldern enligt Carrade *et al.* (2009) för kliniskt infekterade hundar är ungefär mellan sex till åtta år med ett åldersintervall från ett halvt till 14 år, vilket stämmer bra med resultatet i denna studie. Tecken sågs även på att medelåldern var högre hos hundarna som genomgick infektionen subkliniskt (8,3 år) än hos hundarna som var eller hade varit kliniskt infekterade (6,4 år).

Som beskrivet i resultatet så svarade samtliga fem djurägarna, till de hundarna som var eller hade varit kliniskt infekterade, i blanketten att symptomen hade uppkommit i samband med fästingbett. Detta tyder på att hundägare idag är observanta på att hitta fästingar på sina hundar och sannolikt är de medvetna om fästingsjukdomarna. Spekulativt kan medvetenheten om fästingsjukdomarna ha ökat hos hundägare de senaste åren, till exempel på grund av att det talas mycket om dem idag. Exempelvis har det varit ett flertal artiklar om fästingsjukdomar hos djur i vanliga dagstidningar, men även i mer inriktade hundtidningar. På grund av detta kan möjligen hundägare ha börjat använda sig av diverse fästingprofylax i större utsträckning än tidigare. Även utbudet av olika typer av fästingprofylax har ökat. Sammantaget skulle detta kunna förklara varför seroprevalensen tycktes var lägre (9%) i denna studie i jämförelse mot den Egenvall *et al.* (2000a) gjorde på material från 1991 till 1994 (20% i Östergötland). Man får dock vara försiktig med slutsatsen om att seroprevalensen skulle ha minskat i jämförelse mot seroprevalensen som Egenvall *et al.* (2000a) fann då bland annat olika serologiska metoder användes samt att testgruppen av hundar skiljde avsevärt. Även om seroprevalensen skulle ha minskat i Östergötland så finns studier som visar att antalet fästingar (*Ixodes ricinus*) har ökat i Sverige. Ökningen förklaras dels på grund av klimatförändringar med varmare medeltemperaturer samt en ökning av rådjurspopulationen (Lindgren *et al.*, 2000; Jaenson *et al.*, 2012). Detta borde medföra att seroprevalensen totalt sett har ökat i Sverige, framförallt i nordligare delar av Sverige där fästingarna inte tidigare har funnits i samma utsträckning. Däremot borde en eventuell ökning av medvetenhet och

fästingprofylax medföra en sänkning av seroprevalensen, varav en ny uppföljande storskalig studie för att bestämma seroprevalensen i dagsläget skulle vara av intresse. Tyvärr tillfrågades inte djurägarna på blanketten i denna studie om de använde någon slags fästingprofylax eller inte, vilket hade varit intressant information.

Samtliga av de fem hundarna, som var eller hade varit kliniskt infekterade, provtogs för *A. phagocytophilum*, vilket tyder på att den sammanvägda kliniska bilden med diverse blodanalyser ändå är relativt tydlig för sjukdomen, så diagnosen glöms nog sällan bort. Alla fem hundarna var även seropositiva eller positiva på PCR och tillfrisknade snabbt och effektivt under behandling med Doxycyklin, vilket stärker diagnosen.

FASTest ANAPLASMA har som tidigare nämnts (sida 4) en sensitivitet på 99,0% och en specificitet på 96,4% enligt tillverkaren (Megacor, 2014), men ingen referens eller beskrivning av hur de kom fram till dessa siffror, och under vilka förutsättningar, har kunnat hittas. Specificiteten på 96,4% är relativt hög och skulle statistiskt innebära få falskt positiva resultat, men även relativt många falskt negativa. En så hög sensitivitet som 99,0% skulle istället statistiskt innebära att väldigt få falskt negativa resultat erhålls. Två hundar som var negativa på FASTest ANAPLASMA var dock seropositiva när prover skickades till Laboklin - Bad Kissingen, Tyskland, och kan således ha varit falskt negativa. Spekulativt kan de ju istället ha varit falskt positiva på Laboklins test men på ett snabbtest brukar inte samma säkerhet uppnås som på ett laboratoriskt utfört test. Om dessa två hundars snabbtest var falskt negativa så är det en relativt stor andel så möjligtvis kan det vara fler falskt negativa bland de symptomfria också, varav andelen hundar som genomgick infektionen subkliniskt kan vara falskt låg i denna studie.

För att öka säkerheten i denna typ av studie, vad gäller att korrekt kunna dela in hundarna efter om de har utvecklat klinisk granulocytär anaplasmos eller genomgått infektionen subkliniskt, så skulle serologiska parprover och/eller PCR i större utsträckning kunna användas. Om ingen eller endast en låg titer erhålls vid serologisk undersökning vid klinisk misstanke om granulocytär anaplasmos kan upprepad provtagning efter cirka två veckor ge mycket information. Om titern förblir låg är granulocytär anaplasmos osannolikt men om titern markant har förhöjts så är misstanken mycket sannolikt korrekt. En förutsättning för optimala parprover är dock att det serologiska testet är kvantitativt. Även PCR på samtliga hundarna vid klinisk misstanke om granulocytär anaplasmos hade varit optimalt för att hitta pågående infektioner, där antikroppar inte alltid har hunnit bildats. Om flertalet hundar med klinisk misstanke ska provtas med serologiska parprover och/eller PCR blir det dock självfallet mer omfattande kostnader och det var således inte en möjlighet i denna pilotstudie.

## **SLUTSATS**

En större studie skulle behövas för att närmre kunna bestämma andelen som endast genomgår den subkliniska formen av *Anaplasma phagocytophilum*. Utgående från det ej signifikanta resultatet från denna pilotstudie samt resultatet från en amerikansk studie (Beall *et al.*, 2008) skulle andelen spekulativt kunna ligga mellan 44-85% av de seropositiva hundarna. En seropositiv hund bör därför, i enlighet med rådande riktlinjer, inte behandlas med antibiotika om ingen tydlig klinisk bild på granulocytär anaplasmos föreligger.

## REFERENSER

- Barbet, A.F., Lundgren, A.M., Alleman, A.R., Stuen, S., Bjöersdorff, A., Brown, R.N., Drazenovich, N.L. & Foley, J.E. (2006). Structure of the expression site reveals global diversity in MSP2 (P44) variants in *Anaplasma phagocytophilum*. *Infection and Immunity*, 74:6429-6437.
- Beall, M.J., Chandrashekar, R., Eberts, M.D., Cyr, K.E., Diniz, P.P., Mainville, C., Hegarty, B.C., Crawford, J.M. & Breitschwerdt, E.B. (2008). Serological and molecular prevalence of *Borrelia burgdorferi*, *Anaplasma phagocytophilum*, and *Ehrlichia* species in dogs from Minnesota. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 8:455-464.
- Carrade, D.D., Foley, J.E., Borjesson, D.L. & Sykes, J.E. (2009). Canine Granulocytic Anaplasmosis: A Review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23:1129-1141.
- 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*, 51:2145-2165.
- Dumler, J.S., Madigan, J.E., Pusterla, N. & Bakken, J.S. (2007). Ehrlichioses in humans: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Clinical Infectious Diseases*, 45:45-51.
- Egenvall, A., Bjöersdorff, A., Lilliehöök, I., Engvall-Olsson, E., Karlstam, E., Artursson, K., Hedhammar, Å. & Gunnarsson, A. (1998). Early manifestations of granulocytic ehrlichiosis in dogs inoculated experimentally with a Swedish *Ehrlichia* species isolate. *Veterinary Record*, 143:412-417.
- Egenvall, A., Bonnett B.N., Gunnarsson, A., Hedhammar, A., Shoukri, M., Bornstein, S. & Artursson, K. (2000a). Sero-prevalence of granulocytic *Ehrlichia* spp. and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Swedish dogs 1991-94. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 32:19-25.
- Egenvall, A., Lilliehöök, I., Bjöersdorff, A., Engvall, E.O., Karlstam, E., Artursson, K., Heldtander, M. & Gunnarsson, A. (2000b). Detection of granulocytic *Ehrlichia* species DNA by PCR in persistently infected dogs. *The Veterinary Record*, 146:186-190.
- Egenvall, A.E., Hedhammar, Å.A. & Bjöersdorff, A.I. (1997). Clinical features and serology of 14 dogs affected by granulocytic ehrlichiosis in Sweden. *Veterinary Record*, 140:222-226.
- Foley, J.E., Foley, P. & Madigan, J.E. (2001). Spatial distribution of seropositivity to the causative agent of granulocytic ehrlichiosis in dogs in California. *American Journal of Veterinary Research*, 62:1599-1605.
- Helmut Weber (2014-06-23). *Megacor Diagnostik*. <http://www.megacor.at/product.html> [2014-11-02]
- Herron, M.J., Nelson, C.M., Larson, J., Snapp, K.R., Kansas, G.S. & Goodman, J.L. (2000). Intracellular Parasitism by the Human Granulocytic Ehrlichiosis Bacterium Through the P-Selectin Ligand, PSGL-1. *Science*, 288:1653-1656.
- Jaenson, T.G.T., Jaenson, D.G.E., Eisen, L., Petersson, E. & Lindgren, E. (2012). Changes in the geographical distribution and abundance of the tick *Ixodes ricinus* during the past 30 years in Sweden. *Parasites & Vectors*, 5.

- Katavolos, P., Armstrong, P.M., Dawson, J.E. & Telford, S.R III. (1998). Duration of Tick Attachment Required for Transmission of Granulocytic Ehrlichiosis. *The journal of Infectious Diseases*, 177:1422-1425.
- Kohn, B., Galke, D., Beelitz, P. & Pfister, K. (2008). Clinical Features of Canine Granulocytic Anaplasmosis in 18 Naturally Infected Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22:1289-1295.
- Lindgren, E., Tälleklint, L. & Polfeldt, T. (2000). Impact of climatic change on the northern latitude limit and population density of the disease-transmitting European tick *Ixodes ricinus*. *Environmental Health Perspectives*, 108:119-123.
- Rejmanek, D., Foley, P., Barbet, A. & Foley, J. (2012). Evolution of antigen variation in the tick-borne pathogen *Anaplasma phagocytophilum*. *Molecular Biology and Evolution*, 29:391-400.
- Rikihisa, Y. (2006). *Ehrlichia* subversion of host innate responses. *Current Opinion in Microbiology*, 9:95-101.
- Scorpio, D.G., Caspersen, K., Ogata, H., Park, J. & Dumler, J.S. (2004). Restricted changes in major surface protein-2 (msp2) transcription after prolonged in vitro passage of *Anaplasma phagocytophilum*. *BMC Microbiology*, 4.
- 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.
- Stillman, B.A., Monn, M., Liu, J., Thatcher, B., Foster, P., Andrews, B., Little, S., Eberts, M., Breitschwerdt, E.B., Beall, M.J. & Chandrashekar, R. (2014). Performance of a commercially available in-clinic ELISA for detection of antibodies against *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys*, *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia canis*, and *Ehrlichia ewingii* and *Dirofilaria immitis* antigen in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 245:80-86.
- Stuen, S., Granquist, E.G. & Silaghi, C. (2013). *Anaplasma phagocytophilum*--a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3.
- Wallménus, K., Pettersson, J.H., Jaenson, T.G. & Nilsson, K. (2012). Prevalence of *Rickettsia* spp., *Anaplasma phagocytophilum*, and *Coxiella burnetii* in adult *Ixodes ricinus* ticks from 29 study areas in central and southern Sweden. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 3:100-106.



**BILAGA 1**



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och  
husdjursvetenskap

## **Examensarbete Anaplasmos, blodprovstagning**

**Datum vid provtagning** .....

### **Kontaktuppgifter**

**Namn** .....

**Telefonnr** .....

**(Mail)** .....

### **Djuruppgifter**

**Namn** .....

**Ras** .....

**Ålder** ..... **Kön** .....

**Kryssa i de symptom som din hund har haft denna eller föregående fästingsäsong, vid ett och samma sjukdomstillfälle:**

**Feber (över 39°C)**

**Hängig/loj**

**Minskad aptit**

**Hälta/stelhet**

**Om symptom, uppkom dessa i samband med fästingbett?**  **Ja**  **Nej**

**Blev din hund testad för Anaplasma?**  **Ja**  **Nej**

**Fick din hund diagnosen Anaplasmos?**  **Ja**  **Nej**