



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap

Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsvetenskap

Granulocytär anaplasmos hos häst

Översikt, behandling och teorin om kronisk sjukdom

Katarina Gunnarsson

*Uppsala
2016*

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2016:26

Granulocytär anaplasmos hos häst

Översikt, behandling och teorin om kronisk sjukdom

Equine granulocytic anaplasmosis

Treatment and the theory about chronic disease

Katarina Gunnarsson

Handledare: *Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Examinator: *Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: grund nivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2016

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serie: 2016:26

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

Nyckelord: *Anaplasma phagocytophilum, Ehrlichia, tetracyklin, häst, kronisk*

Key words: *Anaplasma phagocytophilum, Ehrlichia, tetracycline, horse, chronic*

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

INNEHÅLL

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning	3
Material och metoder	3
Litteraturoversikt	3
Patogenes.....	3
Symtom	4
Prevalens	4
Diagnostisering.....	5
Behandling	6
Indelning och verkningsmekanism.....	6
Resistens	6
Biverkningar	7
Antiinflammatorisk effekt	8
Behandlingsalternativ	8
Kronisk granulocytär anaplasmos	8
Profylax	9
Diskussion	9
Referenslista	13

SAMMANFATTNING

Granulocytär anaplasmos orsakas av bakterien *Anaplasma Phagocytophilum*. Smittspridningen i Sverige sker via fästingen, *Ixodes ricinus*. Bakterien är obligat intracellulär och infekterar granulocyter där den sedan förökar sig. De första symtomen är diffusa och kan yttra sig i form av nedsatt allmäntillstånd, feber och ovilja till rörelse. Efterföljande symtom som ses är ataxi, stelhet samt svullna ben. Prevalensen hos häst i Sverige uppges vara 16,7 % enligt en studie genomförd i slutet av nittioalet.

Den mest tillförlitliga diagnostiska metoden är PCR. Behandling sker med hjälp av intravenös administrering av oxytetracykliner. Bredspektrumantibiotikan tetracykliner inhiberar bakteriens proteinsyntes och har en bakteriostatisk verkan. Eventuella biverkningar är exempelvis emaljhypoplasi, missfärgade tänder och njurskador. Trots den omfattande biverkningsprofilen anses tetracyklinerna vara säkra inom det terapeutiska intervallet. Gastrointestinala biverkningar hos häst är också en risk, men huruvida problemet anses överdrivet kan ifrågasättas. De studier som gett upphov till oro är gamla och dosen skiljer sig mycket storleksmässigt i jämförelse med dagens rekommendationer. Resistensen mot antibiotikan är utbredd och är en viktig komponent i val av behandling. Enligt empirisk erfarenhet från veterinärer kan understödjande behandling i vissa fall vara tillräckligt för att hästens eget immunförsvar ska klara av att bekämpa *A.phagocytophilum*-infektionen.

Att en kronisk form av granulocytär anaplasmos skulle kunna utvecklas är en misstanke som funnit länge tillbaka, men teorin har inte kunnat styrkas vetenskapligt. Bakterien kan persistera hos kalv, hund, lamm och även häst. Samband mellan kliniska symtom och persisterande bakterie har dock endast bevisats hos lamm. Tetracyklinbehandling av hästar med misstänkt kronisk form av granulocytär anaplasmos kan inte motiveras ur ett evidensbaserat perspektiv.

SUMMARY

Equine granulocytic anaplasmosis is caused by the bacteria *Anaplasma phagocytophilum*. In Sweden, the most common tick, *Ixodes ricinus*, is responsible for spreading of the infection. *A. phagocytophilum* is an obligate intracellular bacteria which infects granulocytes, especially neutrophils. At first, the clinical symptoms are ambiguous. Fever, unwillingness to move and apathy could be seen. Later on, the horse generally develop ataxia, stiff gait and swollen distal limbs. According to a Swedish prevalence study from the late nineties, the prevalence in horses is 16.7 %.

The most trustworthy diagnostic method is PCR and the first choice for treatment is tetracyclines. They are classified as broad spectrum antibiotics and inhibits the bacterial protein synthesis which results in a bacteriostatic effect. Tetracyclines may cause side effects such as enamel hypoplasia, tarnished teeth and renal damage. Even though the potential adverse effects are numerous, tetracyclines are considered relatively safe in their therapeutic interval. Gastro intestinal affects are also mentioned as a risk in treated horses but the studies differ greatly. It is possible that old studies with higher doses than today's recommendations have contributed to a restrictive usage. Today, the resistance against tetracyclines is wide spread among many species of bacteria. This is an important aspect to keep in mind when choosing the right treatment for granulocytic anaplasmosis. According to empirical experience among veterinarians, supportive treatment without antibiotics, could be enough to keep the infection under control.

A. phagocytophilum can persist in calves, dogs, lambs and horses. There has been a suspicion about a chronic form of the disease in horses, but there is no scientific evidence for such a diagnosis. The lamb is the only species where a connection between a persistent bacteria and clinical findings has been found. To treat a horse with tetracyclines based on a "chronic diagnosis" is not recommended and the effect can not be proven scientifically.

INLEDNING

Anaplasma phagocytophilum är en liten, gramnegativ bakterie tillhörande gruppen *Rickettsia*. Den orsakar sjukdom hos flertalet djurarter. Tidigare delades bakterien upp i tre undergrupper; *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophilum* samt den tidigare namnlösa bakterie vilken orsakar human granulocytär anaplasmos (HGE) (Dumler *et al.*, 2005). Idag klassas alla som *A. phagocytophilum* men begreppet ehrlichias används fortfarande om granulocytär anaplasmos i vissa sammanhang.

I Sverige sker smittspridningen via den vanligaste förekommande fästingen, *Ixodes ricinus*, vilken angriper alla sorters djur. Fästingen genomgår olika stadier i sin utveckling: ägg, larv, nymf och adult. Innan fästingen blir adult krävs två blodmål – ett som larv och ett som nymf. Då en fästing suger blod från ett djur smittat med *A. phagocytophilum* får den bakterien i sin saliv. Detta gör att fästingen kan föra smittan vidare till andra djur under sitt nästa blodmål, vilket kan ske i såväl nymf som adultstadiet. Fästingen kan inte föra över smittan vertikalt och *A. phagocytophilum* är således beroende av reservoardjur för att kunna spridas. Dessa djur är bärare av patogenen, vanligtvis utan att själva påverkas, och bidrar till fortsatt smittspridning. Reservoardjur kan exempelvis vara vilda idisslare, så som rådjur (Larsson, 2006). *Ixodes ricinus* finns utbredd i större delen av Sverige men med något lägre förekomst längs norrlandskusten och delar av Svealand jämfört med de sydligare delarna av landet. (Severinsson *et al.*, 2010; Statens veterinärmedicinska anstalt, 2015a; Naturhistoriska riksmuseet, u.å.)

I denna litteraturstudie kommer fokus ligga på djurslaget häst. Syftet var att ge en överblick av sjukdomen granulocytär anaplasmos och med tonvikt på tetracyklinbehandling diskutera vilka problem som kan finnas idag. Litteraturstudien tar också upp kronisk granulocytär anaplasmos och vilka belägg det finns för att behandla en sådan misstanke.

MATERIAL OCH METODER

Litteratursökning har skett i databasen Web of Science samt SLU-bibliotekets söktjänst Primo. Kombinationer av sökorden *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia*, horse OR equine, chronic OR persistence OR persistent*, prevalence, tetracycline, adverse effect OR side effect OR complications, resistance, diarrhoea har använts. Från relevanta artiklars källhänvisning kunde även ytterligare referenser hittas. För grundläggande information om tetracyklin användes böckerna Rang and Dale's Pharmacology, Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine samt FASS hemsida. Informationssökning skedde även på aktuella myndigheters hemsidor, så som Statens veterinärmedicinska anstalt och Läkemedelsverket.

LITTERATURÖVERSIKT

Patogenes

Anaplasma phagocytophilum är en obligat intracellulär bakterie vars mål är att infektera granulocyter – framför allt neutrofiler (Rikihisa, 1991; Dumler *et al.*, 2005). Inklusionskroppar, eller så kallade morula, bildas inuti cellerna när bakterien förökar sig. *A. phagocytophilum* kan

fördröja värdcellens apoptos med cirka 24 timmar för att förlänga sin intracellulära förökningstid. När granulocyterna dör fortsätter bakterierna att infektera nya celler i blodet (Dumler *et al.*, 2005).

Symtom

Inkubationstiden för granulocytär anaplasmos är cirka 10 dagar och de första symtomen är ofta diffusa, exempelvis i form av nedsatt allmäntillstånd och feber. Klassiskt förlopp som följer är bland annat ataxi, svullna ben, stelhet och ovilja att röra sig. Ökad hjärt- och andningsfrekvens kan också förekomma. Hur pass allvarligt sjukdomsförloppet är varierar mellan individer, men generellt verkar yngre individer (under 3 år) ha ett lindrigare sjukdomsförlopp (Dziegiel *et al.*, 2013).

Leukopeni uppstår till följd av att bakterien infekterar de vita blodkropparna. Vid studier på människa har det också upptäckts histopatologiska förändringar, troligen orsakade av kroppens eget immunförsvar, vilka inte kan kopplas direkt till bakterien (Dumler *et al.*, 2005).

Prevalens

En studie utförd på 2018 hästar av Egenvall *et al.* genomförd 1997-1998 visade att seroprevalensen för *A. phagocytophilum* i Sverige var 16,7 %. Egenvall *et al.* fann att prevalensen var lägre i de norra delarna av landet och såg även ett samband mellan tillgång till bete och antikroppar mot bakterien. En trolig förklaring till detta är i vilken grad hästarna exponeras för fästingar. Exponeringen är större under betessäsongen samt i de sydligare delarna av Sverige där fästingförekomsten är högre än i norr (Jaenson *et al.*, 2010). Subkliniska infektioner anses vara relativt vanligt och de hästar som uppvisar antikroppar behöver inte uppvisa sjukdomssymtom. Det innebär att endast kontroll av antikroppstiter inte är en tillräcklig grund för behandling (Egenvall *et al.*, 2001).

I en annan studie av Severinsson *et al.* från 2010 undersöktes förekomsten av *A. phagocytophilum* hos fästingar, *Ixodes ricinus*, i olika utvecklingsstadier på sju platser i Sverige. Områdena var Norrbyskär, Alsike, Bogesund, Lidingö, Torö, Västerås och Lidköping. Den övergripande prevalensen för samtliga platser visade sig vara 1,3 – 15 %. Studien visar att bakterien förekom på alla undersökta platser, förutom Västerås, och att det är en reell risk att bli smittad via fästingbett. Dock kan prevalensen av *A. phagocytophilum* variera mycket från år till år och därför anser författarna att en längre studie över flera år skulle ge ett mer tillförlitligt resultat (Grzeszczuk *et al.*, 2000; Severinsson *et al.*, 2010).

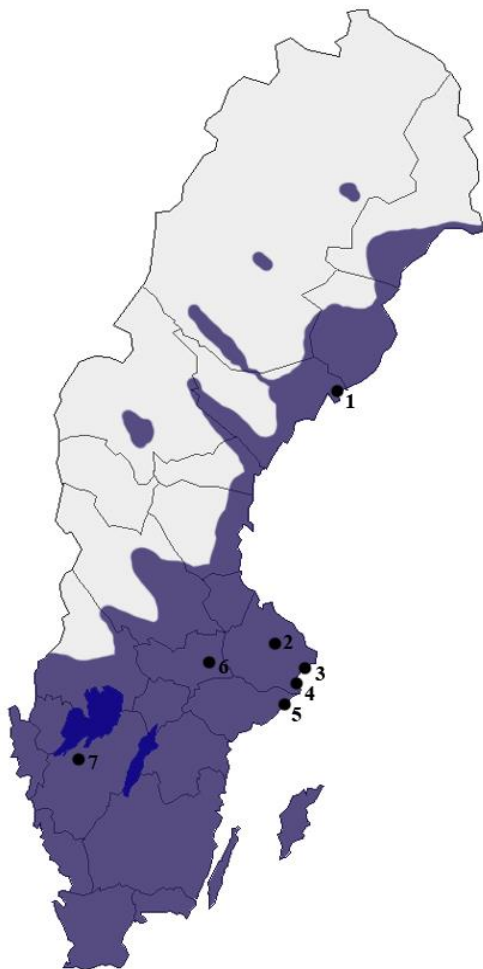


Bild 1.

Ungefärlig utbredning av *Ixodes ricinus* i Sverige.

(efter bild från Jaenson *et al.*, 2012)

Siffrorna markerar var insamling av fästingar skedde i studien av Severinsson *et al.*, 2010.

1) Norrbyskär, 2) Alsike, 3) Bogesund, 4) Lidingö
5) Torö, 6) Västerås, 7) Lidköping

Diagnostisering

A. phagocytophilum diagnostiseras genom att bakterien påvisas i blodet. Detta kan ske genom två metoder. Den ena metoden är att använda sig av mikroskop och blodutstryk. Vid en positiv diagnos ses inklusionskroppar i vita blodkroppar. (Franzén *et al.*, 2005) Den andra metoden är polymerase chain reaction (PCR). Metoden går ut på att detektera bakteriens DNA i blodet (Statens veterinärmedicinska anstalt, 2015b). PCR anses vara en bättre diagnostiseringsmetod då bakterien kan upptäckas både tidigare och under en längre tid i sjukdomsförloppet till skillnad från mikroskoperingen (Franzén *et al.*, 2005).

Ett alternativ till övriga metoder kan vara serologi, men då krävs ett så kallat parprov. Det innebär att ett prov tas i början av förloppet då hästen visar symptom och sedan ytterligare ett 14 dagar senare (Statens veterinärmedicinska anstalt, 2015a). Som tidigare nämnt ger endast ett prov inte tillräcklig

grund för korrekt diagnostisering då flera hästar bär på antikroppar mot bakterien utan att uppvisa sjukdomssymtom (Egenvall *et al.*, 2001).

Behandling

Vid antibiotikabehandling av granulocytär anaplasmos används oxytetracykliner vilken är den enda antibiotikagrupp verksamt mot *A. phagocytophilum*, med undantag från rifampicin som inte är aktuellt att använda (Woldehiwet, 2010; Franzén, 2015). I LäkeMedelsverket nya riktlinjer för antibiotikaanvändning till häst (2015) är det endast två sjukdomsförlopp hos häst med indikation för att använda oxytetracykliner som förstahandsalternativ för behandling; granulocytär anaplasmos och pleuropneumoni till följd av *Mycoplasma felis*. Idag finns dock inget godkänt preparat med oxytetracyklin för häst, däremot injektionslösning för intramuskulär administrering till andra djurslag. Vid granulocytär anaplasmos kan veterinären enligt kaskadprincipen använda sig av ett preparat godkänt för annat djurslag (Jordbruksverket, 2015; LäkeMedelsverket, 2015). En snabbt insatt behandling av *A. Phagocytophilum* tenderar att ge ett kortare och lindrigare sjukdomsförlopp (Statens veterinärmedicinska anstalt, 2015a).

Indelning och verkningsmekanism

Tetracykliner är bredspektrumantibiotika verksamt mot grampositiva, gramnegativa, anaeroba och intracellulära bakterier. Inom veterinärmedicinen är det den mest använda gruppen antibiotika och då främst till livsmedelsproducerande djur. Till sällskapsdjur och på humansidan är användningen mindre utbredd (del Castillo, 2013). Gruppen delas upp i tetracykliner, oxytetracykliner, demecloxykliner, lymecykliner och minocykliner. (Rang *et al.*, 2012, 629-630). Genom aktiv transport tas tetracyklinerna upp av bakterien och kommer sedan binda till ribosomens 30s-enhet (Schnappinger *et al.*, 1996; del Castillo, 2013). tRNA inhiberas vilket i sin tur hindrar translationen och proteinsyntesen. Effekten blir bakteriostatisk, men kan i höga koncentrationer vara baktericid (Rang *et al.*, 2012, 629-630; Franzén, 2015).

Resistens

Den omfattande användningen av tetracykliner har lett till utbredd resistens vilket gör att den i många fall är overksam. Resistensmekanismerna utgörs huvudsakligen av två typer. Den första är energiberöende effluxpumpar vilka sänker koncentrationen av antibiotikan inuti bakterien och minskar på så sätt dess verkan. Den andra utgörs av ribosomala skyddsproteiner vilka motverkar att tetracyklinerna når sitt bindningsställe. Utöver de två vanligaste mekanismerna finns det även ytterligare, exempelvis mutation av den ribosomala målstrukturen samt stressinducerad nedreglering av poriner i cellens membran genom vilka tetracyklinet transporteras (del Castillo, 2013).

Via plasmider kan bakterier utbyta resistensgener. Eftersom gener involverade i resistensen mot tetracykliner liknar resistensgener mot andra antimikrobiella substanser är det vanligt att en bakterie utvecklar resistens mot fler än en substans samtidigt, alltså korsresistens mellan grupperna (Rang *et al.*, 2012, 629-630). Bland bakterier resistent mot tetracykliner finns exempelvis

gramnegativa tarmbakterier samt anaeroba bakterier (FASS, 2016). Hos de intracellulära bakterierna *Anaplasma*, *Chlamydia* och *Ehrlichia* är resistensen dock fortfarande låg (del Castillo, 2013).

Biverkningar

Tetracykliner har en omfattande biverkningsprofil, men anses trots detta vara relativt säkra i sitt terapeutiska intervall (del Castillo, 2013). Exempel på vanligen nämnda biverkningar är missfärgade tänder, emaljhypoplasi, njurskador, tillväxtrubbningar samt fototoxicitet (Rang *et al.*, 2012, 629-630; FASS, 2016). Utöver dessa påverkar även tetracyklin tarmfloran och kan ge upphov till gastrointestinala störningar. I en studie där tre hästar fick en dos på 27-40mg/kg tetracyklin intravenöst avled två av dessa efter till synes omfattande gastrointestinal påverkan. Symtomen, bland annat kraftig diarré, visades under obduktionen bero på akut hemorragisk tyflit och kolit. Då det primära syftet med studien inte innefattade tetracyklins biverkningar valde författarna att gå vidare för att utreda om antibiotikan var den avgörande orsaken till dödsfallen. Ytterligare en häst gavs därför samma dos och avled under liknande omständigheter. Studien utökades då att omfatta fyra hästar till, vilka studerades mer utförligt. Dosmängden var även här densamma och tre av fyra hästar avled. Sammanfattningsvis dog alltså sex av åtta studerade hästar och orsaken ansågs vara akut kolit på grund av en överväxt av patogena bakterier, framför allt *Clostridium perfringens*. Tetracyklinets påverkan på tarmfloran ger de, mot antibiotikan okänsliga (FASS, 2016), patogena bakterierna möjlighet att växa till och producera toxin (Andersson *et al.* 1971). Andersson *et al.*s studie gav upphov till oro kring tetracyklinets biverkningar och användningen i Sverige har genom åren varit restriktiv (Franzén, 2015).

Avseende administrationssätt tyder studier på en skillnad i risk för biverkningar. White *et al.* (1982) visade att peroral administrering av tetracyklin gav större gastrointestinal påverkan i jämförelse med trimetoprim och sulfonamid (trimsulfa). Faeces från hästarna i studien undersöktes före och efter antibiotikaadministrering. Även vid de lägsta doserna tetracyklin i experimentet (10mg/kg) sågs förändringar i tarmfloran, bland annat högre förekomst av *Clostridium perfringens* och lägre nivåer av normalflorebakterier, exempelvis *Veilonella* spp.

Tabell 1. Dosering av trimetoprim och sulfonamid (trimsulfa) och tetracyklin till hästar i studien av White *et al.* (1982)

Häst:	Trimetoprim och sulfonamid (trimsulfa)	Häst:	Tetracyklin
A och B	30mg/kg	C och D	10mg/kg
E	120mg/kg	B	40mg/kg

I en annan studie, publicerad 2013 av Barr *et al.*, studerades antibiotikaassocierad diarré (AAD). Studiepopulationen utgjordes av 5251 amerikanska hästar vilka behandlades vid tre olika kliniker i landet. I studien ingick flertalet olika antibiotika men största delen av studiepopulationen, 1243

hästar, behandlades med oxytetracyklin. Den administrerade dosen var 7,5-10mg/kg peroralt två gånger per dygn. Av de fall som uppvisade AAD kunde dock inget av dem kopplas till oxytetracyklinbehandling (Barr *et al.*, 2013). Det är känt att tetracyklin, främst vid intramuskulär administrering, är starkt vävnadsretande och vid injektion kan ge upphov till lokala reaktioner. Intramuskulär administrering är därför inte rekommenderad (del Castillo, 2013). I Sverige är den rekommenderade behandlingen av granulocytär anaplasmos hos häst en tre till fem dagar lång behandling med 7mg/kg tetracyklin intravenöst en gång om dagen (Läkemedelsverket, 2015).

Antiinflammatorisk effekt

Tetracykliner har förutom sin antimikrobiella verkan även andra effekter. Det har visats att de kan förhindra nedbrytningen av kollagen och på humansidan används den inhiberande effekten på brosknedbrytning vid olika typer av artriter (Golub *et al.*, 1991; Attar, 2009). De har även antiinflammatoriska effekter vilket exempelvis utnyttjas på humansidan vid acnebehandling (FASS, 2016). Inom veterinärmedicinen används tetracykliner också för relaxation av kontraherade böjsenor hos föl. Dock är verkningsmekanismen inte helt klarlagd ännu (Kidd *et al.*, 2002). Huruvida tetracyklinets ospecifika, icke mikrobiella, effekter har någon betydelse vid behandlingen av granulocytär anaplasmos är inte heller utrett.

Behandlingsalternativ

Understödjande behandling vid granulocytär anaplasmos har visat sig vara effektiv, enligt empirisk erfarenhet från veterinärer. Antiinflammatoriska preparat kan bland annat sänka febern och hjälpa hästens eget immunförsvar tillräckligt för att minska symtomen och innebära att antibiotikabehandling inte behövs (Statens veterinärmedicinska anstalt, 2015a). Någon vetenskaplig studie på detta har dock inte gjorts.

Kronisk granulocytär anaplasmos

A. phagocytophilum kan även infektera andra djur, såväl vilda som domesticerade. Larsson publicerade 2006 en studie där man undersökt förekomsten av *A. phagocytophilum* hos kalvar av kött- eller mjölktyp som vistats utomhus/på bete. Slutsatsen blev att bakterien kan persistera i minst 6 månader i individen. Under perioden som *A. phagocytophilum* kunde detekteras i blodet uppvisade djuren inte några kliniska symtom. Enligt författaren är betydelsen av infektionen svår att avgöra hos betesdjur (Larsson, 2006). Granulocytär anaplasmos drabbar även får och Stuen *et al.* har visat att lamm kan vara persistent infekterade i minst fyra månader. Den persistenta infektionen anses orsaka mer problem än det akuta stadiet. Orsaken är det nedsatta immunförsvaret bakterien ger upphov till vilket leder till att andra bakterier, så som *Stafylococcus aureus* och *Pasteurella haemolytica*, kan orsaka sekundära infektioner (Stuen *et al.*, 2001). Hundar kan också infekteras och *A. phagocytophilum* kan enligt en studie av Egenvall *et al.* (2000) persistera i upp till sex månader (Egenvall *et al.*, 2000). Kliniska symtom har inte kunnat kopplas ihop med persistent infektion hos hund, kalv och häst. Lamm är det enda djurslaget där symtom föreligger och då i form av mindre viktuppgång hos persistent infekterade djur jämfört med friska (Stuen *et al.*, 2002).

Att granulocytär anaplasmos skulle kunna övergå i en kronisk form hos häst är sedan länge en teori. Vissa hästar, tidigare behandlade mot bakterien, upplevs aldrig bli helt återställda. Dessa hästar har återkommande eller diffusa symtom exempelvis i form av trötthet, ovilja till rörelse eller vingliga och stappliga i gången. Idag finns dock inga vetenskapliga bevis för att en kronisk form av sjukdomen skulle kunna uppstå (Franzén *et al.*, 2009). Franzén *et al.* (2009) visade i en studie att *A. phagocytophilum* kan persistera hos häst i minst 129 dagar men fann inga samband mellan persistens och sjukdom. I studien infekterades fem hästar experimentellt med blod från ett kliniskt akut fall av granulocytär anaplasmos. En av hästarna gavs en högre dos medan de övriga fick en något lägre, 20×10^6 respektive 6×10^6 infekterade neutrofiler. De gavs inte någon behandling under sjukdomsförloppet. Hästarna observerades och PCR-diagnostik genomfördes regelbundet. Samtliga hästar tillfrisknade från sjukdomen och efter 22 dagar kunde inga bakterier detekteras. Studien pågick i 129 dagar, och under perioden efter dag 22 och slutpunkten uppvisade alla hästar någon gång under perioden positiva PCR-tester, dvs. fynd av bakterien i blodet. Detta gav dock inga kliniska symtom. Hästarna utsattes också för stress av olika slag för att se viken effekt detta hade efter tillfrisknande. Hos vissa hästar kunde stressmomentet kopplas ihop med positiva PCR-resultat, hos andra inte. Under obduktionen hittades inga patologiska fynd som kunde kopplas ihop med infektionen av *A. phagocytophilum* (Franzén *et al.*, 2009).

Profylax

Den viktigaste åtgärden för att undvika infektion av *A. Phagocytophilum* är att dagligen visitera hästen och avlägsna funna fästingar. Det krävs minst 24 timmar för att smittan ska kunna överföras från fästingen (Katavolos *et al.*, 1998). Olika repellerande insektsmedel kan förhindra att fästingen angriper hästen. Idag finns inget vaccin mot granulocytär anaplasmos (Statens veterinärmedicinska anstalt, 2015a).

DISKUSSION

A. phagocytophilum förekommer och orsakar sjukdom i form av granulocytär anaplasmos i nästan hela landet. Smittspridningen sker via fästingen *Ixodes Ricinus* och sjukdomen kan ge akuta symtom eller passera subkliniskt (Egenvall *et al.*, 2001; Statens veterinärmedicinska anstalt, 2015a). För behandling av granulocytär anaplasmos ges oxytetracykliner intravenöst, vilket är den enda antibiotikagrupp med effekt mot den intracellulära bakterien (Woldehiwet, 2010).

Prevalensstudien med syfte att undersöka *A. Phagocytophilum*s förekomst hos svenska hästar är genomförd år 1998-1999 och siffran var då 16,7%. Det kan ifrågasättas om den siffran är aktuell i dagens läge, nästan tjugo år senare, då samma undersökning även drar slutsatser om ett samband mellan bakteriens prevalens och fästingexponering (Egenvall *et al.*, 2001). Det kan nämligen konstateras att en stor ökning av *Ixodes Ricinus*-populationen har skett de senaste trettio åren, enligt en artikel av Jaenson *et al.* (2012). Orsaken till detta är enligt författarna god tillgång av reservoardjur, huvudsakligen rådjur, samt ett varmare klimat med mildare vintrar. Varmare vintrar är fördelaktiga för fästingarnas chans till överlevnad. Temperaturförändringarna gynnar även reservoardjuren vars utbredning kan ske över större geografiska områden. Detta leder till att

fästingar nu förekommer även på nordligare platser där de tidigare inte anträffats (Jaenson *et al.*, 2012). En större utbredning och högre förekomst ger ökad exponering och det är därför troligt att prevalensen för *A. phagocytophilum* ökat under åren.

En något mer aktuell studie, publicerad 2010, undersökte prevalensen för *A. Phagocytophilum* hos fästingar. Fästinginsamling skedde på sju olika platser i landet; Norrbyskär, Alsike, Bogesund, Lidingö, Torö, Västerås och Lidköping (se *Bild 1* sida 6). Prevalensen anges i ett intervall på grund av poolade prover och visade sig vara 1,3–15%. *A. phagocytophilum* kunde detekteras på alla ställen förutom i Västerås och förekomsten visade sig vara högre vid kustområdena. Severinsson *et al.* skriver att fler platser bör undersökas för att få en mer tillförlitlig prevalens (Severinsson *et al.*, 2010). De få insamlingsplatserna samt det faktum att de flesta centrerats till närliggande områden är studiens största svaghet. Dock är en prevalens för *A. phagocytophilum* överensstämbar med samtliga platser i Sverige troligtvis svår att uppnå eftersom klimatet varierar och därmed även fästingpopulationens utbredning.

Tetracykliner anges som förstahandsalternativ för behandling av hästar med akut granulocytär anaplasmos men är inte helt riskfritt. Antibiotikan har flertalet kända biverkningar där gastrointestinala besvär är den mest frekventa biverkningen hos häst (Franzén, 2015). En tidig studie från 70-talet av Andersson *et al.* har visat att tetracyklinbehandling kan följas av kraftiga diarréer, kolit och dödsfall (Andersson *et al.*, 1971). I Sverige resulterade studien i restriktivitet kring tetracyklinbehandling (Franzén, 2015). Att tetracykliner skulle ge mer påverkan på tarmfloran och innebära större risk för kolit än andra antibiotikagrupper är dock osäkert. I en studie från USA (2013) undersöktes samband mellan antibiotikaassocierad diarré (AAD) och olika antibiotikagrupper. Den största behandlingsgruppen fick tetracykliner men intressant nog fann författarna ingen koppling mellan tetracyklinbehandling och AAD (Barr *et al.*, 2013). En viktig aspekt i dessa två studier är skillnaden i dos. I studien av Andersson *et al.* 1971 fick hästarna en peroral giva motsvarande cirka fyra gånger den dos som rekommenderas idag och som även användes i den amerikanska studien (jmf. 7,5-10mg/kg och 27-40mg/kg) (Andersson *et al.*, 1971; Barr *et al.*, 2013).

Viktigt att nämna är också administrationssättet, vilket verkar ha stor betydelse för biverkningsprofilen. Det förefaller mest skonsamt att ge tetracykliner intravenöst. I en studie av White *et al.* (1982) gjordes en jämförelse mellan trimetoprim/sulfonamid (trimsulfa) och tetracykliner, båda peroralt administrerade till häst. Efter doseringen av antibiotika undersöktes faeces med avseende på bakteriefloran. I samtliga doser av tetracyklin sågs högre förekomst av *Clostridium difficile* och minskad förekomst av bland annat arten *Veilonella*, vilken tillhör normalfloran. För trimsulfa kunde inte samma mönster detekteras, oavsett dos. Peroral administrering av tetracyklin verkar därför enligt studien innebära större risk för gastrointestinala störningar jämfört med trimsulfa (White *et al.*, 1982). Dock verkar resultatet från studien av White *et al.* (1982) skilja sig från den av Barr *et al.* (2013). I studien av Barr *et al.* (2013) kunde peroral administrering av tetracyklin inte kopplas samman med AAD. Intramuskulär administrering avråds till häst på grund av tetracyklinets vävnadsretande egenskaper (del Castillo, 2013). Det är sannolikt

att en rekommenderad dos intravenöst administrerad tetracyklin är lika riskfylld med avseende på gastrointestinala störningar som för andra antibiotikagrupper. Sådana slutsatser kan dock inte dras gällande andra administreringsätt då studiernas resultat verkar gå isär. En annan viktig aspekt är individskillnaden, vissa hästar är mer känsliga än andra.

Huruvida tetracyklinbehandling av en häst infekterad med *A. phagocytophilum* är motiverad kan ifrågasättas. Franzén *et al.* har publicerat flera artiklar baserade på en studie där hästar har infekterats experimentellt med *A. phagocytophilum*. Sex hästar deltog och de fick ingen behandling. En av dem dog oväntat i det akuta skedet. Övriga hästar var efter en tids sjukdom fria från symtom (Franzén *et al.*, 2005; 2009). Enligt den empiriska erfarenheten från landets veterinärer kan understödjande behandling, i form av bland annat febernedsättande, vara tillräckligt för att hästens eget immunförsvar ska klara av att bekämpa infektionen (Statens veterinärmedicinska anstalt, 2015a). Med dagens utbredda resistensläge för tetracykliner samt dess biverkningsprofil bör valet av behandling noggrant övervägas. Tetracykliner selekterar resistens hos exempelvis gramnegativa tarmbakterier, vilka oundvikligt kommer att exponeras vid behandling (FASS, 2016). I Sverige ser läget dock fortfarande bra ut (Franzén, 2015), men för att så ska förbli krävs fortsatt restriktiv användning. PCR bör användas för att kunna ställa en korrekt diagnos, det är den enda nuvarande metoden för att påvisa bakterieförekomst i blodet. Serologiska metoder som detekterar antikroppar kan enbart visa om hästen tidigare exponerats för smittan och utgör inte en tillräcklig grund för antibiotikabehandling. (Egenvall *et al.*, 2001). Rätt diagnostik, som inte endast baseras på antikroppsförekomst, kan minska onödig tetracyklinbehandling.

Det faktum att *A. Phagocytophilum* kan persistera hos flertalet djurslag, så som hund, kalv och lamm, är känt sedan tidigare (Egenvall *et al.*, 2000; Stuen *et al.*, 2001; Larsson, 2006). Att bakterien dessutom kan persistera hos häst fastställdes av Franzén *et al.* 2009. Tidigare har veterinärer misstänkt att en infektion av *A. phagocytophilum* kan övergå i kronisk form och orsaka diffusa sjukdomsförlopp som stelhet, ovilja till rörelse samt trötthet. Några bevis för denna misstanke har dock inte kunnat presenteras. I den studie som undersökte misstanken kunde inte några kliniska symtom eller patologiska fynd kopplas ihop med en persisterande bakterie (Franzén *et al.*, 2009). Det enda djurslag där samband mellan infektion och kliniska symtom bevisats är hos lamm där viktuppgång hos infekterade djur är sämre än hos friska (Stuen *et al.*, 2002). Studierna genomförda på kalv och hund har inte kunnat klarlägga annat än ett subkliniskt förlopp hos persistent infekterade djur (Egenvall *et al.*, 2000; Larsson, 2006).

På grund av bristande bevis för att en kronisk form av granulocytär anaplasmos skulle kunna uppstå är det inte befogat att behandla en häst med tetracyklin om den uppvisar ovannämnda diffusa symtom. Diagnosen är alldeles för osäker och all antibiotika, särskilt bredspektrum, bör användas restriktivt på grund av resistensutveckling och biverkningsrisker (Läkemedelsverket, 2015). Det är tänkbart att de hästar som behandlats med tetracyklin till följd av något som ansetts vara kronisk granulocytär anaplasmos genomgått en förbättring. Huruvida detta är tack vare antibiotikans faktiska effekt på en persisterande bakterie eller beror på tetracyklinets andra effekter, exempelvis

antiinflammatoriska, går inte att utröna. Det kan finnas flertalet orsaker till de diffusa symtomen, och det går inte heller att utesluta det faktum att en placeboeffekt kan vara inblandad.

Trots att det inte finns några vetenskapliga bevis för att kronisk granulocytär anaplasmos förekommer är studierna genomförda på ämnet få och den största begränsningen är studiepopulationens ringa storlek. Hästarna i undersökningen av Franzén *et al.* har utsatts för olika typer av stress som potentiellt skulle kunna sänka immunförsvaret, exempelvis korta pass på rullband, transport på motorväg i hästtransport och administrering av glukokortikoider. Vissa moment inducerade positiva PCR-resultat men inga kliniska symtom sågs (Franzén *et al.*, 2009). Det kan diskuteras om de fysiska ansträngningarna i experimentet är jämförbara med den träningsintensitet flertalet svenska tävlingshästar genomgår dagligen idag. Vidare studier på ämnet hade varit intressant att se.

Sammanfattningsvis ger *A. phagocytophilum* fortfarande upphov till en del frågetecken kring granulocytär anaplasmos. De prevalensstudier genomförda på häst i Sverige är till åren och sannolikt inte helt aktuella. Behandling med tetracykliner bör vara restriktiv, framförallt sett till resistensproblematik. Negativa biverkningar av antibiotikan är alltid en risk. Dock verkar oron kring gastrointestinala störningar främst grunda sig i studier med högre given dos än rekommenderat idag. På frågan om kronisk granulocytär anaplasmos existerar finns det fortfarande inget svar. Obestridligt är däremot att en tetracyklinbehandling av hästar med misstänkt diagnos av detta slag inte är vetenskapligt grundat och inte kan motiveras ur ett evidensbaserat perspektiv.

REFERENSLISTA

- Andersson, G., Ekman, L., Månsson, I., Persson, S., Rubarth, S., Tufvesson, G. (1971), Lethal complications following administration of oxytetracycline in the horse. *Nordisk veterinærmedicin*, 23: 9-22.
- Attar, S.M. (2009), Tetracyclines: what a rheumatologist needs to know?. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 12:84-89.
- Barr, B.S., Morressey, B.M., Reed, P.R., Waldridge, S.M., Clark, C., Belgrave, R., Donecker, J.M., Weigel, D.J. (2013). Antimicrobial-associated diarrhoea in three equine referral practices. *Equine Veterinary Journal*, 45: 154-158.
- Del Castillo, G. (2013). Tetracyclines. I: Giguère S., Prescott, J. F., Dowling, P. M. (red), *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine* (5th ed.). John Wiley & Sons, 257-268
- Dumler, J.S., Choi, K.-S., Garcia-Garcia, J.C., Barat, N.S., Scorpio, D.G., Garyu, J.W., Grab, D.J., Bakken, J.S. (2005). Human Granulocytic Anaplasmosis and *Anaplasma phagocytophilum*. *Emerging Infectious Diseases*, 11: 1828-1834.
- Dzięgiel, B., Adaszek, Ł., Kalinowski, M., Winiarczyk, S. (2013). Equine granulocytic anaplasmosis. *Research in Veterinary Science*, 95: 316-320.
- 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: 191-208.
- Egenvall, A., Lilliehöök, I., Karlstam, E., Bjöersdorff, A., Olsson Engvall, E., Artursson, K., Heldtander, M., Gunnarsson, A. (2000). Detection of granulocytic Ehrlichia species DNA by PCR in persistently infected dogs. *Veterinary Record*, 146: 186.
- FASS (2016-02-05). *Tetracyklin Meda*. Tillgänglig: <http://www.fass.se/LIF/product?nplId=19730831000068> [2016-03-03].
- 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: 636-642.
- Franzén, 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*, 19: 232-239.
- Franzén, P. (2015), Tetracykliner. I: Läkemedelsverket (2015). *Dosering av antibiotika till häst – ny rekommendation*. Information från Läkemedelsverket 26 (suppl.): 42-46.
- Golub, Lm., Ramamurthy, Ns., McNamara, Tf., Greenwald, Ra., Rifkin, Br. (1991). Tetracyclines inhibit connective-tissue breakdown - new therapeutic implications for an old family of drugs. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 2: 297-322.
- Grzeszczuk, A., Stańczak, J. (2006). Highly Variable Year-to-Year Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* Ticks in Northeastern Poland: A 4-Year Follow-up. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1078: 309-311.
- 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 and 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.

Kidd, J.A., Barr, A.R.S. (2002). Flexural deformities in foals. *Equine Veterinary Education*, 14: 311-321.

Larsson, L.-G. (2006). Persistens av *Anaplasma phagocytophilum* hos naturligt infekterade svenska nötkreatur. *Svensk veterinärtidning*, 8-9: 13-19.

Läkemedelsverket (2015). *Dosering av antibiotika till häst – ny rekommendation*. Information från Läkemedelsverket 26 (suppl.): 4-16.

Naturhistoriska riksmuseet (u.å). *Fästingar*. Tillgänglig: <http://www.nrm.se/faktaomnaturenochrymden/djur/insekterochspindeldjur/spindeldjur/fastingar.12595.html> [2016-02-16]

Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., Flower, R.J., Henderson, G. (2012), *Rang and Dale's Pharmacology* (7th ed.) Elsevier.

Rikihisa, Y. (1991). The tribe Ehrlichieae and ehrlichial diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 4: 286

Schnappinger, D., Hillen, W. (1996). Tetracyclines: Antibiotic action, uptake, and resistance mechanisms. *Archives of Microbiology*, 165: 359-369.

Severinsson, K., Jaenson, T., 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: 66.

Statens jordbruksverk (2015). *Föreskrifter om ändring i Statens jordbruksverks föreskrifter (SJVFS 2013:42) om läkemedel och läkemedelsanvändning*. Jönköping. SJVFS 2015:32. Saknr D9.

Statens veterinärmedicinska anstalt. (2015a). *Granulocytär anaplasmos hos häst*. Tillgänglig: <http://www.sva.se/djurhalsa/hast/infektionssjukdomar-hast/granulocytar-anaplasmos-hos-hast> [2016-02-16]

Statens veterinärmedicinska anstalt (2015b). *PCR-metoden*. Tillgänglig: <http://www.sva.se/analyser-och-produkter/pcr-metoden>, [2016-02-17]

Stuen, S., Bergstroem, K. (2001). Persistence of *Ehrlichia phagocytophila* infection in two age groups of lambs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 42: 453-458.

Stuen, S., Bergström, S., Palmér, S (2002). Reduced weight gain due to subclinical *Anaplasma phagocytophilum* (formerly *Ehrlichia phagocytophila*) infection. *Experimental and Applied Acarology*, 28: 209-215.

White, G., Prior, SD. (1982), Comparative effects of oral administration of trimethoprim/sulphadiazine or oxytetracycline on the faecal flora of horses. *Veterinary Record*, 111: 316.

Woldehiwet, Z. (2010). The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. *Veterinary Parasitology* 167: 108-122.