

Laura Valkjärvi, Ninja Karikoski, Anna Mykkänen ja Riitta-Mari Tulamo

Tapausselostus: *Anaplasma phagocytophilum* -tartunta hevosella

Case report: *Anaplasma phagocytophilum* infection in a horse

YHTEENVETO

Hevosen granylosyyttinen anaplasmoosi, HGA, on akuutti puutiaisvälitteinen infektio, jonka aiheuttaja on *Anaplasma phagocytophilum* -bakteeri. *A. phagocytophilum* on obligatorisesti solunsisäinen gramnegatiivinen bakteeri, joka hakeutuu hevosen elimistössä erityisesti granylosyytteihin ja aiheuttaa leukopeniaa ja trombositopeniaa. Tyypillisiä oireita ovat korkea kuume, haluttomuus liikkua, ruokahaluttomuus, raajojen turvotus ja hematologiset muutokset. Diagnoosi tehdään akuutissa vaiheessa tunnistamalla bakteerimorulat verisivelynäytteestä tai PCR-tutkimuksella. Akuutin vaiheen jälkeen diagnosiikka perustuu vasta-ainetason nousuun seerumissa. Tauti on yleensä itsestään rajoittuva. Hoitoon käytetään oksitetrasykliinilääkitystä. *A. phagocytophilum* voi infektoida useita eläinlajeja ja ihmisiä. Tautia on raportoitu hevosilla Pohjois-Amerikassa ja Euroopassa. Taudin vektorina toimivat Ixodes-suvun puutiaiset. Koska Suomessa ja muualla Euroopassa esiintyvä *Ixodes ricinus* leviää Suomessa yhä laajemmalle alueelle, *A. phagocytophilum*:in aiheuttamia tautitapauksia todettaneen lähivuosina enemmän. Kuvaamme positiivisen verisivelynäytteen perusteella diagnosoidun *A. phagocytophilum* -tartunnan hevosella Suomessa. Hevosta hoidettiin Yliopistollisessa eläinsairaalassa syksyllä 2008.

SUMMARY

Equine granulocytic anaplasmosis is an acute tick-borne infection caused by an obligatory intracellular gram-negative bacterium *Anaplasma phagocytophilum*. In a horse it particularly infects granulocytes causing leucopaenia and thrombocytopaenia. Typical signs include high fever, reluctance to move, swelling of limbs and haematological changes. The diagnosis is made by detecting typical morulae in granulocytes in a blood smear or with PCR in acute cases. Later diagnosis is based on rise in antibody titre. The disease is usually self-limiting. The treatment of choice is oxytetracycline medication. *A. phagocytophilum* can infect several species including humans. The disease has been widely reported in horses in North America and Europe. The vectors of the disease are genus Ixodes ticks, of which *Ixodes ricinus* is present in Finland and the next of Europe. The distribution of *I. ricinus* in Finland has increased during the past few decades and it can be assumed that more cases of clinical anaplasmosis will appear. We report *A. phagocytophilum* infection in a horse in Finland, diagnosed on the basis of blood smear. The horse was treated at the Helsinki University Equine Teaching Hospital in the autumn of 2008.

JOHDANTO

Vaikka *Anaplasma phagocytophilum* on yleinen taudinaiheuttaja hevosilla Ruotsissa, sitä diagnosoidaan Suomessa harvoin. Granylosyyttisen anaplasmoosin esiintyvyys ruotsalaisissa puutiaisissa on 8–11 % ja seroprevalenssi hevospopulaatiossa on noin 17 %.¹⁻³ Suomalaisissa puutiaisissa anaplasmoosia on todettu vähän.⁴

Seroprevalenssia suomalaisessa hevospopulaatiossa ei ole tutkittu. Vektorina toimiva *Ixodes ricinus* -puutiaisen on yleistynyt viime vuosina voimakkaasti Suomessa, joten on oletettavaa, että myös hevosten granylosyyttistä anaplasmoosia tavataan tulevaisuudessa nykyistä enemmän. On tärkeää, että eläinlääkärit kykenevät tunnistamaan tartunnan hevosella. Kuvaamme positiivisen verisively-

näytteen perusteella diagnosoidun *A. phagocytophilum* -tartunnan hevosella Suomessa.

TAPAUSSÉLOSTUS

Yliopistollisen eläinsairaalan päivystykseen tuotiin syyskuussa 2008 Lounais-Suomesta 10-vuotias kylmäverinen ruuna, joka oli sairastunut äkillisesti. Oireina olivat apaattisuus, raskas hengitys,

haluttomuus liikkua ja jalkojen raahaaminen. Oireet oli havaittu edellisenä päivänä, jolloin eläinlääkäri oli tutkinut hevosen ja sille oli annettu trimetopriimia ja sulfaa suun kautta ja meloksikaamia injektiona. Kun oireet havaittiin, hevonen oli ollut ympärivuorokautisesti lautumella kahdeksan muun hevosen kanssa. Muilla hevosilla ei ollut havaittu oireita.

Yleistutkimuksessa hevonen oli apea. Limakalvot olivat vaaleanpunaiset ja kapillaarien täyttymisaika alle 2 sekuntia, lämpö 37,6 °C ja sydänsyke 42 kertaa ja hengitysfrekvenssi 18 kertaa minuutissa. Sydän- ja hengityssäätimet sekä imusolmukkeet olivat normaalit. Rektaalitutkimuksessa todettiin ulosteen olevan normaalia löysemää. Vatsaontelon ultraäänitutkimuksessa ei havaittu normaalia poikkeavaa. Verinäytteessä poikkeavina löydöksinä havaittiin lievä leukopenia $5,0 \times 10^9/l$ (viitealue $5,4\text{--}14,3 \times 10^9/l$), lisääntynyt fibrinogeenipitoisuus 6,5 g/l (2–4 g/l), lievä trombosytopenia $130 \times 10^9/l$ ($50\text{--}350 \times 10^9/l$), lievä hyperproteinemia 77 g/l (56–76 g/l) mutta normaali albumiinipitoisuus 32 g/l (28–38 g/l). Hevosella oli hyperbilirubinemia 64 $\mu\text{mol/l}$ (8,6–53 $\mu\text{mol/l}$). Maksasaentsyymit alkalinen fosfataasi (AFOS) ja gammaglutamyltransferaasi (GGT) olivat viitearvojen rajoissa. Verisiveilyssä havaittiin muutamissa neutrofiileissä moruloita. Kolme vuorokautta myöhemmin otetusta verinäytteestä tehtiin PCR-tutkimus Vet-Med-Laborissa *A. phagocytophilum* -bakteerin varalta. Tulos oli negatiivinen. Hevosesta otettiin pariseeruminäytteet *A. phagocytophilum* -vasta-aineiden varalta 10 vuorokauden välein. Niissä todettiin Eivirassa merkittävä vasta-aineiden lisääntyminen (tiitteri 1:40).

Oireiden ja löydösten perusteella hevosella epäiltiin virusperäistä infektiota. Antibioottilääkitys lopetettiin. Sairaalassa havaittuja

YDINKOHDAT:

- Hevosen granylosyyttinen anaplasmoosi on *Ixodes ricinus* -puutiaisen välittämä tauti, jonka aiheuttaja on *Anaplasma phagocytophilum*.
- Tyypilliset oireet ovat kuume, depressio, ruokahaluttomuus, haluttomuus liikkua, raajojen turvotus, leukopenia ja trombosytopenia.
- Diagnoosi tehdään akuutissa vaiheessa toteamalla bakteerimorulat verisiveilyllä tai PCR-tutkimuksella. Akuutin vaiheen jälkeen diagnostiikka perustuu vasta-ainetason nousuun.
- Tauti on yleensä itsestään rajoittuva. Hoitoon käytetään oksitetrasykliiniä.

oireita olivat apaattisuus ja huono ruokahalu. Verisiveilyn valmistuttua seuraavana arkipäivänä, 3 vuorokautta sairaalaan tulon jälkeen, hevoselle aloitettiin laskimonsisäinen oksitetrasykliini (Engemycin vet 100 mg/ml injektioneste, Intervet international B.V.) lääkitys 7,5 mg/kg kerran vuorokaudessa 7 vuorokauden ajan granylosyyttisen anaplasmoosin hoitoon. Lääkityksen aikana sekä hevosen yleisoireet että veriarvot normalisoituivat. Hevonen kotiutettiin lääkityksen loputtua, 10 vuorokautta sairaalaan tulon jälkeen.

POHDINTA

Epidemiologia

Hevosen granylosyyttinen anaplasmoosi todettiin ensimmäisen kerran Kaliforniassa 40 vuotta sitten. Silloin taudinaiheuttajaa kutsuttiin nimellä *Ehrlichia equi*.⁵ Sittemmin hevosen granylosyyttistä anaplasmoosia on raportoitu suurella osalla Pohjois-Amerikkaa ja Eurooppaa. On arvioitu, että hevosten granylosyyttinen anaplasmoosi on alidiagnosoitu suurimmassa osassa Eurooppaa, koska suurin osa hevosista parantuu itsestään.⁶ *A. phagocytophilum*

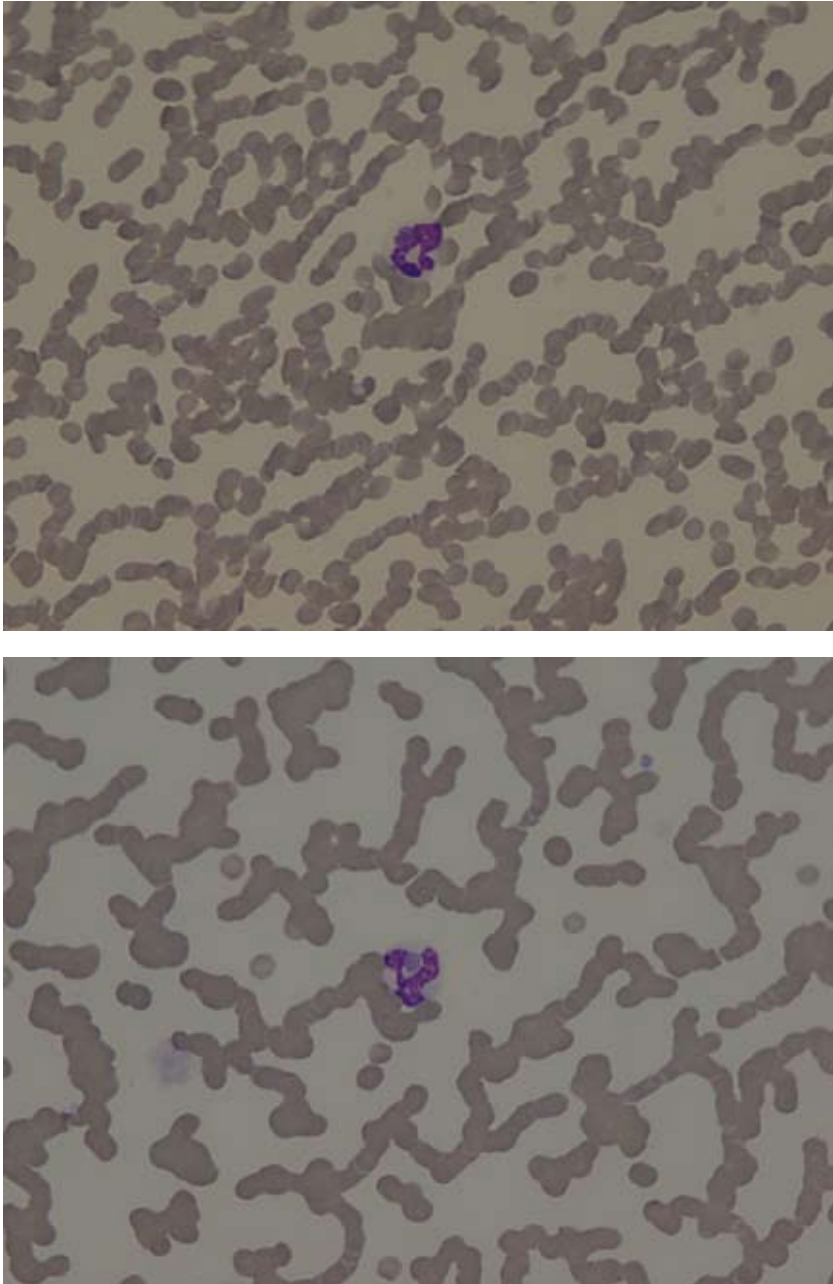
esiintyvyys ruotsalaisissa puutiaisissa on 8–11 %.^{1,2} Seropositiivisia hevosia on Etelä-Ruotsissa noin 30 % ja Pohjois-Ruotsissa noin 5 %.³ Suomen puutiaspopulaatiossa *A. phagocytophilum* on todettu olevan harvinainen.⁴ Suomalaisista hevosista tehty vasta-ainetutkimukset ovat osoittaneet, että anaplasmoosia esiintyy hevosilla runsaasti Ahvenanmaalla ja jonkin verran Manner-Suomessa, mutta kattavia seroprevalenssitutkimuksia ei ole tehty.⁷

Taudin vektorina toimivia *Ixodes*-suvun puutiaisia tavataan ilmaston lämpenemisen seurauksena yhä pohjoisemmassa. Suomessa ja muualla Euroopassa yleisimmin esiintyvä *Ixodes*-suvun puutiaisen on *Ixodes ricinus*, jota on havaittu Suomessa aina Rovaniemeä myöten. Tapausselostuksen hevonen oli Lounais-Suomesta, jossa puutiaiset ovat hyvin yleisiä. *Ixodes ricinus* -puutiaista tavataan ainoastaan lämpimänä vuodenaikana, Suomessa yleensä huhtikuusta lokakuulle. Taudin pääasiallinen tartuntareitti on infektoituneen puutiaisen purema.⁸

Etiologia ja patogeenesi

A. phagocytophilum on *Ixodes*-suvun puutiaisten välittämä gram-negatiivinen, obligatorisesti solunsisäinen bakteeri. Sen aiheuttamaa kuumesairautta on kuvattu ihmisillä ja useilla eri eläinlajeilla, muun muassa hevosilla, märehitijöillä, koirilla ja kissoilla. *A. phagocytophilum* on 2000-luvulla kehitetty nimi, joka yhdistää yhdeksi lajiksi kolme aikaisemmin tunnettua granylosyyttistä bakteeria *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia phagocytophilum* ja ihmisten granylosyyttisen anaplasmoosin aiheuttajan.⁹

A. phagocytophilum infektoi pääasiassa granylosyyttejä, erityisesti neutrofiilejä.¹⁰ Kohdesoluissa bakteerit muodostavat erillisiä kalvon ympäröimiä vakuoleja, jotka laajentuvat bakteerien jakautuessa muodostaen lopulta inkluu-



KUVA 1 PICTURE

Anaplasma phagocytophilum -moruloita kirjoituksessa kuvatun hevosen neutrofiileissä (MGG-värjäys).

Morulae of Anaplasma phagocytophilum in equine neutrophils of our patient (MGG stain).

siokappaleita, joita kutsutaan moruloiksi. Morulat voidaan havaita taudin akuuttia vaihetta sairastavan yksilön verestä tehdyssä verisiveilyssä. Morulat ovat kooltaan 0,5–5 µm ja voivat sisältää 1–20 bakteeria. Moruloita esiintyy taudin

akuutissa vaiheessa 1–50 %:ssa neutrofiilejä.⁸

Hevosen granylosyyttisen anaplasmoosin patogeneesi on huonosti ymmärretty. Päästyään puutiaisen pureman avulla isäntäeläimen verenkiertoon bakteeri leviää

verisuonia ja lymfasuonia pitkin ja infektoi granylosyyttejä. Hevosen granylosyyttisen anaplasmoosin suurin vaikutus hevosen elimistössä on vakava leukopenia ja trombositopenia.¹¹ Leukopenia heikentää elimistön puolustuskykyä ja altistaa sekundaari-infektioille. Trombositopenian seurauksena hevosilla havaitaan verenpurkauksia ja turvotusta.⁵ Kuvatussa tapauksessa hevosella todettiin tautiin liittyvät tyypillisimmät muutokset verinäytteessä eli trombositopenia ja leukopenia.

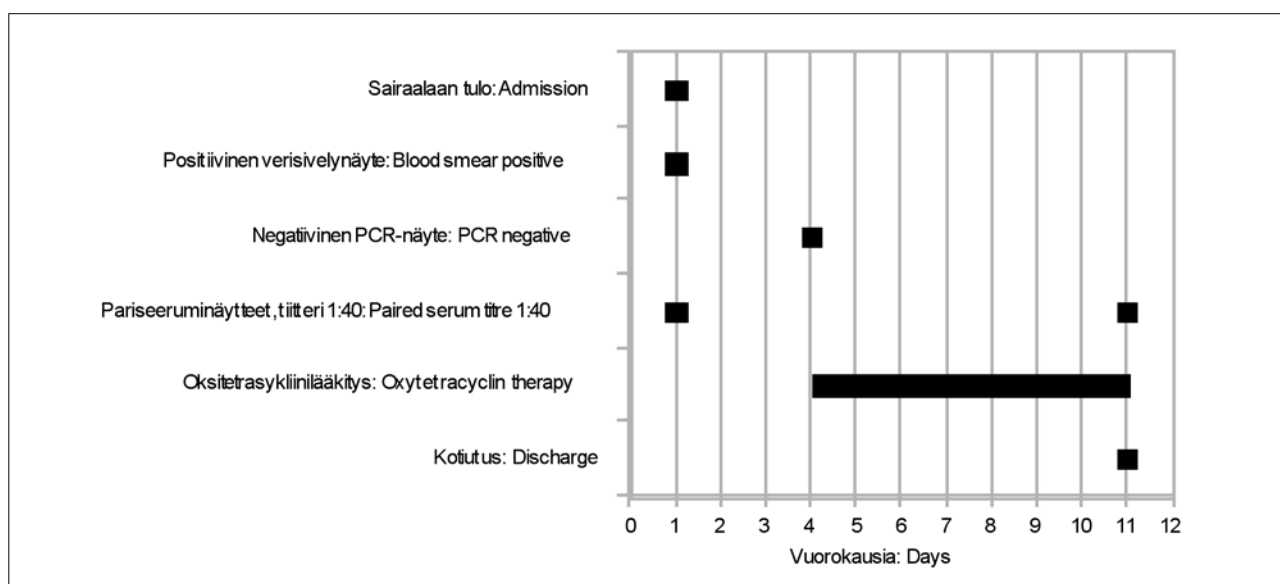
Oireet

A. phagocytophilum aiheuttaa hevosella joko akuutin tai subkliinisen taudin.⁸ Bakteeri-infektion on todettu voivan säilyä hevosella akuutin infektion jälkeen subkliinisenä ainakin 4 kuukautta, mutta sen ei ole osoitettu pystyvän aiheuttamaan uudestaan kliinistä sairautta.¹² *A. phagocytophilum* on epäilty aiheuttavan hevoselle myös lievempioireista sairautta, jonka oireena on lähinnä krooninen väsymys, mutta tätä ei ole pystytty todistamaan. Ei ole tiedossa, kuinka suuri osa tartunnan saaneista hevosista saa oireita.

Taudin itämisaika on alle 14 vuorokautta. Tyypilliset kliiniset oireet ovat korkea kuume, depressio, ruokahaluttomuus, haluttomuus liikkua, ataksia, distaalinen raajojen turvotus ja hematologiset muutokset, kuten trombositopenia, neutropenia, lymfopenia, ja lievä anemia.⁸ Hevonen voi olla ikteerinen ja limakalvoilla voidaan havaita petekkioita. Kliiniset oireet katoavat yleensä ilman hoitoa 2 viikossa.⁸ Paranemista voidaan nopeuttaa oksitetrasyklinilääkityksellä.⁸

Erotusdiagnoosit ja diagnoosi

Diagnostiset kriteerit hevosen granylosyyttisen anaplasmoosin toteamiseksi akuutissa vaiheessa ovat tyypillisten kliinisten oireiden havaitseminen, moruloiden esiinty-



KUVA 2 PICTURE

Kirjoituksen potilaan *Anaplasma phagocytophilum* -infektion hoidon aikajana vuorokausina.

Time line over the treatment of the *Anaplasma phagocytophilum* infection from our patient in days.

minen granulossyyteissä tai positiivinen PCR-näyte. Akuutin vaiheen jälkeen diagnostiikka perustuu seerumissa todettuun vähintään nelinkertaiseen vasta-ainetason nousuun. *A. phagocytophilum* -positiivinen PCR-näyte on herkin diagnostinen menetelmä.⁸ PCR:n herkkyyden takia sen avulla pystytään toteamaan aikaisempia ja myöhempiä tautitapauksia kuin verisivelyllä.¹³ Tapausselostuksen hevosen PCR-tulos oli negatiivinen. Näyte otettiin 3 vuorokautta positiivisen verisivelynäytteen jälkeen. Kokeellisesti infektoitujen hevosten on todettu olevan PCR-positiivisia keskimäärin 4 vuorokautta sen jälkeen, kun morulat ovat hävinneet verisivelystä.¹³

Tärkeimmät erotusdiagnoosit ovat virusarteriitti, purpura hemorrhagica, maksasairaus tai mikä tahansa kuumeinen systeemi-infektio ilman paikallisia oireita.⁸ Potilaallamme ei todettu kuumetta missään vaiheessa. Kuume on anaplasmoosin ensimmäisiä kliinisiä oireita ja voi hävitä jopa ennen moruloiden havaitsemista verisivelyssä.¹³ Potilaan PCR-negatiivinen

verinäyte 3 vuorokautta sairaalaan tulon jälkeen ja kuumeen puuttuminen viittaavat siihen, että hevosen oireet havaittiin ja hevonen tuotiin hoitoon, kun tauti oli jo itsestään rajoittumassa.

Hoito ja ennaltaehkäisy

HGA:n hoitoon hevosella käytetään laskimonsisäistä oksitetrasykliinilääkitystä 7 mg/kg kerran vuorokaudessa 5–7 vuorokauden ajan.⁸ Kuume laskee yleensä 12–24 tunnin kuluessa lääkityksen aloittamisesta, ja muut oireet häviävät muutamassa vuorokaudessa. Kliinisten oireiden nopea häviäminen oksitetrasykliinilääkityksen aloittamisen jälkeen tukee diagnoosia. Ilman antibioottilääkitystä oireet häviävät yleensä noin 2 viikossa.⁸ Kuolleisuus tautiin on hyvin pieni. Taudin aiheuttamat kuolemantapaukset johtuvat lähinnä koordinaatiovaikeuksien aiheuttamista vammoista ja sekundaari-infektioista.^{5,8}

Ei ole tiedossa, kuinka pitkäaikainen immunitetti taudin sairastaneelle hevoselle kehittyy. Vasta-aineiden on kuvattu säilyvän

vähintään 5–12 kuukautta luonnollisen infektion jälkeen.¹⁴ Ennaltaehkäisyssä on tärkeintä puutiaisten häätö. *A. phagocytophilumia* vastaan ei ole olemassa rokotetta.⁸

KIITOKSET

Kiitämme Yliopistollisen eläinsairaalan tutkimusteknikkoa Merja Rantaa hevosen granulossyyttisen anaplasmoosin diagnostiikasta verisivelistä.

LÄHDEKIRJALLISUUS

1. Dumler JS, Dotevall L, Gustafson R, Granstrom M. A population-based seroepidemiologic study of human granulocytic ehrlichiosis and Lyme borreliosis on the west coast of Sweden. *J Infect Dis.* 1997; 175:720–2.
2. Bjoerndorff A, Brouqui P, Eliasson I, Massung RF, Wittesjö B, Berglund J. Serological evidence of *Ehrlichia* Infection in Swedish Lyme borreliosis patients. *Scand J Infect Dis.* 1999; 31:51–5.
3. Engevall A, Frazer P, Gunnarsson A, Engvall EA, Vågsholm I, Wikström UB ym. 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. *Prev Vet Med.* 2001;49:191–208.

4. Mäkinen J, Vuorinen I, Oksi J, Peltonmaa M, He Q, Marjamäki M ym. Prevalence of granulocytic *Ehrlichia* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks collected from Southwestern Finland and Vormsi Island in Estonia. *APMIS.* 2005; 111:355–62.

5. Gribble DH. Equine ehrlichiosis. *J Am Vet Med Assoc.* 1969;155:462–9.

6. Butler CM, Nijhof AM, Jongejan F, van der Kolk JH. *Anaplasma phagocytophilum* infection in horses in the Netherlands. *Vet Rec.* 2008;162:216–7.

7. Jakava-Viljanen M. Koiran ja hevosen puutiaisvälitteiset sairaudet. Kirjassa: Punkki – puutiainen ja sen levittämät taudit. Helsinki: Arkipelagia-seura; 2007, 15–6.

8. Pusterla N, Madigan JE. *Anaplasma phagocytophila*. Kirjassa: Sellon D, Long M, toim. Equine infectious diseases. St. Louis, Miss, USA: Saunders; 2007, 354–7.

9. Dumler JS, Barbet AF, Bekker CPJ, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC ym. Reor-

ganisation of the genera of 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 combinations and designations of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonymous of *Ehrlichia phagocytophila*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001;51:2145–65.

10. Rikihisa Y. The tribe *Ehrlichia* and ehrlichial diseases. *Clin Microbiol Rev.* 1991;4:86–308.

11. Woldehiwet Z. The natural history of *Anaplasma phagocytophilum*. *Vet Parasitol.* 2010;167:108–22.

12. Franzén P, Aspan A, Egenvall A, Gunnarsson A, Karlstam E, Pringle J. Molecular evidence for persistence of *Anaplasma phagocytophilum* in the absence of clinical abnormalities in horses after recovery from acute experimental infection. *J Vet Intern Med.* 2009;23:636–42.

13. Franzen P, Aspan A, Engenvall A, Gunnarsson A, Åberg L, Pringle J. Acute clinical, hematologic, serologic, and polymerase chain reaction findings in horse

experimentally infected with a european strain of *Anaplasma phagocytophilum*. *J Vet Intern Med.* 2005;19:232–9.

14. Van Andel AE, Magnarelli LA, Heimer R, Wilson ML. Development and duration of antibody response against *Ehrlichia equi* in horses. *J Am Vet Med Assoc.* 1998; 212:1910–4.

KIRJOITTAJIEN OSOITTEET

Laura Valkjärvi, ELL, laura.valkjarvi@helsinki.fi

Ninja Karikoski, ELL, Yliopistollisen eläinsairaala

Anna Mykkänen, ELL, eläinlääketieteellinen tiedekunta, eläinlääketieteellisten biotieteiden laitos

Riitta-Mari Tulamo, professori, Dipl ECVS, eläinlääketieteellinen tiedekunta, kliinisen hevosten ja pieneläinlääketieteen laitos