

ELIN HERNLUND, leg veterinär, klinikveterinär,

ULRIKA FALKENÖ, leg veterinär,

GITTAN GRÖNDAHL, leg veterinär, VMD, tf statsveterinär,

SARA LARSDOTTER, leg veterinär, Dipl ECEIM, klinikveterinär,

JOHN PRINGLE, leg veterinär, VMD, Dipl ACVIM, professor i hästmedicin och

HELENA BACK, leg veterinär*

Theileria equi orsakade klinisk piroplasmos hos två importhästar

Klinisk piroplasmos orsakad av *Theileria equi* upptäcktes hos två hästar som nyligen förts in i Sverige från Spanien. Sjukdomen är anmälningspliktig och förekommer normalt inte i Sverige eftersom de fästingarter som fungerar som vektorer saknas här. Diagnosen komplicerades av att hästarna samtidigt var sjuka i akut hästinfluensa. Piroplasmos bör beaktas hos hästar med feber, anemi och ikterus, särskilt om de kommer från områden endemiska för ekvin piroplasmos. Om nya fästingarter får fäste i Sverige kan infektionen komma att spridas från seropositiva hästar.

EKVIN PIROPLASMOSS

Ekvin piroplasmos (EP) är en vektorburen parasitsjukdom som drabbar hästdjur, inklusive åsna och zebra. EP orsakas av de blodburna protozoerna *Babesia caballi* eller *Theileria equi* som sprids med fästingar och sjukdomen är anmälningspliktig i Sverige. *T equi* benämndes tidigare *Babesia equi*, men har nu klassificerats om till *Theileria equi* (12).

I dagläget finns 14 fästingarter tillhörande släktena *Dermacentor*, *Rhipicephalus* och *Hyalomma* som rapporteras kunna överföra parasiterna (7). Dessa förekommer främst i tropiska och subtropiska områden, men även i tempererade klimat, dock ännu inte i Sverige. EP förekommer endemiskt där vektorer finns, som i större delen av Afrika, Asien,

Syd- och Centralamerika och Mellanöstern. I USA gjordes stora insatser under 1980-talet för att utrota parasiten och därefter har endast ett fåtal utbrott ägt rum, främst i Florida och Kentucky. Till följd av detta har USA mycket stränga regler för import av hästar.

I Europa är EP endemiskt utbredd i Portugal, Spanien, Frankrike, Belgien, Italien och på Balkan. En nyligen utförd studie i Schweiz visar på en seroprevalens på 7,3 procent där antalet seropositiva hästar var signifikant högre hos importerade från Spanien och Portugal

jämfört med inhemska och tyska hästar (7, 14, 15, 17). I studier från olika delar av Spanien har 40–77 procent av hästarna rapporterats vara seropositiva för *T equi* (6) (Figur 1). I Sverige har enstaka fall av seropositiva importerade hästar förekommit, men tidigare har inga fall av klinisk piroplasmos hos häst rapporterats i landet.

KRONISKT BÄRARSKAP

Hästar kan bli smittbärare under lång tid, i upp till fyra år när det gäller *B caballi* och för resten av livet med *T equi*. Parasitemin är då inte ständigt påvisbar men kan återkomma efter immunsuppression eller en krävande ansträngning (9). De persistent infekterade hästarna utgör en reservoar för EP även om de inte uppvisar några kliniska symtom. I endemiska områden är troligen sjukdomen mer prevalent än vad antalet kliniska fall visar (6). Persistent infekterade ston kan överföra *T equi* till sina avkommor och parasiten kan orsaka abort, dödfödslar, neonatala sjukdomar eller ett föl som är bärare av parasiten. I Sydafrika har *T equi* rapporterats orsaka upp till elva procent ➤



FOTO: THURNER HÖF

FIGUR 1. I studier från olika delar av Spanien har 40–77 procent av hästarna rapporterats vara seropositiva för *T equi*.

- av aborterna hos ston i endemiska områden (2, 7, 14).

KLINISKA SYMTOM

Inkubationsperiod för EP varierar mellan 10–30 dagar för *B caballi* och 12–19 dagar för *T equi*. Sjukdomen kan vara perakut, akut, subakut och kronisk. Parasiten angriper och förstör erythrocyterna. Hur allvarligt sjukdomsförloppet blir beror på mängden förstörda erythrocyter samt hur kroppens immunförsvar reagerar. Vid akut infektion får hästen vanligen feber, anemi och ikterus. Petekier eller ekymoser kan ses i slemhinnorna. Nedsatt allmäntillstånd och aptit samt ökad hjärt- och andningsfrekvens förekommer också. Akut död förekommer i enstaka fall. Piroplasmos hos häst ger dock sällan hematuri, till skillnad från sjukdomen med samma namn hos nötkreatur (orsakad av *Babesia divergens*) där rödfärgad urin är ett klassiskt symptom. *B caballi* anses ge lindrigare förlopp än *T equi* eftersom i allmänhet färre erythrocyter infekteras (7). Vid kronisk infektion hos hästar förekommer intermittent feber, reducerad prestation, vikt-förlust, distala ödem och mag-tarmstörningar.

Då EP hos häst ofta ger ospecifika symtom som feber, anemi och ikterus kan den lätt förväxlas med andra sjukdomar. Differentialdiagnoser som bör övervägas inkluderar ekvin infektiös anemi, leptospiros, purpura hemorrhagica, ekvin viral arterit, ekvin granulocytär anaplasmos, förgiftning av växter eller kemikalier, idiopatisk immunmedierad hemolytisk anemi och andra sjukdomar som orsakar vaskulit och hemolys. Bland exotiska sjukdomar kan tänkas surra, dourine och afrikansk hästpest.

PARASITENS LIVSCYKEL

Parasiterna vid EP genomgår en livscykel med många olika stadier, något varierande beroende på vilken fästing som utgör mellanvärd (20). Hos *B caballi* kan en transovariell överföring av smittan ske i fästingen, vilket inte visats hos *T equi*.

I stora drag är parasiternas livscykel följande: en smittad fästing för över sporozyter till hästens blod som ome-

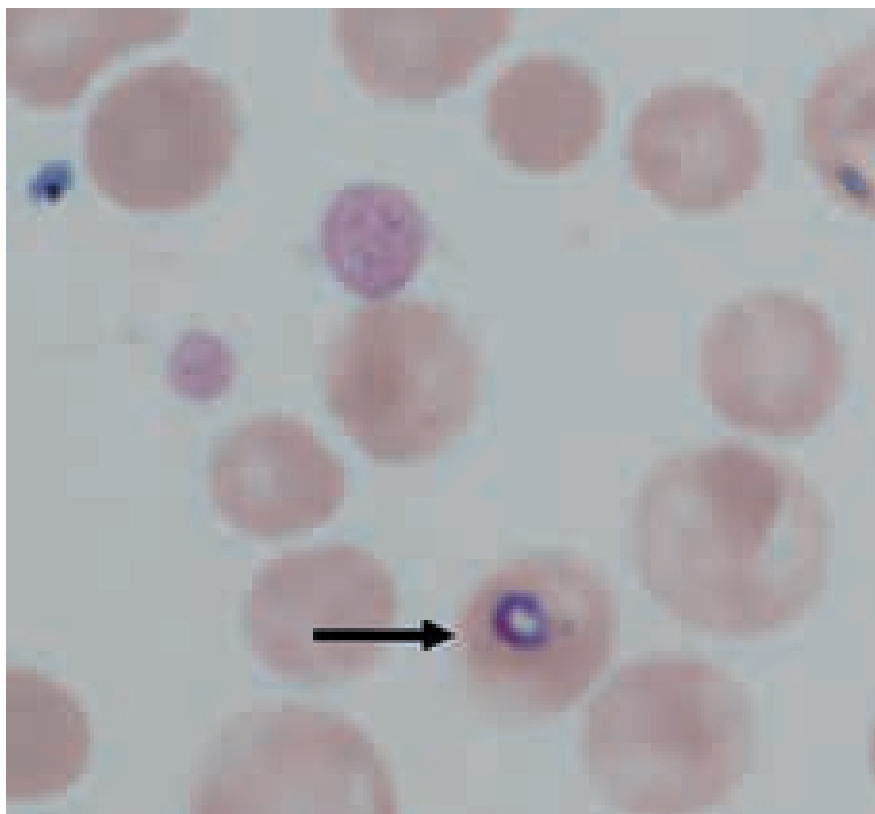


FOTO: HARALD TVEDTEN, SLU.

FIGUR 2. Blodutstryk från häst infekterad med *Theileria equi*, färgat med May Grünwald, Giemsa. Pilen visar infekterad erythrocyt med parasiten i gamontstadium.

delbart attackerar erythrocyterna där de formar små kärnkroppar, så kallade trofozoiter. Dessa formas sedan till två delar, merozoiter. Infekterade erythrocyter rupturerar så småningom och merozoiterna infekterar då nya erythrocyter. Merozoiterna hos *T equi* kan bilda ringformade strukturer som kallas gamonter (Figur 2). Nya fästingar tar upp smittan genom att suga i sig infekterade erythrocyter med merozoiter. Hos samtliga *Babesia*-arter sker utvecklingen endast i erythrocyterna, medan det för *T equi* finns rapporterat att också lymfocyter kan invaderas av sporozyter (14).

DIAGNOSTIK

Blodutstryk

Hos kliniska fall kan diagnosen EP ställas genom mikroskopering av blodutstryk. Trofozoiterna är ofta ovala och upp till 3 µm i storlek (Figur 3). *T equi* kan uppträda som karaktäristiska ”malteserkors” (Figur 4). Om detta fynd görs kan man differentiera de två protozoerna via mikroskopering. Hos kliniskt sjuka djur

är vanligen ca 1–5 procent av erythrocyterna infekterade, i vissa fall upp till 20 procent (14). Hos hästar som inte befinner sig i den akuta fasen av sjukdomsförloppet är inte mikroskopering tillförlitlig, då antalet infekterade erythrocyter är för få. För dessa rekommenderas serologiska metoder (3).

Serologi

Flera olika serologiska analysmetoder förekommer. Komplementfixeringstest (CF) baseras på IgM-antikroppar, som framför allt förekommer tidigt under infektionen (3). Problemen med CF är att falskt negativa resultat förekommer samt även korsreaktioner, så att antisera mot *B caballi* kan reagera med antigen från *T equi*. Därför anses CF inte längre vara ”golden standard” för att identifiera hästar som är kroniskt infekterade med *T equi* (4).

Indirekt immunfluorescerande antikroppstest (IFAT) har högre känslighet än CF och har därför använts som ett kompletterande test. I en studie med

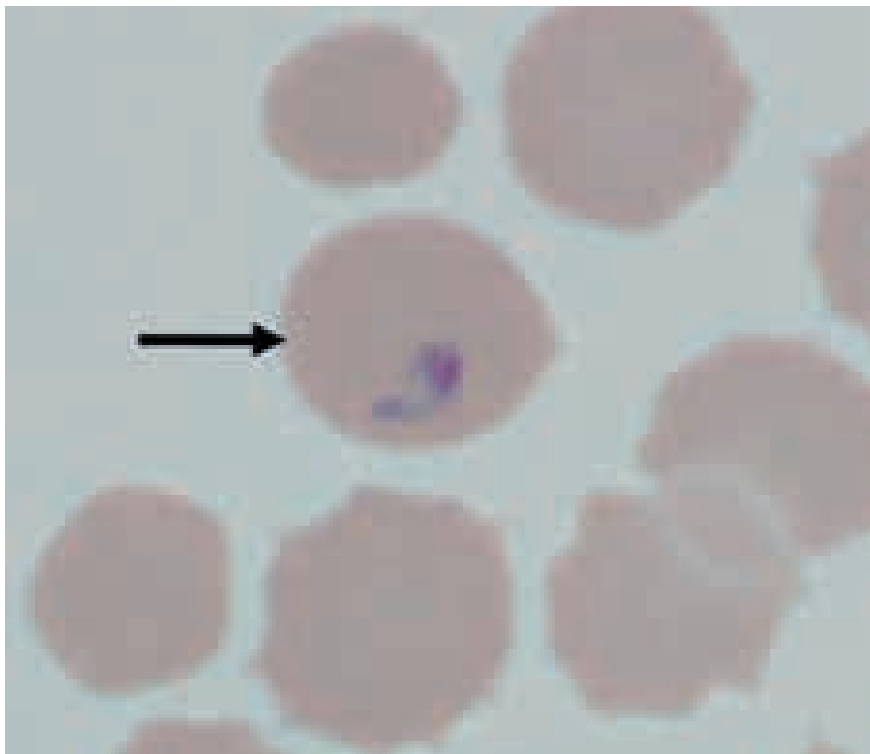


FOTO: HAROLD TVEITEN, SILU.

FIGUR 3. Blodutstryk från häst infekterad med *Theileria equi*, färgat med May Grünwald, Giemsa. Pilen visar en erythrocyt infekterad av en trofozoit.

IFAT påvisades antikroppar 3–20 dagar efter experimentell infektion med *T equi* och antikroppstitrar påvisades sedan under den kroniska infektionen (14).

Enligt World Organisation for Animal Health (OIE) rekommenderas IFAT som metod för att testa hästar vid import eller export. Enzyme-Linked

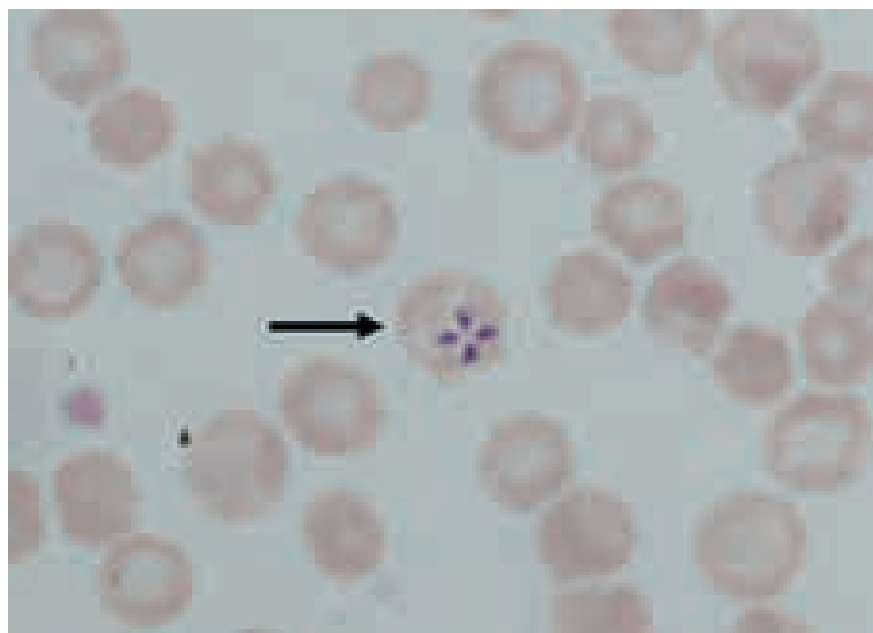


FOTO: ULRICA FALKENO

FIGUR 4. Blodutstryk från häst infekterad med *Theileria equi*, färgat med May Grünwald, Giemsa. Pilen visar merozoiter i delande stadium som uppträder i ett så kallat malteserkors.

Immunsorbent Assay (ELISA) och Competitive ELISA förekommer också. C-ELISA har kunnat detektera kroniska infektioner som inte var positiva vid CF-test (4) och är där-för en säkrare metod jämfört med CF. C-ELISA blev godkänt av OIE 2004 som en rekommenderad testmetod för kontroll av resande hästar.

BEHANDLING

I litteraturen beskrivs olika behandlingsregimer där medicinering med imidocarb dipropionat (Imizol) är vanligast både vid behandling av *T equi* och *B caballi*. Det är samma läkemedel som används vid behandling av babesios hos nöt. Doseringsangivelser varierar från 2,2 mg/kg intramuskulärt fem gånger med ett dygns intervall till 4,7 mg/kg intramuskulärt fem gånger med 72 timmars intervall (4, 5). I två studier från 2009 (16) och 2012 (10) rapporterades effektiv behandling av infektion med *B caballi* respektive *T equi* med hög dos imidocarb dipropionat (4 mg/kg intramuskulärt fyra doser med 72 timmars mellanrum, i vissa fall upprepat i två omgångar). Det står i kontrast mot resultaten i en tidigare studie (5) där varken *B caballi* eller *T equi* kunde elimineras trots upprepad behandling med samma dosering. Orsaken till skillnader i behandlingsresultat är oklar, men varierande känslighet hos parasitstammar har föreslagits (16, 18).

Imidocarb dipropionat orsakar en dosberoende njur- och levertoxicitet hos häst (8). Man ser även biverkningar i form av kolik och diarré som beror på anti-kolinesterasaktivitet hos läkemedlet (1). Intravenös injektion med glykopurylat har därför testats och rekommenderas i samband med imidocarbmedicineringen för att minska den kolinerga stimuleringen av gastrointestinalsyste-met (11). Kombinationsbehandling med t ex imidocarb dipropionat och buparvaquone har föreslagits för att överkomma behandlingsresistens hos *T equi* (4).

FALLPRESENTATION

I juni 2012 inkom två hästar, två respektive tre år gamla, av rasen pura raza española (PRE) till hästkliniken vid Universitetsdjursjukhuset (UDS) med ➤

- misstanke om transportsjuka. Hästarna hade importerats från Spanien och ankom till en svensk gård två dagar tidigare. De var ovaccinerade mot hästinfluensa. Vid ankomst till djursjukhuset uppvisade hästarna måttligt nedsatt allmäntillstånd, feber, spontan hosta, ansträngd andning med missljud, kraftigt purulent nosflöde, bleka och ikteriska slemhinnor samt måttligt förstörade submandibularlymfknutor.

Laboratorieresultat

Båda hästarna uppvisade en måttlig, regenerativ anemi (hematokritvärdena var 0,21 respektive 0,19 l/l, referensvärdet: 0,28–0,5 l/l) med tydlig anisocytos och makrocytära erythrocyter (Figur 5) samt en lindrig förekomst av stavkärniga neutrofiler. En måttlig monocytos samt lindrig lymfocytos med reaktiva monocytter och lymfocyter kunde även påvisas. Intracellulära protozoer i erythrocyterna identifierades i blodutstryk från

båda hästarna, som med malteserkors (Figur 4) var diagnostiska för *T equi*.

Båda hästarna hade sänkta albuminvärden samt normala protein-, glutamatdehydrogenas- och gallsyrevärden i serum. Vidare kunde förhöjda serumkoncentrationer av SAA (serum amyloid A) konstateras, 98 respektive >900 mg/l vid inskrivning (referensvärde <5 mg/l) men endast en av hästarna uppvisade förhöjd fibrinogenkoncentration i blodet, 5,9 g/l (referensvärde 1,8–4,2 g/l).

Antikroppar mot *T equi* påvisades med IFAT i serum hos en av hästarna och hos den andra hästen kunde serumantikroppar detekteras med både IFAT och C-ELISA. Serumprover från hästarna var negativa för ekvin infektiös anemi med agargelimmundiffusion (AGID, Coggins test).

Ekvint influensavirus påvisades indirekt hos hästarna vid analys med PCR-teknik av nässvabbprov från en smittad kontakthäst. Provet var negativt vid PCR

för ekvint arteritvirus, ekvint herpesvirus 1 och 4 samt ekvint rinitvirus B. Bakterieodlig från purulent sekret i trakea från båda hästarna visade riklig respektive måttlig växt av *Streptococcus zooepidemicus* subspecies *zooepidemicus* i sparsam blandflora. Bakterien var sensibel för penicillin.

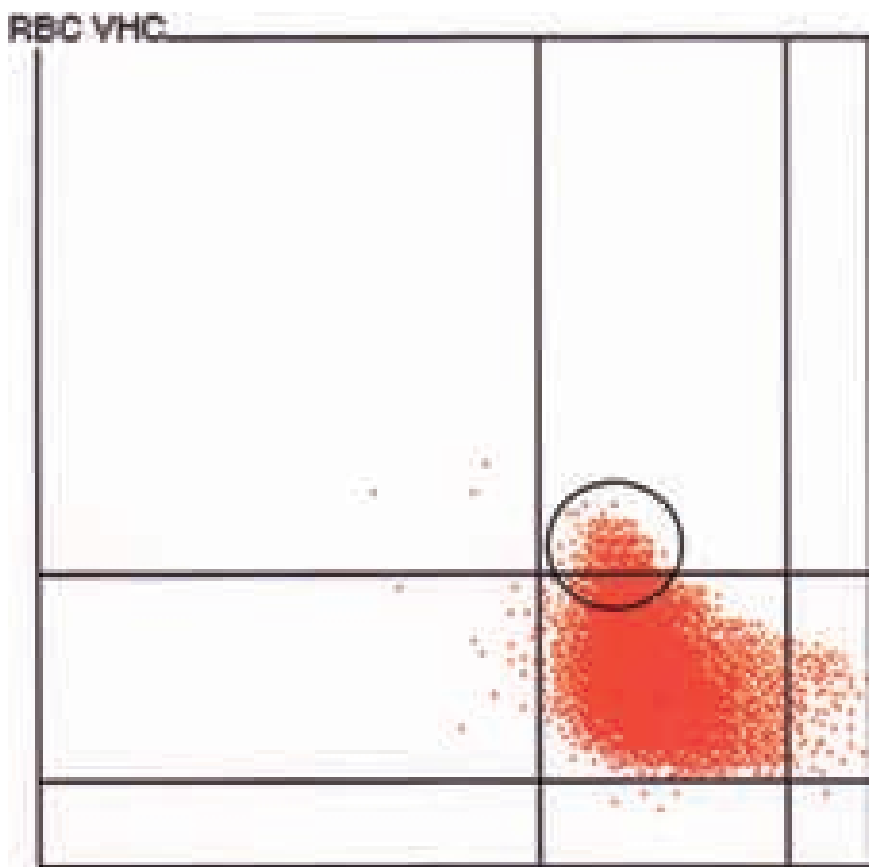
Behandling och uppföljning

Ingen behandling specifikt riktad mot *T equi* sattes in. Behandling mot sekundär bakteriell luftvägsinfektion/lindrig pleuropneumoni inkluderade bensylpenicillinnatrium 18 mg/kg tre gånger dagligen och flunixin meglumin 0,5 mg/kg två gånger dagligen under klinikvistelsen som varade i tio dagar. Vid hemgång hade febern avklingat, hematokriten stigit och luftvägssymtomen förbättrats. Behandling med bensylpenicillinprokain 20 ml/kg intramuskulärt en gång dagligen ordinerades i ytterligare fem dagar. Vid telefonkontakt med ägaren efter cirka sex månader uppgavs att hästarna inte uppvisade några kliniska symptom på sjukdom. Den äldre hästen hade ridits några månader utan tecken på nedsatt prestation vid arbete.

DISKUSSION

Hästarna som presenteras i fallrapporten var troligen kroniskt infekterade med blodparasiten *T equi*. Hästarna bör ha smittats via fästingar i exportlandet Spanien där prevalensen är hög (6). Infektionen har sannolikt reaktiverats och utvecklats till klinisk piroplasmos på grund av stress och påverkat immunförsvaret i samband med transporten till Sverige och den samtidiga akuta infektionen med hästinfluensavirus. Detta gav hästarna en sammansatt sjukdomsbild med symptom både från övre luftvägarna, lindrig pleuropneumoni och anemi.

Makrocytära erythrocyter påvisades i blod från båda hästarna vid alla provtagningar. Fynd av makrocytära erythrocyter talar för regenerativ anemi hos häst (19). Hästar med anemi uppvisar inte retikulyocytos eller högt MCV (genomsnittstorlek hos de röda blodkropparna), till skillnad från hund, katt och svin där dessa parametrar används som tecken på regeneration. Inflammationsbildningen med förhöjt SAA-värde, lågt albuminvärde,



FIGUR 5. Cytoqram över erythrocyter hos häst med klinisk theilerios. X-axeln indikerar hemoglobinhalten och Y-axeln indikerar storlek hos varje röd blodkropp. Normala erythrocyter hos häst ligger inom fyrkanten nedanför ringen. Ringen markerar makrocytära erythrocyter.

neutrofil och vänsterförskjutning kan förklaras av hästarnas influensa, sekundära pleuropneumoni och även av deras hemolytiska anemi. Fibrinogen ökar inte lika snabbt och inte lika mycket som SAA och det är troligen orsaken till att den ena hästen hade normalt fibrinogenvärde men förhöjt SAA-värde. Leverparametrarna GLDH, som påvisar levercellsskada, och gallsyror, som påvisar kolestas eller nedsatt leverfunktion, var normala hos båda hästarna. Detta tillsammans med hästarnas anemi och senare fynd av intracellulära protozoer gör att man kan dra slutsatsen att deras ikeriska slemhinnor inte var hepatiskt utan hemolytiskt orsakade.

Vid ekvin piroplasmos är antalet protozoer ofta få, vilket gör att den veterinär som bedömer blodstryket ofta måste leta aktivt efter dem. Det är därför viktigt att det på remissen till laboratoriet anges om hästen är importerad, vilken klinisk misstanke som föreligger och att blodprovet skickas till ett laboratorium där det finns personal som är van att titta på veterinär hematologi.

Hästarna fick ingen specifik behandling mot infektionen med *T equi*. Detta berodde på en bedömning om betydande risk för biverkningar från läkemedel liksom oklara behandlingsresultat framför allt vad gäller eliminering av parasiten.

I dagsläget finns inte ekvin piroplasmos endemiskt i Sverige på grund av att rätt fästingart saknas i landet. Klimatförändringar och ökat resande hos både människor, sällskapsdjur och hästar ökar risken för att fästingpopulationerna i Europa förändras. Fästingar som kan sprida EP har t ex observerats i Nederländerna (13). Det finns risk att nya kliniska fall kan skapas i Sverige från de kroniska smittbärare, framför allt från Spanien och Portugal, som redan finns i landet. Detta kan ske om fästingararterna etableras här, om smittbärarna smittar sina föl intrauterint, eller eventuellt vid iatrogen smittspridning, som via kontaminerade nålar och kirurgiska instrument. Det är viktigt att komma ihåg är att en häst som en gång infekterats med *T equi* är bärare för resten av livet. När det gäller *B caballi* blir hästarna oftast inte livslånga bärare, men hästen kan likväl vara bärare i upp till fyra år. Häs-

tar som är bärare utgör en reservoar för smitta av EP.

SAMMANFATTNING

Författarna vill göra läsarna uppmärksamma på ekvin piroplasmos (EP), en sjukdom som idag inte finns endemiskt i Sverige beroende på att den fästing som utgör mellanvärd för EP ännu saknas i landet. Om/när vi får in dessa fästingar kan vi få en spridning av EP från införda seropositiva hästar och deras eventuella intrauterint smittade avkommor. Symtomen kan variera, men vid akut sjukdom ses ofta anemi, feber och ikterus. Vid misstanke om sjukdom bör blodprov tas för serologisk diagnostik och eventuellt blodstryk för direktmikroskopi. Infekterade hästar blir livslånga bärare när det gäller *Theileria equi* och bärare i flera år för *Babesia caballi*. Dessa hästar kan vara kroniska smittbärare utan att uppvisa kliniska symtom.

SUMMARY

Theileria equi in two horses imported from Spain

Two young horses recently imported to Sweden from Spain were diagnosed with equine piroplasmiasis (EP) caused by the vector-borne hemoprotezoa *Theileria equi* (*T equi*). These are apparently the first reported clinical cases in Sweden. The horses were also ill, due to equine influenza infection and secondary bacterial infection of the respiratory tract.

T equi and *Babesia caballi* are the two parasites causing piroplasmiasis in horses. The parasites infect the horses' blood by tick bites and invade the red blood cells, which eventually rupture causing anemia and long term to life long persistent infection. Sweden is considered free from equine piroplasmiasis because of the absence of a suitable tick vector. The disease is reportable. The diagnosis should be considered as a differential in imported horses that exhibit fever, anemia and icterus. Tick populations in Europe are changing and ticks capable of transmitting piroplasmiasis were recently found in the Netherlands (13). If these species of ticks also populate Sweden we face the risk of a disease spread from infected (imported) horses serving as a reservoir for the disease.

Referenser

- Adams LG. Clinicopathological aspects of imidocarb dipropionate toxicity in horses. *Res Vet Sci*, 1981, 31, 54–61.
- Allsopp MTEP, Lewis BD & Penzhorn BL. Molecular evidence for transplacental transmission of *Theileria equi* from carrier mares to their apparently healthy foals. *Vet Parasitol*, 2007, 148, 130–136.
- Bose R, Jorgensen WK, Dalgliesh RJ, Friedhoff KT & Devos AJ. Current state and future trends in the diagnosis of babesiosis. *Vet Parasitol*, 1995, 57, 61–74.
- Bruning A. Equine piroplasmiasis, an update on diagnosis, treatment and prevention. *Vet J*, 1996, 152, 2, 139–151.
- Butler CM, Nijhof AM, van der Kolk JH, de Haseth OB, Taoufik A, Jongejan F & Houwers DJ. Repeated high dose imidocarb dipropionate treatment did not eliminate *Babesia caballi* from naturally infected horses as determined by PCR-reverse line blot hybridization. *Vet Parasitol*, 2008, 151, 320–322.
- Camacho AT, Guitian FJ, Pallas E, Gestal JJ, Olmeda AS, Habela MA, Telford III SR & Spielman A. *Theileria (Babesia) equi* and *Babesia caballi* infections in horses in Galicia, Spain. *Trop Anim Health Prod*, 2005, 37, 293–302.
- Dewaal DT. Equine piroplasmiasis – a review. *Vet J*, 1992, 148, 1, 6–14.
- Donnellan CMB & Marais HJ. Equine piroplasmiasis. In: Mair TS and Hutchinson RE, eds. *Infectious Diseases of the Horse*. Equine Vet J Ltd, 2009, 333–339.
- Equine piroplasmiasis factsheet. Iowa State University, 2008. www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/equine_piroplasmiasis.pdf
- Grause JF, Ueti MW, Nelson JT et al. Efficacy of imidocarb dipropionate in eliminating *Theileria equi* from experimentally infected horses. *Vet J*, 2012, <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.10.025>.
- Kutscha J, Sutton DGM, Preston T & Guthrie AJ. Equine piroplasmiasis treatment protocols: Specific effect on oro-caecal transit time as measured by the lactose 13C-ureide breath test. *Equine Vet J Suppl*, 2012, 44, Issue Suppl, S43, 62–67.
- Mehlhorn H & Schein E. Redescription of *Babesia equi* Laveran, 1901 as *Theileria equi*. *Parasitol Res*, 1998, 84(6), 467–475.
- Nijhof AM, Bodaan C, Postigo M et al. Ticks and associated pathogens collected from domestic animals in the Netherlands. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 2007, 7, 585–595.
- Rothschild CM. Equine piroplasmiasis. In: Debra C, Sellon DC & Long MT, eds. *Equine Infectious Diseases*. St Louis, Saunders Elsevier, 2007, 465–473.
- Schein E & Fla BR. Equine babesiosis. In: Ristic M, ed. *Babesiosis of domestic* ▶

- animals and man. Boca Raton, Fla, CRC Press, 1988.
16. Schwint ON, Ueti MW, Palmer GH et al. Imidocarb dipropionate clears persistent *Babesia caballi* infection with elimination of transmission potential. Antimicrob Agents Chemother, 2009, 4327–4332.
 17. Sigg L, Gerber V, Gottstein B, Doherr MG & Frey CF. Seroprevalence of *Babesia caballi* and *Theileria equi* in the Swiss horse population. Parasitol Int, 2010, 59, 313–317.
 18. Traub-Dargatz JL. Proceedings of the AAEP Annual Resort Symposium, St Michael, Barbados, January 24–26, 2011.
 19. Tvedten H. Laboratory and clinical diagnosis of anemia. In: Weiss DJ & Wardrop KJ, eds. Schalm's Veterinary Hematology, 6th ed. Ames, Iowa, Wiley-Blackwell Publishing Ltd, 2010, 155–156.
 20. Zapf F & Schein E. New findings in the development of babesia-(theileria)-equi (laveran, 1901) in the salivary-glands of the vector ticks, hyalomma species. Parasitol Res, 1994, 80, 543–548.

***ELIN HERNLUND**, leg veterinär, klinikveterinär, Hästkliniken, Universitetsdjursjukhuset (UDS), SLU, Box 7040, 750 07 Uppsala.

ULRIKA FALKENÖ, leg veterinär, Klinisk Kemiska Laboratoriet, Universitetsdjursjukhuset (UDS), SLU, Box 7038, 750 07 Uppsala.

GITTAN GRÖNDAHL, leg veterinär, VMD, tf statsveterinär, SVA, 751 89 Uppsala.

SARA LARSDOTTER, leg veterinär, Dipl ECEIM, klinikveterinär, Hästkliniken, Universitetsdjursjukhuset (UDS), SLU, Box 7040, 750 07 Uppsala.

JOHN PRINGLE, leg veterinär, VMD, Dipl ACVIM, professor i hästmedicin, SLU, Box 7054, 750 07 Uppsala.

HELENA BACK, leg veterinär, Avdelningen för parasitologisk diagnostik, SVA, 751 89 Uppsala.
