



Ny PCR-diagnostik för kvarka

Projektnamn: Ny PCR-diagnostik för kvarka
Projektledare: Viveca Båverud, Enhet för bakteriologi, SVA
År: 2005, 2006, 2007
Kontaktperson: Viveca Båverud, 018-67 40 00, viveca.baverud@sva.se

Bakgrund och syfte

Kvarka är en mycket smittsam och allvarlig infektionssjukdom hos hästar. Sjukdomen orsakas av bakterien *Streptococcus equi subspecies equi* (*S. equi*). De flesta hästar får feber med nedsatt allmäntillstånd. Typiska symtom är näsflöde (som i början kan vara tunt och genomskinligt men blir sedan tjockt och gult), hosta och ansvällning av lymfknutorna i huvud/halsregionen (submandibular- och retropharyngeallymfknotorna). I lymfknutorna utvecklas ofta bölder som kan spricka och tömma sig på stora mängder var.

Under senare år rapporteras att kvarka också kan diagnostiseras på hästar med mycket milda symtom. Näsflödet kan vara tunt och genomskinligt och är då omöjligt att skilja från en virusinfektion. Ibland finns heller ingen lymfknuteansvällning eller hosta. Den närbesläktade *Streptococcus equi subspecies zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) som kan förekomma hos friska hästar utan att orsaka sjukdom isoleras ofta från hästar med övre luftvägssymtom.



Foto: SVA.

Diagnos ställs ofta med ledning av kliniska symtom men kan konfirmeras genom att odla fram *S. equi* från provtaget från näshålan, svalget, luftsäckar eller en böld. På laboratoriet odlas provet på olika agarplattor där bakterien växer fram. Bakterien, som tillhör Lancefield grupp C, typas sedan med hjälp av koloniutseende, Gramfärgning och biokemiska tester. Minimitid för odling och typning på laboratoriet är två dygn, ibland kan det ta fler dygn p.g.a. riklig växt av annan bakterieflora.

I en svensk studie av Olsson et al. (1994) och även i internationella studier har, trots omfattande provtagningar vid kvarkautbrott, som mest 50 % av hästar med symtom varit odlingspositiva. Infekterade hästar har visats normalt kunna bära *S. equi* ca en månad efter insjuknandet och även symptomlösa smittbärare med kvarkabakterien i luftsäckarna har observerats. Dessa hästar kan ibland bära på smitta i årtal.

Syftet med projektet var att förbättra möjligheten att påvisa bakterien *S. equi* som orsakar kvarka hos häst. För att kunna förebygga och minimera smittspridning är en snabb och känslig diagnostik av största vikt. Målsättningen med studien var att konstruera ett realtids-PCR-system som både kan påvisa och skilja *S. equi* och *S. zooepidemicus* åt. Behov fanns också att erhålla ökad kunskap om vilken provtagningsmetodik som är optimal. Vi ville även studera olika stammar av *S. zooepidemicus* och möjligheterna att gruppera dessa stammar efter deras förmåga att orsaka olika sjukdomssymtom.



Resultat

I studien togs ett realtids-PCR-system fram som mycket snabbt påvisar och skiljer *S. equi* och *S. zooepidemicus* åt och dessutom med högre känslighet än den konventionella odlingen. Nässköljprov och en typ av nässvabb som analyserats med realtids-PCR visade hög känslighet och andelen hästar som var positiva för *S. equi* var betydligt högre än vad som setts i tidigare studier. Detta är mycket värdefulla resultat för att på sikt kunna begränsa smittspridningen av kvarka.

Olika stammar av *S. equi* visar stor genetisk likhet men vi kunde skilja mellan stammarna genom sekvensering av genen för ett för *S. equi* viktigt protein kallat SeM. Stammarna kunde även skiljas åt med en metod som åskådliggör hela genupsättningen, s.k. pulsfältsgelelektrofores (PFGE). Detta ser vi som mycket lovande med potential att kunna smittspåra svenska stammar av *S. equi* vid utbrott. Den här typen av information skulle kunna leda till att vi lär oss mycket mer om smittvägar och riskfaktorer för kvarka. Vi kan även nämna att olika stammar av *S. zooepidemicus* visar stor diversitet i alla utförda sekvenseringar och kräver ytterligare studier för att se om stammarna kan kopplas till olika sjukdomssymtom.

Metod

S. equi-stammar isolerade från hästar med kvarka och *S. zooepidemicus*-stammar isolerade från hästar med annan övre luftvägssjukdom karakteriserades på molekylär nivå genom sekvensering av olika gener. Resultaten från dessa sekvenseringar användes för att konstruera ett realtids-PCR-system som kan påvisa och skilja *S. equi* och *S. zooepidemicus* åt. I stallar med kvarkautbrott har provtagning skett på olika sätt för att ta fram en optimal modell. På laboratoriet har olika analysätt utprovats för att få en snabb analys med hög känslighet. Flera olika gener för både *S. equi* och *S. zooepidemicus* sekvenserades i syfte att studera likheter och skillnader mellan stammarna och möjligheterna att korrelera stammar till olika kliniska symtom.



Kvarkabakterien på odlingsplatta.
Foto: SVA.

Behov av vidare studier

Det föreligger ett stort intresse från djurägare att kunna friförklara sina stall efter ett kvarkautbrott. Det finns därför ett stort behov av vidare forskning kring uppföljande provtagningar efter utbrott av kvarka för att kunna ta fram rekommendationer för att friförklara hästar och stall från smitta efter utbrott.

Vetenskapliga referenser

Båverud V, Johansson SK, Aspán A. Real-time PCR for detection and differentiation of *Streptococcus equi* subsp. *equi* and *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. *Vet Microbiol.* 2007;124:219-29.

Aspán A, Johansson SK, Lindahl S, Söderlund R, Båverud V. Molecular characterization of clinical isolates of *Streptococcus equi* subsp. *equi* and *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. Manuskript.



Lindahl S, Aspán A, Pringle J, Egenvall A, Båverud V. Evaluation of sampling technique and of PCR and culture analysis of samples from horses with strangles. Manuskript.

Det här projektet har fått anslag från Stiftelsen Svensk Hästforskning. Det här är en populärvetenskaplig sammanfattning av den slutrapport som forskarna skrivit efter forskningsprojektets slut. Mer information kan fås direkt från forskarna själva eller från Stiftelsen Svensk Hästforskning, www.hastforskning.se.