



## Studier av *S. equi* för att förhindra kvarka

Projektnamn: Studier av *Streptococcus equi* i syfte att utveckla metoder för att förhindra kvarka  
Projektledare: Bengt Guss, Institutionen för mikrobiologi, SLU  
År: 2005, 2007  
Kontaktperson: Bengt Guss, 018 - 67 32 05, bengt.guss@mikrob.slu.se

### Syfte

Kvarka är en allvarlig smittsam sjukdom som drabbar hästar. Kvarka orsakas av en bakterie med namnet *Streptococcus equi* underart *equi*. Bakterien tar sig in via hästens nos eller mun där den når slemhinnan i de övre luftvägarna. Från slemhinnan sprider sig bakterien via det lymfiska systemet till lymfkörtlarna i hästens huvud och hals. I körtlarna förökar sig bakterierna snabbt vilket leder till en kraftig inflammation, feber och svullnad.

Forskargruppen vid SLU har under många år studerat bakterien som orsakar kvarka i syfte att förstå vilka sjukdomsframkallande egenskaper bakterien har. Med kunskap om vilka egenskaperna är och hur de påverkar hästen anser vi att man rent grundvetenskapligt bättre kan förstå hur infektionen går till. Vilka tänkbara egenskaper kan då vara intressanta att studera? Ja, vi antar att en sjukdomsframkallande bakterie måste producera någon eller några faktorer som gör att den t.ex. kan fästa sig till olika strukturer i hästens vävnad och dessutom påverka hästens immunförsvar. Vad vi vet sedan tidigare studier är att bakterierna kan producera proteiner vilka specifikt binder till vävnad eller proteiner i hästens blod. Denna typ av proteiner kan antingen sitta förankrade i bakteriens cellvägg eller skickas ut från bakterien i den närliggande miljön. I nuvarande projekt har vi fortsatt att identifiera och studera olika bakteriella proteiner vilka interagerar med olika proteiner i hästen.

Det är vår förhoppning att resultat från studierna i framtiden kan bidra till utvecklingen av motåtgärder i form av ett vaccin för att förhindra kvarka.

### Resultat

Under projekttiden har forskargruppen identifierat ett antal hittills okända bakterieproteiner vilka antingen sitter på bakteriens cellyta eller transporteras ut i den omgivande miljön. En grupp av protein vilka alla till viss del liknar kollagen identifierades. Gruppen består av sju olika proteiner vilka sitter förankrad på bakteriecellytan och det är idag oklart vilken roll de spelar i infektionsprocessen. Vid undersökning av sera från hästar vilka tidigare haft kvarka visade det sig att de flesta hästarna hade förhöjda antikroppsvärden mot alla sju proteiner vilket talar för att proteinerna produceras av bakterierna under en infektion. Vid immuniseringsförsök på möss användes ett av dessa proteiner samt några tidigare studerade proteiner varpå mössen utsattes för en experimentell infektion av streptokockbakterier. Resultaten visade att immunisering med olika proteiner hade en viss skyddseffekt och att denna effekt var större om man kombinerade flera streptokockproteiner med varandra.

En annan grupp av proteiner vilka identifierades består av sex medlemmar. Proteinerna visade sig antingen binda till kollagen eller fibronektin, två proteiner vilka ingår i det strukturella nätverk man finner i bindväv. Några av dessa proteiner studerades närmare i cellförsök där det visade sig att vissa proteiner kan påverka däggdjurscellers förmåga att interagera med detta nätverk. Denna egenskap hos bakterieproteinerna tros vara av betydelse för hur ödembildningen sker vid en inflammation.



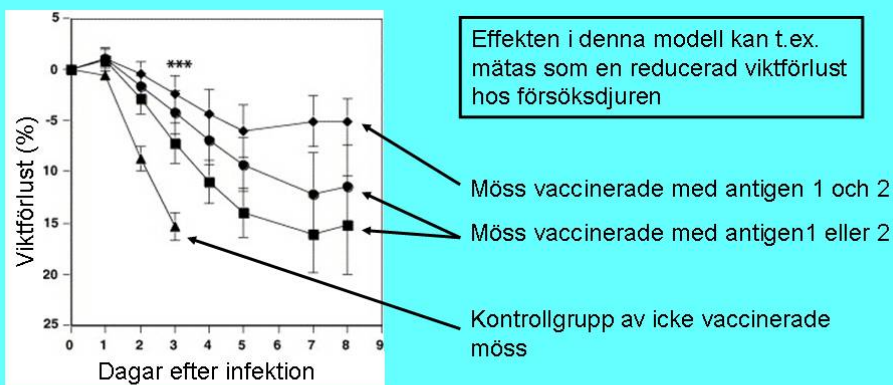
Ett annat streptokockprotein som identifierades och studerades visade sig specifikt kunna klyva sönder antikroppar. Antikroppar är av central betydelse i det immunologiska försvaret där de t.ex. märker upp främmande bakterier för att vita blodkroppar effektivt ska kunna bekämpa dem. En bakteries förmåga att klyva sönder antikroppar är därför en egenskap som förmodligen spelar en roll i streptokockbakteriens strategi att skydda sig mot immunförsvaret.

## Metod

I projektet användes flera olika molekylärbiologiska metoder. Streptokockproteinerna identifierades först via sökningar i en databas ([www.sanger.ac.uk](http://www.sanger.ac.uk)) vilken innehåller sekvensen över hela arvsmassan hos streptokockbakterien varefter generna kodande för proteinerna klonades och uttrycktes i bakterien *E. coli*. Efter rening av proteinerna studerades proteinerna med avseende på t.ex. bindningsegenskaper eller antikroppsklyvande aktivitet där rena proteiner från t.ex. häst användes. Proteinerna användes också för att mäta antikroppsnivåer i sera från hästar med hjälp av en teknik kallad ELISA. Vidare studerades om proteinerna vid immunisering av möss ger upphov till skydd vid en senare experimentell infektion. I försöken att studera hur proteinerna påverkar däggdjurscellers förmåga att interagera med nätverket i bindväv användes ett cellsystem.

För att testa om vaccination med rena antigener ger en skyddseffekt mot infektion av *S. equi* användes en experimentell infektionsmodell i mus.

Resultaten visade att vaccinering med en kombination av antigen 1 och 2 ger en bra skyddseffekt!



Modifierad bild från referens  
Flock, M., et al 2006

## Behov av vidare studier

I projektet har vi identifierat ett antal hittills okända streptokockproteiner. Våra resultat visar att vissa av proteinerna specifikt interagerar med värden där de förmodligen påverkar bakteriens förmåga att binda sig till strukturer vilket i sin tur kanske påverkar bakteriens förmåga att kolonisera värden. Andra proteiner kan förmodligen när de väl bundit också påverka miljön runt den infekterade vävnaden vilket i sin tur kanske kan styra hur lätt vita blodkroppar kan nå fram till infektionshärden. Vidare har våra studier visat att bakterierna kan producera ett protein vilket kan bryta ned antikroppar men vi vet idag inte hur betydelsefull



denna aktivitet är under infektionen. Sammantaget fortsätter vi våra studier där vi försöker förstå vilken betydelse de enskilda streptokockproteinerna har under infektionsprocessen. Samtidigt försöker vi utvärdera om proteinerna vid immunisering av möss kan ge upphov till skydd mot senare experimentell infektion. Den senare typen av försök är viktiga för att i förlängning försöka utvecklat ett vaccin mot kvarka, ett arbete som löper parallellt vilket stöds av en industriell part.

Vad som också bör påpekas är att de rapporterade resultaten är baserade på långvariga samarbeten med andra forskargrupper vid Karolinska institutet, Professor Jan-Ingmar Flock (vaccinationsförsök) och vid Uppsala universitet, Professor Kristofer Rubin (cellinteraktionsförsök) utan vars medverkan detta projekt inte hade varit möjligt.

### **Vetenskapliga referenser**

Flock, M., Karlström, Å., Lannergård, J., Guss, B. and Flock, J.-I. (2006) Protective effect of vaccination with recombinant proteins from *Streptococcus equi* subspecies *equi* in a strangles model in the mouse. *Vaccine* 24:4144-4155.

Karlström, Å., Jacobsson, K. and Guss, B. (2006) ScIC is a member of a novel family of collagen-like proteins in *Streptococcus equi* subspecies *equi* that are recognized by antibodies against ScIC. *Vet. Microbiol.* 114:72-8.

*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](http://www.hastforskning.se).*