

Dnr SLF 124/02 Projektnummer 0253004 Slutrapport Klamydiainfektioner hos nötkreatur i Sverige: diagnostik, förekomst och betydelse.

Bakgrund

Klamydier är bakterier som mest är kända för sjukdomar som de orsakar hos människan, men många arter orsakar också sjukdomar hos får, get, nötkreatur, svin och sällskapsdjur. *Chlamydia abortus* (Cp.) utgör en internationellt viktig orsak till aborter hos får och get. Denna infektion är även en zoonos och gravida kvinnor kan smittas och därefter utveckla mycket svåra sjukdomssymptom. Infektioner med *Cp. abortus* förekommer även hos nötkreatur och har främst satts i samband med aborter.

Bakterien *Chlamydia (Cp.) pecorum* har påvisats i samband med lunginflammationer, diarré och ledinflammationer hos nötkreatur och får men kan även isoleras från friska djur. Generellt sätt är djurhälsan och fertiliteten i svenska nötkreatur besättningar bra vid en internationell jämförelse. Även om abortfrekvensen hos svenska nötkreatur är relativt låg, drabbas varje år ett flertal besättningar av hopade aborter, där någon diagnos inte kan ställas och t.ex. BVDV, *Neospora caninum*, IBR och *Brucella* sp. utesluts som orsaker. Då enskilda besättningar kan drabbas hårt och även den generella djurhälsan kan vara försämrad, är det otillfredsställande att någon klar diagnos inte kan ställas, trots omfattande undersökningar. *Cp. abortus* enbart eller i kombination med *Cp. pecorum* skulle kunna vara en bidragande orsak till sådana besättningsproblem, detta främst grundat på undersökningar genomförda i USA, Tyskland och Storbritannien.

I det här forskningsprojektet har vi utvecklat och utvärderat diagnostiska metoder för klamydiainfektioner och även kartlagt deras förekomst och betydelse vid reproduktionsstörningar i mjölkproducerande besättningar i Sverige. Vi har även undersökt förekomsten av klamydier i sperma från både köttträs och mjölkträs tjurar.

Material och Metoder

Under resultat beskrivs de två diagnostiska PCR system för detektion av klamydiainfektioner som har tagits fram inom projektet samt de studier som genomförts för att studera betydelsen av klamydiainfektionerna. De olika tekniker som använts i projektet och de prover som tagits från friska och sjuka kor samt från köttträs och mjölkträstjurar finns mer utförligt beskrivna i två vetenskapliga artiklar (Ref 1 och 2) som projektet till dags dato genererat. Inom projektets ram har även mer än 700 får undersökts med avseende på förekomst av antikroppar mot *Cp. abortus*.

Resultat

Forskningsprojektet har genomförts enligt den uppgjorda planen men har tagit längre tid än beräknat att genomföra beroende på olika omständigheter, som inte gick att förutse vid planläggningen av projektet. Vi anser dock att projektet varit framgångsrikt då alla de viktiga målen för ansökan har genomförts och de resultat som erhållits gör att svenska mjölk- och köttproducenter (nötkreatur och får) kan glädja sig åt att infektioner med *Chlamydia abortus*, inte förekommer eller är mycket sällsynta hos nötkreatur och får i Sverige. Detta i stark kontrast mot många länder inom EU och i övriga världen. Det finns nu en etablerad och pålitlig diagnostik, som kan användas för att kontrollera och bibehålla detta mycket förmånliga läge.

I denna slutrapport sammanfattas mycket kortfattat allt det arbete som nedlagts och resultat som kan dras av det genomförda arbetet. För närvarande pågår slutförandet av två

vetenskapliga artiklar. Den ena har just skickats in för publicering (Ref. 1) och den andra föreligger som manuskript (Ref 2).

De metoder för diagnostik vi etablerat och utvärderat och resultat av de undersökningar vi genomfört kan kortfattat sammanfattas i tre punkter som följer:

I. Molekylärbiologisk diagnostik för bakterier tillhörande familjen Chlamydiaceae.

Innan forskningsprojekt startade fanns det ingen pålitlig diagnostik etablerad för påvisande av klamydiainfektioner vid SVA. Inom det här forskningsprojektet har nu två väl fungerande diagnostiska PCR system för detektion av klamydiainfektioner utarbetats vid avdelningen för bakteriologi vid SVA. Det första systemet är ett nestat system baserat på omp 1 genen. Det andra snabbare och mindre arbetskrävande systemet som utvecklats är en realtids PCR. Dessa två system kompletterar varandra på ett utmärkt sätt. Den snabbare realtids PCR metoden påvisar alla klamydier och används som en första screeningmetod. Eventuella positiva prover kan sedan artbestämmas med det nestade systemet. Den utvecklade realtids PCR metoden används nu rutinmässigt i diagnostiken av klamydiainfektioner vid SVA. Hos idisslare har bara kunnat konstateras infektioner med *Chlamydomphila pecorum*. Preliminära undersökningar av svenska grisar med de i det här forskningsprojektet utvecklade PCR metoderna, pekar på att klamydiainfektioner (*Chlamydia suis*) verkar vara vanligt förekommande i svenska svin besättningar. Framtida studier krävs för att kartlägga betydelsen av klamydiainfektioner hos detta djurslag.

II. Undersökningarna som genomförts, som tyder på att svenska kor och får sannolikt är helt fria från *Cp. Abortus*.

För att undersöka förekomsten av klamydiainfektioner i svenska mjölkobesättningar har blodprover från 525 kor i 70 besättningar analyserats med två olika kommersiella ELISA tester för påvisande av antikroppar mot *Cp. abortus*. Dessutom analyserades 107 prover (vaginal svabbar, vävnadsmaterial) med PCR. Endast två kor (0.4%) var positiva avseende antikroppar mot *Cp. abortus* i den ELISA test (Pourquier) som visat sig ha en bra specificitet. Vi bedömer dock att de två serologiskt positiva proverna var falskt positiva, då de var negativa i en ELISA (Chekit) som är byggd på ett mer ospecifikt klamydia antigen. Med denna ELISA var 28 % av korna positiva, dock ingen skillnad mellan aborterade kor och friska kontroller. Det har övertygande visats att denna ELISA inte är specifik för antikroppar mot *Cp. abortus* och vi bedömer det som sannolikt att de positiva prover vi fick med denna ELISA, var antikroppar riktade mot *Cp. pecorum*. I vaginalsvabbar från kontrollkor i två olika besättningar kunde *Cp. pecorum* identifieras med PCR och dessa kor var klar positiva i denna Chekit ELISA.

Mer än 700 får har undersökts avseende antikroppar mot *Cp. abortus* med Pourquier ELISA testet. Endast tre positiva prover hittades, men dessa var även de med största sannolikt falskt positiva, då de var negativa i en komplementfixationstest. PCR körningar från 7 fårbesättningar har alla varit negativa avseende *Cp. abortus*.

III. Ingen förekomst av klamydier påvisat i sperma från svenska avelstjurar.

För att undersöka eventuell förekomst av klamydier i sperma och bitestikelvävnad har sperma prover från 21 mjölkrastjurar (från Svensk Avel) och vävnadsprover från bitestikeln från 44 kötrastjurar (Gismesta tjurar) undersökt med PCR. Samtliga prover var negativa beträffande klamydia när de undersöktes med realtids PCR metoden och alla tjurarna var serologiskt negativ avseende antikroppar mot *Cp abortus* undersökta med Pourquier ELISA testet.

Diskussion

Det genomförda forskningsprojektet har genererat ny och viktig kunskap och etablerat och utvärderat olika metoder för diagnostik av klamydiainfektioner hos nötkreatur och får. De farhågor som fanns innan projektet startade att infektioner med *Cp. abortus* och *Cp. pecorum* kunde vara bidragande orsaker till aborter och en försämrad reproduktion i svenska mjölkbesättningar har inte kunnat bekräftas. Studierna visar att svenska nötkreatur och får sannolikt för närvarande är helt fria från infektioner med *Cp abortus*. Något samband med reproduktionsstörningar i svenska mjölkbesättningar och bakterien *Cp pecorum* kunde inte fastställas. De undersökta svenska tjurarna saknade antikroppar mot *Cp abortus* när de undersöktes med en kommersiell ELISA- test och spermaprover och vävnad från bitestiklar var PCR negativa på förekomst av klamydier.

Publikationer och övrig resultatförmedling till näringen

De resultat som erhållits i forskningsprojektet har presenterats internationellt (Ref 3,4 och 5) och veterinärstudenterna undervisas nu om vikten av att känna till de problem en introduktion av *Cp abortus* till den svenska nöt och fårpopulationen skulle kunna innebära.

Näringens veterinärer (Svenska Djurhälsovården och Svensk Mjök) har även informerats om resultat från projektet, men vi avser även att gå ut med en mer detaljerad information om projektets resultat i tidningarna Husdjur, Nötkött och Svensk Veterinärtidning.

Referenser

1. Godin A.C., K.E. Johansson, R. Niskanen och S. Alenius. Investigations of Chlamydophila spp. in dairy cows with reproductive disorders. 2008 Submitted for publication
2. Godin A.C., Alenius S., Björkman C., Persson Y. och S. Englund Investigation of Chlamydophila spp. in Swedish bulls. Manuscript 2008
3. Godin, A.C., Björkman C. and S. Alenius. Comparison of two commercial antibody detection kits for diagnosis of infections due to Chlamydophila species in Swedish cattle. COST workshop, Budapest 2004.
4. Godin A.C., Hjort M. and S. Alenius. Prevalence of antibodies against Chlamydophila species in Swedish sheep. COST workshop, Siena 2005.
5. Godin A.C., Englund S. and S. Alenius. Detection of chlamydial agents by real time PCR reveals low prevalence of bovine chlamydiosis in Swedish dairy cows. World Buiatric Congress, Nice 2006