

Stoppa smittspridningen av kvarka, en studie av tysta smittbärare (H1147203)

Gittan Gröndahl, SVA, 2014-10-01

BAKGRUND

Kvarka är en mycket smittsam luftvägssjukdom hos hästar som orsakas av infektion med *Streptococcus equi* subspecies *equi* (*S. equi*). Kvarka är anmälningspliktigt i Sverige, både på klinisk misstanke och vid konfirmerad diagnos. Sjukdomen är anmälningspliktig i Sverige, men eftersom odlingssvar ofta kan vara negativa även vid stark klinisk misstanke om kvarka med tydliga symptom, gäller anmälningsplikt även utan odlingskonfirmering. Sjukdomen har konfirmerats från 605 svenska gårdar under den senaste tioårsperioden, 2004-2013. Man kan anta att det rör sig om tusentals hästar i landet som haft kvarka under dessa år. Drabbade besättningar får ett avbrott i verksamheten som kan pågå i månader, på grund av isolering och konvalescens. Akut ekonomisk kris till följd av kvarka har nyligen rapporterats för flera ridskolor. Avbräck från inställda aktiviteter, uteblivna inkomster och ökade veterinärkostnader vid kvarka är så påtagliga att en speciell avbrottsförsäkring idag känns nödvändig för många näringsidkare. Kvarka utgör alltså ett reellt hot mot den svenska hästnäringens verksamhet och ekonomi.

Att snabbt kunna säkerställa kvarkadiagnosen och införa effektiva isoleringar minskar risken för smittspridning både inom ett stall och till andra stall. Isolering av sjuka djur, karantän efter tillfrisknande, gruppering efter risknivå, kontroll av flöden av hästar och människor, sanering och särskilda hygienrutiner krävs för att kontrollera smittan. Att kunna identifiera symptomlösa, tysta smittbärare efter utbrott, och vid rekrytering av hästar, är nyckeln till att stoppa kvarkan på längre sikt.

I tidig infektionsfas, eller vid subklinisk eller atypiska infektioner, är det svårt att skilja mellan virusorsakad infektion och kvarka (Sweeney et al, 2005). Typiska symptom på kvarka innefattar bland annat feber, näsflöde och bölder i submandibularlymfknotorna enligt litteraturen, men i Sverige och på andra ställen är det uppenbart att en mildare eller ”atypisk” form av kvarka med kortvarig feber, lite eller inget näsflöde och utan tydliga bölder är vanligt förekommande (Fintl et al, 2000).

Tack vare forskning på SVA och SLU har diagnostiken av kvarka förbättrats avsevärt genom förbättrad provtagning i fält och förbättrad diagnostik på laboratoriet, som nu inkluderar Realtids-PCR-analys (Båverud et al 2007, Lindahl et al, 2013). Med PCR (polymerase chain reaction) spårar man ett smittämnes arvs massa genom att korta snuttar av specialdesignat DNA, så kallade primers, blandas med provet tillsammans med en mix av kemikalier och nukleotider (DNA-byggstenar). Om smittämnet finns i provet kommer dessa primers att fungera som målsökande robotar som söker upp och fäster vid två punkter på smittämnet arvs massa. Primrarna fungerar sedan som startpunkter för ett enzym (DNA-polymeras) som, med hjälp av kemikaliemixen, kopierar den mellanliggande DNA-strängen till dess en tillräckligt stor mängd kopior har skapats för att de ska kunna mätas. Kopieringsprocessen sker i ett förprogrammerat temperaturprogram i en PCR-maskin. Tack vare kopieringen kan PCR-metoden användas för att spåra mycket små mängder av smittämne i ett prov. Forskningsresultaten gör det nu möjligt att påvisa *S. equi* hos 80% av hästar med akuta symptom i verifierade kvarkautbrott mot tidigare 37-50% (Lindahl et al, 2013). Det finns anledning att tro att analysmetoden kan vara värdefull även för hästar som bär kvarka utan kliniska symptom. PCR är en känslig metod som påvisar DNA från bakterien, och

metoden kan inte skilja mellan levande och döda bakterier. Odling, däremot, visar att det finns levande bakterier i provet, men om kvarkabakterierna i provet är fåtaliga eller inte så "pigga", så finns risk att man inte får med dem, inte får dem att växa eller att andra bakterier som normalt finns i de övre luftvägarna "växer över" i en odling. När det händer, kan kvarkan missas med enbart odling.

En stor utmaning är att vissa hästarna som tillfrisknat kliniskt från kvarka kan bli s k tysta smittbärare och har därmed möjlighet att sprida smittan vidare, 10% har angetts i brittiska studier (Sweeney et al , 2005). Det har beskrivits att vissa av dessa förblir smittbärare i veckor, månader eller upp till flera år (Newton et al 1997, Sweeney et al 2005. Gronbaek et al 2006) , men det är okänt hur vanligt förekommande detta är. Ofta ligger smitthärden då i luftsäckarna och närliggande lymfvävnad (Sweeney et al 2005). I olika studier har visats att det förekommer att provtagningar av sådana hästar ibland blir negativa trots att de ännu är smittbärare. Penicillinbehandling av tysta smittbärare har rekommenderats (Sweeney et al 2005), men det saknas studier om effekten av behandling. **Hur vanligen och hur länge tysta smittbärare förekommer har inte varit känt för svenska förhållanden, och detta var målet att belysa i föreliggande projekt.**

En grundläggande studie av tysta smittbärare genomfördes därför med den väsentligt förfinade och evidensbaserade teknik för provtagning av nashålan med E-swab nässvabbpinnar, respektive av nasofarynx med hjälp av nässköljprov, som rekommenderas enligt senare års forskningsresultat (Lindahl et al, 2013), och proverna analyserades med realtids-PCR-diagnostik enligt samma studiers slutsatser. Nässköljprov är inte vanligen använt rutinmässigt i Sverige idag bland praktiker. Tanken var att den högre sensitiviteten jämfört med metoder som har använts tidigare och på andra håll skulle öka chanserna markant att kunna diagnostisera symptomfria smittbärare. Den enkla nässvabbsmetoden jämfördes med nässköljprov, samt med guldstandardmetoden som innebär bakterieprovtagning i luftsäckarna och inspektion av luftvägarna med hjälp av endoskopi. Endoskopimetoden är vanligen så tidskrävande och omständlig att den inte lämpar sig för rutinmässig kontroll av till synes tillfriskande hästar. Bland annat krävs desinfektion av instrumentet i 30-60 minuter mellan varje provtagen häst.

Provtagning för kvarka startade minst tre veckor efter att samtliga hästar i stallet hade slutat att visa symptom på sjukdom, och upprepades varje vecka eller med längre intervall, med intentionen att tre fria prover skulle uppnås för varje häst. Tidpunkten för provtagning valdes mot bakgrund av att 20 dagars isolering efter sista symptom är den tid som rekommenderas enligt SVS Normgrupp för veterinär hästpraktik samt i tävlingsreglementena för olika svenska hästsporter. I dessa protokoll för smittskydd antas att hästarna inte längre är smittförande efter tre veckor. Den internationella rekommendationen sedan 2005 är istället att hästar bör provtas tre gånger för kvarka med nässvabbprov eller sköljprov med negativt provresultat för att kunna förklaras smittfria (Sweeney et al 2005).

Projektet avsåg att med ny teknik utvärdera hur vanligt förekommande det är att hästar som tillfrisknat från kvarka ändå bär på bakterien, hur länge, och hur dessa smittbärare bäst ska identifieras, enligt nedanstående frågeställningar. Målet för studien var att ge verktyg för att kunna identifiera och följa upp tysta smittbärare för kvarka, så att rätt rådgivning och åtgärder för att minimera smittspridning kan sättas in.



*Figur 1. Tusentals nu levande svenska hästar har haft kvarka. Många av dem är idag tysta smittbärare av kvarkabakterien, *Streptococcus equi subspecies equi*. Problemet är att vi inte vet vilka de är utan rätt provtagning.*

FRÅGESTÄLLNINGAR, HYPOTESER OCH DELMÅL

1, Kan upprepade nässvabbprover tagna med E-swab och analyserade med PCR för kvarkabakterien vara ett lämpligt verktyg för att påvisa tysta smittbärare efter kliniskt tillfrisknande?

Hypotesen var att tre provtagningar från näshålan under tre veckors tid med E-swab för PCR-analys skulle kunna detektera kvarkabakterien hos ett antal tysta smittbärare i den undersökta populationen med en accepterbar sensitivitet och specificitet jämfört med endoskopi och provtagning av luftsäckarna.

Baserat på tidigare studier och internationella rekommendationer förväntade vi oss att vissa individer, uppskattningsvis 5-20%, skulle vara tysta smittbärare under perioden 3-6 veckor efter sitt tillfrisknande, och att den provtagning och de analyser som genomfördes skulle detektera dessa. Med rätt kunskap kan vi förbättra biosäkerhetsrutinerna vid ett kvarkautbrott.

2. Hur vanligt är det att den gängse isoleringsperioden om tre veckor efter tillfrisknande inte räcker för att stoppa smittspridning från hästar som utsöndrar kvarkabakterien?

Hypotesen var att minst 5% av hästar som genomgått kvarka och synbarligen tillfrisknat ännu skulle bära på kvarkabakterier efter den idag vanligen tillämpade isoleringstiden om tre veckor. Vi ville kunna förstå bättre hur kvarka sprids och hur stor risken för smitta från symptomlösa konvalescenta hästar är. Denna kunskap hjälper oss att kunna förhindra nya utbrott.

3. Hur lång tid utsöndrar sådana tysta smittbärare kvarkabakterien och hur mycket varierar denna tidsperiod mellan individer?

Hypotesen var att vissa tysta smittbärare skulle kunna rena sig från bakterien efter 4-16 veckor medan andra inte lyckas med det.

I tidigare studier har ett fåtal hästar befunnits vara bärare i månader och år. Med kunskap om duration av tyst bärarskap kommer vi att kunna ge bättre råd kring hantering av tysta smittbärare av kvarka.

4. Är serologiska tester positiva och vilken titer har hästar som genomgått kvarkainfektion inom de senaste veckorna?

Hypotesen var att hästar som genomgått kvarka skulle ha ett serologiskt positivt antikroppssvar mot *S. equi* under de första månaderna och att detta skulle gälla även för symptomlösa smittbärare, utan skillnad i titernivå.

Serologisk diagnostik innebär ett nytt verktyg för att skilja hästar som varit utsatta för smitta från de som inte varit det, och kan hjälpa oss i screening av nya hästar och riskvärdering vid gruppering av hästar för att öka biosäkerheten.

MATERIAL OCH METODER

Hästar rekryterades till studien genom annonsering samt genom kontakt med veterinärer och djurägare till hästar som hade haft positiva kvarkaprover. Inklusionskriterier var att hästen hade haft en verifierad kvarkadiagnos, och att hästägaren åtog sig att föra daglig journal över kroppstemperatur, förekomst av näsflöde, hosta, svullna submandibularlymfknotor, bölder och andra symptom på infektion under studietiden.

Tolv hästar från tre olika besättningar som genomgått och isolerats för kvarka och därpå tillfrisknat kliniskt studerades. Själva den akuta sjukdomsperioden hade varit i 8, 19, respektive 37 dagar. Inga nya hästar togs in i besättningarna under studiens gång. Ingen häst behandlades med antibiotika i akut skede eller under provtagningsstudien.

Provtagning för kvarka startade 3-4 veckor efter att samtliga hästar i stallet hade slutat att visa symptom på sjukdom, och upprepades varje vecka eller med längre intervall, med intentionen att tre fria prover skulle uppnås för varje häst. Hästarna provtogs med nässvabb (E-swab, Copan Innovation Ltd, Brescia, Italy) i yttre näshålan, nässköljprov samt blodprov i serumrör minst tre gånger med 1-2 veckors intervall och vid ett av tillfällena utfördes även sköljprov av luftsäckarna. Om någon av de provtagna hästarna i besättningen inte kunde uppvisa tre fria provtagningar i följd med PCR/odling upprepades provtagningarna på de studerade hästarna inom besättningen med 1-4 veckors intervall i upp till 4 månader efter symptomfrihet.

Ren teknik användes vid bakteriologisk provtagning för att inte kontaminera proverna.

Vid nässköljprov torkades yttre näshålan rent med en bomullstuss fuktad med koksalt. En 50 cm lång plastslang med en inre diameter på 5-6 mm (12 French) fördes in medialt och ventralt i näshålan på hästen, till höjd med ögat. 120 ml fysiologisk koksaltlösning spolades in i nasofarynx. Vätskan som rann ut från nosen samlades i en höggradigt ren plastpåse, och överfördes till ett 50 ml Falconrör.

Vid luftsäcksköljprov fördes endoskopet in i en luftsäck i taget, med hjälp av en ledare. Luftsäcken sköljdes med 20 ml fysiologisk koksaltlösning från en ny engångsspruta, via en ny engångsslang som förts genom endoskopet, och sedan aspirerades vätskan tillbaka. Aspiratet överfördes till ett höggradigt rent rör med skruvkork.

Luftvägsproverna analyserades med real-tids-PCR som detekterar *S equi* och *S zooepidemicus* genom analys för generna *seeI* and *sodA* (Båverud et al, 2007). De som blev PCR-positiva för *S. equi* odlades också med konventionell teknik. Blodprover analyserades med serologi, som detekterade antikroppar mot två olika antigen (A och C) för *S. equi*. OD 0.5 användes som gränsvärde för positiv titer.

RESULTAT OCH DISKUSSION

Totalt analyserades 69 nässvabbprover, 68 nässköljprover, 36 luftsäckssköljprover (18 par), och 42 blodprover från de 12 hästarna under 3-17 veckor (4 månader) efter symptomfrihet. Utfallet för de bakteriologiska analyserna är summerat i Tabell 1 och 2. Resultatet var bekymmersamt: 100 % av de undersökta hästarna var eller blev tysta smittbärare av kvarka under denna period, det vill säga långt över vad vi förväntat. 92% av undersökta hästar var smittbärare efter ”sedvanlig treveckors isolering” efter kvarka, och 67% efter 6 veckors isolering. Flera hästar var ännu smittbärare efter 4-5 månader. Hos en häst var det först efter 10 veckor som smitta började kunna påvisas, och den hade då tidigare genomgått tre fria nässköljprover, men inget luftsäckssköljprov hade utförts vid dessa tillfällen. Infektionen kan ha förelegat i luftsäckarna hela tiden hos denna häst, eller så hade den återsmittats från de tre tysta smittbärarna i samma lösdrift.

Bakterien kunde påvisas ständigt eller intermittent hos 10 av 12 hästar under upprepade provtagningar (Tabell 2). När provtagningen avslutades i de olika stallen, 10 veckor till 4 månader efter symptomfrihet, hade bara två av de 12 hästarna (17 %) uppvisat tre fria nässköljprover i följd, samt fria luftsäckssköljprover vid ett av tillfällena. Bakterien kunde inte längre påvisas hos dessa två hästar från femte veckan av symptomfrihet. Dessa två hästar var de enda i sin besättning som initialt hade visat akut kvarka. De hade snabbt blivit isolerade tillsammans, avskilt från övriga hästar. En annan, nyinköpt häst, som aldrig själv visat symptom, misstänktes av ridskolan att ha fört in smittan. Misstanken om att denna häst haft kvarka stärktes när vi såg en nyläkt fistelgång i ena luftsäcken vid endoskopi (en månad efter att kvarkan först yttrat sig på gården), och hästen var då också seropositiv mot kvarka. Dock kunde man inte påvisa bakterien med PCR vid det tillfället. Utan prover från ankomsten går det förstås inte att säga om denna häst tog in kvarkan, eller blev smittad själv när den ankom.

Lindrigt till måttligt med slem och små gulvita varklumpar, och ibland förstörade retrofaryngeallymfknutor, iaktogs ofta i de luftsäckar som var PCR-positiva för kvarkabakterien, vilket tyder på att hästarna hade en mild luftsäcksinflammation (aerocystit). Inga stora, hårda stenbildningar av intorkat var (kondroider) påvisades hos någon häst.

Serologi visade att 10 av 12 hästar hade serokonverterat mot *S equi* och visade antikroppar i blodet då studien startade (28-65 dagar efter respektive indexfall), och 9 av dessa förblev seropositiva under studietiden. Två smittbärare visade dock aldrig antikroppar över gränsvärdet under studiens gång och en häst, som initialt serokonverterat, uppvisade inte längre antikroppar 3 månader efter symptomslut trots att den ännu var PCR-positiv. Dessa tre smittbärare (25%) hade alltså missats om enbart blodprover hade tagits. Av de 42 blodproverna tagna under perioden var 30 seropositiva för antigen A och 20 var seropositiva för antigen C med gränsvärde OD 0,5. Om ett lägre gränsvärde om 0,3 skulle ha använts, hade ytterligare tre prover blivit positiva för antigen A och 7 prover för antigen C. Hästarnas 42 blodprover var dubbelpositiva vid 16 tillfällen (hade antikroppar mot både antigen A eller C), enkelpositiva 18 gånger (hade antikroppar mot antingen antigen A eller C), och dubbelnegativa (helt seronegativa) 8 gånger. Titern hos positiva hästar uppgick till OD 0,5-3,8 för antigen A och OD 0,53-1,79 för antigen C.

Provtagnings- och analystekniker för bakteriologi

Andelen PCR-positiva sköljprover från näsa-svalg respektive luftsäckar (per luftsäckspar per häst) var mycket högre än andelen PCR-positiva nässvabbprover med E-swab (Tabell 1). Den högre sensitiviteten kan förklaras av att sköljproverna täcker en större yta av slemhinnan och längre in i luftvägarna, närmare den retrofaryngeala lymfvävnaden, än vad svabbprover med en kort pinne kan göra.

När odling gjordes från 68 prover som var PCR-positiva, så befanns endast 4 prover vara odlingspositiva, och dessa kom från luftsäckar. För ett av dessa isolat beskrevs kolonierna atypiska för *S equi*, då de var små och torra. PCR var alltså en helt överlägsen analysmetod jämfört med odling (Tabell 1) för att detektera kvarkabakterien hos dessa symptomlösa hästar, och det beror sannolikt på att PCR har en betydligt lägre detektionsnivå – PCR kan alltså detektera även ett lågt bakterieantal.

Tabell 1. Andel prover som var positiva för *S equi* vid realtids-PCR respektive bakteriologisk odling vid upprepad provtagning av 12 hästar från tre olika besättningar, under perioden 3-17 veckor efter att symptom upphört i respektive besättning.

	Andel prover som var positiva för <i>S. equi</i> med realtids-PCR		Andel PCR-positiva prover som också var positiva vid odling	
Nässvabbprov	14/69	20,3%	0/14	0%
Nässköljprov	44/68	64,7%	0/44	0%
Luftsäcksprov ^a	10/36	27,8%	4/10	40,0%
Luftsäcksprov per par och häst ^a	9/18	50,0%	3/9	33,3%

a) Totalt 11 hästar provtagna, upprepat hos 7 hästar

Tabell 2. Andel hästar som var positiva för *S equi* analyserat med realtids-PCR i olika luftvägsprover 3-17 veckor efter tillfrisknande från kliniska symptom. Tolv hästar i tre olika besättningar följdes vid upprepade tillfällen.

	3-4 veckor	5 veckor	6 veckor	7-8 veckor	9 veckor	10 el 13 veckor	17 veckor
Nässvabbprov	5/12	2/11	3/12	0/8	1/10 ^b	0/10 ^b	3/6 ^b
Nässköljprov	10/12	9/11	7/12	2/7	7/10 ^b	6/10 ^b	3/6 ^b
Luftsäcksprov	7/7			0/2 ^a		1/4	1/5 ^a
Hästar, totalt	11/12	9/11	8/12	2/8	7/10 ^b	7/10 ^b	4/6 ^b

a) Upprepat provtagning av hästar som hade PCR-positiva luftsäcksprover vid 4 veckor.

b) Två hästar som uppvisat negativa nässvabb- och nässköljprov vid 3 tillfällen i rad samt ett negativt luftsäcksprov provtogs inte vid tidpunkterna 9-17 veckor. Ytterligare fyra hästar var ej tillgängliga för provtagning vid 17 veckor.

Om ett protokoll med tre PCR-negativa prover i rad skulle ha använts för att smittfriförklara en häst i denna studie, skulle 10 av 12 hästar (83,3%) ha blivit friförklarade om enbart nässvabbar använts, men endast 2 av 12 hästar (16,7%) skulle ha blivit friförklarade om enbart nässköljprov hade använts. Dock visade luftsäcksprover att bägge dessa hästar var smittbärare av kvarka i sina luftsäckar (positiva vid PCR och/eller odling), och alltså var inte heller strategin med tre nässköljprover helt säker, då den kan visa falskt negativt.

Frågeställningarna i studien blev besvarade enligt följande:

1. Kan upprepade nässvabpprover tagna med E-swab och analyserade med PCR för kvarkabakterien vara ett lämpligt verktyg för att påvisa tysta smittbärare efter kliniskt tillfrisknande?

Nej, den kraftigt bristande sensitiviteten vid användning av nässvabb (E-swab) respektive odling gör att dessa provtagnings- respektive analystekniker definitivt inte kan rekommenderas utan komplettering för att identifiera tysta smittbärare. För att identifiera smittbärare under perioden upp till 4 månader av konvalescensen bör man använda luftsäcksprover i kombination med nässköljprov och analysera proverna med Realtids-PCR, alternativt kan man inleda med upprepade nässköljprover. Hos hästar i studien med tre upprepade PCR-negativa nässköljprover och utan att ta hänsyn till luftsäckssköljprov innebar det dock 17% falskt negativa resultat, dvs med enbart en serie nässköljprover missar man en del smittbärare.

2. Hur vanligt är det att den gängse isoleringsperioden om tre veckor efter tillfrisknande inte räcker för att stoppa smittspridning från hästar som utsöndrar kvarkabakterien?

Tre veckors isolering förefaller vara osäkert. En slutsats från studiens tre besättningar är att smittbärare kan vara mycket vanligt under perioden 3 veckor till 4 månader efter symptom på kvarka har upphört, eftersom smittan kunde påvisas hos samtliga studerade hästar vid ett eller flera tillfällen. Det innebär att försiktighet måste tillämpas så att smittbärande symptomlösa hästar inte riskerar att smitta andra, mottagliga hästar.

3. Hur lång tid utsöndrar sådana tysta smittbärare kvarkabakterien och hur mycket varierar denna tidsperiod mellan individer?

Vi kan inte uttala oss om hur länge hästarna kan bära på smittan med ledning av denna studie, då alla hästar inte blev smittfria under studieperioden om 4 månader, men en utökad longitudinell studie som adresserar denna fråga beviljades medel från Stiftelsen Hästforskning och kommer att slutredovisas i oktober 2014 (Gröndahl G, ”Tysta smittbärare av kvarkabakterien *Streptococcus equi* – utökad longitudinell studie”, H1247189). Preliminära resultat visar mycket långvariga kroniska infektioner hos flera av de hästar som studerades där, samt tecken på smittspridning.

4. Är serologiska tester positiva och vilken titer har hästar som genomgått kvarkainfektion inom de senaste veckorna?

Ja, hästarna som genomgått kvarka hade i de flesta fall en positiv titer under perioden efter tillfrisknande. Serologi för antikroppar riktade mot *S equi* i blodet visade sig kunna vara användbart för en initial screening efter smittbärare under denna tidsperiod, till exempel om anamnesen om kvarka är okänd, ett enklare prov föredras och ifall en något sämre sensitivitet och specificitet kan tolereras (högre risk för både falskt negativa och falskt positiva). Serologi kan också vara ett hjälpmedel för att komma till diagnos ”i efterhand”. I studien varierade titrarna, upp till OD 3,8 för antigen A och upp till OD 1,79 för antigen C.

REFERENSER

- Båverud, V., Johansson, S. K. and Aspán, A. (2007) Real-time PCR for detection and differentiation of *Streptococcus equi* subsp. *equi* and *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. *Vet. Microbiol.* 124, 219-29.
- Fintl, C., Dixon, P.M., Brazil, T.J., Pirie, R.S. and McGorum, B.C. (2000) Endoscopic and bacteriological findings in a chronic outbreak of strangles. *Veterinary Record* 147, 480-484.
- Gronbaek, L.M., Angen, Ø., Vigre, H. and Olsen, S.N. (2006) Evaluation of a nested PCR test and bacterial culture of swabs from the nasal passages and from abscesses in relation to diagnosis of *Streptococcus equi* infection (strangles). *Equine Veterinary Journal* 38, 59-63.
- Lindahl S, Båverud V, Egenvall A, Aspán A & Pringle J. Comparison of sampling sites and laboratory diagnostic tests for *S. equi* subsp. *equi* in horses from confirmed strangles outbreaks. *J Vet Intern Med*, 2013, 27(3):542-7.
- Newton, J.R., Wood, J.L.N., Dunn, K.A., Chanter, N. and DeBrauwere, M.N. (1997) Naturally occurring persistent and asymptomatic infection of the guttural pouches of horses with *Streptococcus equi*. *Vet Rec.* 140, 84-90.
- Sweeney, C.R., Timoney, J.F., Newton, J.R. and Hines, M.T. (2005) *Streptococcus equi* Infections in Horses: Guidelines for Treatment, Control, and Prevention of Strangles. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 19, 123-134.

PUBLIKATIONER

Preliminära resultat och delresultat av studien har publicerats i ett antal rapporter enligt nedan, varav ett examensarbete för veterinärprogrammet och ett examensarbete för hästspecialistexamen (submitted). Dessutom föreligger preparation av en serie med artiklar i internationella vetenskapliga tidskrifter, där resultaten kommer att samordnas med studien ”Tysta smittbärare av kvarkabakterien *Streptococcus equi* – utökad longitudinell studie” (H1247189) som är under slutrapportering.

- Gröndahl G**, A. Aspán, V. Båverud, H. Ljung, M. Riihimäki. (2012) When should ideally screening begin to declare freedom of strangles in horses after their clinical recovery? Havemeyer Workshop on Strangles and other Streptococcal Diseases, Lexington, USA
- Gröndahl, G.** (2012) Dolda smittbärare förvärrar kvarkautbrott. Populärvetenskaplig rapport, Stiftelsen Hästforskning, 2013 (1) 2
- Wrangle C.** (2013) Dolda smittbärare förvärrar kvarkautbrott. Kunsakapssajten HästSverige <http://www.hastsverige.se/sida250.html>
- Gröndahl G.** (2014) Kvarka – bakgrund, smittskydd, isoleringsrutiner och pågående forskning. Veterinärkongressen, Uppsala.
- Trelsmo T.** (2014) Serologi vid diagnostik av subkliniska smittbärare av *Streptococcus equi*. Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet, SLU. ISSN 1652-8697
- Stenbeck H, Gröndahl G , Båverud V.** Tysta smittbärare efter akut kvarka - en fallstudie. Submitted, Sv Vet tidn 2014.

SLUTSATSER (GÄLLANDE NYTTA MED RÅD TILL NÄRINGEN)

Studien visar tyvärr att smittbärare är vanligt under perioden 3 veckor till 4 månader efter att hästarna inte längre visar symptom på kvarka. För att stoppa spridning av kvarka är det viktigt att känna till denna spridningsväg, och att identifiera och isolera dessa potentiella smittspridare. Det är också möjligt att penicillinbehandla dem. I stall med kvarstående smittbärare och då det finns omsättning på hästarna kan kvarka annars riskera att etablera sig och blossa upp igen och igen genom åren, på nya hästar som inte är immuna.

Vid provtagning för att leta efter smittbärare under denna period av konvalescensen (upp till 4 månader) bör veterinären ta luftsäcksprover med endoskop, i kombination med nässköljprov. Man

kan också börja med upprepade nässköljprover och gå vidare med endoskopi bara på dem som inte ger utslag på nässköljprov. Proverna ska analyseras med Realtids-PCR för kvarka. Det är däremot inte tillförlitligt att använda nässvabb (E-swab) i detta skede för att identifiera tysta smittbärare, och inte heller att göra endast en traditionell bakterieodling.

Blodprov för kvarkaserologi kan vara användbart för en första screening efter smittbärare under de första månaderna efter genomgången kvarka, om exponering för kvarka är okänd, ett enklare prov föredras och ifall man är beredd att tolerera en något sämre sensitivitet och specificitet. Blodprovet ger nämligen något högre risk för både falskt negativa och falskt positiva jämfört med PCR. Serologi kan också vara ett hjälpmedel för att komma till diagnos ”i efterhand”.

De nya kunskaperna kan genast tillämpas praktiskt i hantering av kvarka, och skapar en möjlighet att utforma ett nationellt bekämpningsprogram mot kvarka, till stor gagn för svensk hästnäring.

RESULTATFÖRMEDLING TILL NÄRINGEN

Förutom via de publikationer som nämns ovan, har studien presenterats för näringen muntligen vid Havemeyer Workshop on Strangles and other Streptococcal Diseases, Lexington, USA (2012), vid hästforskarträff i Uppsala (2012), på Veterinärkongressen i Uppsala (2014) och resultaten har relaterats vid olika föreläsningstillfällen om infektionssjukdomar, samt i nätverk med näringen som Hästnäringens Smittskyddskommitté och Jordbruksverkets referensgrupp för hästfrågor.

Kunskapen från de nya resultaten har inlemmats i rådgivning till veterinärer och hästägare som kontaktar SVA i frågor om kvarka. Det har också präglat rådgivande faktatexter om kvarka riktade till hästägare, t ex SVAs webbsida om kvarka och informationsserien ”Stoppa smittan – för ett kvarkafritt Hästsverige” som initierats i Hästnäringens Smittskyddskommitté, se länkar nedan.

SVAs webbsida om kvarka <http://www.sva.se/sv/Djurhalsa1/Hast/Infektionssjukdomar/Kvarka/>

Se upp med KVARKA under hösten

<http://www.hastsverige.se/Filer/HNS%20Se%20upp%20med%20kvarka%202012.pdf>

Sant och falskt om kvarka

<http://www.hastsverige.se/Filer/HNS%20Sant%20och%20falskt%20om%20kvarka%202012.pdf>

Vad händer ekonomiskt när kvarkan slår till

<http://www.hastsverige.se/Filer/HNS%20Vad%20hander%20ekonomiskt%20kvarka%202013.pdf>

Håll kvarkan borta från stuteriet <http://www.hastsverige.se/Filer/HNS%20Kvarka%20Unghastar-och-fol.pdf>