

Slutrapport:

Hur uppkommer kronisk juverinflammation hos sugga?

Detta försök löpte enligt planerna i under allra första delen av projektet. Emellertid avslutade projektledaren Hultén sin anställning vid SLU efter den inledande fasen och resurser har därefter inte funnits att driva projektet vidare. Därför omfattar denna slutrapport endast utfallet av studierna av de 3 första (av totalt 12) suggorna.

I

1. BAKKGRUND

Kronisk juverinflammation (juverböld) hos sugga är en vanligt förekommande sjukdom som orsakar försämrat produktionsresultat och som är mycket svår att bekämpa. De studier vi genomfört under senare år, genom finansiellt stöd från Köttböndernas forskningsprogram, visar att suggor som drabbas löper risk att få sänkt mjölkproduktion och ett minskat antal avvanda smågrisar. Nuvarande bekämpningsstrategi innebär framförallt att drabbade suggor slaktas, vilket medför ökade rekryteringskostnader. Sjukdomens ekonomiska betydelse i detta avseende framgår tydligt genom det faktum att juversjukdom idag anges som utslagsorsak hos cirka 20 % av slaktade suggor. Kliniska erfarenheter har dock visat att man i många fall inte kan bemästra sjukdomen, trots en mycket intensiv och kostsam strategisk utslaktning. Vi har i våra tidigare studier identifierat faktorer hos den enskilda suggan och i miljö och skötsel, som medför ökad risk för att kronisk juverinflammation utvecklas. Härigenom har värdefull information framkommit som kan användas för att ge producenterna råd om hur sjukdomen kan förebyggas. Trots ett medvetet förebyggande arbete förblir dock sjukdomsfrekvensen av okänd anledning hög i många besättningar.

Sjukdomen är en kronisk infektion som ofta kvarstår under flera laktationer. Den är omöjlig att behandla med antibiotikum och drabbade suggor utgör en ständig smittrisk för omgivningen. Ofta uppmärksammas ej när suggan ursprungligen infekteras - drabbas av akut juverinflammation - eftersom symtomen då sannolikt är milda och juvret ej regelmässigt undersöks av ägaren. Man märker först när en förhårdnad bildats och sjukdomen därmed blivit kronisk. För att förhindra att kronisk juverinflammation utvecklas måste vi veta:

- Vilka bakterier som medför att sjukdomen ursprungligen etableras
- Vilka sjukdomssymtom suggan visar i sjukdomens akuta skede, så att hon kan behandlas.
- Om vissa suggor har speciell benägenhet att utveckla sjukdomen, för att i så fall eliminera dessa

I det förebyggande juverhälsoarbetet hos nötkreatur är kunskaper om olika bakteriers förmåga att utveckla sjukdom och juvret försvarsmekanismer, viktiga verktyg för att minska sjukdomsfrekvensen. Motsvarande kunskap vad gäller akut och kronisk juverinflammation hos sugga saknas idag.

1.1 Kronisk juverinflammation

Situationen i Sverige

Sjukdomen har varit känd under lång tid i Sverige. Redan på 1920-talet konstaterade

Magnusson (1928) att 25% av de äldre suggorna som slaktades vid Malmö slakteri hade bölder i juvret. Mindre undersökningar genomförda under början och mitten av 1990-talet visade att mellan 7 % och 20 % av suggorna hade tecken på sjukdomen vid avvänjningen (Hultén och medarbetare 1995, Sterning och medarbetare 1997), vilket överensstämmer relativt väl med situationen i andra länder (Delgado och Jones 1981, Bollwahn och Meermeier 1989). Sjukdomens ekonomiska betydelse framgår klart genom det faktum att andelen suggor som slaktas pga juversjukdom ökat under senare år och uppgår nu till omkring 20 % (Engblom L, 2004 preliminära resultat.). Sjukdomen utgör därmed den näst vanligaste slaktorsaken. En omfattande epidemiologisk studie genomfördes av oss för några år sedan i cirka 80 svenska suggbesättningar med stöd av Köttböndernas forskningsprogram (Hultén och medarbetare 2003, 2004a,b.). Studien visar att den genomsnittliga sjukdomsfrekvensen i Sverige är 16 %, men variationen mellan olika gårdar är samtidigt mycket stor (mellan 0 % och 50 %). Den ekonomiska betydelsen framgår genom det faktum att kullstorleken vid avvänjningen hos sjuka suggor är cirka ½ gris mindre jämfört med de som ej har juverinflammation. Återfallsfrekvensen i nästkommande laktation är hög (cirka 50 %). I ovan nämnda studie identifierades ett antal riskfaktorer för uppkomst av sjukdomen. Risken för att drabbas är större hos äldre suggor, hos suggor med lång diperiod och hos de med många spensår vid avvänjningen. Dessutom är sjukdomsfrekvensen högre i besättningar med sämre hygienisk standard enligt besättningsveterinärens bedömning. Hygienens betydelse framgår vidare av det faktum att låg sjukdomsfrekvens är kopplad till god rengöring av grisnings- och betäckningsavdelningen, användning av spaltgolv i digivningsboxen och till att grisningsavdelningen får stå tom och torra under tillräckligt lång tid mellan omgångarna. Dessutom medför användning av vassle och undvikande av tandklippning/slipning minskad sjukdomsfrekvens. Dessa senare faktorer kan på olika sätt vara kopplade till bakteriefloran i suggans omedelbara närhet. Det saknas dock idag kunskap om vilka bakterier som har betydelse för att sjukdomen ursprungligen etableras.

Mikrobiologiska fynd vid kronisk juverinflammation

Sjukdomen kallades ursprungligen juveraktinos då förändringarna liknar de som ses vid aktinos hos nötkreatur och man isolerade likartade bakterier hos båda djurslagen (*Streptothrix*, *Actinobacillus*), (Magnusson 1928). Senare studier har dock visat att man i förändrad vävnad kan isolera antingen en renkultur av olika, aeroba och anaeroba bakterier (t. ex. *Stafylococcus aureus*, *Streptococcus* spp, *Arcanobacterium pyogenes*, *Actinomyces denticolens*, *Pasteurella multocida*, *Clostridium* spp, *Bacteroides* spp, *Bacillus* spp, *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella* spp, *Peptostreptococcus anaerobicus*), eller en blandflora av dessa bakteriearter (Jones 1980, Delgado och Jones 1981, Persson 1997). I en del fall påvisas ingen bakterieväxt (Persson 1997). En hypotes som framförts är att aeroba bakterier först etableras i juvret och skapar förutsättningar för angrepp av anaeroba bakterier vilka i sin tur är huvudsakligen ansvariga för utvecklingen av den svårgenomträngliga granulomatösa kapseln (Pyörälä 1995).

Det mikrobiologiska mönstret liknar det som ses vid "sommarmastit" hos nötkreatur. Denna typ av juverinflammation förknippas med växt av olika aeroba och anaeroba bakterier och framförallt den fakultativt anaeroba bakterien *Arcanobacterium pyogenes* (Thomas och medarbetare 1987). Experimentella infektioner hos nötkreatur visar att en mycket mild och snabbt övergående juverinflammation utvecklas då

juvret inokuleras med enbart *Arcanobacterium spp*, medan en kombination med andra bakterier ger en bestående inflammation med tydliga kliniska symtom (Hirvonen och medarbetare 1994, Pyörälä 1995). I våra egna tidigare undersökningar har *Arcanobacterium spp* isolerats endast i ett mindre antal fall av kronisk juverinflammation hos sugga, vilket kan bero på att odlingsmetodiken ej varit optimal. I utländska studier har man dock påvisat *Arcanobacterium spp* i en relativt stor andel av fallen vilket talar för att denna bakterie kan ha avgörande betydelse för sjukdomens utveckling hos sugga (Pierskalla och medarbetare 1990). Man anser att *Arcanobacterium spp* kan vara en del av smågrisens normala munflora och experimentella studier har visat att typiska juverförändringar utvecklats hos suggor vars smågrisar inokulerats med denna bakterieart (Murakami och medarbetare 1999). Vi har tidigare från juverbölder hos sugga isolerat en hittills okänd bakterie som är besläktad med *Arcanobacterium spp*, och denna benämns *Actinomyces denticolens* (Persson 1997). Det är möjligt att denna bakterie har speciell betydelse i sjukdomsutvecklingen, antingen ensam eller i kombination med en annan bakterieart enligt tidigare nämnda hypotes.

I den här rapporterade pilotstudien inokulerades 3 lakterande suggor med olika bakteriearter som isolerats från suggor med kronisk mastit, för att avgöra vilka bakterier som är mest relevanta att inkludera i den fullständiga studien. *Actinomyces denticolens*, inokulerades i renkultur samt i kombination med tidigare kända aeroba och anaeroba bakteriearter.

Försvarsmekanismer vid juverinfektion

Cytologi

I mjölken förekommer olika typer av vita blodkroppar vilka utgör ett försvar mot inträngande infektiösa ämnen. Tillsammans med avstötta epitelceller utgör dessa celler mjölken totala cellhalt (TCC) Hos friska juverdelar ses en gradvis stegring av TCC från cirka $1,4 \times 10^6$ vid grisningen till cirka $2,1 \times 10^6$, 3 veckor senare. Andelen segmentkärniga vita blodkroppar (PMNL) - vilka är del i den andra försvarslinjen mot infektiösa ämnen - sjunker under samma period från cirka 60 % till knappt 50 % (Persson och medarbetare 1996a, Magnusson och Greko 1998). Både TCC och andelen PMNL ökar med stigande ålder hos friska suggor Persson och medarbetare 1996a). Man har noggrant studerat förändringar i dessa parametrar vid uppkomst av juverinfektion i samband med grisningen (agalakti). Trots att infektionen avklingar inom ett par dagar vid agalakti kvarstår förhöjda TCC-värden upp till 3 veckor. Andelen PMNL verkar minska något under denna sjukdoms akuta fas (Persson och medarbetare 1996b). Skillnader i förekomst av olika celltyper och deras funktion misstänks vara orsak till ökad mottaglighet för infektion hos vissa suggor (Magnusson 1999, Österlundh och medarbetare 2002) Hos nötkreatur utgör analys av det totala celltalet, TCC, ett viktigt verktyg för att följa juverhälsan. Höga celltal indikerar en subklinisk infektion.

I den nu aktuella planerade studien analyserades cellhalten för att följa eventuell subklinisk påverkan i de fall ej kliniska symtom uppträder, och för att utvärdera om sjukdomsutvecklingen är kopplad till soggans försvarskapacitet före infektion. Dessa resultat har dock ej sammanställts.

Inflammationsmarkörer

Vid infektion aktiveras kroppens försvarssystem och detta kan bland annat avläsas i

förändringar av olika signalsubstanser och proteiner – så kallade akutfas proteiner - som är involverade i immunsvaret. Dessa substanser kan följas genom blodanalyser och användas som ett objektiva mått på infektionens förlopp, oavsett om denna ger upphov till kliniska symtom eller ej. Man har hos sugga i samband med experimentellt framkallad agalakti studerat mönstret hos några sådana mediatorer – akutfasproteinet SAA, haptoglobin, TNF-alfa och IL-6 (Zhu och medarbetare 2004). Samtliga reagerar snabbt på den akuta infektionen genom kraftigt stigande värden. Genom analys av TNF-alfa och IL-6 kan man dessutom identifiera de djur som endast utvecklar subklinisk infektion. I studier på nötkreatur har man noterat förhöjda koncentrationer av akutfasproteiner i samband med kronisk subklinisk juverinfektion (Grönlund 2004).

I denna studie samlades blodprover för att analyseras avseende SAA, TNF-alfa och IL-6 för att kunna följa infektionens utveckling och urskilja de djur som endast utvecklar subklinisk infektion. Då man misstänker att skillnader i motståndskraft mellan individer kan avspelas i dessa markörer, avsåg vi även att studera om sådana skillnader föreligger som kan förklara sjukdomsförloppet och förmågan att motstå infektion hos olika suggor i försöket.

1.2 Akut juverinflammation

Akut juverinfektion kan ses i samband med förlossningen som en del av agalaktikomplexet. Denna infektion, som i de flesta fall orsakas av bakterien *Escherichia coli*, ses endast under de första två dyggen efter förlossningen, ger kraftiga allmänna sjukdomssymtom hos suggan och minskad mjölkproduktion. Agalaktikomplexet har tidigare studerats i detalj i ett stort antal undersökningar. Enligt våra egna tidigare studier föreligger inget samband mellan agalakti och förekomst av kronisk juverinflammation (Hultén och medarbetare 2003, opublicerade resultat). Akut juverinflammation som uppkommer senare under diperioden ger sannolikt i de flesta fall mycket milda kliniska symtom, eftersom sjukdomen enligt erfarenheter från praktiserande veterinärer, sällan uppmärksammas och behandlas. Detta bekräftas av resultat från en mindre svensk studie, där man noterade akut mastit vid avvänjningen hos endast omkring 2 % av suggorna. Bakteriologisk odling visade i dessa fall växt av *Stafylococcus aureus*, *Streptococcus* spp, *Pasteurella multocida*, *Actinomyces pyogenes* (Hultén och medarbetare 1995), och suggorna visade endast i enstaka fall feber och allmänna sjukdomssymtom. Dessa akuta infektioner övergår sannolikt i kronisk juverinflammation i en okänd andel av fallen. Det är av avgörande betydelse att klargöra hur och varför den akuta juverinflammationen utvecklas, samt följa hur den kliniska sjukdomsbilden ser ut i detalj, för att kunna förebygga att sjukdomen utvecklas till kronisk obotlig juverinflammation

REFERENSER

- Bollwahn von W, Meermeier D. Häufigkeit und Diagnostik chronischer Gesäugeveränderungen bei Zuchtsauen (Schlachtbefunde). *Berl Münch Tierärztl Wschr.* 1989;102(7):223-227.
- Delgado JA, Jones JET. An abattoir survey of mammary gland lesions in sows with special reference to the bacterial flora of mammary abscesses. *Br vet J.* 1981;137:639-643
- Grönlund U. The immune response during acute and chronic phase of bovine mastitis. With emphasis on *Staphylococcus aureus* infection. Thesis. 2004. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala
- Hirvonen J, Pyörälä S, Heinäsuo A, Jousimies-Somer H. Penicillin G and Penicillin G-tinidazole treatment of experimentally induced summer mastitis – effect on elimination rates of bacteria and outcome of the disease. *Vet Microb* 1994;42:307-315.
- Hultén F, Lundeheim N, Dalin A-M, Einarsson S. A field study on group housing of lactating sows with special reference to sow health at weaning. *Acta vet scand* 1995;36:201-212
- Hultén F, Persson A, Eliasson-Selling L, Heldmer E, Lindberg M, Sjögren U, Kugelberg C and Ehlörsson C-J. 2004b. Juverböld hos sugga – vad skall man göra? *Svensk Gris.*
- Hultén F, Persson A, Eliasson-Selling L, Heldmer E, Lindberg M, Sjögren U, Kugelberg C and Ehlörsson C-J. 2003 Clinical

characteristics, prevalence, influence on sow performance and assessment of sow-related risk factors for granulomatous mastitis in sows. *Am J Vet Res*, 64(4), 463-469.

- Hultén F, Persson A, Eliasson-Selling L, Heldner E, Lindberg M, Sjögren U, Kugelberg C and Ehlorsson C-J. 2004a Influence of environment and management on prevalence of chronic mastitis in sows. *Am J Vet Res*, 65(10), 1-6.
- Jones JET. Observations of the bacterial flora of abscesses in pigs. *B Vet J* 1980;136:343-348
- Magnusson H. The commonest form of actinomycosis in domestic animals and their etiology. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1928;5:170-244
- Magnusson U. Longitudinal study of lymphocyte subsets and major histocompatibility complex-class II expressing cells in mammary glands of sows. *Am J vet Res*. 1999;60(5):546-548
- Murakami S, Azuma R, Koeda T, Oomi H, Watanabe T, Fujiwara H. Immunohistochemical detection for *Actinomyces* sp. in swine tonsillar abscess and granulomatous mastitis. *Mycopathologia* 1998;141:15-19.
- Magnusson U, greko C. Assessment of phagocytic capacity and opsonic activity in blood and mammary secretions during lactation in sows. *Zentralbl vet B*. 1998;45(6):353-361
- Persson A. Mastitis in sows. Clinical, bacteriological and cytological examinations in assessing udder health during early lactation and at weaning. Thesis. Veterinaria 10, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala 1997
- Persson A, Pederson A E, Göransson L, Kuhl W. A long term study on health status and performance of sows on different feed allowances during late pregnancy. II. The total cell content and its percentage of polymorphonuclear leucocytes in pathogen-free colostrum and milk collected from clinically healthy sows. *Acta vet scand*. 1996a);37:279-291
- Persson A, Pederson A E, Kuhl W. A long term study on health status and performance of sows on different feed allowances during late pregnancy. III. *Escherichia coli* and other bacteria, total cell content, polymorphonuclear leucocytes and pH in colostrum and milk during the first 3 weeks of lactation. *Acta vet scand*. 1996b);37:293-313.
- Pierskalla St von, Schröder J, Fuchs H-W, Nattermann H, Wendt K, Noack F-R. Zur sogenannten Gesäugeaktinomykose der Sau. *Mh Vet.-Med*. 1990;45:378-381
- Pyörälä S. Summer Mastitis. In: *The Bovine udder and mastitis*. Markus Sandholm. University of Helsinki. Helsinki 1995, 161-163
- Sterning M, Hultén F, Holst H, Einarsson S, Andersson K. Relationship between health and weight loss during lactation and between health and ability to return to oestrus after weaning in primiparous sows. *J Vet Med A* 1997;44(301-311)
- Thomas G, Oliver HJ, Vecht U och Nansen P. Summer mastitis. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, 1987.
- Zhu Y, Österlundh I, Hultén F, Magnusson U. Tumor necrosis factor- α , interleukin-6, serum amyloid A, haptoglobin, and cortisol concentrations in sows following intramammary inoculation of *Escherichia coli*. *Am J Vet Res*. 2004;65(10):1434-1439
- Österlundh I, Hultén F, Johannisson A, Magnusson U. Sows intramammarily inoculated with *Escherichia coli* at parturition: I Functional capacity of granulocytes in sows affected or non-affected by clinical mastitis. *Vet Immun Immunopath*. 2002;90:35-44

1.3 Frågeställningar

För att förhindra att kronisk juverinflammation utvecklas måste vi veta:

- ✓ Om en viss specifik bakterie orsakar den ursprungliga infektionen, eller om det krävs enblandinfektion för att sjukdomen skall etableras.
- ✓ Om vissa individer är mer mottagliga för infektion.
- ✓ Om vissa individer har sämre förmåga att bekämpa infektionen.
- ✓ Vilka kliniska sjukdomssymtom suggan uppvisar i sjukdomens akuta fas.

Härigenom kan mer riktade bekämpningsinsatser etableras som innefattar:

identifiering av specifika smittsamma bakterier; eliminering av suggor som är speciellt mottagliga för sjukdomen; förbättrad diagnostik av sjukdomens akuta fas då effektiv medicinsk behandling kan insättas

2. MATERIAL OCH METODER

12 juverdelear från tre olika suggor inokulerades med bakterier på dag 17 under en 35 dagar lång digvining. Suggorna hölls individuellt och slaktades två veckor efter avvänjning. Juverstatus, allmäntillstånd, rektaltemperatur och smågrisarnas tillväxt noterades under hela försöksperioden. Olika juverdelar hos suggorna inokulerades med bakterierna *A. denticolens*, *A. pyogenes*, *S. equisimilis* och *S. auerus* enligt olika schema för varje sugga.

Mjölprover för bakteriologisk och mykologisk undersökning samlades dagen före inokulationen, dag 1,3, 20 (=2 dagar efter avvänjning) och 32 (=vid slakt) efter inokulation.

3. RESULTAT OCH DISKUSSION

Hos de två suggor som inokulerades med bakterien *A. denticolens* återisolerades aldrig denna bakterie. Dessa två suggor inokulerades också med bakterien *S.*

equisimilis som återisolerades denna bakterie vid några tillfällen under experimentet. Sammantaget visad dessa två suggor endast milda tecken på klinisk sjukdom och deras smågrisars tillväxt var inte påverkad.

Hos den sugga som inokulerades med bakterien *A. pyogenes* återisolerades bakterien i all fall utom ett i den efterföljande provtagningen och återfanns även i juverdelarna vid slakt. Denna sugga uppvisade också måttlig till kraftig klinisk påverkan och tillväxten hos hennes smågrisar minskades också kraftigt.

Sammantaget indikerar studien att bakterien *A denticolens* roll i utvecklingen av kronisk juverinflammation är av begränsad betydelse medan bakterien *A pyogenes* har stor betydelse för utvecklingen av sjukdomen. Betydelsen av bakterierna *S. aureus* och *S. equisimilis* som primär sjukdomsframkallare är dock mer oklar.

4. PUBLIKATIONER:

Hulten F, Persson A, Baverud V, Magnusson U 2006. Etiology of chronic mastitis in the sow - A pilot study *Reprod Dom Anim* 41 (41): p. 368

Hulten F, Persson A, Baverud V, Magnusson U 2006. Experimental infection of the sow mammary gland during lactation – a pilot study. *Proc 19th IPVS, Copenhagen* Vol 2, p 481.