

Tysta smittbärare av kvarkabakterien *Streptococcus equi* – utökad longitudinell studie (H1247189)

(Silent carriers of *Streptococcus equi* (strangles) - extended longitudinal study)

RAPPORTENS FÖRFATTARE

Gittan Gröndahl, SVA, 2017-06-30

BAKGRUND

Den viktigaste orsaken till bakteriell luftvägsinfektion hos häst är *Streptococcus equi* (*S.equi*), som orsakar kvarka. Kvarka är mycket smittsamt. Typiska symptom på kvarka är bland annat feber, näsflöde och bölder i submandibularlymfknutorna, men det är 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). I tidig infektionsfas, eller vid subklinisk eller atypiska infektioner, är det svårt att skilja mellan virusorsakad infektion och kvarka (Sweeney et al, 2005). En stor utmaning är att vissa hästar som tillfrisknat kliniskt från kvarka kan bli s k tysta smittbärare och har därmed möjlighet att sprida smittan vidare, 10% har tidigare angetts i brittiska studier (Sweeney et al, 2005). Vissa av dessa förblir smittbärare i veckor, månader eller upp till flera år (Grönbaek et al, 2006; Newton et al, 1997; Sweeney et al, 2005). Ofta ligger smittvärden i luftsäckarna och närliggande lymfvävnad (Fintl et al, 2000). I olika studier har visats att provtagningar av sådana hästar ibland blir negativa trots att de ännu är smittbärare. Tyvärr har dessa svårigheter, i vissa fall parat med bristande kunskap om diagnostik och smittvägar, lett till att de flesta smittbärare aldrig identifieras och därmed potentiellt kan sprida kvarka vidare.

Sjukdomen kvarka är anmälningspliktig i Sverige. Mellan åren 2001 och 2016 har konfirmerad kvarka rapporterats från 1130 svenska gårdar enligt Jordbruksverkets statistik. Det ger i snitt på över 70 utbrott årligen med ett okänt antal insjuknade hästar. Flera utbrott i besättningar med 20-50 sjuka hästar är dock kända. Många tusen svenska hästar har således utsatts för kvarka under dessa år. Man kan räkna med att varje besättning får ett verksamhetsavbrott och betydande ekonomiskt avbräck på flera månader vid ett kvarkautbrott p g a isolering och konvalescens. Kvarka är alltså ett reellt stort hot mot den svenska hästnäringens verksamhet och ekonomi. Det finns ingen förebyggande behandling eller vaccin i Sverige. Därför är det viktigt att snabbt säkerställa diagnosen, och att vidta smittskyddsrutiner som är baserade på kunskap om hur sjukdomen sprids. I smittskyddet ingår bl a isolering, karantän, gruppering, särskilda hygienrutiner, kontroll av flöden av hästar och människor, samt sanering.

För att minska hästars lidande, till gagn för hästvälfärd och hållbar hästnäring, har SVA och SLU i samarbete med andra forskningsinstitut arbetat intensivt med kliniska och subkliniska luftvägsinfektioner hos häst under många år. Det har lett till viktiga landvinningar inom diagnostik och sjukdomsbekämpning, med förbättrad provtagning i fält, förfinad diagnostik på laboratoriet och bättre råd till veterinärer och hästägare. En diagnostikmetod baserad på Realtids-PCR (polymerase chain reaction; PCR) för att påvisa arvs massa från *S.equi* har tagits fram (Båverud et al, 2007) och utvärderats för olika slags provmaterial vid akut sjukdom (Lindahl et al, 2013; Formas D 221- 2006-2258). Forskningsresultaten gör det nu möjligt att påvisa *S. equi* hos 80% av hästar med akuta symptom i kvarkautbrott, mot tidigare 37-50% som uppnåddes med traditionell bakterieodling. I ett annat forskningsprojekt, ”Stoppa smittspridningen av kvarka, en studie av tysta smittbärare” (Stiftelsen Hästforskning H1147203) kunde vi visa att PCR-metoden även var betydligt bättre än bakterieodling för att hitta symptomlösa hästar som bar på smittan efter att det akuta skedet av infektion gått över. Detta gällde för både nässvabbprov, nässvalgsköljprov (nässköljprov) och luftsäckssköljprov (luftsäcksprov). En annan slutsats var att nässvabbprov ofta missar symptomlösa (”tysta”) smittbärare trots analys med

PCR, och att det därför är bättre med nässköljprov och allra bäst med luftsäcksprov i denna fas av sjukdomen. Resultaten när det gällde frekvensen smittbärarskap var uppseendeväckande både nationellt och internationellt: 92% av undersökta hästar var fortfarande bärare av kvarkabakterien vid den tidpunkt då isoleringen normalt upphävs, tre veckor efter att alla symptom på sjukdom var borta. Efter sex veckors isolering var 67% fortfarande PCR-positiva, och flera hästar var ännu smittbärare då studien avslutades efter fyra månader (Gröndahl, 2013).

Den föreliggande studien kom till som en logisk följd av dessa resultat, och innebär en utökad, longitudinell studie av smittbärarskap under perioden 4 till 12 månader efter att kliniska symptom har upphört efter genomgången kvarka i besättningen.

Hur länge kvarkabakterien kan påvisas i luftvägarna hos tysta smittbärare som behandlas konservativt eller med antibiotika utvärderades med modern teknik, och ifall nässköljprover eller luftsäckssköljprover fungerar bäst. Projektet syftade till att förbättra rådgivningen och ge nya verktyg i det fortsatta arbetet för att förhindra att kvarka sprids till andra hästar. Målet för studien är att tysta smittbärare för kvarka ska kunna identifieras och följas upp så att rätt åtgärder för att minimera smittspridning kan sättas in.

Frågeställningar i projektet

- **Hur vanligt är det att tysta smittbärare av kvarka är koloniserade/infekterade med *Streptococcus equi* i upp till ett år och hur mycket varierar det mellan individer?**
- **Kan antibiotikabehandling vara effektivt till långvariga smittbärare av kvarka?**
- **Är nässvabbprover och luftsäckssköljprover likvärdigt användbara för att identifiera kvarkabakterier hos tysta smittbärare med hjälp av PCR-teknik och odling?**
- **Är serologiska tester positiva och vilken titer har hästar som är långvariga tysta smittbärare?**
- **Kan smittspridning till nytillkomna hästar påvisas i stall med tysta smittbärare?**

MATERIAL OCH METODER

Studiepopulationen bestod av 94 hästar från fyra olika besättningar som tidigare genomgått kvarka. Besättningarna rekryterades från den tidigare studien ”Stoppa smittspridningen av kvarka – en studie av tysta smittbärare av *Streptococcus equi*” (H1147203), för att symptomlösa smittbärare hade identifierats i dem. Berörda hästägare informerades om studiens förutsättningar och syfte och signerade sitt samtycke att resultaten kunde användas för forskningsändamål. Både hästar som befunnit sig i respektive besättning under utbrottet av klinisk kvarka samt nya hästar som tillkommit i besättningen senare, genom handel eller uppfödning, ingick. De senare var med för att studera eventuell smittspridning från symptomlösa hästar. Hästar som identifierats som smittbärare genom minst ett nässköljprov grupperades i mindre, isolerade grupper avskilda från andra hästar, och råd om smittskydd gavs. Hästägarna var fria att behandla sina hästar efter samråd med veterinär. Om ägaren önskade behandla hästen konservativt eller med antibiotika under studieperioden påverkade inte inklusion i studien. På så sätt följdes både antibiotikabehandlade och obehandlade smittbärande hästar, men studien var inte designad som en behandlingsstudie med randomiserade grupper.

Hästarna undersöktes vid upprepade tillfällen med början 4-7 månader efter symptomfrihet från akut kvarka, och avslutades 7-26 månader efter det akuta kvarkautbrottet. Undersökningen innefattade anamnes, klinisk undersökning, blodprover, nässköljprover samt endoskopi av övre luftvägar och luftsäckar och luftsäckssköljprover i så stor utsträckning som möjligt. Hästar som tidigare varit positiva för kvarka prioriterades för endoskopi vid resursbrist. Nässköljprov utfördes med 120 ml natriumklorid innan endoskopi. Hästarna bremsades och sederades inför endoskopi med detomidin och butorfanol intravenöst. Vid endoskopiundersökning noterades morfologiska fynd samt i vilken ordning luftsäckarna

provtagning. Luftsäckssköljprov utfördes med 40 ml natriumklorid i vardera luftsäcken och proverna analyserades separat. Endoskopiundersökningarna utfördes av veterinärer från projektet medan en lokal veterinär anlätades för provtagningarna i vissa fall, när enbart nässköljprover utfördes. Förekomst av *S. equi* och *S. zooepidemicus* i nässköljprover och luftsäckssköljprover analyserades med hjälp av en realtids-PCR utvecklad vid SVA (Båverud et al, 2007). Kvarka-PCR-positiva prover odlades också. Blod analyserades för serologi avseende antikroppar mot antigen A och C från *S. equi* med hjälp av iELISA (Animal Health Trust, Newmarket, UK, Robinson et al, 2013), samt hematologi (Exigo, Boule Medical AB, Spånga). Förekomst av patomorfologiska fynd i luftsäckarna korrelerades mot PCR-fynd av *S. equi*.

I en kontrollgrupp undersöktes 64 friska ridhästar, islandshästar, araber och ponnyer från åtta besättningar utan tidigare känd kontakt med kvarka. Hästarna hade inte haft symptom på kvarka och inte heller varit i kontakt med sådana hästar. Hästarna undersöktes kliniskt samt provtogs med blodprover och nässköljprover vid ett tillfälle. Om hästarna var seropositiva eller PCR-positiva vid det första nässköljprovet planerades ytterligare ett nässköljprov samt endoskopi och luftsäcksprover. Proverna analyserades som ovan.

RESULTAT

Bland hästarna i de åtta friska kontrollbesättningarna förekom antikroppar mot *S. equi* hos 5 av 64 hästar (7,8%) när gränsvärdet OD 0.45 användes. Två besättningar hade två seropositiva hästar vardera. Alla hästar var kliniskt friska. Ingen av de 64 hästarna (0 %) var PCR-positiv för *S. equi* i nässköljprov. En femtedel (37,5 %) var PCR-positiva för *Streptococcus zooepidemicus* i nässköljprov. Tre av de seropositiva hästarna var tillgängliga för endoskopi av övre luftvägarna. Deras luftsäckar hade ett normalt utseende och inga kvarkabakterier kunde påvisas där heller. Däremot var två av dessa tre hästar positiva för *S. zooepidemicus* i en luftsäck. Uppföljande undersökning kunde inte genomföras av övriga seropositiva hästar av olika anledningar. Anamnes för de fem seropositiva hästarna visade att de funnits i sina respektive besättningar mellan 1-3 år utan tecken på luftvägssjukdom, vare sig på dessa hästar eller andra i besättningen. De seropositiva hästarna hade rest och kommit i kontakt med hästar från andra besättningar ett flertal gånger under det senaste året. Till deras stall hade det också kommit in flera nya hästar under det senaste året. En lägre cut-off om OD 0.30 har föreslagits för att öka säkerheten vid screening, och med detta gränsvärde var 9/64 av de friska hästarna seropositiva (14%), och de fanns i 5 av 7 provtagna besättningar. I en av dessa besättningar hade tre av 4 hästar över gränsvärdet OD 0.30.

Bland hästarna i de fyra besättningar som tidigare haft kvarka var frekvensen smittbärare var hög under undersökningsperioden: 19-50% av de provtagna hästarna var bakteriologiskt positiva för *S. equi* (n=69; medel 27,5%) vid första provtagningstillfället, 4-6 månader efter att akuta symptom avklingat. De flesta provtagna hästarna i de olika besättningarna (50-75%, medel 60%) var seropositiva mot kvarka vid denna tid, vilket gör att en serologisk screening skulle kunna ha fångat upp exponeringen för kvarka på populationsnivå i varje stall. På individnivå hade man dock missat 4 av 19 smittbärare som inte var seropositiva (21%).

Kvarkasmitta påvisades hos många nytillkomna hästar som inte varit med i de ursprungliga kvarkautbrotten. De nya hade köpts in eller fötts i besättningen under studiens gång, alltså veckor och månader efter att det inte längre förekom några hästar med kliniska symptom, och därpå smittades de. Två nytillkomna fick akuta kvarkasymptom först, medan flera inte genomgick klassisk kvarka, utan blev tysta smittbärare med lindrig katarrhal till mukopurulent aerocystit, som kräver endoskopi och provtagning i luftsäckarna för att upptäckas. Hos några nya hästar skedde enbart serokonvertering, utan att bakterien kunde påvisas.

Vissa hästar genomgick antibiotikabehandling under studiens gång. Behandling i förekommande fall bestod vanligtvis av en urspolning av slemklumpar (kondroider) från luftsäckarna, följt av lokal deponering av penicillin och en 7-14 dagars kur med intramuskulärt penicillin. Genomförda penicillinbehandlingar föreföll framgångsrika i att eliminera smittan på en gård, men inte på en annan.

Två av fyra deltagande besättningar blev av med smittan under studietiden, med eller utan behandling. I den ena fria gruppen (n=4) hade ingen behandling genomförts, och sista gången bakterien kunde påvisas var 7 månader efter det akuta utbrottet. I den andra fria gruppen (n=16) påvisades bakterien sista gången 6 månader efter det akuta utbrottet, och sedan blev smittbärarna antibiotikabehandlade, och befanns vara negativa vid en uppföljande provtagning då både näs- och luftsäckssköljprover analyserades.

Två av fyra gårdar hade fortfarande smittförande hästar då studien avbröts. Den ena av dessa gårdar hade inte antibiotikabehandlat någon av sina 6 hästar och hade minst två smittbärande hästar (33%) kvar då uppföljningen avbröts efter 7 månader.

Den fjärde och största besättningen hade totalt 63 hästar under perioden, varav 22 blev antibiotikabehandlade i en eller två kurer. Ett antal hästar som var smittbärare kunde så småningom uppvisa tre eller fler fria nässköljprover i rad, trots att de hade en mukopurulent aerocystit och var fortsatt positiva för *S. equi* i ena eller bägge luftsäckarna. När det gått 15 månader efter det första akuta kvarkautbrottet var minst 18 av 54 hästar (33%) fortfarande smittbärare, trots att dessa fått dubbla kurer med penicillin. Luftsäcksprover var positiva men inte nässköljprover hos 16/18 smittbärare (89%), medan det var tvärtom hos två hästar. Det visar att båda sortens prover kan behövas. Flera av hästarna med persisterande luftsäcksinflammation som var PCR-positiva i luftsäcksprov uppvisade dock till och med tre negativa nässköljprov i rad. Fem av de 18 smittbärarna var seronegativa (27,8%) vid 15 månader efter symptomslut, och dessa individer hade alltså missats med enbart en serologisk screening.

Vid en uppföljning av dessa 18 smittbärare efter konservativ behandling sex månader senare (20 månader efter att det akuta utbrottet upphört), hade 8/18 blivit smittfria, 7/18 var ännu smittbärare av *S. equi*, och 3/18 var inte tillgängliga för provtagning. Vid denna tidpunkt var inga nässköljprover positiva utan samtliga identifierades med luftsäcksprover. Sju av 8 smittbärare var seronegativa (87,5%), det vill säga saknade antikroppar mot *S. equi* i blodet, vid 20-månadersuppföljningen.

Många hästar som såg normala ut vid inspektion av luftsäcken var ändå tysta smittbärare. Det fanns därför ingen statistisk korrelation mellan patomorfologiska fynd i luftsäckarna och påvisande av *S. equi* med PCR. En risk för kontamination av provet från den luftsäck som provtogs sist observerades, eftersom man såg att om den först provtagna luftsäcken var positiv för *S. equi* med PCR, så var sannolikheten större att den kontralaterala luftsäckens prov också var positivt.

DISKUSSION

Seroprevalensen, förekomsten av antikroppar mot kvarka, i kontrollgruppen av friska, aktiva svenska hästar var 7,8%, vilket var ett lägre värde jämfört med rapporter från andra länder; 9,5% i Israel (n=200; Tirosh-Levy et al, 2016), 13% i Storbritannien (n=39; Knowles et al, 2010) och 42% på Irland (n=319; Lynch et al, 2012). Inga av de undersökta hästarna i denna grupp hade visat tecken på luftvägsinfektion, feber eller andra tecken på kvarka på minst två år enligt djurägarna. Resultatet tyder på att exponering för *S. equi* förekommer i den svenska populationen, men ett större material bör provtas för att kunna dra slutsatser om den svenska hästpopulationens seroprevalens. Ett sådant projekt pågår nu (Formas 2013-423-24938-51; Att utrota kvarka i Sverige; verktyg för att identifiera och eliminera kvarkainfektion i svenska hästbesättningar).

Resultaten från studien av hästarna i de besättningar som tidigare haft kvarka visar att nässvalgssköljprover och luftsäckssköljprover kan användas med goda resultat för att identifiera tysta smittbärare om de analyseras med PCR-diagnostik, och att det är högst sensitivitet för luftsäckssköljprover. Luftsäckssköljprover kräver endoskopi av luftsäckarna, vilket är en avancerad teknik som hittills inte allmänt erbjuds bland stordjurspraktiserande veterinärer. Desinfektion av instrumentet mellan varje provtagen häst är viktigt och kan upplevas som ett omständligt hinder för den

praktiska tillämpningen när man står inför ett helt stall med hästar som ska smittfriförklaras. Enbart endoskopi utan provtagning räcker inte heller för att utesluta infektion, vilket visades genom att det fanns ett antal hästar utan uppenbara patologiska fynd i luftsäcken som ändå bar på *S. equi*.

Fynden av *S. equi* hos nya hästar som införts eller fötts i besättningarna långt efter det akuta skedet visar med tydlighet hur kvarkasmitta kan spridas från tysta smittbärare. Av dessa var det dock endast två hästar som uppvisade kliniska symptom, och det var hästar som införts inom 4 månader efter sista kliniska fallet. En tolkning kan vara att risken för smitta ledande till klinisk sjukdom är högre i den tidiga konvalescensen och att smitt dosen och/ eller virulensen hos symptomlösa smittbärare avtar med tiden, så att det i sådana fall endast leder till serokonvertering och/eller kolonisation, men inte klinisk sjukdom.

Serologisk screening för att finna smittbärare förlorar i sensitivitet med tiden, då det tycks att många hästar som gått med bakterien länge i luftsäckarna inte längre uppvisar antikroppar i blodet. Endast 12,5% av smittbärare var seropositiva vid en 20-månadersuppföljning, vilket visar att serologisk screening på individnivå ofta missar smittbärare som haft smittan så här länge, men att screening på besättningsnivå ändå ger napp.

Inte alla hästar som penicillinbehandlades blev fria från kvarkabakterier, trots att *S. equi* är penicillinkänslig *in vitro*. Upprepade sköljningar av luftsäckarna genomfördes inte av praktiska skäl, och skulle troligen kunnat förbättra behandlingsresultaten. Potentialen för återsmitta måste också beaktas i grupper med många smittbärare vilket var fallet i den studerade besättningen. och det bästa för att undvika återsmitta är om grupperna kan hållas små, gärna inte mer än 3-6 hästar.

Frågeställningarna i studien kan besvaras på följande sätt:

- **Hur vanligt är det att tysta smittbärare av kvarka är koloniserade/infekterade med *Streptococcus equi* i upp till ett år och hur mycket varierar det mellan individer?**
Det förekommer ofta att bakterien kan spåras med känslig PCR-teknik hos många hästar i flera månader efter att symptomen upphört. Som längst i denna studie såg vi att bakterien kunde påvisas med PCR hos ett antal hästar i 20 månader efter att symptomen hade upphört, vid den tidpunkt studien avslutades.
- **Kan antibiotikabehandling vara effektivt till långvariga smittbärare av kvarka?**
En annan sorts studie behövs för att kunna besvara frågan om hur en effektiv behandling av långvariga smittbärare bäst ska utformas. Resultaten i våra observationer tyder på att vissa hästar kunde rena sig från kvarkabakterier både med och utan penicillinbehandling, och att det fanns vissa hästar som kvarstod med bakterien trots penicillinbehandling. Frekvensen tysta smittbärare kan förväntas sjunka med tiden utan särskilda åtgärder, men penicillinbehandling kan användas.
- **Är nässköjprover och luftsäckssköjprover likvärdigt användbara för att identifiera kvarkabakterier hos tysta smittbärare med hjälp av PCR-teknik och odling?**
Nej. Luftsäcksprover är mer användbara då de hittar fler tysta smittbärare än nässköjprover. I vissa fall är det dock tvärtom, och därför är det bästa att provta samma häst med både nässköjprov och luftsäckssköjprov. Proverna ska analyseras med PCR-teknik, inte bakterieodling, för högst känslighet. Det beror på sannolikt att halterna av bakterier är låga hos många smittbärare. Provtagning med nässvabbprov och/eller analys med enbart odling är inte användbart för detektion av tysta smittbärare av kvarka, eftersom proverna då blir falskt negativa i de flesta fall.
- **Är serologiska tester positiva och vilken titer har hästar som är långvariga tysta smittbärare?**

Serologiska tester, som mäter antikroppshalter i blodet, är ofta positiva under den första tiden efter ett kvarkautbrott. De flesta smittbärare har då antikroppstitrar över gränsvärdet, men i vissa kan missas med blodtestet. Ju längre tid som passerar, desto fler smittbärahästar slutar att uppvisa antikroppar i blodet. Det beror sannolikt på att deras infektion inte är speciellt aktiv, det kan vara ganska låga halter av bakterier kvar och de hålls i schack av immunförsvaret utan att förhöjda antikroppar i blodet behövs. Serologi för antikroppar mot kvarka kan vara användbart i screening för förekomst av smittbärare på besättningsnivå, vilket är intressant för övervaknings- och bekämpningsprogram. På individnivå är serologi dock alltså känsligast för att detektera smittbärare under de närmaste månaderna efter att en häst har smittats, och därefter avtar känsligheten.

- **Kan smittspridning till nytillkomna hästar påvisas i stall med tysta smittbärare?**

Ja, det kunde påvisas i några fall. Nya hästar som tillkom i en besättning där det fanns symptomlösa smittbärare blev exponerade för bakterien, vilket avslöjades av att de fick antikroppar mot kvarka i blodet. I vissa fall ledde exponeringen till att de nya hästarna själva blev bärare av bakterien. På så sätt skapas en kedja för smitta mellan hästar och besättningar, även om endast till synes friska djur förs mellan gårdarna. Däremot var det endast några av dessa hästar som fick symptom eller blev akut sjuka i kvarka. Vid kontakt med immunologiskt naiva hästar och kanske med hjälp av andra faktorer som andra infektioner, stress, ”overcrowding”, transport och nedsatt immunförsvaret finns dock risk att smittan blossar upp till nya akuta kvarkautbrott.

REFERENSER

Boyle AG, Sweeney CR, Kristula M, Boston R, Smith G. (2009). Factors associated with likelihood of horses having a high serum *Streptococcus equi* SeM-specific antibody titer. *JAVMA* 235, 8, 973-977.

Båverud, V, Johansson, SK and Aspan, A. (2007) Real-time PCR for detection and differentiation of *Streptococcus equi* subsp. *equi* and *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. *Veterinary microbiology* 124, 219-229.

Fintl, C, Dixon, PM, Brazil, TJ, Pirie, RS, McGorum, BC. (2000) Endoscopic and bacteriological findings in a chronic outbreak of strangles. *Veterinary Record* 147, 480-484.

Grønbeek, LM, Angen, Ø, Vigre, H, Olsen, SN. (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.

Grøndahl G. Dolda smittbärare förvärrar kvarkautbrott. Populärvetenskaplig rapport, Stiftelsen Hästforskning, 2013 (1) 2 <http://obzone.se/shf/files/2013/02/Forskningsrapport-nr-1-2013.pdf>

Knowles EJ, Mair TS, Butcher N, Waller AS, Wood JL. Use of a novel serological test for exposure to *Streptococcus equi* subspecies *equi* in hospitalised horses. *Vet Rec.* 2010 Mar 6;166(10):294-7. doi: 10.1136/vr.b4753.

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 May-Jun;27(3):542-7. doi: 10.1111/jvim.12063.

Newton, JR, Wood, JLN, Dunn, KA, Chanter, N, DeBrauwere, MN. (1997) Naturally occurring persistent and asymptomatic infection of the guttural pouches of horses with *Streptococcus equi*. *Vet Rec.* 140, 84-90.

Robinson C, Steward KF, Potts N, Barker C, Hammond TA, Pierce K, Gunnarsson E, Svansson V, Slater J, Newton JR, Waller AS. (2013) Combining two serological assays optimises sensitivity and specificity for the identification of *Streptococcus equi* subsp. *equi* exposure. *Vet J* 197, 188–191

Sweeney, CR, Timoney, JF, Newton, JR, Hines, MT. (2005) *Streptococcus equi* Infections in Horses: Guidelines for Treatment, Control, and Prevention of Strangles. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 19, 123-134.

Tirosh-Levy, S, Blum, SE, Steward, KF, Waller, AS, Steinman, A. *Streptococcus equi* subspecies *equi* in horses in Israel: seroprevalence and strain types. *Vet Rec Open* 2016;3:e000187. doi:10.1136/vetreco-2016-000187

Walshe, N, Johnston, J, MacCarthy, E, Duggan, VE. “Strangles” in less regulated sectors of the Irish horse industry. 9th ICEID Abstracts / *Journal of Equine Veterinary Science* 32 (2012) S26

PUBLIKATIONER

Båverud, V, Riihimäki, M, Trelsmo, T, Melys, V, Ljung, H, Aspán, A, Gröndahl, G. **Streptococcus equi serology in Swedish horses without clinical signs.** Muntlig presentation och abstract vid Havemeyer Workshop on Strangles and other Streptococcal Diseases 2015, Helsingör, Danmark.

Gröndahl G. **Kvarka – bakgrund, smittskydd, isoleringsrutiner och pågående forskning.** Veterinärkongressen 2014

Gröndahl, G, Båverud, V, Ljung, H, Melys, V, Aspán, A, Riihimäki, M. **Longitudinal study of longtime carriers of Streptococcus equi in a Swedish yard.** Muntlig presentation och abstract vid Havemeyer Workshop on Strangles and other Streptococcal Diseases 2015, Helsingör, Danmark.

Gröndahl, G, Båverud, V, Ljung, H, Melys, V, Aspán, A, Riihimäki, M. **Longitudinal observations of silent carriers of Streptococcus equi in a Swedish yard.** Muntlig presentation och abstract, British Equine Veterinary Association (BEVA) Congress, Liverpool, GB, 2015. *Equine Vet J* 2015, 47, S48, 22-28 DOI: 10.1111/evj.12486_50

Gröndahl, G, Melys, V, Ljung, H, Riihimäki, M, Båverud, V. **Performance of the iELISA in horses with long term guttural pouch carriage of Strep equi equi.** Muntlig presentation och abstract vid 10th International Conference on Equine Infectious Diseases, Buenos Aires, Argentina, 2016. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2016, 39, S13-S14

Gröndahl, G, Melys, V, Ljung, H, Riihimäki, M, Båverud, V. **Antikroppar mot kvarkabakterien Streptococcus equi ss equi hos hästar med kolonisation av luftsäckarna.** Muntlig presentation och abstract vid Veterinärkongressen, Uppsala, 2016: Veterinärkongressen 2016, ISSN 1654-9848, 274-275

Riihimäki, M, Pringle, JP, Båverud, V, Nyman, AK, Gröndahl, G. **Correlation between endoscopic findings and real-time PCR analysis for Streptococcus equi subsp. equi DNA of guttural pouches in recovered strangles cases** Poster och abstract vid 10th International Conference on Equine Infectious Diseases, Buenos Aires, Argentina, 2016. *Journal of Equine Veterinary Science* 39 (2016) S96

SLUTSATSER (GÄLLANDE NYTTA MED RÅD TILL NÄRINGEN)

Med denna studie har vi uppnått vårt mål, att **tysta smittbärare för kvarka kan identifieras** och följas upp så att rätt åtgärder för att minimera smittspridning kan sättas in. Vi gjorde det genom att utvärdera upprepade nässköljprover och luftsäcksprover för PCR som diagnostiskt verktyg. Endoskopi och analys av luftsäcksprover kan anses som guldstandard men är svårtillgängligt idag i flertalet fall. Vi visade att upprepade nässköljprover kan detektera smittbärarna i många fall, men att luftsäcksprov är en ännu känsligare metod och kan ses som ett förstahandsalternativ när det är tillgängligt. Det allra bästa är att kombinera luftsäcksköljprov med nässköljprov.

Genom att vi nu också visat **hur vanligt och långvarigt det är med smittbärarskap** av *S. equi* i näshåla/svalg/luftsäckar förstår vi bättre hur kvarka sprids och att det finns en risk för smitta från symptomlösa konvalescenta hästar. Med den nya kunskapen om hur länge tyst bärarskap kan fortgå kommer vi att kunna ge bättre råd kring hantering av tysta smittbärare av kvarka. Med denna erfarenhet från hästar som behandlas konservativt eller medicinskt kan råd och prognos kring hantering ges. Denna nya kunskap kommer att hjälpa oss att kunna förhindra nya utbrott.

Genom att vi har fastställt ett **serologiskt svar hos hästar som genomgått en kvarkainfektion** och skapat ett referensmaterial av antikroppshalterna hos friska, konvalescenta, och kroniskt infekterade hästar har vi skaffat viktig ny kunskap. 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.

RESULTATFÖRMEDLING TILL NÄRINGEN

Resultaten från projektet har presenterats för näringen, hästhållare, veterinärer och forskarsamhället i ett antal publikationer (se ovan) samt presentationer på möten, radio, TV, poddar, internet och i annan kunskapskommunikation. Ett urval i tidsordning nedan. I näringens fackpress har forskningen om kvarka rönt ett stort intresse, och det är tydligt att medvetenheten om och intresset för smittspridning vid kvarka inom hästnäringen har blivit högre tack vare detta och tidigare forskningsprojekt.

Gröndahl G. **Dolda smittbärare förvärrar kvarkautbrott.** Populärvetenskaplig rapport, Stiftelsen Hästforskning, 2013 (1) 2 <http://obzone.se/shf/files/2013/02/Forskningsrapport-nr-1-2013.pdf>

Dolda smittbärare förvärrar kvarkautbrott. 2013-04-10
<http://www.hastsverige.se/Doldasmittbarareavkvarka.html>

Gröndahl G. **Kvarka sprids på flera sätt.** Hippocampusdagen 2014.

G. Gröndahl. **Diagnostics of clinical and subclinical stranglers.** Presentation vid Infection control in breeding farms, Uppsala, 2014.

Gröndahl G. **Forskare vill stoppa kvarka.** SVAvet, 2014 (2) 8-9

G. Gröndahl. **Hosta och feber smittor – om smittskydd i stallet.** Föredrag (clinic) Flyinge, 2015

G. Gröndahl. **När smittan kommer till Flyinge – SWOT-analys.** Workshop för stallchefer och distriktsveterinärer, Flyinge, 2015:

G. Gröndahl. **Frisk häst trots en omvärld full av hotande smittor – en kväll om smittskydd.** Föreläsning för hästägare, Flyingestudenter och intresserade professionella, Flyinge, 2015.

Gröndahl G. **Smittskydd i olika typer av stallar och hästhållning.** Hippocampusdagen 2016.

Smittskydd och hästhållning. Gittan Gröndahl. TV-program och webb-TV. UR Samtiden – Hippocampusdagen 2016 <https://urskola.se/Produkter/199060-UR-Samtiden-Hippocampusdagen-2016-Smittskydd-och-hasthallning>

Gröndahl, G, Melys, V, Ljung, H, Riihimäki, M, Båverud, V. **Performance of the AgA/C iELISA in horses with long term guttural pouch carriage of Streptococcus equi ss equi.** Muntlig presentation vid FEEVA Disease Surveillance group, Warszawa, 2016

G. Gröndahl. **Kvarka – hur ska vi bekämpa den mer effektivt?** Föredrag för länsveterinärer, Länsveterinärdagarna, Falun, maj 2016

G. Gröndahl. **Radiointervju om kvarka**, SR P4 Uppland direktsändning juni 2016

G. Gröndahl. **Smittskydd för hovslagare.** Föredrag för hovslagarspecialistutbildning, juni 2016

G. Gröndahl. **Hosta och feber smittar - Om smittskydd i stallet.** Föredrag för hästägare, Stockholms Ridsportförbund, augusti 2016.

G. Gröndahl. **Hosta och feber smittar - Om smittskydd i stallet.** Föredrag för ridskoleledningar, Gävleborgs Ridsportförbund och Länsstyrelsen Gävleborg, november 2016

G. Gröndahl. **Frisk häst trots en omvärld full av hotande smittor.** Föredrag för veterinärstudenter från Ungern, oktober 2016

G. Gröndahl. **Stora problem i kvarkans spår.** Intervju om kvarka för poddcasten ”Pälspodden”, Agria, september 2016: <http://www.agria.se/hast/artiklar/forskning/palspodden-avsnitt-4-stora-problem-i-kvarkans-spar/>

Gröndahl, G. **Varför man inte ska smitta ner hästar med kvarka.** SVAvet 2017-01-16. <http://svavet.sva.se/varfor-man-inte-ska-smitta-ner-hastar-med-kvarka/>

Veterinär kan neka provtagning vid misstänkt hästsmitta. 11 maj i Ridsports pappersutgåva nummer 9 - 2017. 19 maj 2017 på <http://www.tidningenridsport.se/Nyheter/Sverige/2017/5/Veterinar-kan-neka-provtagning-vid-misstankt-hastsmitta/>

SVA varnar för medveten kvarkaspridning. Ridsport 18 januari 2017

Gröndahl, G. **Kvarka, virusabort och hästinfluensa.** Föredrag för veterinärer och hästhållare, Östergötlands Ridsportförbund, Länsstyrelsen Östergötland och Distriktsveterinärerna, april 2017.

Gröndahl, G. **Kvarka, virusabort och hästinfluensa.** Föredrag för veterinärer och hästhållare, Länsstyrelsen Halland, mars 2017.

Gröndahl, G. **Kvarka.** Föredrag för veterinärer och hästhållare, Skånes Ridsportförbund, Distriktsveterinärerna Klippan och Åsbo Ryttarförening, mars 2017.

Gröndahl, G. **Smitta inte ned hästar med flit!** Intervju om kvarka, videosändning direkt och streamad, SVA, januari 2017. <https://www.facebook.com/Statens.veterinarmedicinska.anstalt/videos/1221781557857685/>

G. Gröndahl, M. Bostedt, M. Jüllig, C. Kamaterou, C. v Limburg Stirum, U. Lövdahl, E. Åsbjer. **Rapport hästsmittskyddsprojekt.** 2017