

# Slutrapport Stiftelsen Svensk Hästforskning ”Subkliniska luftvägsinfektioner hos häst”

**Projektets projekt nr H1047308**

**Rapportens författare: Viveca Båverud, Anna Aspán, Neil LeBlanc**

## **Bakgrund**

En vanlig orsak till smittsam övre luftvägsinfektion hos häst är sjukdomen kvarka orsakat av bakterien *Streptococcus equi*. I tidig infektionsfas, eller vid subklinisk eller atypisk infektion, är det svårt att skilja mellan virusorsakad infektion och kvarka (Sweeney et al., 2005). Efter att hästarna tillfrisknat finns ofta kliniskt friska smittbärare och bakterien kan gömma sig i luftsäckarna. Hur detta påverkar hästens hälsostatus eller prestation är lite studerat. Sjukdomen är anmälningspliktig i Sverige, men eftersom odlings svar ofta kan vara negativa även vid stark klinisk misstanke med symtom på kvarka, gäller anmälningsplikt även utan odlingskonfirmering. Vid ett doktorandprojekt vid SVA/SLU (finansierat av Formas och Stiftelsen Hästforskning) har diagnostiken förbättrats avsevärt genom förbättrad provtagning i fält och förbättrad diagnostik på laboratoriet, inkluderande Realtids-PCR (Lindahl et al., 2013a).

Lika intressant att studera som förekomsten av subklinisk *S. equi* är förekomsten av den mycket närbesläktade bakterien *S. zooepidemicus* som tros i vissa fall kunna ge kvarkaliknande sjukdom. *S. zooepidemicus* anses vara en opportunist som kan isoleras hos en andel friska hästar, och som kan vara orsak till luftvägssymptom t.ex. vid samtida virusinfektion (Timoney, 2004) eller vid nedre luftvägsproblem hos häst (Chapman et al., 2000). Resultat från SVA (Båverud et al., 2007) och andra forskargrupper (Webb et al., 2008) har visat att *S. zooepidemicus* är en genetiskt mycket heterogen grupp av bakterier, och vissa genogrupper verkar vara starkare kopplade till olika kliniska symtom. Detta till skillnad mot *S. equi* som är en genetiskt homogen grupp av bakterier.

2009 beviljades ett forskningsprojekt; ”Betydelsen av lågvirulenta virus och subkliniska luftvägsinfektioner hos svenska och norska travhästar” (projektnr H0947319) finansierat av Stiftelsen Hästforskning. Projektet studerar subkliniska virusinfektioner hos travhästar, deras betydelse för hästarnas hälsotillstånd och eventuella samband med prestationsnedsättningar.

Syftet med detta projekt var att ta fram verktyg för att begränsa spridningen av kvarka. Diagnostiska verktyg (serologi för antikroppar mot kvarka och molekylärbiologisk analys av kvarkastammar) utvärderades för att åstadkomma begränsning av smittspridning under och efter utbrott. Målet för detta projekt sammanfaller också med målen för virusprojektet ”Betydelsen av lågvirulenta virus och subkliniska luftvägsinfektioner hos svenska och norska travhästar” men nu med inkluderande av *S. equi* och *S. zooepidemicus* som differentialdiagnoser, för att få en så fullständig bild som möjligt av subklinisk infektionsdynamik hos prestationsnedsatta travhästar. Ett mål var också att etablera ett system för att påvisa de viktigaste infektiösa (viral och bakteriella) luftvägspatogenerna i Sverige vid point of care (i stallet) eller vid en hästklinik.

Detta projekt består av tre olika delar **I) Utökad diagnostik och smittspårning av kvarka, II) Betydelsen av kvarka vid subkliniska luftvägsinfektioner hos travhästar, och III) Utveckling, fastställande och etablering av Point of care (POC) och förenklad klinisk diagnostikplattform i stall och hästkliniker för luftvägspatogener.**

## **Delprojekt I) Utökad diagnostik och smittspårning av kvarka**

I detta delprojekt utvärderades nya diagnostiska verktyg såsom serologi för antikroppar mot kvarka och molekylär typning av *S. equi*-stammar med sekvensering av genen för SeM för smittspårning av kvarka för att åstadkomma begränsning av smittspridning under och efter kvarkautbrott.

### **Material och metoder**

#### **Serologi för antikroppar mot kvarka**

En serologisk indirect enzyme linked immunosorbent assay, iELISA-metod sattes upp vid SVA för analys avseende antikroppar mot *S. equi*. Metodiken hämtades hem från Animal Health Trust, Newmarket, England (Robinson et al., 2013). Antigen (AgA och AgC) och kontroller levererades från Newmarket. Som positiva kontroller i vår analys användes sera från svenska hästar som analyserades i England. Ett antal prover från svenska hästar, både misstänkt positiva och misstänkt negativa, analyserades både i Newmarket och vid SVA för att testa så att vi fick samma resultat. En nära kontakt etablerades med Dr Andrew Waller och Carl Robinson, Newmarket.

Följande prover analyserades avseende antikroppar mot *S. equi*:

- a) Serumprover från **hästar med kliniska symtom** på kvarka från stall med verifierade kvarkautbrott. Hästar ( $n=42$ ) provtogs från sex olika stall med verifierade utbrott.
- b) Serumprover från **hästar som tillfrisknat efter kvarkautbrott**. 98 hästar av olika ras (islandshäst, varmblodig ridhäst, ponny, arabiskt fullblod), ålder och kön från fem olika stallar provtogs inom projektet ”Stoppa smittspridningen av kvarka - en studie av tysta smittbärare av *Streptococcus equi*” (H1147203). De flesta hästar provtogs vid flera tillfällen.
- c) Serumprover från **hästar som visade kvarka-liknande symtom** med smittbarhet till andra hästar men där endast *S. zooepidemicus* påvisades. Från ett stall provtogs 17 hästar, med från början misstänkt kvarka, vid två tillfällen med en månads mellanrum.
- d) Serumprover från **friska hästar**. 64 friska hästar av varierande ålder och ras (islandshäst, ponny, varmblodig ridhäst, arabiskt fullblod) provtogs inom H1147203. Ytterligare analyserades 279 serumprov från friska varmblodiga travhästar inom delprojekt II i detta projekt, se nedan.

#### **SeM-typning - Molekylär typning av *S. equi* med sekvensering av genen för SeM**

*Streptococcus equi*-stammar från svenska utbrott samlades in vid SVA och från tre externa laboratorier under ett års tid. Vidare användes *S. equi*-stammar som fanns sparade i SVAs biobank.

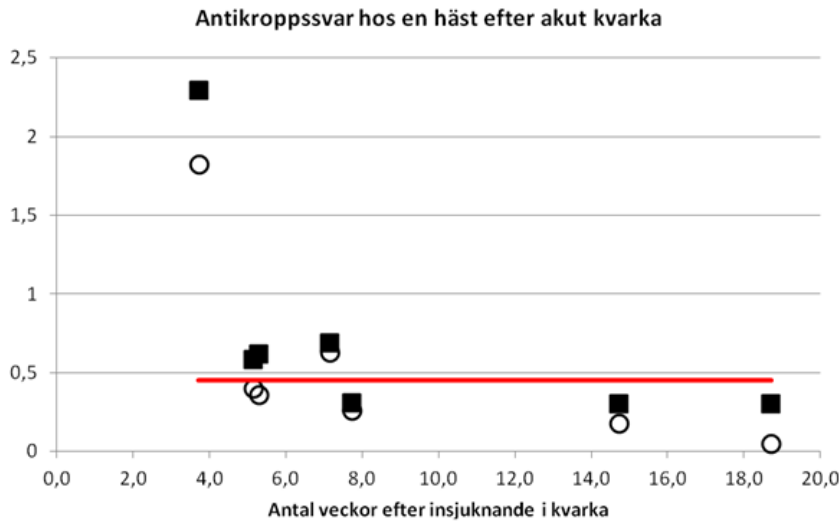
En metod för sekvensering av genen för SeM-proteinet sattes upp inom projektet. Genen för SeM-proteinet sekvenserades hos de isolerade *S. equi*-stammarna från svenska hästar. Resultat jämfördes mellan isolat och korrelerades med geografiska områden och olika utbrott i Sverige och med en internationell databas (<http://pubmlst.org/zooepidemicus/seM/>).

### **Resultat**

#### **Serologi för antikroppar mot kvarka**

En iELISA-metod för att analysera blodprov avseende antikroppar mot *S. equi* sattes upp vid SVA. Prover skickades initialt till Newmarket och analyserades både vid SVA och Newmarket. Vi fick rätt värden för kontroller, och prov som analyserades vid Newmarket gav i stort sett samma resultat vid SVA.

- a) **Hästar med kliniska symtom** på kvarka. Prover från 16/42 hästar visade en positiv antikroppstiter för *S. equi*.
- b) **Hästar som tillfrisknat efter kvarkautbrott**. Efter att hästar hade tillfrisknat efter kvarkautbrott var antikroppstitrarna för *S. equi* ofta positiva, vilket var förväntat. Vissa av dessa hästar var subkliniska smittbärare av kvarka. Titern klingade i de flesta fall av under månaderna efter sjukdomsutbrottet (Fig. 1).



**Fig. 1.** Antikroppssvar mot *Streptococcus equi* hos en häst efter akut kvarka (fylld fyrkant, antigen A; ofylld cirkel, antigen C). Den röda linjen indikerar cutoff-värde för positivt antikroppssvar (OD 0,45). Hästen visade kliniska symtom i fem dagar och hölls enskilt isolerad. *S. equi* kunde inte längre påvisas med PCR i nässvalprov eller luftsäcksprov fyra veckor efter insjuknandet.

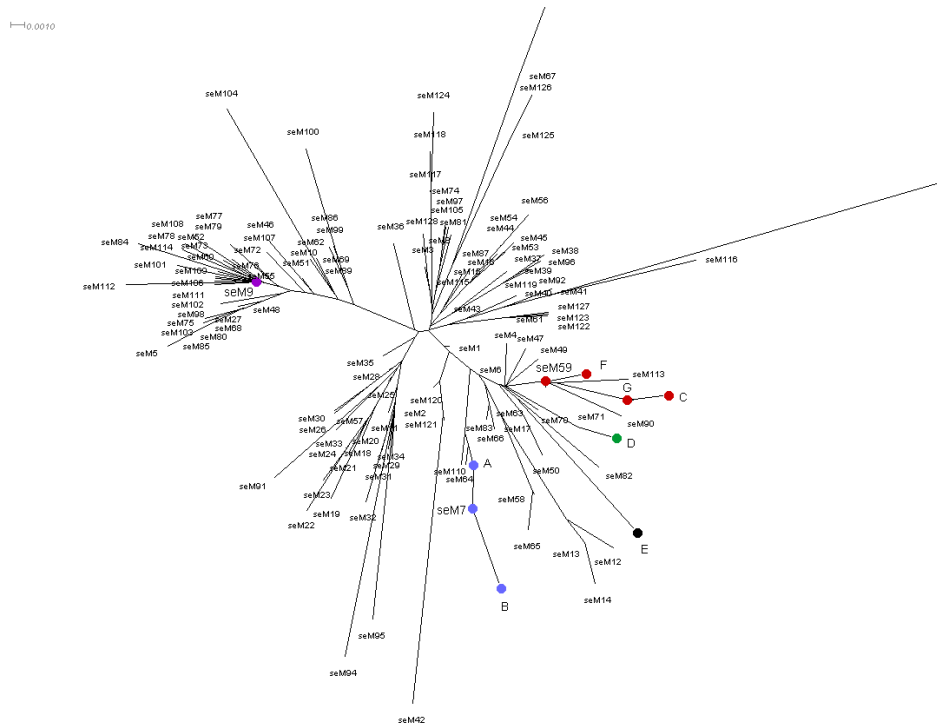
- c) **Hästar som visade kvarka-liknande symtom** men hos vilka endast *S. zooepidemicus* påvisades hade inga antikroppar mot *S. equi*. Serologisk undersökning med negativt resultat visade att hästarna ej utsatts för *S. equi* och därmed inte hade kvarka och kunde friförklaras. Vid odling och PRC var samtliga prov också negativa avseende *S. equi*.
- d) **Friska hästar** från besättningar utan historia av kvarka var sällan positiva för antikroppar mot *S. equi* då 60 av 64 friska hästar av varierande ras inte hade antikroppar.

För varmblodiga travhästar: se delprojekt II nedan.

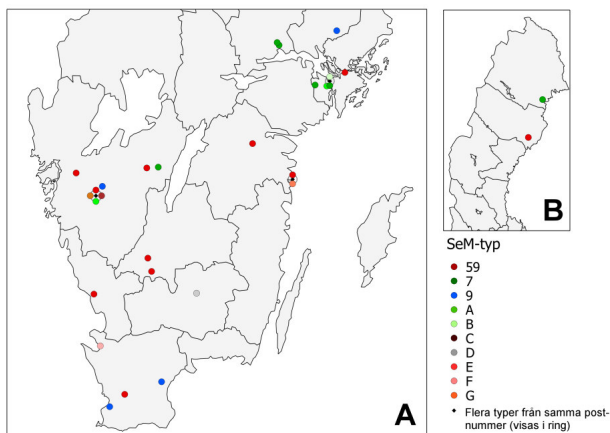
Ytterligare bearbetning pågår avseende de serologiska resultaten för publicering i refereegranskad internationell tidskrift.

#### **SeM-typning - Molekylär typning av *S. equi* med sekvensering av genen för SeM**

Inom projektet uppsattes och utvärderades metod för molekylär typning av *S. equi* genom sekvensering av genen för SeM. Metoden, inkluderande figurer med resultat som visar variation mellan svenska stammar för SeM, publicerades (Lindahl et al., 2011). Ytterligare bearbetning av senare resultat pågår för publicering.



**Fig. 2.** Fylogenetiskt träd ("neighbor joining") av de SeM-sekvenser som observerades hos hästar som provtogs i studien (färgade ifyllda cirklar), samt som referens alla SeM-typer som fanns tillgängliga i pubmlst-databasen i December 2013. SeM-59 var den vanligaste typen hos svenska hästar under den aktuella perioden, och tycks också ha gett upphov till tre nya, närbesläktade varianter (C,F,G). På samma sätt tycks A och B vara nära besläktade med den tidigare kända typen SeM-7.



**Fig. 3.** Geografisk förekomst av olika SeM-typer i södra Sverige (A) samt norra Sverige (B). Kartpunkterna är ungefärliga och baserade på postnummer. Där flera observationer gjorts i samma postnummerområde har platsen indikerats med en svart markör, medan isolaten från postnumret visas i en grå ring centrerad runt markören.

### Doktorand

Med stöd från Formas och Stiftelsen Hästforskning har under 2013 en avhandling försvartats där ny svensk forskning nu gör det möjligt för första gången i världen att påvisa *S. equi* hos 90% av hästar med symtom i verifierade kvarkautbrott mot tidigare ca 40%. Delprojekten

inom detta projekt, som ej sökts för hos Formas, har medverkat till att kunna fördjupa doktorandprojektet för att få en tydligare bild av *S. equi* och *S. zooepidemicus* och för att ge framtida rekommendationer för att förhindra spridning av kvarka.

## **Diskussion**

Serologi för kvarka har utvärderats i England och föreslås som ett värdefullt hjälpmedel för screening av hästars exponering för *S. equi*. Metoden uppges ha bra sensitivitet och specificitet (Robinson et al., 2013). Denna metod sattes upp vid SVA och utvärderades i detta projekt. För första gången kan vi nu visa att friska hästar från besättningar utan historia av kvarka var sällan positiva för antikroppar mot *S. equi*. Det är en viktig information i fortsatt arbete med kvarka. Hästar med kliniska symtom på kvarka hade i ca 40% av fallen hunnit bilda antikroppar mot *S. equi* under den akuta sjukdomsfasen. I nuläget vet vi inte säkert hur lång tid det tar att bilda antikroppar vid akut sjukdomsskede. Serologi för *S. equi* kan vara ett värdefullt verktyg vid smittspårning t.ex. för att söka efter exponerade hästar bland nyinköpta hästar eller vid ett utbrott. Serologi kan även användas för att utesluta kvarka och därmed friförklara stall vid kvarka-liknande sjukdom orsakat av *S. zooepidemicus*.

Nya verktyg för molekylär smittspårning av kvarka har beskrivits (Kelly et al., 2006), och vi har funnit att gruppering av isolerade kvarkabakterier baserat på sekvensskillnader hos genen för SeM fungerar bra för att identifiera samband mellan utbrott i olika stall och med utlandet. Metoden har publicerats (Lindahl et al., 2011) och de senaste resultaten kommer att utvärderas ytterligare före publicering.

## **Delprojekt II) Betydelsen av kvarka vid subkliniska luftvägsinfektioner hos travhästar**

Målsättningen med detta projekt var att undersöka förekomst av *S. equi* och *S. zooepidemicus* hos travhästar och ytterligare stärka analysen av dessa patogeners inverkan på hästars prestationsförmåga.

### **Material och metoder**

Totalt samlades 672 prover in från 66 varmblodiga travhästar i träning från fyra olika travstall under 13 månader med provtagning en gång per månad inom projektet (H0947319).

### **Real-tids PCR för påvisande av *S. equi* och *S. zooepidemicus***

Nässvabbprover ( $n=672$ ) från 66 varmblodiga travhästar analyserades avseende förekomst av *S. equi* och *S. zooepidemicus* med real-tids PCR enligt Båverud et al. (2007).

### **Serologi för antikroppar mot kvarka**

Ett urval ( $n=279$ ) av blodprover från varmblodiga travhästar analyserades av Animal Health Trust med serologisk analys avseende förekomst av antikroppar för *S. equi*. Proverna togs vid fem provtagningstillfällen: månad 0, 1, 4, 8 och 12.

### **Molekylär typning av *Streptococcus zooepidemicus* - sekvensering av SzP-protein genen**

Från prov som var positiva för *S. zooepidemicus* gjordes molekylär typning genom sekvensering av SzP-protein-genen med metod enligt Lindahl et al. (2013).

## **Resultat**

### **Real-tids PCR för påvisande av *S. equi* och *S. zooepidemicus***

Samtliga nässvabbprover ( $n=672$ ) var negativa avseende *S. equi* och 74 (11%) prov var positiva för *S. zooepidemicus* med real-tids PCR.

### **Serologi för antikroppar mot kvarka**

Antikroppar för *S. equi* påvisades inte i 273 av 279 analyserade prov från varmblodiga travhästar. Låga nivåer av antikroppar påvisades i sex prov som kom från fyra olika hästar varav två av hästarna var positiva i två prover.

### **Molekylär typning av *Streptococcus zooepidemicus* - sekvensering av SzP-protein genen**

Utvärdering pågår av resultat från sekvensering av SzP-protein genen från *S. zooepidemicus* för att studera huruvida samma stam upprepat återkommer inom besättningen eller nya stammar introduceras efter hand. Resultaten kommer att publiceras.

### **Analys i databas**

Resultaten bearbetades i en databas där prestationsnedsättning hos varmblodiga travhästar studerades (projekt H0947319). Det fanns inte någon korrelation mellan fynd av *S. zooepidemicus* och nedsatt prestation (skattad av tränaren) eller nedsatt prestation vid arbetsprov med sulky (över mjölksyrainivå).

### **Diskussion**

Alla nässvabbprov från varmblodiga travhästar var som förväntat negativa avseende *S. equi* eftersom inget stall drabbades av kvarkautbrott under den aktuella provtagningstiden. Vi fann att 11% (74/672) av proverna var positiva för *S. zooepidemicus* och det är i överensstämmelse med en svensk studie där 7 % av friska hästar vara bärare av *S. zooepidemicus* i näshålan (Hansson et al., 2012).

Vid serologisk undersökning för antikroppar mot *S. equi* var så gott som alla prover (273/279) från varmblodiga travhästar negativa. Det är viktig information att i stall utan historik av kvarka har de flesta hästar i Sverige inte antikroppar mot kvarka. Förvånande fick vi dock svagt förhöjda serologiska titrar mot *S. equi* för sex (av 279) hästar. Vi vet inte vad detta kan bero på eftersom stallen inte haft kvarkautbrott under den aktuella provtagningstiden. Vi kan i nuläget inte förklara detta.

Vi har i detta projekt tittat efter samband mellan påvisande av *S. equi* eller *S. zooepidemicus* och prestationsnedsättning hos varmblodiga travhästar i träning. *S. equi* kunde inte påvisas. Inga samband kunde ses mellan fynd av *S. zooepidemicus* och prestationsnedsättning.

## **Delprojekt III) Utveckling, utvärdering och etablering av Point of care (POC) och förenklad klinisk diagnostik-plattformar för luftvägspatogener i stall och på hästkliniker - Clinical Diagnostic Platform for Equine Respiratory Pathogens**

### **Background**

The early detection of respiratory disease is important for successful isolation and treatment of infected animals to minimize the exposure of the population, days lost in training, racing, showing or poor performance, which often is the greatest cost. We proposed to establish a system to detect the most important infectious (viral and bacterial) respiratory pathogens in Sweden at point of care or at a normal equine clinic. The pathogens directly investigated included five viruses: Equine Herpes 1, Equine Herpes 4, Equine Arteritis, Equine Rhino B, Equine Influenza - as well as three bacteria: *Streptococcus equi*, *Streptococcus zooepidemicus*, and *Rhodococcus equi*.

## Materials and Methods

Both isothermal (one reaction temperature) and real-time PCR (thermocycling) were considered. Commercial partners were sought to help develop suitable assays. Sample preparation follows the normal swabbing procedure recommended (e-swab) and is now synchronized for both viral and bacterial respiratory pathogens. The effort diverged into setting up two platforms, one completely portable and the other for stationary use. Fig. 4. displays detection equipment with which several extraction instruments were also investigated: Nordiag Arrow, Kingfisher Duo, Qiagen EZ-1, Dynal BeadRetriever, Life Technologies MagMax Express, Life Technologies Pathatrix. Fig. 5 shows a combined extraction and detection platform tested in this study.

**Fig. 4. Detection instruments investigated for use in point of care platform for equine respiratory pathogens**

Tetracore T-COR 4   Optigene Genie II   Cepheid SmartCycler   Simple heating block   Thermo PikoReal



## Results

The assay format decision was based on experience with isothermal and real-time PCR and discussions with potential commercial partners, primarily isothermal developer Optigene Ltd. and Tetracore Inc. Real-time PCR was selected as the assay format, being the dominant format used in molecular diagnostics and conversion of assays from routine diagnostics at SVA was possible. It was determined that design of the loop-mediated isothermal amplification assays (LAMP) was complicated and difficult with the more variable targets. In our experience, LAMP assays were no easier to use, the equipment that would be required was comparable, not cheaper (Fig. 4) and it was not significantly faster.

**Fig. 5. Combined extraction and detection instrument:**

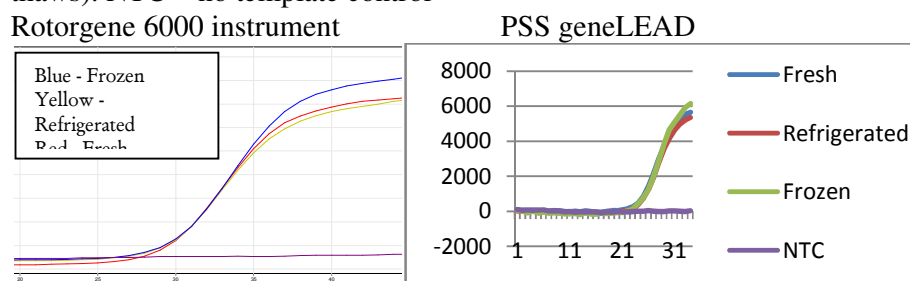
PSS geneLEAD 1



For the TCOR 4 and the SmartCycler, assays could be run as is since each reaction well was an individual thermocycler. For the others and to try to simplify any future process chain, all the assays were tested in a standard format using the Life Technologies AgPath-ID™ One-Step RT-PCR Kit, which allows one thermocycling procedure for all assays. The testing revealed that all assays could be run successfully using the AgPath ID kit. Storage tests for pre-mixed assays, both refrigerated and frozen, showed such formats were a viable way to provide easy to use kits, with no loss of function (Fig. 6).

**Fig. 6.** Real-time PCR results for storage testing for ready-to-use reaction mixes for equine influenza (AgPath ID kit) at +6°C and -18°C. Extraction was performed on PSS geneLEAD; real-time PCR was performed on both the PSS geneLEAD and Rotogene 6000.

*After 6 days frozen and refrigerated* (same reagent tubes used, so multiple uses and freeze thaws). NTC = no template control



Tetracore Inc. signed on as a development partner contributing funding and support for producing kits. This includes dry assays, which do not need cold transport or storage. A prototype dried universal influenza assay produced by Tetracore Inc. has been successfully tested. Extraction robots and detectors were tested in a variety of combinations. While capable, a major flaw is that they were not truly designed for the clinical or field setting, even though they were often billed as such. The best working ‘portable’ system that could be established involved using pre-mixed assays, the T COR 4 and manual extraction. This was truly portable, however extraction required laboratory-type activity. This is suitable for research but not for routine clinical or veterinary field visits. Collaboration established in this project means efforts with commercial partners will continue. For clinical platforms, the fact that equipment was not designed for such use but simply smaller versions of laboratory equipment, which can make running tests more difficult not simpler, impeded potential to integrate into veterinary practice. The potential for a successful clinical platform increased significantly after the recruitment of a commercial partner, Precision Science Systems Co., Ltd (PSS). Their geneLEAD prototype instrument (Fig. 5) performs extraction and detection with no manual activity from the user after the sample is loaded on the instrument. The PSS instrument and ready-to-use reagents performed on par with standard routine methods.

## Discussion

The platforms developed in this project were aimed at producing systems that were completely portable as well as a more stationary platform designed for use in clinics, large stables etc. A stream-lined sampling process for equine respiratory viral and bacterial pathogens exists, so the first step is harmonized. The assays have been synchronized and tested in ready-to-use format, a vital step for use in clinics or the field. An arrangement with Tetracore Inc. has provided funding, equipment and development support, which will allow efforts in test kit and portable platform development to continue. PSS has expressed interest in continuing collaboration and has agreed to provide updated instruments. We have provided input to PSS on geneLEAD configuration and new prototypes from PSS will be more suitable; taking up to twelve samples and allowing more than one assay per sample. In this project, the development did not reach a stage where platforms were deemed ready for use by the targeted end users; however, significant progress was made in the design and assembly of platforms and the identification of the essential aspects needed to allow molecular testing for equine respiratory pathogens in a veterinary setting to become a reality. The equine clinic at SLU has committed to being a testing facility when such platforms are ready. It is anticipated



that a subsequent step would be a larger validation in other settings and finally a commercial platform to serve the equine community.

## Conclusions

Technology is now becoming available that will transform the type of testing that is possible in standard veterinary practice. Although in the larger sense, this is simply part of the continuing evolution in the progress in veterinary medicine, the sophistication of the molecular biological tools that will escape the laboratory and make into the hands of routine veterinary practice is unprecedented.

## Slutsatser (gällande nytta med råd till näringen)

- Serologi för *S. equi* kan vara ett värdefullt verktyg vid smittspårning t.ex. för att söka efter exponerade hästar bland nyinköpta hästar eller vid ett utbrott. Serologi kan även användas för att utesluta kvarka vid kvarka-liknande sjukdom orsakat av *S. zooepidemicus*. Parprov kan krävas vid vissa frågeställningar. Sensitiviteten för antikroppssvar vid olika tidpunkter efter sjukdom kvarstår att utreda.
- Släktskap mellan stammar av *S. equi* kan identifieras med hjälp av SeM-typning och kan vara värdefullt för att övervaka kvarkaläget i Sverige och omvärlden.
- Fynd av *S. zooepidemicus* har i denna studie ej kunnat kopplas till prestationsnedsättning hos travhästar i träning.
- Tidig detektion av kvarka och andra luftvägspatogener är viktigt för framgångsrik begränsning av ett utbrott och därmed minska lidandet för hästar och användandet av antibiotika och ekonomiska konsekvenser för näringen. Utvecklingen för att ta fram diagnostik som kan användas i fält fortsätter.

## Resultatförmedling till näringen

- En rad föredrag för ridskolor, hästklubbar, veterinärer och veterinärstudenter har hållits, t.ex. Rätt test på häst för veterinärer i Stockholm och Uppland, SVAs forskningsdag, seminarium SLU, föreläsning vid EEF-kurs, hästmedicin, SLU.
- I samband med provtagning i stall med kvarkautbrott och subklinisk kvarka har frågor från många hästägare diskuterats vid besök och telefonkonsultation.
- Artikel i tidningen Ridsport 30/2013:  
<http://www.tidningenridsport.se/Nyheter/Sverige/2013/9/Battre-diagnostisk-metod-av-kvarka/>
- Artikel i Ridsport nummer 20/2013 sid 8.
- Blog om kvarka-liknande symtom orsakat av *S. zooepidemicus*.  
<http://aseericson.wordpress.com/?s=kvarka>
- SVA's web om detta projekt: Subkliniska luftvägsinfektioner hos häst:  
<http://www.sva.se/sv/Forskning-och-produkter/Aktuella-forskningsprojekt/Subkliniska-luftvagsinfektioner-hos-hast/>
- Avhandling av Susanne Lindahl. Disputation 3013-10-04: <http://www.sva.se/sv/Mer-om-SVA1/Pressrum/Nyheter-fran-SVA/Ny-diagnostik-stod-vid-analys-av-kvarka/>
- Information om provtagning vid kvarka på SVA's externa web:  
<http://www.sva.se/sv/Djurhalsa1/Hast/Luftvagssjukdomar/?lid=25057>

## Publikationer inom detta projekt

Gröndahl G, Båverud V, Riihimäki M och Aspán A. *S. equi* serology in Swedish horses. Manuskript.  
LeBlanc, N. Development, assessment and establishment of Point of Care (POC) and Simplified Clinical (SC) Diagnostic Platforms for Respiratory Pathogens in Stables and Equine Clinics. SVA VIP dept. Research Day, September 27, 2013, Hotel Linné, Uppsala, Sweden. Muntlig presentation.

- LeBlanc, N. Research activities of the Molecular and Serological Diagnostic Development Group. United Nations Food and Agriculture Organization (FAO) Workshop on innovations and technologies for diagnostic purposes, November 6, 2013, Kiev, Ukraine. [Keynote oral presentation](#).
- Lindahl Susanne. Avhandling: “*Streptococcus equi* subsp. *equi* and *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus*. Upper Respiratory Disease in Horses and Zoonotic Transmission to Humans. Doctoral Thesis” Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala 2013. ISSN 1652-6880. ISBN (print version) 978-91-576-7844-7. ISBN (electronic version) 978-91-576-7845-4. © 2013 Susanne Lindahl, Uppsala. Print: SLU Service/Repro, Uppsala 2013. Acta Universitatis Agriculturae Sueciae 2013:53. [http://pub.epsilon.slu.se/10797/1/lindahl\\_s\\_130916.pdf](http://pub.epsilon.slu.se/10797/1/lindahl_s_130916.pdf)
- Lindahl S, Söderlund R, Frosth S, Pringle J, Båverud V, Aspán A. Tracing outbreaks of *Streptococcus equi* infection (strangles) in horses using sequence variation in the seM gene and pulsed-field gel electrophoresis. *Vet Microbiol*. 2011 Nov 21;153(1-2):144-9. Epub 2011 Mar 30.
- Lindahl, S, Aspán, A, Pringle, J, Egenvall, A, Båverud, V. Detection of *S. equi* by PCR. Getting to grips with strangles. May 27-28, 2010, Ulfsunda, Stockholm, Sweden. [Muntlig presentation](#).
- Lindahl S, R. Söderlund, V. Båverud, J. Pringle, A. Aspán. Mapping Swedish outbreaks of *S. equi* infection (strangles) in horses using the SeM gene. 1st Prato Conference on the Pathogenesis of bacterial diseases of animals. Oct, 2010, Prato, Italy. Poster.
- Lindahl, S. Kvarka i Sverige – regler, anmälan, provtagning och vad händer sedan? Veterinärkongressen 2011, Uppsala. [Muntlig presentation](#).

## Referenser

- Båverud, V., Johansson, S.K., Aspan, A., 2007. Real-time PCR for detection and differentiation of *Streptococcus equi* subsp. *equi* and *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. *Vet. Microbiol*. 124, 219–229.
- Chapman PS, Green C, Main JP, Taylor PM, Cunningham FM, Cook AJ, Marr CM. Retrospective study of the relationships between age, inflammation and the isolation of bacteria from the lower respiratory tract of thoroughbred horses. *Vet Rec*. 2000, 22;146:91-5.
- Kelly C, Bugg M, Robinson C, Mitchell Z, Davis-Poynter N, Newton JR, Jolley KA, Maiden MC, Waller AS. Sequence variation of the SeM gene of *Streptococcus equi* allows discrimination of the source of strangles outbreaks. *J Clin Microbiol*. 2006 Feb;44(2):480-6.
- 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. 2013a.
- Lindahl SB, Aspán A, Båverud V, Paillot R, Pringle J, Rash NL, Söderlund R, Waller AS. Outbreak of upper respiratory disease in horses caused by *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* ST-24. *Vet Microbiol*. 2013 Sep 27;166(1-2):281-5. 2013b.
- Lindahl S, Söderlund R, Frosth S, Pringle J, Båverud V, Aspán A. Tracing outbreaks of *Streptococcus equi* infection (strangles) in horses using sequence variation in the seM gene and pulsed-field gel electrophoresis. *Vet Microbiol*. 2011 Nov 21;153(1-2):144-9. Epub 2011 Mar 30.
- Robinson C, Steward KF, Potts N, Barker C, Hammond TA, Pierce K, Gunnarsson E, Svansson V, Slater J, Newton JR, Waller AS. Combining two serological assays optimises sensitivity and specificity for the identification of *Streptococcus equi* subsp. *equi* exposure. *Vet J* 2013 Aug;197(2):188-91. doi: 10.1016/j.tvjl.2013.01.033.
- Sweeney CR, Timoney JF, Newton JR, Hines MT. *Streptococcus equi* infections in horses: guidelines for treatment, control, and prevention of strangles. *J Vet Intern Med*. 2005 Jan-Feb;19(1):123-34.
- Timoney, J.F., 2004. The pathogenic equine streptococci. *Vet. Res*. 35, 397-409.
- Webb K, Jolley KA, Mitchell Z, Robinson C, Newton JR, Maiden MC, Waller A. Development of an unambiguous and discriminatory multilocus sequence typing scheme for the *Streptococcus zooepidemicus* group. *Microbiology*. 2008 Oct;154(Pt 10):3016-24.