

AGNETA OLOFSSON, leg veterinär, vik distriktsveterinär,
CHRISTER BERGSTEN, VMD, docent och HELEN BJÖRK AVERPIL, leg veterinär.*

Tema klövhälsa, del 1

Smittsam klövsjukdom hos får diagnostiserad för första gången i Sverige

Fotröta är en allvarlig klövsjukdom hos får i länder med intensiv fårskötsel. Kliniska symtom på fotröta och den bakterie (*Dichelobacter nodosus*) som orsakar fotröta påvisades hösten 2004 i en fårbesättning i västra Sverige och därmed har en ny smittsam fårsjukdom diagnostiserats i landet.



granskad artikel

INLEDNING

Som en del av ett veterinärt examensarbete om klövhälsa hos får undersöktes eventuell förekomst av smittsamma klövsjukdomar i Sverige. Under våren 2004 efterlystes besättningar med akuta hältproblem, bland annat i fårhälsovårdens tidning Fårhälsonytt (1/2004) och i en landsomfattande enkätundersökning vid Länsstyrelsen i Värmland. Kontakt etablerades med misstänkta besättningar och i några fall var telefonkontakt tillräckligt för att utesluta allvarlig smittsam klövsjukdom. Besättningsbesök och obduktioner av klövar från slaktade djur gjordes också. I två besättningar diagnostiserades fotröta kliniskt och därefter bakteriologiskt. Det har funnits misstankar om att fall av fotröta förekommit i Sverige men sjukdomen har tidigare inte diagnostiserats i vårt land.

Fotröta (engelska: foot-rot) är en nekrotiserande inflammation i klövspalt och klövhorn hos får som är vanligt förekommande i alla viktigare fårprodu-



FIGUR 1. Smärtan i framklövarna vid fotröta är ofta så kraftig att drabbade djur söker avlasta berörda ben, exempelvis genom att ligga på framknäna och äta.

cerande länder världen över. Fotröta kan förutom får även drabba get och andra mindre idisslare och är under speciella miljöförhållanden mycket smittsam, morbiditeten kan uppgå till 100 procent i en smittad besättning. Sjukdomen orsakar kraftig smärta och hälta hos drabbade djur och kan därför leda till stora ekonomiska och djurskyddsmässiga problem om den blir befäst i en besättning. Fotröta har inte tidigare beskrivits i svensk litteratur.

KLINISKA SYMTOM

Inom samma besättning kan symtomen variera från eksem i klövspalten till

avlossning av klövhornet. Sjukdomen börjar som ett yligt eksem i klövspalten och liknar då infektion med *Fusobacterium necrophorum* (6). Huden mellan klövarna kan vara öm och rodnad och eksemet fuktar, vilket ger ett glänsande intryck. Fotröta har en stark och karakteristiskt sötaktig och unken lukt. Foten kan kännas varmare än normalt men kroppstemperaturen är normal. Eksemet kan orsaka hårlossning i klövspalten. I senare stadium går huden i klövspalten i nekros och även det mjuka hornet vid ballar och sula luckras upp. I allvarliga fall kan kontakten mellan klövvägg och underliggande läderhud helt brytas ➤

- ned, så att hela klövkapseln blir underminerad. Smärtan är ofta så kraftig att drabbade djur söker avlasta berörda ben, exempelvis genom att ligga på framknäna och äta, varvid tryckskador kan uppstå (Figur 1). Den främsta differentialdiagnosen är klövspaltinflammation. Hos får med klövspaltinflammation är dock infektionen helt lokaliserad till klövspaltens hud och underliggande vävnad och djuret har feber (8).

BAKTERIOLOGI OCH RISKFAKTORER

Fotröta orsakas av en saminfektion av *Dichelobacter nodosus* och *F necrophorum* (1), och diagnosen bör bara användas då den hos får specifikt fotröteframkallande bakterien *D nodosus* påvisats. Hos nöt däremot, anses *D nodosus* endast orsaka det lindrigare klövspalteksmet (5). Tidigare har "klövröta" ibland använts som ett begrepp för flera liknande sjukdomstillstånd i klövarna hos får utan att diagnosen verifierats bakteriologiskt.

D nodosus är ingen naturligt förekommande tarmbakterie utan etableras på de av fotröta drabbade klövarna. Beroende på miljöbetingelserna kan bakterien i en smittad besättning finnas på klövarna under långa perioder utan att sjukdomen utvecklas. Smitta mellan besättningar sker i regel med inköpta djur och djuren smittar varandra genom den yta de går på. Bakterien är obligat anaerob, och kan bara överleva en kortare tid utanför sin värd. Den har under gynnsamma miljö- och smittbetingelser rapporterats kunna smitta djur på bete i upp till tio dagar efter det att smittade djur tidigare funnits där (1).

Fotröta med klövkapselavlossning uppkommer först när de interagerande bakterierna *D nodosus* och *F necrophorum* får verka under för dem optimala miljöförhållanden som fukt och värme (1). Om huden i klövspalten är uppluckrad och försvagad av väta, och klövspalteksmet och *D nodosus* finns närvarande, ökar risken för att fotröta tillstöter i en smittad besättning. I en studie i England och Wales visade Wassink och medarbetare (7) att förekomst av klövspalteksmet signifikant ökade risken för fotröta. I samma studie visades också att isolering och undersökning/behandling av nyanlända får innan



FIGUR 2. Fyra halta djur undersöktes närmare varav tre hade förändringar som kliniskt överensstämde med fotröta.

de fördes in i den befintliga flocken var förenat med en lägre förekomst av fotröta.

Likheter mellan får och nöt

D nodosus isolerades från klövarna hos nötkreatur i Sverige redan 1981 (5). Dessa djur hade klövspalteksmet, men inga tecken på inflammation av djupare strukturer. Omfattningen av förekomst av *D nodosus* hos nötkreatur är i dagsläget inte känt. Det är inte heller känt hur stor risken är för smittspridning från nöt till får, eller från får till nöt, vid samlokalisering.

Klövspalteksmet anses vara ett förstadium till klövröta hos nöt. Den horndestruktion i sulan och i allvarliga fall även längs väggen, som ses hos får med fotröta verkar inte förekomma hos nöt. Däremot kan underminering av ballhornet ses vid så kallad smittsam klövröta eller kronrandseksem (4), vilket kliniskt skulle kunna jämföras med fotröta hos får. Sulan hos får är betydligt mjukare än hos nöt, vilket skulle kunna förklara att det mjukare ballhornet hos nöt lättare angrips och undermineras i samband med någon form av dermatit. Emellertid har spiroketer identifierats vid kronrandseksem, vilket hos nöt likställs med diagnosen digital dermatit (3). Stora likheter i epidemiologin och kliniken finns också med digital dermatit hos nöt och fotröta hos får men vid digital dermatit är inte underminering

av hornet det främsta kliniska problemet. Digital dermatit förekommer också hos får som contagious ovine digital dermatitis (CODD) eller severe virulent ovine footrot (SVOFR) och det kvarstår mycket forskning innan samband och smittvägar mellan de olika sjukdomarna och mellan djurslagen kartlagts (2).

FALLBESKRIVNING

I slutet av oktober 2004 kontaktades SLU i Skara av en distriktsveterinär för hjälp med utredning av ett akut hältproblem i en fårbesättning i Västra Götaland. Besättningen var nystartad sedan 2003 och bestod av 110 gotlandsfår, vuxna djur och lamm. Moderdjuren var inköpta från fem olika besättningar i Sverige och några baggar var inköpta på baggauction. På gården fanns även nötkreatur för köttjursuppfödning. Fåren hade haft återkommande hältproblem av olika allvarlighetsgrad sedan försommaren. Enstaka djur behandlades vid olika tillfällen i juni och augusti 2004 med långtidsverkande oxitetracyklin (Tetroxy[®] prolongatum, Ceva Vetpharma) mot misstänkt klövspaltinflammation. När djuren samlades ihop inför betäckningssäsongen och slutgödningen av lammen ökade insjuknandefrekvensen av halta djur. Enligt djurägaren blev under hösten flera djur halta inom kort tid, vilket föranledde misstanke om annan smittsam klövssjuk-

dom än klövspaltinflammation. Hältan bedömdes då också som allvarligare än tidigare. Vid veterinärens besök hade klövskador noterats, men de verkade till utseendet skilja sig från klövspaltinflammation.

Två av författarna (AO och CB) besökte besättningen strax därefter. Såväl enskilda slaktlamm (bagglamm) som tackor och tacklamm visade hälta. Fyra halta djur undersöktes närmare varav tre hade förändringar som kliniskt överensstämde med fotröta (Figur 2). Klövskadorna karaktäriserades av eksem i klövspalten i kombination med en nekrotiserande inflammation av ballar och sula. Klövläderhuden på ballar och sula var blottlagd i olika omfattning, med ett inflammerat rött eller blekt utseende. Den frilagda läderhuden började lätt blöda vid beröring och smärtan hos drabbade djur var påtaglig (Figur 3). De makroskopiska förändringarna och lukten bedömdes vara karaktäristiska för fotröta, varför diagnosen ställdes kliniskt. Lokalbehandling med klor-tetracyklin (Cyclospray vet, Novartis, licenspreparat) påbörjades. Vid kontakt med djurägaren efter ett par dagar hade de tre djuren svarat väl på behandlingen, de hade blivit ohalta inom ett till två dygn efter behandling.



FIGUR 3. Typiskt utseende hos en klöv med fotröta. Den frilagda läderhuden ömmar och blöder.

Provtagning för anaerob bakteriell odling gjordes på ett av djuren med misstänkt fotröta. Provsvaret från SVA var dock negativt för både *D nodosus* och *F necrophorum*. Det kan finnas flera anledningar till detta. En ofullständigt utvecklad diagnostik med sub-optimala odlingsbetingelser kan vara orsak till att dessa bakterier inte växte ut. Eventuella patogena bakterier i provet kunde också ha dött under den långa transporttiden eller inte upptäckts på grund av överväxt av blandflora.

Misstanken om fotröta kvarstod och för att verifiera diagnosen bakteriologiskt genomförde en av författarna (HBA) ytterligare provtagningar två veckor senare. Fyra prover skickades till the Veterinary Laboratory Agency (VLA) i Winchester, England. Efter selektiv anaerob odling konfirmerades växt av *D nodosus*, vilket kan anses som bevis för att fotröta fanns i den aktuella besättningen. *F necrophorum*, subsp *necrophorum* samt en *Bacteroides* spp isolerades i samtliga prover. Serotypning och virulensstestning av den isolerade stammen av *D nodosus* är möjlig via detta laboratorium och kommer att genomföras. Fotröta har efter detta diagnostiserats på ytterligare en gård i Västsverige. Den senare odlingen gjordes

av SVA, vilket innebär ett stort genombrott för fortsatt kartläggning av sjukdomen i Sverige.

ÅTGÄRDER FÖR ATT FÖRHINDRA SMITTSPRIDNING

Enligt den anmälningsplikt för veterinärer som råder för smittsamma djursjukdomar som normalt inte förekommer i landet (SJVFS 2002:16, 4 § och 5 §), anmäldes fallbeskrivningens misstänkta fotröta till Jordbruksverkets smittbekämpningsenhet. Även länsveterinären i Västra Götalands län och distriktsveterinären i den aktuella besättningen informerades om fallet.

Att utrota fotrötebakterien i en enskild besättning kräver ett både tidsödande och kostsamt bekämpningsprogram. En plan för behandling och bekämpning av fotröta i den aktuella besättningen upprättades av Fårhälsövården. Bekämpningsplanen bygger till stora delar på de rekommendationer som förmedlas på en brittisk hemsida av Wassink och medarbetare (7), men med viss anpassning efter svenska förhållanden. De viktigaste punkterna i planen utgörs av kontroll av samtliga djurs fötter för att kunna isolera och behandla drabbade djur med klor-tetracyklin lokalt och oxtetracyklin allmänt. För att minska insjuknandefrekvensen skall de friska djuren och sjukgruppen fotbadas, var och en för sig, företrädesvis i en vattenlösning med tio procent zinksulfat. Därefter ska fåren föras till bete, fälla eller ströbädd där inga djur gått de senaste 14 dagarna.

Den bästa tiden för sanering av denna typ av smitta torde vara tidig höst men före vinterinställningen. Då bör alla slaktdjur, såväl lamm som utslagsdjur, ha lämnat gården så att saneringen kommer att omfatta ett minimalt antal djur. Årstid, temperatur och väderlek bör också tillåta att fåren fortfarande kan gå utomhus, så att man inte behöver riskera att få in smittan i fårhuset. Ett tillräckligt antal smittfria rasthagar och fällor (tomtid minst två veckor) är också en förutsättning för ett lyckat saneringsresultat.

Bekämpningsplanen kommer att uppdateras kontinuerligt och kan erhållas från Fårhälsövården. ➤



FIGUR 4. Allvarligt fall av fotröta där vägghornet viker sig över den blottlagda sulan. Det bästa sättet att bekämpa sjukdomen är att aldrig låta smittan komma in i besättningen.

- Det bästa sättet att bekämpa fotröta är att aldrig låta smittan komma in i besättningen (Figur 4). Inköpta djur skall undersökas, klövarna rengöras, klippas vid behov och desinfekteras. Djuren skall därefter stå i karantän under minst tre veckor och därefter kontrolleras innan de förs ihop med den nya besättningen. Immuniteten efter genomgången sjukdom är mycket dålig och kroniska smittbärare förekommer. Djur som inte blivit friska efter behandling skall slaktas eftersom en enda individ kan smitta hela besättningen.

DISKUSSION

Den besättning där fotröta först diagnostiserades består av svenskfödda får, och det finns inget som tyder på att smittan importerats med livdjur. Att importdjur kan ha förekommit tidigare i smittkedjan kan dock inte uteslutas. Djuren hade köpts in från fem besättningar i Sverige, vilket tyder på att smitta sannolikt finns hos minst en av dessa. I ytterligare en besättning har fotröta diagnostiserats kliniskt och verifierats bakteriologiskt av SVA. Hur många fler besättningar som kan tänkas vara drabbade är oklart och kommer att behöva utredas ytterligare. Möjligheten att verifiera den kliniska diagnosen bakteriologiskt i vårt svenska referenslaboratorium

kommer att underlätta det fortsatta arbetet med att kartlägga fotrötans utbredning i landet.

SUMMARY

Contagious hoof disease in sheep diagnosed for the first time in Sweden

Foot rot is a widespread hoof disease in countries with intensive sheep production. The disease is caused by a mixed infection by *Dichelobacter nodosus* and *Fusobacterium necrophorum*, and animals are prone to develop disease under humid conditions. Sweden is a less intensive sheep producing country and foot-rot has for the first time been clinically diagnosed and bacteriologically confirmed. Subsequent studies of the spread of the disease will be needed to form a basis for decision on necessary measures to control the disease under Swedish conditions. It is also of interest to learn more about other contagious foot diseases in sheep and cattle and connections in the microbiology and epidemiology between the species.

TACK

Ett särskilt tack till Fårhälsövarlden, Länsstyrelsen Värmlands län och SVA bakteriologen för gott samarbete i referensgruppen för friska fårklövar.

Referenser

1. Beveridge WIB. Foot-rot in sheep: A transmissible disease due to infection with *Fusiformis nodosus*. Council for Scientific and Industrial Research, 1941, Bulletin No 140.
2. Dhawi A, Hart CA, Demirkan I, Davies IH & Carter SD. Bovine digital dermatitis and severe virulent ovine foot rot: A common spirochaetal pathogenesis. *Vet J*, 2005, 169, 2, 232–241.
3. Hillström A. Digital dermatit – en tickande bomb i svenska lösdrifter. *Svensk VetTidn*, 2005, 57, nr 11, 15–20.
4. Manske T, Hultgren J & Bergsten C. Topical treatment of digital dermatitis associated with severe heel-horn erosion in a Swedish dairy herd. *Prev Vet Med*, 2002, 53, 3, 215–231.
5. Plym Forshell L & Andersson L. Infektion med *Bacteroides nodosus* vid klövspaltdermatit hos ko (Infection with *Bacteroides nodosus* in interdigital dermatitis in dairy cattle). *Svensk VetTidn*, 1981, 33, 551–553.
6. Stewart DJ. Vaccination against footrot and foot abscess. In: Egerton JR, Yong WK & Riffkin GG, eds. *Footrot and foot abscess of ruminants*. Boca Raton, Florida, CRC Press Inc, 1989, 167–189.
7. Wassink GJ, Green LE, Grogono-Thomas R & Moore LJ. Best practice to control footrot and scald (strip) in sheep. Warwick, Universities of Warwick and Bristol, 2004-12-03. <http://www.footrotsinsheep.org>.
8. West DM. Foot abscess of sheep. In: Egerton JK, Yong WK, Riffkin GG, ed. *Footrot and foot abscess of ruminants*. 1 ed, Boca Raton, Florida, CRC Press Inc, 1989, 57–67.

*AGNETA OLOFSSON, leg veterinär, vik distriktsveterinär, Nöttja Lyckan, 340 13 Hamneda.

CHRISTER BERGSTEN, VMD, docent, Inst för Husdjurens miljö och hälsa, SLU/Svensk Mjolk, Box 234, 532 23 Skara.

HELEN BJÖRK AVERPIL, leg veterinär, Fårhälsövarlden, Lindholmen gård, 434 94 Vallda.

Vid tiden för tidningens pressläggning har *Dichelobacter nodosus* påvisats i flera fårbesättningar där symtomen varit klövspalt-eksem utan komplikation med klövkapselavlossning. Detta tyder på att sjukdomen kan diagnostiseras innan mer utbredda symtom utvecklats. Kontakta gärna Fårhälsövarlden för vidare information om det handlingsprogram som rekommenderas för bekämpning av fotröta. Fårhälsövarlden har nyligen utarbetat råd och rekommendationer för näringen för att förhindra smittspridning av smittsamma sjukdomar ("Stoppa smittan!", beställ från Svenska Djurhälsövarlden AB tel 08-725 82 00).



Tema klövhälsa, del 2

Digital dermatit – en tickande bomb i svenska lösdrifter

Digital dermatit är en internationellt vitt spridd klövsjukdom hos mjölkkor. I Sverige har tidigare endast få och atypiska, relativt lindriga, fall rapporterats. Klassisk digital dermatit har nu påvisats i en besättning i västra Sverige, vilket innebär att sjukdomen bör uppmärksammas på allvar. Artikeln ger en beskrivning av sjukdomen samt information om hur risken för smittspridning kan minskas.



granskad artikel

BAKGRUND

Digital dermatit är en smittsam klöv-sjukdom med hög morbiditet som internationellt utgör ett stort problem med allvarliga konsekvenser för djurskydd och ekonomi inom framför allt mjölkproduktionen. Efter att först ha rapporterats i Italien 1974 (10) har sjukdomen spridits över en stor del av världen. De första fallen av digital dermatit i Danmark beskrevs i början av 1990-talet (43) och i en studie 2002–2003 fann man att 45 av 52 undersökta besättningar hade digital dermatit, på individnivå var prevalensen 22 procent (9). I Sverige påvisades i en studie från 1997 (26) skador som påminde om digital dermatit, men som var av mindre akut karaktär och med mildare kliniska symtom än vad som beskrivits inter-



FIGUR 1. Aktiv digital dermatit. Eksemet är typiskt cirkulärt omringat av en vit hyperkeratotisk randzon, och skadan är mycket trycköm.



FIGUR 2. Digital dermatit med annat utseende än i Figur 1. De förvuxna hårstråna är typiska för sjukdomen.

nationellt. I december 2004 påträffades kor i en västsvensk besättning med skador som väl överensstämmer med internationella beskrivningar av digital dermatit. Vi menar att risken är stor att sjukdomen nu sprider sig om inte kraftfulla åtgärder vidtas för att minska smittspridning och förbättra hygien i drabbade besättningar.

KLINIK

Digital dermatit förekommer vanligen plantart/palmart i huden mellan ballarna, men även i klövspalten eller på klövens framsida (5). Bakfötter är mer drabbade än framfötter (29). Eksemet är typiskt cirkulärt och omringat av en vit hyperkeratotisk randzon (Figur 1 och 2). Den såriga ytan kan beroende på stadium vara konkav (erosiv, ulcerativ), platt eller upphöjd (granulär) och påminner då om en jordgubbe. Ytan är ibland helt eller delvis täckt av gultvit papiller.



FIGUR 3. Den såriga ytan kan beroende på stadium vara konkav (erosiv, ulcerativ), platt eller upphöjd (granulär) och påminner då om en jordgubbe. Ytan är ibland helt eller delvis täckt av gultvit papiller.

om en jordgubbe. Ytan är ibland helt eller delvis täckt av 0,5–1 mm långa gultvit papiller (1, 32) (Figur 3). Den ➤



FIGUR 4. Aktiv digital dermatit som blöder spontant. Den utvecklade skadan blöder lätt.



FIGUR 5. Digital dermatit kan även förekomma som en proliferativ vårtliknande utväxt med en mängd hårda, fina tendriler som kan vara flera centimeter långa.



FIGUR 6. Verrukös dermatit. Det är okänt om denna sjukdom har något samband med digital dermatit.

- utvecklade skadan är mycket trycködm och blöder lätt (Figur 4), men ingen eller ringa mjukdelsansvällning ses i omliggande vävnad. Förutom den erosiva/ulcerativa och granulära formen kan digital dermatit även förekomma som en proliferativ vårtliknande utväxt med en mängd hårda, fina tendriler som kan vara flera centimeter långa (3) (Figur 5). Hos nötkreatur har vårtor i klövområdet (verrukos dermatit) funnits länge utan att hälsa eller påtaglig smittspridning märkts eller symtom på digital dermatit iakttagits (Figur 6). Vårtor behöver därför inte nödvändigtvis vara associerade med digital dermatit.

Digital dermatit ger normalt inte feber men resulterar i varierande grad av hälsa. I ett försök i Storbritannien där 111 djur med digital dermatit undersöktes var 35 procent halta vid undersökningstillfället (24). I en annan studie där djurskötare bedömde huruvida deras djur var halta rapporterades att 82 procent av korna med digital dermatit uppvisade hälsa (49). Denna siffra kan dock vara felaktigt hög eftersom studien var upplagd på ett sätt som innebar att drabbade kor som inte var halta kunde förbli oupptäckta.

Troligtvis är en stor andel av korna med digital dermatit halta under den mest akuta fasen av sjukdomen, även om hältan i mer subakuta fall är lindrig och inte upptäcks. Komplikationer är ovanliga men klövröta kan uppstå om skadan sitter vid det växande hornet på ballen. En skada i kronranden ovan



FIGUR 7. Interdigital dermatit är ett betydligt eksem som inte ger hälsa men som sedan årtionden tillbaka är associerat med klassisk, "V-formad" klövröta.



FIGUR 8. Kronrandseksem. Detta eksem är intimt förknippat med en erosiv klövröta med djupa kratrar och ses framför allt hos uppbundna kor.

vägghornet kan störa hornproduktionen och orsaka fissur i hornväggen (3).

KLÖVEKSEM

I engelskspråkiga länder benämns digital dermatit även *hairy footwarts*, *strawberry foot-rot*, *Mortellaro disease* eller *raspberry heel*. I nordamerikansk litteratur används också beteckningen *papillomatous digital dermatitis* eftersom vårtliknande proliferativa förändringar anses typiska. Emellertid är de i Europa förekommande formerna histologiskt identiska med de nordamerikanska (30). Interdigital dermatit (Figur 7) är ett betydligt lindrigare eksem som inte ger hälsa men som sedan årtionden tillbaka är associerat med klassisk, "V-formad" klövröta. Interdigital dermatit anses vara

orsakad av framför allt *Dichelobacter nodosus*, till skillnad från digital dermatit som kopplats samman med förekomst av spiroketer (se kommande stycke). Man har dock kunnat isolera spiroketer även från skador karaktäristiska för interdigital dermatit (45, 47).

Innan bättre mikrobiologisk diagnostik utvecklats kan de båda sjukdomarna möjligen skiljas åt genom att bedöma kliniska symtom, men ett tidigt stadium av digital dermatit kan svårigen särskiljas från interdigital dermatit. Det kan heller inte uteslutas att digital och interdigital dermatit har en likartad etiologi och patogener.

I Sverige förekommer en typ av eksem som kallas kronrandseksem där cirkulära lesioner som kan vara täckta av

hornvävnad ses i huden vid kronranden eller i ballområdet (Figur 8). Detta eksem är intimt förknippat med en erosiv klövröta med djupa kratrar och ses framför allt hos uppbundna kor. Kronrandseksem skulle kunna vara en atypisk form av digital dermatit då spiroketer identifierats histologiskt från dessa lesioner (26).

ETIOLOGI

Spiroketer av genus *Treponema* har isolerats från digital dermatit och anses spela en viktig roll vid uppkomsten av denna sjukdom (11, 36, 44, 45). Bakterien härrör möjligen från nötkreaturens gastrointestinala trakt och når klövarna via avföringen (14). Man har uppmätt antikroppar mot spiroketer hos kor med digital dermatit (14, 29, 46). Dessa kvarstod i ett försök i upp till 90 dagar efter smittotillfället hos djur vars klövar inokulerats med smittat material, medan icke inokulerade kontroldjur

saknade antikroppar (31). Det material som använts vid inokuleringsförsöken har varit skrapprov från lesioner av digital dermatit, inte en renkultur av spiroketer. I biopsier från digital dermatit har även andra bakterier påvisats, till exempel *Campylobacter* och *Fusobacterium* (15, 34). Detta tyder på att flera olika agens kan vara inblandade i sjukdomsutvecklingen och det är ännu inte bevisat att spiroketer per se är orsaken till digital dermatit.

EPIDEMIOLOGI

Det finns ett starkt samband mellan förekomst av digital dermatit och en för klövarna dålig miljö med fukt, värme, urin och gödsel (32, 37, 49) (Figur 9). Experimentell överföring av digital dermatit från sjuka nötkreatur till friska lyckades i ett försök endast när försöksdjurens klövar samtidigt utsattes för en fuktig miljö med begränsad tillgång på luft (31). Det finns uppgifter om epide-

miska utbrott av digital dermatit i till synes välskötta besättningar och enstaka fall förekommer även på bete (5), men detta är ovanligt.

Smittspridning tycks framför allt ske genom att djur från drabbade gårdar introduceras i fria besättningar. Studier visar att risken för att en besättning ska ha problem med digital dermatit är betydligt mindre om besättningen är sluten jämfört med om djur köps in utifrån eller föds upp på en annan gård (37, 38, 49). Det är inte uteslutet att smittspridning även kan ske indirekt via till exempel veterinärer eller klövverkare, eftersom en faktor som visat sig vara associerad med en hög förekomst av digital dermatit är att besättningen har en klövverkare som betjänar även andra gårdar (49). Stora besättningar (>200 kor) har en högre förekomst av digital dermatit jämfört med små (49), något som kan bero på att tillsynen i dessa besättningar är sämre vilket kan medföra senare behandling och därigenom ett högre smittryck.

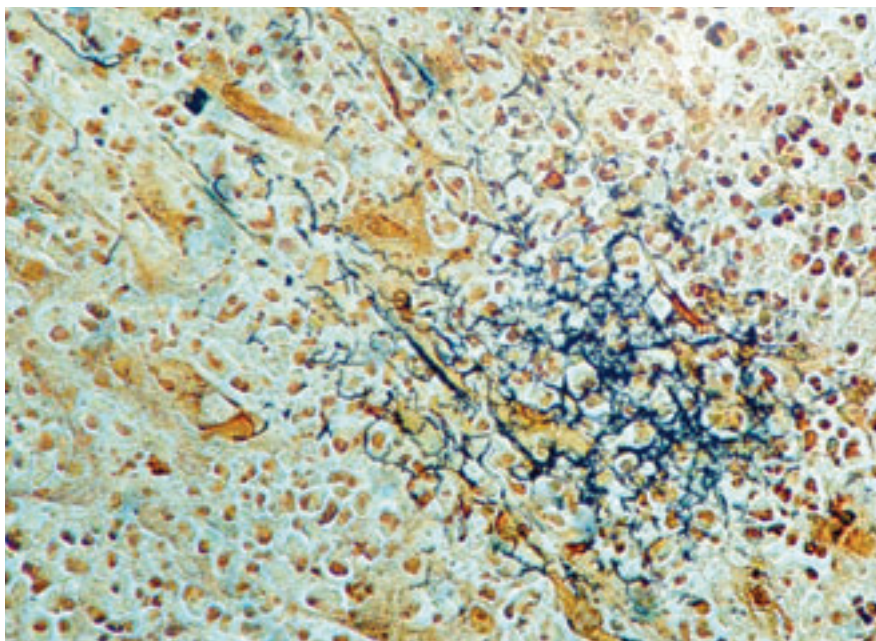
En genomgången infektion utgör inte ett skydd mot återinfektion (1, 23, 33) och en undersökning visade att 60 procent av de kor som framgångsrikt behandlats mot digital dermatit uppvisade nya lesioner sju till tolv veckor senare (33). Att förstakalvare är mest drabbade av digital dermatit (32, 38) torde därför inte bero på att äldre djur utvecklar immunitet. Vissa djur tycks dock ha en större motståndskraft mot sjukdomen och de utvecklar inte synliga skador trots en hög incidens bland övriga djur i besättningen (23).

EKONOMISKA FÖRLUSTER

Hälta anses vara den tredje ekonomiskt mest betydelsefulla sjukdomen, efter mastit och fertilitetsproblem (16). I Danmark beräknas varje fall av digital dermatit kosta cirka 600 kronor, baserat på uppgifter från utfrågningar av lantbrukare och klövverkare (Capon, personligt meddelande, 2005). Engelska forskare uppskattade kostnaden för ett fall av infektiös klövsjukdom till ca 1 100 kronor på grund av försämrad fruktsamhet, minskad mjölkproduktion samt behandlingskostnader (17). Dessa uppgifter kan jämföras med att kostna- ➤



FIGUR 9. Det finns ett starkt samband mellan förekomst av digital dermatit och en för klövarna dålig miljö med fukt, värme, urin och gödsel.



FIGUR 10. Histologiskt snitt från biopsi av infekterad hud i karleden, där spiralformade spiroketer syns tydligt. Silverfärgning, förstoring ca 400 gånger.

BEHANDLING

Digital dermatit behandlas genom att applicera antibiotika lokalt på skadan efter att den tvättats ren. Oxytetracyklin eller linkomycin har visat sig ha en mycket god effekt (20, 28). Redan inom ett dygn efter behandling är en eventuell håla reducerad för att vara helt borta inom två till tre dagar (3). I Sverige finns ett licenspreparat innehållande klortetracyklin (Cyclo spray vet, Novartis) att tillgå för lokal behandling av digital dermatit. Man kan även applicera lösningar med oxytetracyklin för parenteralt bruk på skadan, varefter ett lätt bandage som får sitta i en till två dagar läggs om klöven (36). Vid behov kan behandlingen upprepas när bandaget tas bort. Antibiotika har inte kunnat påvisas i mjölken från lokalbehandlade kor (7, 26).

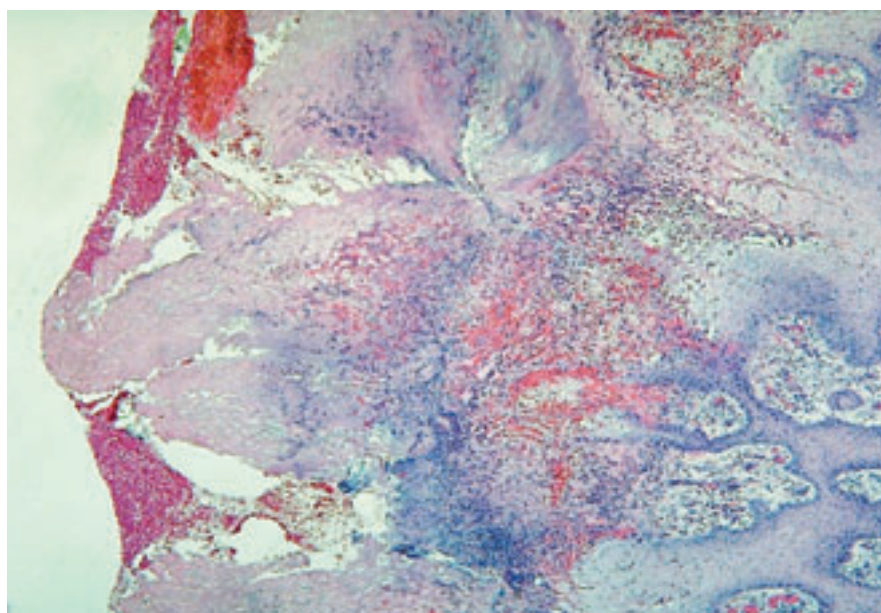
Det är angeläget att finna alternativ till antibiotika för behandling av digital dermatit och ett flertal medel för utvärtes behandling har provats. Ett preparat som testats i en svensk studie är glutaraldehyd (Parvocide®, Coventry Chemical), vilket dock inte var verksamt mot atypisk digital dermatit (kronrandseksem) (26). I Danmark används ibland salicylsyra för att behandla sjukdomen (43). För närvarande finns dock ingen

- den för ett klövsulesår, som anses vara den mest förlustbringande klövsjukdomen (22, 48), uppskattades till ca 5 300 kronor (17). Den lägre kostnaden vid digital dermatit beror bland annat på bättre prognos vid behandling och därmed lägre risk för ofrivillig utslagning (22). Sjukdomen innebär däremot mycket merarbete för djurskötaren eftersom kor bör tas upp i verkstol för att diagnostiseras och behandlas. Dessutom försvåras handel och transporter när en besättning är drabbad, eftersom smittrisen måste beaktas.

DIAGNOSTIK

Spiroketer är extremt syrekänsliga och kräver speciella förhållanden för att kunna odlas (13, 44). Diagnosen digital dermatit verifieras histologiskt varvid spiroketer framträder tydligt efter silverfärgning (Figur 10). Aktiva skador karaktäriseras av områden med degeneration, nekros och infiltration av inflammatoriska celler i stratum corneum. I kraftigt angripen vävnad är cellerna i stratum corneum uppsvällda och missformade (Figur 11). Vid mer kroniska skador förekommer akantos och ibland perivaskulära ansamlingar av mononukleära inflammatoriska celler i dermis. I samtliga fall ses en markant förtjockning

av epidermis och parakeratotisk hyperkeratos (8). I en studie där kalvar som var fyra månader gamla infekterades experimentellt sågs spiroketer som koloniserade stratum corneum två veckor efter infektionstillfället och ytterligare en vecka senare hade de invaderat stratum spinosum och dermala papiller (34).



FIGUR 11. Histologiskt snitt som visar infekterad epidermis och dermis i huden mellan ballarna. I kraftigt angripen vävnad är cellerna i stratum corneum uppsvällda och missformade. HE-färgning, förstoring ca 70 gånger.

produkt med dokumenterad effekt som kan utgöra ett terapeutiskt lika gott alternativ som antibiotika vid behandling av digital dermatit. Oavsett om antibiotika eller annat medel används vid behandling av eksem är miljöförbättrande åtgärder nödvändiga för att uppnå ett varaktigt resultat.

Allmänbehandling med antibiotika kan vara effektivt mot digital dermatit (35) men är sällan aktuellt eftersom lokalbehandling är ett fullgott alternativ till ett betydligt lägre pris och utan karenstid. Kirurgisk behandling av allvarliga fall av digital dermatit har förekommit (42). Med tanke på risken för sekundärinfektioner och det obehag operationen innebär för kon är det inget som rekommenderas om medicinsk behandling är möjlig.

PROFYLAX

Fotbad eller sprayning med ryggspruta används både för att behandla och förebygga digital dermatit på besättningsnivå. Internationellt används ofta antibiotika i fotbaden (41), något som inte är önskvärt i Sverige eftersom sådan antibiotikaanvändning innebär risk för resistensutveckling, är kostsam och medför onödigt hög antibiotikaförbrukning. Kopparsulfat är vanligt förekommande i fotbad i Sverige, men nackdelar med kopparsulfat är att den irriterar huden (40), smärtar i sår, är korrosivt och belastar miljön (19). Fotbad med surgjord joniserad koppar (Hoofpro+, SSI Corporation) var i en svensk studie effektivt som behandling mot atypisk digital dermatit (26). I ett försök var sprayning (åtta gånger under en tvåveckorsperiod) med en kopparperoxidblandning lika effektiv som oxytetracyklin mot digital dermatit, medan en femprocentig kopparsulfatlösning inte hade någon effekt (20). Formalin är ett annat preparat som testats i fotbad (2, 12), men på grund av dess retande effekt på slemhinnor är det ett medel som inte är acceptabelt från hälsosynpunkt. Nya metoder för att fotbada nötkreatur, t ex skum innehållande perättiksyra (Kovex®, Ecolab), har introducerats på marknaden, men uppgifter om deras effektivitet är få och osäkra (6, 18, 27). Försök med vaccination mot digital

dermatit har inte gett något entydigt positivt resultat (4, 21, 39).

SMITTSKYDD

Den viktigaste åtgärden för att minska risken för att en besättning ska drabbas av digital dermatit förefaller vara att undvika att föra in djur från andra gårdar. När detta inte är möjligt bör man förvissa sig om att ursprungsbesättningen är fri från sjukdomen och eventuellt hålla inköpta djur i karantän under tre till fyra veckor innan de introduceras i besättningen. Under denna period måste klövarna regelbundet inspekteras så att inte milda lesioner förblir upptäckta. Det kan inte uteslutas att även till synes friska djur från drabbade besättningar kan sprida smitta. Det bästa är om man kan försäkra sig om att hela besättningen, från vilken man tänkt köpa djur, är fri från sjukdomen. Klövverkare, veterinärer och andra personer som rör sig mellan olika gårdar måste noggrant tvätta och desinficera sig själva och sin utrustning för att undvika smittspridning (49).

När digital dermatit en gång fått fotfäste i en besättning förefaller sjukdomen mycket svår att eliminera. Den viktigaste åtgärden för att bekämpa sjukdomen är att upprätthålla en god klövmiljö. Vidare bör drabbade kor behandlas lokalt med antibiotika så tidigt som möjligt. Ett fungerande fotbad kan också bidra till att sjukdomen kontrolleras. Klövverkning i sig botar inte eksem (25) men förekommande fall kan upptäckas och behandlas och en friläggning av eksem i samband med klövröta påskyndar sannolikt läkning på kort sikt. Dessutom bidrar en korrekt klövform till att ballregionen inte exponeras för gödsel i onödan.

Vid upptäckt av digital dermatit i en besättning är information till djurägaren av stor vikt. Djur från drabbade gårdar bör inte säljas till fria besättningar och betydelsen av en god klövhygien ska understrykas, eftersom detta är en förutsättning för att kunna hålla sjukdomen under kontroll. Veterinärer och klövverkare uppmanas härmed att informera artikelförfattarna om de upptäcker fall av digital dermatit, så att sjukdomens utveckling i Sverige kan följas.

TACK

Katinka Belák, SVA, för hjälp med histologin, Märit Pringle, SVA, för givande diskussioner samt EU femte ramprogrammet Lamecow WP7 för finansiering.

SUMMARY

Digital dermatitis – a new infectious foot disease in Swedish dairy cattle

Digital dermatitis is a contagious foot disease in dairy cattle in high-performing herds that causes large financial losses and impairs animal welfare. Poor hygiene together with infection with spirochetes of genus *Treponema* is believed to be involved in the aetiology. A circular lesion is generally seen in the plantar/palmar skin between the bulbs of the heel. It can be erosive, granular ("strawberry-like"), and/or proliferative. Although unnecessary use of antibiotics should be avoided, the use of topical antibiotics is very efficient and healing of lesions is usually seen within one to three days. However, acquired immunity is poor and a large proportion of animals may become reinfected.

In December 2004 the first cases of classical digital dermatitis were diagnosed in Sweden. There is a great risk that the disease will spread, especially in loose-housed cattle, if strong measures are not undertaken. Transmission occurs mainly with live, infected animals that are introduced in a healthy herd. Veterinarians, hoof trimmers and other visitors may spread infectious material and strong biosecurity routines have to be maintained. If digital dermatitis is diagnosed in a herd, the farmer must be informed on how to prevent transmission to other herds and that a clean and dry foot environment is the best way of controlling the disease in the long course.

Referenser

1. Argaez-Rodriguez FDJ, Hird DW, deAnda JH, Read DH & Rodriguez-Lainz A. Papillomatous digital dermatitis on a commercial dairy farm in Mexico. Mexico: Incidence and effect on reproduction and milk production. *Prev Vet Med*, 1997, 32, 3–4, 275–286.
2. Bergsten C. Infectious diseases of the digits. In: Greenough PR, ed. *Lameness in cattle*, 3 ed. Philadelphia, WB Saunders Co, 1997, 89–100.

- 5. Blowey R. Cattle lameness and hoof care, an illustrated guide. Ipswich, Farming press, 1993, 52–54.
7. Britt JS, Carson MC, von Bredow JD & Condon RJ. Antibiotic residues in milk samples obtained from cows after treatment for papillomatous digital dermatitis. J Am Vet Med Assoc, 1999, 215, 6, 833–836.
9. Capion N. A cross-sectional study of claw lesions and risk factors in danish holsteins. Proc 13th international symposium & conference on lameness in ruminants. Maribor, Slovenija, 2004, 24–25.
11. Collighan RJ & Woodward MJ. Spirochaetes and other bacterial species associated with bovine digital dermatitis. FEMS Microbiology Letters, 1997, 156, 1, 37–41.
13. Demirkan I, Carter SD, Hart CA & Woodward MJ. Isolation and cultivation of a spirochaete from bovine digital dermatitis. Vet Rec, 1999, 145, 497–498.
14. Dhawi A, Hart CA, Demirkan I, Davies IH & Carter SD. Bovine digital dermatitis and severe virulent ovine foot rot: A common spirochaetal pathogenesis. Vet J, 2005, 169, 2, 232–241.
15. Dopfer D, Koopmans A, Meijer FA, Szakáll I, Schukken YH, Klee W, Bosma RB, Cornelisse JL, van Asten AJAM & ter Huurne AAHM. Histological and bacteriological evaluation of digital dermatitis in cattle, with special reference to spirochaetes and *Campylobacter faecalis*. Vet Rec, 1997, 140, 24, 620–623.
16. Enting H, Kooij D, Dijkhuizen AA, Huirne RBM & Noordhuizen Stassen EN. Economic losses due to clinical lameness in dairy cattle. Livest Prod Sci, 1997, 49, 3, 259–267.
17. Esslemont RJ & Peeler EJ. The scope for raising margins in dairy herds by improving fertility and health. Br Vet J, 1993, 149, 537–547.
20. Hernandez J, Shearer JK & Elliott JB. Comparison of topical application of oxytetracycline and four nonantibiotic solutions for treatment of papillomatous digital dermatitis in dairy cows. J Am Vet Med Assoc, 1999, 214, 5, 688–690.
22. Kossaibati MA & Esslemont RJ. The costs of production diseases in dairy herds in England. Vet J, 1997, 154, 1, 41–51.
25. Manske T, Hultgren J & Bergsten C. The effect of claw trimming on the hoof health of Swedish dairy cattle. Prev Vet Med, 2002, 54, 2, 113–129.
26. Manske T, Hultgren J & Bergsten C. Topical treatment of digital dermatitis associated with severe heel-horn erosion in a Swedish dairy herd. Prev Vet Med, 2002, 53, 3, 215–231.
28. Moore DA, Berry SL, Truscott ML & Koziy V. Efficacy of a nonantimicrobial cream administered topically for treatment of digital dermatitis in dairy cattle. J Am Vet Med Assoc, 2001, 219, 10, 1435–1438.
30. Read DH & Walker RL. Comparison of papillomatous digital dermatitis and digital dermatitis of cattle by histopathology and immunohistochemistry. Proc 10th int symp on lameness in ruminants, Lucerne, Switzerland, 1998, 268–269.
31. Read DH & Walker RL. Experimental transmission of papillomatous digital dermatitis (footwarts) in dairy cattle. Proc 10th int symposium on lameness in ruminants, Lucerne, Switzerland, 1998, 270.
38. Rodriguez-Lainz A, Melendez-Retamal P, Hird DW, Read DH & Walker RL. Farm- and host-level risk factors for papillomatous digital dermatitis in Chilean dairy cattle. Prev Vet Med, 1999, 42, 87–97.
41. Shearer JK & Elliott JB. Papillomatous digital dermatitis: treatment and control strategies – part I. Comp Cont Educ Pract, 1998, 20(8), 160.
42. Shearer JK, Hernandez J & Elliott JB. Papillomatous digital dermatitis: treatment and control strategies – part II. Comp Cont Educ Pract, 1998, 20, 9, 214.
43. Steffensen M, Kristiansen KK, Nielsen OL, Bom JY, Hesselholt M, Christensen MB & Mortensen LL. Digital dermatitis hos kvaeg. Dansk VetTidsskr, 2000, 83, 11–16.
44. Trott DJ, Moeller MR, Zuerner RL, Goff JP, Waters WR, Alt DP, Walker RL & Wannemuehler MJ. Characterization of *Treponema phagedenis*-like spirochetes isolated from papillomatous digital dermatitis lesions in dairy cattle. J Clin Microbiol, 2003, 41, 6, 2522–2529.
46. Walker RL, Read DH, Loretz KJ, Hird DW & Berry SL. Humoral response of dairy cattle to spirochetes isolated from papillomatous digital dermatitis lesions. Am J Vet Res, 1997, 58, 7, 744–748.
49. Wells SJ, Garber LP, Wagner B & Hill GW. Digital dermatitis on US dairy operations. Dairy '96, Fort Collins, United States Dept Agriculture, 1997, Report No 231, 597, 3–26.

En fullständig referenslista (53 referenser) kan beställas från författaren.

*ANNA HILLSTRÖM, leg veterinär, Inst för husdjurens miljö och hälsa, SLU, Box 234, 532 23 Skara.

CHRISTER BERGSTEN, VMD, docent, Inst för husdjurens miljö och hälsa, SLU/Svensk Mjolk, Box 234, 532 23 Skara.

Rättelse

I Svensk Veterinärtidning nr 10/05 publicerades en artikel med titeln "Inälvmaskarnas epidemiologi hos får i Sverige med fokus på övervintringsstrategier". I Tabell 2 i artikeln, på sidan 14 i tidningen, har det tyvärr smugit sig in ett tryckfel. Vad gäller undersökning US 6 och US 7 (mot slutet av tabellen) har datumen för undersökningarna blivit desamma som för US 5. De korrekta datumen ska vara: US 6 23/9–9/10 och US 7 9/10–28/10. Redaktionen beklagar tryckfelet.



STIPENDIUM 2005

Härmed utlyses stipendium till legitimerad svensk veterinär, som genom SYVF (Sveriges Yngre Veterinärers Förening) utövar sin rösträtt i Sveriges Veterinärförbund. Företräde ges åt den som är sysselsatt i praktiskt veterinärt arbete utan närmare knytning till vetenskaplig institution.

Stipendiet om 7 000 kronor är avsett för studier av veterinärmedicinska problem inom Sverige eller utomlands, och skall i första hand gagna veterinärkåren i allmänhet.

En skriftlig redogörelse för stipendiets användning krävs för erhållande av medlen. Redogörelsen ska vara av sådan klass att den kan publiceras i SVT eller SYVF-infot.

Ansökan med en kort motivering skall vara SYVF:s styrelse tillhanda senast den 3 oktober 2005, och sändes till SYVFs kontaktperson Jonas Johansson, Flogstavägen 49D, 752 73 Uppsala.

VIVECA BÅVERUD, VMD, laboratorieveterinär, LAILA ERIKSSON, biomedicinsk analytiker, GULL HOLMSTRÖM, biomedicinsk analytiker, MARIANNE PERSSON, biomedicinsk analytiker, ULLA ZIMMERMAN, biomedicinsk analytiker och KARL-ERIK JOHANSSON, professor.*

Tema klövhälsa, del 3

Isolering och karaktärisering av *Dichelobacter nodosus* från får med fotröta

Dichelobacter nodosus orsakar fotröta med hälta och nedsatt produktivitet hos får och har nyligen isolerats vid Avdelning för bakteriologi, SVA, från två svenska fårbesättningar. Enligt litteraturen är *D. nodosus* en svårödlad och krävande bakterie. *D. nodosus* kan nu odlas och de svenska isolaten har karaktäriserats.



granskad artikel

INLEDNING

Bakterien *Dichelobacter nodosus* har nyligen isolerats för första gången från svenska får med fotproblem (9). Bakterien har sedan påvisats i flera besättningar i Sverige. *D. nodosus* är en internationellt känd patogen, som hos får orsakar fotröta (engelska: foot-rot). Denna sjukdom är särskilt viktig i tempererade jordbruksområden med mycket nederbörd, som till exempel Australien och Nya Zeeland. Fotröta orsakar hälta, som leder till nedsatt produktivitet. Sjukdomen är en kronisk bakteriell infektion, med inflammation i epidermis i klövvävnaden och vävnadsnekros. Hornet kan separeras från underliggande vävnad, vilket orsakar svåra lidanden för djuren (Figur 1). Fotröta är vanligare hos vuxna får än hos lamm, och ofta affekteras mer än en fot (12). Skada i



Foto: Ulfika König

FIGUR 1. Klöv från får med fotröta. Sulan är borta och kapselns yttervägg har lossnat från klövväggens utsida.

interdigitalhuden på grund av långvarig vistelse i fuktig miljö och infektion med *Arcanobacterium pyogenes* och *Fusobacterium necrophorum* är också involverade i utvecklingen av lesionen (12, 15).

Förändringarna vid fotröta orsakas av en kombinerad invasion av *D. nodosus* och *F. necrophorum*, även om andra bakterier, inkluderande spiroketer (8), stundom invaderar den primära lesio-

nen. *D. nodosus* har en primär betydelse för utvecklingen av fotröta, men dess roll vid interdigital dermatit är oklar (12). Bakterien finns hos kliniskt affekterade djur och hos får som tillfrisknat men är bärardjur. Dessa djur kan introducera infektionen i fria besättningar (12). *D. nodosus* förekommer enbart i angripna klövar och överlever endast en kortare tid utanför hornet, vanligen ➤

Tabell 1. KLASSIFICERING AV *DICHELOBACTER NODOSUS*. MED TAXON AVSES EN KLASSIFICERINGSGRUPP AV GODTYCKLIG RANG.

Kategori (Sv)	Category (Eng)	Taxon
Domän	Domain	<i>Bacteria</i>
Fylum	Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Klass	Class	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordning	Order	<i>Cardiobacteriales</i>
Familj	Family	<i>Cardiobacteriaceae</i>
Släkte	Genus	<i>Dichelobacter</i>
Art	Species	<i>Dichelobacter nodosus</i>

- cirka fyra dagar i våt lera (12), men som längst sju till tio dagar i faeces, jord och på bete (15). *D. nodosus* har tidigare isolerats från svenska kor med klövspaldermatit (10).

Bakteriologisk karaktäristika

D. nodosus är en relativt stor (1–1,7 x 3–6 mm), icke sporbildande gramnegativ stav, som är obligat anaerob (3, 11). *Nodosus* kommer av det latinska ordet *nodus*, som betyder liten knut, knuta eller knöl (4), vilket syftar på det karaktäristiska utseendet i mikroskop med en terminal förstoring i en eller båda ändarna av staven.

Koloniutseende för *D. nodosus* kan variera. Kolonier av virulenta stammar från får med fotröta har ofta en mörk central papill med ett perifert oregelbundet spegelliknande utseende (12). Vid odling på blodagar är kolonierna vanligen halvgenomskinliga-grå-vita och 0,5–3,0 mm i diameter efter tre till sju dagar. Vid odling på hovagar växer *D. nodosus* på ett karaktäristiskt sätt, som gör att den går att skilja från andra bakteriekolonier.

I litteraturen (11, 15) beskrivs tre olika koloniutseenden för *D. nodosus*. B-(beaded-pärlformad)-typen är papillformad och den mest patogena formen isolerad från fotröta hos får. M-(mukoid)-typen som är mukoid och ger större kolonier (6–10 mm), är mindre patogen och kommer från icke-invasiva infektioner hos får och nöter. C-(cirkulär)-typen är cirkulär med jämn kant och icke-patogen. Den utvecklas efter flera passager i flytande medium (14). Kolonier av *D. nodosus*, som orsakar benign respektive virulent form av fotröta, kan vara svåra att skilja på (12).

Virulenskaraktärisering av stammar kan bland annat göras med elastas- och gelatintest (6).

Enligt modern klassificering av bakterier (7), baserad på deras evolutionära historia, delas bakterier in i ca 25 huvudutvecklingslinjer (fyla). Enligt äldre klassificering ansågs *Dichelobacter nodosus* höra till fylum *Bacteroidetes* och bakterien hette då "*Bacteroides nodosus*". Modern klassificering baserad på sekvensanalys av 16S rRNA-genen och andra molekyllärovetiska metoder har klart visat att *D. nodosus* skall höra till fylum *Proteobacteria* (1), som också innehåller huvuddelen av gram-negativa bakterier. Den fullständiga hierarkiska klassificeringen av *D. nodosus* framgår av Tabell 1. Familjen *Cardiobacteriaceae* består av tre släkten: *Cardiobacterium*, *Dichelobacter* och *Suttonella*. Var och en av dessa släkten består av endast en eller två arter, som har fått ett officiellt vedertaget namn.

Sekvensanalys av 16S rRNA-genen har blivit en standardmetod för karaktärisering av nya bakterier och kan även användas för klassificering av bakterier eftersom 16S rRNA-genens fylogeni (evolutionära historia) också återspeglar organismens fylogeni. Tack vare det faktum att många bakteriella 16S rRNA-sekvenser (mer än 100 000 st) finns deponerade i databaser, kan man använda sekvensanalys av 16S rRNA (eller snarare dess gen) för identifiering av bakterier. Det är relativt lätt att sekvensbestämma 16S rRNA-genen eftersom den förutom ett antal variabla regioner, också innehåller konserverade regioner. Dessa konserverade regioner används som målregioner för PCR- och sekvenseringsprimers, med vars hjälp man kan gene-

tera delsekvenser. Dessa delsekvenser kombineras sedan till en så kallad contig, som utgör sekvensen för nästan hela (>95 % av) 16S rRNA-genen, dvs ca 1 450 nukleotider.

MATERIAL OCH METODER

Provtagning

Prov togs med en svabb från aktiv lesion, vanligen under den separerade sulan eller väggen av klöven eller djupt i angripen vävnad. Eftersom en normalflora med många olika bakterier förekommer i det aktuella området är det av stor vikt att provet tas ut med noggrannhet för att undvika kontamination. Svabben placerades omedelbart i ett transportmedium för anaeroba bakterier (t ex Amies' kolat medium) och sändes direkt till laboratoriet för undersökning. Provet måste anlända till laboratoriet för odling inom högst 48, men helst 24 timmar efter provtagning.

Prov har insänts till SVA från fem olika färbesättningar i södra och västra Sverige, där djuren visat förändringar i klövarna som gjort att man misstänkt fotröta.

Odling

Speciella selektiva substrat krävs för odling av *D. nodosus*. I vissa medier tillsätts hornämne från fårklövar för att förbättra växten av bakterien och även för att i viss mån hämma växt av andra bakterier. Vid SVA odlades svabben direkt vid ankomst till laboratoriet på sådan hovagar. Svabben odlades med primärstryk på en tredjedel till hälften av hovagarplattan och därefter gjordes ett 2 mm djupt ruttmönster över hela plattan med en steril trästicka (Figur 2). Svabben odlades även på ett selektivt medium, Eugonagar (2) innehållande jästextrakt, defibrinerat hästblod och linkomycin. Parallellt odlades på hovagar och Eugonagar en kontrollstam, som utgörs av *D. nodosus*, typstam CCUG 27824^T från Culture Collection, Göteborgs universitet (www.ccug.se). Plattorna kontrollerades före användning avseende sterilitet och växt av *D. nodosus* CCUG 27824^T. För allmän anaerob odling ströks också svabben på en så kallad Fastidious anaerob agar (FAA)-platta (LabM, Bury, Lancashire, England).

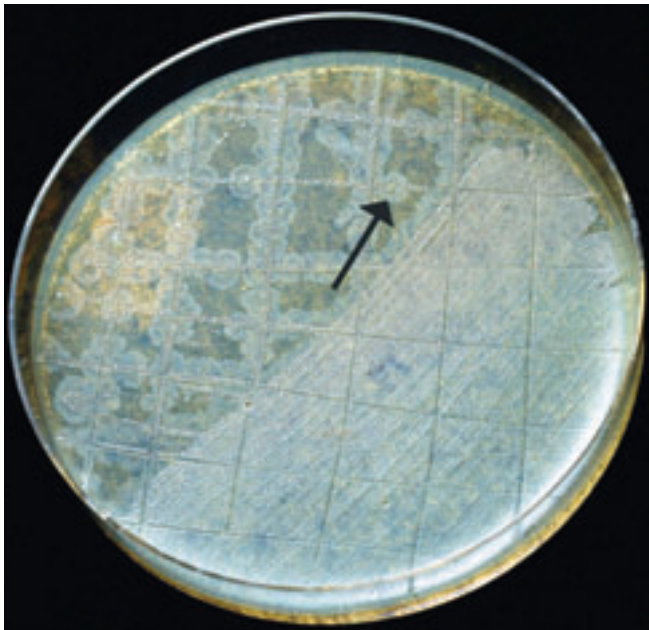


Foto: Bengt Ekberg

FIGUR 2. Växt på hovagar av *Dichelobacter nodosus*-kolonier (se pil) i en blandflora med andra bakterier från ett kliniskt prov. *D. nodosus*-kolonierna har en oregelbunden kant och växer i form av runda zoner, som utgår från de dragna linjerna.

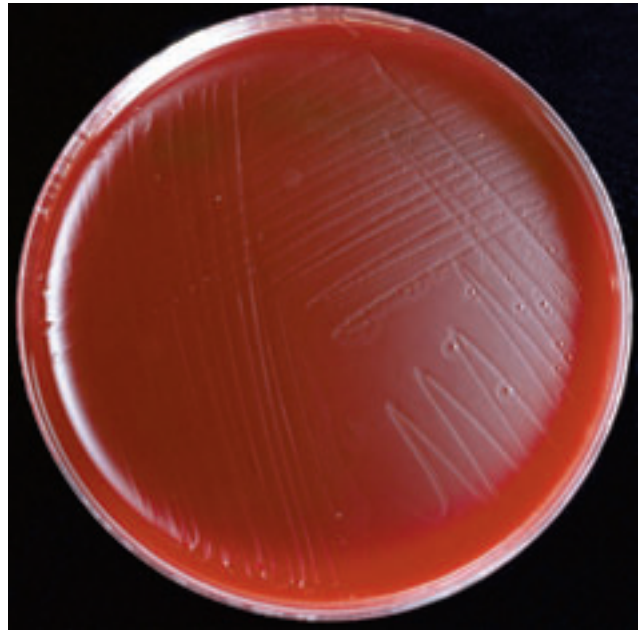


Foto: Bengt Ekberg

FIGUR 3. Kolonier av *Dichelobacter nodosus* CCUG 27824T på Eugon-agar. Notera det karakteristiska koloniutseendet.

Plattorna inkuberades anaeroft vid 37°C. Kolonier renodlades på FAA-plattor.

Sekvensanalys av 16S rRNA-genen från isolat av *D. nodosus*

Koklysat från bakteriekolonier innehållande DNA användes för polymerase chain reaction (PCR)-amplifiering av 16S rRNA-genen. Generella PCR- och sekvenseringsprimers var konstruerade för att fungera bra för bakterier tillhörande fylum *Proteobacteria*. PCR-produkter sekvenserades i båda riktningarna genom "cycle sequencing" med en uppsättning primers komplementära till universella regioner i 16S rRNA-genen. Sekvenseringsprodukterna analyserades på en ABI 3100 DNA-sekvenator. Delsekvenserna sattes ihop med hjälp av datorprogrammet ContigExpress, som ingår i Vector NTI suite, ver 9.0. Sekvenserna användes för sekvenslikhetssökningar i sekvensdatabaserna GenBank och RDP-II. Fylogenetiska träd konstruerades genom "Neighbour-Joining" (13) från erhållna sekvenser och "föralignade" sekvenser, som hämtades från RDP-II. Föralignade sekvenser

är organiserade i databasen så att homologa positioner står i samma kolumn.

RESULTAT

Odling och fenotypisk karaktärisering

Efter fyra till sex dygns anaerob inkubering av agarplattorna observerades växt på hovagarplattan av små kolonier utmed de dragna linjerna (Figur 2). Kolonierna var platta med en ojämn kant och växte i form av utflytande runda zoner, vilka utgick från de dragna linjerna. På Eugonagar syntes, efter ytterligare några dagars inkubering, små kolonier med mörk central papill och med en spegelliknade zon (Figur 3) i en blandflora med olika bakterier. Vid mikroskopering observerades gramnegativa raka eller svagt böjda stavar med noduli i en eller båda ändarna (Figur 4). Eftersom vårt laboratorium tidigare inte isolerat och typat *D. nodosus* utfördes en 16S rRNA-sekvensering för att erhålla en säker identifiering. På FAA-plattan växte oftast en riklig blandflora där *D. nodosus* inte kunde ses. I flera fall påvisades växt av *F. necrophorum*.

Från två besättningar isolerades *D.*

nodosus. Prov tagna från en besättning var negativa avseende *D. nodosus*. Från ytterligare två besättningar isolerades stammar, som avseende koloniutseende och morfologi stämmer med *D. nodosus*. Sekvensering av dessa isolat kommer också att utföras.

Sekvensanalys av 16S rRNA-genen från *D. nodosus*

Sekvensbestämningar resulterade i sekvenser på 1 437 och 1 401 nukleotider för stammarna AN363/05 respektive AN484/05. Sekvenserna har deponerats i GenBank under accessionsnumren DQ016290 och DQ016291. Sekvenslikhetssökningar visade att de båda sekvenserna representerade *D. nodosus*. Sekvenserna användes också för fylogenetiska analyser. Det fylogenetiska trädet (Figur 5), som baserades på 1 401 nukleotidpositioner, visade tydligt att isolat AN363/05 och AN484/05 representerar *D. nodosus*, eftersom deras 16S rRNA-sekvenser är identiska med sekvensen för den deponerade stammen av *D. nodosus*, så när som på en nukleotid för stam AN484/05. Detta visar också att de båda isolaten representerar ➤

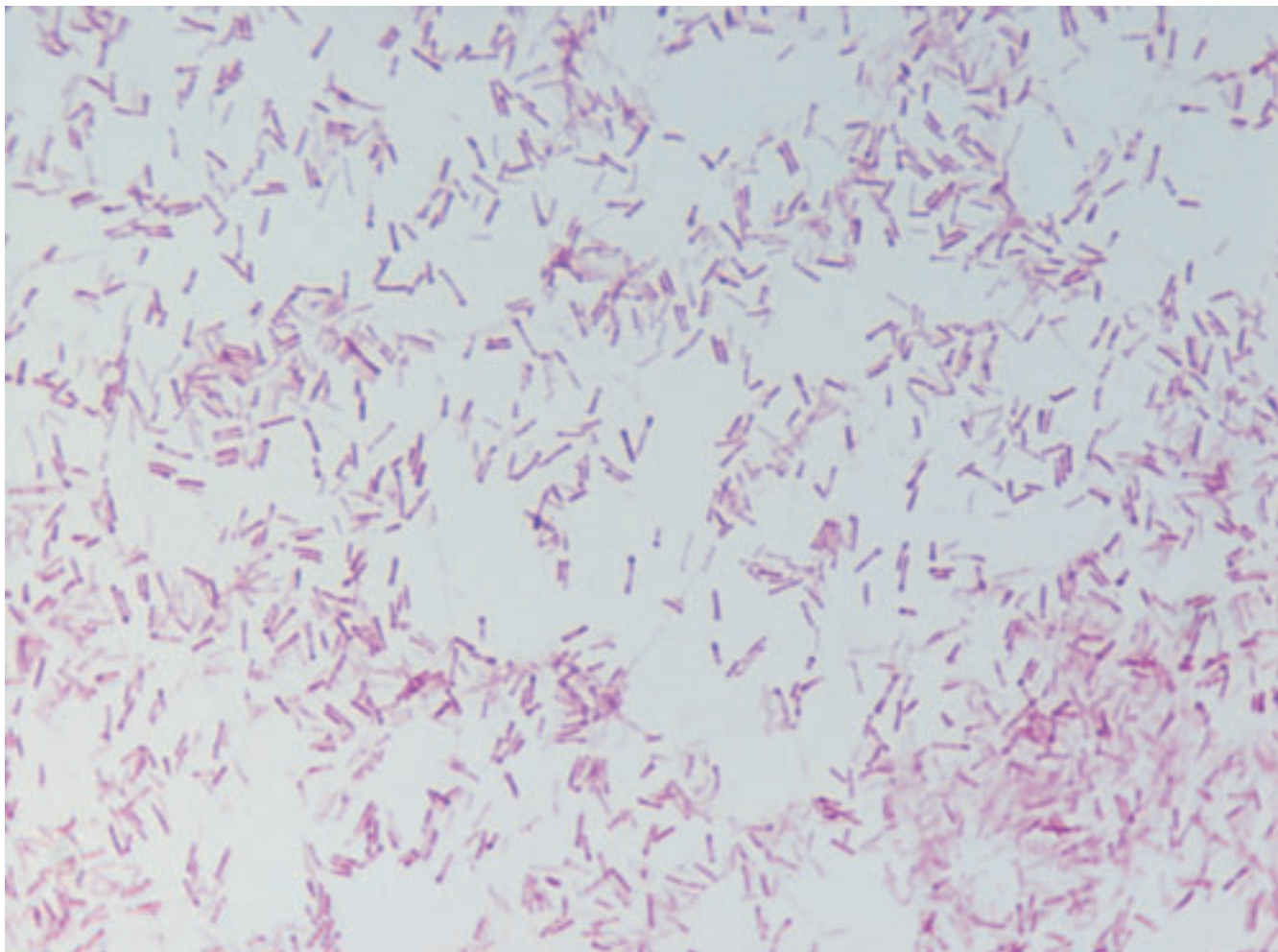


FOTO: DESIRÉE S. JANSSON

FIGUR 4. Mikroskopering av ett Gramfärgat preparat av *Dichelobacter nodosus* CCUG 27824T vid 1 000 gångers förstoring. Bakterierna är raka eller något böjda, relativt stora och stavformade. *D. nodosus* är gram-negativ (röd-färgas) och har en terminal förstoring i en eller båda ändarna.

- olika stammar med en viss genetisk skillnad. Närmaste släkting till *D. nodosus* är *Sutonella indologenes*, men sekvenslikheten är endast ca 92 procent, vilket stödjer det faktum att dessa båda bakterier har klassificerats i olika släkten.

DISKUSSION

Dichelobacter nodosus har nyligen isolerats från svenska får med fotröta i flera besättningar. I denna studie beskrivs hur man i prov tagna från får med kliniska tecken på fotröta påvisar växt av *D. nodosus* och utför en säker identifiering med hjälp av 16S rRNA-sekvensering. Odling av *D. nodosus* är en arbets- och tidskrävande process då bakterien är strikt anaerob och långsamväxande. Eftersom *D. nodosus* växer i ett område där det normalt finns en blandflora med

många olika bakterier är provtagningen av stor vikt för att få ett bra prov för odling avseende *D. nodosus*. Provet ska tas djupt i angripen vävnad alternativt under den separerade sulan eller väggen av klöven. Provet ska sedan förvaras i transportmedium för anaeroba bakterier och anlända till laboratoriet helst inom 24 timmar efter provtagningen.

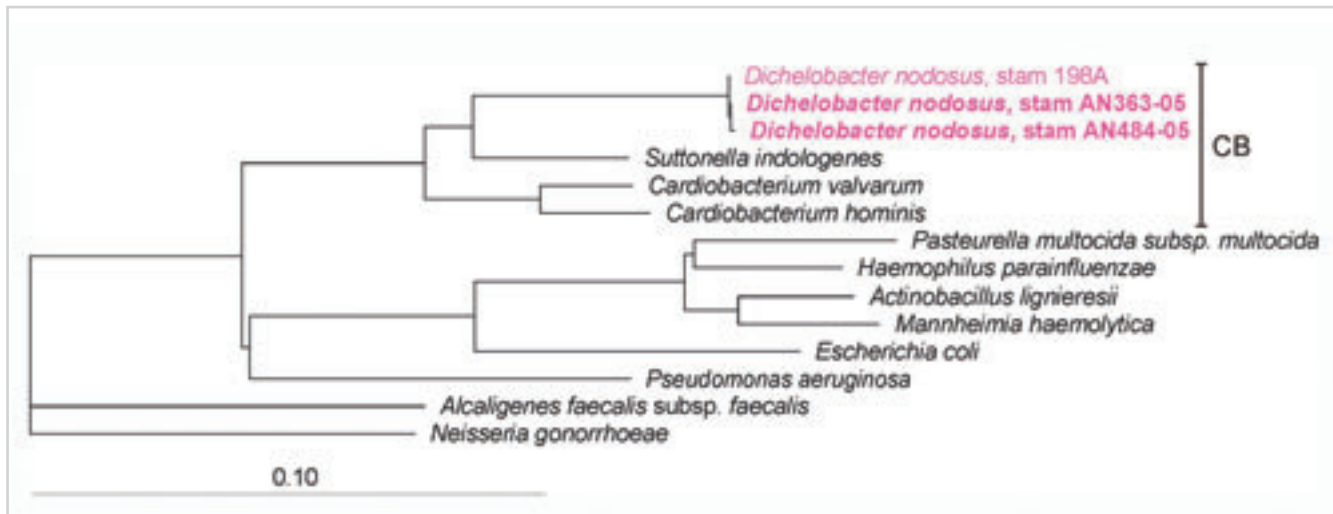
Odling av *D. nodosus* kräver selektiva agarplattor. En renkultur av *D. nodosus* växer bra på vanliga blodagarplattor avsedda för anaerob odling, t ex FAA-plattor. I ett prov innehållande en blandflora växer dock andra bakterier i regel över *D. nodosus*. Odling på hovagar har enligt litteraturen (15) och vår erfarenhet gett bra resultat. Hovagarplattor framställs av raspat horn från fårklövar. Det raspade hornet, som i denna studie

var 2 mm, ska vara jämnt fördelat i agarn, som autoklaveras vid tillverkning.

Hovagar går, så vitt författarna vet, inte att köpa kommersiellt. Hornämne från får rekommenderas, men det skulle vara intressant att jämföra och se om det skulle gå lika bra att använda hornämne från ett större djurslag som häst eller nötkreatur.

Under en tid har också Eugonagar innehållande antibiotikumet linkomycin används parallellt med hovagar. Då *D. nodosus*-kolonierna blev mindre och växte långsammare på Eugonagar än hovagar har vi fortsatt att använda endast hovagar trots merarbetet att skaffa raspat fårhorn och dessutom en relativt kort hållbarhet av plattorna (en månad).

Enligt Bergey's manual of determinative bacteriology (3) hydrolyserar *D.*



FIGUR 5. Evolutionärt träd baserat på 16S rRNA-sekvenser, som visar fylogenetiska relationer mellan alla beskrivna arter inom ordningen Cardiobacteriales, markerade med CB. *Dichelobacter nodosus* markeras med röd stil och de stammar, som har sekvenserats vid SVA, visas i fet stil. I figuren visas också representanter för ordningarna Pseudomonadales, Enterobacteriales och Pasteurellales, som också tillhör fylum Gammaproteobacteria. *Alcaligenes faecalis subsp. faecalis* och *Neisseria gonorrhoeae* användes som utgrupp vid konstruktion av trädets. Skallstreckets motsvarar tio nukleotidsubstitutioner på 100 positioner.

nodosus gelatin varvid svavelväte, H_2S produceras. Eftersom det kan behövas upp till fem veckors anaerob inkubering för biokemiska tester (12) och bakterien för övrigt är tämligen biokemiskt inaktiv (3), utförde vi en sekvensering av 16S rRNA-genen från de isolerade stammarna. Sekvensanalys av 16S rRNA-genen från de misstänkta isolaten visade tydligt att de representerade *D. nodosus*. Sekvensering ger en säker identifiering av isolaten, men är arbets- och tidskrävande. I framtiden kan det vara av intresse, för att erhålla en snabbare och enklare typning, att sätta upp en PCR för påvisande av *D. nodosus*-bakteriens DNA från de isolerade stammarna och om möjligt också direkt från provmaterialet.

Eftersom det finns både en virulent form, som ger upphov till fotröta, och en benign form, som involverar den interdigitala huden, är det av vikt att isolaten studeras vidare för att man ska få en uppfattning om sjukdomen i de svenska besättningarna. Det kan vara svårt att kliniskt skilja mellan benign fotröta och ett tidigt skede av den virulenta formen av sjukdomen (12). De svenska isolaten sänds därför till England för virulensstestning och serotypning. I internationell litteratur finns

PCR-system beskrivna för differentiering av isolat av benign och virulent form (6).

D. nodosus kan ibland också observeras i ett gramfärgat direktutstryk från aktivt område under sulan eller från interdigitalhuden. Det kan dock vara svårt att avläsa utstryket, eftersom *D. nodosus* oftast förekommer i blandflora med många olika bakterier (15).

Fusobacterium necrophorum kan ofta isoleras från prover tagna från klövar från får med fotröta. I de prover som kom till laboratoriet, påvisades växt av *F. necrophorum* i drygt hälften av proven. Enligt litteraturen är förekomst av *F. necrophorum* ofta en förutsättning för att *D. nodosus* ska växa och fotröta ska utvecklas (12). Många gånger kan det dock vara svårt att isolera *F. necrophorum* eftersom det ofta växer en riklig blandflora med till exempel *Proteus* spp, som kan växa över. I vissa fall kunde lukt av *F. necrophorum* kännas, men det gick ändå inte att renodla de misstänkta kolonierna trots upprepade försök.

SAMMANFATTNING

Dichelobacter nodosus kan nu odlas i Sverige och har isolerats från får med fotröta i flera besättningar. Provtagningen är av stor vikt eftersom en konta-

minerande flora i regel förekommer. Odling av bakterien kräver anaerob inkubering och selektiva substrat, till exempel hovagar. Sekvensering av 16S rRNA-genen ger en säker identifiering av isolaten.

TACK

Författarna riktar sitt varma tack till Helen Björk Averbil, Ulrika König och Lisbeth Rudby Martin, Svenska Djurhälsovården AB för ett givande samarbete och för insändande av prover. Vidare vill vi tacka Alison March, Veterinary Laboratories Agency, Winchester, England och Lynda Moore, Dep of Clinical Science, Langford House, Langford, England för värdefulla diskussioner i samband med diagnostik av fotröta.

SUMMARY

Isolation and characterization of *Dichelobacter nodosus* from sheep in Sweden.

Dichelobacter nodosus have been isolated from sheep with foot-rot in Sweden. The cultivation on selective media is described. Sequence analysis of the 16S rRNA genes of the suspected isolates clearly showed that they represent *D. nodosus*. ➤

Referenser

- Dewhirst FE, Paster BJ, La Fontaine S & Rood JI. Transfer of *Kingella indologenes* (Snell and Lapage 1976) to the genus *Suttonella* gen nov as *Suttonella indologenes* comb Nov, transfer of *Bacteroides nodosus* (Beveridge 1941) to the genus *Dichelobacter* gen nov as *Dichelobacter nodosus* comb Nov, and assignment of the genera *Cardiobacterium*, *Dichelobacter*, and *Suttonella* to *Cardiobacteriaceae* fam nov in the gamma division of *Proteobacteria* on the basis of 16S rRNA sequence comparisons. *Int J Syst Bacteriol*, 1990, 40, 426–433.
- Gradin JL & Schmitz JA. Selective medium for isolation of *Bacteroides nodosus*. *J Clin Microbiol*, 1977, 6, 298–302.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST & Hensyl WR, eds. Gram-negative, anaerobic, straight, curved, and helical bacteria. In: *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed. Baltimore, Maryland, USA, Williams & Wilkins, 1994, 315–322.
- Lindskog BI & Zetterberg BL. Medicinsk terminologi lexikon. Stockholm, Nordiska Bokhandelns Förlag, 1981.
- Liu D & Webber J. A polymerase chain reaction assay for improved determination of virulence of *Dichelobacter nodosus*, the specific causative pathogen for ovine footrot. *Vet Microbiol*, 43, 1995, 197–207.
- Liu D & Wong K. Improved laboratory diagnosis of ovine footrot: an update. *Vet J*, 1997, 153, 99–105.
- Ludwig W & Klenk H-P. Overview: A phylogenetic backbone and taxonomic framework for procaryotic systematics. In: Garrity GM, ed. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol 1, 2nd ed. New York, NY, Springer-Verlag, 2001, 49–65.
- Naylor RD, Martin PK, Jones JR & Burnell MC. Isolation of spirochaetes from an incident of severe virulent ovine footrot. *Vet Rec*, 1998, 143, 690–691.
- Olofsson A, Bergsten C & Björk Averpil H. Smittsam klövsjukdom hos får diagnostiserad för första gången i Sverige. *Svensk VetTidn*, 2005, 57, nr 11, 11–14.
- Plym Forsell L & Andersson L. Infektion med *Bacteroides nodosus* vid klövspaltdermatit hos ko. *Svensk VetTidn*, 1981, 33, 551–553.
- Quinn PJ, Carter ME, Markey B & Carter GR. Non-spore-forming anaerobic bacteria. In: *Clinical Veterinary Microbiology*. London, Wolfe Publishing, Mosby-Year Book Europe Limited, 1994, 184–190.
- Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly & Leonard FC. Pathogenic anaerobic non-spore-forming Gram-negative bacteria. Foot infections of cattle, sheep and pigs associated with microbial agents. In: *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Oxford, UK, Blackwell Science Ltd and Blackwell Publishing Company, 2002, 185–188, 476–480.
- Saitou N & Nei M. The neighbour joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol*, 1987, 4, 406–425.
- Skerman TM, Erasmussen SK & Every D. Differentiation of *Bacteroides nodosus* biotypes and colony variants in relation to their virulence and immunoprotective properties in sheep. *Infect and Immunity*, 1981, 32, 788–795.
- Stewart DJ & Claxton PD. Ovine footrot. Clinical diagnosis and bacteriology. In: Corner LA & Bagust TJ, eds. *Australian standard diagnostic techniques for animal disease*. Standing committee on agriculture and resource management. ISBN 0 643 052437. National Library of Australia Cataloguing-in-Publication Entry, 1993, 1–27.

Acta Veterinaria Scandinavica 2005, Vol 46, No 1–2

Contents

(Abstracts/contents are published in: AGRICOLA, AGRIS, Biological Abstracts, CAB Abstracts, Current Contents, Science Citation Index, Medline, Index Veterinarius, and Veterinary Bulletin).

Original articles

- Pregnancy Rates in Repeat-breeder Heifers Following Multiple Artificial Inseminations during Spontaneous Oestrus. Singh B, Saravia F, Båge R, Rodriguez-Martinez1
- IS900 Restriction Fragment length Polymorphism (RFLP) Analysis of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Isolates from Goats and Cattle in Norway. Dønne B, Pavlik I, Svastova P, Bartos M, Holstad G ...13
- Is Snow a sufficient Source of Water for Horses kept Outdoors in Winter? A Case Report. Mejdell M, Simensen E, Bøe KE19
- Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., Verocytotoxic *Escherichia coli*, and Antibiotic Resistance in Indicator Organisms in Wild Cervids. Lillehaug A, Bergsjø B, Schau J, Bruheim T, Vikøren T, Handeland K23
- Endocrine and Ovarian Changes in Response to the Ram Effect in Medroxyprogesterone Acetate-primed Corriedale Ewes During the Breeding and Nonbreeding Season. Ungerfeld R, Carbajal B, Rubianes E, Forsberg M33
- Description of the Infection Status in a Norwegian Cattle Herd Naturally Infected by *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. Holstad G, Sigurdarðóttir ÖG, Storset AK, Tharaldsen J, Nyberg O, Schönheit J, Dønne B45
- Stratification, Blinding and Placebo Effect in a Randomized, Double Blind Placebo-controlled Clinical Trial of Gold Bead Implantation in Dogs with Hip Dysplasia. Jæger GT, Larsen S, Moe L57
- An Investigation of the Ability of the Glutaraldehyde Test to Distinguish between Acute and Chronic Inflammatory Disease in Horses. Brink P, Wright JC, Schumacher J69
- Surgical Decompression in Dogs with Thoracolumbar Intervertebral Disc Disease and Loss of Deep Pain Perception: A Retrospective Study of 46 Cases. Laitinen OM, Puerto DA79
- Prescribing Antimicrobial Agents for Dogs and Cats via University Pharmacies in Finland – Patterns and Quality of Information. Hölsö K, Rantala M, Lillas A, Eerikäinen S, Huovinen P, Kaartinen L87
- Brief Communication**
- An Investigation of *Salmonella* Bacteria in Waterfowls and Migratory Birds in Norway. Refsum T, Holstad G, Kapperud G, Handeland K95
- Reindeer Warble Fly Larvae (*Hypoderma tarandi*) in a Moose (*Alces alces*) in Sweden. Ågren E, Chirico J101

***VIVECA BÅVERUD**, VMD, laboratorieveterinär, Avd för bakteriologi, Statens Veterinärmedicinska Anstalt, 751 89 Uppsala.

LAILA ERIKSSON, biomedicinsk analytiker, Avd för bakteriologi, SVA, 751 89 Uppsala.

GULL HOLMSTRÖM, biomedicinsk analytiker, Avd för bakteriologi, SVA, 751 89 Uppsala.

MARIANNE PERSSON, biomedicinsk analytiker, Avd för bakteriologi, SVA, 751 89 Uppsala.

ULLA ZIMMERMAN, biomedicinsk analytiker, Avd för bakteriologi, SVA, 751 89 Uppsala.

KARL-ERIK JOHANSSON, professor, Avd för livsmedelshygien och bakteriologi, Inst för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU, Box 7009, 750 07 Uppsala och Avd för bakteriologi, SVA, 751 89 Uppsala.