

Studien har tagits fram med stöd från Jordbruksverket/Djurskyddsmyndigheten.

Utveckling av alternativa metoder för diagnostik av botulism

Viveca Båverud, Statens Veterinärmedicinska Anstalt

Under senare år har svenska fjäderfäbesättningar drabbats svårt av den dödliga sjukdomen botulism. Sjukdomen uppkommer till följd av förgiftning med ett nervgift, botulinumtoxin, producerat av jordbakterien *Clostridium (C.) botulinum*. Den klassiska symptombilden är muskelförlamning och död på grund av andningsförlamning. Eftersom många fåglar dör i flocken är de ekonomiska konsekvenserna stora för enskilda djurägare men även hela fjäderfäneringen är hårt drabbad av de senaste årens upprepade utbrott av fjäderfäbotulism.

Botulism har också rapporterats hos vilda sjöfåglar, framför allt i södra Sverige. Under senare år har ett stort antal vilda fåglar dött under sommaren, den så kallade ”fågeldöden” och botulism har diagnostiserats. Kännedom om bakomliggande orsaker för förgiftningarna hos båda dessa djurgrupper är oklar. Det är därför nödvändigt att utveckla diagnostiken för att göra det möjligt att undersöka ett stort antal prover.

Det finns olika toxiner (A-G), som kan produceras av olika stammar av *C. botulinum*. Förgiftning hos fåglar orsakas främst av botulinumtoxin C och D. Eftersom dessa inte förorsakar sjukdom hos människa, har mycket lite forskning bedrivits internationellt för att utveckla alternativa metoder för diagnostik av just dessa typer av botulism.

Sjukdomen diagnostiseras idag genom att toxinet påvisas i blodet hos de sjuka fåglarna i en s.k. mustest. Mustesten är mycket känslig och det finns inga etablerade alternativa metoder för att detektera alla toxiner med samma höga känslighet. Ett stort antal prover är dock omöjligt att analysera med denna test av både etiska och praktiska skäl. Därför är det nödvändigt att utveckla alternativa metoder där djurförsök helt kan undvikas. De alternativa tester som utvecklas kan även användas för diagnostik av de sporadiska fall som uppträder hos andra djurslag.

Projektet innefattar utveckling av alternativ diagnostik för att påvisa bakterien samt toxinet. På SVA har vi redan minskat användningen av möss då vi istället har utvecklat en PCR-test för att påvisa *C. botulinum* i olika provmaterial, efter anrikning av bakterien i odlingsbuljong. Metoden har använts i flera studier för att undersöka hur vanligt förekommande bakterien är i tarmar hos fåglar och i miljön.

För att påvisa toxinet har vi valt att undersöka möjligheten att använda en analysmetod baserad på s.k. masspektrometri, som är under utveckling i USA för alla botulinumtoxiner. Metoden bygger på att de olika toxinerna bryter ned en peptidkedja på olika sätt. Nedbrytningsprodukterna, som är specifika för varje toxin, påvisas sedan med hjälp av en masspektrometer. Preliminära resultat tyder på att metoden är minst lika känslig som mustesten.

Sammanfattningsvis syftar dessa studier till att minska användandet av försöksdjur och i slutändan att mustesten helt ersätts med alternativa laboriemetoder. Mustesten används inte vid utveckling av PCR eller i studien av masspektrometri.