



Förekomst av *Capnocytophaga canimorsus* och *Capnocytophaga cynodegmi* hos hund

Hur vanliga är de i hundens munflora?

Denize Lexros Andersen

Självständigt arbete • 30 hp
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Uppsala 2024



Förekomst av *Capnocytophaga canimorsus* och *Capnocytophaga cynodegmi* hos hund – Hur vanliga är de i hundens munflora?

Occurrence of Capnocytophaga canimorsus and Capnocytophaga cynodegmi in dogs – How common are they in the dog's oral flora?

Denize Lexros Andersen

Handledare: Peter Halvarsson, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens biovetenskaper

Bitr handledare: Ingrid Hansson, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens biovetenskaper

Examinator: Sara Frosth, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för husdjurens biovetenskaper

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX1003

Program/utbildning: Veterinärprogrammet

Kursansvarig inst.: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2024

Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.

Nyckelord: zoonos, bakterieanalys, PCR, Maldi-Tof MS, munhåla

Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Capnocytophaga canimorsus och *Capnocytophaga cynodegmi* är gramnegativa bakterier som ofta ingår i den normala munfloran hos hundar. Hos människa kan *Capnocytophaga* spp. orsaka framför allt sårinfektioner efter bit-skador och *C. canimorsus* kan orsaka allvarliga infektioner efter hundbett såsom sepsis med hög mortalitet. I denna studie undersöktes förekomsten av *Capnocytophaga* spp., *C. canimorsus*, *C. cynodegmi*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus canis* och *Staphylococcus pseudintermedius* i munhålan hos hund med PCR samt bakteriologisk odling inklusive typning med Maldi-Tof MS. Prover togs från 50 hundar, majoriteten från Uppsala län. Vid undersökning med hjälp av PCR påvisades *Capnocytophaga* spp. i 94 % av proven, *C. canimorsus* 74 %, *C. cynodegmi* 60 %, *P. multocida* 78 %, *S. canis* 90 % och *S. pseudintermedius* 48 %. Vid undersökning med hjälp av odling och Maldi-Tof MS påvisades *Capnocytophaga* spp. i 20 % av proven från munfloran, *C. canimorsus* 2 %, *C. cynodegmi* 10 % och *S. canis* 16 %. Förekomst av *S. pseudintermedius* och *P. multocida* kunde inte påvisas. PCR visade en högre detektionskänslighet än bakteriologisk odling. Ett signifikant statistiskt samband kunde ses mellan ålder och *C. canimorsus* samt *C. cynodegmi* där hundar ≥ 5 års ålder oftare var bärare, medan hundar mellan 6 månader och 5 års ålder sällan var bärare. Ingen av de tre hundar ≤ 6 månaders ålder var bärare av *C. canimorsus* då samtliga PCR undersökningar var negativa.

Nyckelord: zoonos, bakterieanalys, PCR, Maldi-Tof MS, munhåla

Abstract

Capnocytophaga canimorsus and *Capnocytophaga cynodegmi* are gram negative bacteria which often are included in the normal oral flora in dogs. In humans *Capnocytophaga* spp. can cause mostly wound infections and *C. canimorsus* can cause serious infections such as sepsis with a high mortality. In the present study the occurrence of *Capnocytophaga* spp., *C. canimorsus*, *C. cynodegmi*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus canis* and *Staphylococcus pseudintermedius* in the canine oral cavity with PCR and conventional culture methods and identification with Maldi-Tof MS. Samples were taken from 50 dogs, the majority of which were from Uppsala County. The occurrence of *Capnocytophaga* spp. analyzed by PCR were 94%, *C. canimorsus* 74%, *C. cynodegmi* 60%, *P. multocida* 78%, *S. canis* 90% and *S. pseudintermedius* 48 %. The occurrence of *Capnocytophaga* spp. analysed by conventional culture methods and Maldi-Tof MS were 20%, *C. canimorsus* 2%, *C. cynodegmi* 10% and *S. canis* 16%. *Staphylococcus pseudintermedius* and *P. multocida* could not be detected. PCR showed a higher sensitivity of detecting bacteria compared to conventional culture methods. A significant statistical correlation could be seen between age and *C. canimorsus* or *C. cynodegmi* where dogs ≥ 5 years old were more often colonized compared with dogs between the age of 6 months and 5 years. None of the dogs ≤ 6 months were colonized by *C. canimorsus* as all of them were negative.

Keywords: Zoonosis, bacterial analysis, PCR, Maldi-Tof MS, oral cavity

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	10
Figurförteckning.....	11
Förkortningar	13
1. Inledning	15
2. Litteraturoversikt över bakterier som ofta förekommer i munhålan hos hund	16
2.1 Hundens munflora.....	16
2.2 <i>Capnocytophaga</i> spp.....	17
2.2.1 <i>Capnocytophaga canimorsus</i>	18
2.2.2 <i>Capnocytophaga cynodegmi</i>	21
2.2.3 <i>Capnocytophaga canis</i>	22
2.2.4 <i>Capnocytophaga catalasegens</i>	22
2.2.5 <i>Capnocytophaga felis</i>	23
2.2.6 " <i>Capnocytophaga stomatis</i> "	23
2.3 <i>Pasteurella multocida</i>	23
2.4 <i>Streptococcus canis</i>	24
2.5 <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	26
3. Material och metoder	28
3.1 Insamling av material	28
3.2 Hantering och odling av prov	28
3.3 Identifiering av bakterier.....	29
3.4 Extraktion av DNA.....	30
3.5 PCR.....	30
3.6 Statistiska metoder	31
4. Resultat	32
4.1 Bakteriologisk odling	32
4.2 PCR.....	35
4.3 Samband med faktorer	37

4.4	Jämförelse av känslighet mellan PCR och bakteriologisk odling	38
5.	Diskussion	40
5.1	Bakteriologisk odling	40
5.2	PCR.....	42
5.3	Samband och analysmetoder	43
5.4	Slutsats	44
	Referenser.....	45
	Populärvetenskaplig sammanfattning	54
	Tack.....	55
	Bilaga 1.....	56
	Bilaga 2.....	57

Tabellförteckning

Tabell 1. Primers som användes vid PCR. Primern för <i>Capnocytophaga</i> spp. är utvecklad för detektion av <i>C. canimorsus</i> och <i>C. cynodegmi</i>	31
Tabell 2. Sammanställning över förekomst av undersökta bakterier i prov från munhålan hos 50 hundar med PCR respektive bakteriologisk odling. I <i>Capnocytophaga</i> spp. för bakteriologisk odling ingår även de som identifierats som <i>C. cynodegmi</i> eller <i>C. canimorsus</i>	36
Tabell 3. Tabell över antalet och andelen positiva prover av respektive bakterie med PCR och bakteriologisk odling för prov 1-25 samt 26-50. I <i>Capnocytophaga</i> spp. för bakteriologisk odling ingår även de som identifierats som <i>C. cynodegmi</i> eller <i>C. canimorsus</i>	39

Figurförteckning

- Figur 1. *Capnocytophaga canimorsus* odlad på hematinagar under 4 dygn i 5 % CO₂ vid 37 °C. Längden på skalstrecken motsvarar 10 (A) respektive 3 (B) mm (VetBact 2023). 19
- Figur 2. *Pasteurella multocida* subsp. *multocida* odlad aerobt på nötblodagar under 3 dygn vid 37 °C (Vetbact 2010). 24
- Figur 3. *Streptococcus canis* odlad aerobt på nötblodagar med eskulin vid 37 °C under 24 timmar. Fotograferad med ljus ovanifrån (A och förstoring) samt underifrån (B). Längden av skalstrecket motsvarar 1 mm (A och B) samt 5 mm (förstoringen) (Vetbact 2011). 25
- Figur 4. *Staphylococcus pseudintermedius* odlad aerobt under 1 dygn på nötblodagar vid 37 °C. Pilarna pekar på gränsen mellan den inre fullständiga och yttre hemolysen. Skalstrecket motsvarar 5 mm. (Vetbact u.å.). 26
- Figur 5. Fördelning av kön och ålder för de 50 hundar som provtogs för PCR och bakteriologisk undersökning av munhålan. 32
- Figur 6. *Capnocytophaga cynodegmi* i blandflora på hematinagar med gentamycin efter 5 dygn vid 37 °C och 5 % CO₂. Förstoring till höger. 33
- Figur 7. Renodling av två kolonier *Capnocytophaga cynodegmi* med skiljande morfologi på hematinagar med jäst efter 5 dygn vid 37 °C och 5 % CO₂. Stammen längst upp till vänster i bild (förstoring i bild A) har en vit skimrande färg medan stammen längst ner till höger (förstoring i bild B) är brunaktig och fuktig till utseendet. 34
- Figur 8. *Capnocytophaga canimorsus* i blandflora på hematinagar med gentamycin efter 5 dygn vid 37 °C och 5 % CO₂. Förstoring till höger. 34
- Figur 9. Renodling av *Capnocytophaga canimorsus* (från figur 8) på hematinagar med jäst efter 5 dygn vid 37 °C och 5 % CO₂. Förstoring till höger. 35
- Figur 10. Venn-diagram som visar hur förekomst av *Capnocytophaga cynodegmi* och *Capnocytophaga canimorsus* överlappar. Siffrorna anger antal samt andel av 50 hundar som var positiva för endast *C. cynodegmi* (vänster), både *C. cynodegmi* och *C. canimorsus* (mitten) och endast *C. canimorsus* (höger). 36

Figur 11. Gelelektroforesbild med PCR-produkter från positiva prover samt renodlade stammar som referenser. För *C. canimorsus* och *C. cynodegmi* användes primern för *Capnocytophaga* spp. 100 bp stege i brunn 1, 8 och 15; prov positivt för *Streptococcus canis* och *Capnocytophaga* spp. i brunn 2; prov positivt för *S. canis* i brunn 3; prov positivt för *Capnocytophaga* spp. i brunn 4; positiv kontroll för *Capnocytophaga canimorsus* i brunn 5; positiv kontroll för *Capnocytophaga cynodegmi* i brunn 6; negativ kontroll i brunn 7 och 14; prov positivt för *Staphylococcus pseudintermedius* och *Pasteurella multocida* i brunn 9 och 10; prov positivt för *P. multocida* i brunn 11; positiv kontroll för *S. pseudintermedius* i brunn 12; positiv kontroll för *P. multocida* i brunn 13.... 37

Figur 12. Fördelning av förekomsten av *Capnocytophaga* i prov från munhålan hos hund analyserade med PCR..... 38

Figur 13. Fördelning av värdena för Cohen's kappa för respektive bakterier för samtliga prover. Värden <0 indikerar att ingen överensstämmelse finns och värden mellan 0–0,2 en svag överensstämmelse. P-värde 0,05. 39

Förkortningar

COBA	Kolistin-Oxolinsyra-Blod Agar
Maldi-Tof MS	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry
OR	Odds ratio
PCR	Polymerase chain reaction
RR	Risk ratio

1. Inledning

Hund- och kattbett orsakar runt 1 % av årliga humana akutbesök till vårdinrättningar i USA, med liknande siffror i Europa (Oehler *et al.* 2009; Razali *et al.* 2020). Den vanligaste bettrelaterade komplikationen är sårinfektion (Morzycki *et al.* 2019). Hundar står för cirka 60 % av de djurrelaterade betten och det uppskattas att omkring 3-18 % av hundbetten blir infekterade (Razali *et al.* 2020).

Capnocytophaga cynodegmi och *Capnocytophaga canimorsus* är bakterier som ingår i den normala munfloran hos både hundar och katter, men hos människor kan dessa bakterier orsaka sårinfektioner som kan leda till allvarligare infektioner såsom sepsis med en hög mortalitet (Umeda *et al.* 2014; Butler 2015; Beauruelle *et al.* 2022; Sardo *et al.* 2022). Infektion sker framför allt via bett, men även rivsår, slickande samt närkontakt och de som drabbas är huvudsakligen immunsupprimerade individer. I många fall tänker man inte på sambandet mellan sårskada och sjukdom då såret kan vara så litet att det anses obetydligt eller redan vara under läkning när tecken på sjukdom uppstår.

Capnocytophaga spp. Är svårödlade bakterier som lättast isoleras från blodprover från människor med sepsis eller svabbar från sårinfektioner där bakterierna finns i höga koncentrationer och oftast är den dominerande bakterien (Janda *et al.* 2006). Odling från svabb från munhålan där bakterien förekommer i relativt låga koncentrationer och riklig blandflora försvårar detektion och identifikation (Zangenah *et al.* 2012). Det finns få studier som undersökt prevalensen av bakterien hos friska hundar och ingen av dessa studier har gjorts i Sverige.

Syftet med studien är att i) studera förekomsten av *C. canimorsus* och *C. cynodegmi* i munfloran hos svenska hundar, ii) att studera skillnaden mellan bakteriologisk odling och PCR avseende känsligheten för att diagnosticera bakterier samt iii) att ge en ökad kunskap om den bakteriella munfloran hos hundar i Sverige, bland annat avseende samband till faktorer såsom ålder, kön, foder och tandborstning.

2. Litteraturoversikt över bakterier som ofta förekommer i munhålan hos hund

2.1 Hundens munflora

Munhålan utgör en varierad miljö med många olika platser där en rik och mångfaldig bakterieflora kan trivas och tillse sina tillväxtbehov (Sturgeon *et al.* 2013; Bell *et al.* 2020). Hos en vuxen människa förekommer mellan 50 och 100 miljoner bakterier i munhålan, tillhörande omkring 200 arter. Liknande siffror har observerats hos hundar, även om det finns en betydande variation mellan arterna. Bakteriefloren spelar en avgörande roll i att förhindra kolonisation av exogena organismer och är därför essentiell för god hälsa. Däremot är flera av de bakterier som utgör normalfloran också associerade med olika sjukdomar och förändringar i bakteriefloren kan leda till opportunistiska infektioner. Bland normalfloran finns även bakteriearter som är eller misstänks vara zoonotiska. De vanligaste av dessa är *C. canimorsus* och *C. cynodegmi*.

Munfloran är dynamisk och många faktorer påverkar sammansättningen av den, däribland diet, omgivningsfaktorer, hälsostatus, antimikrobiella medel samt ålder (Bell *et al.* 2020; Davis & Weese 2022; Oba *et al.* 2022). Dessutom kan förändringar i mikrobiotan själv, såsom förändrat pH eller minskade syrenivåer påverka sammansättningen. Även professionell tandrengöring har observerats som en påverkande faktor, dock endast under en kort tid innan den återgår till sitt ursprungliga tillstånd (Flancman *et al.* 2018). Forskning har också visat att sammansättningen av arter förändras i samband med tandsjukdom (Oba *et al.* 2021; Davis & Weese 2022). Kompositionen av bakteriefloren varierar även beroende på var i munhålan man undersöker (Ruparell *et al.* 2020).

Till de vanligaste fyra som finns i normalfloran i munhålan hos hund ingår *Bacteroidota*, *Pseudomonadota*, *Bacillota*, *Fusobacteriota*, *Actinomycetota* samt *Spirochaetota* (Elliott *et al.* 2005; Sturgeon *et al.* 2013; Flancman *et al.* 2018; Bell *et al.* 2020; Ruparell *et al.* 2020; Oba *et al.* 2021, 2022). Bland de vanligaste genusen som påvisas är *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Capnocytophaga*, *Moraxella*, *Bergeyella*, *Actinomyces*, *Streptococcus*, *Neisseria* samt *Streptococcus*. Munfloran

hos hund är däremot inte lika grundligt studerad som hos människa och många taxa är ännu inte namngivna.

2.2 *Capnocytophaga* spp.

Genuset *Capnocytophaga* (Grekiska: *kapnos*: rök; Latin: *Cytophaga*: bakteriegenus), tillhör familjen *Flavobacteriaceae* och utgörs av gramnegativa stavformade bakterier (Brenner *et al.* 1989). De är långsamväxande kapnofiler och tillväxten stimuleras i en atmosfär med 5–10 % koldioxid. *Capnocytophaga* förekommer framförallt i munhålan där en artrik blandflora med bakterier som växer betydligt snabbare än *Capnocytophaga* gör dem svåra att påvisa (Zangenah *et al.* 2012). Optimal tillväxttemperatur är 35-37 °C och tillväxt sker med jäsning av kolhydrater som energikälla (Gaastra & Lipman 2010).

Genuset *Capnocytophaga* innehåller för närvarande 12 arter (LPSN 2023, Parte *et al.* 2020), varav sju (*C. gingivalis*, *C. granulosa*, *C. haemolytica*, *C. laedbetteri*, *C. ochracea*, *C. periodontitidis* och *C. sputigena*) har påvisats hos människa. Fem arter (*C. canimorsus*, *C. cynodegmi*, *C. canis*, *C. catalasegens* och *C. felis*) är zoonotiska patogener som påvisas relativt ofta i den normala munfloran hos hund och katt (Suzuki *et al.* 2010; Dilegge *et al.* 2011; Renzi *et al.* 2015; Zangenah *et al.* 2016). Därtill föreslår Zangenah *et al.* (2016) ”*C. stomatis*” som en ny art. *Capnocytophaga felis* har hittills endast påvisats hos katt. Hos hund är *C. canimorsus* och *C. cynodegmi* de arter med högst förekomst. Då *C. canis*, ”*C. stomatis*” och *C. felis* nyligen har upptäckts finns det endast ett fåtal studier där de nämns och begränsad kunskap om dem. Det finns därtill inga studier gjorda över prevalensen av dessa arter i mun-floran hos hund (Beauruelle *et al.* 2022).

De hund- och kattburna bakteriearterna överförs främst till människa via bett, följt av rivsår eller närkontakt (Lion *et al.* 1996). De är mest associerade med sårinfektioner efter bett och rivsår, samt för *C. canimorsus* mer allvarliga infektioner hos människa (Gaastra & Lipman 2010; Zangenah *et al.* 2012, 2016; Butler 2015). De humana *Capnocytophaga*-arterna har däremot visats vara associerade med parodontal sjukdom (Dilegge *et al.* 2011), även om de ibland isoleras från luftvägarna (Zangenah *et al.* 2016). Genuset *Capnocytophaga* har därtill rapporterats vara involverat i sjukdom hos hund, katt och kanin (Frey *et al.* 2003; Forman *et al.* 2005; van Duijkeren *et al.* 2006; Workman *et al.* 2008; Ledbetter *et al.* 2018). De fall som finns beskrivna omfattar bland annat keratit, pneumoni, bronkit, sårinfektion samt sinusit och rinit. I majoriteten av fallen finns andra komorbiditeter och *Capnocytophaga* anses vara en opportunistisk infektion. I vissa av dessa fall har det, likt hos människa, funnits en historik av bitskada eller interaktion med andra hundar som utgör en trolig infektionsväg.

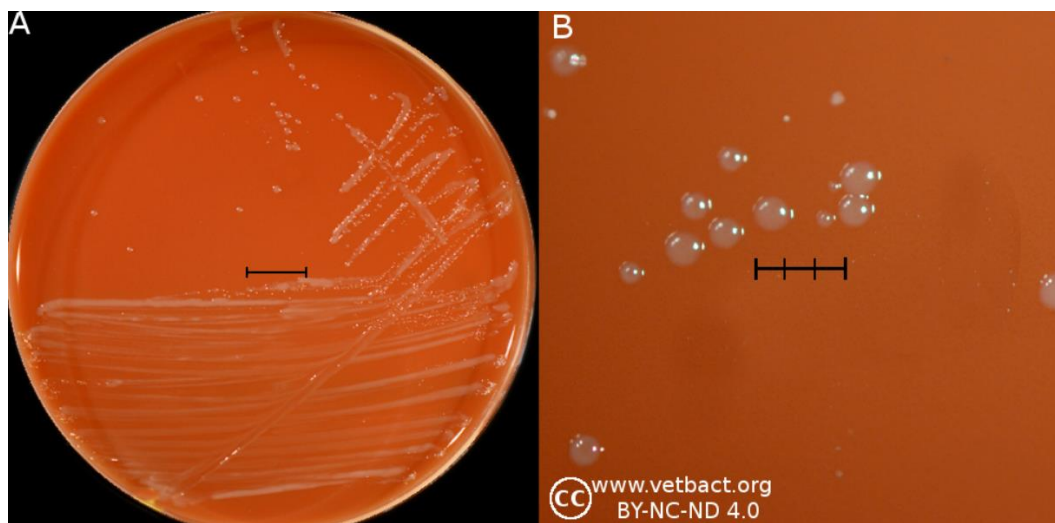
Resistens mot gentamycin/aminoglykosider hos *Capnocytophaga* spp. har rapporterats i flertalet studier (Forlenza *et al.* 1981; Rummens *et al.* 1986; Bremmelgaard *et al.* 1989; Lin *et al.* 1998; Tóth *et al.* 2022). Gentamycin är därmed användbart för selektion av *Capnocytophaga* spp. vid odling av prover med blandflora.

2.2.1 *Capnocytophaga canimorsus*

Makroskopiskt utseende

Capnocytophaga canimorsus (Latin: *canis*: hund; *morsus*: bett), tidigare kallad DF-2 (Dysgonic Fermenter-2), bildar små opaka vit-/gråaktiga kolonier med en diameter på 1-2 mm (figur 1) (Brenner *et al.* 1989; Dilegge *et al.* 2011; Zangenah *et al.* 2016; VetBact 2023). Ingen hemolys kan ses på blodagar. De beskrivs med ett varierande morfologiskt utseende och kan vara konvexa eller platta, regelbundna eller oregelbundna samt torra eller våta. Färgen på kolonierna har även beskrivits kunna variera från rosa till gult (Gaastra & Lipman 2010). *Capnocytophaga canimorsus* är katalas- och oxidaspositiva, biokemiska tester anses dock vara svåra att utföra på grund av den långsamma växten (Gaastra & Lipman 2010; VetBact 2023).

Bakterien behöver stora mängder järn för att växa och behöver inkuberas i minst fem dygn (Gaastra & Lipman 2010). Det finns studier som visat att *C. canimorsus* växer bättre på blodagar med hästblod än med fårblod. Ingen växt har observerats på MacConkey agar. Vissa studier har visat att Heart Infusion agar med 5 % får- eller kaninblod är det optimala odlingsmediet då kolonier observerats redan efter två dygns inkubering vid 37 °C och 5 % koldioxid (Brenner *et al.* 1989; Gaastra & Lipman 2010).



Figur 1. *Capnocytophaga canimorsus* odlad på hematinagar under 4 dygn i 5 % CO₂ vid 37 °C. Längden på skalstrecken motsvarar 10 (A) respektive 3 (B) mm (VetBact 2023).

Human infektion

Capnocytophaga canimorsus är den mest studerade av de djurrelaterade *Capnocytophaga*-arterna (Blanche *et al.* 1998; Mally *et al.* 2009; Suzuki *et al.* 2010; Dilegge *et al.* 2011; Umeda *et al.* 2014). Det är en primärt opportunistisk patogen som främst infekterar personer med nedsatt immunförsvar (Gaastra & Lipman 2010). Individer som genomgått splenektomi (33 % av fall) utgör den största riskgruppen och har därtill en 30–60 gånger ökad risk för fatal sepsis. Leversjukdom orsakad av alkoholism (24 % av fall) och användningen av kortison (3 % av fall) är andra predisponerande faktorer för infektion (Lion *et al.* 1996). Beurulle *et al.* (2022) observerade även att en stor del av drabbade var rökare (58 %) och 12,5 % led av diabetes mellitus. Infektion kan dock inträffa även hos friska individer (van Dam *et al.* 2009; Bialasiewicz *et al.* 2019; Tani *et al.* 2019; Keshava *et al.* 2020; Kelly *et al.* 2019).

Capnocytophaga canimorsus kan resultera i human infektion efter bett från hund och katt, liksom rivsår från katt, men det finns även fall beskrivet där endast föregående närkontakt med dessa djur skett (van Dam *et al.* 2009; Hansen & Crum-Cianflone 2019). Den vanligaste kliniska bilden är fulminant sepsis med hög mortalitet, men även endokardit, meningit, ögoninfektion, nekros i extremiteter samt hud-, mjukvävnads- och osteoartikulära infektioner har dokumenterats (Umeda *et al.* 2014; Butler 2015; Beuruelle *et al.* 2022; Sardo *et al.* 2022). Mortaliteten för dessa infektioner har varierat mellan 11–31 %.

Den kliniska utvecklingen av en *C. canimorsus*-infektion indikerar starkt att bakterien kan undvika immunsystemet (Gaastra & Lipman 2010). Avsaknaden av proinflammatorisk respons beror på att *C. canimorsus* inte interagerar med humana

Toll-like receptor 4 (TLR4). Den kan dessutom nedreglera TLR4 och den proinflammatoriska signalkaskaden (Shin *et al.* 2007).

Butler (2015) har sammanställt 484 fall av human infektion med *C. canimorsus* från ett flertal länder vilka publicerades under perioden 1961-2014. Sardo *et al.* (2022) har dokumenterat 207 fall beskrivna i 125 artiklar under perioden 1990–2022 i flera länder över hela världen. En retrospektiv studie i Frankrike identifierade 41 franska fall mellan 2009 och 2018 (Beauruelle *et al.* 2022). Antal infekterade människor rapporteras vara 0,5, 0,7 respektive 4,1 per miljon människor och år i Danmark, Nederländerna respektive Finland (Helsingfors) baserat på antalet fall rapporterade under perioden 1982-1995, 2003-2005 samt 2005-2014 (Pers *et al.* 1996; van Dam & Jansz 2011; Hästbacka *et al.* 2016). En ökning i antalet fall har setts, vilket sannolikt beror på förbättrade detektionsmetoder (Janda *et al.* 2006; Beauruelle *et al.* 2022).

Capnocytophaga canimorsus-infektioner diagnostiseras ofta fel på grund av bristen på en tillförlitlig och standardiserad metod att identifiera bakterien (Dilegge *et al.* 2011). Diagnostiken baseras oftast på konventionell bakterieodling från blodprov (88 %) och i vissa fall även från cerebrospinal vätska eller bitsår (Janda *et al.* 2006). Polyanetolsulfonat, ett antikoagulantia som ofta finns i automatiska blododlings-system, hämmar växten av *C. canimorsus* (Sowden *et al.* 1995). Den långsamma tillväxten av *C. canimorsus* kan även leda till diagnostiska problem då odlingsplattor rutinmässigt slängs efter fem dagar och då vissa stammar växer inte alls (Gaastra & Lipman 2010).

Förekomst hos hund

Studier om förekomsten av *C. canimorsus* i munfloran från hundar har utförts över hela världen, såsom Schweiz (Mally *et al.* 2009), Japan (Suzuki *et al.* 2010; Umeda *et al.* 2014), Nederländerna (van Dam *et al.* 2009), Taiwan (Lai *et al.* 2023), USA (Dilegge *et al.* 2011), Iran (Tabatabaei & Rouhani 2019) och Brasilien (Nogueira *et al.* 2021). De studier som har utförts på friska hundar visar dock en varierande prevalens från 1 till 74 %. Studier baserade på bakteriologisk odling och konfirmering med biokemiska tester visar en lägre prevalens medan studier baserade på DNA-detektion med PCR visar på en högre prevalens (Butler 2015; Beauruelle *et al.* 2022). Detta kan ses i några av följande exempel av studier baserade på bakteriologisk odling där Westwell *et al.* (1989) påvisade en prevalens på 24 %, Blanche *et al.* (1998) 26 % och Mally *et al.* (2009) ca. 60 %. Jämfört med exempel på studier baserade på DNA-detektion med PCR där Suzuki *et al.* (2010) observerade en prevalens på 74 %, van Dam *et al.* (2009) 73 % och Umeda *et al.* (2014) 70 %. Detta antas bero på att genuset är svårt att isolera och att PCR har en högre sensitivitet än bakteriologisk odling (Lai *et al.* 2023). Ett stort problem är också den rikliga blandfloran som finns i hundarnas munhåla som gör det svårt att

identifiera små och långsamväxande bakterier såsom *Capnocytophaga* spp. på odlingsplattan.

I några av de senare studierna som använt sig av PCR har däremot en lägre förekomst än vad som nämns ovan observerats. Tabatabaei & Rouhani (2019) observerade en prevalens av *C. canimorsus* på 16 %. Det bör dock noteras att alla provtagna hundar i studien var av samma kön, ras och ålder. Nogueira *et al.* (2021) påvisade en förekomst av *C. canimorsus* på 19 % och samtliga som var positiva för *C. canimorsus* hade även *C. cynodegmi*. Dilegge *et al.* (2011) observerade en förekomst av *C. canimorsus* på 22 %. Även Lai *et al.* (2023) konstaterade en lägre förekomst än vad som tagits upp tidigare och noterade skillnader mellan artspezifisk PCR (12 %) och 16S rRNA sekvensering (1 %).

I vissa studier har *C. canimorsus* visat sig vanligare hos hanhundar, kastrerade hundar och hundar av mindre storlek (<4,5kg) (Dilegge *et al.* 2011, Umeda *et al.* 2014). Andra studier har däremot inte kunnat påvisa någon koppling till dessa faktorer (Mally *et al.* 2009; van Dam *et al.* 2009; Nogueira *et al.* 2021). Därtill har ingen koppling till parodontal sjukdom kunnat fastställas (Nogueira *et al.* 2021). Dilegge *et al.* (2011) kunde även observera att det var få hundar under 6 månaders ålder som bar på *Capnocytophaga* spp.

2.2.2 *Capnocytophaga cynodegmi*

Makroskopiskt utseende

Capnocytophaga cynodegmi (Grekiska: *cynos*: hund; *degmi*: bett), tidigare kallad DF-2-like (Dysgonic Fermenter-2-like), bildar 2-4 mm stora kolonier på blodagar (Brenner *et al.* 1989; Zangenah *et al.* 2016). Dessa kolonier är konvexa eller platta och har en oregelbunden form med en jämn yta. Kolonier kan framträda ljuslila men samtliga är ljusgula när de skrapas av från agarn. I likhet med *C. canimorsus* växer *C. cynodegmi* bäst på Heart Infusion agar med 5 % kanin- eller fårblod och växer inte alls på MacConkey agar.

Human infektion

Bakterien ingår i normalfloran hos hund samt katt och kan infektera människa genom bitkada eller närkontakt med dessa djur (Brenner *et al.* 1989; van Dam *et al.* 2009). *C. cynodegmi* anses vara mindre patogen än *C. canimorsus* då den framförallt orsakar lokala sårinfektioner som sällan leder till systemisk infektion (Sarma & Mohanty 2001; Khawari *et al.* 2005). Den har dock associerats med ögoninfektion och kan i sällsynta fall leda till bakteriemi (van Dam *et al.* 2009).

Förekomst hos hund

Förekomsten av *C. cynodegmi* i munhålan hos hundar utan tecken på sjukdom varierar stort mellan de fåtal studier som är gjorda. Precis som för *C. canimorsus* ses en högre prevalens i de studier baserade på PCR jämfört med bakteriologisk odling. Studier baserade på bakteriologisk odling, som de av Westwell *et al.* (1989) och Dilegge *et al.* (2011) påvisade en prevalens på 11 % respektive 12 %. Däremot visar studier baserade på PCR en stor spridning med förekomster från 29 % (Tabatabaei & Rouhani 2019) och 48 % (Lai *et al.* 2023) till 67 % (Nogueira *et al.* 2021) och 96 % (van Dam *et al.* 2009).

Det finns studier som observerat ett signifikant samband mellan förekomsten av *C. cynodegmi* och grad av parodontal sjukdom (Nogueira *et al.* 2021). Dock fann Wallis *et al.* (2021) ingen association mellan förekomst av *Capnocytophaga* spp. och parodontal sjukdom när de analyserade den subgingivala mikrobiotan hos hundar från olika länder. Ytterligare data behövs för att kunna klargöra om samband finns. Vad gäller parametrar såsom ålder, kön och ras har inget samband kunnat säkerställas (van Dam *et al.* 2009; Suzuki *et al.* 2018; Lai *et al.* 2023).

2.2.3 *Capnocytophaga canis*

Capnocytophaga canis (Latin: *canis*: från hund) är en art som nyligen har isolerats från munhålan hos friska hundar i Japan (Suzuki *et al.* 2018). Den är katalaspositiv och oftast oxidasnegativ men det finns stammar som är oxidaspositiva. En studie tyder på att *C. canis* inte är lika patogen för människa som *C. canimorsus* (Renzi *et al.* 2015). Den har däremot hittills isolerats från människor med sepsis eller sårinfektion efter katt- och hundbett, rivskada från katt samt kontakt med hund (Zangenah *et al.* 2016; Suzuki *et al.* 2018; Donner *et al.* 2020). Det begränsade antalet isolat av *C. canis* jämfört med det stora antalet isolat av *C. canimorsus* indikerar dock att *C. canis* är mindre involverad i humana infektioner än *C. canimorsus* (Renzi *et al.* 2018). Däremot har flertalet stammar av *C. canis* tidigare feldiagnostiserats som *C. canimorsus* och förekomsten kan därmed vara högre än vad som hittills rapporterats (Renzi *et al.* 2015, 2018).

2.2.4 *Capnocytophaga catalasegens*

Capnocytophaga catalasegens (Latin: *catalasum*: katalas; *egens*: sakna) är en nyligen upptäckt art som isolerats från munhålan hos friska katter i Japan (Suzuki *et al.* 2023). Bakterien växer med 2–3 mm stora gul-orangea kolonier på blodagar. Ingen växt ses på MacConkey agar. Den är oxidaspositiv, men som namnet antyder är den katalasnegativ till skillnad från övriga nuvarande identifierade arter inom genuset.

2.2.5 *Capnocytophaga felis*

Ytterligare en ny art inom *Capnocytophaga* är *C. felis* (Latin *felis*: från katt). Denna har isolerats från munhålan hos friska katter i Japan (Suzuki *et al.* 2020). Bakterien är oxidas- och katalaspositiv samt växer med 1–2 mm stora vit-grå kolonier på blodagar. Den är svår att skilja från *C. canimorsus* genom biokemiska tester. Därmed är det möjligt att den tidigare feldiagnosticerats som *C. canimorsus* och förekommer i större utsträckning än vad som hittills rapporterats.

2.2.6 “*Capnocytophaga stomatis*”

Zangenah *et al.* (2016) föreslår ”*Capnocytophaga stomatis*”, (Grekiska: *stoma*: mun) som en ny art vilken isolerats från sårinfektion hos människa efter bitt från såväl hund som katt. Arten är genetiskt närmast *C. cynodegmi* och är precis som övriga inom genus *Capnocytophaga* en långsamväxande kapnofil bakterie. Morfologin hos kolonierna på blodagar är liknande. ”*Capnocytophaga stomatis*” är däremot större än *C. cynodegmi* (1–2 mm) men har en färg liknande *C. canimorsus* (opaka och något gråaktiga). ”*Capnocytophaga stomatis*” visar hemolys på blodagar och är oxidas- och katalaspositiv.

Det finns ett rapporterat fall av bakteriemi orsakad av ”*C. stomatis*” hos människa (Shinohara *et al.* 2022). Patienten var immunsupprimerad med en historik av multipelt myelom. Hon bodde tillsammans med en katt som ofta slickade och rev henne på det affekterade benet. Detta anses kunna utgöra en trolig källa för infektionen.

2.3 *Pasteurella multocida*

Pasteurella multocida (Pasteurella: från Louis Pasteur; multus: många; caedo: att döda) är en gramnegativ fakultativt anaerob stavformad bakterie vilken ger små mukoida eller torra kolonier (1–2 mm i diameter) (figur 2) som inte hemolyserar. Arten består av tre underarter *multocida*, *septica* samt *gallicida* (Maraki *et al.* 2018). *Pasteurella multocida* har rapporterats vara en av den vanligaste bakterierna för humana infektioner orsakade av hundbett (Damborg *et al.* 2016). Det finns studier där den isolerats i 50 % av proven från hundbett på människa och i sällsynta fall även efter slickande från hund (Chang *et al.* 2007; Maraki *et al.* 2018).



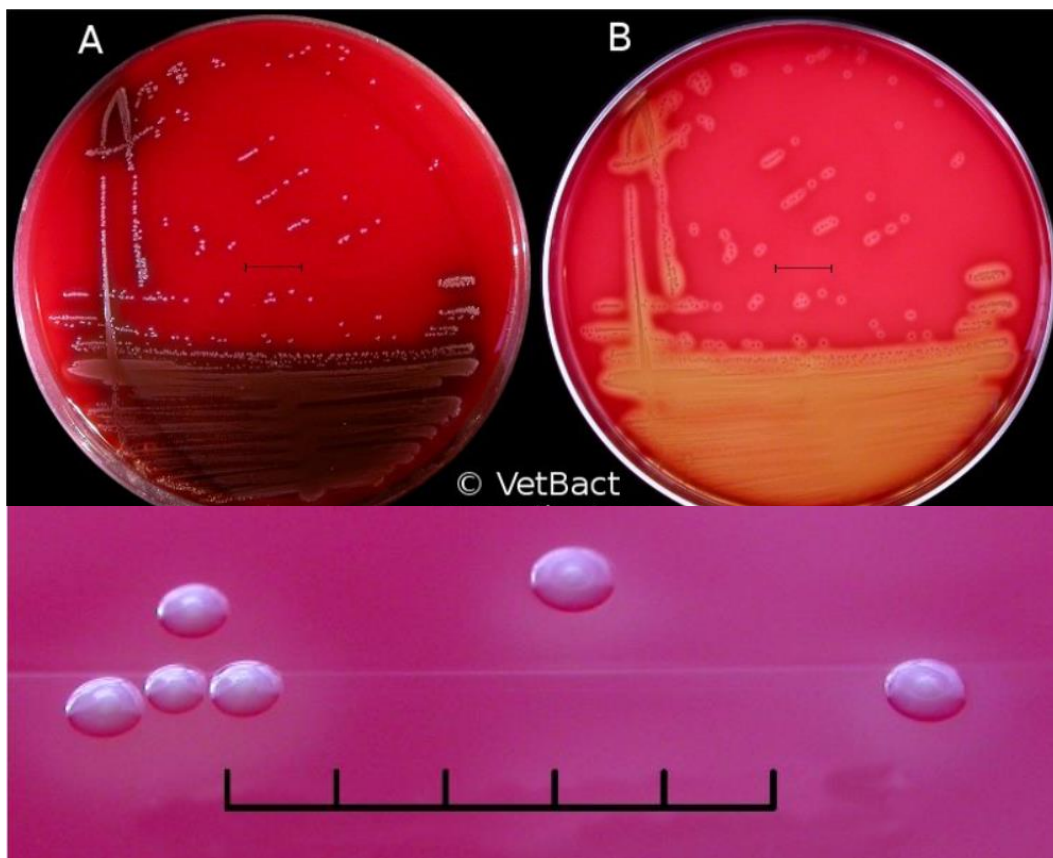
Figur 2. *Pasteurella multocida subsp. multocida* odlad aerobt på nötblodagar under 3 dygn vid 37 °C (Vetbact 2010).

Typiska kliniska symtom vid sårinfektion orsakad av *P. multocida* är cellulit, mjukdelsabscesser och purulenta sår (Razali *et al.* 2020). Infektionen är allvarlig och kan orsaka komplikationer som tenosynovit, osteomyelit och septisk artrit. Utöver lokala infektioner kan *P. multocida* även orsaka systemiska infektioner med bland annat septikemi, meningit, pneumoni och endokardit, framför allt hos immunsupprimerade individer.

Arnbjerg (1978) påvisade en förekomst av *P. multocida* i munhålan hos 55 % av hundar. Studien visade även en ökad förekomst hos hundar med dålig munhygien samt en tendens till att små hundar hade ökad risk för att vara bärare än större hundar. Nyare studier visar dock en lägre prevalens på 10-13 % (Razali *et al.* 2020; Santaniello *et al.* 2020; Ujvári *et al.* 2020).

2.4 *Streptococcus canis*

Streptococcus canis (Grekiska: *streptos*: böjlig, eftergivlig; *kokkos*: säd; Latin: *canis*: från hund) är en av de vanligaste patogena arterna av streptokocker hos hund (Lamm *et al.* 2010). På blodagar växer *S. canis* med små β -hemolytiska kolonier (1 mm i diameter) efter 24 timmars inkubering vid 37 °C på blodagar (figur 3) (VetBact 2023). Bakterien är en grampositiv, fakultativt anaerob kock som förekommer i par eller korta kedjor. Det är en opportunistisk patogen som är en del av normalfloran på såväl hud som slemhinna och orsakar framför allt hudinfektioner samt otitis externa (Lysková *et al.* 2007; Pagnossin *et al.* 2022). I sällsynta fall kan invasiva och allvarliga sjukdomar såsom myokardit, artrit, pneumoni, meningit, sepsis och streptococcal toxic shock syndrome (STSS) ses (Prescott *et al.* 1995; Pesavento *et al.* 2007).



Figur 3. *Streptococcus canis* odlad aerobt på nötblodagar med eskulin vid 37 °C under 24 timmar. Fotograferad med ljus ovanifrån (A och förstoring) samt underifrån (B). Längden av skalstreckat motsvarar 1 mm (A och B) samt 5 mm (förstoringen) (Vetbact 2011).

De vanligaste anatomiska lokalisationerna som bakterien isoleras från är oralt, nasalt, yttre hörselgången, rektum samt genitalia (Pagnossin *et al.* 2022). Publicerade studier över förekomst av *S. canis* i munhålan hos friska hundar saknas. Det närmaste är Lysková *et al.* (2007) som observerade en förekomst på 8 % i prov från både näs- och munhåla.

Få fall av infektioner orsakade av *S. canis* har diagnosticerats hos människa, dock är den faktiska prevalensen svår att uppskatta eftersom de humanmedicinska laboratorerna oftast nöjer sig med att identifiera bakterierna till att de tillhör gruppen β -hemolyserande streptokocker (Lam *et al.* 2007). Humana infektioner involverar oftast hud och mjukdelar men kan även orsaka sepsis, meningit och peritonit (Galpérine *et al.* 2007; Lysková *et al.* 2007). Infektion efter hundbett och interaktion med hund finns rapporterat i litteraturen (Bert & Lambert-Zechovsky 1997; Norihiko Takeda 2001; Lam *et al.* 2007). En mortalitet på 4 % av infekterade människor har observerats i Frankrike (Galpérine *et al.* 2007). De flesta patienter hade däremot andra komorbiditeter och majoriteten av proverna där *S. canis* påvisades innehöll även andra patogener.

2.5 *Staphylococcus pseudintermedius*

Staphylococcus pseudintermedius (Grekiska: *staphylê*: vindruvsklase; *kokkos*: säd; *pseudes*: falsk; Latin: *intermedius*: bakterieart) är den bakterie som oftast påvisas vid hud- och öroninfektioner hos hund (Moodley *et al.* 2014). Det är en gram-positiv fakultativt anaerob kockoid bakterie (VetBact 2023). Den är oxidasnegativ, katalaspositiv och växer med små runda, gråvita och opaka kolonier (1–2 mm i diameter) med en jämn kant. På blodagar ses ofta en dubbel hemolyszon med en smal fullständig inre hemolys och en bredare partiell yttre hemolys (figur 4). *Staphylococcus pseudintermedius* är en opportunist som finns i normalfloran på hud och slemhinnor hos hund (Paul *et al.* 2012). Infektion sker vanligen när hud- och slemhinnebarriärerna skadas av trauma eller predisponerande faktorer såsom atopisk dermatit, medicinska och kirurgiska procedurer eller immunosupprimerande sjukdomar (Bannoehr & Guardabassi 2012). De vanligaste infektionerna är pyodermi och otitis externa men även andra infektioner associerade till klinik/djursjukhus har observeras (Bryan *et al.* 2012; Bugden 2013; Lehner *et al.* 2014).



Figur 4. *Staphylococcus pseudintermedius* odlad aerobt under 1 dygn på nötblodagar vid 37 °C. Pilarna pekar på gränsen mellan den inre fullständiga och yttre hemolysen. Skallstreckket motsvarar 5 mm. (Vetbact u.å.).

Det finns fall av bland annat endokardit, mjukdelsinfektion, bakteriemi och pneumoni beskrivet hos människa, däribland fall där spridning skett från hund (Van Hoovels *et al.* 2006; Lozano *et al.* 2017). *Staphylococcus pseudintermedius* är dock främst av betydelse inom veterinärmedicinen där forskning har identifierat stammar av *S. pseudintermedius* hos friska hundar som skiljer sig från de stammar som isoleras hos hundar diagnosticerade med *S. pseudintermedius*-associerade infektioner (Nisa *et al.* 2019; Wilkinson *et al.* 2023).

Rapporterad förekomst av *S. pseudintermedius* oralt hos kliniskt friska hundar varierar något mellan olika studier. Vid analys av prover tagna oralt och perinealt

påvisade Wilkinson *et al.* (2023) en förekomst på 62 % i Nya Zeeland medan Paul *et al.* (2012) rapporterade en förekomst på 45 % i Danmark och Bean & Wigmore (2016) fann en förekomst på 61 % i Australien. Paul *et al.* (2012) genomförde även en longitudinell studie under ett års tid med provtagning perinealt och oralt. Där observerades att 15 av 16 deltagande hundar bar på bakterien i minst ett av provställena vid minst ett av provtagningstillfällena. Dessa fynd indikerar förekomsten av både persistenta, tillfälliga och sporadiska bärare.

3. Material och metoder

3.1 Insamling av material

De bakteriologiska undersökningarna utfördes vid enheten för bakteriologi och livsmedelssäkerhet vid Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU). Prover tog från munhålan från femtio hundar utan några specifika kriterier avseende kön, ålder samt ras. Majoriteten av proverna togs från hundar bosatta i och runt Uppsala. Alla hundar förutom två tillhörde olika hushåll. Sökandet efter möjliga kandidater för provtagning annonserades på sociala medier samt muntligt på campus Ultuna, SLU. Insamling och analys av proverna pågick från 2023-09-04 till 2023-11-07. Proverna togs av olika personer med hjälp av Copan ESwab (Aimes transportmedium) och analyserna påbörjades inom 24 timmar från provtagningstillfället.

Ägarna till de medverkande hundarna svarade dessutom på en enkät om hunden där de även gav sitt godkännande (bilaga 1). I enkäten efterfrågades bland annat information kring faktorer såsom ålder, ras, kön, foder och tandborstning. Det fanns vid intresse möjlighet att ange en e-postadress för att få en sammanfattning av resultaten utskickad vid studiens slut. Under studiens gång kontaktades samtliga ägare för kompletterande information. Den insamlade informationen bearbetades i ett Excelblad och proverna tilldelades ett provnummer som kunde kopplas till informationen i Excel-bladet. Insamlade data presenteras i studien på ett sätt som säkerställer att hund och ägare förblir anonyma. Studien var godkänd för djurförsöksetisk prövning enligt generellt godkännande för undervisning av veterinär-studenter, SLU-ID: Dnr 5.8.18-15533/2018.

3.2 Hantering och odling av prov

Odling enligt konventionell bakteriologisk odling med hjälp av tre-stryk och inkubering utfördes enligt följande:

- Direkt odling på blodagar (SVA, Uppsala, Sverige), inkubering vid 37 °C med avläsning efter 24 och 48 timmar. Renodling på blodagar.
- Direkt odling på mannitolsaltagar (SLU, Uppsala, Sverige), inkubering vid 37 °C med avläsning efter 24 och 48 timmar. Renodling på mannitolsaltagar.
- Direkt odling på COBA (SVA, Uppsala, Sverige), inkubering vid 37 °C i 5 % CO₂ med avläsning efter 24 och 48 timmar. Renodling på COBA.
- Direkt odling på hematinagar med gentamycin (SVA, Uppsala, Sverige), inkubering vid 37 °C i 5 % CO₂ med avläsning efter 24, 48, 72, 96 och 120 timmar. Renodling på hematinagar med jäst (SVA, Uppsala, Sverige).

Samtliga ESwab-provrör förvarades efter odling i -20 °C inför extraktion av DNA.

3.3 Identifiering av bakterier

Kolonier valdes ut baserat på makroskopiskt utseende likt *Capnocytophaga* spp. (växt på hematinagar innehållande gentamycin med varierande storlek, färg och form), *P. multocida* (växt på blodagar med små mukoida-torra kolonier och karakteristisk doft), *S. canis* (växt på COBA eller blodagar med små β-hemolytiska kolonier) samt *S. pseudintermedius* (växt på blodagar med små β-hemolytiska kolonier eller Mannitolsaltagar med gult färgomslag).

Isolaten renodlades vid behov och typades med hjälp av Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry (MALDI-Tof MS). MALDI-Tof MS skjuter en laserstråle av UV-ljus på bakterierna. Strålningen joniserar bakteriefragment som analyseras baserat på ett masspektrum, vilket sedan kan jämföras mot en referensdatabas. Databasen som användes i studien kommer från Bruker Daltonics och masspektra analyserades med hjälp av mjukvaran MALDI Biotyper 2.0 (Bruker Daltonics). Hur väl bakteriens masspektrum stämmer överens med referenserna i databasen anges av ett värde mellan noll och tre. Varje koloni analyserades två gånger och ett värde >2,00 krävdes vid minst en analys för att resultatet skulle anses tillförlitligt avseende genus och species. Ett värde mellan 1,70–1,99 ansågs endast tillförlitligt avseende genus. Om flertalet av de bakteriestammar som matchats till provet tillhörde samma species och låg på ett värde mellan 1,70–1,99 ansågs detta som troligt species.

Efter identifieringen med hjälp av MALDI-Tof MS, sparades misstänkta *Capnocytophaga* spp. i Brain Heart Infusion-buljong med 15 % glycerol i -70 °C för att användas som referens vid PCR.

3.4 Extraktion av DNA

För extraktion av DNA från svabbprovet användes Qiagen DNeasy PowerLyzer PowerSoil Kit. Protokollet för detta kit följdes med modifieringen att PowerBead solution, Solution C1, Solution C2 samt Solution C3 tillfördes provet samtidigt innan homogenisering istället för i separata steg. Detta enligt Mattei *et al.* (2019) som i sin studie visade att denna modifikation ger en bättre representation av bakteriefloran i provet samt något högre kvalitet på det extraherade DNAt jämfört med standardprotokollet. Svabben avlägsnades från provröret efter upptining och provet centrifugerades sedan i 4500 rpm i 10 minuter, något lägre hastighet än Mattei *et al.* (2019) på grund av begränsningar hos den maskin som användes. Därefter avlägsnades supernatant för att få en kvarvarande volym av ca 250 µl provvätska. I efterföljande steg följdes protokollet för Qiagen DNeasy PowerLyzer PowerSoil Kit. Det extraherade DNAt förvarades sedan i -20 °C inför PCR.

Mängden DNA mättes i de första två proverna för att kontrollera att en tillräcklig mängd utvunnits från DNA extraktionen för att kunna gå vidare med PCR. Resultatet för mätningen var 1,6 ng/µl respektive 1,4 ng/µl.

3.5 PCR

Två multiplex-PCR designades och amplifierades med HotStarTaq Plus DNA Polymerase formulerat i Type-it Microsatellite PCR Kit (tabell 1). Dessutom användes samma enzym för de två artspecifika PCR-reaktionerna. Reaktionskemin är densamma som i QIAGEN Multiplex PCR Kit, och reaktionsbetingelserna för PCR-cykeln följdes enligt det senare: En första denaturation på 95 °C i 15 minuter, följt av 35 cykler av 94 °C i 30 sekunder, 57 °C i 90 sekunder och 72 °C i 90 sekunder. Därefter 1 cykel av 72 °C i 10 minuter. Negativ kontroll utgjordes av nukleasfritt vatten vilket ingick i samtliga PCR-reaktioner. Positiva kontroller utgjordes av renodlade stammar från proverna, vilka typats till species-nivå med Maldi-Tof MS, av respektive bakterie samt ett införskaffat isolat av *C. canimorsus* (ATCC35979/CCUG53895). DNA extraherades från de renodlade stammarna med hjälp av EZ1 DNA Tissue Kit (48) och Qiagen EZ Advanced XL. Resultatet av PCR-analysen, negativa kontroller, positiva kontroller och 100 bp stegar separerades med Gelelektrofores på en 3 % agarosgel med GelRed i 60 minuter vid 110 V.

Tabell 1. Primers som användes vid PCR. Primern för *Capnocytophaga* spp. är utvecklad för detektion av *C. canimorsus* och *C. cynodegmi*.

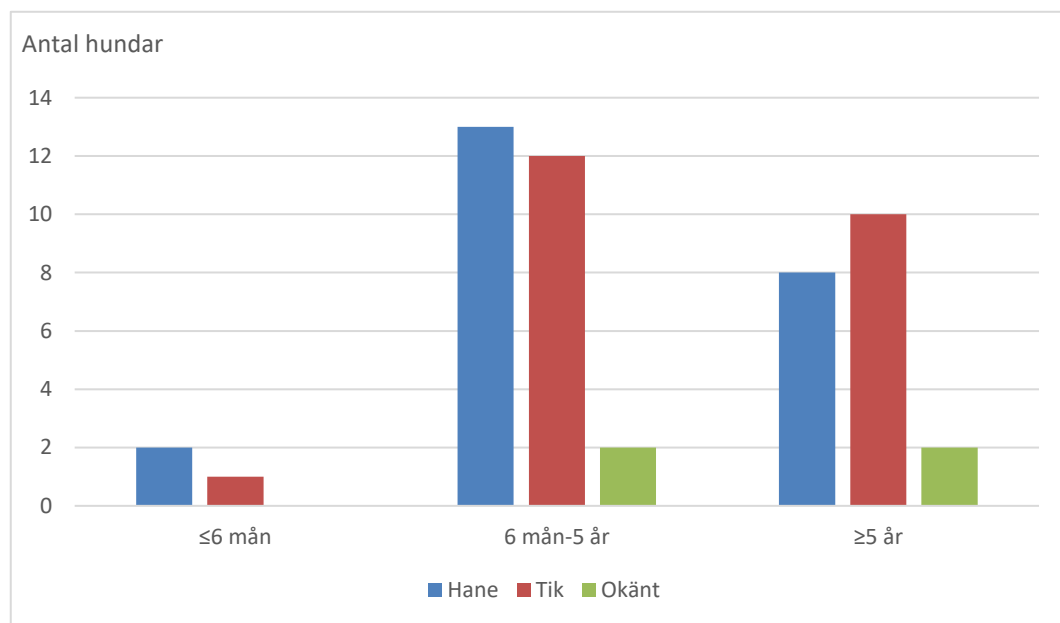
Bakterie	Primer-namn	Sekvens	Orientering	Amplika-Tionslängd (baspar)	Gen	Referens
<u>Multiplex 1</u>						
<i>P. multocida</i>	KMT1SP6	59-GCTGTAAACGAACTCGCCAC-39	Forward	460	Okänd protein 1 gen	Townsend <i>et al.</i> 1998
	KMT1T7	59-ATCCGCTATTTACCCAGTGG-39	Reverse			
<i>S. pseud-intermedius</i>	spsC F	AACTGAAACGCCCGTAGAAG	Forward	619	spsC	Phumthana-korn <i>et al.</i> 2017
	spsC R	ATCCGCTTTCGTTTCATTTG	Reverse			
<u>Multiplex 2</u>						
<i>S. canis</i>	c-I	TAAACCGAAAACGCTGTAAGTATTA	Forward	215	16s rRNA	Hassan <i>et al.</i> 2003
	c-II	ACCATTAGTTAGTGGGTTCCCCC	Reverse			
<i>Capnocytophaga</i> spp.	CAL2 AS2	5'GTAGAGTGCTTCGGCACTTG3' 5'GTGATGCCACCAAACAATACTA3'	Forward Reverse	127	16s rRNA	Tabatabaei & Rouhani 2019
<u>Artspecifik PCR (singelplex)</u>						
<i>C. canimorsus</i>	CAL2	5'GTAGAGTGCTTCGGCACTTG3'	Forward	427	16s rRNA	Tabatabaei & Rouhani 2019
	CaR	5'GCCGATGCTTATTCATAACA3'	Reverse			
<i>C. cynodegmi</i>	CAL2 CyR	5'GTAGAGTGCTTCGGCACTTG3' 5'GCGGATGCTTATTCGTATG3'	Forward Reverse	427	16s rRNA	Tabatabaei & Rouhani 2019

3.6 Statistiska metoder

Statistiska uträkningar genomfördes för hand, i Excel eller med hjälp av Graphpad (GraphPad Software Inc.) och Vassarstats (VassarStats u.å.) Statistical Computation Web Site. Uträkningar genomfördes för bland annat oddsratio, riskratio, Fishers exact test, Chitvå test och Cohens kappas. Endast de beräkningar med statistisk signifikans redovisas.

4. Resultat

Prover togs från munslemhinnan från 50 hundar, 24 hanar, 22 tikar samt 4 av okänt kön. Åldern på de provtagna hundarna varierade från 10 veckor till 11 år, medelåldern och medianen var 4 år respektive 3 år (figur 5).

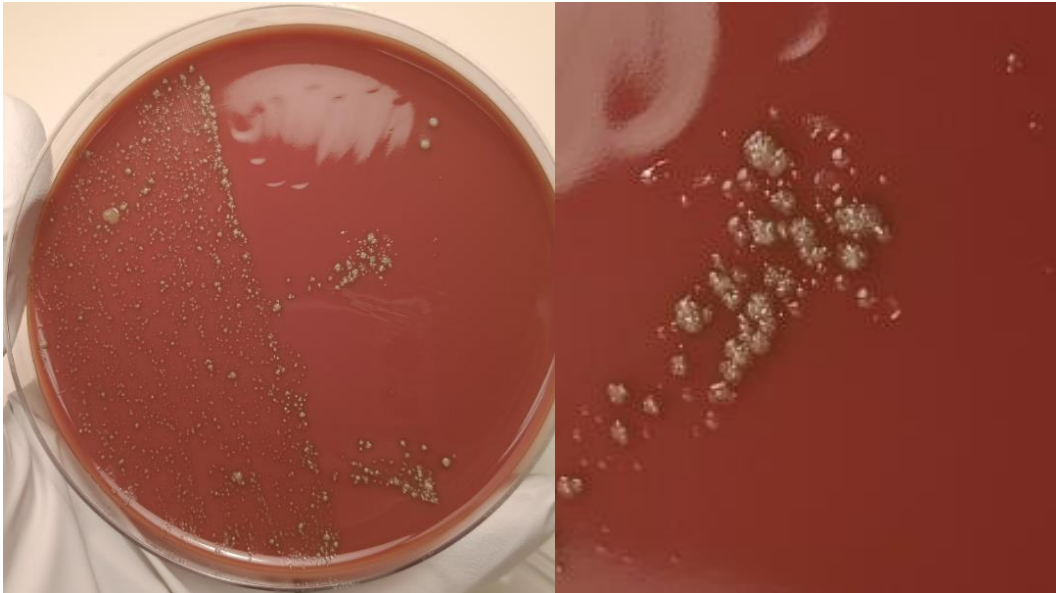


Figur 5. Fördelning av kön och ålder för de 50 hundar som provtogs för PCR och bakteriologisk undersökning av munhålan.

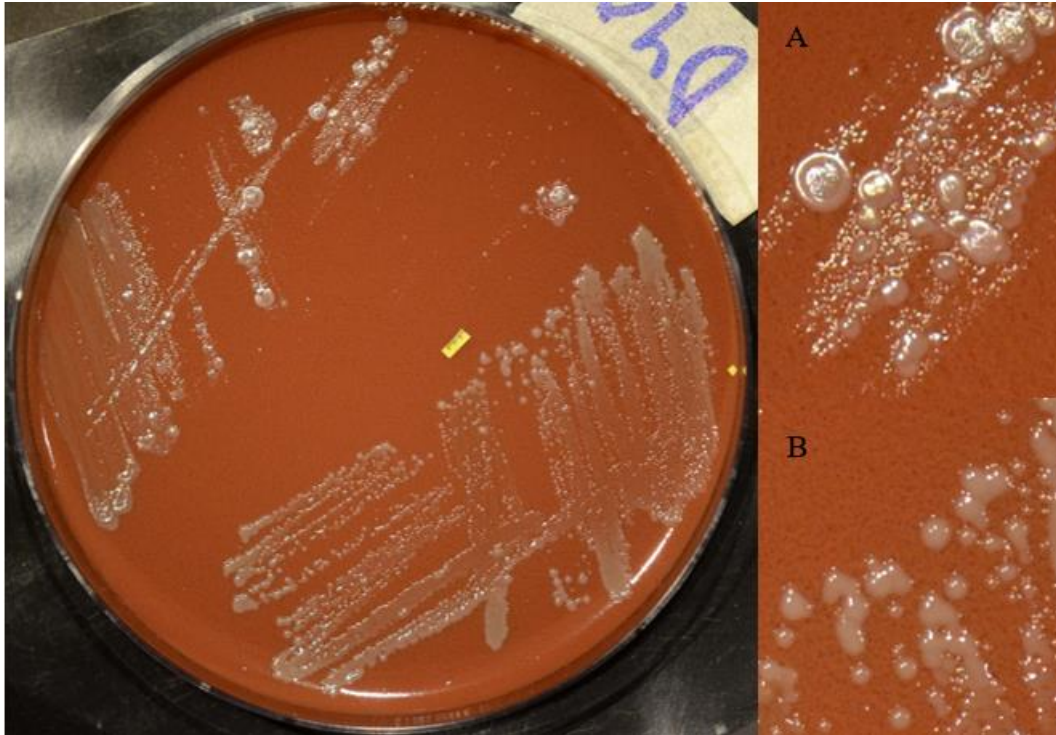
4.1 Bakteriologisk odling

Vid bakteriologisk odling påvisades *Capnocytophaga* spp. från 20 % (10/50) av proven, *C. canimorsus* 2 % (1/50), *C. cynodegmi* 10 % (5/50) och *S. canis* 16 % (8/50). *Pasteurella multocida* och *S. pseudintermedius* kunde ej påvisas. Två prover som typades till *Staphylococcus* spp. var troligen *S. pseudintermedius* (värde mellan 1,7 och 1,99 för flera spektrum av arten), vilket innebar en förekomst på 4 % (2/50) med dessa inräknade. Se bilaga 2 för fullständig tabell över identifierade bakterier. I fyra av proverna i denna studie påvisades *C. cynodegmi* med Maldi-Tof MS men de var negativa med PCR.

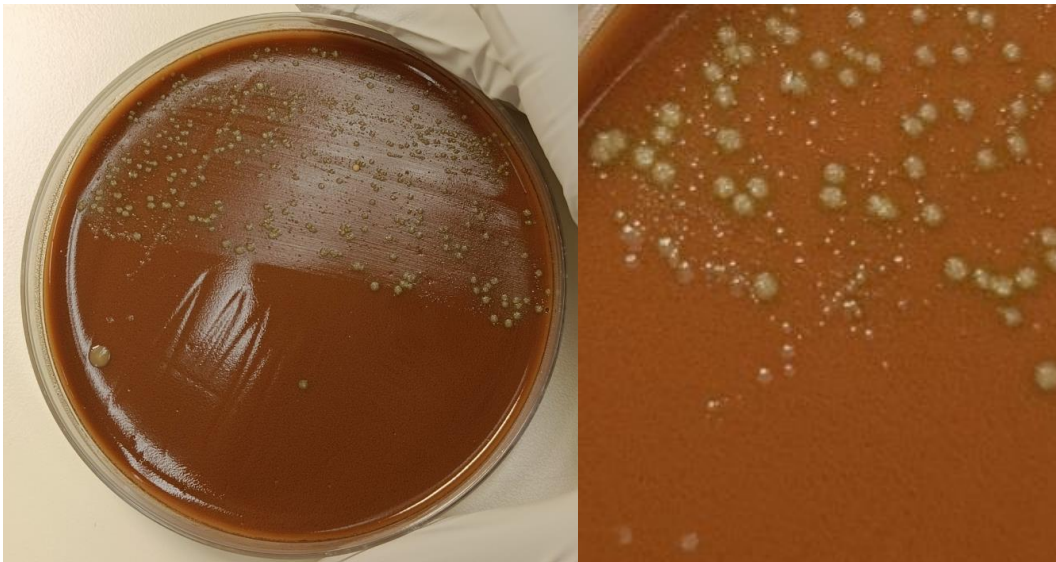
Vid odlingen noterades en betydande variation i det makromorfologiska utseendet hos *Capnocytophaga* spp., vilket resulterade i signifikant fler typade kolonier i de 25 sista analyserade proverna i studien ($p = 0,0085$). Kolonierna varierade i storlek (2–4 mm) samt avseende form och färg. Vissa var små (2 mm), cirkulära, konvexa, opaka vitaktiga och släta (liknande *C. canimorsus*) (figur 6). Andra var något större (2–3 mm), cirkulära, konvexa, opaka brunaktiga och fuktiga (figur 7). Några var 2–4 mm, oregelbundna, skrynkliga, terassformade, blanka med vit pärl-liknande färg (figur 7). Andra var stora (3–4 mm), oregelbundna, flata, blanka med en något opak vitaktig färg som skimrade i lila och grönt. *Capnocytophaga canimorsus* visade små (1 mm) kolonier som var cirkulära, konvexa, släta och opaka med en gråaktig färg (figur 8 och 9). Det noterades en betydligt bättre växt på hematinagar med gentamycin än hematinagar med jäst som användes vid renodling.



Figur 6. *Capnocytophaga cynodegmi* i blandflora på hematinagar med gentamycin efter 5 dygn vid 37 °C och 5 % CO₂. Förstoring till höger.



Figur 7. Renodling av två kolonier Capnocytophaga cynodegmi med skiljande morfologi på hematinagar med jäst efter 5 dygn vid 37 °C och 5 % CO₂. Stammen längst upp till vänster i bild (förstoring i bild A) har en vit skimrande färg medan stammen längst ner till höger (förstoring i bild B) är brunaktig och fuktig till utseendet.



Figur 8. Capnocytophaga canimorsus i blandflora på hematinagar med gentamycin efter 5 dygn vid 37 °C och 5 % CO₂. Förstoring till höger.



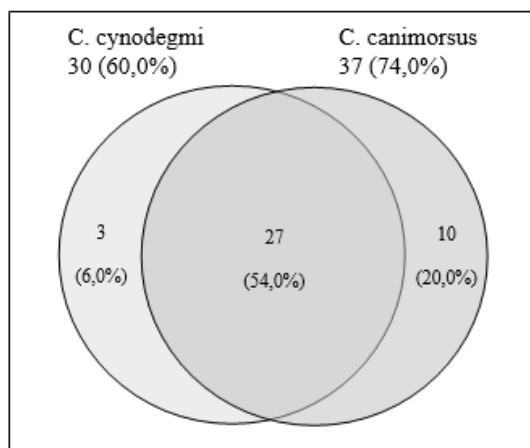
Figur 9. Renodling av *Capnocytophaga canimorsus* (från figur 8) på hematinagar med jäst efter 5 dygn vid 37 °C och 5 % CO₂. Förstoring till höger.

4.2 PCR

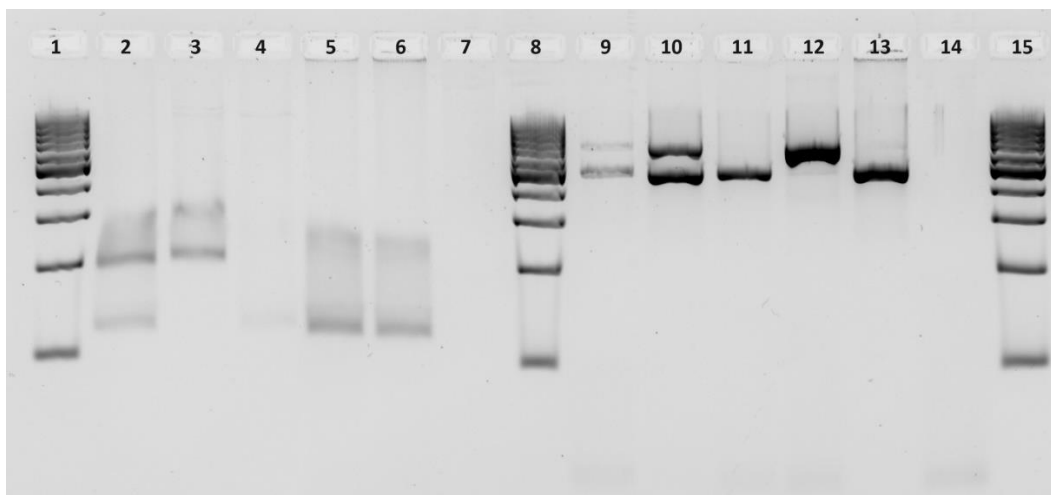
Resultaten från PCR och gelelektrofores gav en förekomst av *Capnocytophaga* spp. på 94 % (47/50), *C. canimorsus* 74 % (37/50), *C. cynodegmi* 60 % (30/50), *P. multocida* 78 % (39/50), *S. canis* 90 % (45/50) och *S. pseudintermedius* 48 % (24/50) (tabell 2). Gelelektrofores med PCR-produkter från positiva prover samt renodlade stammar som referenser kan ses i figur 11. Av de hundar som hade *C. canimorsus* hade 27 även *C. cynodegmi*, 10 hundar hade endast *C. canimorsus* och 3 bar endast på *C. cynodegmi* (figur 10). Sju av de prover som var positiva för *Capnocytophaga* spp. var negativa för både *C. canimorsus* och *C. cynodegmi*.

Tabell 2. Sammanställning över förekomst av undersökta bakterier i prov från munhålan hos 50 hundar med PCR respektive Bakteriologisk odling. I Capnocytophaga spp. för bakteriologisk odling ingår även de som identifierats som *C. cynodegmi* eller *C. canimorsus*.

Bakterie	Positiva prover i antal (%) av 50 prover	
	PCR	Bakteriologisk odling
<i>Capnocytophaga</i> spp.	47 (94 %)	10 (20 %)
<i>C. cynodegmi</i>	30 (60 %)	5 (10 %)
<i>C. canimorsus</i>	37 (74 %)	1 (2 %)
<i>P. multocida</i>	39 (78 %)	0 (0 %)
<i>S. canis</i>	45 (90 %)	8 (0 %)
<i>S. pseudintermedius</i>	24 (48 %)	0 (0 %)



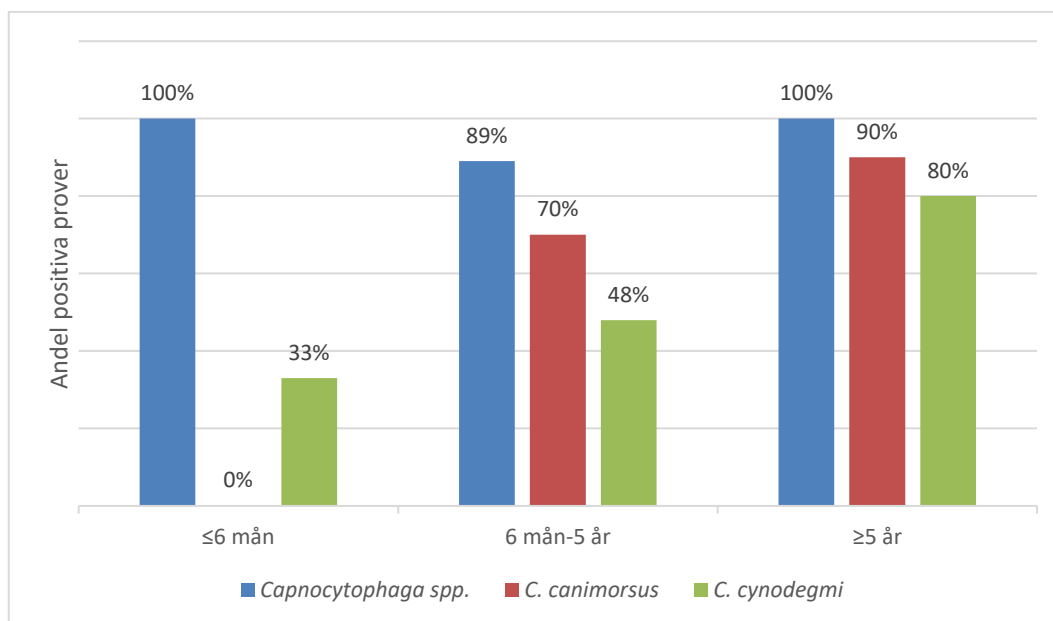
Figur 10. Venn-diagram som visar hur förekomst av *Capnocytophaga cynodegmi* och *Capnocytophaga canimorsus* överlappar. Siffrorna anger antal samt andel av 50 hundar som var positiva för endast *C. cynodegmi* (vänster), både *C. cynodegmi* och *C. canimorsus* (mitten) och endast *C. canimorsus* (höger).



Figur 11. Gelelektroforesbild med PCR-produkter från positiva prover samt renodlade stammar som referenser. För *C. canimorsus* och *C. cynodegmi* användes primern för *Capnocytophaga* spp. 100 bp stege i brunn 1, 8 och 15; prov positivt för *Streptococcus canis* och *Capnocytophaga* spp. i brunn 2; prov positivt för *S. canis* i brunn 3; prov positivt för *Capnocytophaga* spp. i brunn 4; positiv kontroll för *Capnocytophaga canimorsus* i brunn 5; positiv kontroll för *Capnocytophaga cynodegmi* i brunn 6; negativ kontroll i brunn 7 och 14; prov positivt för *Staphylococcus pseudintermedius* och *Pasteurella multocida* i brunn 9 och 10; prov positivt för *P. multocida* i brunn 11; positiv kontroll för *S. pseudintermedius* i brunn 12; positiv kontroll för *P. multocida* i brunn 13.

4.3 Samband med faktorer

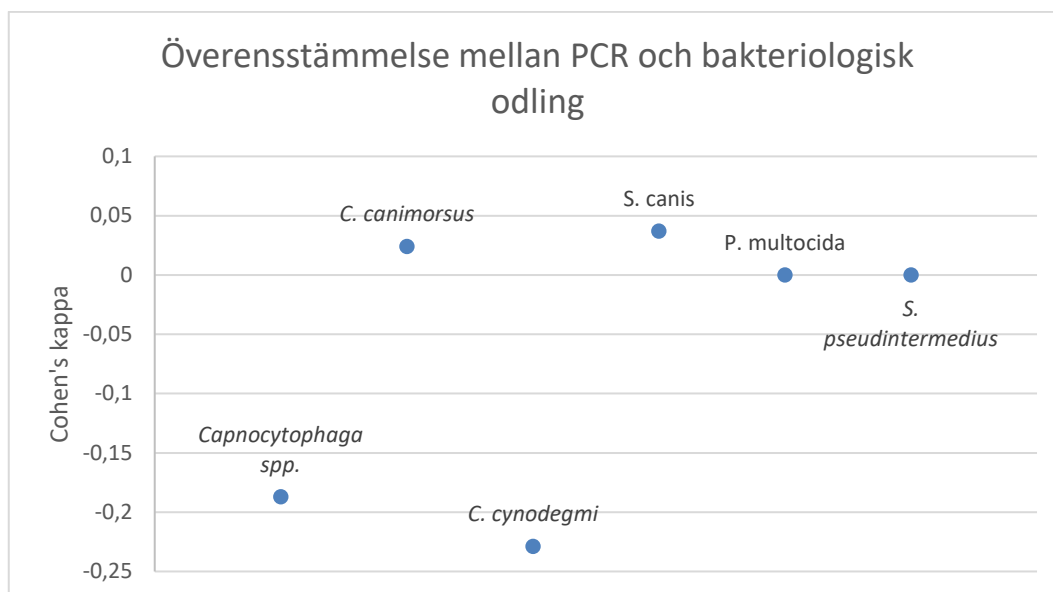
Ett signifikant statistiskt samband kunde observeras mellan ålder och *C. canimorsus* samt ålder och *C. cynodegmi* med hjälp av Fisher's exact test ($p = 0,0049$ respektive $p = 0,047$). Hundar mellan 6 månader och 5 års ålder löpte mindre risk att bära på *C. canimorsus* samt *C. cynodegmi* (RR 0,9 respektive 0,65 och OR 0,7 respektive 0,3). Däremot löpte hundar över 5 års ålder större risk att bära på *C. canimorsus* samt *C. cynodegmi* (RR 1,4 respektive 1,7 och OR 5,2 respektive 4,6) (figur 12). Inget samband kunde ses mellan *Capnocytophaga* spp., *C. canimorsus* eller *C. cynodegmi* och kön, kastration, fodertyp (torr-, våt- samt färskfoder) eller tandborstning.



Figur 12. Fördelning av förekomsten av Capnocytophaga i prov från munhålan hos hund analyserade med PCR.

4.4 Jämförelse av känslighet mellan PCR och bakteriologisk odling

Beräkningar av Cohens kappas visade på en dålig överensstämmelse mellan påvisande med PCR och bakteriologisk odling gällande detektion och typning av samtliga bakterier som undersöktes i studien (figur 13). Påvisandet av bakterierna med bakteriologisk odling ökade bland de sista 25 proverna jämfört med de första (tabell 3). För PCR sågs ingen markant skillnad.



Figur 13. Fördelning av värdena för Cohens kappa för respektive bakterier för samtliga prover. Värden <0 indikerar att ingen överensstämmelse finns och värden mellan 0–0,2 en svag överensstämmelse. P-värde 0,05.

Tabell 3. Tabell över antalet och andelen positiva prover av respektive bakterie med PCR och bakteriologisk odling för prov 1-25 samt 26-50. I *Capnocytophaga spp.* för bakteriologisk odling ingår även de som identifierats som *C. cynodegmi* eller *C. canimorsus*.

Bakterie	Antal (%) positiva av 25 prover			
	Prov 1-25		Prov 26-50	
	PCR	Odling	PCR	Odling
<i>Capnocytophaga spp.</i>	23 (92 %)	1 (4 %)	24 (96 %)	10 (40 %)
<i>C. cynodegmi</i>	15 (60 %)	0 (0 %)	15 (60 %)	5 (20 %)
<i>C. canimorsus</i>	19 (76 %)	0 (0 %)	18 (72 %)	1 (4 %)
<i>P. multocida</i>	20 (80 %)	0 (0 %)	19 (76 %)	0 (0 %)
<i>S. pseudintermedius</i>	11 (44 %)	0 (0 %)	13 (52 %)	0 (0 %)
<i>S. canis</i>	22 (88 %)	2 (8 %)	23 (92 %)	6 (24 %)

5. Diskussion

5.1 Bakteriologisk odling

Förekomsten av *C. cynodegmi* (10 %) och *S. canis* (16 %) i denna studie stämmer väl överens med tidigare studier där man observerat en förekomst av *C. cynodegmi* på 11 respektive 12 % (Westwell *et al.* 1989; Dilegge *et al.* 2011) och 8 % för *S. canis* (Lysková *et al.* 2007). Varken *P. multocida* eller *S. pseudintermedius* kunde påvisas i studien vilket var förvånande då de observerats i tidigare studier med en förekomst på 55 % för *P. multocida* (Arnbjerg 1978) och 45-62 % för *S. pseudintermedius* (Paul *et al.* 2012; Bean & Wigmore 2016; Wilkinson *et al.* 2023). Förekomsten av *C. canimorsus* (2 %) var påtagligt lägre än vad som observerats i tidigare studier där man observerat en förekomst på 24-60 % (Westwell *et al.* 1989; Blanche *et al.* 1998; Mally *et al.* 2009). Förekomsten av *C. canimorsus* stämmer dock överens med en studie av van Dam *et al.* (2009) där bakterien påvisades i 5 % (1/22) prover. Detta kan eventuellt förklaras av olika erfarenheter vad gäller bakteriologiska undersökningar och analys av de specifika bakteriearterna. Vid typning av bakterier med Maldi-Tof MS valdes de kolonier vars morfologi liknade de bakterier som ingick i studien. För att kunna välja ut dessa kolonier krävs således en god kunskap om hur dessa bakterier ser ut. Författaren till denna studie har inte så stor erfarenhet, vilket kan ha resulterat i en lägre förekomst än om en mer erfaren bakteriolog utfört studien. En ökad erfarenhet under studiens gång kan ha lett till att fler kolonier med mer varierande makromorfologi typades och att fler av de undersökta arterna påvisades i studiens sista halva (tabell 3). Det är därmed viktigt att tolka förekomsten av samtliga bakterier i denna studie med bakteriologisk odling med stor försiktighet, eftersom den med hög sannolikhet underskattar den faktiska förekomsten som hade kunnat observeras med en mer erfaren avläsare.

Andra faktorer som kan påverka resultatet vid bakteriologisk odling och typning med Maldi-Tof MS är att *Capnocytophaga* spp. är svårödlade bakterier som kräver specifik odlingsförhållanden och lång inkuberingsstid. De är långsamväxande och kan vara svåra att påvisa i en riklig blandflora såsom i prover från munhålan. Van Dam *et al.* (2009) diskuterar i sin studie påverkan av olika odlingsmedium på resultaten då de observerade att deras resultat för *C. canimorsus* (5 %) och *C. cyno-*

degmi (43 %) på fårblodagar med gentamycin skiljde sig från Westwell *et al.* (1989) vars förekomst var 24 % respektive 11 % på hästblodagar med cystein, kanamycin samt vancomycin. I denna studie användes hematinagar med gentamycin för att selektera för *Capnocytophaga* spp. men även andra bakterier växer bra på dessa plattor (figur 6 och 8). Renodling var oftast nödvändig för att få tillräckligt med enskilt kolonimaterial att utföra Maldi-Tof MS, men det var svårt och misslyckades ibland. Renodlingen utfördes på hematinagar med jäst och flertalet av stammarna växte sämre på denna hematinagar jämfört med hematinagar som innehöll gentamycin. Hematinagar med jäst innehåller defibrinerat hästblod och Pleuropneumonia-like organisms (PPLo) broth base without crystal violet till skillnad från hematinagar med gentamycin som innehåller nötblod citrat och Contagious Equine Metritis Organism (C.E.M.O) agar (Ivarsson, Å., Statens Veterinärmedicinska Anstalt, pers. medd., 23-10-27). I övrigt har de samma innehåll. Att växten var betydligt sämre på de plattor som användes för renodling inför Maldi-Tof MS kan ha påverkat resultaten och gett upphov till falskt negativa resultat.

Ännu en påverkande faktor är att Maldi-Tof MS bygger på att det finns spektrum av samma art i databasen att jämföra med. Ett större antal bakteriespektra i databasen att jämföra med ger ett säkrare resultat med fler korrekt identifierade arter (Zangenah *et al.* 2012; Magnette *et al.* 2016). Antalet spektrum för *Capnocytophaga* spp. i databasen under denna studies gång var lågt, endast ett spektrum kunde observeras av *C. cynodegmi* och sex av *C. canimorsus*, medan inga fanns av *C. canis*, *C. felis* eller *C. catalasegens*. Detta begränsade identifieringen av *Capnocytophaga* på artnivå.

Att *C. cynodegmi* påvisades i fyra prover för vilka PCR visade negativ är troligtvis en orsakande faktor till den dåliga överensstämmelsen mellan PCR och bakteriologisk odling enligt Cohen's kappa. Detta kan bero på felidentifiering avseende art inom släktet *Capnocytophaga* då de var positiva för *Capnocytophaga* spp. vid analys med PCR men inte för *C. canimorsus* eller *C. cynodegmi*. Det går dock inte att utesluta att det är en ny art inom släktet *Capnocytophaga* som tidigare inte typats och därmed inte finns i databasen. En utökad databas med fler spektrum för samtliga arter inom *Capnocytophaga* skulle ge förbättrad artidentifiering vid typning med Maldi-Tof MS. Det skulle dock även kunna bero på att de primers som användes i studien är utvecklade i Japan för de isolat som påvisats i Japan och att det kan finnas skillnader i genomet mellan dessa och de svenska isolaten. Detta skulle kunna ge sämre resultat för PCR-analysen på grund av skillnader i primersekvens och målsekvens som ger en mismatch, vilket inte är förvånande då Lai *et al.* (2023) har hittat variation i målsekvensen.

5.2 PCR

Förekomsten av *C. canimorsus* (74 %), *C. cynodegmi* (60 %) samt *S. pseudintermedius* (48 %) som observerades med PCR i denna studie stämmer väl överens med förekomsten i flera tidigare studier där de observerat en förekomst på 70-74 % av *C. canimorsus* (van Dam *et al.* 2009; Suzuki *et al.* 2010; Umeda *et al.* 2014), 48-96 % av *C. cynodegmi* (van Dam *et al.* 2009; Nogueira *et al.* 2021; Lai *et al.* 2023) och 45-62 % av *S. pseudintermedius* (Paul *et al.* 2012; Bean & Wigmore 2016; Wilkinson *et al.* 2023). För *P. multocida* (78 %) och framför allt *S. canis* (90 %) sågs däremot en högre förekomst än tidigare studier där de observerat en förekomst av *P. multocida* på 10-13 % (Razali *et al.* 2020; Santaniello *et al.* 2020; Ujvári *et al.* 2020) och 8 % av *S. canis* (Lysková *et al.* 2007). Samtliga bakterier kan anses som vanligt förekommande i hundens munflora.

Förekomsten av samtliga bakterier var högre vid undersökning med PCR än vid bakteriologisk odling vilket stämmer överens med vad som observerats av van Dam *et al.* (2009). PCR kan användas direkt på ett prov av blandflora, medan Mald-Tof MS behöver kolonimaterial från en enskild bakterie för att detektera en art. PCR har även högre känslighet för att detektera genetiskt material från bakterien även vid mycket små mängder (Nogueira *et al.* 2021). För detektion med PCR i en blandflora, som i denna studie, krävs inte heller rätt odlingsmedium och odlingsförhållanden för att bakterien ska kunna växa och det sker ingen konkurrens mellan bakterier. Dessutom krävs ingen erfaren avläsare som vet vilka kolonier som bör typas med Mald-Tof MS, eftersom det skulle vara kostsamt och tidskrävande om alla kolonier på plattan typades. PCR kan däremot endast svara på förekomst eller ej av de efterfrågade bakterierna till skillnad från bakteriologisk odling där samtliga bakterier som finns i prover kan tillväxa vid rätt förhållanden och på så sätt kan man påvisa även bakterier som inte efterfrågas.

Sju av de prover som var positiva för *Capnocytophaga* spp. var negativa för *C. cynodegmi* samt *C. canimorsus*. Dessa kan utgöra någon/några av de nyare arterna inom släktet, vilka inte kan påvisas med primers specifika för *C. canimorsus* och *C. cynodegmi*, alternativt en helt ny art. Den primer som användes för *Capnocytophaga* spp. är dock utvecklad för detektion av *C. canimorsus* samt *C. cynodegmi* och visade ej positivt för någon av de fem humana *Capnocytophaga*-arter som provades vid framtagningen (Suzuki *et al.* 2010). De nyare arterna (*C. canis*, *C. felis* och *C. catalasagens*) var dock inte upptäckta vid denna tidpunkt och endast *C. canis* har senare visats inte kunna detekteras med primern (Renzi *et al.* 2015). Tre av de sju proverna är typade som *C. cynodegmi* enligt Mald-Tof MS. Detta skulle kunna förklaras av att Mald-Tof MS identifierat *C. cynodegmi* som bästa matchning inom släktet på grund av fåtal referensspektrum i databasen. Det kan även bero på att det finns olika *Capnocytophaga*-arter i provet och att det

spektra som fås i Maldi-Tof MS är likt det enda referensspektrat av *C. cynodegmi* i databasen som därmed blir bästa matchning och provet identifieras som *C. cynodegmi*. Det går dock inte att utesluta att PCR resulterat i ett falskt negativt provsvar.

5.3 Samband och analysmetoder

Prover togs från munslemhinnan från 50 hundar, 24 hanar, 22 tikar samt 4 av okänt kön. Ett större antal individer med större geografisk spridning hade varit önskvärt för att få en bättre representation av hela den svenska hundpopulationen samt säkrare statistiska samband. Antalet medverkande individer begränsades på grund av tid och budget för analysmaterial samt resor. Könsfördelningen var runt 50 % mellan könen och 30 olika raser (inklusive blandras) ingick i studien. Åldersfördelningen var jämn i de två övre ålderskategorierna med omkring 20 hundar i vardera kategorin. Däremot var endast 3 hundar 6 månader eller yngre med i studien. Ett större antal hundar inom denna ålderskategori hade önskats för att få ett säkrare statistiskt samband, då ålder var den enda faktor där ett samband kunde ses.

Dilegge *et al.* (2011) observerade i sin studie att det var få hundar (3/17) under 6 månaders ålder som bar på *Capnocytophaga* och endast 1 av 17 bar på *C. canimorsus*. Resultaten från denna studie indikerar en överensstämmelse med deras, då ingen av de tre hundarna som var 6 månader eller yngre bar på *C. canimorsus*. Däremot skiljer sig studierna i att alla tre hundar var positiva för *Capnocytophaga* i den här studien. På grund av det fåtal individer som ingick i denna ålderskategori bör det statistiska sambandet mellan ålder och *C. cynodegmi* samt *C. canimorsus* tolkas med försiktighet. Sambandet styrks däremot av risk ratio och odds ratio för de två andra ålderskategorierna samt andelen positiva i de olika ålderskategorierna där hundar ≥ 5 års ålder visade en högre förekomst samt en ökad risk för att bära på bakterierna och hundar mellan 6 månader och 5 år visade en något lägre förekomst samt en mindre risk för bärarskap. Risk ratio och odds ratio presenteras ej för hundar ≤ 6 månader, då antalet individer anses för lågt för att resultatet ska vara tillförlitligt. Fler studier med större antal individer, framför allt under 6 månaders ålder, behövs för att kunna säkerställa om ett samband mellan ålder och *C. cynodegmi* samt *C. canimorsus* finns. Inget samband kunde påvisas mellan ålder och *Capnocytophaga* då förekomsten är hög hos samtliga åldersgrupper och majoriteten av hundarna bär på någon art inom släktet. Till skillnad från Dilegge *et al.* (2011) men i likhet till andra studier (Mally *et al.* 2009; van Dam *et al.* 2009; Nogueira *et al.* 2021) observerades däremot inget samband mellan någon av bakterierna och kön eller kastration.

5.4 Slutsats

Capnocytophaga canimorsus och *C. cynodegmi* är vanligt förekommande hos hundar och majoriteten av hundarna i studien bar på någon art av *Capnocytophaga*. PCR gav i den här studien en mer tillförlitlig analys avseende förekomst av specifika bakterier i munhålan blandflora jämfört med bakteriologisk odling. Därtill kunde ett samband mellan ålder och *C. canimorsus* samt *C. cynodegmi* observeras. Hundar mellan 6 månader och 5 års ålder hade lägre risk att bära på bakterierna jämfört med hundar äldre än 5 års ålder har högre risk. För hundar ≤ 6 månaders ålder observerades en tendens till en lägre risk att bära på *C. canimorsus*, men ytterligare studier med ett större antal individer inom denna åldersgrupp krävs för att fastställa eventuella samband.

Referenser

- Arnbjerg, J. (1978). *Pasteurella multocida* from canine and feline teeth, with a case report of glossitis calcinosa in a dog caused by *P. multocida*. *Nordisk Veterinærmedicin*, 30 (7–8), 324–332
- Bannoehr, J. & Guardabassi, L. (2012). *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. *Veterinary Dermatology*, 23 (4), 253–e52. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01046.x>
- Bean, D. & Wigmore, S. (2016). Carriage rate and antibiotic susceptibility of coagulase-positive staphylococci isolated from healthy dogs in Victoria, Australia. *Australian Veterinary Journal*, 94 (12), 456–460. <https://doi.org/10.1111/avj.12528>
- Beauruelle, C., Plouzeau, C., Grillon, A., Isnard, C., Corvec, S., Degand, N., Jacquier, H., Amara, M., Mizrahi, A., Diedrich, T., Piau, C., Farfour, E., Bonzon, L., Le Brun, C., Walewski, V., Bille, E., Dortet, L., Guillard, T., Soismier, N., Le Guen, R., Morand, P., de Ponfilly, G.P., Le Monnier, A. & Héry-Arnaud, G. (2022). *Capnocytophaga* zoonotic infections: a 10-year retrospective study (the French CANCAN study). *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 41 (4), 581–588. <https://doi.org/10.1007/s10096-022-04402-x>
- Bell, S.E., Nash, A.K., Zanghi, B.M., Otto, C.M. & Perry, E.B. (2020). An assessment of the stability of the canine oral microbiota after probiotic administration in healthy dogs over time. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 616. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00616>
- Bert, F. & Lambert-Zechovsky, N. (1997). Septicemia caused by *Streptococcus canis* in a human. *Journal of Clinical Microbiology*, 35 (3), 777–779. <https://doi.org/10.1128/jcm.35.3.777-779.1997>
- Bialasiewicz, S., Duarte, T.P.S., Nguyen, S.H., Sukumaran, V., Stewart, A., Appleton, S., Pitt, M.E., Bainomugisa, A., Jennison, A.V., Graham, R., Coin, L.J.M. & Hajkovicz, K. (2019). Rapid diagnosis of *Capnocytophaga canimorsus* septic shock in an immunocompetent individual using real-time Nanopore sequencing: a case report. *BMC Infectious Diseases*, 19 (1), 660. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4173-2>
- Blanche, P., Bloch, E. & Sicard, D. (1998). *Capnocytophaga canimorsus* in the oral flora of dogs and cats. *Journal of Infection*, 36 (1), 134. [https://doi.org/10.1016/S0163-4453\(98\)93918-4](https://doi.org/10.1016/S0163-4453(98)93918-4)
- Bremmelgaard, A., Pers, C., Kristiansen, J.E., Korner, B., Heltberg, O. & Frederiksen, W. (1989). Susceptibility testing of Danish isolates of *Capnocytophaga* and CDC group

DF-2 bacteria. *APMIS*, 97 (1–6), 43–48. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1989.tb00753.x>

- Brenner, D.J., Hollis, D.G., Fanning, G.R. & Weaver, R.E. (1989). *Capnocytophaga canimorsus* sp. nov. (formerly CDC group DF-2), a cause of septicemia following dog bite, and *C. cynodegmi* sp. nov., a cause of localized wound infection following dog bite. *Journal of Clinical Microbiology*, 27 (2), 231–235
- Bryan, J., Frank, L.A., Rohrbach, B.W., Burgette, L.J., Cain, C.L. & Bemis, D.A. (2012). Treatment outcome of dogs with meticillin-resistant and meticillin-susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* pyoderma. *Veterinary Dermatology*, 23 (4), 361–e65. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01034.x>
- Bugden, D. (2013). Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from dogs with otitis externa in Australia. *Australian Veterinary Journal*, 91 (1–2), 43–46. <https://doi.org/10.1111/avj.12007>
- Butler, T. (2015). *Capnocytophaga canimorsus*: an emerging cause of sepsis, meningitis, and post-splenectomy infection after dog bites. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 34 (7), 1271–1280. <https://doi.org/10.1007/s10096-015-2360-7>
- Chang, K., Siu, L.K., Chen, Y.-H., Lu, P.-L., Chen, T.-C., Hsieh, H.-C. & Lin, C.-L. (2007). Fatal *Pasteurella multocida* septicemia and necrotizing fasciitis related with wound licked by a domestic dog. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 39 (2), 167–170. <https://doi.org/10.1080/00365540600786572>
- van Dam, A.P. & Jansz, A. (2011). *Capnocytophaga canimorsus* infections in The Netherlands: a nationwide survey. *Clinical Microbiology and Infection*, 17 (2), 312–315. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03195.x>
- van Dam, A.P., van Weert, A., Harmanus, C., Hovius, K.E., Claas, E.C.J. & Reubsaet, F.A.G. (2009). Molecular characterization of *Capnocytophaga canimorsus* and other canine *Capnocytophaga* spp. and assessment by PCR of their frequencies in dogs. *Journal of Clinical Microbiology*, 47 (10), 3218–3225. <https://doi.org/10.1128/jcm.01246-09>
- Damborg, P., Broens, E.M., Chomel, B.B., Guenther, S., Pasmans, F., Wagenaar, J.A., Weese, J.S., Wieler, L.H., Windahl, U., Vanrompay, D. & Guardabassi, L. (2016). Bacterial zoonoses transmitted by household pets: State-of-the-Art and future perspectives for targeted research and policy actions. *Journal of Comparative Pathology*, 155 (1 Suppl 1), S27-40. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2015.03.004>
- Davis, E.M. & Weese, J.S. (2022). Oral microbiome in dogs and cats: Dysbiosis and the utility of antimicrobial therapy in the treatment of periodontal disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 52 (1), 107–119. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2021.08.004>
- Dilegge, S.K., Edgcomb, V.P. & Leadbetter, E.R. (2011). Presence of the oral bacterium *Capnocytophaga canimorsus* in the tooth plaque of canines. *Veterinary Microbiology*, 149 (3), 437–445. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.12.010>
- Donner, V., Buzzi, M., Lazarevic, V., Gaïa, N., Girard, M., Renzi, F., Renzi, G., Cherkaoui, A. & Schrenzel, J. (2020). Septic shock caused by *Capnocytophaga canis*

- after a cat scratch. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 39 (10), 1993–1995. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03922-8>
- van Duijkeren, E., van Mourik, C., Broekhuizen, M., Leuven, M., Gaastra, W. & Houwers, D. (2006). First documented *Capnocytophaga canimorsus* infection in a species other than humans. *Veterinary Microbiology*, 118 (1), 148–150. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.07.002>
- Elliott, D.R., Wilson, M., Buckley, C.M.F. & Spratt, D.A. (2005). Cultivable oral microbiota of domestic dogs. *Journal of Clinical Microbiology*, 43 (11), 5470–5476. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.11.5470-5476.2005>
- Flancman, R., Singh, A. & Weese, J.S. (2018). Evaluation of the impact of dental prophylaxis on the oral microbiota of dogs. *PLoS ONE*, 13 (6), e0199676. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199676>
- Forlenza, S.W., Newman, M.G., Horikoshi, A.L. & Blachman, U. (1981). Antimicrobial susceptibility of *Capnocytophaga*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 19 (1), 144–146
- Forman, M.A., Johnson, L.R., Jang, S. & Foley, J.E. (2005). Lower respiratory tract infection due to *Capnocytophaga cynodegmi* in a cat with pulmonary carcinoma. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 7 (4), 227–231. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2004.11.002>
- Frey, E., Pressler, B., Guy, J., Pitulle, C. & Breitschwerdt, E. (2003). *Capnocytophaga* sp. isolated from a cat with chronic sinusitis and rhinitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 41 (11), 5321–5324. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.11.5321-5324.2003>
- Gaastra, W. & Lipman, L.J.A. (2010). *Capnocytophaga canimorsus*. *Veterinary Microbiology*, 140 (3), 339–346. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.01.040>
- Galpérine, T., Cazorla, C., Blanchard, E., Boineau, F., Ragnaud, J.-M. & Neau, D. (2007). *Streptococcus canis* infections in humans: retrospective study of 54 patients. *The Journal of Infection*, 55 (1), 23–26. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2006.12.013>
- GraphPad (u.å.): *Analyze categorical data*. GraphPad QuickCalcs. <https://www.graphpad.com/quickcalcs/catMenu/> [2023-12-06]
- Hansen, M. & Crum-Cianflone, N.F. (2019). *Capnocytophaga canimorsus* meningitis: Diagnosis using polymerase chain reaction testing and systematic review of the literature. *Infectious Diseases and Therapy*, 8 (1), 119–136. <https://doi.org/10.1007/s40121-019-0233-6>
- Hassan, A.A., Khan, I.U., Abdulmawjood, A. & Lämmler, C. (2003). Development of PCR assays for detection of *Streptococcus canis*. *FEMS microbiology letters*, 219 (2), 209–214. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00049-1](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00049-1)
- Hästbacka, J., Hynninen, M. & Kolho, E. (2016). *Capnocytophaga canimorsus* bacteremia: clinical features and outcomes from a Helsinki ICU cohort. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 60 (10), 1437–1443. <https://doi.org/10.1111/aas.12752>

- Janda, J.M., Graves, M.H., Lindquist, D. & Probert, W.S. (2006). Diagnosing *Capnocytophaga canimorsus* infections. *Emerging Infectious Diseases*, 12 (2), 340–342. <https://doi.org/10.3201/eid1202.050783>
- Kelly, B.C., Constantinescu, D.S. & Foster, W. (2019). *Capnocytophaga canimorsus* periprosthetic joint infection in an immunocompetent patient: A case report. *Geriatric Orthopaedic Surgery & Rehabilitation*, 10. doi:10.1177/2151459318825199
- Keshava, V.E., Bhavsar, H.V., Ghionni, N., Baba, R.H., Mcnamee, W., Keshava, V.E., Bhavsar, H.V., Ghionni, N., Baba, R.H. & Mcnamee, W. (2020). Overwhelming sepsis due to *Capnocytophaga canimorsus* in an immunocompetent individual: A rare case study. *Cureus*, 12 (9). <https://doi.org/10.7759/cureus.10177>
- Khawari, A.A., Myers, J.W., Ferguson, D.A., Jr. & Moorman, J.P. (2005). Sepsis and meningitis due to *Capnocytophaga cynodegmi* after splenectomy. *Clinical Infectious Diseases*, 40 (11), 1709–1710. <https://doi.org/10.1086/430178>
- Lai, C.-H., Lin, Y.-S., Wang, C.-M., Chang, P.-C. & Shia, W.-Y. (2023). A novel 16S rRNA PCR-restriction fragment length polymorphism assay to accurately distinguish zoonotic *Capnocytophaga canimorsus* and *C. cynodegmi*. *Microbiology Spectrum*, 11 (3), e02916-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02916-22>
- Lam, M.M., Clarridge III, J.E., Young, E.J. & Mizuki, S. (2007). The other group G streptococcus: Increased detection of *Streptococcus canis* ulcer infections in dog owners. *Journal of Clinical Microbiology*, 45 (7), 2327–2329. <https://doi.org/10.1128/JCM.01765-06>
- Lamm, C.G., Ferguson, A.C., Lehenbauer, T.W. & Love, B.C. (2010). Streptococcal infection in dogs: A retrospective study of 393 cases. *Veterinary Pathology*, 47 (3), 387–395. <https://doi.org/10.1177/0300985809359601>
- Ledbetter, E.C., Franklin-Guild, R.J. & Edelmann, M.L. (2018). *Capnocytophaga* keratitis in dogs: clinical, histopathologic, and microbiologic features of seven cases. *Veterinary Ophthalmology*, 21 (6), 638–645. <https://doi.org/10.1111/vop.12549>
- Lehner, G., Linek, M., Bond, R., Lloyd, D.H., Prenger-Berninghoff, E., Thom, N., Straube, I., Verheyen, K. & Loeffler, A. (2014). Case-control risk factor study of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) infection in dogs and cats in Germany. *Veterinary Microbiology*, 168 (1), 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.10.023>
- Lin, R.D., Hsueh, P.R., Chang, S.C. & Luh, K.T. (1998). *Capnocytophaga* bacteremia: clinical features of patients and antimicrobial susceptibility of isolates. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan Yi Zhi*, 97 (1), 44–48.
- Lion, C., Escande, F. & Burdin, J.C. (1996). *Capnocytophaga canimorsus* infections in human: Review of the literature and cases report. *European Journal of Epidemiology*, 12 (5), 521–533. <https://doi.org/10.1007/BF00144007>
- Lozano, C., Rezusta, A., Ferrer, I., Pérez-Laguna, V., Zarazaga, M., Ruiz-Ripa, L., Revillo, M.J. & Torres, C. (2017). *Staphylococcus pseudintermedius* human infection cases in Spain: Dog-to-human transmission. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, 17 (4), 268–270. <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.2048>

- LPSN (u.å.). *Capnocytophaga*. <https://lpsn.dsmz.de/search?word=capnocytophaga> [2023-12-02]
- Lysková, P., Vydřalová, M., Královcová, D. & Mazurová, J. (2007). Prevalence and characteristics of *Streptococcus canis* strains isolated from dogs and cats. *Acta Veterinaria Brno*, 76 (4), 619–625. <https://doi.org/10.2754/avb200776040619>
- Magnette, A., Huang, T.-D., Renzi, F., Bogaerts, P., Cornelis, G.R. & Glupczynski, Y. (2016). Improvement of identification of *Capnocytophaga canimorsus* by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry using enriched database. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 84 (1), 12–15. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.09.016>
- Mally, M., Paroz, C., Shin, H., Meyer, S., Soussoula, L.V., Schmiediger, U., Saillen-Paroz, C. & Cornelis, G.R. (2009). Prevalence of *Capnocytophaga canimorsus* in dogs and occurrence of potential virulence factors. *Microbes and Infection*, 11 (4), 509–514. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2009.02.005>
- Maraki, S., Kastanis, G., Stafylaki, D., Masunt, S., Kapsetakis, P. & Scoulica, E. (2018). *Pasteurella multocida* wound infection transmitted by a pet dog. *Germs*, 8 (4), 214–217. <https://doi.org/10.18683/germs.2018.1149>
- Mattei, V., Murugesan, S., Al Hashmi, M., Mathew, R., James, N., Singh, P., Kumar, M., Lakshmanan, A.P., Terranegra, A., Al Khodor, S. & Tomei, S. (2019). Evaluation of methods for the extraction of microbial DNA from vaginal swabs used for microbiome studies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2019.00197> [2023-10-12]
- Moodley, A., Damborg, P. & Nielsen, S.S. (2014). Antimicrobial resistance in methicillin susceptible and methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* of canine origin: literature review from 1980 to 2013. *Veterinary Microbiology*, 171 (3–4), 337–341. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.02.008>
- Morzycki, A., Simpson, A. & Williams, J. (2019). Dog bites in the emergency department: a descriptive analysis. *CJEM*, 21 (1), 63–70. <https://doi.org/10.1017/cem.2018.2>
- Nisa, S., Bercker, C., Midwinter, A.C., Bruce, I., Graham, C.F., Venter, P., Bell, A., French, N.P., Benschop, J., Bailey, K.M. & Wilkinson, D.A. (2019). Combining MALDI-TOF and genomics in the study of methicillin resistant and multidrug resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in New Zealand. *Scientific Reports*, 9 (1), 1271. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37503-9>
- Nogueira, B.S., Martini, A. de C., Menezes, I. de G., Souza, R.L. de, Maruyama, F.H., Rodrigues, J.Y., Nakazato, L. & Dutra, V. (2021). Detection of *Capnocytophaga canimorsus* and *Capnocytophaga cynodegmi* in dogs with periodontal disease of Brazil. *Research, Society and Development*, 10 (13), e245101321146–e245101321146. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21146>
- Norihiko Takeda, K.K., Ryuta Asano, Tomohiro Harada, Kyouichi Totsuka, Tetsuya Sumiyoshi, Takehiko Uchiyama, Saichi Hosoda, null (2001). Recurrent septicemia caused by *Streptococcus canis* after a dog bite. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 33 (12), 927–928. <https://doi.org/10.1080/00365540110076903>

- Oba, P.M., Carroll, M.Q., Alexander, C., Valentine, H., Somrak, A.J., Keating, S.C.J., Sage, A.M. & Swanson, K.S. (2021). Microbiota populations in supragingival plaque, subgingival plaque, and saliva habitats of adult dogs. *Animal Microbiome*, 3, 38. <https://doi.org/10.1186/s42523-021-00100-9>
- Oba, P.M., Sieja, K.M., Keating, S.C.J., Hristova, T., Somrak, A.J. & Swanson, K.S. (2022). Oral microbiota populations of adult dogs consuming wet or dry foods. *Journal of Animal Science*, 100 (8), skac200. <https://doi.org/10.1093/jas/skac200>
- Oehler, R.L., Velez, A.P., Mizrachi, M., Lamarche, J. & Gompf, S. (2009). Bite-related and septic syndromes caused by cats and dogs. *The Lancet Infectious Diseases*, 9 (7), 439–447. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70110-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70110-0)
- Pagnossin, D., Smith, A., Oravcová, K. & Weir, W. (2022). *Streptococcus canis*, the underdog of the genus. *Veterinary Microbiology*, 273, 109524. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2022.109524>
- Parte, A.C., Sardà Carbasse, J., Meier-Kolthoff, J.P., Reimer, L.C. & Göker, M. (2020). List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70, 5607–5612; DOI: 10.1099/ijsem.0.004332
- Paul, N.C., Bärghman, S.C., Moodley, A., Nielsen, S.S. & Guardabassi, L. (2012). *Staphylococcus pseudintermedius* colonization patterns and strain diversity in healthy dogs: A cross-sectional and longitudinal study. *Veterinary Microbiology*, 160 (3), 420–427. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.06.012>
- Pers, C., Gahrn-Hansen, B. & Frederiksen, W. (1996). *Capnocytophaga canimorsus* septicemia in Denmark, 1982–1995: Review of 39 cases. *Clinical Infectious Diseases*, 23 (1), 71–75. <https://doi.org/10.1093/clinids/23.1.71>
- Pesavento, P.A., Bannasch, M.J., Bachmann, R., Byrne, B.A. & Hurley, K.F. (2007). Fatal *Streptococcus canis* infections in intensively housed shelter cats. *Veterinary Pathology*, 44 (2), 218–221. <https://doi.org/10.1354/vp.44-2-218>
- Phumthanakorn, N., Chanchaithong, P. & Prapasarakul, N. (2017). Development of a set of multiplex PCRs for detection of genes encoding cell wall-associated proteins in *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs, humans and the environment. *Journal of Microbiological Methods*, 142, 90–95. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2017.09.003>
- Prescott, J.F., Mathews, K., Gyles, C.L., Matsumiya, L., Miller, C., Rinkhardt, N., Yager, J.A., Hylands, R.H. & Low, D.E. (1995). Canine streptococcal toxic shock syndrome in Ontario: An emerging disease? *The Canadian Veterinary Journal*, 36 (8), 486–487
- Razali, K., Kaidi, R., Abdelli, A., Menoueri, M.N. & Ait-Oudhia, K. (2020). Oral flora of stray dogs and cats in Algeria: *Pasteurella* and other zoonotic bacteria. *Veterinary World*, 13 (12), 2806–2814. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.2806-2814>
- Renzi, F., Dol, M., Raymackers, A., Manfredi, P. & Cornelis, G.R. (2015). Only a subset of *C. canimorsus* strains is dangerous for humans. *Emerging Microbes & Infections*, 4 (8), e48. <https://doi.org/10.1038/emi.2015.48>

- Renzi, F., Hess, E., Dol, M., Koudad, D., Carlier, E., Ohlén, M., Moore, E. & Cornelis, G.R. (2018). Capsular serovars of virulent *Capnocytophaga canimorsus* are shared by the closely related species *C. canis* and *C. cynodegmi*. *Emerging Microbes & Infections*, 7 (1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0126-x>
- Rummens, J.L., Gordts, B. & Van Landuyt, H.W. (1986). In vitro susceptibility of *Capnocytophaga* species to 29 antimicrobial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 30 (5), 739–742. <https://doi.org/10.1128/AAC.30.5.739>
- Ruparell, A., Inui, T., Staunton, R., Wallis, C., Deusch, O. & Holcombe, L.J. (2020). The canine oral microbiome: variation in bacterial populations across different niches. *BMC Microbiology*, 20, 42. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-1704-3>
- Santaniello, A., Garzillo, S., Amato, A., Sansone, M., Fioretti, A. & Menna, L.F. (2020). Occurrence of *Pasteurella multocida* in dogs being trained for animal-assisted therapy. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17 (17), 6385. <https://doi.org/10.3390/ijerph17176385>
- Sardo, S., Pes, C., Corona, A., Laconi, G., Crociani, C., Caddori, P., Luisa Boi, M. & Finco, G. (2022). The Great pretender: the first case of septic shock due to *Capnocytophaga canimorsus* in Sardinia. A Case report and review of the literature. *Journal of Public Health Research*, 11 (4), 22799036221133234. <https://doi.org/10.1177/22799036221133234>
- Sarma, P.S. & Mohanty, S. (2001). *Capnocytophaga cynodegmi* cellulitis, bacteremia, and pneumonitis in a diabetic man. *Journal of Clinical Microbiology*, 39 (5), 2028–2029. <https://doi.org/10.1128/jcm.39.5.2028-2029.2001>
- Shin, H., Mally, M., Kuhn, M., Paroz, C. & Cornelis, G.R. (2007). Escape from immune surveillance by *Capnocytophaga canimorsus*. *Journal of Infectious Diseases*, 195 (3), 375–386. <https://doi.org/10.1086/510243>
- Shinohara, K., Tsuchido, Y., Suzuki, M., Yamamoto, K., Okuzawa, Y., Imaoka, K. & Shimizu, T. (2022). Putative novel species of genus *Capnocytophaga*, *Capnocytophaga stomatis* bacteremia in a patient with multiple myeloma after direct contact with a cat. *Internal Medicine*, 61 (14), 2233–2237. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.7947-21>
- Sowden, D., Allworth, A. & Davis B, L. (1995). *Capnocytophaga canimorsus* sepsis: poor growth using an automated blood culture system. *Clinical Microbiology Newsletter*, 17 (12), 94–96. [https://doi.org/10.1016/0196-4399\(95\)80027-1](https://doi.org/10.1016/0196-4399(95)80027-1)
- Sturgeon, A., Stull, J.W., Costa, M.C. & Weese, J.S. (2013). Metagenomic analysis of the canine oral cavity as revealed by high-throughput pyrosequencing of the 16S rRNA gene. *Veterinary Microbiology*, 162 (2), 891–898. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.11.018>
- Suzuki, M., Imaoka, K., Haga, Y., Mohri, M., Nogami, A., Shimojima, Y., Irie, Y., Sugimura, S. & Morikawa, S. (2018). Characterization of three strains of *Capnocytophaga canis* isolated from patients with sepsis. *Microbiology and Immunology*, 62 (9), 567–573. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12642>
- Suzuki, M., Imaoka, K., Kimura, M., Morikawa, S. & Maeda, K. (2023). *Capnocytophaga catalasegens* sp. nov., isolated from feline oral cavities.

International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 73 (3), 005731.
<https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005731>

- Suzuki, M., Kimura, M., Imaoka, K. & Yamada, A. (2010). Prevalence of *Capnocytophaga canimorsus* and *Capnocytophaga cynodegmi* in dogs and cats determined by using a newly established species-specific PCR. *Veterinary Microbiology*, 144 (1), 172–176. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.01.001>
- Suzuki, M., Umeda, K., Kimura, M., Imaoka, K., Morikawa, S. & Maeda, K. (2020). *Capnocytophaga felis* sp. nov. isolated from the feline oral cavity. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70 (5), 3355–3360. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004176>
- Tabatabaei, M. & Rouhani, H.R. (2019). Polymerase chain reaction detection of *Capnocytophaga canimorsus* and *Capnocytophaga cynodegmi* as the emerging zoonosis. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection*, 6 (1), 21–25. <https://doi.org/10.34172/ajcmi.2019.05>
- Tani, N., Nakamura, K., Sumida, K., Suzuki, M., Imaoka, K. & Shimono, N. (2019). An Immunocompetent case of *Capnocytophaga canimorsus* infection complicated by secondary thrombotic microangiopathy and disseminated intravascular coagulation. *Internal Medicine*, 58 (23), 3479–3482. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.3110-19>
- Tóth, A.G., Tóth, I., Rózsa, B., Dubecz, A., Patai, Á.V., Németh, T., Kaplan, S., Kovács, E.G., Makrai, L. & Solymosi, N. (2022). Canine saliva as a possible source of antimicrobial resistance genes. *Antibiotics*, 11 (11), 1490. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111490>
- Townsend, K.M., Frost, A.J., Lee, C.W., Papadimitriou, J.M. & Dawkins, H.J.S. (1998). Development of PCR assays for species- and type-specific identification of *Pasteurella multocida* isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 36 (4), 1096–1100
- Ujvári, B., Orbán, B., Incze, Z., Psáder, R. & Magyar, T. (2020). Occurrence of *Pasteurellaceae* and *Neisseriaceae* bacteria in the pharyngeal and respiratory tract of dogs and cats – Short communication. *Acta Veterinaria Hungarica*, 68 (3), 231–235. <https://doi.org/10.1556/004.2020.00036>
- Umeda, K., Hatakeyama, R., Abe, T., Takakura, K.-I., Wada, T., Ogasawara, J., Sanada, S.-I. & Hase, A. (2014). Distribution of *Capnocytophaga canimorsus* in dogs and cats with genetic characterization of isolates. *Veterinary Microbiology*, 171 (1), 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.03.023>
- Van Hoovels, L., Vankeerberghen, A., Boel, A., Van Vaerenbergh, K. & De Beenhouwer, H. (2006). First case of *Staphylococcus pseudintermedius* infection in a human. *Journal of Clinical Microbiology*, 44 (12), 4609–4612. <https://doi.org/10.1128/JCM.01308-06>
- VassarStats (u.å.). *Website for Statistical Computation*. <http://vassarstats.net/> [2023-12-06]
- Vetbact (u.å.). *Staphylococcus pseudintermedius*. [fotografi]. <https://vetbact.org/index.php?artid=135&vbsearchstring=staph#> (CC BY-NC-ND 4.0) [2023-11-28]

- VetBact (2010). *Pasteurella multocida* subsp. *multocida*. [fotografi].
<https://vetbact.org/index.php?artid=56&vbsearchstring=pasteurella#> (CC BY-NC-ND 4.0) [2023-11-28]
- Vectbact (2011). *Streptococcus canis*. [fotografi].
<https://vetbact.org/index.php?artid=207&vbsearchstring=strept#> (CC BY-NC-ND 4.0) [2023-11-28]
- VetBact (2023). *Capnocytophaga canimorsus*. [fotografi].
<https://vetbact.org/index.php?artid=265&vbsearchstring=capnocytophaga#> (CC BY-NC-ND 4.0) [2023-11-28]
- Wallis, C., Milella, L., Colyer, A., O'Flynn, C., Harris, S. & Holcombe, L.J. (2021). Subgingival microbiota of dogs with healthy gingiva or early periodontal disease from different geographical locations. *BMC Veterinary Research*, 17 (1), 7.
<https://doi.org/10.1186/s12917-020-02660-5>
- Westwell, A.J., Kerr, K., Spencer, M.B. & Hutchinson, D.N. (1989). DF-2 infection. *BMJ: British Medical Journal*, 298 (6666), 116–117
- Wilkinson, D.A., Rogers, L.E., Bell, A., Benschop, J. & Midwinter, A.C. (2023). Carriage of *Staphylococcus pseudintermedius* by clinically normal dogs in Canterbury, New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 71 (1), 33–36.
<https://doi.org/10.1080/00480169.2022.2129855>
- Workman, H.C., Bailiff, N.L., Jang, S.S. & Zinkl, J.G. (2008). *Capnocytophaga cynodegmi* in a Rottweiler dog with severe bronchitis and foreign-body pneumonia. *Journal of Clinical Microbiology*, 46 (12), 4099–4103.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00173-08>
- Zangenah, S., Abbasi, N., Andersson, A.F. & Bergman, P. (2016). Whole genome sequencing identifies a novel species of the genus *Capnocytophaga* isolated from dog and cat bite wounds in humans. *Scientific Reports*, 6 (1), 22919.
<https://doi.org/10.1038/srep22919>
- Zangenah, S., Özenci, V., Boräng, S. & Bergman, P. (2012). Identification of blood and wound isolates of *C. canimorsus* and *C. cynodegmi* using VITEK2 and MALDI-TOF. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 31 (10), 2631–2637. <https://doi.org/10.1007/s10096-012-1606-x>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Capnocytophaga canimorsus och *Capnocytophaga cynodegmi* är bakterier som ingår i den normala bakteriefloran i hundens mun. Hos människor kan *C. cynodegmi* framför allt orsaka sårinfektioner och *C. canimorsus* kan orsaka allvarliga infektioner såsom blodförgiftning med hög dödlighet. Infektion sker framförallt genom bitt eller rivskador men kan även ske efter nära kontakt med hund och drabbar huvudsakligen individer med nedsatt immunförsvar. Den största delen av infekterade utgörs av personer som genomgått splenektomi (borttagning av mjälten) eller personer med leverskada efter alkoholmissbruk.

Syftet med denna studie var att undersöka förekomsten av släktet *Capnocytophaga*, samt bakterierna *Pasteurella multocida*, *Streptococcus canis* och *Staphylococcus pseudintermedius*, i hundens mun. Undersökningen utfördes med både PCR och bakteriologisk odling där identifikation av bakterierna gjordes med hjälp av Maldi-Tof MS. Vid PCR utvinns man DNA ur provet som sedan kopieras med hjälp av olika reagens samt en maskin som ger optimala temperaturer för kopieringen. Med hjälp av en elström separeras sedan DNA av olika längd på en gel och framkallas med UV-ljus och ett färgämne. Tillsammans med en referens kan man sedan avgöra om bakterien förekommer i provet eller inte. Vid bakteriologisk odling sätter man en del av provet på olika odlingsplattor där bakterierna kan växa till. En maskin (Maldi-Tof MS) används sedan för att identifiera vilken bakterie det är.

Prover togs från 50 hundar varav majoriteten var bosatta i Uppsala län. Förekomst (andelen av proverna som var positiva) i munhålan hos hund av släktet *Capnocytophaga* var 94 %, av bakterierna *C. canimorsus* 74 %, *C. cynodegmi* 60 %, *P. multocida* 78 %, *S. canis* 90 % och *S. pseudintermedius* 48 % med PCR. Med bakteriologisk odling var förekomsten av *Capnocytophaga* 20 %, av bakterierna *C. canimorsus* 2 %, *C. cynodegmi* 10 % och *S. canis* 16 %. *Pasteurella multocida* och *S. pseudintermedius* kunde inte påvisas. PCR visade en högre förekomst än bakteriologisk odling och var därmed bättre på att identifiera dessa bakterier.

Ett statistiskt samband observerades mellan ålder och förekomst av *C. canimorsus* samt *C. cynodegmi*, där hundar ≥ 5 års ålder oftare var bärare av bakterierna medan hundar mellan 6 månader och 5 års ålder sällan var bärare av bakterierna. Ingen av de tre hundarna ≤ 6 månaders ålder bar på *C. canimorsus*, då samtliga hundar var negativa för denna bakterie. Det krävs dock fler studier på ett större antal hundar, framför allt de under 6 månaders ålder, för att kunna bekräfta detta samband.

Tack

Ett stort tack till Ingrid Hansson och Peter Halvarsson för all hjälp och stöttning, ni har varit fantastiska handledare! Tack även till alla ägare och deras hundar för att de medverkat i studien.

Bilaga 1

Följesedel

Djuret

Art: Hund Katt

Namn: _____ Ålder: _____

Ras: _____ Postnummer: _____

Foder (kryssa i alla som stämmer): Torrfoder Blötfoder Färskfoder
Fågel Fisk Nöt Svin Vilt

Borstar ni tänderna på djuret? Ja Nej Om ja, hur ofta? _____

Sjukdomar: _____

Inne-/utekatt: _____

Användningsområde (agility, sällskap, jakt etc.): _____

Datum och tidpunkt för provtagning: _____

Provmaterial: svabbprov från munslemhinna _____

Provnummer _____

Bilaga 2

Mikroorganismer typade med Maldi-Tof MS.

Mikroorganism	Antal kolonier (troliga)	Antal prover
<i>Acinebacter pseudolwoffii</i>	1 (0)	1
<i>Bacillus pumilus</i>	0 (1)	1
<i>Bacillus</i> spp.	1 (0)	1
<i>Bergeyella zoohelcum</i>	3 (1)	4
<i>Capnocytophaga canimorsus</i>	1 (0)	1
<i>Capnocytophaga cynodegmi</i>	5 (0)	5
<i>Capnocytophaga</i> spp.	4 (0)	4
<i>Enterococcus faecium</i>	1 (0)	1
<i>Escherichia coli</i>	2 (0)	2
<i>Flavobacterium lindanitolerans</i>	1 (0)	1
<i>Frederiksenia canicola</i>	10 (0)	10
<i>Klebsiella aerogenes</i>	1 (0)	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1 (0)	1
<i>Haemophilus haemoglobinophilus</i>	3 (0)	3
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	1 (0)	1
<i>Malassezia pachydermatis</i>	1 (0)	1
<i>Micrococcus luteus</i>	0 (1)	1
<i>Neisseria dumasiana</i>	1 (0)	1
<i>Neisseria weaveri</i>	1 (0)	1
<i>Ochrobactum intermedium</i>	1 (0)	1
<i>Pasteurella canis</i>	7 (0)	7
<i>Pasteurella dagmatis</i>	2 (0)	2
<i>Pasteurella stomatis</i>	3 (0)	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 (0)	1
<i>Riemerella</i> spp.	1 (0)	1
<i>Rothia nasimurium</i>	0 (2)	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 (0)	1
<i>Staphylococcus capitis</i>	1 (1)	2
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1 (0)	1
<i>Staphylococcus hominis</i>	0 (1)	1

<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	0 (2)	2
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	0 (2)	2
<i>Streptococcus canis</i>	8 (0)	8
<i>Streptococcus canis/dysgalactiae</i>	1 (0)	1
<i>Streptococcus hyovaginalis</i>	1 (1)	2
<i>Streptococcus minor</i>	2 (2)	4
<i>Streptococcus thoraltensis</i>	0 (1)	1
Oidentifierade	49	32

Publicering och arkivering

Godkända självständiga arbeten (examensarbeten) vid SLU publiceras elektroniskt. **Som student äger du upphovsrätten** till ditt arbete och behöver godkänna publiceringen. Om du kryssar i **JA**, så kommer fulltexten (pdf-filen) och metadata bli synliga och sökbara på internet. Om du kryssar i **NEJ**, kommer endast metadata och sammanfattning bli synliga och sökbara. Även om du inte publicerar fulltexten kommer den arkiveras digitalt. Om fler än en person har skrivit arbetet gäller krysset för samtliga författare. Läs om SLU:s publiceringsavtal här:

- <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

JA, jag ger härmed min tillåtelse till att föreliggande arbete publiceras enligt SLU:s avtal om överlåtelse av rätt att publicera verk.

NEJ, jag ger inte min tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara.