



# Kartläggning av utbrott av bovint respiratoriskt syncytialt virus i svenska nötkreatursbesättningar under 2020

---

*Mapping of bovine respiratory syncytial virus outbreaks in Swedish cattle during 2020*

Sophia Lindemark

Självständigt arbete • 30 hp  
Sveriges lantbruksuniversitet, SLU  
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Veterinärprogrammet  
Uppsala 2021





# Kartläggning av utbrott av bovint respiratoriskt syncytialt virus i svenska nötkreatursbesättningar under 2020

Mapping of bovine respiratory syncytial virus outbreaks in Swedish cattle during 2020

Sophia Lindemark

**Handledare:** Sara Hägglund, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper  
**Bitr. handledare:** Jean-Francois Valarcher, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper  
**Bitr. handledare:** Ewa Olszowy, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper  
**Examinator:** Mikael Berg, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

**Omfattning:** 30 hp  
**Nivå och fördjupning:** A2E  
**Kurstitel:** Självständigt arbete i veterinärmedicin  
**Kurskod:** EX0869  
**Program/utbildning:** Veterinärprogrammet  
**Kursansvarig inst.:** Institutionen för kliniska vetenskaper

**Utgivningsort:** Uppsala  
**Utgivningsår:** 2021  
**Omslagsbild:** Sophia Lindemark

**Nyckelord:** Bovint respiratoriskt syncytialt virus, BRSV, HRSV, smittspridning, smittskydd, luftvägssjukdom, hygienrutiner,  
**Keywords:** Bovine respiratory syncytial virus, BRSV, HRSV, transmission, biosecurity, respiratory disease

**Sveriges lantbruksuniversitet**

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för kliniska vetenskaper

## 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. Fulltexten kommer dock i samband med att dokumentet laddas upp arkiveras digitalt.

Om ni är fler än en person som skrivit arbetet så gäller krysset för alla författare, ni behöver alltså vara överens. Läs om SLU:s publiceringsavtal här: <https://www.slu.se/site/bibliotek/publicera-och-analysera/registrera-och-publicera/avtal-for-publicering/>.

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

NEJ, jag/vi ger inte min/vår tillåtelse att publicera fulltexten av föreliggande arbete. Arbetet laddas dock upp för arkivering och metadata och sammanfattning blir synliga och sökbara. (Embargo 6 mån)

## Sammanfattning

Bovint respiratoriskt syncytialt virus (BRSV) är ett vanligt förekommande virus hos nötkreatur världen över. Infektionen kan förlöpa subkliniskt eller med milda symtom, men kan även ge upphov till kraftig påverkan i form av feber, hosta, tachypné och dyspné. Kalvar är vanligen den grupp som drabbas av allvarliga symtom, men även vuxna djur som tidigare inte exponerats för viruset kan uppvisa allvarliga tecken på sjukdom. BRSV-infektion kan ge upphov till sekundära bakteriella infektioner som ibland behöver behandlas med antibiotika, vilket kan selektera för antibiotikaresistens. Besättningar som infekteras med BRSV drabbas inte sällan av konsekvenser såsom minskad mjölkproduktion, sämre tillväxt hos ungdjur och inte minst djurlidande. I Sverige sker utbrott med BRSV oftast under vinterhalvåret och när ett djur i besättningen drabbats sprider sig smittan nästan alltid till samtliga djur. Smittan sker då genom direktkontakt och troligen även indirekt genom kontaminerade ytor och via luften inom en byggnad. Hur smittspridningen ser ut mellan besättningar är ännu inte helt klarlagd.

Syftet med examensarbetet var att kartlägga och beskriva utbrott som skett under 2020 i Dalarna, Jämtland och Uppland, med fokus på tid och rum samt smittade besättnings kontaktnät, för att i förlängningen kunna identifiera potentiella vägar för smittspridningen. Examensarbetet ämnar bidra med underlag för att bättre förstå smittans utbredning, spridningshastigheten samt smittöverföringen mellan besättningar, för att i förlängningen kunna utveckla ett så effektivt smittskydd som möjligt.

Under tidiga 2020 provtogs samt intervjuades besättningar i samtliga regioner fortlöpande med avseende på utbrott, kontaktnät och besättningsuppgifter. Virus från nossvabbsprover gensekvenserades i sin helhet och delades in efter släktskap i så kallade fylogenetiska kluster. Informationen som inhämtades bearbetades, utbrotten kartlades i tid och rum och kontakter som kan ha agerat potentiella smittvägar identifierades. Under sommaren och hösten 2020 samlades tankmjölk in från 29 besättningar i Jämtlands län och analyserade med s.k. enzyme-linked immunosorbent assay avseende BRSV-specifika IgG-antikroppar. Fem besättningar som låg nära infekterade besättningar men som inte smittats av BRSV intervjuades för jämförelse med smittade besättningar för att se om några större skillnader som potentiellt kunde påverka introduktion av smitta förelegat.

Viruset påvisades i 43 besättningar i de tre länen under en tidsperiod på 117 dagar. De olika kluster som identifierades höll sig i huvudsak inom respektive geografiskt område. Närliggande regioner hade troligen större överlappande kontaktnät vilket speglade sig i kluster som återfanns i både Dalarna och Uppland. Hos många drabbades framför allt äldre djur först och värst, vilket kan tala för att majoriteten av djuren har varit immunologiskt naiva mot viruset. Potentiella passiva vektorer som möjligen utgjorde smittöverföring mellan besättningar identifierades i kontakter som besökte flera gårdar under samma dag eller i nära tidsföljd, men några tydliga smittvägar har inte framkommit. Alla negativa besättningar drog ner på mängden besök avsevärt så fort information om utbrott i området nådde dem och alla avstod från inköp av djur under 2020.

Troligen spelade gemensamma mänskliga kontakter en roll i smittspridning mellan besättningar, men andra faktorer såsom djurens förmåga att stå emot infektion i kombination med gårdens hygienrutiner och virulens hos cirkulerande virus har med största sannolikhet en minst lika avgörande del i det hela. Samtliga faktorer behöver beaktas vid utveckling av smittskydd.

*Nyckelord:* Bovint respiratoriskt syncytialt virus, BRSV, HRSV, smittspridning, smittskydd, luftvägssjukdom, hygienrutiner

## Abstract

Bovine respiratory syncytial virus (BRSV) is a common pathogen causing respiratory infection in cattle worldwide. Symptoms can vary from unnoticed or mild to severe respiratory signs with fever, cough, tachypnea and ventral dyspnea. Calves are more often prone to serious symptoms, but adult cattle can also show signs of severe respiratory disease if they have never encountered the virus before: rendering them naive and prone to infection. Disease with BRSV can give rise to secondary infections with bacteria, in some cases in need of antibiotics for recovery, which could select for antimicrobial resistance. Herds infected with BRSV often suffer consequences in form of lower milk yield, decreased weight gain in beef cattle, not to mention animal suffering. In Sweden, as in other temperate countries, outbreaks of BRSV most often occur during the winter season and if one animal gets infected, the virus, in most cases, spreads to all of the animals in the herd. Spreading of BRSV happens through direct contact between animals and most likely indirect transmission due to contaminated areas in contact with the animals, as well as through droplets in the air within a building. How transmission of BRSV between herds happens is yet to be explored.

The aim of this study was to map and describe the outbreaks of 2020 in the Swedish regions Dalarna, Jämtland and Uppland, with a spatio temporal focus, as well as the networks of contacts of the infected farms in order to try to understand the transmission. The main goal of the study was to contribute with information that could potentially help in the process of understanding transmission of BRSV between herds, in order to help develop present biosecurity routines.

Herds in all three regions were sampled and interviewed during 2020 regarding the outbreak, network of contacts and herd information. Virus collected from nasal secretions were fully sequenced and divided into clusters based on genomic relatedness. The outbreaks were mapped in a spatio temporal pattern and information regarding contacts potentially being transmission pathways were identified. During summer and fall of 2020, bulk tank milk was collected from 29 herds in the county of Jämtland and analyzed with enzyme-linked immunosorbent assay for IgG antibodies specific for BRSV. Five herds free from BRSV, but in close proximity to infected ones, were interviewed in order to look at potential differences regarding potential transmission pathways of the virus.

BRSV was sampled in 43 herds in the three regions during a time period of 117 days. The results showed that different clusters of the virus mostly stayed within geographic borders. Nearby regions probably had more contacts in common, which might explain that one cluster was present in both Dalarna and Uppland. The majority of animals affected with clear clinical signs were older individuals, which could be indicative of them being naive to the virus. Potential passive vectors of transmission between herds were noticed in contacts who visited several farms during the same day or the following days, but obvious pathways of transmission were not identified. All of the herds free of BRSV decreased the amounts of visitors to the farm when information about the outbreak reached them. None of them purchased any new animals during 2020.

Having contacts in common probably played a role in the transmission between herds. Other factors such as the animals ability to withstand infection in combination with biosecurity measures might also have had a significant role. All of the above needs to be taken into account when developing biosecurity measures in the future.

*Keywords:* Bovine respiratory syncytial virus, BRSV, HRSV, transmission, biosecurity, respiratory disease

# Innehållsförteckning

<b>1. Inledning</b>	<b>9</b>
<b>2. Litteraturoversikt</b>	<b>10</b>
2.1. Egenskaper	10
2.2. Patogenes	10
2.2.1. Patologi	11
2.3. Förekomst	11
2.4. Kliniska symtom och konsekvenser	11
2.4.1. Ekonomi	12
2.5. Diagnos	12
2.6. Behandling och åtgärder i akutstadiet	13
2.7. Profylax	13
2.8. Smittspridning	14
2.9. Riskfaktorer	15
2.10. Sekvensering	16
<b>3. Material och Metoder</b>	<b>17</b>
3.1. Examensarbetets utgångsläge	17
3.2. Besättningar	17
3.3. Provtagning och dokumentation	18
3.4. Jämförande data	20
<b>4. Resultat</b>	<b>21</b>
4.1. Drabbade besättningar	21
4.2. Sekvenseringsdata	21
4.3. Spatiotemporal kartläggning och tidsaxel	23
4.4. Besökstrafik på infekterade gårdar	25
4.5. Analyserade prover	27
4.6. Intervjudata	28
4.7. Jämförande data	28
<b>5. Diskussion</b>	<b>30</b>
5.1. Beskrivning av utbrotten	30

5.2.	Sekvenseringsdata .....	31
5.3.	Inverkande faktorer.....	32
5.4.	Jämförande data.....	33
5.5.	Examensarbetets begränsningar .....	35
5.6.	Konklusion .....	36
	<b>Referenser.....</b>	<b>38</b>
	<b>Tack .....</b>	<b>42</b>
	<b>Populärvetenskaplig sammanfattning .....</b>	<b>43</b>



# 1. Inledning

Bovint respiratoriskt syncytialt virus (BRSV) är ett vanligt förekommande virus över hela världen. I Sverige är utbrott vanligast under november-februari (Elvander *et al.* 2016). Infektionen kan vara subklinisk eller ge kraftiga symtom som feber, hosta, tachypné och dyspné. Både kalvar och äldre djur kan drabbas. Försämrad tillväxt samt nedsatt mjölkproduktion kan vara konsekvenser till följd av sjukdom (Elvander 1996; Klem *et al.* 2016). Infektionen predisponerar för sekundära bakteriella infektioner (van der Poel *et al.* 1995; Hodgins *et al.* 2002) som ibland kan behöva behandlas med antibiotika.

Smittspridning sker huvudsakligen genom direktkontakt via nossekret och utandningsluft i form av droppsmitta, men även passiva vektorer som till exempel människor samt kontaminerade redskap och kläder utgör troligen en smittkälla (Valarcher & Taylor 2007; Oma *et al.* 2018). Hur smittspridning vanligen sker mellan besättningar vid utbrott är ännu inte helt klarlagt.

Examensarbetet utgör en del av ett större forskningsprojekt vars övergripande mål är att utveckla nuvarande strategier för ett ännu effektivare smittskydd mot BRSV. Syftet med arbetet är att kartlägga tre kluster av utbrott i tid och rum under tidiga 2020 i Dalarnas, Jämtlands samt Upplands län för att påvisa potentiella smittvägar genom att se över gårdarnas aktiviteter i form av olika besök och kontaktnät. Examensarbetet ämnar bidra med underlag för mer kunskap kring smittöverföring och möjliga smittvägar av BRSV mellan besättningar, för att i framtiden kunna se över potentiella riskfaktorer som kan undersökas i ett större urval av besättningar med olika smittstatus.

## 2. Litteraturöversikt

### 2.1. Egenskaper

Bovint respiratoriskt syncytialvirus är ett virus tillhörande genus *Orthopneumovirus*, tidigare genus *Pneumovirus*, i familjen *Paramyxoviridae* och drabbar nötkreatur (Brodersen 2010). Det är nära besläktat med humant respiratoriskt syncytialt virus (HRSV) som är en vanlig orsak till luftvägssjukdom hos barn. Epidemiologin och patogenesen mellan HRSV- och BRSV-infektion liknar varandra, vilket gör BRSV-infektion hos kalvar till en bra modell för att studera HRSV (Valarcher & Taylor 2007). Viruset är enkelsträngat (RNA) och höljeförsett och därmed mindre tåligt i miljön, då det är känsligare för olika detergentter och desinfektionsmedel än flera icke höljeförsetta virus (Valarcher & Taylor 2007; Henriksen *et al.* 2010).

### 2.2. Patogenes

Inkubationstiden uppskattas till att vara två till fem dagar och infektion med BRSV leder tidigt i förloppet till replikation av viruset inuti nasala, tracheala samt bronkiala epitelceller i de övre luftvägarna. Ungefär två dagar senare sker en replikation i de nedre luftvägarnas epitelceller i bronkioler och alveoler. Infektionen leder till en direkt påverkan på drabbade celler som smälter samman till multinukleära jätteceller, så kallade syncytier, till följd av att virala proteiner på värdcellernas membran medierar fusion av infekterade närliggande celler. Orsaken till formation av syncytier är inte helt klarlagd, men skulle kunna vara ett sätt för viruset att snabbt spridas till ytterligare närliggande celler, alternativt en strategi för att undvika värdens immunförsvar. Den cytopatogena effekten på värdcellerna leder till slut till celldöd (Viuff *et al.* 2002; Gower *et al.* 2005). Virusinfektionen inducerar rekrytering av neutrofiler, makrofager och lymfocyter till luftvägarna som bland annat fagocyterar apoptotiska celler och avdödar virus (Larsen *et al.* 2000; Valarcher & Taylor 2007; Viuff *et al.* 2002).

### 2.2.1. Patologi

Vid obduktion ses ofta en bronkointerstitiell pneumoni samt en obstruktiv bronkopneumoni som drabbar bronker, bronkioler och alveoler. Koncentrationen av inflammatoriska celler i utrymmet mellan arterioler och bronkioler ökar kraftigt och inuti luftvägarna ansamlas inflammatoriska celler, fibrin, ödem, extracellulärt DNA och mucus som orsakar en mekanisk obstruktion (Cortjens *et al.* 2016). De kranio-ventrala delarna av lungorna blir konsoliderade med ett mukopurulent sekret i bronker medan kaudodorsala delar snarare är uttöjda till följd av interlobulära och subpleurala emfysem (Johnson *et al.* 2007; Valarcher & Taylor 2007; Brodersen 2010).

### 2.3. Förekomst

Infektion med BRSV, framför allt under vintern, förekommer över hela världen. Viruset har isolerats från boskap i Europa, Amerika och Asien. Virusinfektionen är vanlig och antikroppsproduktionen långvarig, vilket gör att vuxna djur som genomgått infektion har hög seroprevalens. Det är oklart och troligen mycket olika hur ofta vuxna djur återinfekteras (Valarcher & Taylor 2007). I Sverige förekommer utbrott årligen i olika regioner, vanligast under november-februari (Elvander *et al.* 2016). I en studie som gav en överblick av prevalensen i december år 1990 var förekomsten av BRSV lägst i norra Sverige. Där var 41-51 % av besättningarna antikroppspositiva i tankmjölken, medan 84-89 % var positiva i de södra delarna av landet (Elvander 1996). En senare studie baserad på antikropps-förekomst i serum från kött djur över 12 månader gamla visade på en prevalens nära 70 % av BRSV i Skaraborg och Skåne, 20,7 % i Kronoberg och Blekinge och 7,9 % i Värmland och Dalarna (Beaudeau *et al.* 2010).

### 2.4. Kliniska symtom och konsekvenser

Infektion med viruset är en vanlig orsak till luftvägssjukdom hos kalvar mellan två och sex månader gamla. Kalvar är den djurkategorin där symtomen blir allvarligast i de områden där seroprevalensen är hög hos vuxna djur. Dock kan även äldre djur drabbas av kraftigare infektion, särskilt om dessa aldrig stött på viruset innan och därmed är immunologiskt naiva. Infektionen kan vara subklinisk eller orsaka symtom, från lindriga till kraftiga, beroende på hur stor del av luftvägarna som infekterats och hur stark inflammationen är. Drabbade djur utvecklar tidigt feber, takypné och ventral dyspné, eventuellt med seröst nos- och tårflöde, följt av mukopurulent nosflöde och hosta senare i förloppet. Kraftigare infektioner ger även det takypné och dyspné, samt nedsatt allmäntillstånd, anorexi och minskad mjölkproduktion hos lakterande kor. Ibland utvecklas subkutana emfysem (Valarcher & Taylor

2007). Infektion med BRSV är kopplat till hög morbiditet (60–80 %) och vanligtvis en låg mortalitet. Dock varierar siffrorna för varje utbrott beroende på bland annat immuniteten i den drabbade besättningen och mortaliteten kan vara upp till 20 %. I en studie har man föreslagit en särskilt hög virulens hos cirkulerande virusstam eller att saminfektioner förelåg, t.ex. med *Mycoplasma spp.* eller *Mannheimia haemolytica* som ytterligare faktorer som kan ha påverkat dödligheten, dock presenterar studien inga siffror på hur mortaliteten kan ha förändrats (Giammarioli *et al.* 2020). Virusinfektionen predisponerar för sekundära bakteriella infektioner (van der Poel *et al.* 1995; Hodgins *et al.* 2002) som ibland behöver behandlas med antibiotika, vilket kan selektera för antibiotikaresistens.

### 2.4.1. Ekonomi

Drabbade lantbrukare har rapporterat att en infektion med BRSV i besättningen lett till en minskad mjölkproduktion med 20–60%, som hållit i sig i en till åtta veckor efter introduktion. Detta har observerats även på gårdar där djuren bara visat milda symtom (Elvander 1996). En möjlig ökad risk för reproduktionsproblem, särskilt efter första inseminationen, samt högre kalv- och kvigdödlighet har identifierats hos besättningar med ett troligt BRSV-utbrott. Dock kan det inte helt uteslutas att sämre hygien- och managementrutiner kan vara bidragande faktorer, snarare än att enbart infektion med BRSV ligger bakom (Beaudeau *et al.* 2010). I en annan studie har man studerat tillväxtkurvorna på tjurar för att analysera om det finns en koppling mellan infektion med BRSV och försämrad tillväxt. Tjurar med svåra kliniska symtom hade en tydligare och ihållande trend med sämre tillväxthastighet jämfört med tjurar med lindriga eller utan kliniska symtom, något som påverkar slaktvikt och därmed inkomst. Dock visade studien att även om konsekvenserna av virusinfektionen är störst hos allvarligast sjuka djur, drabbas produktionen även om bara lindriga symtom ses (Klem *et al.* 2016).

## 2.5. Diagnos

Efter genomgången infektion tar det ungefär två till tre veckor innan antikroppar utvecklas och dessa är detekterbara i serum under flera år. Halten antikroppar i mjölk uppvisar större variation än i serum, sett över tid genom upprepad provtagning av enskilda individer (Hägglund och Valarcher, opublicerade observationer). Att mäta antikroppshalten i tankmjölk kan användas för att till exempel visa på frihet från virus i besättningar eller regioner. För att detektera antikroppar mot BRSV används serologiska metoder på mjölk eller serum, oftast baserade på enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Elvander *et al.* 2016). Vid detektion av själva viruset i den akuta fasen av sjukdomsförloppet används istället nässvabprover, lung- eller tracheal-sköljprover för polymerase chain reaction (PCR) för

påvisande av virusnukleinsyra. Detektion av antikroppar säger inget om pågående infektion, till skillnad från påvisande av virusnukleinsyra, utan snarare att djuret ifråga någon gång varit infekterat med BRSV. Antikroppar i tankmjölk har visat sig finnas kvar i hög koncentration under flera år, även i besättningar där återinfektion ej sker (Klem *et al.* 2014).

## 2.6. Behandling och åtgärder i akutstadiet

Vid virusinfektioner blir behandlingen understödande i det akuta skedet, till exempel i form av vila och värme samt eventuellt febernedsättande medicin vid allvarliga symtom och vätsketerapi, med målet att ge nötkreaturet goda förutsättningar att läka ut infektionen själv (Läkemedelsverket, 2009). I en översiktsartikel där behandling med NSAID och dess effekt analyserades var slutsatsen att febern snabbt går ner, men någon större positiv effekt på kliniska symtom eller mortalitet kunde ej ses (Francoz *et al.* 2012).

Om en bakteriell infektion uppstår sekundärt till BRSV blir ofta antibiotikabehandling aktuellt, där penicillin vanligen är förstahandsvalet (Läkemedelsverket, 2019).

## 2.7. Profylax

Det finns idag olika vaccin på marknaden, men hur länge skyddet håller i sig samt effektiviteten är inte helt klarlagt under fältförhållanden. Eftersom BRSV ofta infekterar unga kalvar finns ett behov att vaccinera dessa, till exempel innan förmedling till en slaktnötsbesättning. Dock finns en risk att maternella antikroppar från råmjölken interfererar med möjligheten att utveckla en egen immunitet mot viruset, särskilt om det administreras parenteralt, där de maternella antikropparna finns i höga halter (Valarcher & Taylor 2007). För att långsiktigt undvika introduktion av BRSV i besättningar krävs välfungerande smittskyddsrutiner som till exempel restriktivitet med besökare och inköp av djur och vad för utrustning samt kläder som används. I Sverige finns ett program: smittsäkrad besättning, där lantbrukare utbildas i förebyggande åtgärder för att förhindra smittöverföring på den egna gården. Att vara ansluten till programmet bidrar till ett bättre smittskydd och ger även den anslutne högre statlig ersättning vid utbrott av salmonella (Växa, 2020). Säker livdjurshandel är ytterligare ett program som ger stöd för att jobba förebyggande, där mjölkprover från mejeri tas ut fyra gånger om året och tester för antikroppsscreening mot bland annat salmonella genomförs. Provtagning för BRSV ingår hos besättningar som är anslutna till Kokontrollen (ett system som sammanställer bland annat produktionsdata). Efter fyra godkända prover i rad hamnar gården på den så

kallade ”Gröna listan”, vilket är önskvärt inför försäljning eller något att ta i beaktning vid inköp av djur (BRSV är inget som påverkar huruvida en besättning hamnar där eller ej). Målet är att försöka undvika smittspridning mellan besättningar genom förflyttning eller introduktion av nya djur (Växa, u.å).

## 2.8. Smittspridning

Smittöverföring sker till största del genom direktkontakt från ett infekterat djur till ett annat genom sekret som utsöndras från nos samt utandningsluft, men också troligen genom indirekt spridning, t.ex. via passiva vektorer som människor eller kontaminerade redskap och kläder (Valarcher & Taylor 2007). Framför allt tycks redskap och kläder (som till exempel stövlar, stetoskop och armbandsur) kunna utgöra passiva vektorer, då man i en studie kunnat påvisa RNA från BRSV 24 timmar efter exponering. Dock fanns inga tecken på att viruset i fråga fortfarande var infektiöst (Oma *et al.* 2018). BRSV-utbrott drabbar vanligen alla mottagliga djur i besättningen (Hägglund *et al.* 2006). Hur smittspridning kan ske mellan besättningar vid utbrott är ännu inte helt klarlagt, men besökare behöver informeras om hygienrutiner för att försöka förhindra att sprida smittan vidare till andra djur på andra gårdar (Växa, 2020).

Det finns data som tyder på att viruset kan förekomma i form av persistenta infektioner hos vissa nötkreatur. I en studie har mjölkbesättningar provtagits med avseende på BRSV-specifika antikroppar i serum och nossekret varje månad under ett år, där fyrfaldiga stegringar av antikroppar hos äldre djur som redan serokonverterat leder till spekulation kring återinfektion. Återinfektion kan ske i en besättning efter en nyintroduktion av viruset, alternativt möjligen till följd av aktivering av en persistent virusinfektion (Van der Poel *et al.* 1993) då man sett att små mängder av viruset kan finnas kvar i minst 71 dagar i tracheobronchiala- samt mediastinala lymfknotor hos kalvar som blivit experimentellt infekterade (Valarcher *et al.* 2001) men någon återutsöndring genom provokation med bl.a. kortikosteroider har inte kunnat påvisas (Van der Poel *et al.* 1997). Det är möjligt att det sker en kontinuerlig cirkulation inom och mellan besättningar året runt i Sverige, men virusutsöndring från bärardjur är inget som ännu kunnat bevisas och är än så länge en hypotes. Om utbrott enbart sker hos kalvar kan det tala för att besättningen återinfekterats regelbundet, då de äldre djuren tidigare genomgått infektion och blivit immuna. Dessa djur uppvisar sällan tecken på svår klinisk sjukdom (Valarcher & Taylor 2007), men kan visa milda luftvägssymtom och utsöndra virus (Hägglund och Valarcher, opublicerade observationer).

I en studie på kalvar som infekterats med BRSV kunde viralt RNA påvisas upp till dag 27 efter infektion, till skillnad från infektiöst virus som isolerades på dag 6 och

13. Tjugosju dagar efter initial exponering introducerades naiva kalvar som inte smittades. Författarna till studien drog därmed slutsatsen att perioden för utsöndring av infektiöst virus troligen är runt 13-18 dagar (Klem *et al.* 2019).

Humant respiratoriskt syncytialt virus sprids även det genom direktkontakt och stora aerosoler samt indirekt genom kontaminerade ytor (Hall *et al.* 2013). HRSV har påvisats i upp till 6 timmar på kontaminerade ytor, 1,5 timmar på plasthandskar och upp till 20 minuter på hud. Infektiösa virus kunde sedan överföras i upp till 25 minuter till händer som är i direktkontakt med kontaminerade ytor (Hall *et al.* 1980). Kalvar och lamm kan infekteras med HRSV experimentellt, men humana virus har inte rapporterats från naturligt infekterade nötkreatur eller får (Derscheid *et al.* 2014). I en studie utförd på immunsupprimerade illrar inokulerade med HRSV har spridning till både andra immunhämmande samt fullt friska illrar påvisats. Individer som infekterades intranasalt påvisade fler celler med HRSV-antigen i övre luftvägarna (näshåla och trachea), jämfört med individer som infekterades intratrakealt som istället hade fler celler med HRSV-antigen i nedre luftvägarna (bronker och bronkioler) (Waal *et al.* 2018).

## 2.9. Riskfaktorer

En ökad risk för att drabbas av BRSV tycks föreligga ju längre söder i Sverige en besättning befinner sig, jämfört med att befinna sig i norr. Skillnaden skulle kunna bero på att djur förflyttas i större utsträckning i landets södra delar, samt att djurtätheten är högre (Ohlson *et al.* 2010b). Ekologiska besättningar har i en studie visat sig ha lägre seroprevalens (Bidokhti *et al.* 2009), men en annan studie (Ohlson *et al.* 2010b) har inte kunnat upprepa resultatet gällande ekologiska gårdar och kunde därmed inte konfirmera någon koppling mellan ekologisk djurhållning och en lägre seroprevalens. Högre förekomst av antikroppar har påvisats hos gårdar som använder sig av gårdsegen personal för insemination, jämfört med de som använde en extern seminör, vilket indikerar att man trots besökare utifrån kan undvika introduktion av viruset (Bidokhti *et al.* 2009). Smittskyddsrutiner som besökare måste vidta, t.ex. desinfektion av och byte av kläder och skor kan spela en viktig roll, då rutiner som att t.ex. erbjuda gårdsegna stövlar till besökare visat sig vara en skyddande faktor (Ohlson *et al.* 2010b).

Större besättningar med mjölkkor innebär även det en ökad risk för infektion. Risken skulle kunna förklaras av större indirekt kontakt med andra besättningar till följd av fler besökare (Norström *et al.* 2000) och möjligen att många nya kalvar föds och att det därmed finns ett större antal djur som är mottagliga för smitta. Vid jämförelse av besättningar som testats positivt för BRSV respektive negativt vid

antikroppstestning av tankmjölken har positiva gårdar haft ett högre celltal i tankmjölken (Ohlson *et al.* 2010a). Att exakt avgöra varför går enbart att spekulera i. Det kan till exempel röra sig om att besättningar som får in BRSV blir mer mottagliga för kliniska eller subkliniska mastiter, eller att de negativa gårdarna har bättre hygien- och skötselrutiner. En studie i Brasilien påvisade att samtidig infektion med bovin virusdiarré skulle kunna utgöra en riskfaktor för BRSV, något som möjligen kan härledas till bristande smittskyddsrutiner (Hoppe *et al.* 2018).

Medan närliggande gårdar ofta drabbas i snabb tidsföljd (Hägglund *et al.* 2006; Hägglund och Valarcher, opublicerade observationer) förekommer ibland negativa besättningar som är lokaliserade i närheten av positiva. Detta indikerar att luftburen smittöverföring mellan gårdar inte spelar någon större roll och att det är möjligt att förhindra infektion trots att viruset cirkulerar i närområdet (Ohlson *et al.* 2010a).

## 2.10. Sekvensering

Olika undergrupper av BRSV har tidigare kunnat identifieras genom tester med monoklonala antikroppar (Schrijver *et al.* 1996) samt genom gensekvensering (Valarcher *et al.* 2000). Mutationer hos olika isolat kan induceras av vaccinanvändning, vilket skulle kunna bidra till ett försämrat vaccin-inducerat skydd när samma vaccinstam används under en lång tid. Dock muterar viruset i långt mindre utsträckning jämfört med andra RNA-virus, vilket gör att detta troligen inte är något stort problem. Interferens med maternella antikroppar mot vaccinet utgör med största sannolikhet ett större problem vad gäller inducerad immunitet (Valarcher & Taylor 2007).

Genetisk variation har påvisats hos HRSV, vilket skulle kunna vara sammankopplat med risk för återinfektion (White *et al.* 2007). Studier av BRSV som isolerats inom samma besättning men under olika år har visat att under ett och samma utbrott förekommer virus med identiska gensekvenser, men att gensekvenser hos virus från återkommande infektioner i samma besättning över tid varierar med upp till 11 %. Detta gäller även i besättningar som inte köper in djur. Sekvensering av BRSV under olika utbrott som varierat i tid (cirka två år mellan varje utbrott) hos samma besättningar på danska mjölkkor har visat på variation hos viruset, vilket talar för att utbrotten orsakas av ”nya” virus snarare än genom återcirkulering inom besättningen eller genom s.k. ”bärrar”-djur (Larsen *et al.* 2000). En annan studie har jämfört isolat från olika besättningar under tre års tid. Där har komparativa analyser av virus från olika gårdar istället visat på hög likhet på sekvenseringsdatan (gällande vissa gensekvenser) mellan virus (Bidokhti *et al.* 2012). I den sistnämnda studien tog man inga uppföljande prover hos samma gårdar under andra år dock.



## 3. Material och Metoder

### 3.1. Examensarbetets utgångsläge

Examensarbetet ingick som en del i ett internationellt forskningsprojekt med fokus på smittvägar. Följande hade utförts innan examensarbetets början:

- Besättningar rekryterades och prover samlades in (rubrik 4.2).
- Intervjuer om de positiva gårdarnas utformning och kontakter utfördes (rubrik 4.3 under ”*Identifikation av besättningar positiva för BRSV*”). Anonymitet utlovades till besättningar, yrkesverksamma aktörer samt lantbrukare som ingått i studien.
- BRSV detekterades via realtids-PCR och virusets genom sekvenserades i sin helhet.
- Fylogenetiska studier av virusets genom utfördes.

### 3.2. Besättningar

Besättningar rekryterades via praktiserande veterinärer som informerats om projektet via telefon, e-mail, Facebook samt SVA:s rådgivningsservice. Besättningar och lantbrukare inkluderades som:

- Hade djur med symtom på infektion med BRSV.
- Befann sig i ett spatiotemporalt kluster av BRSV-utbrott.
- Samtyckt till medverkan i forskningsprojektet, inklusive sekvensering av virusgenom och kartläggning av gårdens aktiviteter via intervju (på gård eller via telefon).

Bland dessa fokuserade examensarbetet på 24 besättningar med BRSV-smittade djur (21 mjölkgårdar, 3 köttgårdar) som genererat komplett data om virusets fullständiga gensekvens. Besättningarna låg i Dalarna, Jämtland samt Uppland och betraktades som bekräftat infekterade (positiva) gårdar. Under arbetets gång inkluderades ytterligare fem besättningar från Jämtland, vilka låg geografiskt nära en infekterad besättning (<40 km), vars tankmjölk inte innehöll BRSV-specifika antikroppar och vilka samtyckt till att ingå i studien. Dessa betraktades som bekräftat icke-infekterade (negativa) gårdar.

### 3.3. Provtagning och dokumentation

#### *Identifikation av besättningar positiva för BRSV (utfördes innan examensarbetet påbörjades)*

Provtagning för påvisande av virus (genom nässvabb och realtids-PCR) skedde fortlöpande under tidsperioden januari-maj 2020 parallellt med telefonintervjuer av drabbade gårdar i regionerna Dalarna, Jämtland och Uppland. Intervjuerna fokuserade på de kontakter som gårdar hade upp till fyra veckor innan utbrott för att identifiera möjliga vägar för smittspridning. Vissa lantbrukare bidrog även med besättningsuppgifter som till exempel antal nötkreatur och anställda. Tidsperioden (upp till fyra veckor innan och fram till konstaterat utbrott) valdes då symtomen kan vara svåra att upptäcka i tidigt skede, om ett enstaka djur infekterades tidigare än andra. Flera infektionscykler mellan olika djur kan då ha krävts innan smittan upptäckts. Exempel på kontakter var besök av olika yrkeskategorier, inköp eller försäljning av djur och olika typer av transporter. Sekvensering av virusets hela genom och fylogenetiska studier skedde utom ramen för examensarbetet. Den insamlade informationen bearbetades och sammanfattades i examensprojektet och fördes in i excel för att lättare åskådliggöra en tidsaxel över kontakter fram till utbrott. I examensarbetet nämns kategorier av kontakter/besökare i en kartläggning av gårdarnas kontaktnät, men detaljer gällande lokalisering, yrkesgrupper och personer utelämnas. Vid indikation på smittspridning via människor mellan besättningar utelämnas yrkeskategorier helt.

#### *Identifikation av besättningar negativa för BRSV*

Under hösten 2020 analyserades tankmjölk från Jämtland med avseende på antikroppar för att hitta gårdar som inte drabbats av BRSV. Två remitterande veterinärer rekryterade dessa gårdar och organiserade insamling av prover, i samarbete med lantbrukare och mejeri.

Tankmjölk analyserades för påvisande av IgG-antikroppar mot BRSV med en indirekt ELISA (Svanovir® BRSV-Ab från Boehringer Ingelheim Svanova, Uppsala, Sverige), vilket inkluderade en enzymatisk reaktion och mätning av den optiska densiteten (OD) vid 450 nm. Totalt analyserades tankmjölksprover från 29 olika besättningar och sammanlagt 58 brunnar i en mikrotiterplatta användes för analyserna. Hälften av brunnarna innehöll BRSV-antigen och lyserade celler som viruset vuxit i. Den andra hälften hade istället kontrollantigen som bestod av lyserade celler utan virus. Tankmjölksproverna centrifugerades i 3000 x g i tio minuter och 100 µl från varje tankmjölksprov tillsattes i en brunn med BRSV-antigen samt en med kontrollantigen. Plattan skakades försiktigt för att röra om proverna och inkuberades sedan i 37 °C under en timmes tid. Sedan sköljdes brunnarna med vatten innehållande 0,05 % Tween, i tre omgångar följt av att 100 µl monoklonal anti-

bovin IgG-antikropp, konjugerat med pepparrotsperoxidase (från engelskans *horse-radish peroxidase*, kallas och förkortas vanligen ”HRP”) tillsattes i varje brunn för att sedan upprepa inkubationen i 37 °C i en timme. Sköljningen upprepades i tre omgångar innan 100 µl substratlösning tillsattes. Denna bestod av 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine vilken orsakar ett blått färgomslag genom att reagera med HRP i de brunnar där den konjugerade antikroppen fäst till bovint IgG. Reaktionen stoppades efter tio minuter med 50 µl stopplösning, bestående av svavelsyra, i alla brunnar, som då ändrar lösningen till gul färg. Den optiska densiteten i både kontroll- och provbrunnar uppmättes med hjälp av en spektrofotometer inom 15 minuter efter att stopplösningen satts till.

Uträkning av ett korrigerat OD-värde ( $OD_{corr}$ ) skedde genom att subtrahera OD-värdet i brunnarna med kontrollantigen ( $OD_{control}$ ) från det i brunnar med BRSV-antigen ( $OD_{BRSV}$ ). Med hjälp av medelvärdet av positiva kontrollers  $OD_{corr}$  kunde sedan ett s.k. ”percent positivity value” (PP) räknas ut genom formeln:

$$PP = OD_{corr}(\text{prov eller negativ kontroll}) / OD_{corr}(\text{positiv kontroll}) \times 100$$

Mjök med ett PP-värde på max 10% ansågs vara negativ för BRSV-specifika IgG-antikroppar.

De negativa gårdar som låg i närheten av positiva gårdar valdes sedan ut för intervju, där avstånd till närmaste positiva besättning varierade från 2,5 kilometer upp till cirka 40 km. Negativa besättningar som låg ytterligare längre ut i periferin utlämnades ur intervjudelen då examensarbetets fokus innefattar smittvägar och därmed hur negativa gårdar kan ha hållit sig fria från infektion trots lokaliserade i kluster, d.v.s. i närheten av positiva. Telefonintervjuer med utvalda besättningar skedde med fokus på kontakter under en begränsad tid samt inkluderade besättningsegenskaper likt intervjuer med infekterade besättningar. Dessa intervjuer fokuserade på en tidsperiod som motsvarade fyra veckor innan närliggande positiva besättnings utbrott diagnosticerades. För att se om det kunde finnas indikation på faktorer som skiljer negativa och positiva besättningar åt togs en liten del specifika frågor med, ett exempel var om negativa gårdar erbjuder gårdsegna kläder till besökare eller inte (se detaljer nedan).

#### *Bearbetning av geodata*

Besättningarnas geografiska data inhämtades och en kartläggning av utbrotten i tid och rum visualiserades med hjälp av ett skript i programmeringsspråket ”R” innehållande besättningarnas koordinater, provtagningsdatum samt sekvenseringsdata. Kartorna gjordes i mjukvaran R (<https://cran.r-project.org/>) med ”maps and map-data packages”. Kartorna hämtades från ”the CIA World Data Bank II database”

(<https://www.evl.uic.edu/pape/data/WDB/>) som inte är copyright-skyddad enligt Wikipedia: Public domain resources ([https://en.wikipedia.org/wiki/Wikipedia:Public\\_domain\\_resources#U.S.\\_federal\\_government](https://en.wikipedia.org/wiki/Wikipedia:Public_domain_resources#U.S._federal_government)).

Ursprungligen skapades flera stillbilder för att sen sammanfogas till en rörlig bild i GIF-format som visualiserade utbrotten i de tre regionerna under tidsperioden 29/1 till 24/5 under 2020. För att hålla gårdar anonyma valdes detaljerade kartor bort och namn på städer eller kommuner finns inte med på någon av bilderna.

### 3.4. Jämförande data

Då det enbart ingick fem negativa mjölkgårdar i arbetet gjordes inga statistiska beräkningar av signifikans. Istället valdes fem fokusområden ut som utgjorde jämförande data mellan besättningar som fick BRSV och de som klarade sig:

- Huruvida övervägande extern personal användes regelbundet (fler än en gång per månad), där personal definieras som personer som arbetade med djuren i huvudfokus.
- Om besökare ombedes använda gårdsegna kläder (stövlar och/eller rock) eller ej.
- Om mängden besök/besökare var fem eller fler under en fyraveckors-period innan konstaterat utbrott för närliggande infekterad besättning. Valt värde på antal besökare baserades på ett examensarbete från 2013, där median på antal besökare en vanlig månad var fem (Grape Engström, 2013). Besökare definierades som någon som är i nära kontakt med djur eller som vistades i områden där djur hållits.
- Om besättningsstorleken var cirka 100 djur eller fler.
- Om några inköp gjordes under 2020 eller ej.

För att åskådliggöra jämförande resultat från intervjuer sattes svaren in i tabeller. Negativa gårdar var alltid fem till antalet i den jämförande informationen, medan positiva gårdar med motsvarande information varierade från 9 till 26 beroende på vilken intervjudata som funnits tillgänglig. För att få en så jämförbar bild som möjligt ingick enbart mjölkgårdar i den jämförande datan (både positiva som negativa). I vissa fall kunde lantbrukare inte ge svar, tillfrågades ej av olika skäl eller svarat i likhet med ”vet ej” på särskilda frågor och har därmed uteslutits ur just den jämförande kategorin. Ibland har det inte gått att ge ett antingen eller-svar utan ibland ses variation eller blandning, dessa svar blev också uteslutna och gick därmed under ”inget svar”.

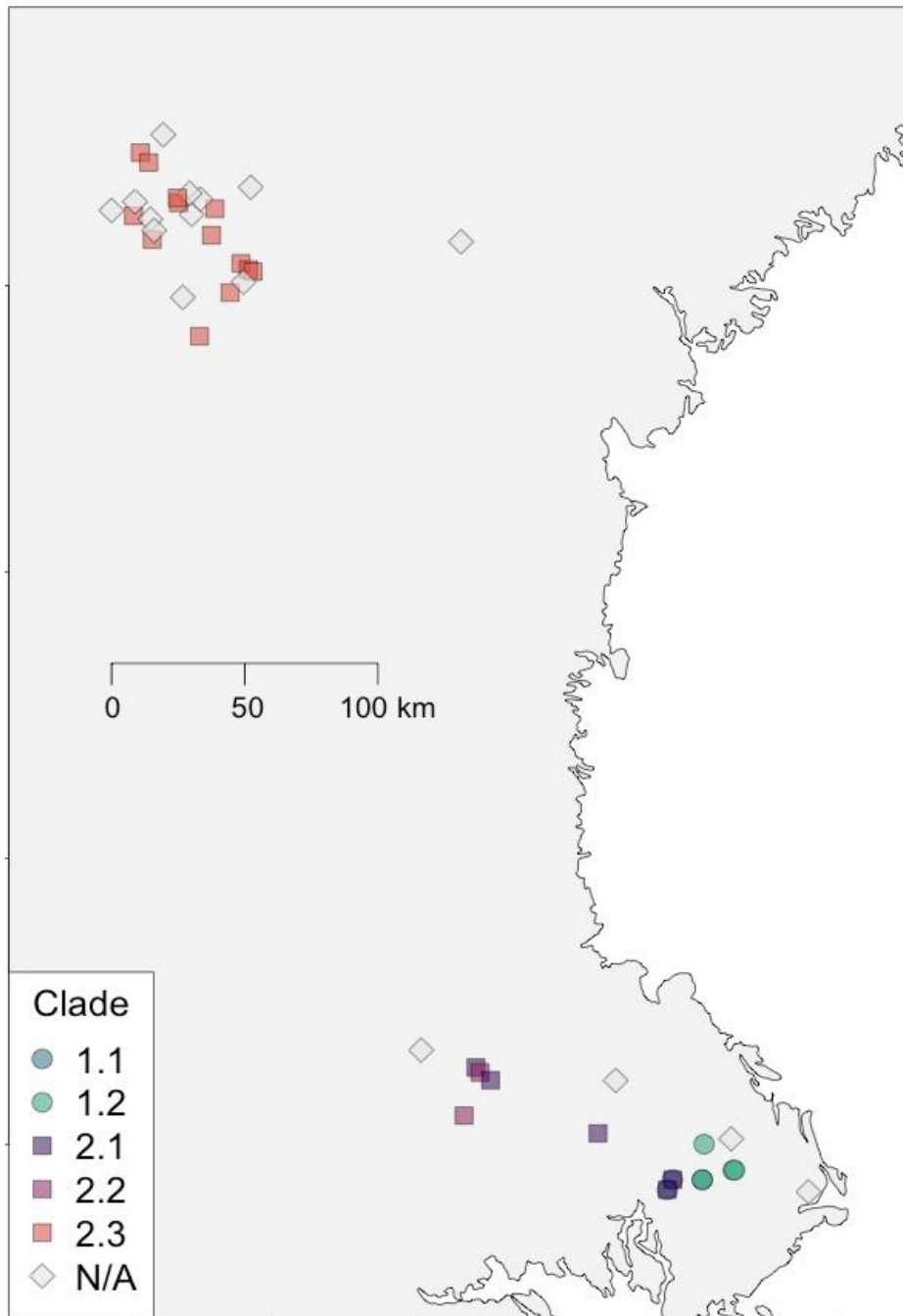
## 4. Resultat

### 4.1. Drabbade besättningar

Nossvabbsprover samlades in från nötkreatur i 50 besättningar med misstanke om utbrott av BRSV, varav RNA tillhörande viruset påvisades i 43 av dessa. Trettiosju av gårdarna var mjölkgårdar, resterande sex utgjordes av slaktnötsbesättningar. Antal djur på gården varierade från ett 20-tal upp till strax över 500. Ungefär hälften av lantbrukarna rapporterade vilka djur som drabbades värst. Enligt rapporterna var det de äldre djuren, framför allt mjölkorna, som visade symtom och tecken på infektion i större utsträckning jämfört med yngre djur. De vanligaste symtomen som lantbrukarna iakttog var feber och hosta hos drabbade djur och vissa lakterande djur fick sänkt mjölkproduktion, där majoriteten gick ned cirka 300 liter per dag. En besättning uppgav att två kor dog, ytterligare två besättningar rapporterade att en ko avlivades. En tredje besättning hade två kalvar som dött, men huruvida det var till följd av diarré eller BRSV var oklart. Hosta förekom hos enstaka besättnings kalvar, men då strax efter att äldre djur drabbats först. Enbart ett fåtal av lantbrukarna svarade på när de sist hade utbrott med BRSV. Närmast i tid var en gård som inte haft utbrott på åtminstone tre år, övriga som svarade uppgav att de inte varit drabbade på minst 10–20 år, alternativt aldrig. Enbart ett fåtal besättningar har svarat på frågan om de är med i något slags smittskyddsprogram. Fem har svarat ja och tre nej. Resterande svar är uteblivna.

### 4.2. Sekvenseringsdata

Av samtliga provtagningar kunde virus från 24 besättningar sekvenseras i sin helhet. I tre besättningar sekvenserades virus som samlats in 2016 och 2020. Identifierade virus delades därefter in i fylogenetiska kluster (på engelska ”*clade*”). Dessa indelningar visade hur BRSV från olika besättningar antingen skiljde sig eller hade likheter i form av genetiska släktskap. Totalt identifierades och namngavs fem olika kluster och utbrotten kartlades i tid och rum (se figur 1). Resultaten visade att de olika klustren i huvudsak höll sig till olika regioner.



Figur 1. Kartläggning av BRSV-utbrott under tidsperioden 29/1–24/5 under 2020, indelade efter kluster. N/A = sekvenseringsdata har ej funnits tillgängligt och därmed har specifikt kluster inte kunnat redovisas.

Kluster 1.1 identifierades i Uppland 2016 och utgjordes av prover tagna samma år. Dessa finns därför med på kartläggningen från dag 1. I figur 2 redovisas hur de tre besättningar som under 2016 drabbades av virus tillhörande kluster 1.1, under 2020 identifierades med kluster 1.2 (en besättning) respektive 2.1 (två besättningar).

Kluster 1.2 identifierades enbart i Uppland hos fyra besättningar, varav en av dessa var infekterad med virus tillhörande kluster 1.1 under 2016. Avståndet mellan gårdarna genom fågelvägen var cirka 600 meter upp till 16 kilometer.

Kluster 2.1 påvisades hos totalt fem besättningar i både Dalarna (två besättningar) och Uppland (tre besättningar), varav två av besättningarna i Uppland påvisade kluster 1.1 under 2016. Avståndet mellan gårdarna uppmättes från cirka 7 km upp till 90 km. Närmsta avstånd mellan besättningar från olika regioner var cirka 47 km.

Medan kluster 2.2 enbart identifierades hos två besättningar i Dalarna, med ett avstånd på cirka 17 km, påvisades kluster 2.3 hos 13 besättningar i Jämtland. Avståndet mellan dessa var från ungefär 1 km upp till cirka 70 km.

### 4.3. Spatiotemporal kartläggning och tidsaxel

Tidsaxeln för utbrotten bestod sammanlagt av 117 dagar. De första 13 dagarna påvisades BRSV mer eller mindre parallellt i både Dalarna och Uppland, med några dagars försprång i Dalarna, för att sedan påvisas hos fyra besättningar i Uppland fram till och med dag 24. Efter 33 dagar detekterades viruset i Jämtland och fler fall dök upp fram till och med dag 117, medan de övriga två regionerna ej påvisade fler fall efter dag 43, med ett undantag i Uppland (dag 71). Det fanns en överlappande period då nya fall uppkom i alla tre regioner, mellan dag 33 och 43. Totalt registrerades fem infekterade besättningar i Dalarna, nio i Uppland och 25 i Jämtland, se figur 2.



Figur 2. Spatiotemporal kartläggning av BRSV-infekterade gårdar under tidsperiod 29/1–24/5- 2020. Varje besättning har markerats med en form samt färg efter det kluster som påvisat virus tillhörde, eller utan påvisat kluster ("N/A"). Observera att kluster 1.1 tillhörde en virusstam från provtagningar som genomfördes 2016 och var därav på plats redan från dag 1, då kluster 2.1 först detekterades.



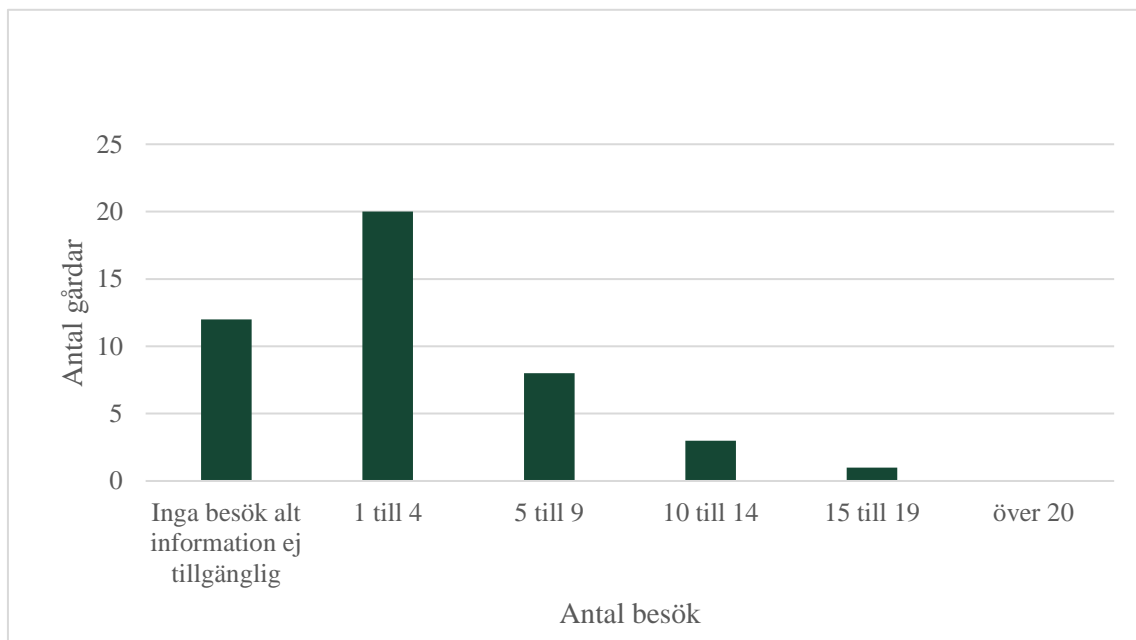
### *Tidsaxlar*

Genom en indelning av infekterade gårdar i olika kategorier gick det att skapa flera tidsaxlar med ett kontaktnät över besökare. Tidsaxlar delades in efter kluster: 1.2, 2.1 och 2.3. Kluster 2.2 utgjordes enbart av två gårdar med för lite kontaktnätsinformation och därför utelämnades den. Fokus var på en tidsperiod på max fyra veckor innan konstaterad smitta och belyste enstaka kontakter som kan ha utgjort potentiella kopplingar mellan infekterade besättningar.

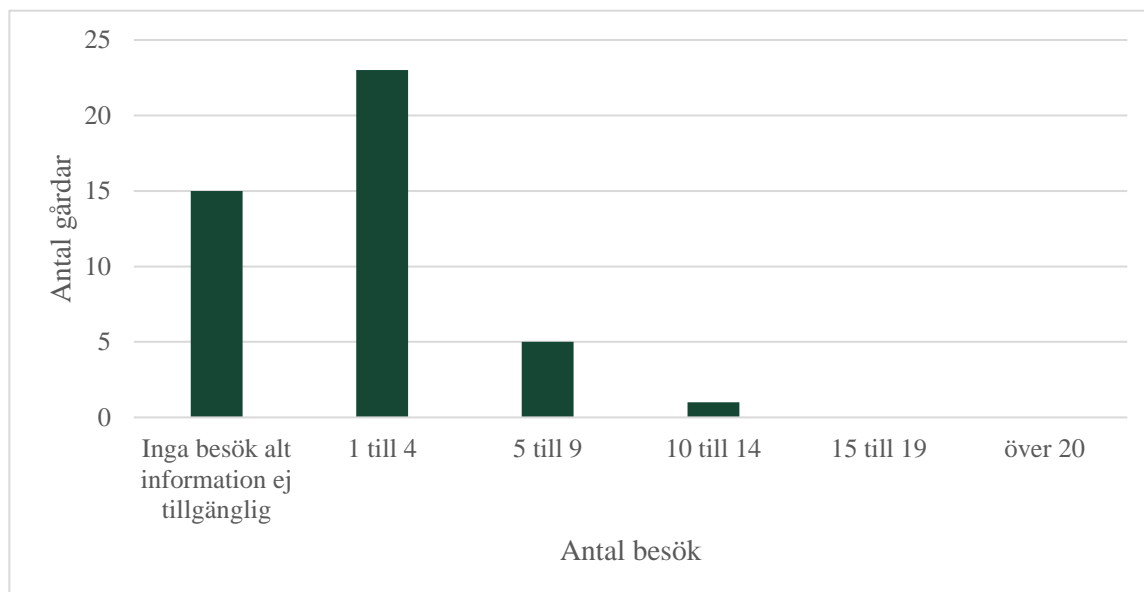
Informationen visade till exempel hur en kontakt (kontakt 1) besökte gård A och B under samma dag. 23 dagar efter besöket konstaterades BRSV hos gård A och efter 25 dagar hos gård B. Hos både gård A och B detekterades BRSV tillhörande samma kluster. Ytterligare ett exempel är kontakt 2 som besökte gård C och D under samma dag, där gårdarna konstaterades vara infekterade fem respektive sex dagar efter besöket. Gård D tillhörde kluster 2.1, men gård C:s sekvenseringsdata kunde inte utvärderas och tillhörande kluster gick därmed inte att ta reda på. Det finns fler exempel på kontakter som varit hos besättningar, men då med minst två dagars uppehåll mellan, till exempel hos gård E och F. Dessa besättningar hade båda samma besökare men med två dagars mellanrum, båda gårdarna konstaterades BRSV-infekterade nio respektive sju dagar senare. Flera besättningar hade besök från samma företag eller personer inom samma yrke inom korta tidsspann. Dock gick det inte att säkert säga om det var samma person eller samma fordon vid samtliga besök.

## **4.4. Besökstrafik på infekterade gårdar**

Genom intervjudata har en ungefärlig bild av gårdarnas kontaktnät erhållits. Då anonymitet utlovades har detaljer kring kontakter och besökare utelämnats. Istället presenteras en överblicksbild av ”gårdsaktiviteten” i form av besök (figur 3 och 4). Ett besök definierades som detsamma oavsett om det var samma person som återkom en annan dag eller om det var någon annan. En besökare definierades som någon med trolig direktkontakt med djur eller deras inredning.



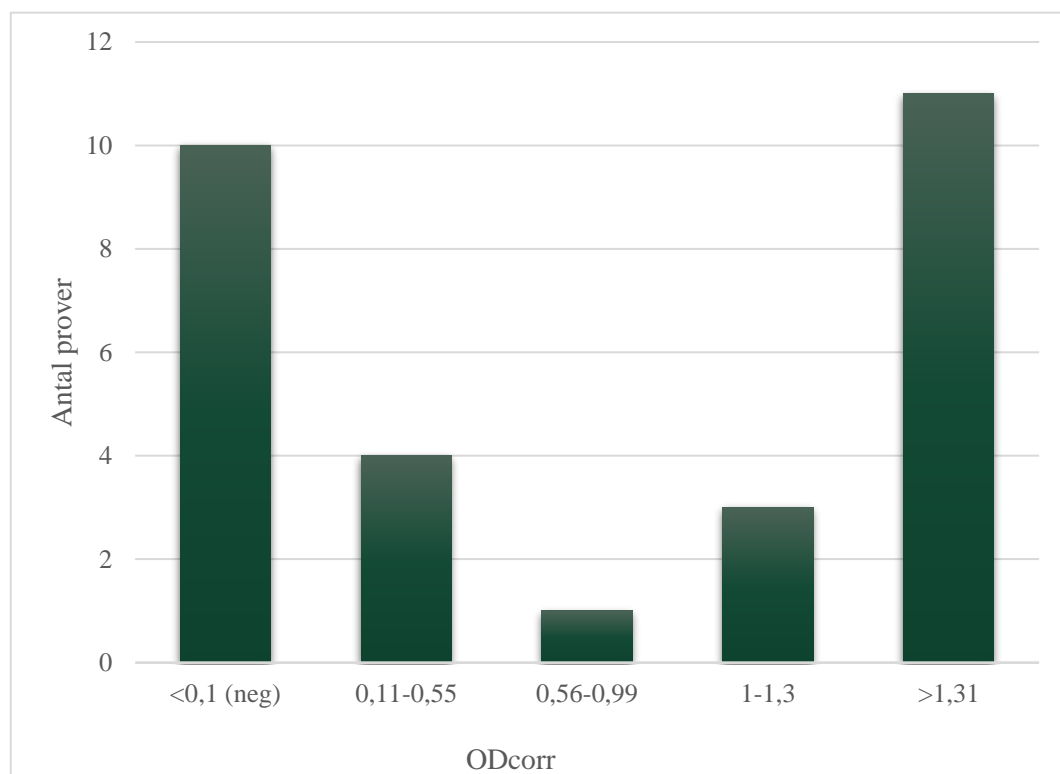
Figur 3. BRSV-infekterade besättningar, fördelade på antal besök med trolig djurkontakt upp till fyra veckor innan konstaterad infektion.



Figur 4. BRSV-infekterade besättningar, fördelade på antal besök med trolig djurkontakt upp till två veckor innan konstaterad infektion.

## 4.5. Analyserade prover

BRSV-specifika IgG-antikroppar detekterades i 19 av 29 tankmjölksprover - från 29 olika besättningar - i Jämtland. Dubbla prover, insamlade i juni och juli analyserade från en besättning som var BRSV-antikroppspositiv i juni ( $OD_{corr}=0,2$ ) och negativ i juli ( $OD_{corr}=0,1$ ). Besättningen klassades som infekterad. Ett prov analyserades flera gånger då mjölken hade skiktat sig. Prover från varje "lager" testades men samtliga var positiva för BRSV-specifika IgG-antikroppar. Därav blev det slutgiltiga antalet BRSV-antikroppsnegativa besättningar 10 och resterande 19 var BRSV-antikroppspositiva, se figur 5.



Figur 5. BRSV-specifika IgG-antikroppar i tankmjölk från 29 besättningar. Värden anges som korrigerat värde av den optiska densiteten ( $OD_{corr}$ ) vid 450 nm.

Av 10 negativa besättningar valdes fem ut för intervju baserat på lokalisation och avstånd till närmsta BRSV-positiva gård samt tillgänglighet för vidare kontakt. Avståndet till närmaste positiva besättning varierade mellan cirka 2,5 km och 70 km. För de BRSV-negativa besättningar som kontaktades var avstånden 2,5-, 18-, 23-, 30- och 38 km till närmaste positiva gård. En av dessa låg omgärdad av minst fyra BRSV-positiva besättningar. Tre av fem besättningar var tillgängliga för intervju och mer ingående samtal om sitt agerande under utbrotten under 2020. Resterande två kunde enbart bistå med information om själva besättningen och rutiner, se detaljer nedan.

## 4.6. Intervjudata

Av fem negativa gårdar befann sig en i tätt kluster av positiva och ytterligare två negativa med ett avstånd på cirka 20 km till närmaste BRSV-positiva gård. Dessa negativa besättningar intervjuades mer ingående kring själva utbrottet. Gemensamt för alla tre var att de var medvetna om utbrottet och fick information om det genom närliggande gårdar som fått viruset eller från någon yrkesgrupp som var verksam inom djurhälsa och djurproduktion, samt att de sällan hade besökare. Efter att informationen nått gårdarna drog de ner ytterligare på mängden besökare och välkomnade enbart tankbilschaufför till mjölkgårdar samt veterinär, där veterinär var den enda som vistades bland gårdens djur. Den negativa gård som befann sig närmast en positiv med ett avstånd på cirka 2,5 km till minst två gårdar avstod helt från besök under den period som närliggande gårdar drabbades av BRSV.

## 4.7. Jämförande data

Baserat på information från intervjuer togs jämförande data mellan besättningar som klassats som negativa respektive positiva för BRSV fram. Frågeställningarna avsåg att undersöka om det förelåg några större skillnader mellan BRSV-positiva respektive BRSV-negativa besättningar gällande hygienrutiner som att erbjuda besökare gårdsegna kläder, managementrutiner som huruvida övervägande extern personal användes rutinmässigt, om gården hade fem eller fler besök per månad (där informationen kring besök baserades på hur det såg ut fyra veckor innan utbrott för BRSV-positiva respektive perioden fyra veckor innan utbrott för närmaste närliggande positiv gård för BRSV-negativa) samt om tillfrågad besättning gjorde några inköp under 2020. Även egenskap på besättningsnivå i form av totala antalet djur ingick. Gällande positiva gårdar har enbart de som givit svar inkluderats. Resultaten antydde att en lägre andel negativa än positiva gårdar hade cirka 100 djur eller fler, fem eller fler besök per månad och hade köpt in djur under 2020, se tabell 1.

Tabell 1. Intervjudata från BRSV-negativa och BRSV-positiva besättningar

	<i>Antal BRSV-negativa besättningar (%)</i>			<i>Antal BRSV-positiva besättningar (%)</i>		
	Ja	Nej	Inget svar	Ja	Nej	Inget svar
Övervägande extern personal	2 (40)	3 (60)	-	8 (35)	15 (65)	10
Gårdsegna stövlar till besökare*	5 (100)	0 (0)	-	9 (100)	0 (0)	24
Gårdsegen rock till besökare*	5 (100)	0 (0)	-	12 (100)	0 (0)	21
Fem eller fler besök/månad	1 (20)	4 (80)	-	8 (40)	12 (60)	13
Totala antalet djur är ca 100 eller fler	2 (40)	3 (60)	-	13 (72)	5 (28)	15
Inköp under 2020	0 (0)	5 (100)	-	5 (38)	8 (62)	20

\*att gårdsegna stövlar och/eller rock finns på plats innebär inte att information kring huruvida de alltid används eller ej har funnits tillgänglig.

## 5. Diskussion

Examensarbetets syfte var att kartlägga utbrott för att se om det fanns tydliga smittvägar för utbrotten under 2020, samt om det fanns indikation på betydande faktorer att undersöka närmre i ett större urval i framtiden. Sammankopplingen av tidsaxlar över besök och kartläggningen kunde ge ledtrådar gällande hur smittöverföring från gård till gård skedde, men det fanns inga säkra belägg för att det med största sannolikhet skett på det viset. Däremot identifierades potentiella vägar för smittöverföring. Fokus låg framför allt på kontakter och genom intervjudata framkom det att ett flertal besökare rörde sig mellan olika gårdar som sedan rapporterade symtom eller påvisad infektion med BRSV.

### 5.1. Beskrivning av utbrotten

De beskrivningar av utbrotten som varit tillgängliga visar att det framför allt var de äldre djuren som drabbades först och värst. Djur som aldrig stött på viruset innan visar oftare kraftigare symtom, jämfört med de som genomgått tidigare infektion med BRSV och därmed blivit seropositiva (Elvander 1996). Att majoriteten av drabbade djur var vuxna med kraftigare symtom i form av feber och nedsatt allmäntillstånd talar för att besättningarna inte haft smittan på länge så att även vuxna djur var naiva. Svansfrekvensen gällande senaste BRSV-utbrott var låg, men de som gav svar hade inte haft något utbrott på minst tre år. Medellivslängden hos en mjölkko är cirka 61 månader och rekryteringsprocenten är i snitt 35 % (Växa, 2019). I samband med utslagning av äldre kor och nyrekrytering ”späds” en potentiellt förvärvad flockimmunitet. Därför kan besättningar återgå till en relativt låg besättningsimmunitet efter infektion inom några år, trots att immuniteten kan vara långvarig. Besättningar med låg total immunitet smittas lättare på grund av att det finns fler mottagliga djur och får därmed kraftigare utbrott eftersom fler djur utsöndrar virus. Om en viruscirkulation skulle ske vart tredje år, som exempel, skulle detta kanske kunna vara tillräckligt lång tid för att många antikroppspositiva kor har hunnit slås ut och många naiva djur har tillkommit. Resultatet blir då att besättningen blir mottaglig för smitta och antalet drabbade djur blir så högt att infektionerna kan klassas som utbrott. Med tanke på att majoriteten av lantbrukare rapporterat att utbrott av BRSV ej förekommit på minst tre år, skulle möjligen en kombination av ett stort antal naiva djur och viruscirkulation spela en roll för hur lätt besättningen smittas.

Varför just vuxna kor drabbades i större utsträckning under 2020:s utbrott går enbart att spekulera i. Faktorer så som stress i form av dräktighet, hög mjölkproduktion och osämja i gruppen kanske gör så att kor blir mer känsliga för infektionen.

## 5.2. Sekvenseringsdata

Tidigare studier har visat både variation (Larsen *et al.* 2000) och likheter (Bidokhti *et al.* 2012) gällande de virus som isoleras från besättningar följda över tid. I studien från 2012 påvisades hög likhet mellan virus från olika besättningar under 2008–2011, medan studien från 2000 påvisade en viss spridning i delar av gensekvenseringen hos samma besättningar men under olika år. Resultaten i tidigare studier skulle kunna indikera att olika virusisolat ”vandrar” mellan besättningar från år till år, vilket innebär att ett visst kluster kan identifieras hos en besättning en gång, men samma kluster kan förekomma även hos andra gårdar beroende på smittspridningens omfattning. Drabbas en sådan besättning återigen av kraftiga symtom skulle det sannolikt ha orsakats av virus från ett nytt kluster där sekvensering möjligen skulle påvisa viss spridning i gensekvenser. I examensarbetet presenteras tre isolat provtagna från 2016 tillhörande kluster 1.1, medan samtliga besättningar från 2016 fyra år senare påvisade ett annat kluster (1.2 respektive 2.1), vilket skulle kunna styrka misstanken att virus med samma gensekvens kan drabba flera besättningar under en viss tidsperiod, men samma besättningar drabbas snarare av virus med olika gensekvenser från år till år. Resultaten indikerade att djuren blivit infekterade med ett av flera ”nya” cirkulerande virus, snarare än återinfekterade med ett persisterande virus som en av tidigare nämnda studier spekulerat i (Van der Poel *et al.* 1993). Dock bör det noteras att mycket nära besläktade virus detekterades i samma område med fyra års mellanrum (kluster 1.1 och 1.2). Kanske cirkulerade detta virus under fyra år, alternativt att det persisterade hos någon enstaka individ.

I examensarbetet presenteras totalt fem olika kluster, varav ett utgjordes av prover från 2016. Huruvida något av klustren verkar ge upphov till kraftigare symtom eller visat andra tecken på ökad virulens är inget som går att säga med den information som funnits tillgänglig. Däremot skulle framtida sekvensering av virusgenomet i sin helhet vid årliga utbrott möjligen kunna påvisa huruvida det kan röra sig om olika isolat från år till år, samt om samma besättningar drabbas. Varför vissa besättningar som uppgav att de inte haft några fall av BRSV på flera år plötsligt drabbades skulle kunna härledas till att cirkulerande virus möjligen hade ökad virulens alternativt att andra faktorer som påverkade besättningens motståndskraft förelegat, förenligt spekuleringen från ovan nämnda Giammarioli *et al.* (2020) och Elvander (1996). Resultaten visar att klustren höll sig till närliggande områden, exempelvis förekom aldrig kluster 2.3 i vare sig Dalarna eller Uppland utan enbart i Jämtland.

Enstaka undantag fanns, då kluster 2.1 påvisades i både Dalarna och Uppland, där närmsta avstånd hos identifierade drabbade besättningar var på cirka 47 km. Varför gick enbart att spekulera i, men en faktor skulle kunna vara gemensamma kontakter som rörde sig mellan båda regionerna. Någon tydlig sådan kontakt identifierades inte inom examensarbetets ramar. Däremot hittades många gemensamma kontakter inom respektive region, vilket skulle kunna tala för att de olika klustren som identifierades i de flesta fall höll sig inom närliggande områden. Inom respektive region är det troligen större risk för att en viss kontakt besökte flera gårdar, men den typen av indirekt spridning och dess potential till överföring av virus mellan individer som sedan insjuknar är ännu oklar. RNA från BRSV har påvisats upp till 24 timmar efter exponering på redskap och kläder (Oma *et al.* 2018), men eftersom virulensen via den typen av överföring inte är klarlagd för BRSV kan man enbart spekulera i att den typen av smittspridning har förekommit mellan besättningar. Enligt en äldre studie på HRSV och dess indirekta smittöverföring kunde man se att virus kan påvisas i upp till 6 timmar på kontaminerade ytor, men fönstret för att bibehålla infektiös förmåga uppgår enbart till 25 minuter (Hall *et al.* 1980).

### 5.3. Inverkande faktorer

Av informationen som funnits tillgänglig från lantbrukarnas uppgifter har rapporterade symtom i de flesta fall varit feber, hosta samt minskad mjölkproduktion. Feber ses i vanligaste fall tidigt i förloppet medan andningsbesvär och hosta oftast utvecklas senare (Valarcher & Taylor 2007). Baserat på inhämtad information från 2020:s utbrott förekom både feber och hosta i varierande grad som symtombild hos de besättningar som återberättade symtomen, vilket kan tala för att det är svårt att säga exakt var i sjukdomsförloppet drabbade djur har befunnit sig. Enligt en person från en yrkesgrupp som varit verksam inom projektet har vissa antikroppspositiva besättningar inte haft några tydliga symtom på BRSV. Av den anledningen valdes tidsperioden fyra veckor innan och fram till konstaterad BRSV-smitta hos samtliga besättningar. Variation i virulens mellan isolat skulle kunna förklara att vissa fall drabbas av kraftigare symtom medan andra knappt uppvisar några, samtidigt som andra faktorer också kan inverka. Exempel på sådana faktorer kan vara saminfektioner med andra virus och bakterier, miljö, transport, dräktighet och laktation (Elvander, 1996; Giammarioli *et al.* 2020). Eftersom flera besättningar utelämnade information om symtombild går det inte att utesluta att det funnits drabbade gårdar utan tecken på kraftigare infektion. Det går därmed inte att utesluta att drabbade gårdar kanske påverkades av endogena faktorer som djurens motståndskraft och/eller miljöfaktorer som skulle kunna ha bidragit till stress och därmed gjort djuren mer mottagliga för infektion, snarare än att cirkulerande kluster haft en viss virulens. Önskvärt hade varit att få mer exakta uppgifter om varje drabbad besättning för att kunna spekulera mer i respektive kluster och dess eventuella virulens, men



då stor del av uppgifterna baserades på retrospektiv information påverkades stor del av förmågan att minnas exakt hos drabbade gårdars personal.

## 5.4. Jämförande data

Resultaten från intervjudata med infekterade besättningar visade att majoriteten av gårdarna haft någon typ av besök med trolig djurkontakt upp till fyra veckor innan konstaterat BRSV-positiva. En tidigare studie har sett att större mjölkorsbesättningar utgör en ökad risk för infektion, vilket skulle kunna bero på fler besökare (Norström *et al.* 2000). Majoriteten av smittade besättningar som ingick i examensarbetet hade besökare med djurkontakt nära inpå påvisad infektion, vilket skulle kunna innebära en ökad risk för att smittan senare kan ha förts vidare till en annan gård. Dock har inte besättningsstorlek och det potentiella sambandet med besöksfrekvens undersökts i examensarbetet. Besökare som har varit i direktkontakt med djuren var ofta i den typen av yrkesgrupp som gjorde flera gårdsbesök under samma dag och sådana företeelser påvisades i examensarbetet. Eftersom vissa lantbrukare rapporterade hosta som första uppmärksammade symtom, som ofta uppkommer senare i infektionsförloppet, går det inte att utesluta att besökare haft direktkontakt med djur som ej uppvisade tydliga symtom men fortfarande utsöndrade viruset, vilket skulle kunna vara under en period på upp till 18 dagar enligt en tidigare studie (Klem *et al.* 2019).

Bland de negativa gårdarna har tre befunnit sig på nära avstånd till infekterade gårdar. Det stärker indikationen att luftburen smittspridning av BRSV mellan besättningar troligen inte spelar någon avgörande roll samt att det är möjligt att klara sig från infektion trots att närliggande områden drabbas (Ohlson *et al.* 2010a). Som tidigare nämnts hade närliggande besättningar troligen ett större överlappande kontaktnät. Negativa gårdar informerade om att de även en ”vanlig” period, det vill säga även när det ej förekommer smitta i närområdet, sällan har besökare. Resultatet i den jämförande datan visade att majoriteten av dessa gårdar hade färre än fem besökare/månad under samma tidsperiod som närliggande positiva gårdar drabbades av BRSV. Bland de positiva gårdarna utelämnades många svar och det gick inte att utesluta att majoriteten av dessa haft vare sig fler eller färre än fem besök per månad. Vad som varit avgörande i negativa gårdars förmåga att hålla sig just negativa går enbart att spekulera i. Troligen har samtliga gårdar, negativa som positiva, inom närliggande områden blivit förvarnade om att viruset cirkulerar i närområdet någon gång under utbrotten. Faktorer så som antal besökare i direktkontakt med djur samt förmåga att uppfatta symtomen tidigt i förloppet skulle ha kunnat vara avgörande för huruvida besökare kan ha råkat komma i kontakt med virusutsöndrande djur eller ej.

Fungerande smittskyddsrutiner är alltid viktigt för att försöka undvika att introducera eller sprida potentiella smittor vidare. Att erbjuda besökare gårdsegna kläder i form av rock och stövlar är exempel på en sådan åtgärd (Ohlson *et al.* 2010b). I den jämförande datan uppgav ingen att de inte erbjuder gårdsegna kläder till besökare (dock fanns 24 respektive 21 besättningar bland de som testat positivt för BRSV som inte svarade på stövlar respektive rock, dessa gick det därmed inte att uttala sig om). Dock fanns ingen information gällande användandet av kläderna. Att de fanns på plats behöver inte alltid vara lika med att de strikt användes för varje besökare eller att varje person som använt dem håller sig till en begränsad yta. I en studie av Anna Ohlson (2010a) har resultatet av negativa och positiva besättningar sett att användandet av gårdsegna kläder utgör en skyddande faktor. I examensarbetet föll majoriteten av positiva besättningar under ”inget svar”-kategorin och informationen var därmed otillgänglig, men vid jämförelse av de som svarat är resultaten i den jämförande datan mellan negativa och positiva gårdar inte av någon större skillnad.

Övriga undersökta faktorer var om övervägande extern personal användes, besättningsstorlek samt inköp under 2020. Som tidigare nämnts har spekulationer kring besättningsstorlek och fler besökare gjorts tidigare (Norström *et al.* 2000). Vid jämförelse av resultatet av jämförande information sågs inga större skillnader i andel besättningar som hade cirka 100 djur eller fler. Däremot hamnade en stor andel av positiva gårdar i ”inget svar”-kategorin, vilket innebar att det inte gick att uttala sig om dessa. Dessutom vore det önskvärt att ha delat upp kategorin ytterligare, då besättningar med cirka 100 djur hamnade i samma kategori som gårdar med cirka 500 djur, vilket är en signifikant skillnad som troligtvis speglar sig även i mängden besökare. Jämförelse av den här kategorin blev därmed något felaktig.

Vad gäller frågan om övervägande extern personal eller ej har tidigare studier undersökt externa och gårdsegna seminörer, där gårdar med gårdsegen personal för insemination påvisade högre förekomst av antikroppar (Bidokhti *et al.* 2009). Bland de som svarade i examensarbetet använde sig de flesta besättningar övervägande av gårdsegen personal, både bland infekterade och negativa gårdar. Detta var ett anorlunda resultat jämfört med vad som påvisats tidigare. Spekulationer från tidigare studie har varit att extern personal oftare besöker andra besättningar och därmed upprätthåller striktare smittskyddsrutiner. Resultatet i examensarbetet talar för att övervägande gårdsegen personal troligen inte spelade någon större roll, då fördelningen såg likadan ut hos negativa och positiva besättningar. Dock är materialet i examensarbetet mycket litet och kan endast fungera som indikation för nya hypoteser. Extern personal förlitar sig troligen mer på att gårdsegna kläder erbjuds alternativt att egna används som desinficeras mellan besök för att förhindra smittspridning mellan besättningar.

Resultatet gällande inköp visade att en liten andel av positiva gårdar köpte in djur under 2020, men att majoriteten avstod från inköp. Bland negativa fanns det ingen som köpte in djur under 2020. Att introducera nya djur på gården innebär en smitt-risk, särskilt om djuren inte står i karantän innan. Resultatet visade ingen indikation att besättningar köpte djur och sedan smittades, men att helt avhålla sig från introduktion av nya djur skulle kunna utgöra en skyddande faktor. Särskilt i utbrottstider.

## 5.5. Examensarbetets begränsningar

Då stor fokus lagts på besökare som potentiell smittväg kan annan viktig information fallit bort och resultatet riskerade att bli riktat. Därför drogs inga slutsatser annat än att det kunde finnas indikationer på att besökare kan ha agerat vektorer och att gårdarnas smittskydd på gårdsnivå kan ha haft en avgörande roll för huruvida viruset fick fäste eller inte. Några vidare utredningar kring besättningarnas allmänna immunförsvar och därmed motståndskraft mot en virusinfektion gjordes inte och kan inte heller tas med i beräkningen. Önskvärt hade även varit fullständig information gällande vilka besättningar (negativa som positiva) som var med i någon typ av smittskyddsprogram för att se om det förelåg någon skillnad.

Som tidigare nämnts baserades majoriteten av informationen som kom från lantbrukare på förmågan att minnas korrekt. Specifika datum föll bort ibland och exakt alla typer av besök registrerades med stor sannolikhet inte. Intervjuerna med lantbrukare från drabbade besättningar som genomfördes innan examensarbetet påbörjan, utfördes med fokus på smittspårning och inte med hänsyn till att eventuella riskfaktorer skulle kunna identifieras från materialet. Mycket av informationen i den jämförande delen var därför enbart till för spekulationer inför framtida hypoteser, snarare än slutsatser baserade på noggrann utvärdering och statistiska beräkningar. Dessutom speglade kanske inte provtagningarna den sanna spridningen eftersom vissa symtom varit så pass diffusa och otydliga, samt att förmågan att upptäcka symtomen tidigt i förloppet är en faktor som spelar in när man väl ringer in provtagande personal. Provtagningarna kan ha skett på olika dagar efter infektion, bara för att provtagningen var vissa datum betyder inte det att det var specifikt för när djuren insjuknade eller när virus introducerades. Hos större besättningar eller djur som hölls i olika byggnader kanske en grupp drabbades senare än en annan, vilket kan göra att det såg ut som BRSV nådde gården i ett senare skede än vad som faktiskt var sant. Med tanke på att vissa djur kan drabbas av knappt märkbara symtom gick det inte att utesluta att det förekommit besättningar som hade gemensamma kontakter av stor betydelse, men som inte kommit med i arbetet. Dessutom är det svårt att dra slutsatser från intervjudata. Förmåga att minnas, rädsla för att bli

bedömd på ett visst sätt och att få tag på rätt person som kan svara med rätt information är faktorer som måste tas hänsyn till. Mängden besättningar som ingick i den jämförande informationen var dessutom för sparsam för att utförandet av beräkningar av statistisk signifikans kunde göras. Det var därmed svårt att få saker svart på vitt och det gick snarare bara att upptäcka faktorer som talar för eller emot, än att bekräfta.

Dalarna och Uppsala är närliggande regioner, medan Jämtland befinner sig en bit ifrån. Önskvärt hade kunnat vara att se över potentiella utbrott i flera närområden även längre norrut för att eventuellt ha kunnat få ytterligare kompletterande information kring fler gemensamma kontakter. För att kunna slutföra smittspårningen i de olika länen krävs fortsatta analyser för att bestämma den genetiska variationen hos virus inom ett kluster. Önskvärt hade dessutom varit att sekvenseringsdata hade funnits tillgängligt för samtliga BRSV-infekterade besättningar, för att komplettera kartläggningen av utbrotten under 2020.

## 5.6. Konklusion

Majoriteten av drabbade djur under utbrotten som inträffat under 2020 var vuxna mjölkkor i besättningar av varierande storlek. Tidsaxeln för utbrotten bestod sammanlagt av 117 dagar med start i Dalarna i januari, tätt följt av Uppland. Ungefär en månad in i tidsförloppet detekterades viruset i Jämtland som påvisade nya fall fram till och med dag 117, till skillnad från Dalarna och Uppland som ej rapporterade fler fall efter dag 43, med ett undantag på dag 71 i Uppland.

Kartläggningen av BRSV-utbrotten under 2020 i Dalarna, Uppland samt Jämtland visade att smittan kunde spridas mycket snabbt till många besättningar över stora områden. Smittöverföringen mellan besättningar var svår att helt förstå. Troligen spelade överlappande kontaktnät en viss roll i spridningen av viruset, men det var svårt att peka ut exakt vilka smittvägar som förekommit. Tidigare studier har visat att det går att undvika introduktion av viruset trots externa besökare och utbrott i närområdet, vilket går hand i hand med vad informationen i detta examensarbete har visat. Dock var det svårt att peka ut tydliga faktorer eller egenskaper som påverkade smittintroduktion eller smittöverföring, mest troligt var att det fanns enstaka brister som kunde agera ”falluckor” som skiljde sig hos olika besättningar, som därmed blev avgörande för hurvida en smitta kunde få fäste alternativt spridas vidare. Uppföljande studier där drabbade besättningar provtas årligen för att sedan sekvensera påvisat virus vore av intresse för att se om det faktiskt rör sig om ”nya” utbrott. Med största sannolikhet är det en fråga om besättnings individuella motståndskraft samt smittskyddsrutiner i kombination med cirkulerande virus. I framtiden behöver kanske ett mer specifikt smittskyddsprogram tas fram som tar hänsyn

till och utformas efter besättningsars förutsättningar i kombination med olika typer av agens och dess specifika egenskaper. Dock ligger det avgörande i huruvida gårdar sen tar beslut om att faktiskt vara med i programmen samt hur väl upprätthållandet av råd gällande rutiner åtföljs.

## Referenser

- Beaudeau, F., Björkman, C., Alenius, S. & Frössling, J. (2010). Spatial patterns of bovine corona virus and bovine respiratory syncytial virus in the Swedish beef cattle population. *Acta Veterinaria Scandinavica*, vol. 52, s. 33
- Bidokhti, M.R.M., Tråvén, M., Fall, N., Emanuelson, U. & Alenius, S. (2009). Reduced likelihood of bovine coronavirus and bovine respiratory syncytial virus infection on organic compared to conventional dairy farms. *The Veterinary Journal*, vol. 182 (3), ss. 436–440
- Bidokhti, M.R.M., Tråvén, M., Ohlson, A., Zarnegar, B., Baule, C., Belák, S., Alenius, S. & Liu, L. (2012). Phylogenetic analysis of bovine respiratory syncytial viruses from recent outbreaks in feedlot and dairy cattle herds. *Archives of Virology*, vol. 157 (4), ss. 601–607
- Brodersen, B.W. (2010). Bovine respiratory syncytial virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, vol. 26 (2), ss. 323–333 (Bovine Respiratory Disease)
- Cortjens, B., de Boer, O.J., de Jong, R., Antonis, A.F., Sabogal Piñeros, Y.S., Lutter, R., van Woensel, J.B. & Bem, R.A. (2016). Neutrophil extracellular traps cause airway obstruction during respiratory syncytial virus disease. *The Journal of Pathology*, vol. 238 (3), ss. 401–411
- Derscheid, R.J., van Geelen, A., Gallup, J.M., Kienzle, T., Shelly, D.A., Cihlar, T., King, R.R. & Ackermann, M.R. (2014). Human respiratory syncytial virus Memphis 37 causes acute respiratory disease in perinatal lamb lung. *BioResearch Open Access*, vol. 3 (2), ss. 60–69
- Elvander, M. (1996). Severe respiratory disease in dairy cows caused by infection with bovine respiratory syncytial virus. *Veterinary Record*, vol. 138 (5), ss. 101–105
- Elvander, M., Edwards, S., Näslund, I. & Linde, N. (2016). Evaluation and application of an indirect ELISA for the detection of antibodies to bovine respiratory syncytial virus in milk, bulk milk, and serum. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, SAGE PublicationsSage CA: Los Angeles, CA. DOI: <https://doi.org/10.1177/104063879500700202>
- Francoz, D., Buczinski, S. & Apley, M. (2012). Evidence related to the use of ancillary drugs in bovine respiratory disease (anti-inflammatory and others): are they justified or not? *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, vol. 28 (1), ss. 23–38 (Evidence-Based Veterinary Medicine for the Bovine Veterinarian)
- Giammarioli, M., Mangili, P., Nanni, A., Pierini, I., Petrini, S., Pirani, S., Gobbi, P. & Mia, G.M.D (2020). Highly pathogenic bovine respiratory syncytial virus variant in a dairy herd in Italy. *Veterinary Medicine and Science*, vol. n/a (n/a). DOI: <https://doi.org/10.1002/vms3.312>

- Gower, T.L., Pastey, M.K., Peebles, M.E., Collins, P.L., McCurdy, L.H., Hart, T.K., Guth, A., Johnson, T.R. & Graham, B.S. (2005). RhoA signaling is required for respiratory syncytial virus-induced syncytium formation and filamentous virion morphology. *Journal of Virology*, vol. 79 (9), ss. 5326–5336
- Grape Engström, Frans. (2013). *Bovint respiratoriskt syncytialt virus och bovint coronavirus i mjölkbesättningar på Åland - prevalens och riskfaktorer för introduktion*. (Examensarbete 2013:53) Sveriges lantbruksuniversitet. Veterinärprogrammet.
- Hall, C.B., Douglas, R.G. & Geiman, J.M. (1980). Possible transmission by fomites of respiratory syncytial virus. *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 141 (1), ss. 98–102 Oxford Academic.
- Hall, C.B., Simões, E.A.F. & Anderson, L.J. (2013). Clinical and epidemiologic features of respiratory syncytial virus. I: Anderson, L.J. & Graham, B.S. (red.) *Challenges and Opportunities for Respiratory Syncytial Virus Vaccines*. Berlin, Heidelberg: Springer, ss. 39–57.
- Henriksen, J.R., Andresen, T.L., Feldborg, L.N., Duelund, L. & Ipsen, J.H. (2010). Understanding detergent effects on lipid membranes: a model study of lysolipids. *Biophysical Journal*, vol. 98 (10), ss. 2199–2205
- Hodgins, D.C., Conlon, J.A. & Shewen, P.E. (2002). *Respiratory Viruses and Bacteria in Cattle. Polymicrobial Diseases* ASM Press. Tillgänglig: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2480/> [2020-09-03]
- Hoppe, I.B.A.L., Medeiros, A.S.R. de, Arns, C.W. & Samara, S.I. (2018). Bovine respiratory syncytial virus seroprevalence and risk factors in non-vaccinated dairy cattle herds in Brazil. *BMC Veterinary Research*, vol. 14 (1), s. 208
- Hägglund, S., Svensson, C., Emanuelson, U., Valarcher, J.F. & Alenius, S. (2006). Dynamics of virus infections involved in the bovine respiratory disease complex in Swedish dairy herds. *The Veterinary Journal*, vol. 172 (2), ss. 320–328
- Johnson, J.E., Gonzales, R.A., Olson, S.J., Wright, P.F. & Graham, B.S. (2007). The histopathology of fatal untreated human respiratory syncytial virus infection. *Modern Pathology*, vol. 20 (1), ss. 108–119 Nature Publishing Group.
- Klem, T.B., Kjæstad, H.P., Kummen, E., Holen, H. & Stokstad, M. (2016). Bovine respiratory syncytial virus outbreak reduced bulls' weight gain and feed conversion for eight months in a Norwegian beef herd. *Acta Veterinaria Scandinavica*, vol. 58 (1), s. 8
- Klem, T.B., Sjurseth, S.K., Sviland, S., Gjerset, B., Myrmel, M. & Stokstad, M. (2019). Bovine respiratory syncytial virus in experimentally exposed and rechallenged calves; viral shedding related to clinical signs and the potential for transmission. *BMC Veterinary Research*, vol. 15. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1911-z>
- Klem, T.B., Tollersrud, T., Østerås, O. & Stokstad, M. (2014). Association between the level of antibodies in bulk tank milk and bovine respiratory syncytial virus exposure in the herd. *Veterinary Record*, vol. 175 (2), ss. 47–47 British Medical Journal Publishing Group.
- Larsen, L.E., Tjørnehøj, K. & Viuff, B. (2000). Extensive sequence divergence among bovine respiratory syncytial viruses isolated during recurrent outbreaks in closed herds. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 38 (11), ss. 4222–4227
- Läkemedelsverket (2009). *Ny rekommendation -- Behandling med NSAID till nötkreatur, får, get och gris*. s. 9. Tillgänglig: [www.lakemedelsverket.se/nsaid-notkreatur-far-get-gris](http://www.lakemedelsverket.se/nsaid-notkreatur-far-get-gris) [2020-11-20]

- Läkemedelsverket (2019). *Dosering av antibiotika till nötkreatur och får - ny rekommendation*. s. 11. Tillgänglig: [www.lakemedelsverket.se/antibiotikanotkreaturochfar](http://www.lakemedelsverket.se/antibiotikanotkreaturochfar) [2020-10-06]
- Norström, M., Skjerve, E. & Jarp, J. (2000). Risk factors for epidemic respiratory disease in Norwegian cattle herds. *Preventive Veterinary Medicine*, vol. 44 (1), ss. 87–96
- Ohlson, A., Emanuelson, U., Tråvén, M. & Alenius, S. (2010a). The relationship between antibody status to bovine corona virus and bovine respiratory syncytial virus and disease incidence, reproduction and herd characteristics in dairy herds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, vol. 52 (1), s. 37
- Ohlson, A., Heuer, C., Lockhart, C., Tråvén, M., Emanuelson, U. & Alenius, S. (2010b). Risk factors for seropositivity to bovine coronavirus and bovine respiratory syncytial virus in dairy herds. *Veterinary Record*, vol. 167 (6), ss. 201–207 British Medical Journal Publishing Group.
- Oma, V.S., Klem, T., Tråvén, M., Alenius, S., Gjerset, B., Myrmel, M. & Stokstad, M. (2018). Temporary carriage of bovine coronavirus and bovine respiratory syncytial virus by fomites and human nasal mucosa after exposure to infected calves. *BMC Veterinary Research*, vol. 14 (1), s. 22
- Schrijver, R.S., Daus, F., Kramps, J.A., Langedijk, J.P.M., Buijs, R., Middel, W.G.J., Taylor, G., Furze, J., Huyben, M.W.C. & van Oirschot, J.T. (1996). Subgrouping of bovine respiratory syncytial virus strains detected in lung tissue. *Veterinary Microbiology*, vol. 53 (3), ss. 253–260
- Valarcher, J.-F., Bourhy, H., Lavenu, A., Bourges-Abella, N., Roth, M., Andreoletti, O., Ave, P. & Schelcher, F. (2001). Persistent infection of B lymphocytes by bovine respiratory syncytial virus. *Virology*, vol. 291 (1), ss. 55–67
- Valarcher, J.F., Schelcher, F. & Bourhy, H. (2000). Evolution of bovine respiratory syncytial virus. *Journal of Virology*, vol. 74 (22), ss. 10714–10728
- Valarcher, J.-F. & Taylor, G. (2007). Bovine respiratory syncytial virus infection. *Veterinary Research*, vol. 38 (2), ss. 153–180
- Van der Poel, W.H.M., Kramps, J.A., Middel, W.G.J., Van Oirschot, J.T. & Brand, A. (1993). Dynamics of bovine respiratory syncytial virus infections: a longitudinal epidemiological study in dairy herds. *Archives of Virology*, vol. 133 (3–4), ss. 309–321
- Van der Poel, W.H.M., Langedijk, J.P.M., Kramps, J.A., Middel, W.G.J., Brand, A. & Van Oirschot, J.T. (1997). Serological indication for persistence of bovine respiratory syncytial virus in cattle and attempts to detect the virus. *Archives of Virology*, vol. 142 (8), ss. 1681–1696
- Van der Poel, W.H., Mourits, M.C., Nielen, M., Frankena, K., Van Oirschot, J.T. & Schukken, Y.H. (1995). Bovine respiratory syncytial virus reinfections and decreased milk yield in dairy cattle. *The Veterinary Quarterly*, vol. 17 (3), ss. 77–81
- Viuff, B., Tjørnehøj, K., Larsen, L.E., Røntved, C.M., Uttenthal, A., Rønsholt, L. & Alexandersen, S. (2002). Replication and clearance of respiratory syncytial virus: apoptosis is an important pathway of virus clearance after experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. *The American Journal of Pathology*, vol. 161 (6), ss. 2195–2207
- Växa. (2019). *Husdjursstatistik*. Tillgänglig: <https://www.vxa.se/fakta/styrning-och-rutiner/mer-om-mjolk/statistik/> [2020-12-09]
- Växa. (2020). *Programmet som säkrar gårdens smittskydd*. Tillgänglig: <https://www.vxa.se/fakta/smittskydd/smittsakrad-besattning/> [2020-10-13]



- Växa. (u.å.). *Säker livdjurshandel*. Tillgänglig: <https://www.vxa.se/fakta/smittskydd/SAL/> [2020-12-08]
- Waal, L. de, Smits, S.L., Kroeze, E.J.B.V., Amerongen, G. van, Pohl, M.O., Osterhaus, A.D.M.E. & Stittelaar, K.J. (2018). Transmission of human respiratory syncytial virus in the immunocompromised ferret model. *Viruses*, vol. 10 (1) Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). DOI: <https://doi.org/10.3390/v10010018>
- White, L.J., Mandl, J.N., Gomes, M.G.M., Bodley-Tickell, A.T., Cane, P.A., Perez-Brena, P., Aguilar, J.C., Siqueira, M.M., Portes, S.A., Straliootto, S.M., Waris, M., Nokes, D.J. & Medley, G.F. (2007). Understanding the transmission dynamics of respiratory syncytial virus using multiple time series and nested models. *Mathematical Biosciences*, vol. 209 (1), s. 222 Elsevier.

# Tack

Stort tack till min handledare Sara Hägglund, samt biträdande handledare Jean-Francois Valarcher och Ewa Olszowy, för all insamling av information, snabba mejlsvar, möten med kort varsel samt stora stöd!

Tack även till Katarina Näslund, Siamak Zohari, Paul Johnsson och Dan Haydon vilka utfört laboratoriearbete och analys av sekvenseringsdata, samt bidragit med illustrationer till arbetet. Ytterligare tack till remitterande veterinärer, särskilt Ingrid Hyttsten och Anna-Karin Eng som arbetat intensivt med insamling av information och prover.

Och till sist: tack till medverkande lantbrukare och yrkesverksamma som ställt upp på intervju och medverkan i projektet!

## Populärvetenskaplig sammanfattning

Bovint respiratoriskt syncytialt virus (BRSV) är ett virus som drabbar nötkreatur. Det förekommer över hela världen och i Sverige är utbrott vanligast under vinterhalvåret. Viruset är nära besläktat med humant respiratoriskt syncytialt virus, som även kallas RS-virus, som ofta drabbar barn och ger förkylningssymtom som ibland övergår i allvarligare infektion med ansträngd hosta och svårigheter att andas. Nötkreatur infekterade med BRSV kan variera i sin symtombild. Det finns de som får knappt märkbara symtom, medan andra snabbt får feber, rinnig nos, hosta och andningssvårigheter. Likt RS-virus drabbas oftast unga djur värst av BRSV, då äldre djur oftare har stött på viruset tidigare och byggt upp bättre motståndskraft med hjälp av bl.a. antikroppar. Dock drabbas även äldre djur ibland. När äldre djur uppvisar kraftiga symtom är det oftast för att de inte stött på viruset innan. Äldre djur uppvisar samma symtom som unga, men mjölkkor som drabbas av kraftigare infektion går ofta även ner i mjölkproduktion. Har viruset väl drabbat ett djur sprids det oftast väldigt snabbt till alla nötkreatur på plats på gården, vilket ger stora konsekvenser. Viruset sprids genom droppar från nos samt hostningar, men också genom gemensamma ytor och redskap. Djuren behandlas framför allt med vila och värme samt eventuellt febernedsättande medicin och vätska, men ibland banar virusinfektionen väg för bakterier att få fäste i luftvägarna. Dessa behöver ibland behandlas med antibiotika. Eftersom BRSV-infektioner är vanliga och omfattande är det ett virus som behöver studeras för att utveckla bästa möjliga smittskyddsrutiner mot. Ju färre besättningar som drabbas innebär förhindrat djurlidande, mindre ekonomisk förlust samt färre antibiotikabehandlingar, vilket är högst önskvärt med tanke på riskerna vid potentiell selektion av antibiotikaresistens.

Examensarbetet utgör en del av ett större forskningsprojekt vars övergripande mål är att utveckla nuvarande strategier för ett ännu effektivare smittskydd mot BRSV. Om smittan väl når en besättning är målet att förhindra att den sedan sprids vidare till andra gårdar. Önskvärt hade varit att viruset aldrig skulle kunna få fäste i den första besättningen från start. För att ta reda på hur smittskyddet behöver utformas behöver mer information om viruset och dess spridning inhämtas för att förstå hur smittan färdas. Examensarbetet ämnar därför bidra med underlag för mer kunskap kring smittspridning, med fokus på spridningen mellan besättningar.

I examensarbetet har ett 40-tal besättningar fördelade över Dalarna, Jämtland och Uppland ingått som bekräftat drabbade av BRSV. Syftet har varit att kartlägga alla

infekterade besättningar i tid och rum för att få en övergripande bild av hur spridningen av utbrottet under 2020 sett ut. Tidigare inhämtad information om drabbade gårdars kontaktnät under perioden för utbrotten bearbetades för att påvisa potentiella smittvägar. Provtagningarna har med hjälp av analyser visat att viruset skiljer sig något i form av släktskap mellan de olika regionerna. Samtliga besättningar har varit infekterade med BRSV, men av olika ”syskonversioner” av viruset i respektive region. Huruvida alla syskonversioner var lika kapabla till att ge upphov till kraftiga infektioner och symtom gick inte att säga utan noggrannare intervjuer med fokus på symtom. Dalarna och Uppland, som är närliggande regioner, hade enstaka fall av varandras virusversion, vilket skulle kunna förklaras av ett överlappande kontaktnät eftersom regionerna är närmre belägna varandra än till exempel Jämtland är. Ett flertal besättningar hade gemensamma kontakter som ibland besökte flera gårdar under samma dag och därmed riskerade att föra smittan vidare.

För att ta reda på om det kunde finnas vissa faktorer som kunde indikera en ökad risk för smitta och att drabbas av BRSV har fem gårdar som lyckats hålla sig fria från viruset ingått för att utgöra en jämförelse mot de som drabbats. Här intervjuades lantbrukare på gårdar fria från BRSV avseende utvalda fokusområden, för att ta reda på om de gjorde något annorlunda jämfört med drabbade besättningar, som möjligen kunde spelat roll i varför de lyckades hålla sig fria. Likt tidigare studier var resultaten inte helt lättolkade och något tydligt resultat gick inte att få fram. Gemensamt för samtliga fria besättningar var att de avstod från att köpa in djur under 2020, vilket annars kan vara en potentiell väg in i en besättning för ett virus, samt att de drog ner avsevärt på mängden besökare så fort de fick reda på att det cirkulerade BRSV i närområdet. Huruvida det här var bidragande faktorer till att de klarat sig från infektion går enbart att spekulera i. Enskilda besättningsars förmåga att stå emot virusinfektion har inte tagits i beaktning. Faktorer så som stress i form av transport, dräktighet, osämja i djurgruppen och näringsbrister kan påverka individens motståndskraft och skulle potentiellt kunna vara avgörande i huruvida virusinfektionen blir kraftigt eller snabbt övergående utan märkbara symtom. Hygienrutiner hos personal är en del ur smittskyddssynpunkt som spelar en avgörande roll. Exakt hur noggranna samtliga besättningar, negativa som positiva, var på daglig basis går inte att säga med inhämtad information. Hygienrutiner tillsammans med djurens motståndskraft går troligen hand i hand vad gäller förmåga att undvika introduktion av viruset.

Den information som framkommit i examensarbetet visade att virusets väg i utbrottet under 2020 mellan besättningar var svår att helt förstå. Troligen spelade överlappande kontaktnät en viss roll i spridningen av viruset och kanske innebar det att ju fler besökare man tog emot, desto större risk förelåg för vidarespridning, men

det var svårt att peka ut exakt vilka faktorer som påverkade huruvida smittan introducerades och fick fäste eller ej. Mest troligt var att det fanns enstaka brister som kunde agera ”falluckor” som skiljde sig hos olika besättningar, som därmed blev avgörande för att smittan kunde få fäste alternativt spridas vidare. Brister det i hygienrutinerna är det större risk att viruset kvarhålls på till exempel stövlar, rock eller annat material, som sedan kommer i kontakt med djuren alternativt deras inredning. Är djuren under stor stress och därmed mer mottagliga för infektion blir man plötsligt mer beroende av välfungerande hygienrutiner, för att ”säkra upp” där det finns brister. Troligen går det inte att peka ut en enstaka bov i det hela, det är snarare en fråga om en kombination av olika faktorer. I framtiden behöver kanske ett mer specifikt smittskyddsprogram tas fram som tar hänsyn till och utformas efter besättnings förutsättningar i kombination med olika typer av virus och deras egenskaper, där vikten ligger i att programmets utformning och råd åtföljs av alla inblandade.