



Mycoplasma bovis **epidemiologi på tjurstation**

Johanna Gerwins

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

Uppsala 2023



Mycoplasma bovis epidemiologi på tjurstation

Mycoplasma bovis in bull semen collection center

Johanna Gerwins

Handledare: Madeleine Tråvén, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper
Bitr. handledare: Emma Hurri, Statens veterinärmedicinska anstalt
Bitr. handledare: Anders Edman, VikingGenetics
Examinator: Lena-Marie Tamminen, Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper

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: 2023
Upphovsrätt: Alla bilder används med upphovspersonens tillstånd.
Nyckelord: *Mycoplasma bovis*, Nötkreatur, Sperma, Smittskydd

Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Veterinärprogrammet

Sammanfattning

Mycoplasma bovis är en svårbehandlad och smittsam bakterie som orsakar sjukdom hos nötkreatur i alla åldrar och kan drabba alla produktionsformer. Bakterien orsakar stora ekonomiska förluster och djurlidande och är av växande betydelse för svenska besättningar. Syftet med detta arbete var att sammanställa data om smittspridningen av *M. bovis* vid tjurstationen i Skara och karantänsanläggningen i Falkenberg samt att utvärdera de smittskyddsåtgärder som började vidtas i december 2020. Arbetet genomfördes genom analys av serumantikroppar med ID Screen ELISA och sammanställning av svabbar från näshåla och genitalia med Realtids-PCR.

Den största andelen av serologiskt positiva djur inkluderade i studien hade ursprung i Danmark men det förekom även positiva djur vid import från Finland och inköp av tjurar från Sverige. Under den undersökta tidsperioden serokonverterade 3,1 % vilket visar på smittspridning. Åtgärdernas effekt kunde ej fastställas då det saknades en kontrollgrupp, men då smittspridning förekom antas de ej varit tillräckliga för att helt stoppa smittspridningen, alternativt att åtgärderna inte tillämpades vid alla tillfällen.

Det finns trots omfattande forskning fortsatt stora kunskapsluckor gällande *M. bovis* patogenes och epidemiologi. Till dags dato är enigheten om bakteriens smittspridning begränsad och detta arbetes resultat belyser vikten av ytterligare forskning för att utforma effektiva åtgärder och motverka smittspridningen.

Nyckelord: *Mycoplasma bovis*, Nötkreatur, Sperma, Smittskydd

Abstract

Mycoplasma bovis (*M. bovis*) is a contagious bacterium that causes disease poorly responsive to treatment in cattle of all ages and can affect all types of production. The infection causes significant economic loss and animal suffering and is of growing importance for Swedish herds. The purpose of this study was to compile data on the spread of *M. bovis* at the bull station in Skara and the quarantine facility in Falkenberg and to evaluate the infection control measures that began in December 2020. The study was conducted through analysis of serum antibodies with ID Screen ELISA and analysis of swabs from the nasal cavity and genitals with real-time PCR.

The majority of serologically positive animals included in the study originated from Denmark, but positive animals also occurred in imports from Finland and in bulls purchased from Sweden. During the investigated period, 3.1% seroconverted, indicating a spread of the infection. The effect of the measures could not be determined as there was no control group, but since the spread of infection occurred, it is assumed that the measures were not sufficient to completely stop the spread or that the measures were not applied on all occasions.

Despite extensive research, there are still significant gaps in knowledge regarding the pathogenesis and epidemiology of *M. bovis*. To date, knowledge on the bacteria's spread is limited, and the results of this study highlight the importance of further research to design effective measures and prevent the spread of infection.

Keywords: *Mycoplasma bovis*, Cattle, Sperm, Infection prevention

Innehållsförteckning

1.	Inledning	9
2.	Litteraturbakgrund.....	10
2.1	<i>Mycoplasma bovis</i> och dess patogenes	10
2.2	Klinisk sjukdom	11
	2.2.1 Bovine respiratory disease complex	12
	2.2.2 Pneumoni, mastit, artrit.....	12
	2.2.3 Övrig klinisk manifestation	12
2.3	Vaccin	13
2.4	Antibiotika.....	13
2.5	Risker och smittvägar	14
	2.5.1 Risker.....	15
2.6	Provtagning och analys.....	16
2.7	Förekomst	17
2.8	VikingGenetics	18
3.	Syfte	20
4.	Material och metod	21
4.1	Insamling av data	21
	4.1.1 Provresultat inkluderad i studien	21
	4.1.2 Analyserade prover.....	21
	4.1.3 Information om tjurar och anläggning	21
	4.1.4 Smittskyddsåtgärder	22
4.2	Bearbetning av data	22
5.	Resultat	23
5.1	Seropositiva	23
5.2	Inköpta smittade djur.....	25
5.3	Serokonverterat i Danmark	25
5.4	Seronegativa	26
5.5	PCR.....	27
5.6	Ursprungsland.....	27
6.	Diskussion	30
6.1	Jämförande mellan länder	30

6.2	Introduktion av <i>M. bovis</i> till anläggningen i Skara.....	30
6.3	Aktiv spridning av <i>M. bovis</i> på anläggningen i Skara	31
6.4	Avsaknad av kliniska fall	32
6.5	Smittade djur på anläggningen i Skara.....	32
6.6	Smittskyddsåtgärder	33
6.7	Slutsats	34
	Referenser.....	35
	Populärvetenskaplig sammanfattning	39
	Tack	41

1. Inledning

Mycoplasma bovis är en svårbehandlad och smittsam bakterie som orsakar sjukdom hos nötkreatur i alla åldrar (Maunsell *et al.* 2011). Klassiskt ses pneumoni eller artrit hos kalvar och mastit i mjölklobesättningar men den kan även ge upphov till andra sjukdomar och drabba alla typer av produktionsformer. Bakterien har på senare år fått allt mer uppmärksamhet som en viktig faktor i sjukdomskomplexet ”bovine respiratory disease” (Grissett *et al.* 2015).

M. bovis orsakar stora ekonomiska förluster och stort djurlidande i många delar av världen. Den är av växande betydelse i Sverige och beräknas öka i snabb takt om inga åtgärder vidtas (Ericsson Unnerstad *et al.* 2012). Infektionen är svårbehandlad och blir ofta kronisk, det saknas effektiva vaccin och det har noterats en trend av ökad antibiotikaresistens (Dudek *et al.* 2020). Den varierande kliniska presentationen av diffusa symtom i kombination med variation i ålder och många diagnostiska metoder gör sjukdomen svår att diagnostisera (Petersen *et al.* 2020).

Trots flera vetenskapliga studier om epidemiologiska trender, antibiotikaresistens, patogenicitet, smittspridning och optimering av diagnostik finns det stora kunskapsluckor gällande sjukdomen (Tardy *et al.* 2020). Vidare forskning för att förstå bakterien, dess interaktion med värdjuret och epidemiologi är väsentlig för utformningen av lämpliga förebyggande och kontrollerande åtgärder.

På tjurstationen i Skara fann man under 2020 att ett antal importerade tjurar från Danmark samt två tjurar selekterade i Sverige var serologiskt positiva för *M. bovis* (Anders Edman, veterinär, VikingGenetics, e-post 24-01-2023). Det beslutades då att införa smittskyddsåtgärder för att minimera smittspridningen på anläggningen och motverka uppkomsten av kliniska fall. Syftet med detta arbete är att utifrån prover under denna tidsperiod kartlägga smittspridningen och undersöka hur stor andel av djuren som serokonverterade under sin tid på anläggningen.

2. Litteraturbakgrund

2.1 *Mycoplasma bovis* och dess patogenes

M. bovis är en gramnegativ, fakultativt anaerob bakterie som karaktäriseras av ett litet genom, komplex nutrition och avsaknad av cellvägg vilket gör den naturligt resistent mot alla antibiotika som påverkar cellväggen (VetBact u.å., Quinn *et al.* 2011). Bakterien kan infektera nötkreatur i alla åldrar och produktionsformer (Dudek *et al.* 2020) och har påvisats hos buffel och bison som skulle kunna infekteras och fungera som bärare av bakterien (Dyer *et al.* 2008). Den har även isolerats från får, getter, grisar, hjorddjur och höns men det saknas studier om dessa djurs betydelse för smittspridning (Calcutt *et al.* 2018). *M. bovis* betraktas inte som en zoonos men det finns fall där bakterien har isolerats från människor (Madoff *et al.* 1979). I dessa fall har det inte kunnat konstateras att *M. bovis* orsakat sjukdom och det är mest troligt en sekundärinfektion hos personer med nedsatt immunförsvar. *M. bovis* kan kolonisera de övre luftvägarna på unga friska djur utan att orsaka sjukdom (Perez-Casal 2020) och anses främst vara en sekundärpatogen men i samband med immunnedsättande faktorer kan *M. bovis* fungera som en primärpatogen (Grissett *et al.* 2015; Perez-Casal 2020). Hos nötkreatur är bakterien övervägande en extracellulär patogen men den förekommer även intracellulärt (Merwe *et al.* 2010).

Trots omfattande forskning på området saknas studier som enhetligt förklarar bakteriens virulensfaktorer och patogenes (Beier *et al.* 1998; Maunsell *et al.* 2011; Calcutt *et al.* 2018). Flertalet studier har presenterats som framhäver bakteriens förmåga att undgå immunförsvaret och adherera till värdcellerna som viktiga faktorer för dess patogenicitet (Maunsell *et al.* 2011; Perez-Casal 2020; Askar *et al.* 2021). *M. bovis* har en familj av variabla lipoproteiner i sitt membran som betecknas Vsp (variable surface protein antigens) som kan uttrycka stor variation i fenotyp genom genetiska alterationer i ett visst loci av dess genom (Beier *et al.* 1998). Variationen i antigen (Vsp) förekommer frekvent, spontant och okoordinerat vilket ger bakterien möjlighet att snabbt ändra sin immunogenicitet. När det har utvecklats antikroppar mot bakterien uppstår nya bakterier med en annan uppsättning av antigen som inte känns igen av värdjuret och bakterien undviker på så sätt det

förvärvade immunförsvaret (Perez-Casal 2020). Vsp förmodas även vara väsentliga för förmågan att adherera till värdcellerna (Nicholas & Ayling 2003; Maunsell *et al.* 2011; Perez-Casal 2020).

M. bovis har även en direkt verkan på de mononukleära perifera vita blodcellerna och inhiberar deras proliferation, vilket leder till abnormal funktion och ett minskat cellmedierat svar, vilket sannolikt behövs för att eliminera infektionen (Perez-Casal 2020). Som tidigare nämnts förekommer *M. bovis* även intracellulärt i mononukleära perifera vita blodceller samt i erythrocyter. Detta ger skydd från immunförsvaret och antimikrobiella läkemedel samt möjliggör hematogen spridning till andra vävnader (Merwe *et al.* 2010). Bakterien kan intracellulärt nedreglera proinflammatoriska cytokiner och samtidigt uppreglera anti-inflammatoriska cytokiner vilket leder till ett otillräckligt inflammatoriskt svar som kan bidra till oförmågan att eliminera bakterien (Perez-Casal 2020). Den intracellulära närvaron inhiberar även apoptos av monocyter vilket antas bidra till bakteriens persistens och sjukdomens kroniska karaktär.

Hos en del arter av släktet mycoplasma kan virulensen härledas till deras förmåga att producera väteperoxid (Quinn *et al.* 2011). En del isolat av *M. bovis* har visat sig ha denna egenskap och det diskuteras om detta är en virulensfaktor även för *M. bovis* men det har i studier inte kunnat kopplas till virulensen hos kliniska stammar och vidare forskning krävs för att bedöma dess roll i patogeniciteten (Perez-Casal 2020).

Flera arter av mycoplasma inklusive *M. bovis* kan bilda biofilm *in vitro* vilket kan ha betydelse för patogeniciteten och sjukdomsbilden (Maunsell *et al.* 2011). Hos många bakterier har biofilm visats kunna inhibera immunförsvaret, påverka resistensen mot stress och inhibera effekten av antibiotika och mer forskning krävs för att bedöma om detta även är fallet för *M. bovis* (Piccinini *et al.* 2015; Perez-Casal 2020).

2.2 Klinisk sjukdom

Enligt en sammanfattning av Dudek *et al.* (2020) har många studier visat att de vanligaste kliniska sjukdomarna orsakade av *M. bovis* är pneumoni, mastit och artrit men sjukdomen har även andra presentationer. Gemensamt för infektionerna är att de är svårbehandlade och ofta blir kroniska (Quinn *et al.* 2011). *M. bovis* kan som ensam patogen orsaka pneumoni hos kalvar men ses mer frekvent i saminfektion med andra patogener och ingår i komplexet som orsakar Bovine Respiratory Disease, BRD (Grissett *et al.* 2015). BRD är ett multifaktoriellt syndrom som involverar flera virus, bakterier, miljöfaktorer och värdjurens immunförsvaret. *M. bovis* roll i komplexet anses länge ha varit underskattad delvis på grund av att bakterien kan isoleras från de övre luftvägarna hos kliniskt friska individer (Grissett

et al. 2015; Vähänikkilä *et al.* 2019). I ljuset av nya upptäckter kring bakterien och dess patogenes har dess roll i komplexet växt i betydelse.

2.2.1 Bovine respiratory disease complex

I många fall utvecklas BRD från en viral infektion som gör värdjuren mer mottagliga för sekundärinfektioner av bakterier (Grissett *et al.* 2015) men det finns teorier om att *M. bovis* är den predisponerande faktorn (Nicholas & Ayling 2003). Flera virus har associerats med komplexet som bovint herpesvirus typ 1, para-influensavirus, bovint virusdiarrévirus och bovint respiratoriskt syncytialt virus samt bakterierna *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* och *Histophilus somni* (Grissett *et al.* 2015). Ofta är det inte möjligt att fastställa vilka patogener som orsakar klinisk sjukdom i individuella utbrott och det tar ofta lång tid innan *M. bovis* diagnostiseras då det krävs specifik provtagning som ofta utförs först efter antibiotikabehandling utan väntat resultat.

2.2.2 Pneumoni, mastit, artrit

Pneumoni orsakad av *M. bovis* ses primärt hos kalvar men kan drabba nötkreatur av alla åldrar och produktionsformer (Maunsell *et al.* 2011). Ofta ses diffusa icke patognomona kliniska tecken som gör det svårt att differentiera från andra luftvägsinfektioner. Hos kroniskt sjuka djur ses försämrade tillväxt och djur med luftvägsinfektion kan drabbas av sekundär otitis media eller artrit av bakterien. Mastit drabbar mjölkande djur i alla åldrar och laktationsstadier och infektionen kan vara allt från subklinisk till högradigt klinisk. Subklinisk infektion kan förlöpa utan ökade celltal eller förändringar i mjölkproduktionen och den kliniska infektionen har även den ospecifika symtom men ger ofta ökning av celltal och minskad produktion. Infektionen är ofta långdragen och återgång till produktion är möjlig men långsam. Artrit har förekommit som enda manifestation av *M. bovis* även om det oftast ses sekundärt till luftvägsinfektion. Infektionen kan drabba alla leder med typiska, ospecifika symtom av akut artrit. Otitis media ses vanligen hos kalvar men finns även beskrivet hos ungdjur. Infektionen kan sprida sig till innerörat och i allvarliga fall även ge upphov till meningit och påverkan på kranialnerv (Maunsell *et al.* 2011).

2.2.3 Övrig klinisk manifestation

Förutom dessa vanligt förekommande uttryck av sjukdom kan *M. bovis* även ge upphov till keratokonjunktivit, abscesser, myocardit, endocardit, sjukdom i CNS och reproduktionssjukdomar (Dudek *et al.* 2020). I en studie av Pfützer och Sachse från 1996 såg man att genital infektion kunde leda till vesikulit, orkit, försämrade spermakvalitet och kronisk salpingit (Pfützer & Sachse 1996). Trots experi-

mentella bevis finns det få studier som visar *M. bovis* betydelse i naturligt förekommande reproduktionssjukdomar (Maunsell *et al.* 2011).

2.3 Vaccin

Ett effektivt vaccin skulle vara ett avgörande hjälpmedel för kontroll och utrotning av *M. bovis* (Perez-Casal *et al.* 2017) och forskningen har pågått under lång tid men generellt har försöken att få fram ett effektivt vaccin varit misslyckade (Maunsell *et al.* 2011). Idag finns kommersiellt vaccin endast tillgängligt i USA och dessa saknar dokumenterad effekt (Maunsell *et al.* 2011; Perez-Casal *et al.* 2017; Dudek *et al.* 2021). Det finns flera utmaningar i framtagningen av ett effektivt vaccin, dels är kalvarna mycket unga när de infekteras och tidig immunisering hindras av maternella antikroppar (Dudek *et al.* 2021) och dels är det svårt att utforma en hållbar forskningsmodell som representerar verkliga förhållanden (Perez-Casal *et al.* 2017). En del vaccinkandidater är effektiva under experimentella förhållanden men har visat sig verkningslösa i verkliga förhållanden vilket belyser denna svårighet (Maunsell *et al.* 2011; Dudek *et al.* 2021). De flesta studier fokuserar endast på *M. bovis* och tar ej hänsyn till saminfektion med andra patogener, vilket kan vara en faktor till de dåliga resultaten då vaccinen används i fält (Perez-Casal *et al.* 2017). Det föreslås av Dudek *et al.* (2021) att ett framtida vaccin måste ingå i ett vaccinationsprogram som innefattar flera luftvägspatogener för att vara effektivt. Det bedöms vara en lång väg kvar till ett effektivt vaccin och väsentlig kunskap om bakteriens molekylära patogenes och samverkan med värdjuret som krävs för utformandet saknas fortfarande (Perez-Casal *et al.* 2017).

2.4 Antibiotika

Då det saknas vaccin är idag de enda medlen för kontroll av sjukdomen smittskydd mot introduktion av infektionen i besättningar, hygienåtgärder och behandling med antibiotika (Lysnyansky & Ayling 2016). Behandling med antibiotika är dock svårt dels då bakterien är naturligt resistent mot betalaktamer och alla antibiotika som verkar på cellväggen, dels för att det har observerats en trend av ökande resistens mot ett antal antibiotika som använts för behandling mot *M. bovis* hos nötkreatur. Ett flertal studier som har undersökt MIC-värden för olika antibiotika *in vitro* har sammanställts i en artikel av Lysnyansky och Ayling (2016) vilken visar på en trend av ökad resistens mot tetracykliner, makrolider, linkosamider, aminoglykosider, kloramfenikol och fluorokinoloner. Klein *et al.* (2019) belyser att det inte finns någon standardiserad metod för undersökningar och tolkningar av antimikrobiell resistens gällande veterinärmedicinska arter av *mycoplasma*, och historiskt har flera olika metoder använts vilket gör det svårt att jämföra olika studier och relatera MIC-

värden till effekt *in vivo*. Trots detta föreligger det en enighet om att det finns en ökad resistens. Det finns en variation i MIC-värden hos stammar från olika länder som kan förklaras av selektion av multiresistenta stammar. I länder kring medelhavet är MIC-värden för fluorokinoloner högre än övriga länder, vilket är ett känt problem hos flera patogener som ofta relateras till den höga förbrukningen av detta antibiotika under lång tid i dessa länder.

2.5 Risker och smittvägar

Det finns fortfarande många faktorer rörande smittspridning och utbrott av klinisk sjukdom som inte är kända och det krävs vidare forskning för att identifiera risker och arbeta fram effektiva rekommendationer (Calcutt *et al.* 2018). Faktorer som försvårar arbetet är dels att infekterade djur kan utsöndra bakterien intermittent efter genomgången klinisk sjukdom och dels att det förekommer subkliniskt infekterade djur som fungerar som asymtomatiska smittspridare (Nicholas & Ayling 2003). Det är även svårt att fastställa sjukdomens inkubationstid då den varierar med en rad faktorer (ålder, isolatets virulens, hur infektionen manifesteras, saminfektion, stress) samt att det ofta tar lång tid innan diagnos ställs.

Kalvar anses av vissa vara reservoar för bakterien (Aebi *et al.* 2015; Vähänikkilä *et al.* 2019; Petersen *et al.* 2020) och det har av Haapala *et al.* (2021) föreslagits att en nyckelroll för att bli av med smittan i en besättning är att bryta smittkedjan mellan kalvar och framför allt för kalvar som föds efter påvisande av *M. bovis* i en besättning. Författarna betonar att det saknas forskning för att fastställa optimal tid för isolering men baserat på studien rekommenderar de att nyfödda kalvar isoleras från infekterade djur i minst 6 månader.

Utbrott av klinisk sjukdom utlöses ofta av stress som gör djuren mer mottagliga för infektionen och det har även setts kunna öka utsöndringen av bakterien (Maunsell *et al.* 2011; Calcutt *et al.* 2018). Detta stödjer hypotesen att *M. bovis* kräver vissa omständigheter för att orsaka sjukdom och främst ses som en sekundärinfektion (Aebi *et al.* 2015). I en retrospektiv fall-kontrollstudie (Aebi *et al.* 2015) identifierades hög temperatur i stallarna, frekvent förflyttning av djur, möjligt foder, överbeläggning, hög mjölkproduktion och samtidig annan sjukdom som stressfaktorer som påverkade immunförsvaret och gav ökad risk för klinisk sjukdom. I en annan studie som också undersökte riskfaktorer visade hög mjölkproduktion i motsats vara skyddande (Haapala *et al.* 2021). Författaren i denna studie diskuterar att detta kan bero på att högproducerande besättningar ofta har bättre rutiner för att bryta smittvägar, snarare än produktionsmängden i sig.

2.5.1 Risker

Den största risken för introduktion av smittan till fria besättningar är inköp av asymtomatiska smittbärare eller kontakt med infekterade djur utanför besättningen (Gonzalez *et al.* 1992 se Haapala *et al.* 2018; Aebi *et al.* 2015). Dessa situationer medför ofta stress i form av transport vilket ytterligare ökar risken för smittspridning. Bakterien kan även introduceras till fria besättningar via kontaminerad sperma (Maunsell *et al.* 2011). I en studie av Haapala *et al.* (2018) undersöktes två besättningar som drabbats av utbrott med mastit orsakade av *M. bovis*. Gårdarna var tidigare fria från bakterien och hade en hög biosäkerhet och källan till smittan var processad sperma från en infekterad tjur via artificiell insemination. Tjuren utsöndrade bakterien via sperman intermittent under 7 veckor, alla samlingar var inte positiva och från de positiva samlingarna var inte alla strån positiva. Även om det finns fall där *M. bovis* introducerats via sperma är det en ovanlig källa till kliniska utbrott i besättningar och forskningen har ännu inte kunnat fastställa betydelsen av positiva tjurar för smittspridningen.

Stora besättningar med över 500 djur har i USA korrelerats till utbrott av mastit orsakade av *M. bovis*, vilket kan förklaras av en större möjlighet för bakterien att spridas och kvarstå inom besättningen jämfört med små besättningar där det förekommer naturliga avbrott i smittkedjor med färre mottagliga djur (Nicholas *et al.* 2016). Även Haapala *et al.* (2021) såg att stora besättningar var en riskfaktor och presenterade en förklaring att det med färre kor blir naturligt längre perioder mellan kalvningar vilket bryter smittkedjan mellan kalvar. Dessa resultat är motsatta de från en tidigare studie av Gonzalez *et al.* (1992) där man såg att besättningsstorleken inte var en riskfaktor.

Ytterligare en risk som identifierats är kalvar som utfodras med kontaminerad mjölk eller råmjölk (Aebi *et al.* 2015; Nicholas *et al.* 2016). I de studier som undersökt smittspridning till kalvar via mjölk har inte andra smittvägar kunnat exkluderas och även djur som utfodras med mjölkersättning eller pastöriserad mjölk har utvecklat sjukdom, vilket gör det svårt att bedöma hur stor risk kontaminerad mjölk utgör (Maunsell *et al.* 2011; Dudek *et al.* 2021).

Avsaknad av sjukboxar och utebliven isolering av sjuka djur har identifierats som riskfaktorer (Nicholas *et al.* 2016). Smittspridning mellan djur indirekt via redskap, inredning eller personal är svårt att bevisa men bör enligt Dudek *et al.* (2020) anses som en viktig smittväg. I en studie av Haapala *et al.* (2021) där man hindrade direktkontakt mellan djur men fortsatt hade delat luftrum såg man att smittspridningen minskade. Detta indikerar att det kan räcka att förhindra direkt kontakt mellan djuren för att stoppa smittspridning och att luftburen smitta därmed troligen inte är väsentlig för spridningen. Att luftburen smitta inte är en betydande smittväg stöds även av resultat från en tidigare studie där man undersökte luften från stallar med positiva kalvar utan att lyckas isolera *M. bovis* (Soehlen *et al.* 2012). Man har dock i tidigare studier påvisat bakterien i luften från stall med

infekterade kalvar och kalvar har experimentellt infekterats av inhalation av bakterien (Jasper *et al.* 1974). Det diskuteras att de olika resultaten kan förklaras med att aerosol-förekomsten kan variera med smittrycket och i vilket stadiet infektionen befinner sig. Det finns därmed stridigheter kring luftburen smitta där en del anser att det utgör en av de största riskerna (Calcutt *et al.* 2018) medan andra anser att det inte finns välgrundade bevis för att det förekommer (Haapala *et al.* 2018).

Risken och betydelsen av kontamination av miljön har länge varit förbisedd då bakterien har ansetts relativt känslig på grund av sin avsaknad av cellvägg. Efter upptäckten av förmågan hos *Mycoplasma* att bilda biofilm *in vitro* har detta behövt omvärderas och miljökontamination anses vara en möjlig källa till klinisk sjukdom (Calcutt *et al.* 2018). I en studie av Justice-Allen *et al.* (2010) undersöktes överlevnad av *M. bovis* i strö och sand och de fann att den kan överleva i upp till åtta månader. I en studie i en gödkalvsbesättning där man undersökte *M. bovis* överlevnad i miljön kunde man se indikationer på att kalvar med luftvägsinfektion plockat upp smittan från miljön (Piccinini *et al.* 2015). Den ansenliga tiden bakterien kan överleva i miljön kan tänkas vara en bidragande faktor till persisterande infektioner och återinfektioner.

2.6 Provtagning och analys

Då symtomen för *M. bovis* är ospecifika är snabb provtagning med hög sensitivitet väsentlig för diagnos (Dudek *et al.* 2020). Att ställa diagnos försvåras dock av subkliniska infektioner och intermitterant utsöndring av bakterien (Maunsell *et al.* 2011). Odling av bakterien har traditionellt varit gold standard för diagnos men är mycket arbets- och tidskrävande då bakterien är långsamväxande, svårödlad och lätt blir överväxt av andra snabbväxande bakterier (Andersson *et al.* 2019; Dudek *et al.* 2020). Det finns många olika provtagningsmetoder, provmaterial och analyser för att detektera *M. bovis* och det finns ingen internationell samordning för provtagning och diagnostik.

Realtids-PCR (eng. real-time PCR) har en hög sensitivitet och karaktäriseras av att påvisa bakterien även vid låga nivåer och anses vara det säkraste sättet att konfirmera pågående infektion (Dudek *et al.* 2020; Hurri *et al.* 2022). Analysmetoden kräver att det finns bakterier i det provtagna materialet, vilket utgör ett problem då bakterien kan utsöndras intermitterant och det finns risk att enstaka prover därmed ger falskt negativa resultat och underskattar prevalensen. I en studie jämfördes olika typer av PCR som regelbundet används på sex olika veterinärmedicinska institut runt om i Europa och resultatet visade på jämförbara resultat, vilket säkerställer diagnosens kvalitet trots antalet olika analyser (Wisselink *et al.* 2019).

Med ökat behov av snabbare, billigare och mer tillgänglig diagnostik har serologi länge använts på besättningsnivå (Andersson *et al.* 2019). Med serologi kan antikroppar konstateras som visar på om besättningen någon gång har stött på smittan. I en studie av Petersen *et al.* (2020) konstaterades en korrelation mellan antikroppar i serum och mjölk vilket tyder på att även mjölkprover kan användas för serologi. Serologi kan vara mer pålitligt för att påvisa infektioner i en besättning då bakterien utsöndras intermittent och utgör med tankmjölksprover ett effektivt och billigt sätt att provta på besättningsnivå. Svårigheter med serologisk diagnos är att det indikerar tidigare exponering snarare än pågående infektion och är inte alltid korrelerad till cirkulation av bakterien i besättningen (Nicholas & Ayling 2003; Vähänikkilä *et al.* 2019). Specifika antikroppar är påvisbara först efter 10-14 dagar av infektionen och kan kvarstå i flera månader till år efter genomgången sjukdom (Calcutt *et al.* 2018; Dudek *et al.* 2020). För serologiska analyser kan det vara svårt att jämföra information om prevalens från olika länder då det saknas samordning av analysmetod internationellt. I en studie som omfattade forskare från sex olika europeiska länder undersökte man sensitiviteten och specificiteten hos två olika ELISA-tester, ID Screen® ELISA (IDvet) och BIO K302 ELISA (BIO-X Diagnostics). Resultaten visade att sensitiviteten och specificiteten för ID Screen ELISA var 93,5 % respektive 98,6 % och för BIO K302 ELISA 49,1 % respektive 89,6 % (Andersson *et al.* 2019).

Vilken metod som används bör baseras på typen av undersökning, vad informationen ska användas för och om man vill provta på besättningsnivå eller individnivå (Dudek *et al.* 2020). För optimal monitorering av *M. bovis* i en besättning och pålitlig diagnos bör man kombinera serologi med andra provtagningsmetoder. I en studie av Vähänikkilä *et al.* (2019) där man undersökte infektionens förlopp kom man fram till att optimal provtagning för en besättnings infektionsstatus är regelbunden monitorering av *M. bovis* från kliniska fall av mastit och pneumoni hos kalvar, i kombination med longitudinell övervakning av unga djur med PCR på nossvabbar och serologi av serum. Potentiellt kan serologi av tankmjölksprover räcka för kontrollprogram (Vähänikkilä *et al.* 2019).

2.7 Förekomst

Enligt en sammanfattning av Dudek *et al.* (2020) har många studier demonstrerat *M. bovis* förmåga att spridas över världen tack vare den utbredda internationella handeln med boskap. *M. bovis* upptäcktes första gången i USA 1961 i ett fall med allvarlig mastit och under följande år spred sig bakterien över världen (Laven 2019). I slutet av 1900-talet ansågs endast de nordliga skandinaviska länderna och NyaZeeland fria men 1981 upptäcktes det första fallet i Danmark, 2011 det första i Sverige och ett år senare även i Finland. Norge anses fortfarande fritt men det

saknas publicerad data över övervakning och under 2014 hade landet ett isolerat fall av mastit orsakat av *M. bovis* (Nicholas *et al.* 2016; Laven 2019).

2019 undersöktes prevalensen av *M. bovis* hos svenska mjölkgårdar genom serologisk analys på tankmjölksprover (Hurri *et al.* 2022). Totalt analyserades 3069 prover och av dessa var 147 prover positiva för antikroppar mot *M. bovis* (4,8 %). De flesta positiva fallen var lokaliserade i södra och sydöstra delarna av Sverige.

År 2013 infördes ett frivilligt kontrollprogram mot bakterien i Finland (Jonasson 2020). Programmet innefattar regelbunden provtagning, PCR-analys av mjölkprover från mastiter och regler för förflyttning av djur. Det rekommenderas att alla gårdar som handlar med djur till mjölk- eller dikobesättningar, deltar i utställningar eller har kvightotellverksamhet är anslutna till programmet. År 2020 fanns det 230 känt infekterade besättningar i landet och av dessa har 11 gått från att klassas som smittade till lågriskbesättningar genom sanering (Jonasson 2020).

Det första konstaterade fallet i Danmark var en kalv med pneumoni och tre år senare, år 1984, diagnostiserades *M. bovis* i ett fall med mastit (Tardy *et al.* 2020). Sedan dess anses prevalensen ha ökat men det finns få studier som kartlägger detta. År 2000 undersöktes förekomsten av *M. bovis* i lungvävnad från djur med pneumoni och man fann en prevalens på 24 % (Kusiluka *et al.* 2000). Författarna poängterar att det undersökta materialet var för litet för att kunna dra definitiva slutsatser om prevalensen i landet men att det fanns tecken på att den var ökande. *M. bovis* ansågs länge vara ett stort hot mot landets produktion och 2011 såg man en kraftigt ökande incidens och allvarlighetsgrad av infektionen (Tardy *et al.* 2020). År 2013 till 2014 analyserades mjölkprover från totalt 3700 danska mjölkgårdar med avseende på antikroppar mot *M. bovis* och man fann då att prevalensen varierade mellan 1,6 till 5,2 % (Arede *et al.* 2016).

Nya Zeeland hade sitt första konstaterade fall 2017 och är därmed det senaste landet med stor nötboskapsuppfödning som drabbats (Laven 2019). Introduktionen till Nya Zeeland är anmärkningsvärd då Nya Zeeland inte importerar några livdjur sedan 2013 och introduktionen i landet förmodas ha skett via importerad sperma (Laven 2019). Det är även det enda landet som har implementerat ett utrotningsprogram (Ministry for Primary Industries 2022). Programmet innebär regelbunden övervakning med serologi och PCR samt avlivning av alla djur i smittade besättningar.

2.8 VikingGenetics

VikingGenetics är ett kooperativt företag som ägs av mjölk- och köttproducenter i Sverige, Danmark och Finland som arbetar med avel av friska, effektiva och problemfria kor (VikingGenetics u.å.). VikingGenetics bildades 2008 genom en fusion av det svenska avelsföretaget Svensk Avel och danska Dansire och 2010 anslöt även det finska företaget Faba (Anders Edman, veterinär, VikingGenetics, e-

post 24-01-2023). Innan sammanslagningen 2008 hade företaget endast avelsverksamhet i Sverige där tjurar köptes in från svenska gårdar och togs in till produktionen i Skara via karantänsanläggningen i Falkenberg. Efter 2008 utvecklades verksamheten att innefatta import av tjurar från både Danmark och Finland till anläggningen i Skara.

Under 2016 startade företaget utbyte av tjurar mellan länderna, först genom handel med djur från Finland till Danmark och sedan även mellan Danmark och Sverige samt Finland och Sverige (Anders Edman, veterinär, VikingGenetics, e-post 24-01-2023). Under 2018 började Sverige importera tjurar och i samband med prevalensstudien av Hurri *et al.* (2022) blev företaget uppmärksammat på att förekomsten av *M. bovis* i Sverige troligen var högre än man tidigare trott. Det upptäcktes även att en gård som var listad som fri från smittan inom Växas program Säker Livdjurshandel egentligen var smittad. Inom detta program hade man provtagit djuren med endast PCR på tankmjölk och inför inköp av två tjurar från denna gård upptäcktes att dessa tjurar var seropositiva.

Även i Danmark såg man en ökande prevalens och hade fall av klinisk sjukdom på en tjurstation i landet (Anders Edman, veterinär, VikingGenetics, e-post 24-01-2023). Finland hade vid denna tidpunkt redan infört sitt kontrollprogram och hade därmed relativt god kunskap om landets prevalens.

I ljuset från studien av Hurri *et al.* (2022) beslutades att införa åtgärder på tjurstationen i Skara (Anders Edman, veterinär, VikingGenetics, e-post 24-01-2023). Dels för att förhindra att unga naiva djur smittades och drabbades av klinisk sjukdom som kunde störa produktionen, dels för att minska risken för spridning av bakterien via sperma. Det har sedan början av projektet inte funnits något verifierat kliniskt fall av *M. bovis* på tjurstationen i Skara.

3. Syfte

Syftet med detta arbete var att sammanställa data om smittspridning med *M. bovis* hos tjurar vid tjurstationen i Skara och karantänsanläggningen i Falkenberg samt utvärdera de smittskyddsåtgärder som började vidtas i december 2020. Frågeställningen var hur väl smittskyddsåtgärderna har fungerat och hur smittspridningen har sett ut.

4. Material och metod

4.1 Insamling av data

4.1.1 Provresultat inkluderad i studien

Resultaten från ELISA på serum som analyserats hos SVA mellan november 2018 och september 2022 som en del i anläggningens smittskyddsarbete samlades in och inkluderades i studien.

Initialt i åtgärderna för att kartlägga och motverka smittspridning av *M. bovis* på anläggningen togs prover från näshåla samt penis och preputium. Dessa analyserades med realtids-PCR vid SVA i Uppsala med metod enligt Sachse *et al.* (2010) och dessa resultat inkluderades i studien.

4.1.2 Analyserade prover

172 avgångsprover för individer som var seronegativa när provtagningen startade och rutinprover för inköpta känt smittade djur. Dessa prover analyserades med ID Screen ELISA avseende antikroppar mot *M. bovis* på laboratoriet vid Institutionen för kliniska vetenskaper på Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) i Uppsala.

4.1.3 Information om tjurar och anläggning

För respektive provtagen tjur insamlades information om ankomstdatum, vilket land tjuren senast befunnit sig i innan ankomst till anläggningen i Skara samt datum för samtliga provtagningar från Viking Genetics.

På karantänanläggningen i Falkenberg hölls endast djur inköpta från svenska gårdar medan tjurar från Finland och Danmark transporterades direkt till anläggningen i Skara. På karantänsanläggningen stod djuren i gruppboxar i minst 6 veckor och dessa grupper behölls även vid transport till anläggningen i Skara. Ankomstprover togs på den anläggning dit djuren anlände, för tjurar från Sverige var detta i Falkenberg och för danska och finska tjurar i Skara. Djur där det fanns förhandsinformation om misstänkt smittsam sjukdom (inklusive *M. bovis*) hanterades separat.

4.1.4 Smittskyddsåtgärder

Alla befintliga djur på anläggningen provtogs under januari och februari 2021, och i samband med denna provtagning infördes smittskyddsåtgärder. Dessa syftade på att undvika kontakt mellan serologiskt positiva och negativa djur. Noskontakt mellan djuren förhindrades genom att ha tomboxar mellan positiva och negativa djur. De positiva och negativa djuren spermasamlades vid olika tillfällen, men under samma dag. För de positiva djuren användes en positiv teasertjur och för de negativa en negativ teasertjur. I övrigt hanterades de smittade djuren som de övriga.

För de två inköpta djuren som kom från en positiv gård i Sverige togs innan ankomst till anläggningen tre serologiska prover samt PCR på svabb från nos och könsorgan. Tjurarna togs in till anläggningen först när båda hade negativa PCR-resultat.

4.2 Bearbetning av data

Tjurarna delades in i fyra kategorier baserat på det första tillgängliga provsvaret: seronegativa, seropositiva, konstaterat serokonverterade på anläggning i Danmark och känt smittade inköpta djur.

Seropositiva

De djuren som var seropositiva vid ankomst delades upp i grupper baserat på senast besökta land innan ankomst till Sverige.

Seronegativa

Av de djuren som var seronegativa vid första provtagningen plockades de individer ut som hade uppföljande provresultat. Dessa djur delades sedan upp i två grupper: de som var fortsatt seronegativa och de som hade serokonverterat.

Konstaterat serokonverterade i Danmark

De djur som placerades i denna grupp var djur som hade negativa antikroppsprover vid avresa från Sverige till Danmark och positiva antikroppsprover vid ankomst till Sverige efter vistelse vid anläggning i Danmark.

Känt smittade inköpta djur

Denna grupp innehöll två tjurar som vid provtagning på ursprungsgård testat positivt för antikroppar innan de köptes in till VikingGenetics anläggning i Skara.

5. Resultat

Totalt inkluderades 223 tjurar i studien. Tjurar som hade ofullständiga uppgifter om ankomstdatum, ursprungsland eller provtagningsdatum (3st) samt provsvar som inte kunde kopplas till en individ (3st) inkluderades inte i studien. Provtagningsperioden avser 2018-10-11 till 2022-09-05.

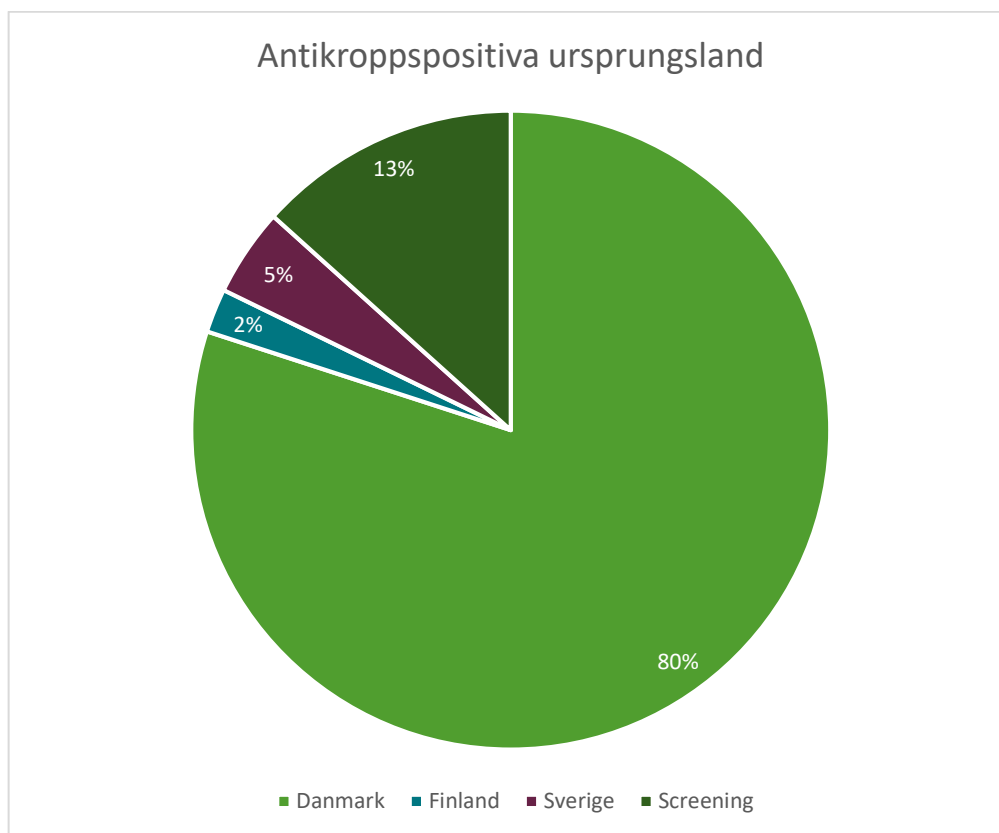
5.1 Seropositiva

Under provtagningsperioden på anläggningen i Skara hade totalt 53 tjurar antikroppar mot *M. bovis*. Från december 2020 provtogs alla inkommande tjurar till VikingGenetics i Skara med ELISA på serum och under januari och februari 2021 testades alla otestade djur som redan stod på anläggningen (screening). 39 tjurar var antikroppspositiva vid ankomst till anläggningen, sex vid screening av tjurarna på anläggningen, två var känt antikroppspositiva vid inköp och sex var känt serokonverterade efter vistelse på anläggningar i Danmark (Tabell 1).

Av de djur som var positiva vid ankomst var 36 importerade från Danmark, en från Finland och två kom från svenska besättningar (Figur 1). Tjuren som var importerad från Finland kom från en gård med känd *M. bovis*-smitta och separerades redan vid ankomst från övriga djur. De danska och finska tjurarna testade positivt på anläggningen i Skara och de två svenska tjurarna testade positivt på karantänsanläggningen i Falkenberg.

Tabell 1. Seropositiva djur indelade med avseende på anledning till provtagning, ursprungsland, datum för ankomst för seropositiva djur samt datum för screening. Totalt antal importerade djur från respektive land inom parentes.

Provtagning	Ursprung	Ankomstdatum	Positivt prov	Antal	Totalt antal
Ankomst	FI	2021-12-14		1 (76)	
	DK	2021-01-11 till 2021-10-05		36 (42)	
	SE	2022-04-19		2 (91)	
					39
Screening	FI	2019-04-09	2021-02-22	1	
	DK	2018-12-18	2021-02-22	2	
	SE	2019-04-18 till 2020-12-15	2021-02-22/23	3	
					6
Konverterat i Danmark			2021-01-13		6
Inköpta		2020-10-16			2
					53



Figur 1. Fördelningen av antikroppspositiva resultat baserat på ursprungsland.

5.2 Inköpta smittade djur

De två smittade tjurarna som köptes in till anläggningen i Skara var innan ankomst antikroppspositiva vid tre separata provtagningsstillfällen (2020-03, 2020-05-27/28, 2020-07-21) (Tabell 2) och vid ett tillfälle även positiva på PCR från nossvabb (2020-05-27 respektive 2020-03). Vid ankomst (2020-10-16) samt vid rutinprovtagning två månader efter ankomst till anläggningen (2020-12-08) var båda fortsatt antikroppspositiva. Tjurarna flyttades till Danmark 2021-04-12 respektive 2021-01-12 och var vid avresa fortsatt antikroppspositiva. Under sin tid på anläggningen var de negativa för PCR på sperma, nässvabb och svabb från genitalia.

Tabell 2. Känt smittade inköpta djur, ankomstdatum, datum för provtagning, analysmetod och resultat.

Djur-ID	Ankomst till anläggningen	Provtagningsdatum	Analys	Resultat
Tjur 1	2020-10-16	2020-03	ELISA	Positiv
		2020-05-28	ELISA	Positiv
		2020-07-21	ELISA	Positiv
		2020-10-16	ELISA	Positiv
		2020-12-08	ELISA	Positiv
		2021-04-12	ELISA	Positiv
Tjur 2	2020-10-14	2020-03	ELISA	Positiv
		2020-05-27	ELISA	Positiv
		2020-07-21	ELISA	Positiv
		2020-10-16	ELISA	Positiv
		2020-12-08	ELISA	Positiv
		2021-01-12	ELISA	Positiv

5.3 Serokonverterat i Danmark

Sex tjurar flyttade från Skara till Danmark mellan november 2018-augusti 2019 samt i mars 2020 och de var alla seronegativa då de lämnade Sverige. Samtliga tjurar flyttade tillbaka till Sverige under januari 2021 (2021-01-13) och var vid provtagning vid ankomst positiva för antikroppar. Vid ankomst till Skara provtogs alla tjurarna även med svabb från nashålan som analyserades med PCR, där två hade positiva resultat (2021-01-25) (Tabell 3).

Tabell 3. Tjurar som serokonverterat i Danmark med ankomstdatum, senast besökt land innan provtagning, provtagningsdatum, orsak till provtagning, analys samt resultat.

Djur	Ankomst	Besökt land	Provtagningsdatum	Provtagningsorsak	Analys	Resultat
Tjur 3	2018-08-21	SE	2018-10-11	Flytt till DK	ELISA	Negativ
	2021-01-13	DK	2021-01-13	Ankomst från DK	ELISA	POSITIV
Tjur 4	2019-07-12	SE	2019-05-28	Flytt till DK	ELISA	Negativ
	2021-01-11	DK	2021-01-13	Ankomst från DK	ELISA	POSITIV
Tjur 5	2019-02-20	SE	2019-04-11	Flytt till DK	ELISA	Negativ
	2021-01-11	DK	2021-01-13	Ankomst från DK	ELISA	POSITIV
Tjur 6	2018-06-19	SE	2018-10-11	Flytt till DK	ELISA	Negativ
	2021-01-13	DK	2021-01-13	Ankomst från DK	ELISA	POSITIV
Tjur 7	2018-08-21	SE	2019-08-20	Flytt till DK	ELISA	Negativ
	2021-01-13	DK	2021-01-13	Ankomst från DK	ELISA	POSITIV
Tjur 8	2019-06-11	FI	2020-03-10	Flytt till DK	ELISA	Negativ
	2021-01-12	DK	2021-01-13	Ankomst från DK	ELISA	POSITIV

5.4 Seronegativa

Totalt var 170 tjurar seronegativa vid första provtagningen under provtagningsperioden. Andel från respektive ursprungsland visas i Tabell 4.

Tabell 4. Seronegativa djur samt ursprungsland.

Provtagning	Ursprung	Antal	Totalantal
Ankomst	FI	75	
	DK	6	
	SE	89	
			170

För de 170 djur som var antikroppsnegativa avseende *M. bovis* vid ankomst eller screening fanns det 158 uppföljande provsvar. Av dessa var 153 fortsatt negativa och fem var antikroppspositiva. De fem tjurar som var seropositiva på uppföljande prov hade serokonverterat under sin tid på anläggningen. Dessa djur hade tillbringat mellan sju månader och 11 år på anläggningen innan de hade ett positivt ELISA-resultat på serum (Tabell 5).

Tabell 5. Serokonverterade djur med datum för ankomst till anläggningen samt datum för antikroppspositiv på ELISA på serum.

Djurindivid	Ursprungsland	Ankomstdatum	Antikroppsnegativ	Antikroppspositiv
Tjur 9	SE	2010-07-14	2021-02-02	2021-04-21
Tjur 10	FI	2021-06-15	2021-06-17	2022-02-14
Tjur 11	DK	2021-10-05	2021-10-17	2022-06-20
Tjur 12	DK	2021-10-05	2021-10-17	2022-08-25
Tjur 13	DK	2021-10-05	2021-10-08	2022-05-23

5.5 PCR

Under tidsperioden fanns totalt 14 positiva PCR-prover, två från penis/preputium och 12 från näshåla (Tabell 6).

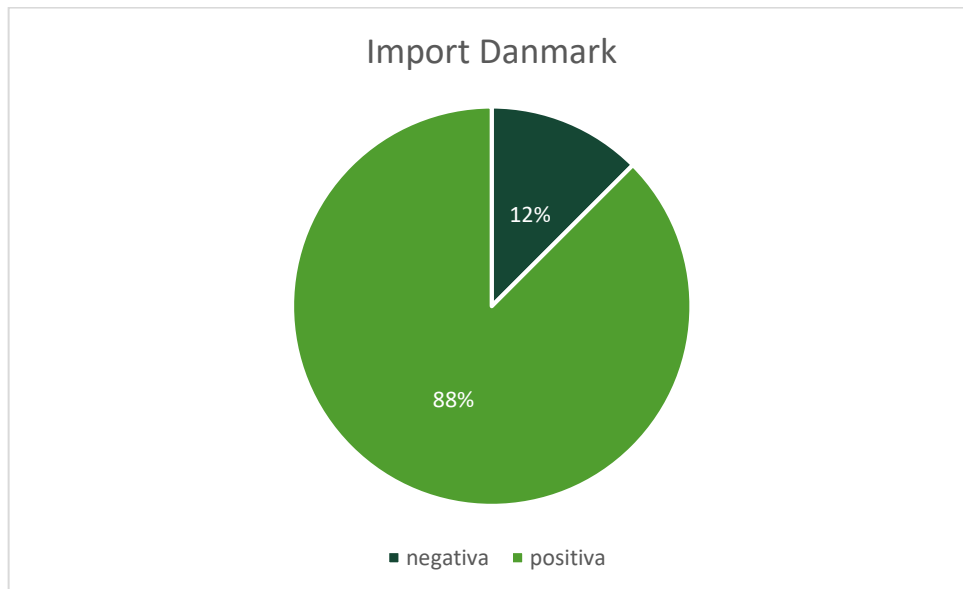
Tabell 6. Djur positiva på realtids-PCR, ankomstdatum, provtagningsdatum, typ av prov, resultat samt datum för första positiva ELISA-resultat på serum för respektive individ.

Djur-ID	Ursprung	Ankomst	Provtagning	Typ av prov	Analys	Resultat	Antikroppspositiv
Tjur 14	DK	2021-01-11	2021-01-25	Penis/preputium	rPCR	Positiv	2021-01-13
Tjur 5	DK	2021-01-11	2021-01-25	Näshåla	rPCR	Positiv	2021-01-13
Tjur 8	DK	2021-01-12	2021-01-25	Näshåla	rPCR	Positiv	2021-01-13
Tjur 15	DK	2021-01-11	2021-01-25	Penis/preputium	rPCR	Positiv	2021-01-13
Tjur 16	DK	2018-12-18	2021-03-15	Näshåla	rPCR	Positiv	2021-02-22
Tjur 17	DK	2018-12-18	2021-03-15	Näshåla	rPCR	Positiv	2021-02-22
Tjur 18	SE	2019-08-29	2021-03-15	Näshåla	rPCR	Positiv	2021-02-22
Tjur 19	DK	2021-04-12	2021-04-26	Näshåla	rPCR	Positiv	2021-04-15
Tjur 20	DK	2021-04-12	2021-04-26	Näshåla	rPCR	Positiv	2021-04-15
Tjur 21	DK	2021-04-15	2021-04-26	Näshåla	rPCR	Positiv	2021-04-15
Tjur 22	DK	2021-04-12	2021-04-26	Näshåla	rPCR	Positiv	2021-04-15
Tjur 23	DK	2021-04-12	2021-04-26	Näshåla	rPCR	Positiv	2021-04-15
Tjur 24	DK	2021-04-14	2021-04-26	Näshåla	rPCR	Positiv	2021-04-19

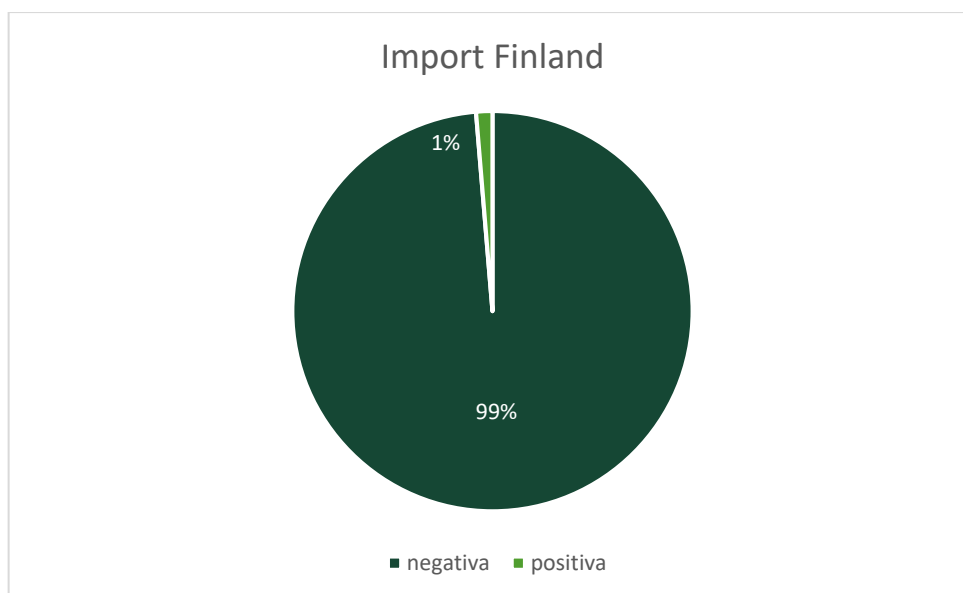
5.6 Ursprungsland

Totalt av ankomstproverna (ej inkluderat djur provtagna vid screening) var 170 negativa (78 %) och 47 positiva (22 %). De positiva proverna var från inköpta känt smittade djur, djur som serokonverterat i Danmark samt importerade och inköpta

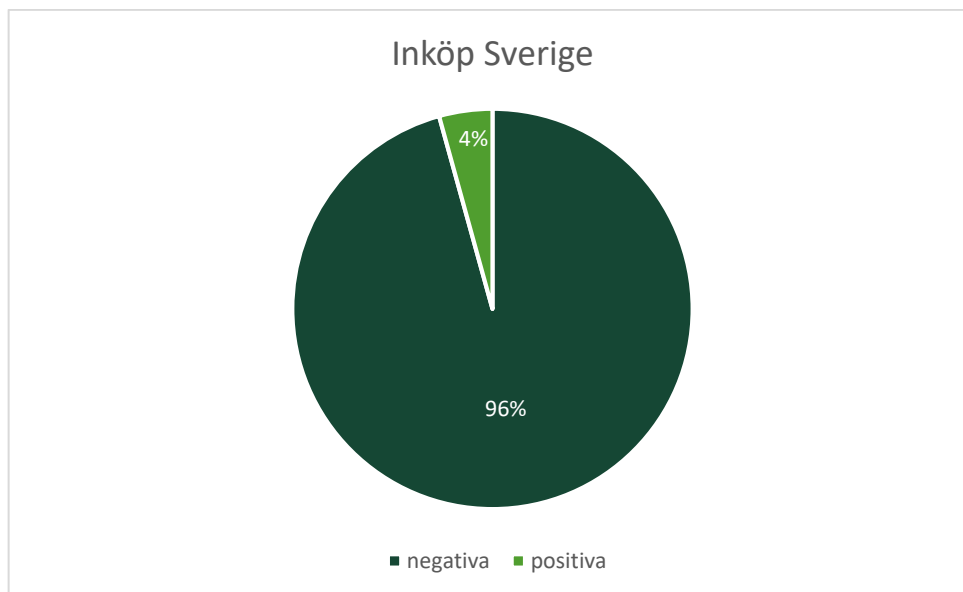
djur. Andelen serologiskt positiva och negativa för de importerade djuren från Danmark presenteras i Figur 2, från Finland i Figur 3 och i Figur 4 för tjurarna inköpta från Svenska gårdar.



Figur 2. Fördelning av serologiskt positiva ($n=42$) och serologiskt negativa ($n=6$) tjurar importerade från Danmark.



Figur 3. Fördelning av serologiskt positiva ($n=1$) och serologiskt negativa ($n=75$) tjurar importerade från Finland.



Figur 4. Fördelning av serologiskt positiva (n=4) och serologiskt negativa (n=89) tjurar inköpta från Sverige.

6. Diskussion

6.1 Jämförande mellan länder

Att en så stor andel som 80% av alla inköpta antikroppspositiva djur kom från Danmark samt att totalt 88% av danska importerade djur var antikroppspositiva indikerar att smittspridningen är större vid den danska anläggningen jämfört med Finland och Sverige. Andelen av de antikroppspositiva inköpta djuren som kom från Finland var 2,1 % och totalt var 1 % av alla finska importerade djur antikroppspositiva. Andelen av de antikroppspositiva inköpta djuren som kom från svenska gårdar var 8,5 % och totalt var 4 % av alla inköpta svenska djur antikroppspositiva. Då det finns få publicerade prevalensstudier i Danmark (Tardy *et al.* 2020) är det svårt att korrelera prevalensen för smittan på anläggningen till resterande delar av landet, men den kan baserat på dessa resultat antas vara högre än i både Sverige och Finland, vilket antyts i litteraturen (Tardy *et al.* 2020). Den låga prevalensen av smittade importerade djur från Finland kan vara ett resultat av det finska kontrollprogrammet och att prevalensen i landet är låg. Kontrollprogrammet möjliggör också en bättre kartläggning av de smittade besättningarna och vid export är det möjligt att handla med friska djur.

6.2 Introduktion av *M. bovis* till anläggningen i Skara

De första positiva antikroppsproverna togs i oktober 2020 (2020-10-16) och kom från de två tjurar som var känt smittade när de köptes in till anläggningen. Det går dock inte att fastställa att dessa djur är de första som introducerat smittan på anläggningen då flera djur importerats och köpts in innan provtagning gällande *M. bovis* startade. Provtagning av inköpta djur började under december 2020, provtagning av djur som redan befann sig på anläggningen skedde under januari och februari 2021 och de första djuren från Danmark importerades redan 2018 och från Finland 2019. De två antikroppspositiva svenska tjurarna var vid ankomst negativa på PCR-prov från näshålan och utan kliniska symtom, vilket talar emot att de vid ankomst hade en pågående infektion med aktiv utsöndring av bakterien och

därmed bör de haft mindre risk för att smitta andra individer. Antikroppar har i litteraturen beskrivits påvisbara i 10–14 dagar efter infektionen och kan kvarstå i flera månader till år efter genomgången sjukdom (Calcutt *et al.* 2018; Dudek *et al.* 2020). Dessa djur hade därmed genomgått infektionen innan ankomst till anläggningen. Emellertid har bakterien i litteraturen beskrivits kunna utsöndras intermittent vilket kan ha gett falskt negativa PCR-svar och bakterien kan urskiljas under lång tid efter genomgången infektion (Nicholas & Ayling 2003). Det går därmed inte att utesluta möjligheten att dessa djur bidrog till smittspridningen på anläggningen.

De sex tjurar som var seronegativa när de lämnade Sverige och antikroppspositiva när de återvände från Danmark har med största sannolikhet smittats i Danmark, vilket innebär att det under november 2018 till januari 2021 fanns aktiv cirkulation av bakterien på tjurstationen i Danmark. Två av djuren hade även pågående infektion med aktiv utsöndring av bakterien från näshålan vid ankomst till Sverige, vilket konstaterades baserat på positiva PCR-prov. Ytterligare nio av de positiva PCR-proverna var från djur importerade från Danmark och samtliga av dessa var positiva i anslutning till deras ankomst till Sverige. Detta innebär att det av totalt 42 importerade djur från Danmark fanns 11 (26 %) med aktiv bakterieutsöndring. Samtliga djur var utan kliniska symtom och därmed subkliniskt infekterade, vilket i litteraturen beskrivs som den största risken för introduktion av smitta i en ny besättning (Gonzalez *et al.* 1992 se Haapala *et al.* 2018; Aebi *et al.* 2015). Utifrån dessa resultat, samt information som anläggningen i Skara fått från anläggningen i Danmark om att de misstänktes ha en större smittspridning där (Anders Edman, veterinär, VikingGenetics, e-post 24-01-2023), är det rimligt att det bland tjurarna som importerades från Danmark innan provtagningen började fanns individer som hade aktiv urskiljning av bakterien och sannolikt introducerade smittan till anläggningen i Sverige.

6.3 Aktiv spridning av *M. bovis* på anläggningen i Skara

De PCR-prover som var positiva visar på att det fanns aktiv utsöndring av bakterien i besättningen på anläggningen under januari, mars och april 2021. Det går utifrån denna studie inte att utesluta cirkulation av bakterien under andra tidsperioder då provtagning med PCR ej gjordes regelbundet under den angivna tidsperioden på grund av ekonomiska skäl. Det finns som tidigare nämnt beskrivet i litteraturen att bakterien kan utsöndras intermittent (Maunsell *et al.* 2011) och det finns därmed risk för falskt negativa resultat på PCR. Den verkliga perioden med cirkulation av bakterien inom besättningen kan därmed vara längre än vad resultaten inkluderade i denna studie visar. Av de positiva PCR-proverna var 11 från näshålan och 2 från

penis/preputium vilket visar på att den vanligast förekommande smittvägen var via de övre luftvägarna. Detta har stöd i publicerad litteratur som beskriver att bakterien ofta koloniserar de övre luftvägarna (Grissett *et al.* 2015, Perez-Casal 2020, Maunsell *et al.* 2011). Flera av djuren som testade positivt på PCR var antikroppspositiva redan minst ett par veckor tidigare, då antikroppar testades först. Detta skulle kunna tyda på en långvarig urskiljning av bakterien (Nicholas & Ayling 2003), att djuren återinfekterats eller var kroniskt infekterade (Perez-Casal 2020, Quinn *et al.* 2011). Det finns även beskrivet att bakterien kan kolonisera de övre luftvägarna hos kliniskt friska djur (Grissett *et al.* 2015; Vähänikkilä *et al.* 2019).

6.4 Avsaknad av kliniska fall

Trots antikroppspositiva djur och djur med aktiv utsöndring av bakterien förekom inga rapporterade fall av klinisk sjukdom orsakad av *M. bovis* på anläggningen under tiden för studien. Målet för de åtgärder som vidtogs var att skydda tjurarna från klinisk sjukdom och kan i det avseendet ha varit effektiva. Att ingen av djuren fick sjukdomssymtom av *M. bovis* kan bero på bakterien koloniserat i de övre luftvägarna utan att orsaka sjukdom (Grissett *et al.* 2015), vilket fungerat som reservoar för bakterien. Detta finns i litteraturen beskrivet hos kalvar (Aebi *et al.* 2015; Vähänikkilä *et al.* 2019; Petersen *et al.* 2020). En annan hypotes som förklarar avsaknaden av klinisk sjukdom är att djuren hade ett starkt immunförsvar och ingen annan samtidig infektion som predisponerade för mer allvarlig infektion. Denna hypotes stöds av litteraturen som beskriver att klinisk sjukdom utlöses av stress (Maunsell *et al.* 2011; Calcutt *et al.* 2018) och att *M. bovis* är en sekundärpatogen (Aebi *et al.* 2015) som främst är sjukdomsframkallande i saminfektion med andra patogener (Grissett *et al.* 2015).

6.5 Smittade djur på anläggningen i Skara

Av de seronegativa djuren på anläggningen serokonverterade 3,1 % under aktuell tidsperiod, vilket motsvarar 8,6 % av alla positiva djur under studietiden. Denna relativt låga prevalens tyder på att det inte förekom omfattande smittspridning på anläggningen. De djur som serokonverterade på anläggningen i Skara gjorde det mellan 2021–2022. En tjur konverterade mellan februari 2021 och april 2022, en mellan juni 2021 och februari 2022 och tre mellan oktober 2021 och maj till augusti 2022. Alla utom en av dessa tjurar ankom till anläggningen efter att PCR-prover visade på säker cirkulation av bakterien. Förutom hypotesen beskriven ovan om att den faktiska tiden med aktiv cirkulation av bakterien är längre än vad provsvaren

visar på är det möjligt att tjurarna kan ha smittats indirekt via miljön (Justice-Allen 2010, Piccinini *et al.* 2015).

6.6 Smittskyddsåtgärder

Då det saknas en kontrollgrupp är det svårt att utvärdera hur stor effekt de vidtagna åtgärderna har haft. Med den relativt låga frekvensen av djur som serokonverterat på anläggningen sedan åtgärderna infördes verkar det troligt att åtgärderna haft effekt, men det är svårt att utesluta att det beror på slumpen. Av de 5 djur som serokonverterade gjorde 4 det med säkerhet under senare delen av 2021 och tidiga delen av 2022. Att majoriteten av djuren blev smittade under denna tidsperiod kan möjligen bero på att det under denna tid var ett högre smittryck (Jasper *et al.* 1974), att ytterligare luftvägspatogener cirkulerade på anläggningen och predisponerade för infektion med *M. bovis* (Grissett *et al.* 2015), att andra immunnedsättande faktorer som till exempel stress eller omfattande flytt av djur (Aebi *et al.* 2015) var mer förekommande, eller att det förekom brister i smittskyddsåtgärderna under denna tidsperiod. Även om antalet som serokonverterade på anläggningen var lågt visar resultaten på att åtgärderna inte var tillräckliga för att helt hindra smittspridning på anläggningen.

Att hindra direktkontakt mellan djuren, vilket ingick i anläggningens smittskyddsåtgärder, stöds av de resultat som sågs i studien av Haapala *et al.* (2021). Det relativt låga antalet serokonverterade djur i samband med det relativt stora antalet smittade importerade djur kan ha åstadkommit tack vare denna åtgärd. På tjurstationen finns inga unga kalvar eller mjölkande djur vilket gör att många av åtgärderna som föreslås av Haapala *et al.* (2021) inte är applicerbara och isolering och förhindrande av direktkontakt mellan infekterade djur är de mest betydande åtgärderna för att hindra smittspridning.

Det går inte att helt utesluta att det förekommit smittspridning på karantänsanläggningen då det var cirka en veckas fördröjning från ankomst till analysvar och insatta smittskyddsåtgärder. De djur som testade positiva i Falkenberg kan ha smittat seronegativa djur från ankomst till provsvar. Resultaten från denna studie tyder dock på att smittspridning inte har förekommit på karantänsanläggningen. Av de djur som serokonverterat under studerad tid var tre från Danmark, en från Finland och en från Sverige. De importerade djuren transporterades direkt till anläggningen i Skara och har därmed inte spenderat någon tid på karantänsanläggningen. Den svenska tjuren köptes in och hölls i karantän i 6 veckor med start 2010-07-14, vilket var innan det första positiva provsvaret som kom från svenska tjurar år 2020.

6.7 Slutsats

Det är tydligt att smittspridning förekommit på anläggningen och att en stor andel av de smittade djuren har plockat upp smittan i Danmark. Att snabbt identifiera smittade individer och isolera dem från friska djur och på så sätt undvika direktkontakt kan ha bidragit till minskad spridning inom anläggningen. Det krävs dock fler studier med kontrollgrupp för att kunna fastställa de olika åtgärdernas effekt. Att så få djur importerade från Finland varit positiva kan vara ett resultat av det frivilliga kontrollprogrammet och att man med bättre information om smittläget kunnat välja att endast köpa in smittfria djur och på så sätt minska smittspridningen. Fallet med de djur som köptes in från en svensk gård där djuren var serologiskt positiva men där besättningen var klassad som fri i ett kontrollprogram där endast analys med PCR på tankmjölk genomfördes, visar på risken för falskt negativa resultat och vikten av att komplettera med serologi och individprover. Anläggningen klarade sig utan kliniska fall vilket var det främsta målet med smittskyddsåtgärderna men de var inte tillräckliga för att helt stoppa smittspridningen, alternativt tillämpades inte åtgärderna vid alla tillfällen. Litteraturen är oense och oviss i många aspekter kring *M. bovis* patogenes och epidemiologi och detta resultat belyser vikten av ytterligare forskning för att utforma effektiva åtgärder och motverka smittspridningen.

Referenser

- Aebi, M., van den Borne, B.H., Raemy, A., Steiner, A., Pilo, P. & Bodmer, M. (2015). Mycoplasma bovis infections in Swiss dairy cattle: a clinical investigation. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57 (1), 10. <https://doi.org/10.1186/s13028-015-0099-x>
- Andersson, A.-M., Aspán, A., Wisselink, H.J., Smid, B., Ridley, A., Pelkonen, S., Autio, T., Lauritsen, K.T., Kensø, J., Gaurivaud, P. & Tardy, F. (2019). A European inter-laboratory trial to evaluate the performance of three serological methods for diagnosis of Mycoplasma bovis infection in cattle using latent class analysis. *BMC Veterinary Research*, 15 (1), 369. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2117-0>
- Arede, M., Nielsen, P.K., Ahmed, S.S.U., Halasa, T., Nielsen, L.R. & Toft, N. (2016). A space-time analysis of Mycoplasma bovis: bulk tank milk antibody screening results from all Danish dairy herds in 2013-2014. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 58, 16. <https://doi.org/10.1186/s13028-016-0198-3>
- Askar, H., Chen, S., Hao, H., Yan, X., Ma, L., Liu, Y. & Chu, Y. (2021). Immune Evasion of Mycoplasma bovis. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10 (3), 297. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030297>
- Beier, T., Hotzel, H., Lysnyansky, I., Grajetzki, C., Heller, M., Rabeling, B., Yogev, D. & Sachse, K. (1998). Intraspecies polymorphism of vsp genes and expression profiles of variable surface protein antigens (Vsps) in field isolates of Mycoplasma bovis. *Veterinary Microbiology*, 63 (2), 189–203. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(98\)00238-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(98)00238-7)
- Calcutt, M.J., Lysnyansky, I., Sachse, K., Fox, L.K., Nicholas, R. a. J. & Ayling, R.D. (2018). Gap analysis of Mycoplasma bovis disease, diagnosis and control: An aid to identify future development requirements. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65 (S1), 91–109. <https://doi.org/10.1111/tbed.12860>
- Dudek, K., Nicholas, R.A.J., Szacawa, E. & Bednarek, D. (2020). Mycoplasma bovis infections - occurrence, diagnosis and control. *Pathogens*, 9 (8), 640. <https://doi.org/10.3390/pathogens9080640>
- Dudek, K., Szacawa, E. & Nicholas, R.A.J. (2021). Recent developments in vaccines for bovine mycoplasmoses caused by Mycoplasma bovis and Mycoplasma mycoides subsp. mycoides. *Vaccines*, 9 (6), 549. <https://doi.org/10.3390/vaccines9060549>
- Dyer, N., Hansen-Lardy, L., Krogh, D., Schaan, L. & Schamber, E. (2008). An Outbreak of chronic pneumonia and polyarthritis syndrome caused by Mycoplasma bovis in

- feedlot Bison (*Bison bison*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20 (3), 369–371. <https://doi.org/10.1177/104063870802000321>
- Ericsson Unnerstad, H., Fungrbrant, K., Persson Waller, K. & Persson, Y. (2012). *Mycoplasma bovis* hos kor och kalvar i Sverige. *Svensk veterinärtidning*, (13)
- Grissett, G. p., White, B. j. & Larson, R. I. (2015). Structured literature review of responses of cattle to viral and bacterial pathogens causing bovine respiratory disease complex. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29 (3), 770–780. <https://doi.org/10.1111/jvim.12597>
- Haapala, V., Pohjanvirta, T., Vähänikkilä, N., Halkilahti, J., Simonen, H., Pelkonen, S., Soveri, T., Simojoki, H. & Autio, T. (2018). Semen as a source of *Mycoplasma bovis* mastitis in dairy herds. *Veterinary Microbiology*, 216, 60–66. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.02.005>
- Haapala, V., Vähänikkilä, N., Kulkas, L., Tuunainen, E., Pohjanvirta, T., Autio, T., Pelkonen, S., Soveri, T. & Simojoki, H. (2021). *Mycoplasma bovis* infection in dairy herds—Risk factors and effect of control measures. *Journal of Dairy Science*, 104 (2), 2254–2265. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18814>
- Hurri, E., Ohlson, A., Lundberg, Å., Aspán, A., Pedersen, K. & Tråvén, M. (2022). Herd-level prevalence of *Mycoplasma bovis* in Swedish dairy herds determined by antibody ELISA and PCR on bulk tank milk and herd characteristics associated with seropositivity. *Journal of Dairy Science*, 105 (9), 7764–7772. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21390>
- Jasper, D.E., Al-Aubaidi, J.M. & Fabricant, J. (1974). Epidemiologic observations on mycoplasma mastitis. *The Cornell Veterinarian*, 64 (3), 407–415
- Jonasson, A. (2020). *Mykoplasma bovis kontroll i Finland*. Gård & Djurhälsan. <https://www.gardochdjurhalsan.se/nyheter/mykoplasma-bovis-kontroll-finland/> [2022-11-28]
- Justice-Allen, A., Trujillo, J., Corbett, R., Harding, R., Goodell, G. & Wilson, D. (2010). Survival and replication of *Mycoplasma* species in recycled bedding sand and association with mastitis on dairy farms in Utah. *Journal of Dairy Science*, 93 (1), 192–202. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2474>
- Klein, U., de Jong, A., Youala, M., El Garch, F., Stevenin, C., Moyaert, H., Rose, M., Catania, S., Gyuranecz, M., Pridmore, A. & Ayling, R.D. (2019). New antimicrobial susceptibility data from monitoring of *Mycoplasma bovis* isolated in Europe. *Veterinary Microbiology*, 238, 108432. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.108432>
- Kusiluka, L.J., Ojeniyi, B. & Friis, N.F. (2000). Increasing prevalence of *Mycoplasma bovis* in Danish cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 41 (2), 139–146. <https://doi.org/10.1186/BF03549645>
- Laven, R. (2019). *Mycoplasma bovis* in New Zealand: where have we been and where are we going? *Livestock*, 24 (6), 266–272. <https://doi.org/10.12968/live.2019.24.6.266>

- Lysnyansky, I. & Ayling, R.D. (2016). Mycoplasma bovis: Mechanisms of resistance and trends in antimicrobial susceptibility. *Frontiers in Microbiology*, 7 (APR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00595>
- Madoff, S., Pixley, B.Q., DelGiudice, R.A. & Moellering, R.C. (1979). Isolation of Mycoplasma bovis from a patient with systemic illness. *Journal of clinical microbiology*, 9 (6), 709–711. <https://doi.org/10.1128/jcm.9.6.709-711.1979>
- Maunsell, F. p., Woolums, A. r., Francoz, D., Rosenbusch, R. f., Step, D. l., Wilson, D. j. & Janzen, E. d. (2011). Mycoplasma bovis infections in cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25 (4), 772–783. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.0750.x>
- Merwe, J. van der, Prysliak, T. & Perez-Casal, J. (2010). Invasion of bovine peripheral blood mononuclear cells and erythrocytes by Mycoplasma bovis. *Infection and Immunity*. <https://doi.org/10.1128/IAI.00707-10>
- Ministry for Primary Industries (2022). *How eradication works on infected farms*. MPI - Ministry for Primary Industries. A New Zealand Government Department. <https://www.mpi.govt.nz/biosecurity/mycoplasma-bovis/advice-for-farmers-under-controls/how/> [2022-10-18]
- Nicholas, R.A.J. & Ayling, R.D. (2003). Mycoplasma bovis: disease, diagnosis, and control. *Research in Veterinary Science*, 74 (2), 105–112. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(02\)00155-8](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(02)00155-8)
- Nicholas, R.A.J., Fox, L.K. & Lysnyansky, I. (2016). Mycoplasma mastitis in cattle: To cull or not to cull. *The Veterinary Journal*, 216, 142–147. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2016.08.001>
- Perez-Casal, J. (2020). Pathogenesis and virulence of Mycoplasma bovis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 36 (2), 269–278. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.02.002>
- Perez-Casal, J., Prysliak, T., Maina, T., Suleman, M. & Jimbo, S. (2017). Status of the development of a vaccine against Mycoplasma bovis. *Vaccine*, 35 (22), 2902–2907. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.03.095>
- Petersen, M.B., Pedersen, L., Pedersen, L.M. & Nielsen, L.R. (2020). Field experience of antibody testing against Mycoplasma bovis in adult cows in commercial Danish dairy cattle herds. *Pathogens*, 9 (8), 637. <https://doi.org/10.3390/pathogens9080637>
- Pfutzner, H. & Sachse, K. (1996). Mycoplasma bovis as an agent of mastitis, pneumonia, arthritis and genital disorders in cattle: -EN- -FR- -ES-. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*, 15 (4), 1477–1494. <https://doi.org/10.20506/rst.15.4.987>
- Piccinini, R., Gosney, F., Snel, G.G.M., Luini, M.V. & Nicholas, R.A.J. (2015). Environmental survival of Mycoplasma bovis on a white veal farm. *Veterinary Record Case Reports*, 3 (1), e000207. <https://doi.org/10.1136/vetreccr-2015-000207>
- Quinn, P.J., Markey, B.K. & Leonard, F.C. (u.å.). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Second edition, West Sussex: Wiley-Blackwell.

- Sachse, K., Salam, H.S.H., Diller, R., Schubert, E., Hoffmann, B. & Hotzel, H. (2010). Use of a novel real-time PCR technique to monitor and quantitate *Mycoplasma bovis* infection in cattle herds with mastitis and respiratory disease. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 186 (3), 299–303. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.10.008>
- Soehnlen, M.K., Aydin, A., Murthy, K.S., Lengerich, E.J., Hattel, A.L., Houser, B.A., Fenton, G.D., Lyszczek, H.R., Burns, C.M., Townsend, A.M., Brooks, J.W., Wolfgang, D.R. & Jayarao, B.M. (2012). Epidemiology of *Mycoplasma bovis* in Pennsylvania veal calves. *Journal of Dairy Science*, 95 (1), 247–254. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4309>
- Tardy, F., Aspan, A., Autio, T., Ridley, A., Tricot, A., Colin, A., Pohjanvirta, T., Smid, B., Harders, F., Lindegaard, M., Tølbøll Lauritsen, K., Lyhs, U., Wisselink, H.J. & Strube, M.L. (2020). *Mycoplasma bovis* in Nordic European countries: Emergence and dominance of a new clone. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9 (11), E875. <https://doi.org/10.3390/pathogens9110875>
- VetBact (u.å.). <https://www.vetbact.org/?artid=34> [2022-09-23]
- VikingGenetics (u.å.). <https://www.vikinggenetics.se/om-oss> [2022-10-31]
- Vähänikkilä, N., Pohjanvirta, T., Haapala, V., Simojoki, H., Soveri, T., Browning, G.F., Pelkonen, S., Wawegama, N.K. & Autio, T. (2019). Characterisation of the course of *Mycoplasma bovis* infection in naturally infected dairy herds. *Veterinary Microbiology*, 231, 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.03.007>
- Wisselink, H.J., Smid, B., Plater, J., Ridley, A., Andersson, A.-M., Aspán, A., Pohjanvirta, T., Vähänikkilä, N., Larsen, H., Høgberg, J., Colin, A. & Tardy, F. (2019). A European interlaboratory trial to evaluate the performance of different PCR methods for *Mycoplasma bovis* diagnosis. *BMC Veterinary Research*, 15 (1), 86. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1819-7>

Populärvetenskaplig sammanfattning

Mycoplasma bovis är en svårbehandlad och smittsam bakterie som orsakar sjukdom hos nötkreatur. Bakterien kan smitta djur i alla åldrar och produktionsformer, men klassiskt orsakar den lunginflammation och ledinflammation hos kalvar. Hos mjölkande kor kan den ge upphov till mastit, vilket är en inflammation av juvret som ger nedsatt mjölkproduktion och försämrad mjölkkvalitet. *M. bovis* orsakar stora ekonomiska förluster och stort djurlidande och är idag spridd över stora delar av världen.

Bakterien är svår att diagnostisera och behandla då den saknar cellvägg, vilket gör att den är naturligt resistent mot flera antibiotikatyper. Exakt hur bakterien smittar är inte helt känt men den tros kunna spridas direkt från djur till djur, genom kontaminerad miljö och genom luften. Det har skett mycket forskning för att få fram ett vaccin men inget har visat sig effektivt.

Eftersom bakterien är svår att behandla och det saknas vaccin är förebyggande arbete nyckeln för att hantera sjukdomen. De viktigaste åtgärderna är att inte köpa in smittade djur till besättningar och att snabbt identifiera och isolera sjuka djur.

VikingGenetics är ett företag som arbetar med avel inom mjölkboskap och har tjurar för samling av sperma som används för artificiell insemination. På VikingGenetics tjurstation i Skara blev man under 2020 uppmärksam på att det importerats djur som var smittade med *M. bovis*. Det beslutades då att införa smittskyddsåtgärder för att hindra smittspridningen på anläggningen.

Syftet med arbetet var att kartlägga hur smittspridningen hade sett ut på tjurstationen i Skara och karantänsanläggningen i Falkenberg samt utvärdera effekten av de vidtagna smittskyddsåtgärderna under 2018–2022. Arbetet genomfördes genom analys av blodprover för att påvisa antikroppar och prover från näshålan och genitalier för att påvisa bakterien.

Resultaten från blodproverna visade att de tjurar som hade antikroppar mot bakterien och därmed någon gång varit smittade av bakterien till största del kom från Danmark. Det fanns även tjurar med antikroppar som kom från Finland och Sverige men dessa var betydligt färre. Det var 5 tjurar som när de anlände till anläggningen inte hade några antikroppar mot bakterien, men som när det en tid senare togs nya prover hade utvecklat det. Detta innebär att dessa djur under sin tid på anläggningen har exponerats för bakterien och att det förekommit smittspridning på anläggningen under den angivna tidsperioden. Dessa resultat visar på att de

tillämpade smittskyddsåtgärderna inte var tillräckliga för att helt stoppa smittspridningen alternativt att åtgärderna inte tillämpades vid alla tillfällen.

M. bovis är en bakterie som utgör ett hot mot nötboskapsproduktionen och dess unika egenskaper gör den svår att diagnostisera och kontrollera. Trots att det har forskats mycket om bakterien är det fortfarande mycket man inte vet. För att få bättre kunskap om hur bakterien sprids och på så sätt kunna utforma effektiva åtgärder för att förhindra smittspridning krävs vidare forskning.

Tack

Jag vill rikta ett stort tack till mina handledare Madeleine Tråvén, Emma Hurri och Anders Edman för deras engagemang, kunskap och stöttning under detta arbete.

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.