



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap**  
Institutionen för kliniska vetenskaper

# **Utredning av ett utbrott av lunginflammation med *Mycoplasma bovis* i en svensk nötbesättning samt analys av antikroppar mot *Mycoplasma bovis* i tankmjölk från svenska besättningar**

*Katarina von Schultz*

*Uppsala  
2015*

*Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet*

*ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2015:8*



# Utredning av ett utbrott av lunginflammation med *Mycoplasma bovis* i en svensk nötbesättning samt analys av antikroppar mot *Mycoplasma bovis* i tankmjölk från svenska besättningar

Investigation of an outbreak of respiratory disease with *Mycoplasma bovis* in cattle on a Swedish farm and analysis of antibodies against *Mycoplasma bovis* in bulk tank milk from Swedish farms

*Katarina von Schultz*

**Handledare:** Stefan Alenius, SLU, Institutionen för kliniska vetenskaper

**Biträdande handledare:** Lena Stengärde, Svenska Djurhälsovården/SLU

**Examinator:** Jonas Johansson Wensman, SLU, Institutionen för kliniska vetenskaper

*Examensarbete i veterinärmedicin*

**Omfattning:** 30 hp

**Nivå och fördjupning:** Avancerad nivå, A2E

**Kurskod:** EX0736

**Program:** Veterinärprogrammet

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2015

**Delnummer i serie:** Examensarbete 2015:8

**ISSN:** 1652-8697

**Elektronisk publicering:** <http://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** *Mycoplasma bovis*, utbrott, lunginflammation, antikroppar, tankmjölk, svensk, förekomst

**Key words:** *Mycoplasma bovis*, outbreak, pneumonia, antibodies, bulk tank milk, Swedish, prevalence

**Sveriges lantbruksuniversitet**  
**Swedish University of Agricultural Sciences**

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för kliniska vetenskaper



## SAMMANFATTNING

En nötbesättning i södra Sverige som föder upp kalvar och ungdjur till slakt drabbades under 2013/2014 av ett utbrott av respiratorisk sjukdom med hög morbiditet och mortalitet. Med hjälp av en antikropps-ELISA har besättningen kunnat klassificeras som positiv för *Mycoplasma bovis*, i kombination med respiratoriskt syncytialvirus och bovint coronavirus. Besättningen har köpt in djur från ett mycket stort antal besättningar. Skillnader i sjuklighet har kunnat ses utifrån vilka gårdar djuren kom från. Några specifika besättningar hade en hög sjuklighet, det vill säga en stor andel av djuren från dessa insjuknade, medan andra hade låg sjuklighet med en låg andel insjuknade djur. Vad som också har visats är att åldern vid ankomst på inköpta djur från besättningar med hög sjuklighet var betydligt lägre än åldern vid ankomst på djur från besättningar med låg sjuklighet. Det går emellertid inte att konstatera om det är de berörda besättningarnas skick eller djurens ålder vid ankomst som varit den avgörande faktorn. Ingen nedsatt tillväxt på den behandlade gruppen jämfört med den obehandlade kunde påvisas, trots att detta ofta beskrivs i litteraturen.

Analys av tankmjölk från 140 svenska besättningar med avseende på antikroppar mot *Mycoplasma bovis* gav negativa resultat på samtliga prover. Hela Sverige utom Skåne fanns representerade bland de deltagande besättningarna. Detta antyder att förekomsten av *M. bovis* i Sverige idag fortfarande är mycket låg. Norge anses fortfarande vara helt fria från *M. bovis* och Finland har sparsam förekomst sedan 2012. Förekomsten i Danmark däremot är betydligt högre. I Europa anses *M. bovis* vara en bidragande faktor vid cirka 25-33 % av lunginflammationer hos kalv och förekomsten av *M. bovis* i Europa uppvisar en uppåtgående trend. Ett eventuellt svenskt övervaknings- och bekämpningsprogram bör därför utformas snarast, medan förekomsten fortfarande är låg och förutsättningarna därmed goda att hindra ytterligare smittspridning in i landet samt eliminera den smitta som redan har introducerats.

## SUMMARY

A beef farm in the southern Sweden that raises calves and young livestock for slaughter was during 2013/2014 afflicted with an outbreak of respiratory disease with high morbidity and mortality. With an ELISA for antibody detection the farm was classified as positive in regards to *Mycoplasma bovis*, in combination with respiratory syncytial virus and bovine corona virus. The farm has purchased livestock from a large amount of other farms. Differences in morbidity was identified depending on the farm from which the animals originated. Some specific farms had high morbidity with many of the animals from these farms falling ill, while other farms had low morbidity with very few of the animals from these falling ill. However, calves from farms with high morbidity compared to calves from farms with low morbidity also showed a difference in the age of the calves on arrival at the new farm. It is therefore not possible to assess whether the state of the concerned farms or the age of the animals on arrival at the new farm was the more crucial factor in this case. No loss in growth was seen in the treated animals compared to the untreated group, although this is often reported in the literature.

Analysis of bulk tank milk from 140 Swedish dairy farms with regards to antibodies to *Mycoplasma bovis* gave negative results. All parts of Sweden except Skåne was represented among the participating farms. This suggests that the prevalence of *M. bovis* in Sweden today is still very low. Norway is still considered to be free of the disease and Finland has a low prevalence since 2012. In Denmark the prevalence is markedly higher. In Europe *M. bovis* is estimated to be a contributing factor in around 25-33 % of cases of pneumonia in calves och the prevalence of *M. bovis* in Europe looks to be increasing. If a Swedish surveillance and eradication program is to be designed this ought to be done in the near future, while the prevalence is still low and the conditions are still good for prevention of further spread into the country and for elimination of the disease where it has already been introduced.

## INNEHÅLL

FÖRKORTNINGAR.....	1
INLEDNING.....	2
LITTERATURÖVERSIKT .....	3
Förekomst och övervakning .....	3
Symtom.....	4
Pneumoni .....	4
Artrit.....	5
Otit .....	5
Mastit .....	6
Övriga sjukdomar.....	6
Diagnostik.....	6
Provtagning och provmaterial.....	7
Diagnostiska metoder.....	7
Behandling.....	9
Smittspridning .....	10
Lokalisation och spridning av smitta inom djuret.....	10
Utsöndring.....	11
Smittspridning mellan besättningar .....	11
Smittspridning mellan individer inom en besättning.....	11
Profylax .....	12
Bekämpning.....	13
Kostnader.....	14
MATERIAL OCH METODER .....	14
Utbrottsutredning.....	15
Besättningsbesök.....	15
Data-analys .....	15
Laboratorieanalyser.....	16
Tankmjölksprover.....	16
Utvärdering av en antikropps-ELISA.....	16
RESULTAT .....	17
Utbrottsutredning.....	17
Besättningsbesök.....	17
Data-analys .....	18
Laboratorieanalyser.....	25
Tankmjölksprover.....	25
Utvärdering av en antikropps-ELISA.....	25
DISKUSSION .....	26
Utbrottsutredning.....	26
Besättningsbesök.....	26
Data-analys .....	28
Laboratorieanalyser.....	30
Tankmjölksprover.....	31
Utvärdering av en antikropps-ELISA.....	31
KONKLUSION.....	31
REFERENSER.....	33

## FÖRKORTNINGAR

BAL	Bronchoalveolärt lavage
BCoV	Bovint coronavirus
BRSV	Bovint respiratoriskt syncytialvirus
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay, enzymkopplad immunadsorberande analys
KRAV	En svensk organisation som arbetar för ekologisk odling och djurhållning; en svensk miljömärkning
NSAID	Non-steroidal anti-inflammatory drugs, icke-steroida antiinflammatoriska läkemedel
PCR	Polymerase chain reaction, polymeraskedjereaktion
PPN	Produktionsplatsnummer
SVA	Statens veterinärmedicinska anstalt



## INLEDNING

Detta examensarbete syftar till att beskriva ett utbrott av lunginflammation med *Mycoplasma bovis* i en svensk nötbosättning samt att undersöka förekomsten av antikroppar mot *M. bovis* i tankmjölk från svenska mjölkbesättningar med hjälp av en antikropps-ELISA. Därutöver har serumprover analyserats med sagda ELISA vid två skilda tillfällen, dels i syfte att undersöka förekomst av antikroppar mot *M. bovis* vid utbrottet och dels i syfte att undersöka tillförlitligheten för denna diagnostiska metod.

Det utbrott av respiratorisk sjukdom som beskrivs i denna studie ägde rum under vintern 2013/2014 i en svensk nötbosättning i södra Sverige. Bosättningen köper in avvanda dikalvar av köttaras på hösten och föder upp till slakt lagom till sommaren året efter. Under de senaste två omgångarna har bosättningen haft problem med hosta i samband med inköp. Under omgången 2013/2014 var de inköpta nötkreaturen av varierande kvalitet, där vissa av djuren var yngre och hade lägre kroppsvikt än önskvärt. Inköp skedde av ett stort antal djur och från många olika bosättningar. Dessutom anlände många av djuren väldigt sent på året, de sista anlände runt jul 2013. Kring årsskiftet 2013/2014 spreds hosta i bosättningen varvid distriktsveterinärerna kontaktades och antibiotika sattes in. I mitten av januari 2014 hade ca 10 ungdjur i bosättningen avlidit varpå Svenska Djurhälsovården involverades. Obduktion av ett avlidet djur påvisade *Mycoplasma bovis* varpå 14 levande djur provtogs för serologisk undersökning. De levande djuren kunde delas in i en grupp där sjukdomstecken observerats och en grupp där inga sjukdomstecken observerats. Samtliga provtagna djur visade sig vara positiva för bovint respiratoriskt syncytialvirus (BRSV), bovint coronavirus (BCoV) och *M. bovis* i den första analysen som utfördes. Från ovanstående utbrott finns data på identitet, vikt, behandlingar, slaktdata och provresultat. Dessa data analyserades med hjälp av programmering i MatLab för att utbrottet skulle kunna beskrivas. Utöver den initiala provtagningen i februari 2014 utfördes nya provtagningar på gården under hösten 2014, dels i september och dels i december, i syfte att följa förekomsten av antikroppar mot *Mycoplasma bovis* på gården.

Analyser av tankmjölksprover med avseende på antikroppar mot *Mycoplasma bovis* från ett flertal svenska mjölkbesättningar utfördes för att undersöka smittoläget i landet eftersom smittan har konstaterats men enbart vid ett fåtal tillfällen.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Förekomst och övervakning

*Mycoplasma bovis* är idag spritt över hela världen (Walz *et al.*, 1997; Fox *et al.*, 2005; Nicholas, 2011). *M. bovis* isolerades första gången år 1961 i USA, då som orsak till ett allvarligt fall av mastit (Nicholas, 2011). När Nicholas och Ayling utförde sin stora studie om *M. bovis* år 2003 hade smittan rapporterats från hela världen, däribland de flesta länder i Europa (Nicholas & Ayling, 2003) och åtskilliga studier har visat på en uppgående trend (ter Laak *et al.*, 1992; Kusiluka *et al.*, 2000; Gagea *et al.*, 2006a; Arcangioli *et al.*, 2008). Enligt ETT, föreningen för bekämpning av djursjukdomar i Finland, kan 25-33 % av pneumonier hos kalv i Europa antas vara orsakat av *M. bovis* (ETT, u.å.). Detta hävdar också Nicholas & Ayling (2003), som dock framhåller att siffrorna kan vara en underdrift eftersom få laboratorier letar efter mykoplasmor (Nicholas & Ayling, 2003). Olika studier har visat varierande förekomst i Europa. Mellan 2000 och 2009 hade ca 30 % av besättningarna med lungproblem i England och Wales seropositiva nötkreatur (Nicholas, 2011), år 2008 påvisades *M. bovis* hos 78,5 % av 135 köttaskalvar med lungproblem från besättningar i östra Frankrike (Arcangioli *et al.*, 2008) och år 2000 isolerades *M. bovis* från 24 % av 50 undersökta lungor från danska nötkreatur som haft lunginflammation (Kusiluka *et al.*, 2000).

I Danmark isolerades smittan första gången 1981 (ter Laak *et al.*, 1992; Nicholas & Ayling, 2003) och där förekommer smittan idag i betydligt högre grad än i övriga nordiska länder. Under 2011 hade Danmark 70 infekterade mjölkbesättningar (Ericsson Unnerstad *et al.*, 2012). I Danmark sker en kontinuerlig övervakning av *M. bovis* med hjälp av undersökning av tankmjölk (Persson Waller, K., Avdelningen för djurhälsa och antibiotikafrågor, Sveriges Veterinärmedicinska Anstalt, pers. medd., 2014-10-06). I Finland är smittan sällsynt. Där påträffades den första gången i november 2012 i samband med pneumoni hos kalvar. I december 2012 hittades ytterligare två smittade nötkreatur med lunginflammation hos kalvar respektive mastit hos kor (ETT, u.å.). Finska JSM, Jord- och skogsbruksministeriet, har beslutat att *M. bovis* ska övervakas och anmälas, varför undersökning för Mykoplasma ingår i Eviras paket för luftvägs- och ögoninflammation och vid kastningsutredningar samt vid behov vid led- och öroninflammationer hos nöt i Finland (Evira, 2013). Norge anses tillsammans med Nya Zeeland vara fria från *M. bovis* (ETT, u.å.; Nicholas, 2011). År 2007 undersöktes 1 318 norska kalvar med avseende på antikroppar mot *M. bovis*, varav samtliga visades vara negativa (Lie *et al.*, 2007). Under 2009 utfördes en ny studie i Norge där 135 norska besättningar följdes med blodprover under ett år för bestämning av antikroppar mot bland annat *M. bovis*. Också i denna studie var samtliga provtagna kalvar negativa för antikroppar mot *M. bovis* (Gulliksen *et al.*, 2009).

*Mycoplasma bovis* har bara diagnosticerats ett fåtal gånger i Sverige. Under 2010/2011 analyserades totalt cirka 300 prover från svenska kalvar i form av nässvabbar från levande kalvar samt från post mortem lungbiopsier från kalvar som lidit av pneumoni, dels, med avseende på *M. bovis*. På hösten 2011 hade *M. bovis* konstaterats i totalt tre svenska besättningar med pneumoni hos kalv (SVARM, 2011; Ericsson Unnerstad *et al.*, 2012) samt på en svensk mjölkko med *M. bovis*-orsakad mastit (Ericsson Unnerstad *et al.*, 2012). Det finns ingen kontinuerlig övervakning av *M. bovis* i Sverige som är fallet i till exempel Danmark (Persson Waller, K., Avdelningen för djurhälsa och antibiotikafrågor, Sveriges Veterinärmedicinska Anstalt, pers. medd., 2014-10-06).

## Symtom

*Mycoplasma bovis* kan orsaka sjukdom med väldigt varierande allvarlighetsgrad och kan också förekomma utan att orsaka sjukdom i de övre luftvägarna på nötkreatur (Maunsell *et al.*, 2011).

*Mycoplasma bovis* kan orsaka en rad olika sjukdomar så som pneumoni och artrit (Walz *et al.*, 1997; Nicholas & Ayling, 2003; Gagea *et al.*, 2006b; Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011; Wise *et al.*, 2011), otitis media (Gagea *et al.*, 2006b; Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011; Nicholas, 2011), mastit (Walz *et al.*, 1997; Nicholas & Ayling, 2003; Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011; Wise *et al.*, 2011), och reproduktionsstörningar (Maunsell *et al.*, 2011; Nicholas, 2011) så som metrit, abort, infertilitet, samt keratokonjunktivit och eventuellt meningit (Caswell & Archambault, 2008).

## Pneumoni

*Mycoplasma bovis* och *M. dispar* är de mykoplasma-arter som oftast förekommer vid lunginflammation hos kalv i Europa och Nordamerika (Thomas *et al.*, 2002a). Vid lunginflammation orsakad av *Mycoplasma bovis* ses ofta saminfektion med andra bakterier så som *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni*, *Pasteurella multocida* (Thomas *et al.*, 2002a; Gagea *et al.*, 2006b; Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011; Nicholas, 2011) och *Archanobacterium pyogenes* (Caswell & Archambault, 2008). Ibland ses saminfektion med virus som exempelvis infektiöst bovint rhinotracheitvirus (Thomas *et al.*, 2002a; Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011; Nicholas, 2011), bovint respiratoriskt syncytialvirus och parainfluensa-3-virus (Caswell & Archambault, 2008). *M. bovis* förekommer också i kombination med BVDV (Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011) och med andra mykoplasma-arter (Thomas *et al.*, 2002a). Gagea *et al.* (2006b) hypotetiserar att sekundärinfektion med *M. bovis* kan förvärra lunglesioner som uppstått till följd av infektion med *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni* och/eller *Pasteurella multocida*. *M. bovis* kan orsaka kronisk sjukdom efter att primärinfektionen hävts med en kombination av antibiotika och djurets eget immunförsvar eftersom *M. bovis* är resistent mot de flesta antibiotika som används vid lunginflammation hos kalv och dessutom har en förmåga att variera de immunodominanta lipoprotein som sitter på ytan för att undgå immunförsvaret. Eventuellt kan *M. bovis* förekomma i luftvägarna på friska djur, utan att orsaka sjukdom, fram tills lunglesioner uppstått till följd av ett annat agens, då *M. bovis* istället orsakar en progressiv, antibiotikaresistent, kronisk lunginflammation (Gagea *et al.*, 2006b).

Lunginflammation hos kalv på grund av *Mycoplasma bovis* kan utlösas till följd av stress (ter Laak *et al.*, 1992). Vid okomplicerad pneumoni orsakad av enbart *M. bovis* är symtomen ofta milda, varför sjukdomen ofta är långt gången innan diagnos ställs. De första symtomen inkluderar mild feber, intermitterent hosta, nosflöde, ögonflöde och hängande öron (Nicholas, 2011). I mer allvarliga fall ses feber, nedsatt allmäntillstånd och nedsatt aptit, hyperpné, dyspné, hosta och nosflöde. De kalvar som överlever uppvisar ofta nedsatt tillväxt (Nicholas & Ayling, 2003; Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011). Kalvar som drabbas av lunginflammation orsakad av *M. bovis* utvecklar ofta även artrit (Gagea *et al.*, 2006a;

Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011) och/eller otitis media, på samma individ eller inom besättningen (Maunsell *et al.*, 2011). I en studie av 99 kanadensiska kalvar sågs artrit på 52 % av de 54 kalvar som var infekterade med *M. bovis* (Gagea *et al.*, 2006a).

Lunginflammation orsakat av *Mycoplasma bovis* kan i tidigt skede inte skiljas från lunginflammation av annan bakteriologisk orsak, om inte artrit samtidigt föreligger. Förhållanden som bör föranleda misstanke om *M. bovis* vid pneumoni på kalv inkluderar samtidig hälta, kronicitet samt terapivikt vid antibiotikabehandling (Caswell & Archambault, 2008; Nicholas, 2011). Lunginflammation i kombination med hälta kan dock även orsakas av *Histophilus somni* (Caswell & Archambault, 2008).

### **Artrit**

Artrit orsakat av *Mycoplasma bovis* kan uppstå till följd av lunginflammation eller mastit (Nicholas & Ayling, 2003; Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011), och kan utlösas av stress vid till exempel transport (Nicholas & Ayling, 2003). Artrit som enda symtom är ovanligt (Caswell & Archambault, 2008).

Vid artrit orsakat av *Mycoplasma bovis* ses symtom så som akut hälta, smärta och ledsvullnad, oftast i stora leder som höft- och knäled, hasled, bogled, armbåge och karpalled. (Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011). Drabbade individer kan också uppvisa lindrig feber. I allvarliga fall kan individen också ha nedsatt aptit och nedsatt allmäntillstånd (Nicholas & Ayling, 2003; Maunsell *et al.*, 2011). Artrit kan antingen försvinna spontant eller övergå i en kronisk form (ter Laak *et al.*, 1992).

### **Otit**

*Mycoplasma bovis* kan orsaka otitis media (Walz *et al.*, 1997; Maunsell *et al.*, 2011). Möjliga infektionsvägar inkluderar spridning från en otitis externa (Walz *et al.*, 1997), ascenderande infektion via tuba auditiva samt hematogen spridning (Walz *et al.*, 1997; Nicholas, 2011). Den sistnämnda infektionsvägen har visats orsaka artrit på kalvar med pneumoni och skulle kunna antas vara en möjlig spridningsväg också till mellanörat (Walz *et al.*, 1997). I en studie av Walz *et al.* (1997) isolerades *M. bovis* från bulla tympanica på fem av fem kalvar med otitis media. På två kalvar isolerades *M. bovis* dessutom från lungorna och på en annan från sinus frontalis. Därutöver isolerades *M. bovis* från tankmjölk på gården som de fem kalvarna kom ifrån. Kalvarna utfodrades med bortsorterad mjölk från mastitkor, vilket antyder att intag av kontaminerad mjölk med *M. bovis* kan utgöra en möjlig infektionsväg. Denna mjölk kan ha orsakat en kolonisation av nasopharynx med fortsatt spridning till tuba auditiva och därifrån till mellanörat. Spridning från lungor via bakteriemer är också en rimlig hypotes i detta fall (Walz *et al.*, 1997).

I tidigt skede och i milda fall kan drabbade kalvar vara vid gott allmäntillstånd och ha god aptit. I senare skede kan kalvarna få feber och anorexi (Maunsell *et al.*, 2011). I allvarliga fall kan drabbade individer bli liggande och kan slutligen avlida (Walz *et al.*, 1997). Sjukdomen kan vara antingen uni- eller bilateral (Walz *et al.*, 1997; Maunsell *et al.*, 2011). Huvudskakningar är ett tecken på smärta från örat. Om trumhinnan rupturerar ses purulent öronexsudat (Maunsell *et al.*, 2011). Infektionen kan orsaka facialispares med symtom så som hängande öra/öron och ögonlock samt ökat tårflöde. Otitis media kan aggravera till otitis

interna vilket kan orsaka skador på *Nervus vestibulocochlearis* med symtom så som head tilt, nystagmus och cirkelgång. I allvarigare fall kan otitis media/interna leda till meningit med kliniska symtom så som ataxi och opistotonus (Walz *et al.*, 1997; Maunsell *et al.*, 2011).

### **Mastit**

*Mycoplasma bovis* är den mykoplasma-art som oftast associeras med mastit (Walz *et al.*, 1997; Fox *et al.*, 2005) men väldigt få studier har undersökt vilken roll mykoplasma spelar vid mastit (Nicholas, 2011).

Mastit orsakat av *Mycoplasma bovis* kan ge allt från subklinisk sjukdom till mycket allvarliga utbrott och kan drabba kor och kvigor i alla åldrar och laktationsstadium. Vissa subkliniska fall uppvisar inga tecken på infektion och kan vara helt utan höjt celltal eller sänkt mjölkproduktion (Maunsell *et al.*, 2011).

Vid klinisk sjukdom blir juvret svullet (Byrne *et al.*, 2005). Enligt Byrne *et al.* (2005) blir juvret dessutom ömt men enligt Maunsell *et al.* (2011) förblir juvret oömt. Ofta drabbas mer än en juverdel (Maunsell *et al.*, 2011). Mjölken kan vara allt ifrån nästan oförändrad till flockig och purulent. (Byrne *et al.*, 2005; Maunsell *et al.*, 2011). Förutom flockor och luktlöst, purulent sekret kan mjölken ha ökat celltal och brun missfärgning och mjölkproduktionen blir nedsatt (Byrne *et al.*, 2005). Kortvarig feber ses ibland i tidigt stadium och ibland under ett senare skede när infektionen spridit sig till en ny juverdel. Utöver denna eventuella ökning i kroppstemperatur ses oftast inga kliniska symtom från resten av kroppen vid mastit (Byrne *et al.*, 2005).

Ofta finns en anamnes av mastit med dåligt terapivar. Sjukdom kan kvarstå flera veckor. Återhämtning är möjlig men tar lång tid (Maunsell *et al.*, 2011).

### **Övriga sjukdomar**

Andra sjukdomar som kan orsakas av *Mycoplasma bovis* inkluderar keratokonjunktivit, meningit till följd av otit eller systemisk spridning, myokardit och endokardit samt reproduktionsstörningar. Vid infektiös keratokonjunktivit anses *M. bovis* framför allt utgöra en predisponerande faktor (Maunsell *et al.*, 2011).

Vad gäller reproduktionsstörningar har *Mycoplasma bovis* enligt Maunsell *et al.* (2011) framför allt isolerats i experimentella fall av aborter hos ko och vesikulit hos tjur, och evidensen för vikten av *M. bovis* i naturligt förekommande reproduktionssjukdomar är sparsam (Maunsell *et al.*, 2011). I en studie av Uhaa *et al.* (1990) där förhållandet mellan antikroppar mot *M. bovis* och reproduktionsstörningar undersöktes kunde ses att seropositiva kor i genomsnitt hade 79 dagar längre kalvningsintervall än seronegativa individer (Uhaa *et al.*, 1990).

### **Diagnostik**

Kliniska och patologiska tecken på *Mycoplasma bovis* är inte typiska, varför laboratoriska metoder måste användas för att ställa diagnos (Nicholas & Ayling, 2003). Intermittent utsöndring och subklinisk sjukdom försvårar diagnostiken (Maunsell *et al.*, 2011).

## **Provtagning och provmaterial**

Lämpliga provmaterial för detektion av *Mycoplasma bovis* inkluderar mjölk, bronchoalveolärt lavage, lungvävnad, ledvävnad och ledvätska, sperma, flytningar samt svabbprov från konjunktiva. För detektion av antikroppar används serum. Svabbprov ska tas så pass hårt att celler kommer med i provet eftersom *M. bovis* är cellassocierat (Caswell & Archambault, 2008).

I Sverige rekommenderar SVA tankmjölk för PCR vid utredningar av besättningsstatus och nässvabbprov med E-svabb för PCR från 1-5 sjuka kalvar vid misstanke om lunginflammation orsakad av *Mycoplasma bovis* (SVA, 2014). Nässvabbprov kan dock vara opålitligt på grund av den sporadiska utsöndringen av *M. bovis* (Nicholas, 2011). I en studie av Thomas *et al.* från 2002 gav nässvabbprov inte representativa resultat för de patogener som koloniserade de nedre luftvägarna, vilket *M. bovis* gör. Resultat från bronchoalveolärt lavage (BAL) däremot visade god överensstämmelse med odling från lungor post mortem, varför BAL enligt författarna är en mycket pålitligare metod än nässvabbprov för diagnosticering av *M. bovis* (Thomas *et al.*, 2002b). För kalvar med ledpåverkan kan prov aspireras från leder eller senskidor (Maunsell *et al.*, 2011).

## **Diagnostiska metoder**

Möjliga diagnostiska metoder för *Mycoplasma bovis* inkluderar odling, PCR samt antikropsbestämning (Evira, 2013; Maunsell *et al.*, 2011).

## **Odling**

*Mycoplasma bovis* är troligen underdiagnosticerat (Nicholas & Ayling, 2003; Fox *et al.*, 2005). Mykoplasma-arter växer långsamt och är utrustnings- och näringsmässigt krävande att odla in vitro (Fox *et al.*, 2005; Sachse *et al.*, 2010). Metoden tar flera veckor (Nicholas, 2011), enligt Maunsell *et al.* (2011) rekommenderas ett minimum på 7-10 dagars inkubering innan ett prov räknas som negativt med avseende på *M. bovis* (Maunsell *et al.*, 2011). Det faktum att odlingen är tidskrävande innebär en ogynnsam fördröjning i identifieringen av infekterade djur, som därmed kan fortsätta sprida smittan i besättningen (Fox *et al.*, 2005). Tidsaspekten ökar också risken att *M. bovis* inte hittas vid till exempel lunginflammation, eftersom det då ofta råder saminfektion med snabbare växande bakterier som exempelvis *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* och *Haemophilus somnus* (Nicholas & Ayling, 2003). Ytterligare en anledning till att *M. bovis* ofta missas vid till exempel mastit och artrit är att få laboratorier tittar efter mykoplasma (Nicholas & Ayling, 2003; Fox *et al.*, 2005). Mykoplasma-arter är dessutom känsliga för frysförvaring vilket leder till en kraftig reduktion av viabla organismer vid frysning av till exempel mjölk (Fox *et al.*, 2005).

Odling har förhållandevis låg sensitivitet på grund av att *Mycoplasma bovis* utsöndras intermittent och ofta är ojämnt spritt i sjuk vävnad (Maunsell *et al.*, 2011). Falska negativa resultat kan också uppstå på grund av kontaminering eller då antibiotikabehandling tillfälligt minskat utsöndringen av *M. bovis* (Nicholas & Ayling, 2003; Nicholas, 2011). I en studie av Thomas *et al.* (2002a) av kalvar med respiratorisk sjukdom kunde man se att *M. bovis* isolerades mer sällan postmortem än antemortem, vilket författarna förklarar med att provtagning antemortem var utförd på icke-behandlade kalvar medan en stor andel av kalvarna som undersöktes postmortem behandlats med antibiotika, vilket försämrar förutsättningarna

att isolera Mykoplasma-arter (Thomas *et al.*, 2002a). Specificiteten är dock god. Miljösmitta med *M. bovis* till tankmjölk är osannolikt, varför det också är osannolikt med falska positiva resultat vid påvisande av *M. bovis* (Fox *et al.*, 2005).

### **PCR**

PCR har fördelen att det tar timmar till skillnad från odling som tar dagar till veckor (Fox *et al.*, 2005; Nicholas, 2011). Metoden ger också möjligheten att diagnosticera utbrott i ett väldigt tidigt skede, innan kliniska symtom uppkommit och innan antikroppar bildats (Sachse *et al.*, 2010).

Sensitiviteten för PCR-metoder är i klass med odling eller bättre eftersom PCR kan amplifiera DNA från både viabla och icke-viabla organismer (Fox *et al.*, 2005; Nicholas, 2011). Att PCR kan detektera även icke-viabla bakterier innebär att metoden kan användas utan problem på exempelvis fruset material (Sachse *et al.*, 2010). Specificiteten beror på vilken primer som används och är oftast mycket bra. Med rätt primers kan mykoplasman artbestämmas direkt, till skillnad från vid traditionell odling där artbestämning sker först efter att organismen odlats fram (Fox *et al.*, 2005).

En nackdel med PCR är att det måste kombineras med gelelektrofores om mer än en mykoplasma-art i taget ska kunna detekteras, vilket gör diagnostiken relativt arbetskrävande (Nicholas, 2011).

### **Antikroppsbestämning**

Serologisk ELISA för detektion av antikroppar är den billigaste och snabbaste metoden för att detektera *Mycoplasma bovis* (Nicholas, 2011). En stor fördel är att metoden fungerar väl även om antibiotika använts i hög utsträckning, vilket normalt försvårar odling av *M. bovis* (Nicholas & Ayling, 2003; Nicholas, 2011). Specifika antikroppar tyder också på att infektionen är invasiv eftersom djur som bara har smittoämnet i nässlemhinnan sällan serokonverterar (Nicholas & Ayling, 2003). På individnivå har serologisk antikropps-ELISA nackdelarna att antikropps-nivån hos en individ inte nödvändigtvis speglar individens infektionsstatus, det vill säga påvisande av antikroppar kan bara säga att djuret blivit exponerat för smittan, inte huruvida djuret är infekterat eller inte (Fox *et al.*, 2005; Maunsell *et al.*, 2011). Inte alla individer får en hög antikropptiter, kalvar kan ha höga titrar på grund av maternella antikroppar och en höjd antikropptiter förblir hög flera månader efter smittotillfället (Nicholas & Ayling, 2003; Maunsell *et al.*, 2011). Ett seronegativt och kliniskt friskt djur kan dessutom ändå vara smittobärare, varför antikropps-ELISA inte kan användas för att avskriva misstanke om smitta (Evira, 2013). På grupp-nivå däremot är serokonversion och höga titrar ett tecken på aktiv infektion med *M. bovis* varför metoden fungerar betydligt bättre i övervakningssyfte (Maunsell *et al.*, 2011). Antikropps-ELISA på tankmjölksprover är ett billigt sätt att screena besättningar (Becker Iversen, 2013).

I tidigt skede av en infektion, innan den smittade individen hunnit höja antikropps-nivåerna, har PCR högre sensitivitet än ELISA. ELISA däremot kan visa höga antikropptitrar på kor som inte utsöndrar *Mycoplasma bovis*. Det är därför optimalt att kombinera dessa två diagnostiska metoder för att få bästa möjliga förutsättningar att bedömma infektionen (Ghadersohi *et al.*, 2004).

I en dansk undersökning från 2013 gjord av Becker Iversen utfördes antikropps-ELISA både på individnivå med hjälp av blodprover och på besättningsnivå med hjälp av tankmjölksprover. I artikeln beskrivs två stora fördelar med individprover. Individproverna kan användas dels för att identifiera problemdjur, det vill säga djur som har markant högre antikroppstitrar än övriga djur i samma åldersgrupp och därmed utgör större risk för utsöndring av *Mycoplasma bovis*, och dels för att åskådliggöra i vilka åldersgrupper serokonvertering sker och därigenom ge värdefull information inför det fortsatta arbetet med att spåra källan till smittan i besättningen (Becker Iversen, 2013). Tankmjölksproverna som undersöktes i den danska studien (Becker Iversen, 2013) visade att denna diagnostiska test är användbart i klassificering av besättningar. De besättningar som angett att de haft sjukdomssymtom som skulle kunna orsakas av *M. bovis* eller som testat positivt för *M. bovis* med PCR på tankmjölk blev positiva i ELISA-testen och kontrollbesättningarna som inte haft problem blev negativa. Dock fanns seropositiva djur även i kontrollbesättningarna, något som inte plockades upp på tankmjölksundersökningen på grund av nuvarande placering av cut off-gränsen. Däremot följde värdet på tankmjölks-ELISA:n prevalensen av seropositiva djur på så sätt att en högre prevalens gav högre värden på tankmjölksproverna. I Becker Iversens (2013) undersökning sågs positiva värden på tankmjölken när seroprevalensen i besättningen steg över ca 30 %. Siffrorna har dock relativt stor osäkerhet eftersom undersökningsmaterialet i studien var relativt litet (Becker Iversen, 2013).

Prevalensen av seropositiva djur i den danska undersökningen (Becker Iversen, 2013) var enligt ELISA:n markant högre än förväntat i kontrollbesättningarna, vilket väckte frågeställningar kring testens specificitet. Den ELISA som användes i den danska studien är ett ELISA-kit från Bio-X-Diagnostics, och det test som Eurofins Steins Laboratorium i Holstebro använder. Det är också den ELISA som använts för att analysera tankmjölksprover i denna rapport. Becker Iversen skickade därför prover till Veterinary Laboratories Agency i England som använder en annan ELISA. Resultatet visade att de två ELISA-metoderna i stort sett var överens, dock med något stor spridning av data vid högre värden, samt att den ELISA som användes i den danska undersökningen har en tendens att samla fler djur kring gränsvärdet för positiv (Becker Iversen, 2013).

## Behandling

Mykoplasma saknar cellvägg och är därför resistent mot  $\beta$ -laktam-antibiotika (Nicholas & Ayling, 2003; Fox *et al.*, 2005; Maunsell *et al.*, 2011) och syntetiserar inte folsyra och är därför resistent mot sulfonamider. De är dock generellt sett känsliga mot antibiotika som interfererar med proteinsyntes så som tetracykliner, makrolider, linkosamider och florfenikol, eller DNA-syntes så som fluoroquinoloner. *Mycoplasma bovis* är dock resistent mot erytromycin. Det saknas rapporter om mest lämpliga duration av antibiotikabehandling vid *M. bovis*-infektion (Maunsell *et al.*, 2011).

Enligt ter Laak *et al.* (1992) anses antimikrobiell behandling vara ineffektivt mot både mastit och artrit orsakat av *Mycoplasma bovis*. Mot pneumoni däremot rekommenderar författarna medicinering (ter Laak *et al.*, 1992). Både intramammär och systemisk behandling har dålig effekt vid mastit (Maunsell *et al.*, 2011). Därför bör dessa fall istället hanteras via isolering och utslagning av smittade individer samt god hygien, för att hindra smittspridning till friska djur (Nicholas & Ayling, 2003). Enligt ter Laak *et al.* (1992) hade ingen spontan och fullständig återhämtning efter mastit orsakad av *M. bovis* rapporterats fram till det datum då



studien utfördes (ter Laak *et al.*, 1992) och drabbade kor som tillfrisknar och blir negativa på odling förblir ofta subkliniskt infekterade med intermittent utsöndring (Maunsell *et al.*, 2011). Vid artrit rekommenderar Maunsell *et al.* (2011) tidig och aggressiv behandling med till exempel fluorokinoloner, tetracykliner eller makrolider, som alla har god distribution till leder. I besättningar med hög morbiditet och mortalitet orsakat av *M. bovis*-infektion kan övervägas metafylaktisk antibiotikabehandling, det vill säga gruppbehandling av alla djur i en smittad grupp där infektionsstatus på individnivå är okänd, eftersom tidigt insatt behandling är avgörande för behandlingsresultatet (Maunsell *et al.*, 2011). Vid pneumoni orsakad av *M. bovis* bör behandling utgöras av i första hand tetracykliner, i kombination med understödjande behandling vid behov i form av exempelvis NSAID och vätsketerapi enligt Information från Läkemedelsverket (Läkemedelsverket, 2013). Det är också viktigt att se över miljön, minska stressen, tillse god luftkvalitet och ventilation samt dela upp kalvarna efter ålder och hålla kalvarna isolerade från de vuxna individerna från så låg ålder som möjligt (Nicholas & Ayling, 2003).

*Mycoplasma bovis* har uppvisat resistens mot flera olika typer av antibiotika som ofta används mot denna mikroorganism, däribland fluorokinoloner så som marbofloxacin (Nicholas, 2011). I en studie av Ayling *et al.* från 2000 testades 62 brittiska stammar av *M. bovis* med avseende på resistens mot danofloxacin, florfenikol, oxytetracyklin, spectinomycin och tilmicosin. I denna studie visade sig endast danofloxacin effektiv mot alla isolaten. De flesta stammarna i denna studie visade sig vara resistent mot tetracyklin (Ayling *et al.*, 2000), det antibiotikum som utgör förstahandsval vid pneumoni orsakad av *M. bovis* i Sverige (Läkemedelsverket, 2013). Författarna nämner dock att det finns italienska resultat som visat på en hög känslighet mot tetracyklin (Ayling *et al.*, 2000).

## **Smittspridning**

### **Lokalisation och spridning av smitta inom djuret**

*Mycoplasma bovis* förekommer ofta i de övre och nedre luftvägarna på både friska och sjuka nötkreatur (Gagea *et al.*, 2006b; Caswell & Archambault, 2008) och klinisk sjukdom måste inte förekomma för att smittan ska kunna kvarstå och spridas i en besättning (Maunsell *et al.*, 2011).

Efter infektion med *Mycoplasma bovis* kan bakterien isoleras från ett flertal ställen i kroppen, däribland juvervävnad, de övre luftvägarna, konjunktiva och urogenitalorgan (Hayman & Hirst, 2002; Maunsell *et al.*, 2011), oavsett vad som utgjort det primära infektionsstället (Maunsell *et al.*, 2011). De övre luftvägarna och juvervävnad utgör de viktigaste organen för upprätthållandet och spridning av infektionen (Maunsell *et al.*, 2011). I en studie av Ghadersohi *et al.* (2004) undersöktes mjölkande kor med hjälp av PCR på mjölk och antikropps-ELISA. Både kor med positiva mjölkprover och kor med höga antikropps titrar visades vara positiva vid PCR-undersökning av nässvabbprover, vilket stöder hypotesen att luftvägarna kan utgöra reservoar för *M. bovis* (Ghadersohi *et al.*, 2004). I en studie av Sachse *et al.* (2010) hittades *M. bovis* i svabbprov från konjunktiva oftare på kalvar med lunginflammation än på symptomfria kalvar, en skillnad som inte observerades på nässvabbprover (Sachse *et al.*, 2010).

Bakteriemi kan ses strax efter respiratorisk infektion med *Mycoplasma bovis* (Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011). Detta kan sedan orsaka spridning i djuret till andra organ, däribland leder, mjälte, lever och njurar (Caswell & Archambault, 2008). I en studie av Gagea *et al.* (2006b) hade 46 % av 54 kalvar med lunginflammation orsakad av *M. bovis* även artrit och samtliga kalvar med artrit hade pneumoni, vilket tyder på att artrit utvecklats sekundärt till pneumoni via hematogen spridning (Gagea *et al.*, 2006b).

### **Utsöndring**

*Mycoplasma bovis* har kunnat påvisas i bland annat mjölk, nässlemhinna, konjunktiva och vaginalslemhinna (Hayman & Hirst, 2002).

Kor med klinisk mastit utsöndrar *Mycoplasma bovis* via mjölken i betydligt högre grad än symtomfria individer, men även kliniskt friska kor kan utsöndra *M. bovis* i mjölken (Sachse *et al.*, 2010). De flesta individer utsöndrar smittan under en period av några månader eller kortare men i vissa fall kan utsöndring ske intermittent under flera år (Maunsell *et al.*, 2011). Kroniska symtomlösa smittbärare som utsöndrar *M. bovis* intermittent utgör en stor utmaning i bekämpning och kontroll av smittan (Maunsell *et al.*, 2011)

Juervävnad kan utgöra en reservoar för *Mycoplasma bovis* och möjliggöra för smittan att kvarstå genom hela sintiden och in i påföljande laktation, med risk för nya sjukdomsutbrott (Sachse *et al.*, 2010). Detta har bland annat visats av Byrne *et al.* i en studie från 2005 där subklinisk mastit med *M. bovis* visats kvarstå genom sinperioden in i nästföljande laktation (Byrne *et al.*, 2005).

Stress i form av flytt, transport, hantering och kyla kan öka utsöndringen av *Mycoplasma bovis* (Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011).

### **Smittspridning mellan besättningar**

Förmågan hos *Mycoplasma bovis* att persistera som både klinisk och subklinisk infektion är en mycket viktig faktor för smittspridningen både inom och mellan besättningar (Byrne *et al.*, 2005). Smitta introduceras ofta till en tidigare fri besättning via inköp av nya djur (Nicholas & Ayling, 2003; Fox *et al.*, 2005; Nicholas, 2011; Maunsell *et al.*, 2011). Kliniska symptom är oftast värst när en individ nyligen blivit infekterad men smittan kan kvarstå länge vilket kan leda till persisterande infektion i till synes friska individer, något som kan förklara hur smittan lätt introduceras i nya besättningar via inköp av djur (Byrne *et al.*, 2005).

### **Smittspridning mellan individer inom en besättning**

*Mycoplasma bovis* går in via respirationsorganen, spenkanalen eller reproduktionsorganen för att infektera ett djur (Nicholas & Ayling, 2003).

*Mycoplasma bovis* sprids vid direktkontakt mellan djur och indirekt via exempelvis luft, mjölk, levande och döda objekt, samt sperma (ter Laak *et al.*, 1992; Nicholas & Ayling, 2003). Fryst sperma kan förbli infektiös under flera år (Nicholas & Ayling, 2003). Smitta via sekret från luftvägarna kan ske via aerosoler, via direkt nos-mot-nos-kontakt eller indirekt via foder, vatten, inredning m.m. (Maunsell *et al.*, 2011).

Mykoplasma-infektion kan spridas inom ett djur från ett organ till ett annat och kor kan gå från symptomlösa bärare av *Mycoplasma bovis* i något organsystem till att utveckla mastit (Fox *et al.*, 2005). *M. bovis* är en smittsam mastit-patogen som smittar från juver till juver (Fox *et al.*, 2005; Maunsell *et al.*, 2011), men förmågan hos *M. bovis* att spridas från andra organsystem till juvret och vice versa öppnar upp för risken att vad som ser ut att vara en lokaliserad infektion i juvret, genom hematogen spridning till lungorna, kan leda till utsöndring av smitta via aerosoler, trots avsaknad av kliniska symptom från luftvägarna (Becker Iversen, 2013).

En vanlig väg för kalvar att smittas av *Mycoplasma bovis* är via intag eller aspirering av infekterad mjölk vilket kan orsaka både pneumoni och otitis media (Caswell & Archambault, 2008 ; Maunsell *et al.*, 2011; Nicholas, 2011). Smitta från kalvar med lunginflammation till friska kalvar sker framför allt vid nära och långvarig kontakt (Caswell & Archambault, 2008 ; Nicholas, 2011). Kalvar kan även smittas intrauterint (ter Laak *et al.*, 1992).

*Mycoplasma bovis* kan också utgöra en miljösmitta. *M. bovis* kan överleva upp till 236 dagar i gödsel, 60 respektive 14 dagar i mjölk vid 4°C respektive 20°C (ter Laak *et al.*, 1992), 14 dagar i vatten vid 4°C och 13 dagar i strö (Caswell & Archambault, 2008). Smittan kan också finnas kvar länge i urin och luft (ter Laak *et al.*, 1992). Bäst överlevnad har bakterien i svala, fuktiga mijöer (Maunsell *et al.*, 2011). Jämfört med sjuka djur som utsöndrar *M. bovis* utgör miljön dock en mindre viktig infektkälla (Nicholas & Ayling, 2003).

Återinfektion med *Mycoplasma bovis* leder ofta till mildare sjukdom än vid infektion av en naiv individ. Immunförsvaret är dock i de flesta fall oförmöget att åstadkomma en eliminering av smittoämnet, varför kronisk inflammation uppstår (Maunsell *et al.*, 2011).

Om smittan lyckas sprida sig till flera ålderskategorier blir den ytterst svår att bli av med (Nicholas & Ayling, 2003; Maunsell *et al.*, 2011).

## **Profylax**

Det finns i dagsläget inga effektiva vaccin mot *Mycoplasma bovis* (Nicholas *et al.*, 2002; Nicholas & Ayling, 2003; Maunsell *et al.*, 2011; Evisa, 2013). Flera vaccin finns tillgängliga i USA men det finns väldigt sparsamt med data som talar för någon effekt av dessa. De finns heller inte tillgängliga utanför USA (Nicholas, 2011).

Ett flertal experimentella vaccin har testats (Nicholas & Ayling, 2003), men flera har visat sig sakna effekt eller till och med ha en skadlig effekt (Nicholas, 2011). Ett inaktiverat vaccin som testades i en studie av Nicholas *et al.* från 2002 visade sig dock vara säkert samtidigt som det åstadkom ett starkt skydd mot lunginflammation efter experimentell exponering för *Mycoplasma bovis* (Nicholas *et al.*, 2002). Efter vaccinering med detta vaccin sänktes mortaliteten på kalvar i en köttbesättning i norra England från 24 % till 8 % från vintern 2007/2008 till påföljande år. Året efter skedde ingen vaccination varpå mortaliteten återigen ökade markant (Nicholas, 2011). Ingen experimentell vaccinering mot mastitformen har gett någon framgång (Nicholas & Ayling, 2003). Vissa experimentella vaccin har till och med i vissa fall försämrat snarare än ökat kontrollen av sjukdomen (Nicholas, 2011).

På grund av resistensutveckling skulle vaccinering kunna komma att bli ett viktigt redskap för att kontrollera smittan (Nicholas & Ayling, 2003). Enligt Nicholas *et al.* (2002) skulle den teoretiskt optimala tidpunkten för vaccinering vara vid 2-4 veckors ålder, omedelbart efter nedgången i maternella antikroppar. Att antikropps-nivån gått ner skulle lätt kunna kontrolleras innan administrering av vaccinet med hjälp av ELISA (Nicholas *et al.*, 2002).

I brist på vaccin i dagsläget krävs fokus på miljö och skötsel för att smitta ska kontrolleras och förebyggas. Eftersom smittan kräver nära och upprepad kontakt kan god ventilation och låg djurtäthet minska risken för smittspridning. Viktigt är också att kalvar inte utfodras med mjölk som innehåller *Mycoplasma bovis*. Slutligen bör kroniker isoleras och eventuellt slaktas ut (Nicholas, 2011).

## Bekämpning

Där *Mycoplasma bovis* en gång fått fäste kan smittan vara mycket svår att bli av med (Nicholas, 2011; Evira, 2013). Antimikrobiell behandling kan inte eliminera *M. bovis* från hela besättningar (ter Laak *et al.*, 1992).

Smittspridning kan ske snabbt i en besättning som blir infekterad (Nicholas, 2011). Spridningen kan stoppas dels genom god hygien, med strikta mjölkningsrutiner för att förhindra sitta från juver till juver (Fox *et al.*, 2005 ; Maunsell *et al.*, 2011), och dels genom snabb identifiering av infekterade individer och besättningar så att dessa snarast kan isoleras (Fox *et al.*, 2005; Maunsell *et al.*, 2011). Mastit-kor bör hållas åtskilda från osmittade individer hela tiden och inte bara vid mjölkningen eftersom smitta kan spridas på många sätt (Maunsell *et al.*, 2011) och isoleringen bör fortgå tills att de infekterade djuren kan slaktas ut (Fox *et al.*, 2005). Eliminering av samtliga vuxna kor med juverinfektion rekommenderas (Maunsell *et al.*, 2011).

Risken att smitta introduceras till kalvgrupper via infekterad mjölk kan minskas genom pastörisering. Risken för smittspridning inom kalvgrupper via luftburen smitta kan minskas genom god ventilation och låg belägningsgrad, samt via isolering av sjuka kalvar då dessa utsöndrar *Mycoplasma bovis* i stora mängder. Andra faktorer som kan minska risken att kalvar infekteras inkluderar omgångsuppfödning med fullständig tömning mellan omgångar, åldersgrupperingar samt att kalvarna skiljs från korna så kort tid som möjligt efter födelsen (Maunsell *et al.*, 2011). Att hålla kalvarna i god kondition är också viktigt. Kontroll av andra patogener kan ske med hjälp av exempelvis vaccinering mot respiratoriska virus och kan minska risken för saminfektion med *M. bovis* (Maunsell *et al.*, 2011).

*Mycoplasma bovis* kan som nämnts ovan överleva länge i miljön men överlevnadstiden blir kortare om temperaturen stiger (Caswell & Archambault, 2008). När ett utbrott har skett krävs därför utöver god hygien även noggrann rengöring av utrustning och utrymmen. *M. bovis* är känsligt för värme samt för klor-, klorhexidin- och jodbaserade desinfektionsmedel. Att smittan kan kvarstå länge i vissa typer av bäddar, framför allt när material återanvänds gör det viktigt att bäddmaterial som testar positivt för *M. bovis* inte återanvänds (Maunsell *et al.*, 2011).

I en *in vitro* studie av McAuliffe *et al.* (2006) observerades en varierande förmåga att bilda biofilm för olika stammar av *Mycoplasma bovis*. För de stammar som hade förmågan att

producera biofilm visades detta utgöra ett skydd för *M. bovis* mot värme och uttorkning. Biofilm kan därmed antas öka organismens överlevnad i miljön. *M. bovis* med biofilm var inte mer resistent mot antibiotika än *M. bovis* utan. Däremot visades att oxytetracyclin kunde hämma produktionen av biofilm vid markant lägre koncentrationer om cellerna var fristående än om de redan hade en skyddande biofilm. In vivo studier krävs för att utvärdera om *M. bovis* producerar biofilm också in vivo och vilken betydelse detta i så fall har. Biofilm kan potentiellt utgöra ett skydd mot immunförsvaret bland annat genom att hindra fagocytos, vilket i sin tur leder till frisättning av enzymer som skadar den egna vävnaden och därmed förvärrar sjukdomen. Biofilm kan öka möjligheten för en infektion att bli kronisk men kan också orsaka skov av akut infektion om celler frisätts från biofilmen (McAuliffe *et al.*, 2006). *M. bovis* har dessutom visats ha en stor förmåga att variera ytantigen, vilket också kan göra organismen möjligheter att undgå immunförsvaret (Wise *et al.*, 2011).

## Kostnader

Globalt sett är *Mycoplasma bovis* en mycket vanlig orsak till pneumoni och mastit hos nöt. (Evira, 2013). Stora kostnader uppstår till följd av försämrad tillväxt (Nicholas & Ayling, 2003; Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011; Nicholas, 2011), dödsfall och förlorat slaktvärde (Nicholas & Ayling, 2003; Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011), sänkt mjölkproduktion (Nicholas & Ayling, 2003; Maunsell *et al.*, 2011), utslaktning av mastitkor (Maunsell *et al.*, 2011), samt veterinärvård och läkemedel (Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011). Ökade arbetskostnader uppstår på grund av behandlingar, nya rutiner och förebyggande åtgärder (Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011).

Eftersom *Mycoplasma bovis* ofta leder till kronisk sjukdom blir kostnaden per sjuk individ relativt hög i förhållande till andra patogener (Maunsell *et al.*, 2011).

Förutom extra kostnader orsakat av veterinärvård innebär infektion med *Mycoplasma bovis* stora indirekta kostnader i form av fertilitetsrubbingar, som dels leder till kostsamma fördröjningar i produktionen och dels till för tidig utslagning av kor. I en studie av Uhaa *et al.* (1990) där förhållandet mellan antikroppar mot *M. bovis* och reproduktionsstörningar undersöktes kunde man bland annat visa att seropositiva kor i genomsnitt hade 79 dagar längre kalvningsintervaller än seronegativa individer (Uhaa *et al.*, 1990).

Utöver renodlat ekonomiska kostnader finns även icke-ekonomiska aspekter på exempelvis djurlidande som uppstår vid kronisk sjukdom samt resistensutveckling orsakat av utdragna antibiotikabehandlingar (Caswell & Archambault, 2008).

## MATERIAL OCH METODER

Utbrottet på besättningen i södra Sverige utreddes med hjälp av besättningsbesök, dataanalys samt blodprover analyserade med antikropps-ELISA med avseende på antikroppar mot *Mycoplasma bovis* samt mot bovint respiratoriskt syncytialvirus och bovint coronavirus.

Tankmjölksprover analyserades med antikropps-ELISA med avseende på antikroppar mot *Mycoplasma bovis*. Listan över de deltagande besättningarna analyserades även i Matlab i syfte att kontrollera om någon av de provtagna gårdarna också figurerar i utredningen

eftersom besättningen köper in djur av både köttkras och mjölkkras, även om den stora majoriteten inköpta djur utgörs av köttdjur.

12 serumprover från utbrottet analyserades om med avseende på antikroppar mot *Mycoplasma bovis* för att undersöka tillförlitligheten för denna diagnostiska metod.

## **Utbrottsutredning**

### **Besättningsbesök**

Ett besättningsbesök utfördes 2014-12-03. Närvarande vid besöket var Katarina von Schultz, en veterinär vid Svenska Djurhälsovården samt djurägaren. Under besöket utfördes en intervju med djurägaren för att skapa en bild över hur produktionen och utbrottet sett ut, en inspektion av djurhållning och djurstallar, samt provtagning av sex nya djur i syfte att följa upp förekomsten av antikroppar mot *Mycoplasma bovis* bland djuren på gården. Proverna analyserades även för bovint respiratoriskt syncytialvirus och bovint coronavirus.

### **Data-analys**

Som grund för dataanalysen valdes programmet Matlab (O'Connor, 2009) i vilket det sedan skapades ett program för databearbetning med utgångspunkt från framför allt mathworks.se, där skaparna av Matlab lagt upp programmets hjälpdokumentation, samt Matlabs inbyggda hjälpfunktion. (MathWorks, 2014).

Den data som fanns tillgänglig för data-analysen utgörs av register över alla inköpta djur under perioden oktober, november och december 2013 som ibland refereras till som Inköpslistan, register över behandlingsdatum av sjuka djur som ibland refereras till som Sjukjournalen, samt en lista över avlidna djur som ibland refereras till som Kadaverlistan. I Inköpslistan finns information om ”PPN” och ”Från PPN” till varje individ. ”PPN” är gården djuret är född på och refereras ibland till som individens ursprungsbesättning, ”Från PPN” är gården djuret är köpt från och refereras ibland till som dess inköpsbesättning. Om någon individ har mellanlandat på mer än en gård framgår inte detta. Första inköpsdatum i Inköpslistan är 2013-10-15, sista datum är 2013-12-20. Efter detta datum skedde inga ytterligare inköp till detta års uppfödning. Första behandlingsdatum i Sjukjournalen är 2013-12-21, sista datum i Sjukjournalen är 2014-02-28. Djur behandlade efter detta datum finns således inte med i analysen. Kadaverlistan saknar datum för avlidna djur. Utöver ovannämnda register har funnits tillgängligt slaktdata med bland annat slaktdatum, slaktvikt, klass och eventuella slaktanmärkingar. Första slaktdatum är 2014-07-15 och sista slaktdatum 2014-08-07. Djur som slaktats efter detta datum finns således inte med i analysen. Vissa slaktade djur hör till tidigare omgångs inköp och dessa har uteslutits från analyserna. Slutligen fanns provresultat för provtagning av 14 ungdjur från 28 februari 2014 som refereras till som Provresultat Vår samt av 14 ungdjur från 26 september 2014 som refereras till som Provresultat Höst.

Datan fördes in i programmet i Matlab och strukturerades upp varefter beräkningar utfördes, se bilaga 1. Datan analyserades bland annat med avseende på antalet ursprungs- och inköpsbesättningar, vilka och hur många ursprungs- respektive inköpsbesättningar som haft djur som insjuknat, antal inköpta samt antal och andel insjuknade djur per ursprungs- respektive inköpsbesättningar, antalet sjuka djur totalt, medelslaktvikt, medelslaktålder,

daglig tillväxt, antal dagar spenderade på gården fram till slakt samt tid från inköpsdatum till första behandlingsdatum. Skillnaden i ålder vid ankomst mellan djur från gårdar med hög respektive låg sjukdomsfrekvens, skillnaden i tillväxt per dag för slaktade djur som erhållit respektive inte erhållit behandling samt skillnaden i tid spenderad på gården fram till slakt för behandlade respektive obehandlade djur kontrollerades med oparat T-test via GraphPad's hemsida QuickCalcs (GraphPad Software, 2015).

### **Laboratorieanalyser**

Blodprovstagning utfördes på 14 djur den 28 februari 2014 och på 14 djur den 26 september 2014. Två av de individer som provtogs i februari blev provtagna återigen i september 2014, vilka var de enda av djuren från den första provtagningen som fortfarande var vid liv vid tiden för den andra provtagningen. Serumproverna analyserades med avseende på antikroppar mot *Mycoplasma bovis* med en antikropps-ELISA från Bio-X Diagnostics, samt med avseende på antikroppar mot bovint respiratoriskt syncytialvirus respektive bovint coronavirus med hjälp av ett ELISA-kit från Svanova. Analyserna utfördes enligt instruktioner från respektive tillverkare. Vid analys av *M. bovis* gäller att vid resultat på 37 % eller större räknas provet som positivt, vid resultatet på mindre än 37 % räknas provet som negativt (Bio-X Diagnostics, u.å.). För bovint respiratoriskt syncytialvirus och bovint coronavirus gäller att resultat på 10 % eller större räknas som positiva och resultat under 10 % räknas som negativa (Boehringer Ingelheim Svanova, u.å.a; Boehringer Ingelheim Svanova, u.å.b).

### **Tankmjölksprover**

I denna studie analyserades 140 mjölkprover från svenska mjölkbesättningar med avseende på antikroppar mot *Mycoplasma bovis* med hjälp av ovannämnda ELISA-kit från Bio-X Diagnostics, i syfte att klarlägga förekomsten av smitta i landet. Tankmjölksproverna, som togs i november 2011, maj 2012 och maj 2013, togs från början i syfte att analysera förekomsten av bovint respiratoriskt syncytialvirus och bovint coronavirus i svenska besättningar. Besättningarna skulle uppfylla inklusionskriteriet årlig besättningsstorlek på minst 50 kor. Hela Sverige utom Skåne fanns representerade bland de deltagande besättningarna. Cirka hälften av besättningarna var KRAV-godkända, andra hälften konventionella. Vilka besättningar som skulle tillfrågas om de ville delta i studien slumpades fram (Wolff et al., 2015).

Besättningsnumren analyserades slutligen i Matlab i syfte att kontrollera om någon av de provtagna gårdarna också figurerade i utredningen.

### **Utvärdering av en antikropps-ELISA**

Av serumproverna från utbrottet analyserades 12 stycken vid två tillfällen med avseende på *Mycoplasma bovis*, första gången utan och andra gången med kontrollantigen. Av dessa 12 prover var fem tagna 2014-02-28 och övriga sju 2014-09-26. De förstnämnda fem analyserades första gången 2014-03-04 och de sistnämnda sju 2014-10-01. Samtliga 12 prover analyserades andra gången 2014-11-24.

Efter att motstridiga resultat erhållits från ovannämnda två analyser utfördes en tredje analys i syfte att utreda om första analysen gett falska positiva resultat eller om andra analysen gett falska negativa resultat.

## RESULTAT

### Utbrottsutredning

#### **Besättningsbesök**

Den aktuella besättningen ligger i södra Sverige och köptes in år 1998. Stallarna är relativt nybyggda, det senaste stod klart 2012. Gården köper in ungdjur via förmedling, framför allt av köttras och hittills uteslutande handjur. Djuren som köps in brukar vara födda mellan januari och juni och anlända till gården mellan september och december där de föds upp för slakt som normalt sker i juni-oktober, när de uppnått önskad slaktvikt. Målsättningen är att alla inköpta djur ska anlända i september-oktober. År 2013 fanns löftet att alla skulle ha ankommit före den 15 november men som nämnts i data-analysen kom väldigt många individer till gården långt senare. Djuren skulle även ha vägt över 250 kg men många av dem vägde under 200 kg när de kom till gården. Inköp har generellt skett från väldigt många olika gårdar, vilket styrs över av förmedlingsservicen.

Gården har plats för ca 450 individer men har som mest haft ca 425 djur inne samtidigt. Djuren hålls i kall lösdrift på djupströbädd i tre skilda stallar. Ett stall, det största och nyaste, är uppdelat i två längs långsidan med fyra stora boxar per del, ett annat stall har totalt tre stora boxar, det sista stallet har bara plats för 22-23 individer och går att dela upp i tre boxar vid behov. Det sistnämnda stallet har använts som mottagningsstall men har numera omprioriterats till sjukstall för att möjliggöra isolering av insjuknade djur vid behov. Djuren grupperas i möjligaste mån utifrån vilken gård de kommer ifrån hellre än efter storlek.

Målsättningen är att bedriva omgångsuppfödning med principen all in-all out. Bädden i lösdrifterna töms då mellan omgångarna och stallen rengörs och desinficeras innan nästa grupp sätts in. När nya djur anlände på hösten 2013 fanns dock fortfarande vissa äldre individer kvar på gården från den tidigare omgången. Dessa hade flyttats över till det lilla mottagnings-/sjukstallet inför ankomsten av de första djuren i den nya omgången. Övriga stallar stod tomma tillräckligt länge för att möjliggöra tömning och tvätt innan de nya djuren sattes in.

Sjukdomsutbrottet började med att tre till fyra av de finaste individerna hittades döda. Därefter skedde en långsam spridning mellan avdelningarna följt av en ny topp där de små och raggiga djuren blev sjuka. Hosta i grupperna började cirka en vecka efter att sista omgången anlände. Behandling sattes in så fort djuren fått sänkt allmäntillstånd. Till en början behandlades djuren med penicilin i dosen 10 ml/100 kg i 7 dagar per djur. Behandlingen hade effekt till en början, men på grund av senare terpisvikt byttes penicilinet ut mot fluorokinolonen florfenikol (Florselect) som gavs vid två tillfällen med en dags mellanrum. Utöver antibiotika fick sjuka individer också en NSAID i form av ketoprofen (Comforion) vid samma behandlingstillfällen. Utbrottet var som värst i januari-februari. I mars behandlades endast enstaka individer och på slutet av mars var djuren generellt sett pigga och uppvisade normal aptit. Ett skov till drabbade besättningen i april med enstaka dödsfall bland fina ungdjur och nya behandlingar. Hostan fanns kvar i besättningen till juni 2014.

Enligt en grov uppskattning hade cirka 50 % av djuren symtom någon gång under utbrottets gång. Vanligaste symtomen kom från respirationsorganen i form av hosta, bukandning och nosflöde. Enbart vissa individer uppvisade feber och bara enstaka hade en kroppstemperatur som översteg 40 °C. Enstaka ungdjur visade symtom på otit, med huvudena på sned. En individ fick artrit på ett framben, denna överlevde och blev ohalt men hade en permanent förtjockad led. En annan individ var nästan helt blind, denna blev bättre och kunde skickas på



slakt så småningom. Det första djuret att avlida dog vid årsskiftet, det sista i april. Totalt avled cirka 32 individer. Vissa djur drabbades av plötsliga dödsfall medan andra hann få upprepade behandlingar innan de dog.

Utbrottets förlopp liknar starkt ett sjukdomsutbrott på gården som slog till året innan, på hösten 2012-vintern 2012/2013. Då liksom nu hade ca 420 djur köpts in och många hade anlant sent. Också i utbrottet 2012/2013 var morbiditeten och mortaliteten relativt hög. Efter utbrottet 2012/2013 gick besättningen med i Svenska Djurhälsovården. När det nya utbrottet slog till 2013/2014 kontaktades Svenska Djurhälsovården i ett mycket tidigt skede.

Tre avlidna djur obducerades. Den första att obduceras såg makroskopiskt ut att ha lidit av lunginflammation orsakat av *Mycoplasma bovis*, något som kunde bekräftas med hjälp av PCR. Något senare påbörjades provtagningen av levande djur för att undersöka förekomsten av antikroppar mot *M. bovis*.

Inför årets insättning av ungdjur stod hela gården helt djurfri 1,5 dagar och mottagningsstallet stod tomt en månad. Utöver detta utfördes en särskilt noggrann rengöring med borste och hett vatten i högtryckstvätt samt desinfektion. I oktober 2014 anlände 68 nya djur till gården och i slutet på november 2014 anlände ytterligare sju djur. Dessa djur befann sig vid besöket i stallet med tre stora boxar. Lindrig hosta förekom hos ett mindre antal individer och enstaka ungdjur hade nosflöde. Samtliga individer tycktes vara vid gått allmäntillstånd och ha normal aptit. Mottagnings-/sjukstallet och det största, nya stallet stod vid besöket tomma på djur. Det stora stallet var tomt på strömmaterial och väl rengjort.

### **Data-analys**

#### **Inköpta och behandlade djur**

Totalt köptes 403 djur in. Av dessa behandlades totalt 141 individer vid åtminstone ett tillfälle, det vill säga 35 %. Behandlade ungdjur antas vara sjuka och obehandlade friska.

Det finns 49 olika PPN-nummer, det vill säga ursprungsbesättningar. Av dessa bidrog 25 stycken med ungdjur som insjuknade under utbrottet, det vill säga 51 %.

Antalet djur som härstammar från respektive besättning sträcker sig från som minst en individ till som mest 48 individer. Från 36 av besättningarna kom färre än 10 djur per gård.

Medelantalet djur per besättning är 8, men eftersom det förekommer enstaka gårdar från vilka betydligt fler djur härstammar, som därmed höjer medeltalet, är medianen mer representativ. Medianen ligger på 6 djur.

Tio ursprungsbesättningar bidrog med ungdjur där 70 % eller mer insjuknade under utbrottet.

Tabell 1 nedan beskriver antal inköpta och andel insjuknade ungdjur med respektive PPN-nummer. PPN-nummer har dock ersatts med kod-nummer för att inblandade gårdar ska vara anonyma.

Tabell 1. *Antal inköpta och andel insjuknade ungdjur sorterade per ursprungsbesättning*

Ursprungsbesättning (kod-nummer)	Antal inköpta	Andel insjuknade (procent)
1	8	100
2	18	100
3	13	100
10	10	100
4	9	100
8	8	100
5	5	100
6	4	100
7	13	92.3
9	12	83.3
11	4	50
12	18	33.3
13	6	33.3
14	13	30.8
15	8	25
16	4	25
17	25	20
18	10	20
19	6	16.7
20	7	14.3
21	7	14.3
22	9	11.1
23	10	10
24	35	8.6
25	48	2,1
26	22	0
27	9	0
28	7	0
29	6	0
30	6	0
31	5	0
32	4	0
33	3	0
34	3	0
35	3	0
36	3	0

37	3	0
38	2	0
39	2	0
40	2	0
41	2	0
42	2	0
43	2	0
44	2	0
45	1	0
46	1	0
47	1	0
48	1	0
49	1	0

---

Det finns 32 olika ”Från PPN”-nummer, det vill säga gårdar som inköp skett från. 24 av dessa bidrog med ungdjur som insjuknade under utbrottet, det vill säga 75 %.

Antal djur som köptes in från respektive besättning sträcker sig från två till 51 individer. Från 17 av besättningarna köptes färre än 10 djur in. Medelantalet inköpta djur per besättning är 13, medianen är 9 individer.

Också bland inköpsbesättningarna finns tio gårdar som bidrog med ungdjur där 70 % eller mer insjuknade under utbrottet. Åtta av dessa tio nummer är samma som i tabell 1 med PPN-nummer ovan, vilket innebär att djuren från dessa gårdar är födda på och inköpta från samma gård. Bland de tio besättningarna finns fyra gårdar från vilka fler än tio djur köpts in. Dessa inkluderar gård 2 och 3 med 100 % insjuknade djur, gård 7 med 92,3 % insjuknade och gård 9 med 83,3 % insjuknade djur. Samtliga individer från dessa fyra gårdar är födda på och inköpta från samma gård.

Bland besättningar med lägre än 20 % sjuklighet finns tre gårdar som bidrog med över tio inköpta djur. Dessa tre inköpsbesättningar sticker ut med ett relativt stort antal inköpta i kombination med låg andel insjuknade djur och inkluderar gård 24 som bidrog med 35 inköpta och hade 8,6 % insjuknade ungdjur, gård 25 med 48 inköpta och 2,1 % insjuknade, samt gård 26 med 22 inköpta och 0 % insjuknade. Samtliga ungdjur från dessa tre besättningar är födda på och inköpta från samma gård.

Bland de fyra besättningar som bidrog med över tio inköpta djur och med 70 % sjukdomsfrekvens eller högre är medelvärdet på åldern vid ankomst 167, 178 , 201 respektive 204 dagar. Antalet djur från dessa fyra gårdar är 54. Medelåldern vid ankomst för samtliga av dessa djur är 188 dagar, med en spridning från 84 till 267 dagar. Bland de tre besättningar som bidrog med över tio inköpta djur och med lägre än 20 % sjukdomsfrekvens är medelvärdet på åldern vid ankomst 224, 239, respektive 246 dagar. Antalet djur från dessa tre gårdar är 105. Medelåldern vid ankomst för dessa djur är 236 dagar, med en spridning från 107 till 328 dagar. Skillnaden i ålder vid ankomst för djuren från de fyra besättningarna med 70 % sjukdomsfrekvens eller högre jämfört med för djuren från de tre besättningarna med

lägre än 20 % sjukdomsfrekvens visades med T-test vara statistiskt signifikant med ett P värde på mindre än 0.0001.

Tabell 2 nedan visar antal inköpta, antal och andel insjuknade ungdjur per ”Från PPN”-nummer samt antal dagar som passerat från ankomst till första behandlingsdatum i genomsnitt för djuren från respektive inköpsbesättning. Alla ”Från PPN”-nummer, liksom PPN-numrena ovan, har ersatts med kod-nummer för att berörda gårdar ska vara anonyma.

Tabell 2. *Antal inköpta samt antal och andel insjuknade ungdjur sorterade per inköpsbesättning*

Inköpsbesättning (kod-nummer)	Antal inköpta	Antal insjuknade	Andel insjuknade (procent)	Tid från inköp till första behandlingsdatum i genomsnitt för inköpta djur från respektive besättning (dagar)
2	18	18	100	26
1	8	8	100	29
34	3	3	100	23
3	13	13	100	31
35	7	7	100	48
4	9	9	100	20
7	13	12	92	17
9	12	10	83	22
5	5	4	80	32
10	10	7	70	17
39	2	1	50	81
50	51	18	35	41
12	18	6	33	69
37	3	1	33	15
14	13	4	31	25
15	8	2	25	77
17	25	5	20	19
18	10	2	20	40
19	6	1	17	68
20	7	1	14	25
22	9	1	11	77
23	10	1	10	36
24	35	3	9	30
25	48	1	2	72
33	3	0	0	
56	4	0	0	
26	22	0	0	
40	2	0	0	
29	6	0	0	

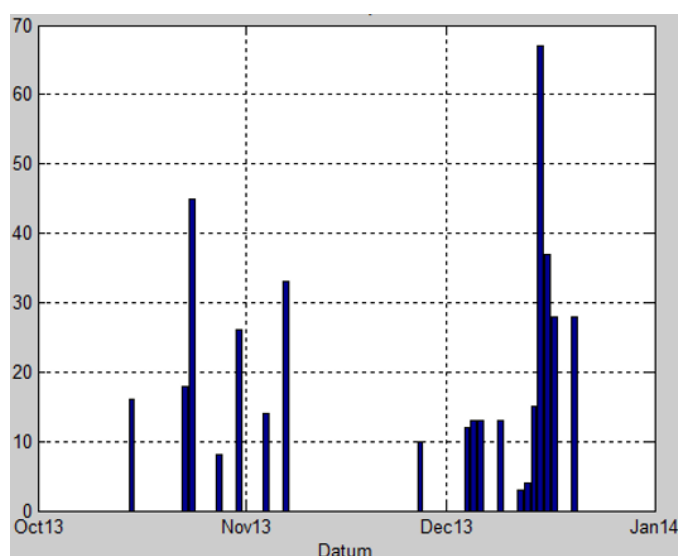
30	6	0	0
41	7	0	0
57	10	0	0

### Tidslinje för inköp

Djur köptes in löpande under oktober, november och december 2013. De första djuren anlände kring mitten av oktober. I mitten av november skedde ett uppehåll i nyanlända djur. Mot slutet av november började nya djur åter anlända, med ett stort antal nyanlända ungdjur runt mitten av december. Sista ankomstdatum för nya djur var 20 december 2013.

Figur 1 nedan illustrerar inköpsmönstret genom att visa datum för ankomst av ungdjur på X-axeln plottat mot antal anländande ungdjur den dagen på Y-axeln.

Figur 1. Mönster för inköp av djur, datum på X-axeln och antal anlända djur på respektive datum på Y-axeln



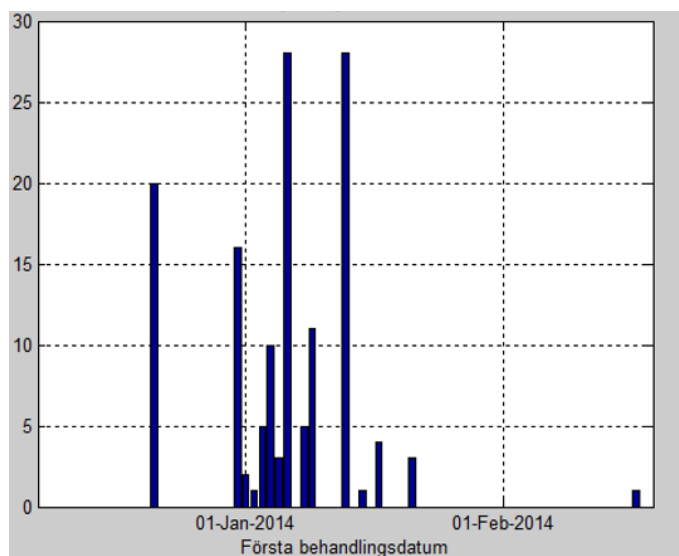
Djur som saknas i Inköpslistan är sådana djur som stått kvar sedan föregående års omgång och inkluderar nio kadaver, tre behandlade samt nio slaktade ungdjur.

### Tidslinje för sjukdomsutbrott

De första individerna att insjukna gjorde detta den 21 december 2013, det vill säga en dag efter att sista omgången nyinköpta djur anlände till gården. Majoriteten av insjuknade djur behandlades första gången innan mitten av januari 2014.

Figur 2 nedan illustrerar sjukdomsutbrottet genom att visa första behandlingsdatum på X-axeln plottat mot antal förstagsbehandlade ungdjur den dagen på Y-axeln.

Figur 2. Tidslinje för sjukdomsutbrott, första behandlingsdatum på X-axeln och antal förstagångsbehandlade djur på respektive datum på Y-axeln



### De första djuren att insjukna i utbrottet

Det tidigaste behandlingsdatumet, det vill säga det datum som motsvarar första stapeln i diagrammet Tidslinje för sjukdomsutbrott ovan, var 2013-12-21. Vilka inköpsbesättningar ungdjuren som behandlades detta datum kom från och hur många djur det rör sig om från respektive besättning illustreras i tabell 5 nedan.

Tabell 3. Behandlade ungdjur den 21 december 2013

Kod-nummer	Antal behandlade ungdjur
7	11
1	4
3	3
5	1
17	1

Enligt tabell 3 ovan utgör djuren från gård 7 en stor del av första stapeln i diagrammet Tidslinje för sjukdomsutbrott. Enligt tabell 2 insjuknade 12 av de 13 djur som köptes in från gård 7, varav elva insjuknade 15 dagar från inköpsdatumet och en 38 dagar efter inköp. De elva djur från gård 7 som insjuknade den 21 december 2013 var i genomsnitt 171 dagar gamla vid ankomst, med en spridning från 84 till 258 dagar.

### Slaktdata

Av de 111 slaktade djuren var medelslaktvikten för samtliga 404,6 kg. För de 16 slaktade individer som blivit behandlade var medelslaktvikten 393,3 kg och för de 95 slaktade individer som aldrig blivit behandlade var medelslaktvikten 406,6 kg. Individer från den behandlade gruppen vägde således i genomsnitt 13,3 kg mindre än individer från den obehandlade gruppen. De nio ungdjur som stått kvar sedan föregående års omgång ingår inte i ovanstående analys.

För att undersöka om skillnaden i slaktvikt mellan behandlad och obehandlad grupp var av betydelse kontrollerades ett antal andra faktorer som kan antas kunna påverka slaktvikten, däribland ålder vid slakt. Medelvärden på slaktåldern för samtliga slaktade djur var 511 dagar, för behandlade 489 dagar och för obehandlade 515 dagar. Individer från den behandlade gruppen var alltså i genomsnitt 26 dagar yngre vid slakt än individer från den obehandlade gruppen.

För att se om denna skillnad i ålder kunde förklara hela skillnaden beräknades tillväxten per dag genom att slaktvikt dividerades på slaktålder. Tillväxten för samtliga slaktade djur var 792 g, för behandlade 805 g och för obehandlade 789 g. Individer från den behandlade gruppen växte således 16 g mer per dag än individer från den obehandlade gruppen. Med T-test visades att denna skillnad i daglig tillväxt för de slaktade djuren som erhållit behandling jämfört med för de slaktade djuren som inte erhållit behandling inte var statistiskt signifikant med ett P-värde på 0,7.

För att se om tiden djuren spenderade på gården påverkade slaktvikten genom att särskilt främja eller hämma deras tillväxt beräknades antal dagar spenderade på gården fram till slakt. Medelvärdet på denna tid var för samtliga slaktade djur 254,9 dagar, för behandlade 251,5 dagar och för obehandlade 255,5 dagar. Individer från den behandlade gruppen spenderade således i genomsnitt 4 dagar mindre på gården än individer från den obehandlade gruppen. Med T-test visades att denna skillnad i tid spenderad på gården fram till slakt för de djur som erhållit behandling jämfört med de djur som inte erhållit behandling inte var statistiskt signifikant, med ett P-värde på 0,7.

Slutligen kontrollerades rastillhörigheten då även denna faktor kan antas påverka slaktvikten. Samtliga av de tre grupperna var övervägande korsningsras. Den näst mest representerade rasen i den behandlade gruppen var Charolais medan den näst mest representerade rasen i den obehandlade gruppen var Simmental. Andelen av varje ras för slaktade djur kan ses i tabell 4 nedan. En statistisk analys av signifikansen för gruppernas respektive rasfördelning utfördes inte eftersom antalet behandlade djur av respektive ras är så få att det kan antas att inga slutsatser kan dras utifrån dessa resultat.

Tabell 4. *Rastillhörighet för slaktade djur*

Ras	Antal (andel, %)		
	Samtliga	Behandlade	Obehandlade
Korsningsdjur	73 (65,8)	12 (75,0)	61 (64,2)
Simmental	22 (19,8)	1 (6,25)	21 (22,1)
Charolais	6 (5,40)	2 (12,5)	4 (4,21)
Angus	4 (3,60)	0 (0)	4 (4,21)
Svensk Röd Boskap	2 (1,80)	0 (0)	2 (2,10)
Svensk Holstein	2 (1,80)	0 (0)	2 (2,10)
Hereford	2 (1,80)	1 (6,25)	1 (1,05)

## Laboratorieanalyser

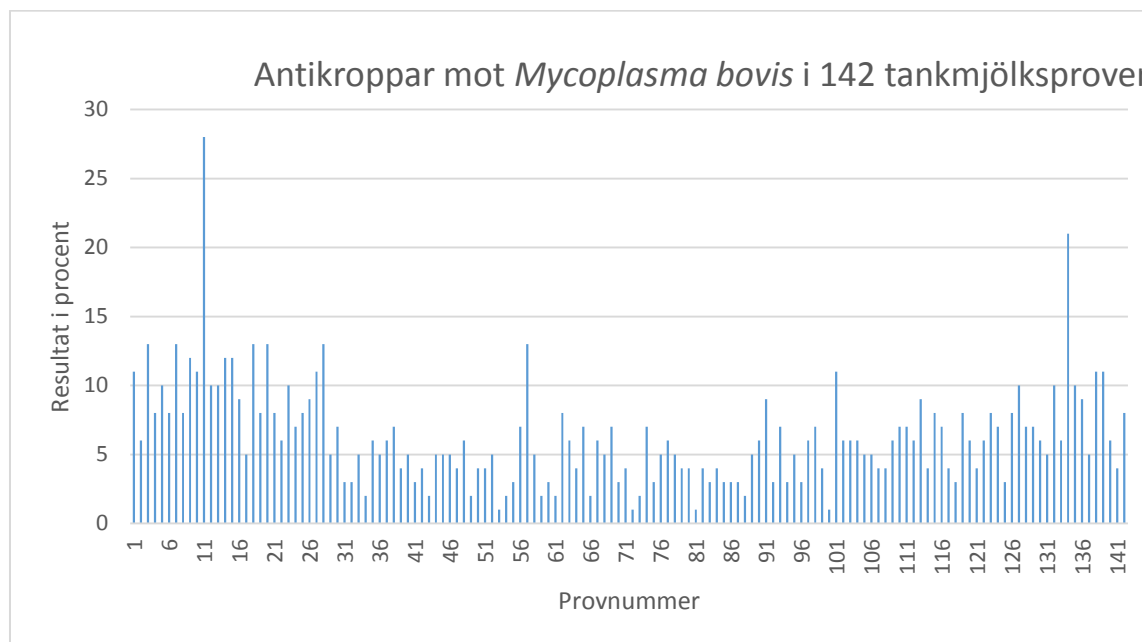
Av de 14 djur som provtogs den 28 februari var samtliga positiva för antikroppar mot *Mycoplasma bovis*, respiratoriskt syncytialvirus och bovint coronavirus. Av de 14 djur som provtogs den 26 september var fem av 14 positiva för *M. bovis* och samtliga positiva för respiratoriskt syncytialvirus och bovint coronavirus. Av de två som provtogs både i februari och september den ena positiv och den andra negativ för *M. bovis* vid provtagningen i september.

Av de sex ungdjur som provtogs vid besättningsbesöket 2014-12-03 var samtliga negativa med avseende på antikroppar mot *Mycoplasma bovis*, med den lägsta på 3 %, den högsta på 21 % och ett medel på 12 %. Fem av de sex djuren var positiva för bovint respiratoriskt syncytialvirus. Samtliga sex var negativa för bovint coronavirus.

## Tankmjölksprover

Samtliga besättningar i tankmjölksprovtagningen var negativa med avseende på antikroppar mot *Mycoplasma bovis*. Samtliga av gårdarna låg med god marginal under gränsvärdet för positiv på 37 %, vilket kan ses i figur 3 nedan. Proverna kommer från 140 olika gårdar, varav två är provtagna vid två skilda tillfällen vilket ger 142 tankmjölksprover.

Figur 3. Antikroppar mot *Mycoplasma bovis* i 142 tankmjölksprover från 140 svenska mjölkbesättningar. Gränsvärdet för positiv är 37 %. Samtliga prover är negativa.



Inga gårdar i tankmjölksprovtagningen figurerar i utredningen av utbrottet.

## Utvärdering av en antikropps-ELISA

12 prover analyserades med antikropps-ELISA med avseende på antikroppar mot *Mycoplasma bovis* vid två skilda tillfällen, varav fem från vårens provtagning 2014-02-28 och sju från höstens provtagning 2014-09-26. Mellan första och andra analysen ses vissa skillnader i resultat. Av de fem djur som provtogs 2014-02-28 var samtliga positiva i första analysen som utfördes 2014-03-04, det vill säga hade ett värde över 37 %. Av dessa var endast två positiva i den andra analysen som utfördes 2014-11-24 och en av de två positiva



låg markant lägre än vid första analysen. Av de sju djur som provtogs 2014-09-26 var fem positiva i första analysen som utfördes 2014-10-01. Samma resultat erhöles vid den andra analysen som utfördes 2014-11-24. Resultaten redovisas i tabell 6 nedan.

Tabell 6. *Analys av 12 serumprover med antikropps-ELISA med avseende på antikroppar mot Mycoplasma bovis vid 2 tillfällen*

Provtagning (vår/höst)	Kod-nr	ID	Resultat (%), första analysen	Resultat (%), andra analysen
Vår	23	7559	276	104
Vår	4	1115	238	19
Vår	14	7197	131	123
Vår	17	8177	52	31
Vår	14	7200	51	32
Höst	2	962	116	109
Höst	4	1115	77	79
Höst	9	179	52	65
Höst	7	1401	52	49
Höst	3	691	49	49
Höst	2	964	24	18
Höst	1	1381	20	16

För att utreda om de motstridiga resultaten mellan första och andra analysen ovan berodde på att den första analysen gett falska positiva resultat eller på att andra analysen gett falska negativa resultat analyserades proverna en tredje gång. Denna tredje analys gav resultat som stämde väl överens med analys nummer två (Alenius, S., SLU, pers.medd., 2014-11-30).

## DISKUSSION

### Utbrottsutredning

#### **Besättningsbesök**

Besättningen är belägen i de sydligaste delarna av Sverige vilket innebär en närhet till Danmark, där förekomsten av *Mycoplasma bovis* relativt hög (Ericsson Unnerstad *et al.*, 2012). Om detta läge har betydelse för risken att drabbas av *M. bovis* kan diskuteras. Närheten till Danmark skulle kunna utgöra en riskfaktor om detta innebär ökade kontakter med danska nötkreatur. En alternativ, möjlig förklaring till att smittan påträffats i just södra Sverige kan dock vara att detta, sett över ett lite större område, är Sveriges mest nötkreaturstäta områden, då ett större urval i form av fler djur och besättningar kan antas öka sannolikheten att en ovanlig sjukdom påträffas.

Förmedlingsservice kan ofta underlätta inköp av djur, men har i detta fall ofta levererat djur långt senare än planerat och med lägre kroppsvikt än överenskommet, vilket kan ha bidragit till nedsatt motståndskraft. Dessutom kan man från dataanalysen utläsa att förmedlingsservicen förmedlat djur från väldigt många olika besättningar, där vissa besättningar endast bidragit med enstaka djur. Att besättningen utsatts för den här mängden av kontakter skulle kunna vara en orsak till att smittan introducerats till gården.

Sjukdomsutbrottet 2013/2014 var både utdraget och omfattande. Symtomen djuren uppvisade kom mestadels från respirationsorganen men inkluderar även ett djur med artrit, enstaka individer med otit, samt ett djur med påverkad syn. Denna kombination stämmer väl överrens med vad som kan hittas i litteraturen. Pneumoni orsakat av *Mycoplasma bovis* anses ofta kunna leda till artrit (Gagea *et al.*, 2006a; Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011) och/eller otitis media, på samma individ eller inom en besättning (Maunsell *et al.*, 2011) och pneumoni på kalv med samtidig hälta, kronicitet och/eller terapivikt vid antibiotikabehandling bör föranleda misstanke om *M. bovis* (Caswell & Archambault, 2008; Nicholas, 2011).

Initial behandling av sjuka djur utgjordes av penicilin vilket är förstahandsval vid lunginflammation på kalv enligt antibiotikapolycyn för nötkreatur och svin från 2013, med en rekommenderad behandlingstid på fem dagar (Sveriges Veterinärmedicinska Sällskap, 2013). Djuren på gården behandlades under sju dagar, så terapivikten som sågs bör inte förorsakats av för kort behandlingstid. Det saknas dock rapporter om mest lämpliga duration av antibiotikabehandling vid *Mycoplasma bovis*-infektion (Maunsell *et al.*, 2011). På grund av terapivikten i detta fall byttes penicilinet mot fluorokinolonerna Florselect. Andrahandsval vid lunginflammation på kalv och förstahandsvalet vid lunginflammation orsakad av *M. bovis* är tetracykliner (Läkemedelsverket, 2013). Fluorokinoloner bör dock kunna ha effekt mot mykoplasmor (Maunsell *et al.*, 2011). Ihop med antibiotikan gavs ketoprofen i form av Comforion. Metacam är dock den enda NSAID med bevisad effekt mot lunglesioner (Lena Stengärde, Svenska Djurhälsovården, pers. medd., 2014-12-02). Det finns ett behov av studier som undersöker i vilka fall antibiotika bör sättas in, vilka preparat som lämpligen bör användas och hur lång behandlingstiden optimalt bör vara.

Risken att kalvar infekteras med *Mycoplasma bovis* kan minsakas genom omgångsuppfödning där all-in all-out, det vill säga total tömning mellan omgångarna, praktiseras (Maunsell *et al.*, 2011), något som denna besättning eftersträvar. 2013/2014 stod dock ett antal äldre djur kvar när de nya kalvarna anlände. Dessutom hade besättningen ett sjukdomsutbrott under omgången 2012/2013 med ett förlopp som mycket liknade det utbrott som utretts i denna studie. Då togs dessvärre inga prover, men med tanke på likheterna och med tanke på förmågan hos *M. bovis* att persistera länge i kroniskt och subkliniskt sjuka djur samt i miljön skulle *M. bovis* möjligtvis ha kunnat figurera i besättningen redan då. Att äldre djur som befunnit sig på gården under utbrottet 2012/2013 stod kvar när nya djur anlände kan eventuellt ha bidragit till utbrottet 2013/2014.

Smittspridning inom kalvgrupper via luftburen smitta kan minsakas genom låg belägningsgrad och via isolering av sjuka kalvar då dessa utsöndrar *Mycoplasma bovis* i stora mängder (Maunsell *et al.*, 2011). Gården har plats för cirka 450 individer men har som mest haft cirka 425 djur inne samtidigt, vilket innebär att belägningsgraden hållits nere. Under utbrottet fanns dock inget stall för isolering av sjuka djur. Inför årets omgång, det vill säga 2014/2015, har detta åtgärdats så att sjuka djur ska kunna isoleras och smittryck och smittspridning därmed minsakas, i ett tidigt skede, vid ett eventuellt framtida sjukdomsutbrott. Därutöver har saneringsinsatser satts in för att förhindra att ett ytterligare utbrott ska ske. Gården har förvisso bara stått helt djurfri 1,5 dagar men mottagningsstallet stod tomt cirka en månad vilket bör ha gett tillräckligt med tid för en ordentlig rengöring följt av fullständig upptorkning.

## Data-analys

Totalt köptes ett stort antal djur in under kort tid och både antal gårdar på vilka djuren är födda och antalet gårdar som inköp skett från är mycket stort. Detta utgör en markant ökad risk att smitta förs in i besättningen, eftersom inköp av nya djur enligt flera författare är den vanligaste orsaken att smitta introduceras till en tidigare fri besättning, på grund av förmågan hos *Mycoplasma bovis* att orsaka subklinisk och kronisk sjukdom (Nicholas & Ayling, 2003; Fox *et al.*, 2005; Nicholas, 2011; Maunsell *et al.*, 2011). Ett sådant stort antal kontakter komplicerar även en eventuell smittspårning avsevärt.

Från vissa besättningar kom ett väldigt litet antal djur varför vetskap om sjukdomsstatus på djuren från dessa gårdar blir mindre användbart i analysen. Av de besättningar som bidrog med fler än tio inköpta ungdjur finns fyra gårdar med hög och tre med låg andel insjuknade djur. Djuren från samtliga av dessa besättningar är födda på och inköpta från samma gård. Dessa två grupper skiljer sig dock statistiskt signifikant åt i fråga om djurens ålder vid ankomst, på så sätt att djur från de tre besättningarna med låg sjukdomsfrekvens var äldre än djur från de fyra gårdarna med hög sjukdomsfrekvens. En lägre ålder vid ankomst kan därför antas öka risken för ett djur att insjukna. Detta kan dock vara en vanskelig slutsats att dra då flera faktorer kan spela in och det även finns samband till vissa gårdar. Det går därför inte att konstatera om det är djurens ålder vid ankomst eller de berörda gårdarnas djurskötsel som varit den avgörande faktorn i det här fallet. För att kunna dra slutsatser kring vilken av dessa faktorer som varit avgörande behöver vidare efterforskningar genomföras, däribland en uppföljande studie med avseende på de berörda gårdarnas djurskötsel. Ingen koppling till ålder vid ankomst på förmedlingskalvar och infektion med *Mycoplasma bovis* har funnits i litteraturstudien, vilket innebär att detta skulle kunna vara ett lämpligt område att studera djupare.

Första stapeln i tidslinjen för sjukdomsutbrottet, se figur 2, motsvarar de första djuren att insjukna. Den enskilt största delen av denna stapel utgörs av elva djur från gård 7. Dessa djur befann sig på gården 15 dagar innan de insjuknade vilket innebär att de var bland de första att insjukna trots att de varit på gården en väldigt kort tid. En möjlig förklaring till att dessa individer var de första att insjukna är att smittan kom till gården med dem. En alternativ möjlig förklaring är att smittan kom till gården tidigare så att ett smittryck successivt kunnat byggas upp och att dessa djur haft en ökad känslighet som gjorde att de inte klarade smittrycket på gården och därmed blev de första att insjukna. Undersökning av ålder vid ankomst för djur från besättningar med hög respektive låg morbiditet gav resultat som antyder att en lägre ålder skulle kunna innebära en ökad känslighet. Åldern vid ankomst för de elva djuren från gård 7 sträckte sig från 84 till 258 dagar med ett medelvärde på 171 dagar. Detta kan jämföras med åldern vid ankomst för djuren från de fyra gårdarna med högst morbiditet som sträckte sig från 84 till 267 dagar med ett medelvärde på 188 dagar och för djuren från de tre gårdarna med lägst morbiditet som sträckte sig från 107 till 328 dagar med ett medelvärde på 236 dagar. Djuren från gård 7 är således bland de yngsta i gruppen av djur från besättningarna med högst morbiditet, vilket ytterligare stöttar antagandet att en lägre ålder vid ankomst utgör en riskfaktor för insjuknande.

Lunginflammation hos kalv på grund av *Mycoplasma bovis* har visats kunna utlösas av stress (ter Laak *et al.*, 1992), så oavsett om djuren från gård 7 haft smittan med sig eller om de inte

klarade smittrycket på gården kan stress förorsakat av flytten varit en bidragande orsak till insjuknandet av dessa djur.

För en initial smittspårning skulle det vara intressant att undersöka gård 7 med avseende på antikroppar mot *Mycoplasma bovis*. Vilken typ av besättning gård 7 är spelar roll för hur en sådan eventuell undersökning skulle gå till väga. Besättningen som utretts i denna studie köper in djur av både köttras och mjölktras även om den stora majoriteten inköpta djur utgörs av kött djur. Om en gård med mjölktras önskas undersökas utgör analys av tankmjölk det snabbaste och billigaste sättet att bekräfta eller avfärda infektion i den aktuella besättningen. Analys av serum bör följa om tankmjölksprover blivit positiva. Handlar det däremot om köttkras skulle serum analyseras direkt. I det här fallet är djuren från gård 7 av korsningsras och moderdjurens ras är okänd. Om gård 7 håller mjölktras eller köttkras går således inte att uttala sig om. Antikropps-ELISA på serumprover kan enligt Becker Iversen (2013) åskådliggöra i vilka åldersgrupper serokonvertering sker, varför metoden kan ge värdefull information vid smittspårning och planering av bekämpningsåtgärder, något som skulle kunnat nyttjas vid provtagningar på gårdar som inköp skett från. På den gård som utretts i denna studie har dock endast funnits tillgång till ungdjur, varför serumprover som tagits i samband med utbrottet inte kunnat användas i detta syfte.

Från slaktdatan kunde det utläsas att den behandlade gruppen i genomsnitt hade lägre slaktvikt (13,3 kg), lägre slaktålder (26 dagar), högre tillväxt per dag (160 g) samt något kortare tid spenderad på gården fram till slakt (4 dagar). Den högre tillväxten som sågs hos den behandlade gruppen jämfört med den obehandlade är endast 16 gram på djur som i genomsnitt vuxit 805 gram per dag varför skillnaden kan anses marginell. Skillnaden är inte heller statistiskt signifikant då P-värdet låg på 0,7347. Vad som dock kan sägas är att den behandlade gruppen inte uppvisade en tydligt sänkt tillväxt, något som ofta beskrivs i litteraturen som följd av lunginflammation med *Mycoplasma bovis* på de kalvar som överlever infektionen (Nicholas & Ayling, 2003; Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011). En möjlig förklaring till att den behandlade gruppen inte uppvisar lägre tillväxt än den obehandlade skulle kunna vara att ett större antal djur varit sjuka än vad behandlingsjournalen antyder. I denna studie antas första behandlingsdatum motsvara datum för insjuknande, behandlade djur antas vara sjuka och obehandlade friska. Hur korrekt ovanstående antaganden är beror på korrektheten och kontinuiteten i den dagliga bedömningen av djurens hälsostatus. Individer kan ha insjuknat innan eller utan att symptom uppmärksammats eftersom det kan vara svårt att korrekt bedöma djurens hälsostatus. Om tillräckligt många av de obehandlade individerna varit sjuka i tillräckligt hög grad skulle det kunna förklara varför gruppen som erhållit behandling vuxit bättre än förväntat i förhållande till den obehandlade gruppen. Den behandlade och obehandlade gruppen var inte heller identiska i rasrepresentation, vilket eventuellt också skulle kunna påverka de respektive gruppernas tillväxt. Skillnaderna i rasrepresentation är dock relativt små. Den behandlade gruppen hade något kortare kortare tid spenderad på gården fram till slakt, men denna skillnad var inte statistiskt signifikant då P-värdet låg på 0,6689. Det bör också nämnas att urvalet slaktade djur som erhållit behandling är mycket litet, då endast 16 av 111 slaktade individer behandlats, vilket gör slutsatser som dras utifrån slaktdatan osäkra.

Den insamlade datan från utbrottet har ett par svagheter. Varje individ har haft både ett PPN-nummer, vilket motsvarar den gård individen är född på, och ett ”Från PPN”-nummer, vilket

motsvarar den gård individen är inköpt ifrån, men om något djur mellanlandade på mer än en gård syns inte detta. Det kan antas osannolikt att djuren skulle ha mellanlandat på mer än en gård, men det är eventuellt en svaghet i datan. Det framgår inte heller hur gamla djuren var när de flyttade till respektive gård eller hur länge har de vistades på sin eventuella mellanlandnings-gård.

Den data som valdes ut att ingå i dataanalysen sträcker sig från utbrottets början och över dess kulmen. Denna period valdes för att möjliggöra en undersökning av huruvida det finns faktorer som ökar risken för insjuknande på individnivå respektive besättningsnivå, och har kunnat visa på de trender som beskrivits ovan. Den sträcker sig dock inte över de bakslag med mindre skov som kan anses utgöra efterdyningar till utbrottet. Utbrottet var enligt uppgift från djurägaren värst under januari-februari 2014, varför Sjukjournalen sträcker sig till sista februari 2014. Ett mindre antal individer insjuknade och behandlades dock även i mars och april, djur som inte finns med i analysen. Datum för avlidna djur saknas, men på Kadaverlistan finns 21 djur och enligt uppgift från djurägaren avled totalt cirka 32 djur. Sista dödsfallet ska enligt uppgift ha inträffat i april. Slaktdatan sträcker sig till 7 augusti 2014. De sista djuren i denna omgång skickades till slakt efter detta datum och finns således inte med i analysen. Det hade eventuellt varit intressant att ta med data från en längre period för att fånga upp fler aspekter på utbrottet, inte bara dess inledning och dess akuta skede utan även besättnings återhämtningsfas.

### **Laboratorieanalyser**

Provtagning utfördes på 14 djur på våren och 14 djur på hösten 2014. På våren var samtliga positiva för antikroppar mot *Mycoplasma bovis*, bovint respiratoriskt syncytialvirus och bovint coronavirus. På hösten var fem positiva för antikroppar mot *M. bovis* och samtliga positiva för bovint respiratoriskt syncytialvirus och bovint coronavirus. Enligt litteraturen anses *M. bovis* ofta orsaka sjukdom ihop med andra agens så som *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni*, *Pasteurella multocida* (Thomas *et al.*, 2002a; Gagea *et al.*, 2006b; Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011; Nicholas, 2011), *Archanobacterium pyogenes* (Caswell & Archambault, 2008), infektiös bovint rhinotracheitvirus (Thomas *et al.*, 2002a; Caswell & Archambault, 2008; Maunsell *et al.*, 2011; Nicholas, 2011), parainfluenza-3-virus och, som var fallet i denna studie, bovint respiratoriskt syncytialvirus (Caswell & Archambault, 2008).

Endast två av djuren i vårprovtagningen var med i höstprovtagningen eftersom dessa två var de enda från vårprovtagningen som fortfarande var vid liv vid tiden för höstprovtagningen. En av dessa två var positiv efter höstens provtagning, den andra negativ för *Mycoplasma bovis*. För att kunna dra slutsatser om förändringar i antikroppsnivåerna över tid hade det varit önskvärt att göra om provtagningen på ett större antal djur.

Samtliga serumprover från de sex ungdjur som provtogs vid besättningsbesöket 2014-12-03 var negativa med avseende på antikroppar mot *Mycoplasma bovis*, fem var positiva för bovint respiratoriskt syncytialvirus och samtliga var negativa för bovint coronavirus, vilket betyder att dessa djur inte bar på varken *M. bovis* eller bovint coronavirus vid provtagningstillfället och således inte har burit med sig dessa smittor till gården.

## Tankmjölksprover

Samtliga gårdar i tankmjölksprovtagningen var negativa för *Mycoplasma bovis*, och låg med god marginal under gränsvärdet för positiv. Resultaten i denna studie tyder således på att stora delar av Sverige idag är fria från smittan, vilket stämmer överens med tidigare studier (SVARM, 2011; Ericsson Unnerstad *et al.*, 2012). Det finns dock studier som väcker frågetecken kring huruvida sensitiviteten vid undersökning av tankmjölk är tillräcklig. I Becker Iversens studie (2013) fanns seropositiva djur även i kontrollbesättningarna, något som inte plockades upp vid analys av tankmjölk på grund av nuvarande placering av cut off-gränsen. Positiva värden på tankmjölken sågs först när seroprevalensen i besättningen steg över cirka 30 % (Becker Iversen, 2013). Siffrorna från Becker Iversens studie (2013) har dock relativt stor osäkerhet på grund av ett litet undersökningsunderlag (Becker Iversen, 2013). Här krävs fler studier för att bedöma användbarheten av serologi på tankmjölk för övervakning och bekämpning.

I dagsläget finns ingen internationell organisation som registrerar utbrott av *Mycoplasma bovis*. Det finns förvisso en rad mer eller mindre gamla studier som undersökt prevalensen i olika länder men det är svårt att få en pålitlig överblick över läget i till exempel Europa idag. Detsamma gäller för läget i Sverige där det saknas kontinuerlig övervakning av *M. bovis*, till skillnad från i exempelvis Danmark, där tankmjölk övervakas (Persson Waller, K., Avdelningen för djurhälsa och antibiotikafrågor, Sveriges Veterinärmedicinska Anstalt, pers. medd., 2014-10-06). Det skulle vara önskvärt med en standardisering av provtagning, analys och rapportering inom och mellan länder, om smittan effektivt ska kunna kartläggas och övervakas. Vetskap om förekomst är ett viktigt steg i begränsning av smittspridning och bekämpning av smitta.

## Utvärdering av en antikropps-ELISA

Analyser av 12 serumprover från utbrottet med antikropps-ELISA med avseende på antikroppar mot *Mycoplasma bovis* vid två olika tillfällen visades ge skilda resultat. Fyra av individerna låg markant lägre i andra analysen, vilket flyttade ned tre av dem under gränsvärdet för positiv. Detta väckte frågetecken kring huruvida den första analysen gett falska positiva resultat eller om den andra analysen gett falska negativa resultat, varför analysen utfördes en tredje gång, då med resultat som stämde väl överens med analys nummer två (Alenius, S., SLU, pers.medd., 2014-11-30). Detta talar för att det är den första analysen som gett felaktiga resultat i form av falska positiva. Mer forskning behövs för att undersöka specificiteten och sensitiviteten på denna antikropps-ELISA, för att möjliggöra en bedömning av dess användbarhet och bästa användningsområde.

## KONKLUSION

Utbrottet som utretts i denna studie är ett exempel på infektion med *Mycoplasma bovis* i Sverige. Samtliga tankmjölksprover från 140 svenska besättningar som undersökts i denna studie var dock negativa för antikroppar mot *M. bovis*. Detta visar att *M. bovis* förekommer i Sverige, men antyder att förekomsten fortfarande är mycket låg. Flera exempel i litteraturen på prevalensen i andra länder runt om i Europa vittnar dock om hur förekomsten kan öka dramatiskt när smittan väl introducerats, eftersom den är svår att eliminera i besättningar där den fått fäste. Smittan kan orsaka stora kostnader, djurlidande och resistensutveckling varför *M. bovis* inte bör tillåtas bli endemisk i Sverige. Ett eventuellt övervaknings- och

bekämpningsprogram bör därför utformas inom en snar framtid, då förutsättningarna att hindra smittspridningen och att eliminera smittan från landet fortfarande är goda. I ett sådant program kan det vara värt att satsa på aktiv snarare än passiv övervakning, eftersom förmågan hos *M. bovis* att orsaka subklinisk och kronisk sjukdom medför att smittan kan cirkulera länge innan rätt diagnos ställs. Därutöver krävs en strategi för smittspårning och bekämpning om och när smittan påvisas. Vilken metod som bäst lämpar sig för övervakning behöver utvärderas. Den antikropps-ELISA som använts i denna studie är en möjlig diagnostisk metod både på individ- och besättningsnivå samt ur ett nationellt perspektiv för övervakning, men dess sensitivitet och specificitet bör utredas vidare för att klargöra dess användbarhet och bästa användningsområde.

Utöver detta har denna studie visat att en lägre ålder vid ankomst skulle kunna utgöra en riskfaktor för förmedlingsdjur att insjukna, ett område som skulle kunna undersökas vidare. Vad gäller slaktdata och infektionens eventuella påverkan på djurens tillväxt kunde inga slutsatser dras utifrån resultaten i denna studie.

## REFERENSER

- Arcangioli, M.A., Duet, A., Meyer, G., Dernburg, A., Bézille, P., Poumarat, F., Le Grand, D. (2008). The role of *Mycoplasma bovis* in bovine respiratory disease outbreaks in veal calf feedlots. *The Veterinary Journal*, vol. 177, ss. 89-93.
- Ayling, R.D., Baker, S.E., Peek, M.L., Simon, A.J., Nicholas, R.A.J. (2000). Comparison of in vitro activity of danofloxacin, florfenicol, oxytetracycline, spectinomycin and tilmicosin against recent field isolates of *Mycoplasma bovis*. *Veterinary Record*, vol. 146, ss. 745–747.
- Becker Iversen, C. (2013). *Brug af antistofmålinger til vurdering af smittedynamik for Mycoplasma bovis – et stadium af 6 danske malkekvaegsbesætninger*. Bacheloropgave, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet.
- Bio-X Diagnostics, u.å. *Mycoplasma bovis ELISA kit*.  
[http://www.biox.be/UDTData/13/UDTEnglishInsert/BIO%20K%20302%20-%20Mycoplasma%20\(Eng\)%20V2.0.pdf](http://www.biox.be/UDTData/13/UDTEnglishInsert/BIO%20K%20302%20-%20Mycoplasma%20(Eng)%20V2.0.pdf) [2014-09-14]
- Boehringer Ingelheim Svanova (u.å.a). *Bovine respiratory syncytial virus antibody test*. Uppsala.
- Boehringer Ingelheim Svanova (u.å.b). *Bovine coronavirus antibody test*. Uppsala.
- Byrne, W., Markey, B., McCormack, R., Egan, J., Ball, H., Sachse, K. (2005). Persistence of *Mycoplasma bovis* infection in the mammary glands of lactating cows inoculated experimentally. *The Veterinary Record*, vol. 156, ss. 767-771.
- Caswell, J.L., Archambault, M. (2008). *Mycoplasma bovis* pneumonia in cattle. *Animal Health Research Reviews*, vol. 8, ss. 161-186.
- Ericsson Unnerstad, H., Funghrant, K., Persson Waller, K., Persson, Y. (2012). *Mycoplasma bovis* hos kor och kalvar i Sverige. *Svensk veterinärtidning*, vol. 13, ss. 17-20.
- ETT, u.å. *Mycoplasma bovis*, <http://www.ett.fi/sv/sisalto/mycoplasma-bovis>, [2014-09-22]
- Evira, 2013-01-02, *Mycoplasma bovis*,  
<http://www.evira.fi/portal/se/djur/djurhalsa+och+sjukdomar/djursjukdomar/notkreatur+och+bison/mycoplasma+bovis>, [2014-09-22]
- Fox, L.K., Kirk, J.H., Britten, A. (2005). *Mycoplasma Mastitis: A Review of Transmission and Control*. *Journal of Veterinary Medicine*, vol. 52, ss. 153-160.
- Gagea, M.I., Bateman, K.G., van Dreumel, T., McEwen, B.J., Carman, S., Archambault, M., Shanahan, R.A., Caswell, J.L. (2006a). Diseases and pathogens associated with mortality in Ontario beef feedlots. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol. 18, ss. 18-28.
- Gagea, M.I., Bateman, K.G., Shanahan, R.A., van Dreumel, T., McEwen, B.J., Carman, S., Archambault, M., Caswell, J.L. (2006b). Naturally occurring *Mycoplasma bovis*-associated pneumonia and polyarthritis in feedlot beef calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol. 18, ss. 29-40.
- Ghadersohi, A., Fayazi, Z., Hirst, R.G. (2004). Development of a monoclonal blocking ELISA for the detection of antibody to *Mycoplasma bovis* in dairy cattle and comparison to detection by PCR. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 104, ss. 183-193.
- GraphPad Software, 2015, *QuickCalcs*, <http://www.graphpad.com/quickcalcs/ttest1/?Format=C>, [2015-01-03]
- Gulliksen, S.M., Jor, E., Lie, K.I., Loken, T., Åkerstedt, J., Osterås, O. (2009). Respiratory infections in Norwegian dairy calves. *American Dairy Science Association*, vol. 92, ss. 5139-5146.



- Hirst, B. & Hirst, R. (2002). Development of a semi-nested PCR for the improved detection of *Mycoplasma bovis* from bovine milk and mucosal samples. *Veterinary Microbiology*, vol. 91, ss. 91-100.
- Kusiluka L.J., Ojeniyi B., Friis N.F. (2000). Increasing prevalence of *Mycoplasma bovis* in Danish cattle (abstract). *Acta Veterinaria Scandinavica*, vol. 41, ss. 139-146.
- Landbrugsinfo, 2014-08-22, Ny viden om og erfaring med *Mycoplasma bovis*, <https://www.landbrugsinfo.dk/Kvaeg/Sundhed-og-dyrevelfaerd/Veterinaert-beredskab/mycoplasma/Sider/Ny-viden-om-og-erfaring-med-Mycoplasma-bovis.aspx>, [2014-09-21]
- Lie, K.I., Gulliksen, S.M., Jor, E., Østerås, O. (2007). Seroprevalence of Selected Respiratory Infectious Agents in Norwegian Calves and Youngstock. Proceedings from the conference Calf Management Steinkjer Norway 20-22 June 2007, ss. 53-56.
- Läkemedelsverket, (2013). *Information från Läkemedelsverket Supplement 2013*, årgång 24, september/oktober 2013.
- MathWorks, 2014, Add Comments to Programs, [http://www.mathworks.se/help/matlab/matlab\\_prog/comments.html](http://www.mathworks.se/help/matlab/matlab_prog/comments.html), [2014-09-14]
- Maunsell, F.P., Woolums, A.R., Francoz, D., Rosenbusch, R.F., Step, D.L., Wilson, D.J., Janzen, E.D. (2011). *Mycoplasma bovis* Infection in Cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, vol. 25, ss. 772-783.
- McAuliffe, L., Ellis, R.J., Miles, K., Ayling, R.D., Nicholas, R.A.J. (2006). Biofilm formation by mycoplasma species and its role in environmental persistence and survival. *Microbiology*, vol. 152, ss. 913-922.
- Nicholas, R.A.J. (2011). Bovine mycoplasmosis: silent and deadly. *Veterinary Record*, vol. 168, ss. 459-462.
- Nicholas, R.A.J. & Ayling, R.D. (2003). *Mycoplasma bovis*: disease, diagnosis, and control. *Research in Veterinary Science*, vol. 74, ss. 105-112.
- Nicholas, R.A.J., Ayling, R.D., Stipkovits, L.P. (2002). An experimental vaccine for calf pneumonia caused by *Mycoplasma bovis*: clinical, cultural, serological and pathological findings. *Vaccine*, vol. 20, ss. 3569-3575.
- O'Connor, B., 2009-02-23, *Comparison of data analysis packages: R, Matlab, SciPy, Excel, SAS, SPSS, Stata*, <http://brenocon.com/blog/2009/02/comparison-of-data-analysis-packages-r-matlab-scipy-excel-sas-spss-stata/>, [2014-09-14]
- 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. *The Veterinary Journal*, vol. 186, ss. 299-303.
- SVA, 2014-08-21, *Mycoplasma bovis* hos kalv, <http://www.sva.se/sv/Djurhalsa1/Notkreatur/Endemiska-sjukdomar/Luftvagsinfektioner-hos-kalvar-och-ungdjur/Mycoplasma-bovis-hos-kalv/>, [2014-09-21]
- SVARM (2011). *Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring*. Västerås: Edita Västra Aros.
- Sveriges Veterinärmedicinska Sällskap, Husdjurssektionen (2013). Riktlinjer för användning av antibiotika till produktionsdjur. Nötkreatur och gris.
- ter Laak, E.A., Wentink, G.H., Zimmer, G.M. (1992). Increased prevalence of *Mycoplasma bovis* in the Netherlands. *Veterinary Quarterly*, vol. 14:3, ss. 100-104.

- Thomas, A., Ball, H., Dizier, I., Trolin, A., Bell, C., Mainil, J., Linden, A. (2002a). Isolation of *Mycoplasma* species from the lower respiratory tract of healthy cattle and cattle with respiratory disease in Belgium. *Veterinary Record*, vol. 151, ss. 472-476.
- Thomas, A., Dizier, I., Trolin, A., Mainil, J., Linden, A. (2002b). Comparison of Sampling Procedures for Isolating Pulmonary Mycoplasmas in Cattle. *Veterinary Research Communications*, vol. 26, ss. 333-339.
- Uhaa, I.J., Riemann, H.P., Thurmond, M.C., Franti, C.E. (1990). A cross-sectional study of bluetongue virus and *Mycoplasma bovis* infections in dairy cattle: II. The association between a positive antibody response and reproduction performance. *Veterinary Research Communications*, vol. 14, ss. 471-280.
- Walz, P.H., Mullaney, T.P., Render, J.A., Walker, R.D., Mosser, T., Baker, J.C. (1997). Otitis media in preweaned Holstein dairy calves in Michigan due to *Mycoplasma bovis*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol. 9, ss. 250-254.
- Wise, K.S., Calcutt, M.J., Foecking, M.F., Röske, K., Madupu, R., Methé, B.A. (2011). Complete Genome Sequence of *Mycoplasma bovis* Type Strain PG45. *Infection and Immunity*, vol. 79 (2), ss. 982-983.
- Wolff, C., Emanuelson, U., Ohlson, A., Alenius, S., Fall, N. (2015). Bovine respiratory syncytial virus and bovine coronavirus in Swedish organic and conventional dairy herds. *Acta Veterinaria Scandinavica*, vol. 57 (2), ss. 1-7.