

Sidste nyt fra forskning i udbredelse og bekæmpelse af *Mycoplasma bovis*

Liza Rosenbaum Nielsen og Mette Bisgaard Petersen, Institut for Produktionsdyr og Heste, Københavns Universitet

E-mail: liza@sund.ku.dk, mbp@sund.ku.dk

Baggrund

Siden 2011 har forekomsten af diagnosticerede *M. bovis*-udbrud ligget på ca. 40-60 udbrud om året, dvs. omkring 1-2 % af malkekvægsbesætningerne bliver ramt hvert år. Dertil kommer udbrud og mere eller mindre konstante problemer med infektionen i nogle slagtekalvebesætninger. I forhold til tidligere årtiers udbrud har den sidste bølge af udbrud været kendetegnet ved varierende og alvorlige kliniske tegn, såsom ledbetændelse med svær halthed hos både kalve, opdræt og køer, mellemørebetændelse hos kalve og ungdyr, og flere tilfælde af tilsyneladende uhelbredelig lungebetændelse og yverbetændelse. Årsagen til denne opblussen af smitte eller den øgede evne til at fremkalde alvorlig sygdom var i 2011 ukendt, og der ikke var meget hjælp at hente fra udenlandske undersøgelser. Dette har medført, at adskillige forskningsprojekter er blevet sat i værk de sidste 5 år, og nye kommer stadig til. Formålet med dette indlæg er at give et overblik over forskning i udbredelsen af *M. bovis* i Danmark og ny viden af relevans for bekæmpelse af *M. bovis* i kvægbesætninger.

Kan tankmælksantistof-ELISA bruges til besætningsklassificering?

Et klassisk og ofte meget omkostningseffektivt element i forebyggelse af smittespredning mellem besætninger ved handel af dyr er i Danmark en klassificering af malkekvægsbesætninger baseret på måling af antistoffer eller PCR-reaktioner i tankmælken. For at metoden kan bruges til sygdomsforebyggelse i praksis, kræver det dog, at det er undersøgt, om man får en rimelig klassificering af besætningerne. Helt risikofrit kan man aldrig handle med dyr, men et testpositivt svar skal dog helst afspejle, at der er en betydelig infektionsrisiko i besætningen (også kaldet positiv prædiktiv værdi) og ligeledes skal et negativt svar helst afspejle, at der ikke er betydelig infektionsrisiko i besætningen. To studier er gennemført ved Veterinærinstituttet og Institut for Produktionsdyr og Heste. Det første viste, at den positive og negative prædiktive værdi af tankmælks-ELISA kunne optimeres ved en grænseværdi på 50 ODC%, hvor især andelen af falsk positive reaktioner var markant lavere end ved 37 ODC% uden at det gik ret meget ud over den negative prædiktive værdi (Nielsen et al. in press, [doi:10.1016/j.prevetmed.2015.08.009](https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.08.009)). Det er dog formentlig ikke relevant kun at bruge en enkelt tankmælksprøve til besætningsklassificering. Oftest vil man bruge en kombination af flere prøver som det for eksempel gøres i salmonellaprogrammet. Man skal være opmærksom på, at der ofte er ringe sammenhæng mellem ELISA og PCR-reaktioner i tankmælken for *M. bovis* og de to testmetoder bør mere ses som komplementære end som enten-eller, og måske er det nødvendigt at arbejde med gråzoner, der kræver opfølgning. Endelig blev der i et andet studium fundet, at infektion hos kalve og ungdyr ikke afspejles i tankmælken antistofniveau, og det er vigtigt at vide, hvis det er opdræt, der handles med eller tages med på dyrskue. En poster af studiet kan ses under 'Petersen.pdf' på <http://www.svepm.org.uk/posters.html>, og en artikel er i midt i publiceringsprocessen.

Udbredelse og geografiske klynger i Danmark

En statistisk tid- og rumanalyse af fire screeninger af antistoffer i tankmælken fra samtlige danske malkekvægsbesætninger i 2013-2014 viste, at der var en stor klynge af besætninger i Himmerland i juni-juli 2013 med væsentlig højere prævalens af tankmælksprøver over 50 ODC% end i resten af landet. Mindre klynger blev identificeret senere i 2013 og 2014 i Sønderjylland og Himmerland. Desuden viste studiet det samme som andre igangværende undersøgelser tyder på, at *M. bovis* giver

et meget dynamisk infektionsforløb, som ebber ud ret hurtigt (3-4 måneder) i de fleste besætninger. Infektionsklyngerne er mindre knyttet til kvægtætte områder end det ses med de mere persisterende infektioner som f.eks. *Salmonella* Dublin. En poster af studiet kan ses under 'Arede.pdf' på <http://www.svepm.org.uk/posters.html> og en artikel er på vej.

Hvad kan vi gøre ved *M. bovis* i praksis?

Et specialeprojekt fra efteråret 2014 om årsagsfaktorer for *M. bovis* udbrud blev præsenteret ved Kvægekongressen i Herning i 2015 (<https://www.landbrugsinfo.dk/Kvaeg/Dansk-Kvaeg-kongres/Sider/KOEN-OG-KALVEN-2015.aspx>, tema 38). Det viste, at brug af sygebokse til syge køer samt god sektionering af forskellige aldersgrupper blandt kalve og ungdyr er meget vigtigt for at mindske udbruddets varighed. Der var desuden en sammenhæng mellem det at have mange medarbejdere i besætningen og risikoen for at opleve et længerevarende klinisk udbrud. Det kan således anbefales at sørge for god instruktion af alle medarbejdere i pasnings-og hygiejnerutiner i besætningen. Pasteurisering af mælken til kalve anbefales, hvis køerne rammes af et udbrud, da infektionen ellers hurtigt spredes til kalvene via mælken. Ønsker man at forsøge sig med antibiotikabehandling, skal det ske tidligt i sygdomsforløbet, og husk smertebehandling af syge køer og kalve. *Mycoplasma* gør ondt! Det kræver en god overvågning af dyrene flere gange daglig at stå med et udbrud af *M. bovis*. Syge køer bør isoleres fra flokken og meget syge køer bør sættes hurtigt ud. Derimod undersøger vi pt. i udbrudsbesætninger, om syge kalve kan komme godt igennem infektionsforløbene med behandling og kærlig pleje.

Der er flere andre projekter i gang, som skal kaste mere lys over både bakteriernes egenskaber og fortolkningen af diagnostiske tests på dyreniveau, særligt sammenhæng mellem ELISA, PCR og kliniske tegn.

Typebestemmelse af de danske *M. bovis* stammer

Branko Kokotovic, Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet

E-mail: bkok@vet.dtu.dk

Mycoplasma bovis er en af de mest betydningsfulde mykoplasma i kvægbruget på verdensplan. Bakterien findes oftest i forbindelse med mastitis, lunge- og ledbetændelse, men andre kliniske manifestationer kan også forekomme. Der findes ikke præcise, nyere beregninger over konsekvenser af *M. bovis* relateret sygdomme, men det anses, at infektionen hvert år globalt set pålægger en økonomisk byrde til kvægbruget i en multimillion skala.

M. bovis blev for første gang påvist i Danmark i 1981 og gennem 1980'erne har bakterien forårsaget store udbrud af mastitis. I de følgende årtier blev bakterien isoleret sporadisk fra mange forskellige kvægbesætninger, men på trods af en tilsyneladende stigende forekomst i 1990'erne, blev der ikke registreret omfattende sundhedsmæssige problemer som følge af *M. bovis* smitte. Siden 2011 er *M. bovis* dog kommet i fokus igen på grund af alvorlige udbrud af især ledbetændelse, men også mastitis og lungebetændelse i adskillige besætninger landet over.

I de seneste fire år blev *M. bovis* isoleret ved DTU-VET fra led, lunge, mellemøre, mælk og yver fra klinisk syge dyr samt næsesvaber og øjensvaber fra dyr uden kliniske symptomer i besætninger fra Jylland, Fyn, Sjælland, Lolland og Bornholm. De opsamlede stammer blev undersøgt for variation i hele bakteriens genom (arvemassen) ved fuldgenomsekventering med henblik på at kortlægge genomisk diversitet i den nyere danske population af *M. bovis*. Desuden blev disse også sammenlignet med de ældre danske isolater med henblik på at identificere eventuel tilstedeværelse af stabile klonale linjer over en længere tidsperiode.

Resultater af fuldgenomsekventering viser at *M. bovis* stammer som blev isoleret i perioden 2011-2014 tilhører to tæt beslægtede, men alligevel klart forskellige klonale linjer, vilkårligt mærket i dette indlæg G1 og G2. Stammer tilhørende G1 linjen blev isoleret fra alt undersøgt organmateriale samt svaberprøver fra både syge og tilsyneladende raske dyr. Denne klonale linje blev fundet i alle undersøgte besætninger, på nær én, hvor der blev påvist en anden klonal linje, G2. Der var kun to blandt de undersøgte *M. bovis* stammer som tilhørte G2 linjen og begge stammer blev isoleret fra det samme dyr fra hhv. lunge og lungehinde.

Ydermere viste fuldgenomsekventering at de gamle danske *M. bovis* stammer, som blev isoleret i perioden 1984-2001 tilhører en tredje særskilt klonal linje, G3. Disse stammer er nært beslægtet med *M. bovis* type stammen, PG45 som blev isoleret i 1961 i USA. De gamle danske *M. bovis* stammer som tilhører G3 klonal linjen er genetisk klart forskellige fra, og forholdsvis fjernt beslægtede med, de nye *M. bovis* stammer som tilhører klonal linjer G1 og G2.

For at fastslå beslægtetheden af G1 og G2 klonal linjer med de globalt kendte *M. bovis* typer har vi analyseret et udvalg af "husholdnings" gener som indgår i typning skemaet (1). Undersøgelsen viste at stammer tilhørende G1 og G2 klonal linjer repræsenterer hidtil ukendte typer som hører til et såkaldt "Clonal Complex 2".

Vores resultater viser entydigt at de seneste års udbrud af *M. bovis* relaterede sygdomme i kvægbesætninger over hele landet hovedsageligt skyldes infektion med en enkelt klonal linje af bakterien. Denne klonal linje har tilsyneladende ingen præferencer til et bestemt organ og er i stand til at forårsage forskellige kliniske manifestationer. Desuden er denne klonal linje aldrig før blevet påvist hverken i Danmark eller i udlandet, og så er den genetisk ganske forskellig fra de gamle danske stammer isoleret før 2001.

1. Rosales et al. 2015. Global Multilocus Sequence Typing Analysis of *Mycoplasma bovis* Isolates Reveals Two Main Population Clusters. *J. Clin. Microbiol.* 53, 789-794.