

Besättningsprovtagning med blodprover i dikobesättningar

Bakgrund och mål

Målet med studien var att ge riktlinjer kring hur besättningsprovtagningar bör göras för att med rimlig säkerhet kunna säga om besättningar eller grupper av nötkreatur är fria från *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*).

Provtagning

För att med säkerhet kunna säga att en besättning inte har träffat på *M. bovis*, och därmed inte kan sprida bakterien vidare till andra besättningar, krävs provtagning av djuren och laboratorieanalys. Provtagning för att visa att den enskilda besättningen är fri från mykoplasma på besättningsnivå bygger i dagsläget på antikropsprover (serologi), då bakterien ofta är svår att påvisa hos smittade djur.

Antal djur som behöver provtas beror på flera faktorer

Hur många djur som smittas av bakterien i en besättning och andel djur som utvecklar antikroppar (besättningens seroprevalens) varierar beroende på hur lång tid det har gått från att bakterien introducerades i besättningen och hur lätt den sedan sprids inom besättningen. Hur snabbt mykoplasma sprids inom en besättning varierar beroende på hur djuren hålls och antalet djur i olika åldrar och grupper. Andelen djur med antikroppar kan således variera stort inom olika typer av besättningar och inom olika grupper av djur i samma besättning.

Hur många av djuren som behöver provtas för att få en tillförlitlig bedömning om frihet från *M. bovis* beräknas utifrån laboratorieanalysens tillförlitlighet (sensitivitet och specificitet) samt den uppskattade seroprevalensen i besättningen eller i gruppen av djur. Även risken för att det nyligen har skett en introduktion av *M. bovis*, framför allt via inköp av djur, bör beaktas. En tidsaspekt behöver läggas till i den slutliga bedömningen på besättningsnivå, där det bör ha förflutit en viss tid sedan senaste djuret introducerades i gruppen eller besättningen. Detta för att minimera risken för att ny smitta ska finnas i besättningen, som ännu inte har spridit sig alternativt att djuren inte har hunnit utveckla antikroppar.

Epidemiologiska beräkningar

I projektet har epidemiologiska beräkningar använts för att beräkna antal prover som behöver tas i olika grupp- och besättningsstorlekar i dikobesättningar för att med 95 procents säkerhet kunna säga att *M. bovis* inte finns i gruppen/besättningen. Beräkningarna baseras på en bedömning om hur lätt mykoplasma kan sprida sig i

gruppen/besättningen, vilket i sin tur beror på förhållandena på plats. Om man bedömer att hälften av djuren skulle kunna vara smittade blir den uppskattade förekomsten (prevalensen) 50 procent.

Material och metod

Beräkningar i EpiTools

Beräkningsverktyget EpiTools (EpiTools -Free Calc) användes för att beräkna det antal prov som behövs för att kunna visa frihet från *Mycoplasma bovis*. Resultatet av beräkningarna är det minsta antal djur som behöver provtas för att med angiven säkerhet och uppskattad prevalens i gruppen av djur kunna visa på frihet från *M. bovis*, vid användning av ett diagnostiskt test med angiven tillförlitlighet. I dessa sammanhang nöjer man sig vanligen med 95 procents säkerhet, då 100 procent säkerhet inte kan uppnås med de testosäkerheter som finns. Högsta möjliga säkerhet fås naturligtvis om samtliga djur i gruppen eller besättningen provtas.

Olika gruppstorlekar och tre besättningsstorlekar

Beräkningarna har gjorts på olika grupp- och besättningsstorlekar. Vid beräkning av större grupper/besättningar (100, 200 och 400 djur) har hela besättningen antagits vara en grupp, med samma prevalens av sjukdomen i hela gruppen av djur. I verkligheten finns det ofta flera undergrupper av djur i en besättning och de kan ha olika prevalens av sjukdomen. I dessa grupper kan därför, även om de är lika stora, olika antal djur behöva provtas (se Tabell 1).

Antikroppstestens sensitivitet och specificitet

Testet som för närvarande används i Sverige och som dessa beräkningar utgår från är ett kommersiellt tillgängligt indirekt ELISA-test, ID Screen® från IDvet (Frankrike) med en sensitivitet på 93,5 % och en specificitet på 98,6 %, vid tillverkarens rekommenderade gränsvärde av antikroppsnivån för att konstateras som positivt: Optical Corrected Density (OCD) \geq 60 % i serum (blodprover) och OCD \geq 30 % i mjölk vid "overnight-incubation". (Andersson *et. al.* 2019). I denna undersökning hänvisas endast till provtagning med blodprover. Erfarenheter från användning av testet visar att djur som blir smittade av *M. bovis* bildar antikroppar olika snabbt, vissa djur kan få en långsamt stigande titer. Det innebär att det kan ta några veckor innan antikroppsvärdet passerar gränsen OCD \geq 60 %. Ett nysmittat djur, som precis har börjat producera antikroppar kan alltså ligga på OCD 20–60 % en tid. För att minska risken för att bedöma en besättning som fri om nysmittade djur finns har vi därför valt att i dessa sammanhang rekommendera omprov på djur med värden på OCD \geq 20 %.

Resultat

I Tabell 1 presenteras det antal djur som bör provtas med ett negativt provresultat (OCD $<$ 60 %) vid olika grupp- eller besättningsstorlekar och olika uppskattade prevalenser för att med 95 procents säkerhet kunna säga att besättningen är fri från *M. bovis*.

Tabell 1. Antal djur som bör provtas negativt (OCD <60 %) vid olika grupp- eller besättningsstorlekar och olika uppskattade prevalenser för att med 95 procents säkerhet kunna säga att besättningen är fri från *M. bovis*.

Gruppstorlek	Uppskattad prevalens (Andel djur i gruppen som smittats)					
	2 %	5 %	10 %	15 %	20 %	50 %
10	Alla	Alla	Alla	Alla	Alla	7
20	Alla	Alla	Alla	18	16	7
30	Alla	Alla	Alla	23	18	8
50	Alla	Alla	41	23	19	8
80	Alla	Alla	47	35	21	8
100	Alla	Alla	49	35	21	8
200	Alla	128	53	38	22	8
400	Alla	159	55	39	22	8

Att öka sannolikheten för att hitta smittade djur

Att provta djur med sämre allmäntillstånd, till exempel magra djur, djur med lägre tillväxt, tung andning eller djur med en sjukdomshistorik som överensstämmer med *M. bovis* ökar sannolikheten att hitta djur som träffat på bakterien. För att hitta nysmittade djur i besättningen bör unga djur väljas ut för provtagning. Om unga djur har antikroppar visar det att smittan cirkulerar i besättningen. Fler djur på mindre yta och under stallsäsong när luftvägsviroser oftare drabbar djuren ökar risken för att *M. bovis* ska spridas. För att öka sannolikheten att hitta nysmittade djur är därför lämplig tidpunkt för provtagning under vintern eller åtminstone några månader in på stallsäsongen.

Säkerheten i bedömningen om en besättning är "fri från *M. bovis*" påverkas om nya djur har introducerats till besättningen under senare år eller inte. Säkerheten ökar om besättningen är provtagen tidigare utan att djur med antikroppar hittades och inga djur har introducerats sedan tidigare provtagningar.

Praktisk tillämpning av beräkningens resultat

Under förutsättning att inga nya djur har tillförts under det senaste halvåret *och* att en stallsäsong har passerat sedan dess, samt att besättningens smittskydd bedöms vara utan tydliga risker för att introducera *M. bovis* på ett indirekt sätt (till exempel via kontakt med infekterade grannbesättningar), så är vår rekommendation att **provta 20 djur per grupp/stall, om seroprevalensen rimligen kan uppskattas till cirka 20 % eller högre.**

Beroende på besättningens situation och provtagningstidpunkt kan en lägre (eller högre seroprevalens) antas. Man får då anpassa antalet provtagna djur enligt Tabell 1.

Provtagningen bör fokuseras mot djur med störst risk att ha träffat på smittan/sjukdomen:

- Inköpta djur, och/eller djur som varit i närkontakt med sådana
- Djur som har eller har haft symtom på lunglidande, ledpåverkan, nedsatt allmäntillstånd
- Gärna unga djur, men som har gått minst tre månader i gruppen på stall

Vi rekommenderar omprov (efter ≥ 14 dagar) på samtliga individer med ett ODC analysresultat på ≥ 20 %

Inköpta seropositiva djur utreds särskilt med avseende på eventuell smittspridning från dessa. Har mer än ett år passerat utan att djur i närkontakt med ett seropositivt djur har utvecklat antikroppar kan frihet från *M. bovis* ändå antas.

Säkerheten i bedömningen ökar om provtagningen upprepas. Efter 2–3 provtagningar av djur i blandade åldrar under ett års tid kan även en introduktion av smitta som skett relativt nyligen sannolikt påvisas.

Kombineras ovanstående provtagningsstrategi, för att visa på frihet från *M. bovis*, med noggranna smittskyddsrutiner samt isolering och provtagning vid nyintroduktion av djur till besättningen kan en god säkerhet om smittfrihet från *M. bovis* uppnås.

Slutsatser

I besättningar med gott smitt skydd där inga nya djur har tillförts besättningen under det senaste halvåret och en stallsäsong har passerat sedan senaste introduktion är vår rekommendation att provta 20 djur per grupp/stall.

Om andelen smittade djur med antikroppar är lägre än cirka 20 % behöver fler djur provtas för att öka säkerheten.

Provtagning av riskdjur, till exempel djur som varit sjuka och upprepade provtagningar i besättningen ökar säkerheten i resultatet i besättningar där antikroppar inte hittas.

Genom provtagning tillsammans med noggranna smittskyddsrutiner samt isolering och provtagning vid nyintroduktion av djur till besättningen kan en god uppfattning om förekomst av djur med antikroppar mot *M. bovis* i besättning fås.

Referenser

Andersson, A.-M., Aspán, A., Wisselink, H. J., Smid, B., Ridley, A., Pelkonen, S., Autio, T., Lauritsen, K. T., Kensø, J., Gaurivaud, P., & Tardy, F. (2019). A European inter-laboratory trial to evaluate the performance of three serological methods for diagnosis of *Mycoplasma bovis* infection in cattle using latent class analysis. BMC Veterinary Research, 15(1), Article 369.

Projektet

Projektet har genomförts i samarbete mellan Växa och Gård & Djurhälsan med finansiering via branschutvecklingspengen via Svenska Köttföretagen.

Julia Österberg, Veterinär, Ann Nyman, Epidemiolog, Lena Stengärde, Veterinär, Växa och Katinca Fungrbrant, Veterinär, Gård & Djurhälsan.