

KARIN PERSSON WALLER, leg veterinär, VMD, docent, statsveterinär,
 YLVA LINDÉN, distriktsveterinär,
 JOHANNA WINBERG, distriktsveterinär,
 GUNILLA BLOMQVIST, biträdande statsveterinär,
 LENA RENSTRÖM, laboratorieveterinär och
 JEAN-FRANCOIS VALARCHER, laborator*

Infektion med pseudocowpoxvirus

Besättningsutbrott av ulcerativ pustulär vulvovaginit hos mjölkkor

I artikeln beskrivs ett utbrott av sår på vulva och i vagina hos kor i en mjölkbesättning. Eftersom sjukdomen hade ett ovanligt och mycket smittsamt förlopp gjordes en utredning, som visade att utbrottet av vulvovaginit orsakats av infektion med pseudocowpoxvirus.

BAKGRUND

Kliniskt förlopp

I februari 2014 drabbades ett tiotal kor i en lösdriftsbesättning med ca 80 mjölkkor i södra Sverige av knutor och småsår i vulvaregionen och veterinär kallades till gården. Vid klinisk undersökning hade de drabbade korna opåverkat allmäntillstånd utan feber, men några hade

flytning från vagina. En ko hade veckan före kastat i sjunde dräktighetsmånaden. Sjukdomen spred sig snabbt i besättningen och redan efter ca en vecka hade runt hälften av korna samma typ av förändringar i vulva, några även med fula flytningar och blåsor i vaginalslemhinnan. Efter ytterligare några veckor hade cirka 90 procent av korna drabbats. ►



FOTO: JOHANNA WINBERG, DISTRIKTSVETERINÄRERNA.

FIGUR 1. Sår med krustor på vulva hos mjölkko drabbad av falska kokoppor.



FOTO: JOHANNA WINBERG, DISTRIKTSVETERINÄRERNA.

FIGUR 2. Blåslänkande förändring i vagina hos mjölkko drabbad av falska kokoppor.

► Fortfarande fanns dock inga tecken på påverkat allmäntillstånd hos djuren eller minskad mjölkproduktion. Vid närmare undersökning sågs multipla inflammationshärdar med krustabildning i vulvaområdet (Figur 1). De flesta av korna hade även inflammationshärdar av varierande storlek i slemhinnan i bakre delen av vagina (Figur 2). Förändringarna i hud och slemhinnor började med fokal rodnad och svullnad följt av blåsliknande lesioner, erosioner och krustabildning. Lesionerna i huden var i början nästan cirkulära men växte ihop till större områden på vissa ställen. En ko hade hudförändringar som liknade dermatofilos på stora partier på kroppen och en ko hade krustor på mjölkspegeln. Inga kalvar drabbades.

På grund av det smittsamma förloppet och oklar orsak kontaktades Jordbruksverket och SVA under den första veckan av sjukdomsutbrottet. För att utesluta infektion med bovin herpesvirus 1 (IBR/IPV) analyserades svabbprov från akuta hudförändringar och tankmjölk, med negativt resultat avseende förekomst av virus respektive antikroppar mot virus. Andra epizootisjukdomar med blåsbildning som t ex mul- och klövsjuka uteslöts baserat på en avvikande symtombild. Eftersom sjukdomsförloppet var ovanligt beslutades att fallet skulle utredas i detalj med ytterligare provtagningar. Då spridningen var så snabb misstänktes i första hand en virussjukdom men annan infektion med t ex ureaplasma eller mykoplasma kunde inte uteslutas.

Möjliga differentialdiagnoser

På grund av förändringarnas utseende och kunskap om vilka virus som förekommer hos nötkreatur i landet misstänktes i första hand infektion med parapoxvirus eller herpesvirus.

Det finns två arter av parapoxvirus som kan infektera nötkreatur, pseudocowpoxvirus och bovin papulärt stomatitvirus. Infektion med pseudocowpoxvirus yttrar sig främst som hudförändringar, så kallade falska kokoppor, på spenar och juver medan förändringar på grund av infektion med bovin papulärt stomatitvirus oftast ses på mulen och läpparna eller i munslemhinnan (3, 4). I Sverige har

utbrott i mjölkbesättningar med förändringar på spenarna som misstänkts vara falska kokoppor observerats och i vissa av dessa fall har parapoxvirus påvisats. Bovint mammilitvirus 2 (BHV2), ett herpesvirus som troligen finns i landet, kan också orsaka smittsamma blåsor och sår på spenarna (3, 4). Inget av nämnda virus har dock associerats med infektiös vulvovaginit.

Infektion med bovin herpesvirus 1 (BHV1) kan orsaka infektiös pustulär vulvovaginit (IPV) med rodnad, knutor, vesikler eller pustler i vaginalslemhinnan, svullen vulva, feber med flera symptom, enligt epiwebb.se. Infektion med BHV1 är en epizootisjukdom som för närvarande inte finns i Sverige (Sverige friförklarades 1998).

Granulär vulvovaginit yttrar sig som hyperemi i vulva och förekomst av 1–2 mm sammanväxande granulae i epitelet i vulva och vagina (5). Sjukdomen anses ha samband med infektion med *Ureaplasma diversum* eller *Mycoplasma* spp (5, 7). Förekomsten i Sverige är inte känd.

I Israel har besättningsutbrott av bovin nekrotisk vulvovaginit konstaterats (2). Denna sjukdom yttrar sig oftast som erytem följt av hemorragisk nekros i kaudala vagina och har associerats med fynd av *Porphyromonas levii* som är en gramnegativ anaerob bakterie.

PROVTAGNINGAR OCH LABORATORIE-UNDERSÖKNINGAR

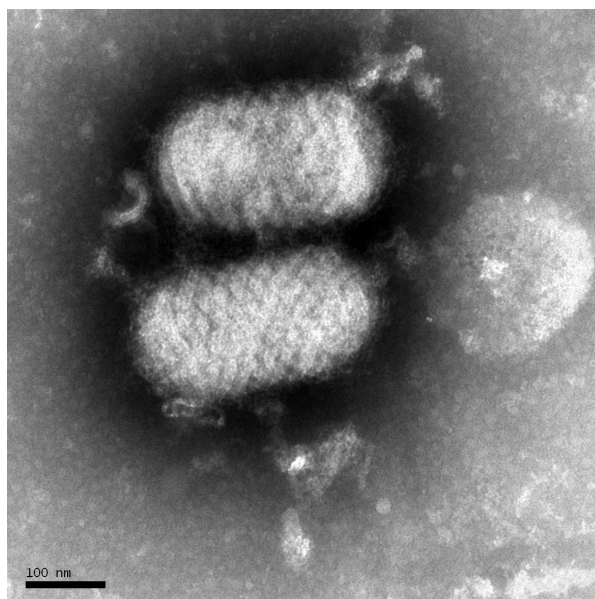
Från en ko i den drabbade besättningen med omfattande hudförändringar som liknade dermatofilos togs ett samlingsprov av krustor från hudförändringar på länden för rutinmässig bakteriologisk undersökning. Från två kor med hudförändringar i vulva som bedömdes vara i akutfasen av sjukdomen (en till två dagar sedan första symptom) togs två biopsier från övergången mellan frisk

och sjuk vävnad. Den ena biopsin fixerades för histopatologisk undersökning. Den andra biopsin skickades ofixerad i sterilt provrör för undersökning av förekomst av mykoplasma/ureaplasma-DNA samt för virologisk undersökning. Samtliga prover sändes till SVA.

RESULTAT AV UNDERSÖKNINGARNA

Enligt den histopatologiska undersökningen var den patologisk-anatomiska diagnosen akut ulcerativ pustulös vulvit för båda biopsikorna. Mikroskopiskt sågs ulcerativ dermatit med intraepidermal förekomst av mikroabscesser. Reaktionerna sågs i överhuden som en uppsvällning (ballooning), separation och degeneration av keratocyterna (apoptos, nekros) och ett flertal ansamlingar av neutrofila granulocyter i och på epidermis. I underhuden sågs cellinfiltration (eosinofila granulocyter, lymfocyter och plasmaceller) huvudsakligen i anslutning till blodkärl. Inga inklusionskroppar påvisades men reaktionerna bedömdes vara av den typ som kan ses vid primär virusinfektion.

I prov från hudförändringar som liknade dermatofilos kunde ingen växt av *Dermatophilus congolensis* påvisas. Bakteriologisk odling av provet visade dock växt av *Staphylococcus hyicus* i riklig blandflora. PCR-undersökningen av



FIGUR 3. Elektronmikroskopisk bild av pseudocowpoxvirus isolerat från vävnad från kor med vulvovaginit.

FOTO: ELENOR HAUZENBERG, FOLKHÄLSOMYNDIGHETEN.

biopsimaterial avseende mykoplasma/ureaplasma var negativ.

Trots upprepade försök kunde virus inte isoleras från vävnadsmaterialet eller från det svabbprov som skickats in tidigare. Vid elektronmikroskopisk undersökning av svabbmaterialet kunde dock förekomst av parapoxvirus påvisas (Figur 3). Sekvensering av extraherat virus från svabbprovet visade att parapoxviruset utgjordes av pseudocowpoxvirus.

PSEUDOCOWPOXVIRUS

Utredningen visade att utbrottet av vulvovaginit i besättningen orsakats av infektion med pseudocowpoxvirus. Enligt författarnas kännedom har besättningsutbrott med sådan virusinfektion i vulvaområdet inte rapporterats tidigare.

Pseudocowpoxvirus är ett DNA-virus som tillhör släktet parapoxvirus i familjen *Poxviridae*. Som nämnts uppträder förändringar till följd av detta virus vanligen på kornas spenar men kan ibland även ses på juver och mjölkspigel (3, 4, 6). Enligt litteraturen kan pseudocowpoxvirus även orsaka förändringar på mulen och i munnen hos kalvar som diar infekterade kor (4). Ett besättningsutbrott med vesikler och krustor på mulen hos 6–48 månader gamla nötkreatur (alla avvanda) smittade med pseudocowpoxvirus har dock rapporterats i Brasilien (1). Smittkällan kunde inte fastställas. Infektion med parapoxvirus är en zoonos och kan leda till hudförändringar hos människa, vanligen på händerna.

Patogenes och symptom

Pseudocowpoxvirus infekterar hud via hudskador. Smittspridning inom besättningen sker t ex genom direktkontakt mellan djur samt via mjölkkningsutrustning, händer, kalvar som diar flera kor, stallinredningen samt eventuellt med flugor och bitande insekter.

Vid infektion på spenarna ses först små röda prickar i huden omgivna av rodnad och svullnad. Senare uppkommer blåsor som så småningom går sönder (Figur 4). När skadorna läker bildas karakteristiska ring- eller hästskeformade hudförändringar (Figur 5). Såren läker oftast inom en månad men om de



FIGUR 4. Spenskada orsakad av falska kokpor, en dag gammal.



FIGUR 5. Spenskada orsakad av falska kokpor, fyra dagar gammal.

blir infekterade med bakterier tar läkningen längre tid. Korna blir immuna men kan infekteras igen inom sex till tolv månader. Ibland kan långvariga besättningsproblem uppstå. Spridning av infektionen inom besättningen kan ske olika snabbt men alla vuxna djur i en besättning kan bli infekterade. Enligt Radostits och medarbetare (6) drabbas sällan djur som är under två år gamla om de inte har kalvat. Däremot är nykalvade kor och djur som nyligen introducerats i besättningen mer mottagliga.

Behandling

Det är ofta svårt att behandla infektion med pseudocowpoxvirus men rekommendationen vid virusorsakade hudförändringar på spenar och juver är att tvätta juver och spenar eller doppa spenarna (om skadorna enbart finns på spenarna) med en produkt som har dokumenterad effekt mot både virus och bakterier. Helst bör medel som även innehåller mjukgörare användas för att undvika att huden blir uttorkad. Exempel på spenvårdande produkter som i laborietester visats ha god effekt mot parapoxvirus är Green Dip, HM VIR GOLD och Quaress-Lac. Jod har också effekt mot virus men det är inte helt

klart vilken koncentration som behövs för att inaktivera parapoxvirus. Det är dock troligt att spenvårdande produkter med minst 2500 ppm jod i kombination med mjukgörare är effektiva. Tvätt eller doppning med en procentig Virkon S-lösning har enligt uppgift också god effekt mot pseudocowpoxvirus men är uttorkande för huden.

Förebyggande

Smittspridning till en besättning undviks enklast genom att inte köpa in djur. Smittspridning inom en besättning motverkas t ex genom att isolera sjuka djur, att mjölka dessa sist och att använda mjölkkningshandskar. Flugbekämpning kan också bidra till att förkorta sjukdomsperioden liksom riklig användning av spendopp med visad effekt och tillsats av mjukgörare till alla mjölkande kor. Det finns inget vaccin tillgängligt. Viruset är motståndskraftigt mot desinfektion, kyla, värme och uttorkning och kan överleva länge (troligen flera år) i damm och torra hudkrustor.

UPPFÖLJNING OCH DISKUSSION

I den drabbade besättningen började förändringarna läka av efter ca en månads sjukdom. I slutet av maj, cirka ➤

➤ 3,5 månader efter utbrottets start, hade symtomen försvunnit från de flesta kor men i juli (cirka sex månader efter utbrottets start) hade fortfarande enstaka kor hudförändringar, om än i mindre omfattning. Enligt djurägarna är det främst nykalfvade kor som drabbats och oftast har dessa kor bara haft några enstaka sår. Sedan starten på utbrottet har inga tecken på stort allmäntillstånd eller minskad mjölkproduktion kunnat ses. Dräktighetsresultatet har inte påverkats negativt men djurägarna valde att vänta med inseminering tills förändringarna i vulva/vagina läkt av. Inga kalvar eller kvigor drabbades av virussyntom.

Symtom på infektion med parapoxvirus hade inte förekommit tidigare i besättningen varför det är troligt att smittan introducerades i besättningen någon tid före utbrottet. Inkubationstiden är cirka en vecka men virus kan ha funnits latent i besättningsmiljön, virus kan t ex överleva länge i damm. Det är inte troligt att virus kommit in i besättningen via inköp av djur eftersom inga sådana gjorts sedan januari 2013. Överföring via flugor, utrustning eller människor är dock en möjlighet. Djurägarna har enligt uppgift inte själva gjort några besök i djurstallar på andra gårdar. De besökare som haft kontakt med besättningens kor har främst varit veterinärer och seminörer.

Infektion med parapoxvirus förutsätter hudskada av något slag. Förändringarnas lokalisering talar för att skador i huden/slemhinnan i vulva/vagina var inkörsporten för virusinfektionen. Direkt smitta mellan djuren skulle kunna ske genom att de slickar varandra eller gnider ändan mot varandra, ett beteende som dock inte observerats. Hudförändringar har heller inte observerats på mulen eller i munnen eller på andra kroppsdelar. Andra möjliga smittspridningsvägar är överföring av virus med flugor, mekaniskt i samband med inseminering eller via inredning som ryktborstar. I besättningen fanns en frihängande ryktborste som var ganska ny vid starten av utbrottet. En möjlig teori är att ryktborsten orsakat små skador i huden runt svansrot/vulva/perineum så att virus kunnat infektera området. Borsten togs bort när smittspridningen

var som mest omfattande. Efter rejäl tvätt och desinfektion placerades borssten åter i stallet i mitten/slutet av april. Enligt djurägarna tvättas den numera regelbundet och sprayas med Virkon-lösning.

Utbrottet verkar inte ha lett till några allvarliga ekonomiska konsekvenser för djurägarna eftersom djurens allmäntillstånd och mjölkproduktion inte påverkats negativt. Däremot har inseminering av vissa kor försenats eftersom djurägarna klokt nog valde att inte inseminera kor med förändringar för att undvika smittspridning med insemineringsutrustning och obehag för korna. Djurägarna har varit mycket medvetna om risken för smitta och har därför undvikit att sälja livdjur till andra besättningar. De har enbart sålt förmedlingskalvar till specialiserade nötköttproducenter. Enligt uppgifter från köparna har dessa kalvar inte visat symtom efter försäljning.

FÖRFRÅGAN

Författarna är tacksamma om läsare som känner till gamla eller nya liknande fall hör av sig till Karin Persson Waller eller till Avdelningen för virologi, immunbiologi och parasitologi, SVA (telefon 018-67 40 00). Vi vill också att läsarna kontaktar oss vid pågående fall med misstänkta hudförändringar, framför allt på spenar men också på andra hudområden. Vi är intresserade av att få provmaterial från sådana fall för virusisoleringsförsök och för att kunna jämföra virus från olika typer av fall.

TACK

Författarna vill rikta ett varmt tack till Elenor Hauzenberg för elektronmikroskopisk undersökning av viruset och till Mikael Lejon och Karin Ullman för sekvensering av viruset.

SUMMARY

Outbreak of ulcerative pustular vulvovaginitis caused by pseudocowpox virus in a Swedish dairy herd

The article describes an outbreak of lesions on the vulva and in the vagina of cows in a dairy herd. In a couple of weeks, around 90 per cent of the cows were affected. The changes in the skin and mucous membranes began with

focal redness and swelling, followed by blister-like lesions, erosions and crusting. No signs of disturbed general condition or decreased milk production could be seen. Since the disease had an unusual and highly infectious process, a study was carried out that showed that the outbreak of vulvovaginitis was caused by a pseudocowpox virus infection. According to the authors' knowledge, a herd outbreak of such a viral infection in the vulva area has not previously been reported.

Referenser

1. Cargnelutti JF, Flores MM, Teixeira FR, Weiblen R & Flores EF. An outbreak of pseudocowpox in fattening calves in southern Brazil. *J Vet Diagn Invest*, 2012, 24, 437–441.
2. Elad D, Friedgut O, Alpert N, Stram Y et al. Bovine necrotic vulvovaginitis associated with *Porphyromonas levii*. *Emerging Infectious Diseases*, 2004, 10, 505–507.
3. Kahrs RF. *Viral diseases of cattle*, 2nd ed. Oxford, Wiley-Blackwell, 2001.
4. MacLachlan NJ & Dubovi EJ. *Fenner's veterinary virology*, 4th ed. Elsevier Inc, 2011.
5. Mulira GL, Saunders JR & Barth AD. Isolation of *Ureaplasma diversum* and mycoplasmas from genital tracts of beef and dairy cattle in Saskatchewan. *Can Vet J*, 1992, 33, 46–49.
6. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW & Constable PD. *Veterinary medicine*, 10th ed. Philadelphia, Saunders Elsevier, 2007.
7. Thornton R & Waker H. *Ureaplasma* in New Zealand dairy cattle. *Surveillance*, 1997, 24, 15–16.

***KARIN PERSSON WALLER**, leg veterinär, VMD, docent, statsveterinär, Avdelningen för djurhälsa och antibiotikafrågor, SVA, 751 89 Uppsala och adjungerad professor, Institutionen för kliniska vetenskaper, SLU, Box 7054, 750 07 Uppsala.

YLVA LINDÉN, distriktsveterinär, Distriktsveterinärerna i Karlshamn, 374 32 Karlshamn.

JOHANNA WINBERG, distriktsveterinär, Distriktsveterinärerna i Karlshamn, 374 32 Karlshamn.

GUNILLA BLOMQVIST, biträdande statsveterinär, Avdelningen för virologi, immunbiologi och parasitologi, SVA, 751 89 Uppsala.

LENA RENSTRÖM, laboratorieveterinär, Avdelningen för virologi, immunbiologi och parasitologi, SVA, 751 89 Uppsala.

JEAN-FRANCOIS VALARCHER, laborator, Avdelningen för virologi, immunbiologi och parasitologi, SVA, 751 89 Uppsala.