



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

Fordypningsoppgave 2023
NMBU Veterinærhøgskolen

***Campylobacter* som årsak til abort hos sau**

Campylobacter as a Cause of Ovine Abortion

Sigrid Loopstra & Signe Lystad
Kull 17

Hovedveileder: Cecilie Ersdal
Medveileder: Sabrina Rodriguez-Campos

Innhold

Sammendrag.....	5
Innledning.....	6
Abort hos sau i Norge.....	6
Bakterien <i>Campylobacter</i>	7
<i>Campylobacter</i> hos dyr	8
<i>Campylobacter</i> hos mennesker	8
<i>Campylobacter</i> -abort hos sau.....	9
Patogenese.....	10
Makroskopiske forandringer hos aborterte lam og i fosterhinner	11
Vekstmedier for <i>Campylobacter</i>	11
Oppformeringsmediet Thomann transport and enrichment medium	12
Utseende av kolonier på skål.....	12
Polymerase chain reaction (PCR)	12
MALDI-ToF massespektrometri.....	14
Formål	14
Materiale og metoder	15
Materiale.....	15
Metoder	15
Obduksjon	15
Bakteriologi.....	16
Resistenstesting	19
MALDI-ToF massespektrometri.....	19
DNA-isolering.....	20
Kvantitativ måling av DNA	20

PCR.....	20
Besetningsbesøk.....	22
Avføringsprøver.....	22
Resultater.....	22
Materialets opprinnelse	22
Årsaker til aborterte, død- og svakfødte lam sesongen 2022	23
<i>Campylobacter</i> -infriserte foster.....	24
Obduksjonsfunn fra ni foster.....	24
Direktemikroskopiering av løpeinnhold	28
Dyrkningsfunn	28
Morfologi av <i>Campylobacter</i> -kolonier på skål	29
Skirrow-skål.....	29
CCDA-skål.....	30
Fasekontrast fra skåler med vekst av <i>Campylobacter</i>	31
Resistenstesting mot tetracykliner.....	32
MALDI-ToF massespektrometri.....	32
Hippurattest	33
Besetningsbesøk i flokken med <i>Campylobacter</i> -abort.....	33
Observasjoner på gården.....	33
Forløp og omfang av kastingen.....	35
Avføringsprøver	37
Resultat av DNA-ekstraksjon.....	37
qPCR	38
Diskusjon.....	38

Patologiske funn ved obduksjon	39
Dyrking av <i>Campylobacter</i>	40
Utseende av kolonier på skål og av bakterier i fasekontrast	43
Hippuratest	44
PCR	44
Besetningsutbruddet	44
Resistens.....	45
Epidemiologi og mulige smittekilder	46
Hygieniske rutiner og smitteforebygging.....	49
Konklusjon	50
Takk til bidragsytere.....	51
Summary	52
Referanser.....	53
Vedlegg	62

Sammendrag

Tittel: *Campylobacter* som årsak til abort hos sau

Forfattere: Sigrid Loopstra & Signe Lystad

Veileder: Hovedveileder: Cecilie Ersdal, Institutt for produksjonsdyrmedisin

Medveileder: Sabrina Rodriguez-Campos, Institutt for parakliniske fag

Bakteriene *Campylobacter jejuni*, *C. fetus* og *C. coli* kan gi abort hos sau, og i flere land er disse av de vanligste bakterielle årsakene. De er svært smittsomme og kan gi store tap av foster. Formålet var å undersøke forekomsten av *Campylobacter* hos abortfoster, død- og svakfødte lam som kom inn til obduksjon ved Veterinærhøgskolen i Sandnes i sauesesongen 2022. Et delmål var å utvikle en enkel metode for diagnostikk av *Campylobacter*-abort. Studien inkluderte 129 lam fra 45 besetninger hovedsakelig fra Rogaland og Vestland. Det ble utført en full obduksjon av fostra etter standard protokoll, og løpeinnhold og/eller kotyledon ble i tillegg sådd ut på spesialmediene CCDA og Skirrow. Fra organprøver ble det utført qPCR for *C. fetus*.

C. jejuni ble påvist fra én besetning. qPCR for *C. fetus* ga ingen positive funn.

Campylobacter-infriserte lam hadde variert patologi, og flere hadde tegn på alvorlig infeksjon. Studien viste at ved tegn til systemisk infeksjon hos kastefoster, døde- og svakfødte lam, bør disse undersøkes spesifikt for *Campylobacter*. Det var tilstrekkelig å dyrke *C. jejuni* i to dager. Bakterien ble også dyrket fra avføring fra aborterte søyer, noe som viser at god hygiene og isolasjon er nødvendig for å redusere omfanget av aborter.

Innledning

Abort hos sau i Norge

Fruktbarheten hos norske søyer er generelt god (Vatn et al., 2008). Likevel kan enkelte besetninger lide store tap på grunn av smittsomme agens som fører til abort. Infeksiøse årsaker til abort er vanligvis agens som finnes i miljøet som søyene står i, eller agens som finnes som kommensaler i dyret. Søyer rundt lamming vil være immunkomprimerte, og er mer mottakelige for infeksjon, inkludert opportunistiske bakterier (Sahin et al., 2017).

I sauekontrollen viste årsstatistikken for 2022 at 4,2 % av para søyer fikk dødfødte lam i Norge. Med para søyer menes voksne og gimrer som er registrert med lam, har kastet eller er tomme (Animalia, 2022). Disse søyene fikk totalt 34 149 dødfødte lam, og av disse var 71 % registrert som fullbårne, 18 % som ikke-fullbårne og 11 % som ukjent/ingen informasjon (M.-H. Rud, Animalia, personlig kommunikasjon).

Det er angitt at omtrent 98 % av abortene hos sau skyldes infeksiøse agens (Vatn et al., 2008). I en fordypningsoppgave fra 2013 som omhandlet toksoplasmose hos sau ble det laget en oversikt over de ulike årsakene til abort, dødfødsel og svakfødte lam. Materialet var hovedsakelig fra Rogaland og ble obdusert i 2011 og 2012 ved seksjon for småfeforskning. Av de infeksiøse agensene var det parasitten *Toxoplasma gondii* som var den vanligste årsaken, og utgjorde 23 % av abortene, og *Listeria monocytogenes* (4 %) var den nest vanligste. Andre infeksiøse årsaker som ble diagnostisert var *Escherlicia coli* (1 %), *Bacillus licheniformis* (< 1 %) og *Trueperella pyogenes* (< 1 %). *Campylobacter* ble ikke funnet i dette materialet. I 60 % av tilfellene var det ingen verifisert årsak (Hansen & Odden, 2013).

Bakterien *Campylobacter*

Genus *Campylobacter* tilhører familien *Campylobacteraceae*, og slekta består av ni ulike arter. Denne oppgaven omfatter *Campylobacter jejuni*, *C. fetus* og *C. coli*. *C. fetus* har to underarter; *C. fetus* ssp. *veneralis* og *C. fetus* ssp. *fetus* (Duhamel, 2022).

Campylobacter er små, gram-negative, tynne og bøyde staver. De er 0,2-0,9 µm brede og 0,5-5,0 µm lange. Når to eller flere bakterieceller er koblet sammen, kan de danne S- eller måkevingeform og kan finnes som spiraler i utstryk. De er bevegelige ved at de har en flagell på den ene eller i begge ender (Duhamel, 2022).

Campylobacter er mikroaerofile bakterier (Duhamel, 2022). Det betyr at de krever lavere oksygenkonsentrasjoner og høyere karbondioksidkonsentrasjoner for å vokse enn det er i romluft. Optimalt miljø er mellom 3-10 % oksygen og 3-15 % karbondioksid. Alle *Campylobacter*-artene vokser ved 37 °C, men de termofile *Campylobacter*-artene *C. jejuni* og *C. coli* vokser mye bedre ved 42 °C. De fleste artene slik som *C. jejuni* og *C. coli* vokser ikke under 30 °C (Duhamel, 2022), men *C. fetus* kan vokse ved 25 °C (Markey et al., 2013). Noen kilder angir at *C. fetus* ikke vokser ved 42 °C (Quinn et al., 2011), men andre angir dårlig vekst ved 42 °C (Duhamel, 2022; Markey et al., 2013).

Bakteriene er følsomme for miljøpåvirkninger som tørke (Kapperud, 2015). De tåler frysing og tining svært dårlig, da er det mange bakterier som dør. Selv om de ikke kan vokse ved lavere temperaturer, så kan de overleve fra flere dager til uker i organisk materiale som avføring, kjøtt og melk (Duhamel, 2022). *Campylobacter* kan også overleve flere uker i kaldt vann (Gilpin et al., 2020). Bakterien kan danne biofilm, og den kan formere seg intracellulært i akvatiske amøber (Kapperud, 2015).

***Campylobacter* hos dyr**

Campylobacter jejuni, *C. coli* og *C. fetus* ssp. *fetus* er vanlige tarmbakterier hos en rekke pattedyr og fugler (Kapperud, 2015; Quinn et al., 2011). Ville fugler er trolig det viktigste reservoaret for *Campylobacter* i naturen i Norge. Dyrene er som regel friske bærere av bakteriene (Kapperud, 2015). *C. jejuni* finnes i tarmen til fugler og pattedyr. Småfe- og storfetarm er vanlige habitater for *C. fetus* ssp. *fetus*, og *C. coli* finnes i tarmen hos svin, storfe og mennesker (Kapperud, 2015; Quinn et al., 2011). Hos storfe blir *C. jejuni* oftere isolert enn *C. coli* (Kapperud, 2015). Hos sau er ikke *Campylobacter* uvanlig, og omtrent 30 % av sauer i Sør-Norge har *C. jejuni* (Kapperud, 2015). I en studie av friske sauer fra et saueslakteri i USA ble *Campylobacter* isolert fra tynntarminnhold hos 44 % og fra galleprøver hos 11 % (Sahin et al., 2017).

Bakteriene kan også gi sykdom hos dyr. *C. fetus* ssp. *veneralis* har storfe som vert og forårsaker veneral sykdom karakterisert ved tidlig embryodød og infertilitet. Den kan også gi sporadisk abort hos storfe (Duhamel, 2022). Bovin genital campylobakteriose er en liste 2 sykdom i Norge, og den er meldepliktig til Verdensorganisasjonen for dyrehelse (OIE) (Dyrehelseforskriften, 2022). *C. fetus* ssp. *fetus* og *C. jejuni* kan forårsake abortutbrudd hos sau og sporadisk abort hos geit og storfe. *C. coli* gir også abort hos sau, men er mye mindre vanlig enn *C. fetus* og *C. jejuni* (Duhamel, 2022). *C. jejuni* kan forårsake enteritt hos valper og kattunger (Duhamel, 2022).

***Campylobacter* hos mennesker**

Sykdommen campylobakteriose hos menneske, forårsaket av *C. jejuni*, *C. coli* og *C. fetus* ssp. *fetus*, er en zoonose (Duhamel, 2022; Kapperud, 2015). I de fleste land antar man at fjørfeprodukter er den vanligste smitekilden. Det er beskrevet vannbårne utbrudd av

campylobakteriose fra en rekke land (Gilpin et al., 2020; Kapperud, 2015), blant annet på Askøy i Norge i 2019. Da var drikkevannet forurenset med *C. jejuni* som ga sykdom hos flere mennesker (Folkehelseinstituttet et al., 2019).

Undersøkelser i Oslo-regionen har vist at *C. jejuni* og *C. coli* finnes regelmessig i overflatevannkilder hele året. Den infektive dosen kan være svært lav; færre enn 1000 bakterier (Kapperud, 2015). I 2022 ble det rapportert 2980 tilfeller av campylobakteriose til Folkehelseinstituttet sitt meldingssystem for smittsomme sykdommer, MSIS (Folkehelseinstituttet, 2023). Hos mennesker vil sykdommen variere fra kortvarig gastroenteritt til mer alvorlig enterokolitt med magesmerter og blodig diaré.

Campylobakteriose hos menneske er som regel selvbegrensende (Kapperud, 2015). To sjeldne, men alvorlige tilstander som kan oppstå ved campylobakteriose, er Guillain-Barré syndrom og reaktiv artritt (Murray et al., 2016).

***Campylobacter*-abort hos sau**

Det er ingen publiserte artikler om forekomst av *Campylobacter* spp. som abortårsak hos sau i Norge. Bakterien er derimot påvist ved seksjon for småfeforskning i sjeldne tilfeller (C. Ersdal, personlig meddelelse). Bakterien beskrives som årsak til abort hos sau i flere andre land. I USA er *Campylobacter* den nest vanligste årsaken til abort hos søye, og bakterien er den tredje hyppigste årsaken til abort i England og Wales (Sahin et al., 2017). I Storbritannia og New Zealand er den dominerende arten *C. fetus* ssp. *fetus* (Sahin et al., 2017), mens i USA er *C. jejuni* den vanligste arten som fører til abort (Sahin et al., 2008).

Campylobacter-infeksjon hos sau kan være subklinisk eller forårsake enteritt, infertilitet og metritt i tillegg til abort (Vatn et al., 2008; USDA/APHIS, 2014). Søyene kan dø av septicemi hvis de har et dødt og retent foster infisert med *Campylobacter* (Sahin et al., 2008). Bakterien

spres gjennom flokken ved oral smitte via kontaminasjon fra avføring, aborterte foster, fosterhinner og uterin utflod (USDA/APHIS, 2014; Duhamel, 2022; Sahin et al., 2017). Inkubasjonstiden er vanligvis mellom 14 og 21 dager (Sahin et al., 2017). Aborten skjer gjerne tre til fire uker etter infeksjon, men det kan gå opp til to måneder (Duhamel, 2022). Hos søyer vil *C. jejuni* og *C. fetus* vanligvis føre til abort i siste trimester av drektigheten, eller gi dødfødte eller svakfødte lam (USDA/APHIS, 2014; Sahin et al., 2017). *C. coli* gir også sene aborter, men den er mindre vanlig enn *C. jejuni* og *C. fetus* (Sahin et al., 2017). Ved et abortutbrudd i en besetning er det i mange tilfeller først en eller to søyer som aborterer, og deretter blir det en bratt økning i antallet aborter, en såkalt stormabort, i løpet av noen uker. Sauer av alle aldre og raser kan bli affisert (Sahin et al., 2017). Omfanget i en rammet flokk er normalt rundt 25 % (Duhamel, 2022), men kan variere fra 5-50 % (Sahin et al., 2017). Etter gjennomgått infeksjon utvikler søyene vanligvis god immunitet mot *Campylobacter* (Quinn et al., 2011; Sahin et al., 2017), men de kan også bli persistent infiserte og dermed stadig skille ut bakterien (USDA/APHIS, 2014). *Campylobacter*-aborter oppstår typisk hvert fjerde til femte år hos sauegårder med endemisk *Campylobacter*-problem (Sahin et al., 2017).

Patogenese

Når drektige søyer blir eksponert for *Campylobacter* oralt, vil bakteriene i tarmen feste seg til tarmepitelet via adhesiner og replikere før de eksocytteres fra den basolaterale membranen (Quinn et al., 2011). Bakteriene kommer over i blodbanen og fører til en bakteriemi etterfulgt av en placentitt (Duhamel, 2022; Sahin et al., 2017). *C. jejuni* og *C. fetus* er toksinproduserende (Duhamel, 2022; Quinn et al., 2011; Sahin et al., 2017). Via hematogen smitte over placenta kan fosteret bli infisert, og føre til abort (Duhamel, 2022; Sahin et al., 2017). *Campylobacter* har ulike mekanismer for å unngå vertens immunsystem, blant annet har *C. jejuni* en cellevegg med lipooligosakkarid (LOS) som unngår immunsystemet til tarmceller, og *C. fetus* har en mikrokapsel som hindrer bakterien i å bli fagocyttert av vertens

immunceller (Quinn et al., 2011). Bakterien kan tilpasse seg ved å endre genuttrykket sitt, og på den måten unngå immunresponsen til verten (Duhamel, 2022).

Makroskopiske forandringer hos aborterte lam og i fosterhinner

Aborterte foster kan være autolyserte fra mild til betydelig grad. De har ofte blodtilblandet væske i bryst- og bukhule som kan inneholde fibrin (pleuritt og peritonitt) (Sahin et al., 2017). Fokale levernekroser er mindre vanlig (Sahin et al., 2008). Levernekrosene ved *Campylobacter*-infeksjon er 1-4 cm store, multifokale, sirkulære og bleke. Den sirkulære formen kan minne om en smultring med lys farge (se figur 8). Fosterhinner kan ha flekkete, svulne kotyledoner (Hedstrom et al., 1987; Sahin et al., 2008), og de kan være dekket av brunrødt eksudat (Sahin et al., 2017). De interkotyledonære områdene kan være ødematøse, mildt fortykket og opake (Sahin et al., 2017).

Vekstmedier for *Campylobacter*

Det finnes mange ulike selektive vekstmedier laget for vekst av *Campylobacter*. De inneholder blod eller kull for å fjerne toksiske oksygenradikaler, og antibiotika for å hemme vekst av andre bakterier (Corry et al., 2003; Thermo Fisher Scientific Inc., u.å.). Charcoal cefoperazone deoxycholate agar (CCDA) og Skirrow-agar er blitt brukt i tidligere studier (Harwood et al., 2009; Schnydrig et al., 2017). CCDA er uten blod og inneholder blant annet kull og antibiotikaene cefoperazone og Amphotericin B. Skirrow-agar inneholder blant annet lysert hesteblood og antibiotikaene trimetoprim, vancomycin og Polymycin B (Corry et al., 2003; Thermo Fisher Scientific Inc., u.å.). *Campylobacter* kan også vokse på blodagar i mikroaerofilt miljø (Markey et al., 2013).

Oppformeringsmediet Thomann transport and enrichment medium

Lander's transport medium er utviklet av OIE for bedre overlevelse av *Campylobacter* (Harwood et al., 2009). Et annet og nyere medium som heter Thomann transport and enrichment medium (TTE), er laget for å kunne dyrke *Campylobacter fetus* ssp. *veneralis*. Lander's transport medium var letal for denne arten (Harwood et al., 2009). Senere studier har brukt TTE for å dyrke *Campylobacter* spp. (Schnydrig et al., 2017). TTE har lavere nivåer av antibakterielle komponenter, og næringsbuljongen er bedre for spesifikk vekst av kun *Campylobacter* og ikke andre kontaminanter enn det Landers' transport medium er (Harwood et al., 2009).

Utseende av kolonier på skål

Campylobacter-kolonier har ulikt utseende på Skirrow-skål og CCDA-skål. På Skirrow-skål skal koloniene typisk være flate, blanke og utflytende. Koloniene er lavt konvekse og har ofte brunlig farge (Corry et al., 2003). Ulike arter kan ha litt ulikt utseende på CCDA-skål. Kolonier av *C. jejuni* er vanligvis flate og grålige, og de er større enn *C. fetus*-kolonier som er små, 1 mm runde, svakt hevede, glatte, gjennomsiktige til svakt grå til rosa i fargen (Markey et al., 2013).

Polymerase chain reaction (PCR)

Prinsippet for polymerase chain reaction (PCR) er å påvise arvematerialet DNA eller RNA ved å oppformere små deler av dette (Fossum og Dissen, 2021). DNA eller RNA vil være spesifikt for det man vil finne. Oppformeringen gjør at det blir mange kopier av arvemateriale man leter etter og dermed mye enklere å identifisere. Temperaturen i PCR-maskinen heves til 95 °C som gjør at dobbelttrådet DNA splittes til enkelttrådet. Deretter senkes temperaturen til 52 °C og primere vil feste seg til den komplementære DNA-sekvensen. Et primerpar er korte sekvenser som er komplementære til begge ender av området man vil oppformere. DNA-

polymeraser fester seg til primeren og danner dobbeltrådet DNA fra den enkelttrådet ved å bygge på komplementære baser. Polymerasen fungerer optimalt på 72 °C, så temperaturen økes til dette. En slik syklus gjentas 25-35 ganger, og for hver gang blir antallet DNA-kopier doblet. Da får man et stort antall DNA-kopier av det man leter etter, om det finnes i prøvematerialet. For å gjøre PCR trenger man altså en blanding som inneholder primere, DNA-polymerase og nukleotider i tillegg til DNA som er isolert fra prøvematerialet man skal analysere (Fossum og Dissen, 2021).

Det er mange fordeler med PCR-analyse. Man kan oppdage et spesifikt gen selv om det finnes i svært små mengder. Metoden tar i seg selv lite tid. Det biologiske materialet trenger heller ikke å være levende for å kunne oppdages med PCR i motsetning til bakteriologisk dyrkning (Fossum og Dissen, 2021).

Det finnes ulike typer PCR som kvantitativ PCR, mPCR og endepunkts PCR (Staff, 2020). Ved kvantitativ PCR (qPCR), også kalt real-time PCR, kan man måle antall kopier av DNA man danner under prosessen. Da blir det brukt fluoriserende farge som lyser når en kopi dannes. Jo mer lys, jo flere DNA-kopier finnes i prøvematerialet. Mengden arvemateriale i prøven kan dermed kvantifiseres (Staff, 2020). M i mPCR står for multipleks, og betyr at man kan oppformere flere sekvenser i en prøve samtidig (Universitetet i Oslo, 2011). Ved endepunkts-PCR blir de oppformerte DNA-isolatene kjørt gjennom en agarosegel med elektroder. Isolatene vil vandre i ulik hastighet avhengig av størrelse. På denne måten blir det dannet bånd i gelen etter hvor DNA-et er. DNA-fragmentene kan observeres under UV-lys etter reaksjon med etidiumbromid (Universitetet i Oslo, 2011).

MALDI-ToF massespektrometri

Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight (MALDI-ToF) er en metode for å identifisere bakterier ved bruk av massespektrometri (Universitetet i Oslo, 2020). En massespektrometri analyserer biomolekyler i bakterier. Det er en rask og billig metode sammenliknet med andre metoder som gjør tilsvarende bakterieidentifisering. MALDI-ToF skiller mellom arter, men ikke mellom underarter. Metoden krever at man har renkultur av bakterien. Forenklet går metoden ut på at laserenergi skytes på prøvematerialet slik at det dannes ioner, og disse ionene vandrer gjennom vakuum i en hastighet basert på massestørrelse og ladning. En detektor registrerer tiden molekylene bruker på vandringen, og danner et spekter eller mønster som er spesifikt for bakteriearten (Universitetet i Oslo, 2020).

Formål

Ved et abortutbrudd hos sau forårsaket av *Campylobacter* er bakterien svært smittsom og kan gi store tap av foster. Det er derfor viktig å kunne identifisere bakterien for å stille en korrekt diagnose. Det finnes ingen publiserte norske artikler som forteller noe om forekomsten av abort hos sau forårsaket av denne bakterien, men både Veterinærhøgskolen, seksjon for småfeforskning i Sandnes og Veterinærinstituttet obduserer abortfoster og kan påvise *Campylobacter* spp. Siden det kreves spesielle dyrkningsbetingelser for bakterien er det viktig å kunne identifisere hvilket materiale som krever utvidet diagnostikk med tanke på *Campylobacter* og at denne diagnostikken ikke er for ressurskrevende.

Målet med vår kartleggingsstudie var å undersøke forekomsten av *Campylobacter* hos abortfoster, død- og svakfødte lam som kom inn til obduksjon ved seksjon for småfeforskning i sauesesongen 2022. Et delmål var å undersøke om det er samsvar mellom bakteriologisk dyrkning og PCR ved diagnostisering av *Campylobacter* fra aborterte foster, men dette lot seg

dessverre ikke gjennomføre på grunn av metodeutfordringer. Et annet delmål var å utvikle en enkel og god metode for diagnostikk av *Campylobacter*-abort for framtiden.

Materiale og metoder

Materiale

I denne oppgaven har det blitt undersøkt aborterte, død- og svakfødte lam og fosterhinner som ble sendt til NMBU Veterinærhøgskolen, seksjon for småfeforskning i Sandnes for obduksjon våren 2022. Dette inkluderte 129 lam fra 45 ulike besetninger. Inklusjonskriteriene var lik studiepopulasjonen som nevnt over. Eksklusjonskriteriene var de lamma som hadde levd mer enn ett døgn, de som hadde drukket melk, og lam som åpenbart hadde dødd på grunn av traume under fødsel. Aborterte, død- og svakfødte lam som kom inn til obduksjon var hovedsakelig fra nærområdet til Sandnes og fra Rogaland, men det kom også materiale fra Vestland fylke og i mindre grad fra andre deler av landet (se tabell 1). Disse områdene utgjorde referansepopulasjonen.

Metoder

Obduksjon

Det ble utført en full obduksjon av fostra etter standard protokoll. Foster fra andre trimester ble obdusert ved åpning av bryst- og bukhule. Organene ble inspisert, og hode ble skjært av. Standard bakteriologi på blodskål (egenprodusert, Veterinærhøgskolen Sandnes) inkluderte prøver fra løpeinnhold, lever, nyre, lunge, hjerte og hjerne.

Dersom fosterhinner fulgte med, ble disse undersøkt, og det ble dyrket fra kotyledoner.

Organprøver fra lever og/eller kotyledon ble fryst i -70 °C fra alle foster for eventuelle senere

studier. Dersom eier av fosteret ønsket *Toxoplasma*-PCR, ble en del av cerebrum og kotyledon tatt ut og fryst for senere analyse.

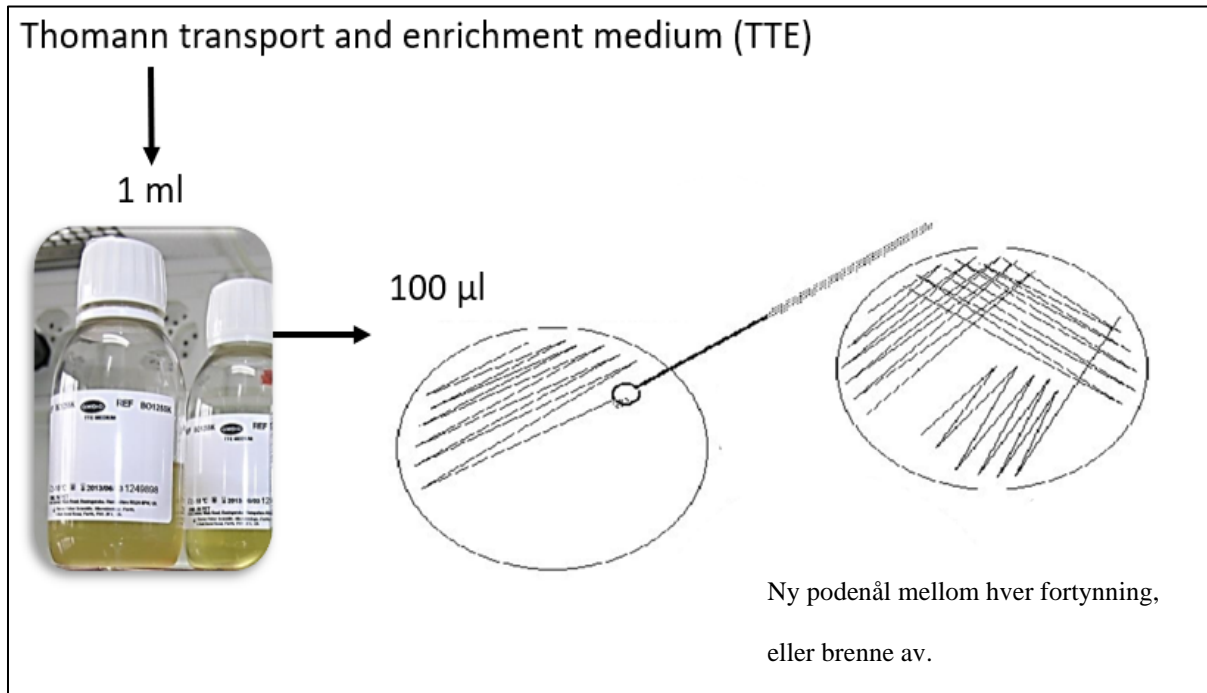
Bakteriologi

Ved dyrkning for *Campylobacter* ble kotyledon og løpeinnhold sådd ut på to ulike spesialmedier, Charcoal Cefoperozone Deoxycholate Agar (CCDA) og Skirrow-agar (Veterinærinstituttet, Ås). Hos foster uten fosterhinner, ble det sådd ut prøve fra lever i stedet for. Utsæd på CCDA-skål ble gjort på obduksjonssalen. Det ble brukt én til to skåler per individ. Samme dag ble CCDA-skålene inkubert i 42 °C i mikroaerofilt miljø i totalt fem dager. Skålene ble avlest på dag to og dag fem etter inkubering.

Før utsåing på Skirrow-skål, ble prøvematerialet oppformert i et oppformeringsmedium, Thomann Transport and Enrichment medium (TTE) (Veterinærinstituttet, Ås) (se figur 1). Under obduksjon ble 1 mL løpeinnhold overført i et 50 mL Falconrør (VWR Centrifuge tube, Radnor Corporate Center, Radnor, USA) og tilsatt 25 mL TTE-medium. Dette ble inkubert i to dager i 37 °C.

200 mg kotyledon (eventuelt lever) ble kuttet opp og tilsatt i et rør med kuler (MP Biomedicals™ Lysing Matrix D, Fisher Scientific, u; u). Det ble så tilsatt 1 mL sterilt saltvann. Rørene ble homogenisert i FastPrep 120 (40 sek, 6.0 m/sek. Tre sykluser, med tre minutter kjøling mellom hver syklus). Prøvene ble sentrifugert i kjølesentrifuge (Thermo Scientific Fresco 21 Microcentrifuge) 1000 x g i ett til tre minutter ved 4 °C. Supernatanten ble pipettert over i tre separate 2 mL Micro Centrifuge rør. I to av rørene ble det tilsatt 200 µL. I det tredje røret ble det tilsatt 1000 µL som så ble overført til 25 mL TTE-medium, og deretter inkubert i to dager i 37 °C slik som løpeinnholdet. De to andre rørene ble fryst i -70 °C for videre molekylær analyse (DNA-isolering og PCR).

Etter oppformering i TTE ble Falconrøret vendt og 100 μ L innhold fra prøven sådd ut på Skirrow-skål (se figur 1). Skirrow-skålene ble inkubert ved 37 °C i mikroaerofil atmosfære i totalt fem dager med avlesing av skåler på dag to og fem.



Figur 1. Utsæd fra oppformeringsmedium.

Det mikroaerofile miljøet for både CCDA- og Skirrow-skålene ble dannet på samme måte.

Det ble brukt kolber med volum på 2,5 L og 3,5 L avhengig av antall skåler. I begge kolber ble det tilsatt en pose som dannet mikroaerofilt miljø (CampyGen™ 2,5L eller 3,5L, Thermo Fisher Diagnostics B.V., Basingstoke, UK). De dagene det var få skåler, ble de lagt i en tett plastpose tilsatt mikroaerofil pose tilpassa to petriskåler (CampyGen™ Compact, Thermo Fisher Diagnostics B.V., Basingstoke, UK). Etter avlesing av skåler på dag to ble nye mikroaerofile poser tilsatt før videre inkubering frem til dag fem for ny avlesing.

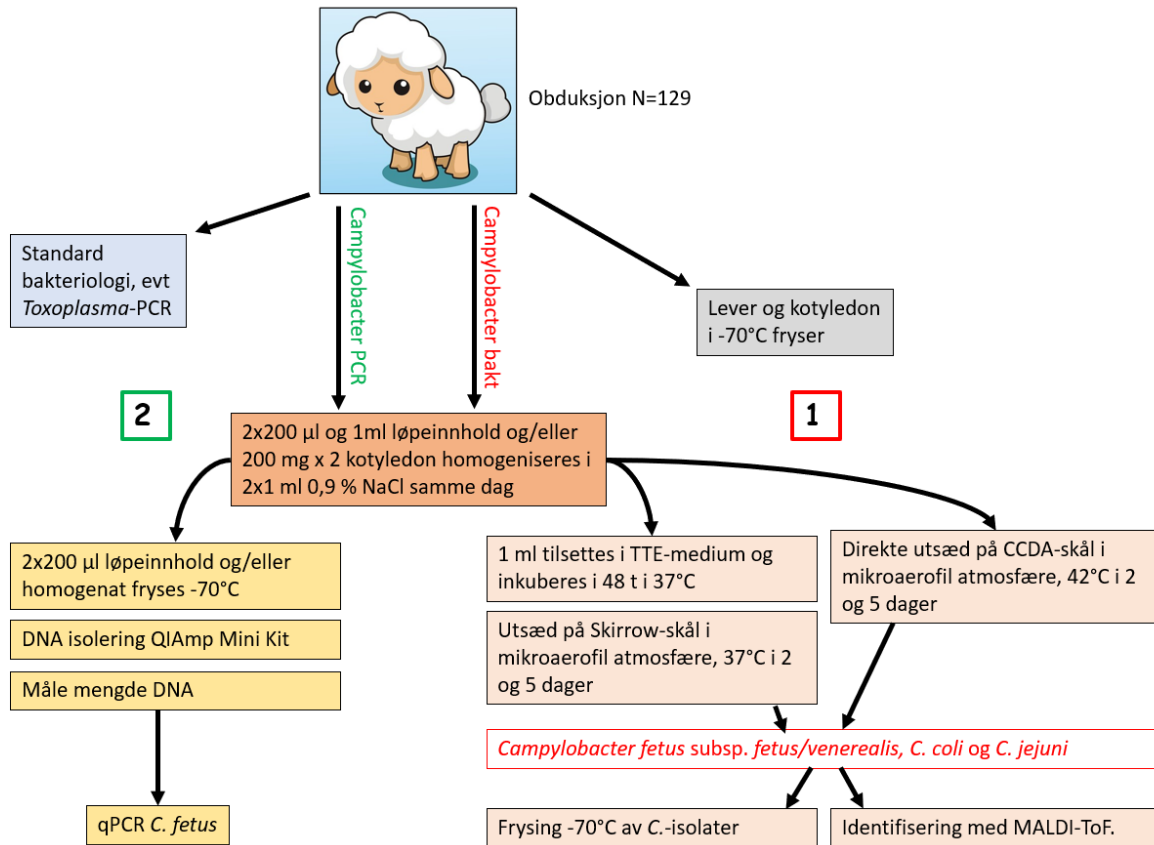
Alle skåler med vekst ble beskrevet og undersøkt nærmere på dag to og fem (se figur 10, 11).

Kolonier som kunne være *Campylobacter* ble undersøkt i mikroskop med fasekontrast (se

figur 12). Preparat til fasekontrast ble laget ved å overføre materiale fra en bakteriekoloni på et objektglass og forsiktig blandet sammen med en dråpe saltvann. Dekkglass ble lagt på, og preparatet ble undersøkt umiddelbart. Mikroskopet var innstilt på fasekontrast, og det ble oftest brukt 100 x objektiv med olje. Bakteriens form, størrelse og bevegelse ble undersøkt og funn ble notert. Det ble tatt bilder av alle skåler der det var mistanke om *Campylobacter*.

Ved funn av *Campylobacter* ble det gjort en Hippurat-test som kan skille *Campylobacter jejuni* fra andre *Campylobacter* spp. Bakterien ble slemmet opp i 0,25 mL 0,9 % NaCl til en melkeaktig suspensjon. Så ble det tilsatt en hippuratablett (DiatabsTM, Rosco Diagnostica A/S, Taastrup, Danmark), satt kork på røret, og løsningen ble inkubert i 37 °C i cirka to timer. Deretter ble fem dråper Ninhydrinløsning (Ninhydrin 3,5% Solution, Rosco Diagnostica A/S, Taastrup, Danmark) tilsatt og inkubert i 37 °C i maksimalt ti minutter. Blått fargeomslag i løsningen indikerte *C. jejuni*.

Campylobacter-kolonier ble fryst i rør (MicrobankTM, Pro-Lab Diagnostics, Richmond Hill, Canada) for lagring til eventuelle senere prosjekter.



Figur 2. Oversikt over de ulike trinnene i prosjektet ”*Campylobacter* som årsak til abort hos sau”.

Resistenstesting

Campylobacter-isolater ble testet for resistens mot antibiotikumet tetracyklin (se figur 13).

Tablett med 30 µg tetracyklin (Tetracycline, Oxoid, Basingstoke, UK) ble applisert på Mueller-Hinton agar med hesteblood (Mueller-Hinton with horse blood, Thermo Fisher, Wesel, Tyskland). Skålene ble inkubert mikroaerofilt i 42 °C i 24 timer før avlesing. Grensepunktet satt mellom resistent og sensitiv var en diametersone uten vekst av bakterier på 30 millimeter (EUCAST, 2023).

MALDI-ToF massespektrometri

Campylobacter-isolater ble bekreftet med identifisering i Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight (MALDI-ToF) massespektrometri (VITEK® MS, Biomérieux, Marcy-l’Etoile, Frankrike). Dyrkede isolater ble overført til kullsvaber (VWR™ Transport

Swabs, Brescia, Italia) og transportert til Veterinærhøgskolen Ås der identifiseringen ble gjennomført etter standard prosedyre.

DNA-isolering

DNA-isolering ble utført fra fryste prøver med løpeinnhold, homogenisert kotyledon og fra få homogeniserte leverprøver. Det ble benyttet to ulike Qiagen ekstraksjonssett; manuell DNeasy Blood & Tissue Kit 07/2020 og automatisk DNeasy 96 Blood & Tissue Kit 07.2022. Tinte prøver ble blandet i vortex-maskin (Heidolph REAX 2000, Germany). Det ble målt opp 100 µL prøvemateriale i eppendorfrør og tilsatt 80 µL ATL-buffer og 20 µL proteinase K. Prøvene ble igjen blandet med vortex-maskin før inkubering i minst én time på 56 °C i risteinkubator VorTemp 56 (Labnet internasjonal, Inc, Model: S2056-A-230V, Woodbridge, USA) og en tilsvarende maskin (Labnet internasjonal, Inc. model D1200, Woodbridge, USA). Manuell isolering ble benyttet for noen av prøvene etter Quick-StartProtocol punkt 2-9, og da ble DNeasy Mini spin column benyttet. Automatisk isoleringsmetode ble brukt for alle prøvene, og DNeasy 96 plate ble benyttet i maskinen QIAcube HT. Her ble 180 µL prøvemateriale uten bunnfall pipettert over i brønner. I denne prosedyren ble brukermanual for DNeasy 96 Blood & Tissue Kit 07.2022 punkt 2-16 fulgt.

Kvantitativ måling av DNA

Etter ekstraksjon ble mengde DNA i prøvene målt. 1 µL ble lagt som en dråpe på DNA-måleinstrumentet (DeNovix, Inc. DS-11 Spectrophotometer, Delaware, USA). Mengden ble oppgitt og ført som ng/µL, A260, 260/230 og 260/280. DNA-isolatene ble fryst før videre PCR-analyse.

PCR

DNA-isolater fra alle prøver ble analysert med qPCR (real-time PCR) for *Campylobacter fetus*.

PCR primere gyrB-F3 (5'-CTGTAAGAAAACGTCCAGGAATGT-3') og gyrB-R2 (5'-CCATAGATTCGTCTATAGAGTTATCA-3') og TaqMan probe gyrB-P1 (5'-6-FAMCWACTTCATAAATCATATGATGAAG-MGB-NFQ-3') publisert av Persson et al. 2012 for påvisning av gyrB-genet ble brukt som utgangspunkt med konsentrasjonene anbefalt av Polo et al. 2021 (Persson et al., 2012; Polo et al., 2021). Proben og primerne ble levert av Thermo Fisher Scientific Inc. (Waltham, MA USA).

De frysetørrede primerne og proben ble løst i nukleasefritt vann til stockløsninger på 100 μM (primerne) og 10 μM (proben). Xeno Assay og Xeno IPC (Thermo Fisher Scientific Inc.) ble brukt i alle analysene som intern positiv kontroll i qPCR-miks til kontroll av mulige hemmestoffer i DNA prøvene. qPCR-miksen besto av: TaqMan Advanced Master Mix 2X (Thermo Fisher Scientific Inc.), 0,4 μM av hver primer, 0,2 μM av proben, 2,5X Xeno Assay, 1000 kopier/ μL Xeno IPC. All amplifikasjon ble utført i 96 brønners plateformat. De ble tilsatt 20 μL av primermiks og 5 μL av DNA-prøven eller kontroll i brønnene. Hvert oppsett inneholdt én brønn med nukleasefritt vann som negativ kontroll og én brønn med DNA ekstrahert fra referansestammen *C. fetus* ssp. *venerealis* CCUG 33899T (Culture Collection University of Gothenburg, Sverige) i fortykning 10⁻¹ ng/ μL som positiv kontroll. Amplifikasjon med instrumentets standardbetingelser, deteksjon og data-analysering ble utført med Agilent AriaMx (Agilent, Santa Clara, CA, USA).

Det var planlagt å gjennomføre mPCR for identifisering av *C. coli* og *C. jejuni*, men dette lot seg ikke gjennomføre på grunn av metodeutfordringer.

Besetningsbesøk

Det ble utført besetningsbesøk i besetningen der *C. jejuni* ble påvist. Her inngikk diskusjon med produsenten, inspeksjon av gården og prøvetaking.

Avføringsprøver

Av 11 søyer som hadde abortert i besetningen som var positiv for *Campylobacter*, ble det tatt prøve med kullsvaber (VWR™ Transport Swabs, Brescia, Italia) i rektum. Kullsvaberne ble inkubert i TTE før utsæd på Skirrow-skål etter samme prosedyre som beskrevet over.

Produsenten tok også avføringsprøver av seks storfe i samme besetning, og disse ble behandlet på samme måte som avføringsprøvene til søyene.

Resultater

Materialets opprinnelse

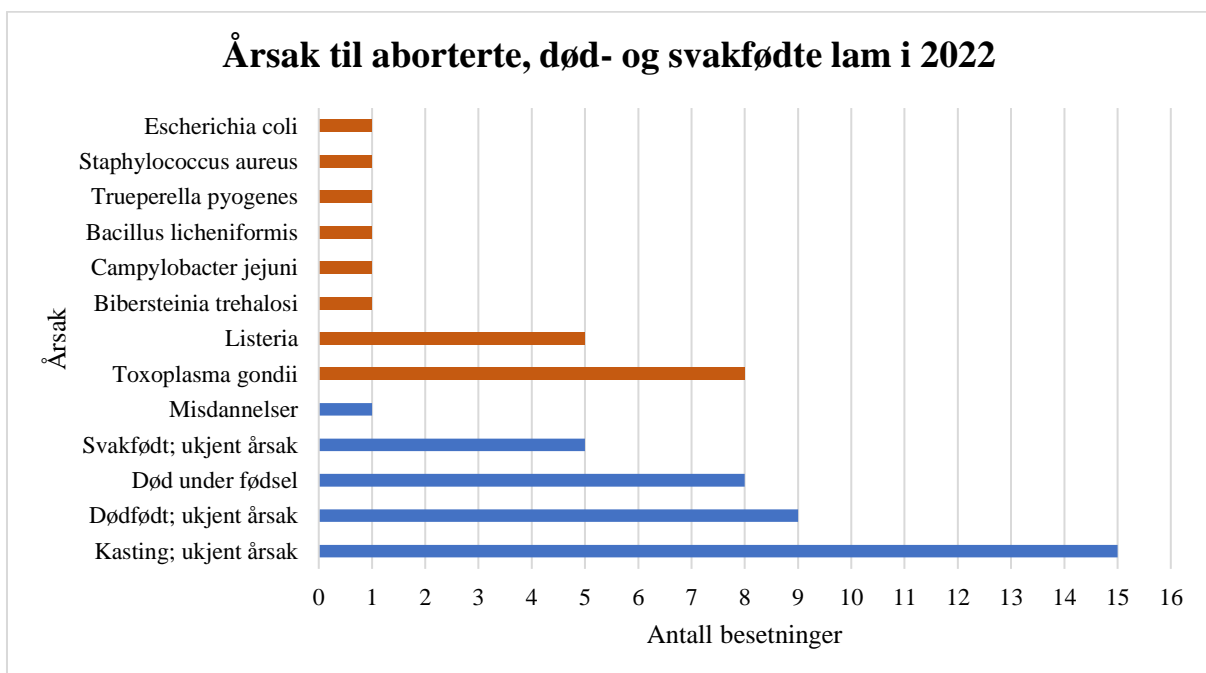
Det ble undersøkt 129 lam fra 45 besetninger for *Campylobacter*. Besetningene var fordelt på seks ulike fylker, der 33 av 45 besetninger lå i Rogaland fylke (se tabell 1).

Tabell 1. Fordeling av antall besetninger i de ulike fylkene.

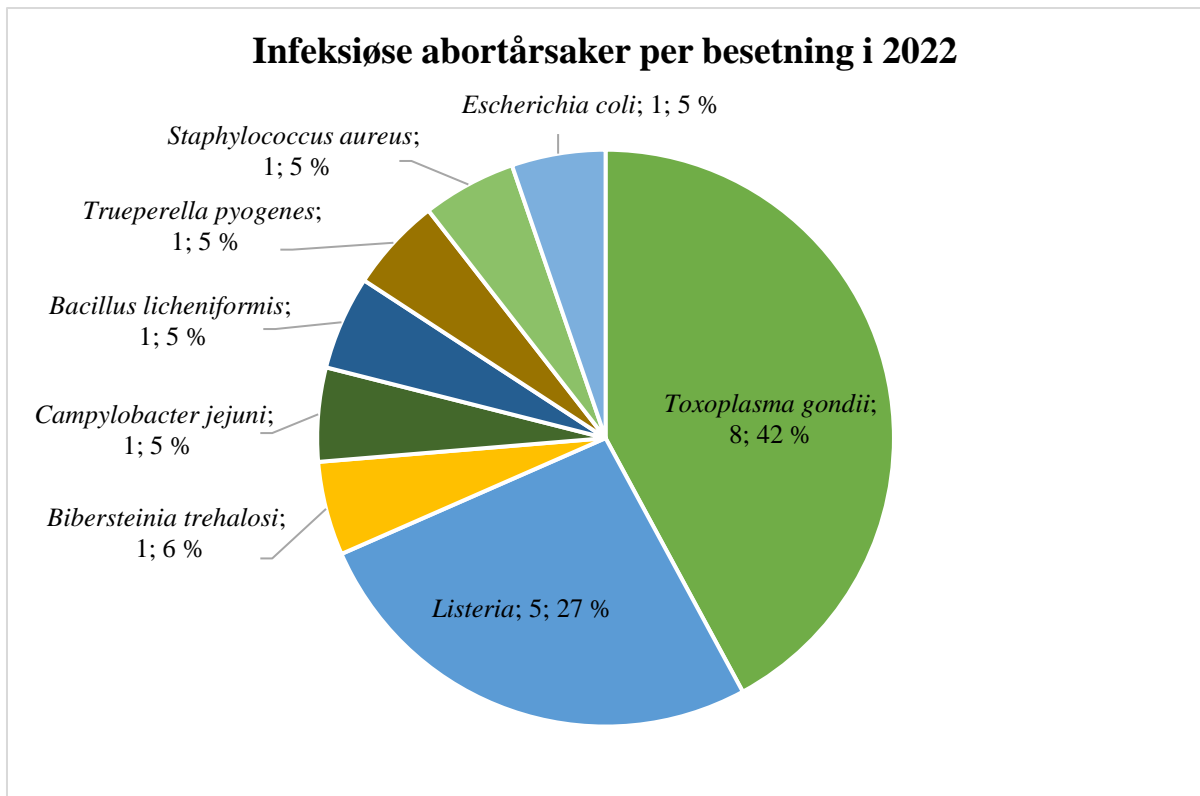
Fylke	Antall besetninger
Rogaland	33
Vestland	7
Vestfold og Telemark	1
Viken	1
Innlandet	1
Trøndelag	2
Sum	45

Årsaker til aborterte, død- og svakfødte lam sesongen 2022

Det ble laget en oversikt over årsaker til aborterte, død- og svakfødte lam for alle lam som ble sendt inn til NMBU Veterinærhøgskolen, seksjon for småfeforskning i Sandnes våren 2022 (se figur 3). Dette inkluderte 146 lam fra 46 ulike besetninger. Diagnosene var hovedsakelig på besetningsnivå. Noen besetninger leverte inn mye materiale uten at de hadde konkrete problemer, men som en del av undervisningen. Hos disse har det blitt satt flere diagnoser siden det ikke var noen tydelige fellestrekk i materialet (se figur 3). Av de infeksiøse årsakene var *Toxoplasma gondii* vanligste abortårsak og utgjorde 42 %, *Listeria* spp (*L. monocytogenes* og *L. ivanovii*) utgjorde 27 % av de infeksiøse årsakene (se figur 4). I omtrent 50 % av alle besetningene med aborterte, død- og svakfødte lam ble ikke årsaken identifisert (se figur 3). De fleste lam som ble gruppert under død under fødsel hadde aspirert fostervann i luftveiene.



Figur 3. Årsak til aborterte, død- og svakfødte lam i 2022 på besetningsnivå. Syv av 46 besetninger hadde mer enn én diagnose, derav en besetning som hadde fem diagnoser, en besetning hadde tre diagnoser og fire besetninger hadde to diagnoser.



Figur 4. Infeksiøse abortårsaker per besetning i 2022. *Listeria*-tilfeller: Tre *L. monocytogenes* og to *L. ivanovii*.

***Campylobacter*-infiltrerte foster**

Obduksjonsfunn fra ni foster

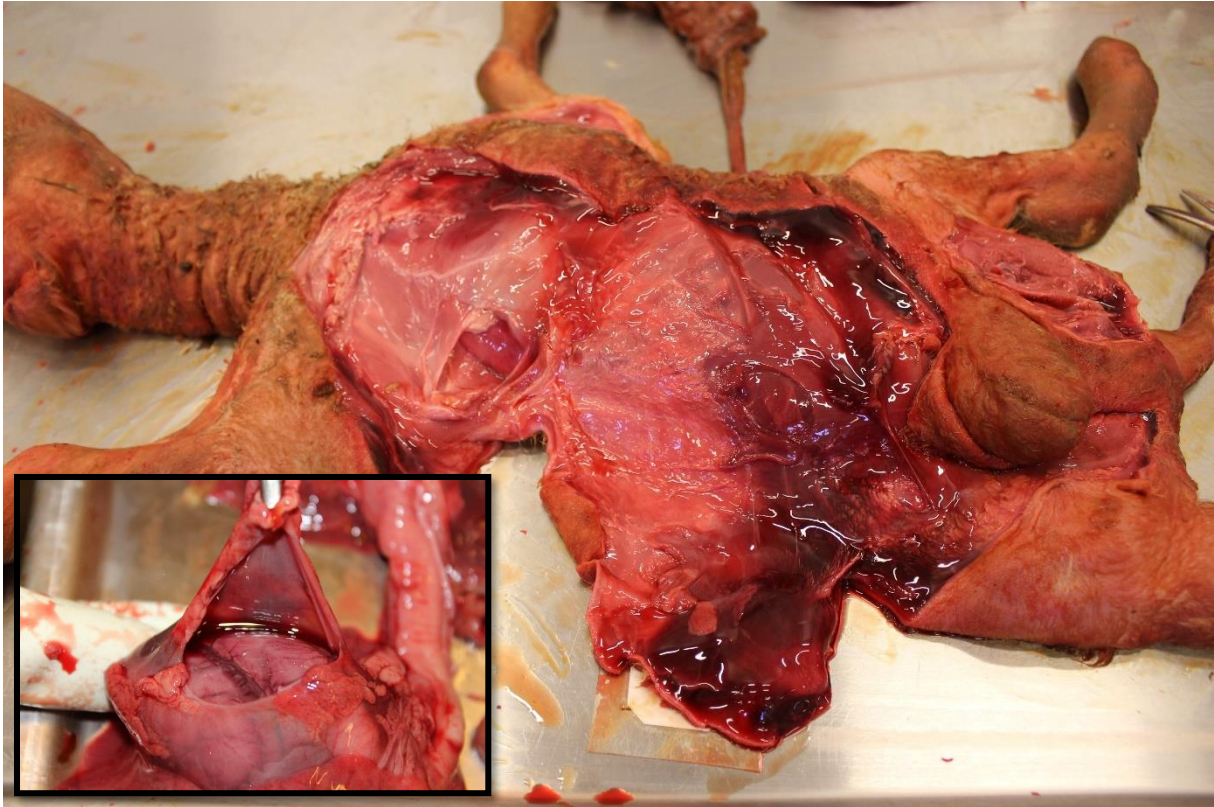
Det ble funnet *C. jejuni* hos åtte lam, og i tillegg var det ett lam med sterk mistanke om infeksjon fra samme produsent. De ni lamma var fra fire tvillingkull og ett enkelt lam. Tre av fire tvillingskull ble vurdert til å være fullgatte, og de resterende tre lamma var ikke fullgatte. Det var moderate til store kadaverøse forandringer hos fire av fem kull, mens ett tvillingkull var ferskere. To lam hadde levd, og disse var fra ulike kull. Tabell 2 viser en forenklet oversikt over obduksjonsfunnene.



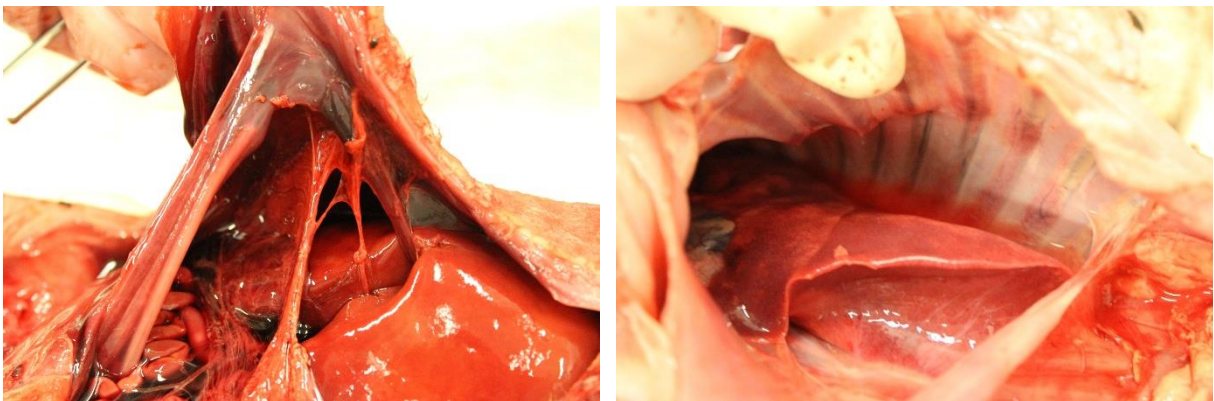
Figur 5. *Campylobacter*-infiserte tvillinger som ble abortert, begge hadde tilhørende fosterhinner. Det øverste lammet hadde levd og hadde moderat kadaverose. Det brunet lammet hadde store kadaverøse forandringer og hadde vært dødt en stund før aborten.

Makroskopiske forandringer varierte hos lamma (se tabell 2). Hos det enkle lammet, som var det første som ble obdusert fra besetningen, ble det ikke påvist noen makroskopiske synlige forandringer. Seks av ni foster hadde væskeutsivinger subkuttant, og for to av disse var utsivingene blodige (se figur 6). Fem foster hadde væske i bukula, og hos de fleste var væsken blodtilblandet. Ett lam hadde fibrin i bukula. Hos fem foster var det væske i brysthula, for de fleste blodtilblandet, og ett hadde fibrin i brysthula (se figur 7). Ett lam hadde blodtilblandet væske i hjertesekken (se figur 6), og ett annet lam hadde væskefylte, utvidede tynntarmer (se figur 8). Ett lam hadde forstørret milt.

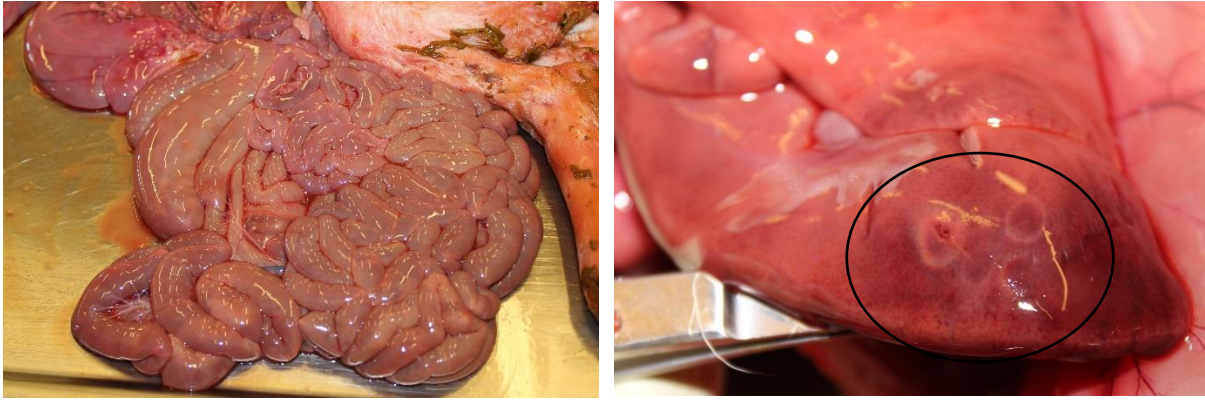
Ett lam hadde nekroser i leveren (se figur 8) og tre hadde blødninger i indre organer (tre foster i nyrer, ett i hjertet, ett i løpeveggen og ett i bakre krøslymfeknute). Det var leverruptur med blødning til bukhula hos ett lam, og ett lam hadde utvidet nyrebekken.



Figur 6. Subkutant blodtilblandet ødem og blodtilblandet væske i hjertesekken.



Figur 7. Venstre bilde viser fibrinøs peritonitt. Høyre bilde viser pleuritt og væske i thorax. Lungevevet var delvis luftfylt og viser at lammet hadde pustet. Det var også flere ribbeinsbrudd.



Figur 8. Venstre bilde viser væskefylte, dilaterte tarmar. Høyre bilde viser bleke levernekroser (sirkel).



Syv av ni lam hadde tilhørende fosterhinner. Fire av disse var hyperemiske, flere hadde blødninger og en hadde også tydelig ødem (se figur 9). En fosterhinne hadde beige og matte områder mellom kotyledonene.

Figur 9. Fosterhinner med ødem, hyperemi og eksudat over kotyledonene.

Alle foto: C. Ersdal

Tabell 2: Obduksjon av lam infisert eller med sterk mistanke om infeksjon med *Campylobacter*.

Funn/lam	24	35 f1	35 f2	63 f1	63 f2	85 f1	85 f2	111 f1	111 f2	Sum
Fullgåtte foster				1	1	1	1	1	1	6
Væskeutsiving i underhudsvevet		1	1		1	1	1		1	6
Delvis luftfylte lunger				1				1		2
Væske i bukula		1	1	1		1	1			5
Væske i brysthula og/eller hjertesekken		1	1				1	1	1	5
Fibrin i bryst- eller bukula			1				1			2
Nekroser i lever						1				1
Blødning indre organer			1	1				1		3
Tilhørende fosterhinner		1		1	1	1	1	1	1	7
Hyperemi, blødninger og/eller ødem i fosterhinner				1		1	1	1		4

En forenklet framstilling av obduksjonsfunnene. Det var kun 111, f1 som hadde væske både i brysthula og hjertesekken.

Direktemikroskopiering av løpeinnhold

Det ble tatt direktemikroskopi av løpeinnhold fra de fleste lamma med sterk mistanke om *Campylobacter*-infeksjon, og hos flere var det spiralformede bakterier med pilende bevegelser forenelig med *Campylobacter*.

Dyrkningsfunn

Det ble dyrket *Campylobacter* fra både løpeinnhold og kotyledon fra seks av ni foster. Fra to av ni foster ble bakterien dyrket fra enten løpeinnhold eller kotyledon. Hos de positive lamma var det vekst på begge medier allerede etter to dager. Det ble forsøkt å dyrke *Campylobacter* fra fryst lever på Skirrow fra foster 24. Dyrkningsresultatet var negativt, slik at diagnose på dette fosteret ikke kunne fastsettes. (Foster 24 ble undersøkt før prosjektet var i gang med full protokoll.)

Tabell 3. Oversikt over dyrkningsresultat fra de *Campylobacter*-infiserte lamma.

Lam	Organ	CCDA		Skirrow	
		Dag 2	Dag 5	Dag 2	Dag 5
35 f1	kotyl	+	+	+	+
	løpe	-	-	IU	IU
	lever	IU	IU	IU	IU
35 f2	kotyl	IU	IU	IU	IU
	løpe	+	+	+	+
	lever	IU	IU	IU	IU
63 f1	kotyl	+	+	+	+
	løpe	+	+	+	+
	lever	IU	IU	IU	IU
63 f2	kotyl	+	+	+	+
	løpe	+	+	IU	IU
	lever	IU	IU	IU	IU
85 f1	kotyl	+	+	+	+
	løpe	+	+	+	+
	lever	IU	IU	IU	IU
85 f2	kotyl	+	+	+	+
	løpe	+	+	+	+
	lever	IU	IU	IU	IU
111 f1	kotyl	+	+	+	+
	løpe	+	+	+	+
	lever	IU	IU	-	-
111 f2	kotyl	+	+	-	-
	løpe	-	-	+	+
	lever	IU	IU	IU	IU
24	kotyl	IU	IU	IU	IU
	løpe	IU	IU	IU	IU
	lever	IU	IU	_*	_*

Prøvene ble avlest på dag to og dag fem. Kotyl = kotyledon, + = positiv for *Campylobacter*, - = negativ for *Campylobacter*, IU = ikke undersøkt. *Frosset lever.

Morfologi av *Campylobacter*-kolonier på skål

Skirrow-skål

På de positive skålene var det rikelig vekst på dag to. Koloniene på primærutsæden hadde ruglete grå til gjennomsiktig overflate. På de ulike skålene kunne overflaten variere fra å være

glinsende til å ha et mer tørt preg. Enkeltkolonier var 3-8 mm i diameter, og formen var oval til rund, mild konveks og hadde jevn kant. Fargen varierte fra hvit til rosa eller grålig. Koloniene var mer opake sentralt og gjennomsiktig perifert. Noen kolonier var sammenhengende, og enkeltkolonier var utflytende i ulik grad. De ga rød avfarging av agaren under kolonien, og var ikke adherent til agaren.



Figur 10. *Campylobacter* på Skirrow-skåler.

Foto: C. Ersdal

CCDA-skål

Det var moderat til rikelig vekst etter dag to på de fleste skålene, og to skåler hadde sparsom vekst. Koloniene hadde flat eller ruglete overflate, de var tørre sentralt og glinsende perifert. Enkeltkolonier var uregelmessig runde og 2-5 mm i diameter. De var mildt konvekse og med noe ujevn kant. Fargen var grå til opak, og koloniene var adherente til agaren.

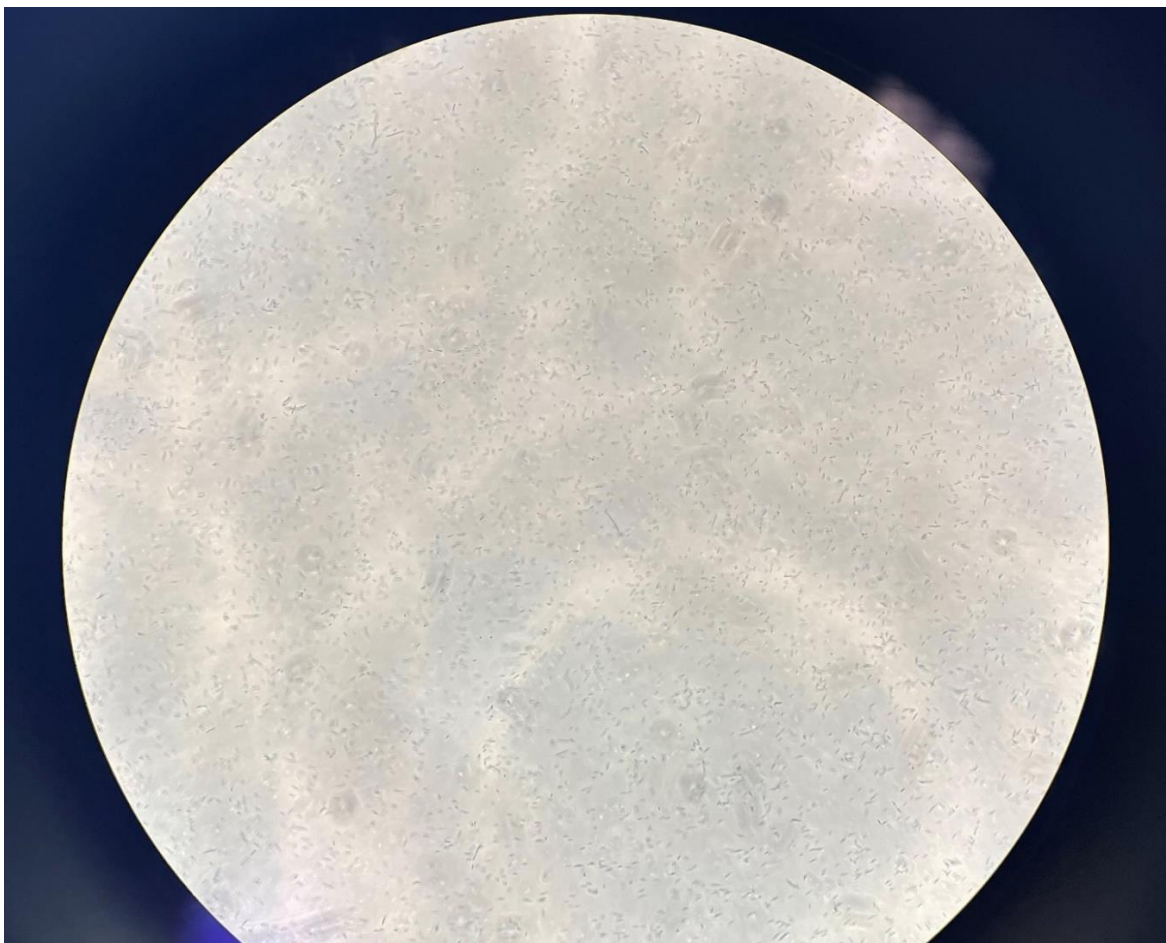


Figur 11. *Campylobacter* på CCDA-skåler.

Foto: C. Ersdal

Fasekontrast fra skåler med vekst av *Campylobacter*

I oppslemmet kolonimateriale undersøkt i lysmikroskop med fasekontrast så man både små, pilende måkevingeformede, bøyde staver og spiralformede bakterier. Bevegelsen til bakteriene varierte fra svært god framdrift til at de sto i ro og dirret på stedet. Alle de undersøkte bakteriekoloniene hadde noen bakterier med god framdrift. Lengden på bakteriene varierte, og noen hadde lang korketrekker-form. En del skåler hadde i tillegg korte stavformede bakterier med den samme pilende bevegelsen.



Figur 12. *Campylobacter* i lysmikroskop med fasekontrast.

Foto: C. Ersdal

Resistenstesting mot tetracykliner

På Mueller-Hinton agar med 5 % hesteblood ble det målt en klar sone uten bakterievekst på 4 cm i diameter omkring antibiotikatabletten. Bakteriestammen ble derfor ansett som sensitiv for tetracykliner.



Figur 13. Resistenstesting mot tetracykliner.

Foto: C. Ersdal

MALDI-ToF massespektrometri

Kullsvabere fra skåler med vekst av *Campylobacter* fra fire lam (to ulike kull) i Sandnes ble tatt med til Ås og dyrket opp igjen både på blodagar og CCDA-skål. Alle fire lam fikk påvist *C. jejuni* fra minst en skål.

Tabell 4: Oversikt over MALDI-ToF-resultat.

Foster	Organ	Opprinnelsesskål	Bakterie
35 f1	kotyl	CCDA	-
35 f1	kotyl	Skirrow	-
35 f1	kotyl	ikke angitt	<i>C. jejuni</i>
35 f2	løpe	CCDA	-
35 f2	løpe	Skirrow	<i>C. jejuni</i>
35 f2	løpe	ikke angitt	<i>C. jejuni</i>
63 f1	kotyl	CCDA	-
63 f1	løpe	Skirrow	<i>C. jejuni</i>
63 f1	løpe	CCDA	<i>C. jejuni</i>
63 f1	kotyl	Skirrow	<i>C. jejuni</i>
63 f2	kotyl	CCDA	-
63 f2	kotyl	Skirrow	<i>C. jejuni</i>
63 f2	løpe	CCDA	<i>C. jejuni</i>

Kotyl = kotyledon, - = *C. jejuni* ikke detektert.

Hippurattest

Testing av *Campylobacter*-kolonier ga fire positive og fire negative utslag. En skål med *Campylobacter* ble testet to ganger, og dette resulterte i et positivt og et negativt utslag på hippurattesten.

Besetningsbesøk i flokken med *Campylobacter*-abort

Observasjoner på gården

Besetningen med påvist *Campylobacter* som abortårsak var hjemmehørende i Rogaland og hadde 120 vinterfôra søyer og melkerobotfjøs med omtrent 100 storfe. På gården var det også en gårdskatt og en sauehund. Vi besøkte besetningen 31. mars 2022.

Gården hadde egne beiter og samarbeidet noe med nabobesetninger. Saue- og storfefjøs var i samme bygning, med en åpen gang imellom. Sykebingen til storfe var plassert i sauefjøsset.

Det var plastrister på gulvet i sauefjøsset, og bonden laget enkeltbinger for søyer i lamminga.

Luftkvaliteten i sauefjøsset virket god, og sauene virket tilfredse og rolige. Alle sauene gikk inne om vinteren, og det var god plass i sauefjøsset. Sauene ble føret med silofôr fra silo og rundballer og kraftfôr fra kraftfôrautomat. Sauene fikk vann fra privat brønn som ikke var godkjent til melkeanlegget hos kyrne. Dette var en brønn som var laget av betongringer med lokk over og som var gravd ned i bakken. Den var plassert på et kulturbeite.

Bonden hadde smittesluse, men brukte ikke denne selv. De samme støvlene ble brukt i sauefjøsset, storfe fjøsset og ute på gården. Ved fødselshjelp brukte bonden hansker, og han prøvde å være nøye med håndvask. Bonden fjernet fosterhinner underveis, og lammingsbingene ble strødd med uttørkende middel. Bingene i sauefjøsset muliggjorde kontakt mellom dyra. Besetningen hadde et eldre adskilt sauefjøs, og her ble søyene som hadde abortert før lammingsstart oppstallet. Etter lamminga hadde begynt gikk søyene som hadde abortert sammen med de drektige søyene.

Besetningen hadde hatt flere tilfeller med abort hos storfe for noen år siden. Mattilsynet analyserte for *Brucella*, *Schmallenberg-virus*, *Bovine viral diarrhoe virus (BVDV)*, *Coxiella burnetii* og *Neospora caninum*, og det ble ikke påvist noe smitte (Veterinærinstituttet, u.å.a). For noen år siden opplevde saebesetningen abort på grunn av *Toxoplasma gondii*. Bonden hadde ikke vaksinert mot dette før lamminga 2022 eller tidligere år.



Figur 14. Besetningen med *Campylobacter*-abort. Bildet viser at abortert søye (i lammingsbinge) kunne ha kontakt med øvrige søyer.

Foto: S. Lystad

Forløp og omfang av kastingen

Kastingen startet 19. februar og fortsatte inn i lammingsperioden. Det var 12 søyer som kastet før lammingsperiodens start, derav en som døde kort tid etter at hun aborterte. Det var sterk overvekt av unge dyr (se tabell 5). Senere i utbruddet var det vanskelig å få oversikt over abortene, men sju søyer som mest sannsynlig hadde abortert eller født dødfødte og svakfødte lam er identifisert.

Tabell 5. Aldersfordeling for 18 av søyene som hadde abortert.

Alder	Antall søyer
1 år	9
2 år	3
3 år	1
6 år	1
7 år	3
8 år	1

Det er kun mulig å finne et estimat for totalt antall søyer som hadde kastet. I Sauekontrollen var det rapportert 220 levendefødte lam. Ut ifra antall lam som ble registrert under fostertelling av søyene denne vinteren, så hadde 90 lam blitt abortert, eller var død- eller svakfødt (produsentens data fra Sauekontrollen). I middeltall fra Sauekontrollen var det angitt 2,58 fostertelte lam per søye. Dersom dette tallet legges til grunn, gir det et estimert antall på 35 søyer som hadde kastet, som tilsvarte 29 % av søyene i besetningen. Estimert kastet 23 av 35 søyer etter at lamminga hadde startet. Vi kan altså anta at to tredjedeler av søyene kastet i løpet av lammingsperioden som varte i seks uker.

De fleste søyene som kastet var klinisk friske ifølge produsenten. Ei søye aborterte ett lam natta før besetningsbesøket, og lam nummer to ble tatt ut under besøket. Søya var allment frisk og hadde temperatur 39,0 °C og normale slimhinner. De resterende søyene som hadde abortert tidligere virket kvikke under uttak av avføringsprøver. Ei søye hadde noe blodig innhold i rektum.

Etter diagnostisering av *Campylobacter* som årsak til abort i besetningen ni dager før lammingsstart, ble resten av de drektige søyene behandlet med tetracykliner (Terramycin

prolongatum vet.) rundt lammingsstart. Den første søya som fikk levedyktige lam, lammet 1. april 2022.

Avføringsprøver

Under besetningsbesøket ble det tatt ut avføringsprøver av 11 søyer som hadde abortert. Prøvene ble dyrket på Skirrow-skål etter oppformering i TTE. Åtte av 11 søyer (73 %) var positive. Av disse var fire søyer åringer. Tabell 6 viser at ei søye fortsatt hadde *Campylobacter* i avføringen opptil 40 dager etter aborten.

Tabell 6. Oversikt over avføringsprøver med dyrkningsresultat fra søyer som aborterte i *Campylobacter*-besetningen.

Søyenr.	Alder på søya (år)	Dato for kasting (ca.)	Dager fra kasting til uttak av avføringsprøve	Dyrkning
55064	7	19.02.2022	40	Positiv
11089	1	22.02.2022	37	Negativ
11061	1	06.03.2022	25	Negativ
00171	2	07.03.2022	24	Positiv
11032	1	10.03.2022	21	Positiv
00154	2	11.03.2022	20	Negativ
11049	1	13.03.2022	18	Positiv
44059	8	24.03.2022	7	Positiv
11500	1	26.03.2022	5	Positiv
99030	3	29.03.2022	2	Positiv
11099	1	30.03.2022	1	Positiv

Det ble også tatt avføringsprøver av seks storfe i samme besetning, og det ble dyrket *Campylobacter* fra to av dem. Ingen av disse kyrne hadde abortert eller vist tegn på sykdom.

Resultat av DNA-ekstraksjon

Det var varierende hvor mye DNA som ble ekstrahert. Noen prøver hadde veldig mye, og i andre prøver var det ikke målbart DNA. Det gjaldt både løpeinnhold, kotyledon og lever.

Måling etter maskinell ekstraksjon: 93 av 157 (59 %) hadde mer enn 5 ng/ μ L DNA, mens 65 av 157 (41 %) hadde mindre enn 5 ng/ μ L DNA (se vedlegg 3). Måling etter manuell DNA-ekstraksjon ga generelt noe lavere DNA-utbytte enn maskinell ekstraksjon.

qPCR

Det ble ikke påvist noen positive prøver for *C. fetus* ved qPCR.

Diskusjon

Dette arbeidet indikerer at *Campylobacter* som abortårsak hos sau i Norge er sjelden, da dette kun ble påvist hos én av 45 besetninger. Hovedvekten av disse besetningene hadde tilhørighet i Rogaland og Vestland fylke. Vi påviste *C. jejuni* ved dyrkning på spesialmedier. Alt prøvemateriale var negativt for *C. fetus* undersøkt med qPCR, men *C. fetus* var påvist fra en besetning fra 2014 (C. Ersdal, personlig meddelelse). I sauesesongen 2023, fram til slutten av april, hadde seksjon for småfeforskning påvist tre besetninger i Rogaland med abort hos sau forårsaka av *Campylobacter*. Foreløpige undersøkelser indikerer at disse var *C. fetus* (C. Ersdal, personlig meddelelse). Dette kan tyde på at forekomsten er noe større enn vårt arbeid indikerte, og forekomsten kan være økende. I en dansk studie som undersøkte fire saueflokker med abortstorm, ble både *C. jejuni* og *C. fetus* påvist (Wolf-Jäckel et al., 2020). Kun én bakterieart ble påvist per flokk, og det samme gjaldt for det vi fant her i Norge.

Campylobacter som årsak til abort hos sau er mye vanligere i utlandet enn i Norge. I Nederland er det den vanligste infeksjøs årsaken og står for 19 % av tilfellene (van Engelen et al., 2014). 11 % av de infeksjøs abortårsakene i Skottland er forårsaka av *Campylobacter* (Causes of abortion in Scottish sheep flocks in 2011, 2011), og i Danmark er det 4 % (Agerholm et al., 2006). Andre land har også flere sykdommer som gir abort hos sau som

Norge trolig ikke har. Eksempler på slike sykdommer er brucellose, enzootisk abort forårsaket av *Chlamydophila abortus* og Q-feber forårsaka av *Coxiella burnetii* (Veterinærinstituttet, u.å.b; Animalia, 2017). Norge er derfor i en nokså gunstig situasjon med tanke på smittestatus i forhold til andre europeiske land som det er naturlig å sammenligne seg med.

I materialet tilsendt seksjon for småfeforskning i Sandnes fra 2022 var *Toxoplasma gondii* og *Listeria* henholdsvis den vanligste og den nest vanligste diagnostiserte infeksijøse abortårsakene, og samsvarte med tilsvarende undersøkelser fra 2011 og 2012 (Hansen & Odden, 2013). *Toxoplasma gondii* er også den hyppigste diagnostiserte infeksijøse årsaken til abort hos sau i Danmark (Wolf-Jäckel et al., 2020). I likhet med Hansen og Odden 2013 er det i vår studie fortsatt slik at de fleste aborterte fostra fikk diagnosen ukjent årsak. En studie fra Sveits viser at oppklaringsprosenten kun ved bruk av dyrkning er 23 %, og i kombinasjon med PCR økes den til 75 %. I samme studie ble det funnet ut at aborterte foster kan få påvist flere agens (Schnydrig et al., 2017).

Materialet som ble sendt til seksjon for småfeforskning i Sandnes sauesesongen 2022 er hovedsakelig fra Rogaland, en del fra Vestland og noe materiale fra fire andre fylker (se tabell 1). Siden hovedvekten av materialet er fra Rogaland, er referansepopulasjonen skjevt representert. Resultatene vil likevel mest sannsynlig være representative for saueholdet i Norge da Rogaland og Vestland, i tillegg til Innlandet, har flest sauebesetninger (Animalia, 2022; Kampen et al., 2022), og fordi variasjonen mellom besetningsstørrelse og drift i Norge er relativt liten.

Patologiske funn ved obduksjon

Det var varierte patologiske forandringer hos lamma med påvist *C. jejuni*. De fleste lamma viste tegn til alvorlig systemisk infeksjon, som akutt peritonitt og pleuritt, og blødninger og

stuvning i indre organer. Kun ett lam hadde tydelige levernekroser. Synlige levernekroser er sjelden, også ifølge litteraturen (Sahin et al., 2008). I en studie var det registrert makroskopiske leverlesjoner i kun 4 % av tilfellene (Yaeger et al., 2021). Rupturert lever med intraabdominal blødning og fibrinøs peritonitt er også beskrevet (Sahin et al., 2017; Yaeger et al., 2021). I materialet vårt var det noen lam som kun hadde uspesifikke funn som subkutan blodig ødem og blodig væske i buk- og brysthule. Disse lamma kan være vanskeligere å diagnostisere korrekt dersom det ikke spesifikt undersøkes for *Campylobacter*. Våre funn samsvarer godt med andre studier (Borel et al., 2014; Hedstrom et al., 1987; Sahin et al., 2017; Yaeger et al., 2021). Fire av syv (57 %) undersøkte fosterhinner viste makroskopiske tegn til placentitt. Dette er høyere enn hva en annen studie fant der det ble registrert placentitt i 6 % av tilfellene (Yaeger et al., 2021). Det er beskrevet at placentitt kan være det eneste tegnet på infeksjon ved *Campylobacter*-abort (Duhamel, 2022). De påviste makroskopiske forandringene i fosterhinner i denne studien samsvarer med litteraturen (Hedstrom et al., 1987; Sahin et al., 2017). Våre undersøkelser viste at ved tegn til systemisk infeksjon hos aborterte foster, død- og svakfødte lam, bør disse undersøkes spesifikt for *Campylobacter*.

Dyrking av *Campylobacter*

I denne oppgaven ble kotyledon og løpeinnhold valgt til å undersøkes nærmere for *Campylobacter*. Dette ble gjort på bakgrunn av tidligere tilsvarende undersøkelser (Vidal et al., 2016; Schnydring et al., 2017), men også på grunn av erfaringer fra seksjon for småfeforskning. Litteraturen som omtaler hvor det burde dyrkes fra et abortert, død- eller svakfødt eller lam infisert med *Campylobacter* er ikke entydig. I boka *Veterinary Microbiology*, kapittel «Spiral-Curved Organisms III»C om *Campylobacter* (Duhamel, 2022) anbefales det å dyrke fra løpeinnhold, lever og lunger, og den stiller seg skeptisk til dyrking fra fosterhinner på grunn av kontaminering fra miljøet. En annen kilde anser kotyledoner og

løpe som det beste å dyrke *Campylobacter* fra (Sahin et al., 2008). Erfaringer fra seksjon fra småfeforskning er at dersom det er tegn til en systemisk bakteriell infeksjon hos foster som også innebefatter placenta er det ofte god, og nær ren vekst, av den patogene bakterien fra kotyledon (C. Ersdal, personlig meddelelse). Ved seksjonen gjøres all rutinedyrkning direkte fra organer på obduksjonssalen, og dette vil sannsynligvis minske faren for kontaminasjon.

I metoden var det inkludert oppformering i TTE-medium før utsæd på Skirrow-skål mikroaerofilt i 37 °C, og direkte utsæd på CCDA og mikroaerofil inkubering ved 42 °C. *C. fetus* vokser dårlig ved 42 °C, men godt ved 37 °C (Duhamel, 2022), slik at Skirrow-skålene skulle spesielt fange opp denne (Fitzgerald & Nachamkin, 2007). *C. jejuni* vokser ved begge temperaturer (Duhamel, 2022), slik det også ble erfart i denne studien.

For å kunne oppformere bakterien fra kotyledon-vev i TTE, måtte vevet homogeniseres. Dette var en tid- og ressurskrevende prosess. Løpeinnhold kunne derimot overføres direkte i oppformeringsmediet og var derfor enklere å utføre og tok kortere tid. Vi erfarte at løpeinnhold kan være seigt, og det kan være vanskelig å få pipettert så mye som 1 mL. Dette gjelder særlig hos premature, mumifiserte eller svært kadaverøse foster. Dette er en ulempe ved bruk av Skirrow-skål med oppformering i TTE. Likevel er det vist at det er større sjanse for å påvise *Campylobacter* fra en prøve dersom man bruker et oppformeringsmedium før dyrkning på Skirrow-skål (Manser & Dalziel, 1985).

Våre resultater viste at det var tilstrekkelig å dyrke *C. jejuni* i to dager, da alle skåler som hadde vekst på dag fem også hadde vekst på dag to. Vi hadde ingen isolater med andre arter som for eksempel *C. fetus* ssp. *fetus*, og alle isolater var fra samme besetningsutbrudd. Det er derfor vanskelig å konkludere med tanke på inkubasjonstid.

Campylobacter lot seg dyrke fra alle de positive fostra utenom ett. Dette var det kadaverøse lille fosteret (journalnummer 24/22) som ble obdusert før prosjektet var i gang. Det var dermed ikke spesialmedier tilgjengelig og blodskålene ble heller ikke inkubert mikroaerofilt. Dessverre fikk vi ikke inkludert PCR for *C. jejuni* i oppgaven som kunne gitt oss en sikker diagnose også hos dette fosteret. Siden søya (11032) fikk påvist *Campylobacter* i avføringa er det stor sannsynlighet for at *Campylobacter* var årsaken til også denne aborten. De resterende åtte lamma som var positive for *Campylobacter* lot seg dyrke både på CCDA og Skirrow-agar, enten fra kotyledon eller løpe. Selv om seks av de åtte fostra var kadaverøse, lot bakterien seg dyrke. Dette stemmer godt med at bakterien overlever godt i biologisk materiale (Duhamel, 2022).

Fra alle sju fosterhinner klarte vi å dyrke *C. jejuni* fra kotyledoner på CCDA-skål. Dyrking av kotyledon-vev på Skirrow-agar derimot, ga ett negativt dyrkingsresultat. Dette kan indikere at CCDA er et bedre dyrkingsmediet enn Skirrow-agar for å dyrke *C. jejuni* fra kotyledoner.

Utsæd på Skirrow-agar etter oppformering i TTE ga vekst av *C. jejuni* fra løpeinnhold fra alle sju undersøkte foster (100 %). Direkte utsæd fra løpeinnhold på CCDA-skål viste seg derimot å være en noe mindre sikker metode da vi her fikk seks positive dyrkingsresultater av åtte prøver (75 %). Dette kan tyde på at om man bare har løpeinnhold og ikke har fosterhinner, så er det en sikrere metode å dyrke løpeinnholdet på Skirrow-agar (etter oppformering i TTE) enn på CCDA ved *C. jejuni*-abort.

Vi forsøkte å dyrke *Campylobacter* fra lever hos to ulike foster fra den positive besetningen. Det ene var det første fosteret uten spesifikk *Campylobacter*-diagnostikk der leveren hadde vært frosset, det andre var et foster som var positivt fra både løpe og kotyledon på CCDA og Skirrow-agar. Begge disse foster-levrene ga negative dyrkningsfunn. Disse svært begrensede undersøkelsene samsvarer med en kilde som sier at *Campylobacter* er vanskelig å dyrke fra

lever og lunger (Sahin et al., 2008). I en dansk studie klarte de heller ikke å dyrke bakterien fra lever. I denne studien prøvde de å dyrke fra lever på modifisert CCDA i mikroaerofilt miljø ved 37 grader uten hell (Agerholm et al., 2006). Det er også beskrevet at bakterien tåler frysing og tining dårlig (Duhamel, 2022). Dyrkning av sannsynlig *C. fetus* på CCDA-skål mikroaerofilt ved 37 °C fra to av de tre besetningene i Sandnes våren 2023 har vist sparsom vekst fra lever fra ett foster, god til rikelig vekst fra lunge fra flere foster og vekst fra kotyledon og løpe fra alle undersøkte foster (C. Ersdal, personlig meddelelse). Fra alle tre besetningene ble også direkteutsæd på egenprodusert blodskål med saueblod inkubert mikroaerofilt ved 37 °C med god vekst fra kotyledon og løpeinnhold, i tillegg fra andre organer som lunge, lever, hjerte og nyre. Dette indikerer at det er det mikroaerofile miljøet som er den viktigste faktoren for vekst av *Campylobacter*.

Utseende av kolonier på skål og av bakterier i fasekontrast

Utseende på skål av våre *Campylobacter*-isolater viste enkeltkolonier på 2 mm i diameter eller større. Litteraturen beskriver at *C. fetus* har 1 mm store kolonier, mens *C. jejuni* har større kolonier (Markey et al., 2013). Fordi bakterien vokste på 42 °C mistenkte vi *C. jejuni*, og vi fikk bekreftet arten ved hjelp av MALDI-ToF massespektrometri.

Ved undersøkelse av *Campylobacter*-kolonier under fasekontrast så vi korte staver som hadde pilende bevegelse i tillegg til de klassiske måkevingeformene og lange spiralformede bakterier. Bakterien kan undergå mutasjoner slik at formen på cellene forandres. De kan endres fra spiral-form til både staver og kokker (Esson et al., 2016). Det kan ikke utelukkes at enkelte bakterier i vår studie har undergått mutasjoner.

Hippurattest

C. jejuni er den eneste *Campylobacter*-arten som hydrolyserer natrium-hippurat og derfor burde alle hippurattestene i vårt forsøk gitt et positivt utslag, men vi fikk en fordeling på fire positive og fire negative utslag. Hippurattesten hadde dermed en sensitivitet på 0,5 i vårt forsøk. I en annen studie ble hippurattesten sammenlignet med mPCR av 294 isolater med *Campylobacter*, og deres resultater viste at hippurattesten var en svært lite presis test (Denis et al., 1999).

PCR

qPCRen som ble brukt kan ikke skille mellom de to subspecies av *C. fetus*, *C. fetus* ssp. *fetus* og *C. fetus* ssp. *venerealis*. En artikkel beskrev utfordringene med molekylær påvisning av *C. fetus* og konkluderte med at metodene som for tiden er i bruk ikke kan skille pålitelig mellom underarter (Polo et al., 2021). For studien vår spiller det en underordnet rolle siden Norge er fri for *C. fetus* ssp. *venerealis*.

Vi fikk dessverre ikke sammenlignet dyrkningsresultatene våre med mPCR rettet mot *C. jejuni* og *C. coli*, og derfor heller ikke sett nærmere på om mengde DNA isolert fra ulikt prøvemateriale kunne ha betydning for PCR-resultatet.

Besetningsutbruddet

Det estimerte omfanget i besetningen på 29 % abort samsvarer med andre kilder som viser til at abortstormer med *Campylobacter* kan gi 25 % aborterte, dødfødte og svakfødte lam (Dorsch et al., 2021; Duhamel, 2022). Siden alle dødfødslene ikke ble registrert etter at lammingsperioden startet, er aborttallet usikkert og sannsynligvis noe overestimert. Vi vet heller ikke om antallet kastinger hadde økt ytterligere dersom søyene ikke hadde blitt

behandlet med antibiotika. Bonden isolerte søyer som hadde abortert, og det kan også ha vært med på å senke smittepresset og dermed omfanget av utbruddet.

Kastingstidspunktet i den positive besetningen var hovedsakelig i siste trimester og ved termin med dødfødte og svakfødte lam. Dette samsvarer med litteraturen (USDA/APHIS, 2014; Sahin et al., 2017). Ut fra obduksjon av de ni fostra var det overvekt av fullgatte lam nær termin, og to av ni foster hadde levd.

I denne besetningen var det overvekt av åringer som aborterte tidlig i utbruddet, seks av 11 søyer, noe som tilsvarte 55 %. Vi vet lite om søyene som kastet etter at lammingsperioden begynte, men av de som har blitt identifisert er det også flere åringer. Litteraturen beskriver at alder ikke har noe betydning (Sahin et al., 2017). Om de eldre søyene har vært eksponert tidligere, typisk utenom en drektighetsperiode og dermed ikke gitt utslag i abort tidligere, så kan dette være en hypotese på hvorfor det var overvekt av yngre søyer som aborterte tidlig i perioden. Det er også vist at yngre søyer har et noe dårligere utviklet immunforsvar og dermed kan ha lavere motstandskraft mot en infeksjon (Watson et al., 1994). Søyene vil utvikle immunitet mot *Campylobacter* etter gjennomgått infeksjon (Sahin et al., 2017; Vatn et al., 2008), derfor er det lite sannsynlig at besetningen vil oppleve en liknende abortstorm på grunn av *Campylobacter* de nærmeste årene.

Resistens

Besetningsisolatet av *C. jejuni* var sensitivt for tetracykliner. Det brukes lite tetracykliner til produksjonsdyr i Norge, så dette var som forventet. I rapporten Kjøttets tilstand 2022 står det at i 2021 var 1,5% av indikatorbakterier hos storfe resistente mot tetracykliner (Animalia, 2022). Forbruket i Norge er under 200 kg aktivt stoff per år til produksjonsdyr ifølge figuren i denne rapporten. Termofile *Campylobacter* spp. (for eksempel *C. jejuni* og *C. coli*) resistente

mot fluorokinoloner er listeførte anitbiotikaresistente bakterier i Norge, men de er ikke listeført i EU (Dyrehelseforskriften, 2022). I USA er det påvist utstrakt tetracyklinresistens hos *C. jejuni* hos sau, men her er også antibiotikabehandling svært vanlig. De behandler søyene ved å tilsette antibiotika i fôret (Sahin et al., 2008).

I en studie ble forekomst av *Campylobacter* i avføring hos sauer som fikk antibiotika (tetracykliner) i fôret undersøkt og sammenliknet med sauer som ikke fikk antibiotika i fôret. Antibiotika gitt via fôret senket ikke prevalensen av *Campylobacter* i avføring, og kan indikere at denne behandlingen ikke har effekt (Xia et al., 2019).

Epidemiologi og mulige smittekilder

Den viktigste smittekilden til andre søyer under et abortutbrudd er abortmateriale med foster og fosterhinner og uterint utflod fra søyer som har abortert (Sahin et al., 2017). I besetningen vi besøkte forebygget bonden nettopp dette. I starten av utbruddet og før lamminga satte i gang isolerte han søyene som hadde abortert i en annen bygning. Under lammingsperioden hadde han ikke mulighet til å isolere søyene som hadde abortert fra resten av de drektige søyene. På dette tidspunktet hadde søyene blitt behandlet med tetracykliner, og det kan ha vært med på å senke smittepresset.

Vi påviste *Campylobacter* i avføring hos åtte av 11 søyer som hadde abortert i besetningen. Flere av søyene skilte ut bakterien via avføring i lang tid etter at de hadde abortert, og søya som skilte ut lengst gjorde det i minst 40 dager etter kastedato. Dette viser at avføring fra søyer som har kastet kan være en smittekilde. Vi vet ikke om friske søyer som ikke aborterte også skilte ut bakterien i avføring, for dette ble ikke undersøkt. Undersøkelser i andre land viser at *C. jejuni* er vanlig forekommende i avføringen til friske sauer. I en studie fra England i 1984 hadde 22 % av sauene *Campylobacter* i avføringen (Manser & Dalziel, 1985). I Tyrkia

i 2004 var 63,8% av friske sauer bærere av *Campylobacter* i avføringen (Açik & Cetinkaya, 2006). I Skottland varierte prevalensen hos friske sauer mellom 14-49 % (Yang et al., 2014), og i Australia testet 14 av 19 flokker positivt for *C. jejuni* i avføringen (Yang et al., 2014). En amerikansk studie viste at over halvparten av sauegårdene i USA hadde *Campylobacter* i avføringsprøver hos en eller flere sauer. *C. jejuni* dominerte, og flesteparten var tetracyclinresistente (USDA/APHIS, 2014). Det er derfor usikkert hvilken betydning funnet av *Campylobacter* i avføringen til de søyene som aborterte har. For å undersøke dette nærmere er helgenomsekvensering av isolatet en mulighet.

Avføringsprøvene fra storfe som ble undersøkt i besetningen viste at to av fem hadde *Campylobacter* i avføringen. Siden storfefjøset og sauefjøset hang sammen, og sykebingen til storfefjøset var i saueavdelingen, er dette en mulig smitterisiko. I kjøttets tilstand fra 2022 står det at *C. jejuni* ble påvist fra blidarmsprøve hos 136 storfe, noe som utgjorde 44,4 % av avføringsprøvene (Animalia, 2022).

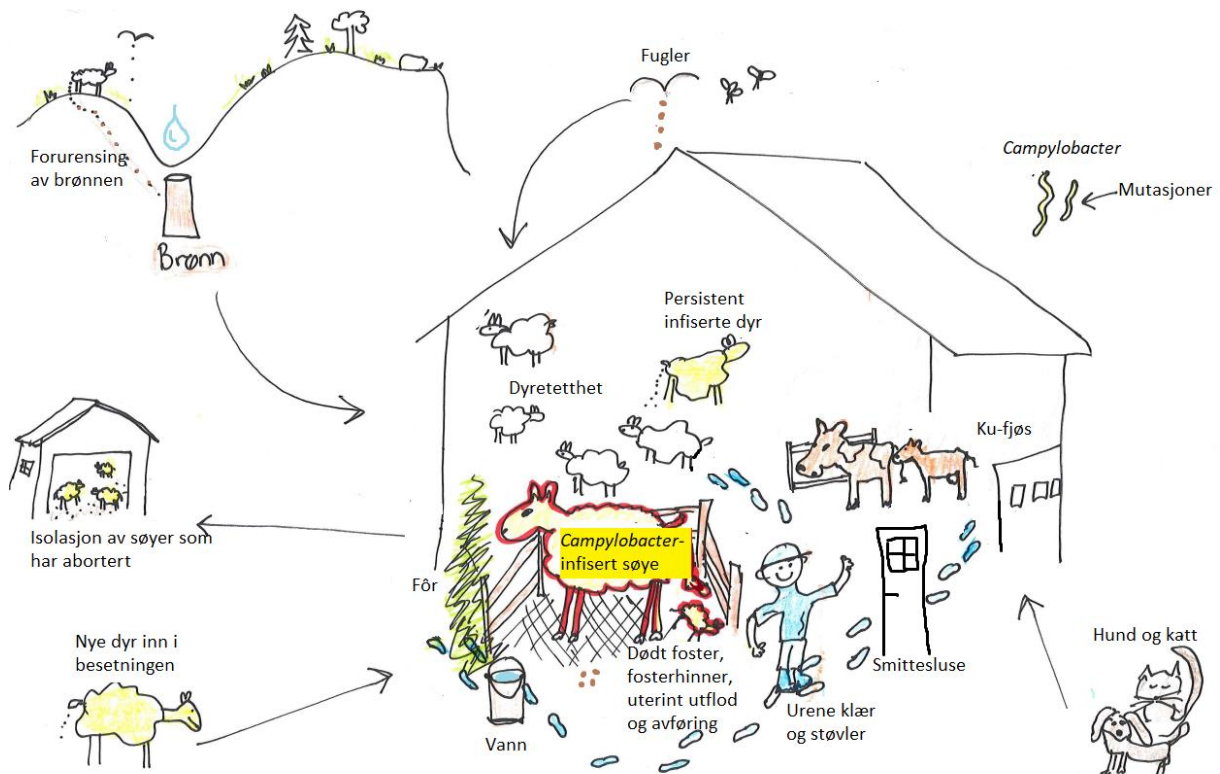
Det er vist at *Campylobacter* kan overleve fra dager til flere uker i organisk materiale (Duhamel, 2022). I en studie ble det vist at *Campylobacter* ikke vokser, og overlever svært kort i saueavføring på beite (Moriarty et al., 2011). I perioden med abortutbrudd gikk alle sauene inne i fjøset og vi anser beitesmitte som usannsynlig.

Drikkevannet til sauene inne i fjøset kom fra en privat brønn som stod på et kulturbeite. På humansiden er det vist at mennesker har blitt smittet med *Campylobacter* spp. via vann (Folkehelseinstituttet et al., 2019; Gilpin et al., 2020). I ett tilfelle i New Zealand var smitekilden saueavføring (Gilpin et al., 2020), og i et tilfelle i Norge var kilden sannsynligvis avføring fra husdyr eller fugler som hadde *C. jejuni* (Folkehelseinstituttet et al., 2019). Basert på dette, kan vannkilden være en mulig oral smittekilde med *C. jejuni* også for sau. En studie kom fram til at bakterien kan overleve tre uker i 4 °C kaldt vann og deretter kolonisere

tarmceller etter oralt inntak (Pitkänen, 2013). Vannet i brønnen på kulturbeitet kan ha blitt forurenset med avrenning med fersk saue-, storfe- eller fugleavføring. På denne måten kan drikkevannet til sauene i fjøset blitt kontaminert med *Campylobacter*.

En av de største risikofaktorene for smitte er introduksjon av nye dyr fra flokker med tidligere historikk om abort. Primærkilden for infeksjon som gir abort i en flokk er vanligvis vanskelig å finne (Sahin et al., 2017).

Hund og katt kan være mulige smittekilder som friske smittebærere av *C. jejuni* (Kapperud, 2015). Det var både hund og katt i besetningen, og disse kan potensielt ha forurenset fôret på fôrbrettet til sauene med skitne labber eller avføring. Fugleavføring kan forurense både fôr og vann og kan dermed være en smittekilde også i sauefjøset om de kommer inn (Sahin et al., 2017).



Figur 15. Oversikt over mulige smitteveier.

Hygieniske rutiner og smitteforebygging

Smitteforebyggingen mellom de to dyreavdelingene var ikke optimal. Bonden hadde ikke rutiner for klesskift, skift av støvler eller håndvask ut og inn av husdyrrommet, og heller ikke mellom de ulike husdyrrommene. Bonden selv kan dermed fungere som en smittespreder hvis han hadde avføring fra storfe eller sau på støvlene, og deretter trådt på fôrbrettet til sauene.

Lammingsbingene som ble brukt hindret ikke all kontakt mellom dyr, men det ville hjelpe noe (se figur 14). Plastristene som søyene stod på, var enkle å holde rene og tørre i forhold til talle. Det uttørkende pulveret som ble brukt i lammingsbingene ville senke bakterieantallet mellom søyer. Bonden fjernet etterbyrden etter søyer fortløpende, og dette er viktig da det inneholder svært mye smitte. Isolasjon av søyer som hadde abortert er et veldig viktig smitteforebyggende tiltak, så denne rutinen burde opprettholdes gjennom hele lammingsperioden. Når søyer som har abortert går sammen med drektige dyr vil de infiserte dyrene være en stor kilde til smitte. Søyene som hadde abortert i starten av lammingsperioden ville kunne smitte andre søyer som enda ikke hadde lammet siden inkubasjonstiden er 14-21 dager (Sahin et al., 2017).

Kilder viser til at det er få alternativer for behandling av *Campylobacter*-infiserte søyer (USDA/APHIS, 2014). Tetracycliner kan gis til eksponerte søyer under en abortstorm for å begrense omfanget (USDA/APHIS, 2014). Det ble valgt å gi tetracycliner til søyene ved besetningsutbruddet beskrevet i denne oppgaven, men det er ikke mulig å konkludere med tanke på effekten av denne behandlingen. Hovedstrategien bør være å forebygge utbrudd ved hjelp av god hygiene og smitteforebyggende tiltak.

Det er viktig med generell god hygiene rundt aborterte søyer og abortert materiale også for menneskene i fjøset siden dette er en zoonose. Siden den infektive dosen er lav, er risikoen desto større (Kapperud, 2015).

Det finnes vaksiner mot *Campylobacter*-abort registrert i New Zealand, Canada og USA, men ingen av disse er registrert i Europa. Vaksinene inneholder flere inaktiverte stammer av *C. fetus* og *C. jejuni* (Lacasta et al., 2015).

Konklusjon

Campylobacter er ikke en vanlig årsak til abort hos sau i Norge, men ved opptreden kan det oppstå store tap. Vi påviste *Campylobacter jejuni* som abortårsak i en besetning som hadde et stort utbrudd. *Campylobacter*-infiserte lam hadde variert, men uspesifikk patologi, og flere hadde tegn på alvorlig infeksjon. Våre undersøkelser viste at ved tegn til systemisk infeksjon hos aborterte foster, død- og svakfødte lam, bør disse undersøkes spesifikt for *Campylobacter*. Det var nødvendig å dyrke *C. jejuni* mikroaerofilt, og det var god vekst fra både kotyledon og løpeinnhold etter to dagers inkubering både på CCDA (42 °C) og Skirrow-agar (37 °C). Ved vekst bør koloniene undersøkes med fasekontrastmikroskopi. Bakterien ble også dyrket fra avføringen fra søyer som hadde abortert, og det viser at god hygiene og isolasjon er nødvendig for å redusere omfanget av aborter.

Takk til bidragsytere

Cecilie Ersdal for god veiledning gjennom hele fordypningsåret

Sabrina Rodriguez-Campos som medveileder og spesielt i forhold til bakteriologisk diagnostikk og PCR

Solfrid Nevland og Anita Kvammen – for god assistanse på obduksjonssalen

Siri Bjerkreim Hamre – for god hjelp med bakteriologi

Wenche Okstad – for god hjelp med DNA-isolering

Coral Polo – for kjøring av qPCR-analysene

Produsent med *Campylobacter*-utbrudd

Summary

Title: *Campylobacter* as a Cause of Ovine Abortion

Authors: Sigrid Loopstra & Signe Lystad

Supervisors: Main supervisor: Cecilie Ersdal, Faculty of Veterinary Medicine Department of Production Animals Clinical Sciences

Co-supervisor: Sabrina Rodriguez-Campos, Department of Preclinical Sciences and Pathology

The bacteria *Campylobacter jejuni*, *C. fetus* and *C. coli* can cause ovine abortion. In several countries these are among the most common bacterial causes. The bacteria are contagious and can cause heavy losses. In this study we aimed to investigate the prevalence of *Campylobacter* in aborted fetuses, still- and weakly born lambs during the sheep season 2022. Another goal was to develop a simple method for diagnosing *Campylobacter* abortion. The study included 129 lambs from 45 flocks mainly from Rogaland and Vestland counties. In addition to standard abortion diagnostics, which included full necropsy and bacteriology, abomasal content and/or cotyledon was incubated on CCDA and Skirrow-agar. DNA was isolated from the same material and qPCR targeting *C. fetus* was performed. *C. jejuni* was isolated from one flock. *C. fetus* was not detected with qPCR. Necropsy of nine lambs showed various pathological findings, and several had signs of severe infection. We conclude that aborted lambs with systemic infectious signs should be examined by *Campylobacter*-specific diagnostics. It was sufficient to incubate *C. jejuni* for two days. The bacterium was also isolated from feces. Proper hygiene routine and isolation of infected individuals is important when a flock is suffering from abortions caused by *Campylobacter*.

Referanser

Açık, M. N. & Cetinkaya, B. (2006). Heterogeneity of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains from healthy sheep. *Vet Microbiol*, 115 (4): 370-5. doi: 10.1016/j.vetmic.2006.02.014.

Agerholm, J. S., Aalbaek, B., Fog-Larsen, A. M., Boye, M., Holm, E., Jensen, T. K., Lindhardt, T., Larsen, L. E. & Buxton, D. (2006). Veterinary and medical aspects of abortion in Danish sheep. *Apmis*, 114 (2): 146-52. doi: 10.1111/j.1600-0463.2006.apm_362.x.

Animalia. (2017). *Andre infeksjoner som gir kasting*. Tilgjengelig fra: <https://www.animalia.no/no/Dyr/sauehelsenett/sjukdommer/reproduksjon---soye/andre-infeksjoner-som-gir-kasting/> (lest 13.04.23).

Animalia. (2022). *Kjøttets tilstand 2022*. Tilgjengelig fra: <https://www.animalia.no/contentassets/3dce35cde68a47b091097fa8c6ec2dd5/2278470-kt22-hele-kor09-dsc.pdf> (lest 20.04.2023).

Animalia. (2022). *Årsstatistikk Sauekontrollen, 2022*. Tilgjengelig fra: <https://www.animalia.no/globalassets/sauekontrollen---dokumenter/statistikk-armelding-2022.pdf> (lest 01.03.2023).

Borel, N., Frey, C. F., Gottstein, B., Hilbe, M., Pospischil, A., Franzoso, F. D. & Waldvogel, A. (2014). Laboratory diagnosis of ruminant abortion in Europe. *Vet J*, 200 (2): 218-29. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.03.015.

Causes of abortion in Scottish sheep flocks in 2011. (2011). *Vet Rec*, 169 (4): 93-6. doi: 10.1136/vr.d4569.

Corry J.E.L., Atabay H.I., Forstyhe S.J., Mansfield L.P. (2003). Progress in industrial microbiology. 37 *Culture media for the isolation of Campylobacters, Helicobacters and Arcobacters*, s. 271-316. Elsevier.

Denis, M., Soumet, C., Rivoal, K., Ermel, G., Blivet, D., Salvat, G. & Colin, P. (1999). Development of a m-PCR assay for simultaneous identification of *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. *Lett Appl Microbiol*, 29 (6): 406-10. doi: 10.1046/j.1472-765x.1999.00658.x.

Dorsch, M. A., Cantón, G. J., Driemeier, D., Anderson, M. L., Moeller, R. B. & Giannitti, F. (2021). Bacterial, protozoal and viral abortions in sheep and goats in South America: A review. *Small ruminant research*, 205: 106547. doi: 10.1016/j.smallrumres.2021.106547.

Duhamel, G. E. (2022). Spiral-Curved Organisms III. I: McVey, D. S., Kennedy, M., Chengappa, M. M. & Wilkes, R. (red.) *Veterinary Microbiology*, s. 207-218. Hoboken: Wiley-Blackwell.

Dyrehelseforskriften. (2022). *Forskrift om dyrehelse (dyrehelseforskriften). Vedlegg – Nasjonal liste for sykdommer hos landdyr, reptiler og amfibier og sjøpattedyr av 6. april 2022 nr. 631*. Tilgjengelig fra: https://lovdata.no/dokument/SF/forskrift/2022-04-06-631/KAPITTEL_10#KAPITTEL_10 (lest 18.04.23).

EUCAST. (2023). *Clinical breakpoints and dosing of antibiotics*. Tilgjengelig fra:

https://www.eucast.org/clinical_breakpoints (lest 01.05.2023).

Esson, D., Mather, A. E., Scanlan, E., Gupta, S., de Vries, S. P., Bailey, D., Harris, S. R., McKinley, T. J., Méric, G., Berry, S. K., et al. (2016). Genomic variations leading to alterations in cell morphology of *Campylobacter* spp. *Sci Rep*, 6: 38303. doi: 10.1038/srep38303.

Fitzgerald, C. & Nachamkin, I. (2007). *Campylobacter and Arcobacter*. I: Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L. & Pfaller, M. A. (red.) b. 1 *Manual of clinical microbiology*. Washington: ASM Press.

Folkehelseinstituttet. (2023). *MSIS-statistikk*. Tilgjengelig fra: <https://msis.no/> (lest 01.05.2023).

Folkehelseinstituttet, Mattilsynet og Askøy kommune. (2019). *Utbrudd av Campylobacter, Askøy, juni 2019*. Tilgjengelig fra: https://www.fhi.no/globalassets/dokumenterfiler/tema/utbrudd/utbrudd_askoy_web.pdf (lest 28.04.2023).

Fossum og Dissen. (2021). *PCR (polymerasekjedereaksjon)*. Tilgjengelig fra:

https://sml.snl.no/PCR_-_polymerasekjedereaksjon (lest 20.01.2023).

Gilpin, B. J., Walker, T., Paine, S., Sherwood, J., Mackereth, G., Wood, T., Hambling, T., Hewison, C., Brounts, A., Wilson, M., et al. (2020). A large scale waterborne

Campylobacteriosis outbreak, Havelock North, New Zealand. *J Infect*, 81 (3): 390-395. doi: 10.1016/j.jinf.2020.06.065.

Hansen, N. & Odden, A. (2013). *Diagnostikk av toksoplasmose hos sau: histologi, immunhistokjemi og PCR*. Fordypningsoppgave. Oslo: Norges veterinærhøgskole.

Harwood, L. J., Thomann, A., Brodard, I., Makaya, P. V. & Perreten, V. (2009). *Campylobacter fetus* subspecies *veneralis* transport medium for enrichment and PCR. *Vet Rec*, 165 (17): 507-8. doi: 10.1136/vr.165.17.507.

Hedstrom, O. R., Sonn, R. J., Lassen, E. D., Hultgren, B. D., Crisman, R. O., Smith, B. B. & Snyder, S. P. (1987). Pathology of *Campylobacter jejuni* abortion in sheep. *Vet Pathol*, 24 (5): 419-26. doi: 10.1177/030098588702400509.

Kampen A. H., Stubsjøen S. M., Hamnes I. S., Urdahl A. M. (2022). *Sau*. Dyrehelserapporten 19/2022. Tilgjengelig fra <file:///C:/Users/sigly/Downloads/Dyrehelserapporten%202021.pdf> (lest 01.05.2023)

Kapperud, G. (2015). *Campylobacter*. I: Granum, P. E. (red.) *Matforgiftning : smitte gjennom mat og vann*, s. 65-77. Oslo: Cappelen Damm akademisk.

Lacasta, D., Ferrer, L. M., Ramos, J. J., González, J. M., Ortín, A. & Fthenakis, G. C. (2015). Vaccination schedules in small ruminant farms. *Vet Microbiol*, 181 (1-2): 34-46. doi: 10.1016/j.vetmic.2015.07.018.

Manser, P. A. & Dalziel, R. W. (1985). A survey of *Campylobacter* in animals. *J Hyg (Lond)*, 95 (1): 15-21. doi: 10.1017/s0022172400062239.

Markey, B. K., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A. & Maguire, D. (2013). *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter* species. I: *Clinical Veterinary Microbiology*, s. 335-343. Edinburgh: Mosby Elsevier.

Moriarty, E. M., Mackenzie, M. L., Karki, N. & Sinton, L. W. (2011). Survival of *Escherichia coli*, Enterococci, and *Campylobacter* spp. in sheep feces on pastures. *Appl Environ Microbiol*, 77 (5): 1797-803. doi: 10.1128/aem.01329-10.

Murray, P. R., Rosenthal, K. S. & Pfaller, M. A. (2016). *Campylobacter* and *Helicobacter*. *Medical microbiology*, s. 280-286. Philadelphia: Elsevier.

Persson, S., Petersen, H. M., Jespersgaard, C. & Olsen, K. E. (2012). Real time TaqMan polymerase chain reaction-based genus-identification and pyrosequencing-based species identification of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* directly on stool samples. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 74 (1): 6-10. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2012.05.029.

Pitkänen, T. (2013). Review of *Campylobacter* spp. in drinking and environmental waters. *J Microbiol Methods*, 95 (1): 39-47. doi: 10.1016/j.mimet.2013.06.008.

Polo, C., García-Seco, T., Hernández, M., Fernández, V., Rodríguez-Lázaro, D., Goyache, J., Domínguez, L. & Pérez-Sancho, M. (2021). Evaluation of PCR assays for *Campylobacter*

fetus detection and discrimination between *C. fetus* subspecies in bovine preputial wash samples. *Theriogenology*, 172: 300-306. doi: 10.1016/j.theriogenology.2021.06.020.

Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., FitzPatrick, S. C., Fanning, S. & Hartigan, P. J. (2011). *Campylobacter* and *Helicobacter* species. I: *Veterinary microbiology and microbial diseases*, s. 342-350. Oxford: Wiley-Blackwell.

Sahin, O., Plummer, P. J., Jordan, D. M., Sulaj, K., Pereira, S., Robbe-Austerman, S., Wang, L., Yaeger, M. J., Hoffman, L. J. & Zhang, Q. (2008). Emergence of a tetracycline-resistant *Campylobacter jejuni* clone associated with outbreaks of ovine abortion in the United States. *J Clin Microbiol*, 46 (5): 1663-71. doi: 10.1128/jcm.00031-08.

Sahin, O., Yaeger, M., Wu, Z. & Zhang, Q. (2017). *Campylobacter*-associated diseases in animals. *Annu Rev Anim Biosci*, 5: 21-42. doi: 10.1146/annurev-animal-022516-022826.

Schnydrig, P., Vidal, S., Brodard, I., Frey, C., Posthaus, H., Perreten, V. & Rodriguez-Campos, S. (2017). Bacterial, fungal, parasitological and pathological analyses of abortions in small ruminants from 2012-2016. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 159 (12): 647-656. doi: 10.17236/sat00136.

Staff. (2020). *What is qPCR?* Tilgjengelig fra: <https://www.thermofisher.com/blog/ask-a-scientist/what-is-qpcr/> (lest 20.01.2023).

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2023). *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters*. Tilgjengelig fra:

https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_13.0/Breakpoint_Tables.pdf (lest 13.03.2023).

Thermo Fisher Scientific Inc. (u.å.). *Culture media supplements*. Tilgjengelig fra: http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=SR0155&org=154 (lest 21.04.2023).

Universitetet i Oslo. (2020). *Identifisering av bakterier og sopp med Matrix Assisted Laser Desorption Ionization- Time of Flight (MALDI-ToF) massespektrometri*. Tilgjengelig fra: <https://studmed.uio.no/elaring/fag/mikrobiologi/kurs/bakgrunn/dokumenter/malдитof.html> (lest 10.03.2023).

Universitetet i Oslo. (2011). *Gelelektroforese*. Tilgjengelig fra: <https://www.mn.uio.no/ibv/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/g/gelelektrofor.html> (lest 20.01.2023)

USDA/APHIS/Veterinary Services. (2014). *Campylobacter on U.S. sheep and lamb operations*. Tilgjengelig fra: https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/sheep/downloads/sheep11/Sheep11_is_Campy_1.pdf (lest 20.01.23).

van Engelen, E., Luttikholt, S., Peperkamp, K., Vellema, P. & Van den Brom, R. (2014). Small ruminant abortions in The Netherlands during lambing season 2012-2013. *Vet Rec*, 174 (20): 506. doi: 10.1136/vr.102244.

Vatn, S., Skaar, I., Ringdal, G., Nafstad, O. & Hektoen, L. (2008). *Helse og velferd hos sau*. Oslo: Tun.

Veterinærinstituttet. (u.å.) a. *Prøvetaking av storfe*. Tilgjengelig fra:

<https://www.vetinst.no/provetaking-og-diagnostikk/hvordan-ta-ut-prover/provetaking-av-storfe> (lest 28.04.2023).

Veterinærinstituttet. (u.å.) b. *Brucella*. Tilgjengelig fra: <https://www.vetinst.no/sykdom-og-agens/brucellose> (lest 13.04.23).

Vidal, S.; Overesch, G.; Thomann, A.; Rodriguez-Campos, S. (2016) Implication of *Campylobacter* spp. in bovine abortion in Switzerland. 4th EAVLD Congress of the European Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Prague (Czech Republic), 6.-09.11.2016.

Watson, D. L., Colditz, I. G., Andrew, M., Gill, H. S. & Altmann, K. G. (1994). Age-dependent immune response in Merino sheep. *Res Vet Sci*, 57 (2): 152-8. doi: 10.1016/0034-5288(94)90051-5.

Wolf-Jäckel, G. A., Boye, M., Angen, Ø., Müller, M. & Jensen, T. K. (2020). Fluorescence in situ hybridization in species-specific diagnosis of ovine *Campylobacter* abortions. *J Vet Diagn Invest*, 32 (3): 413-419. doi: 10.1177/1040638720915678.

Xia, J., Pang, J., Tang, Y., Wu, Z., Dai, L., Singh, K., Xu, C., Ruddell, B., Kreuder, A., Xia, L., et al. (2019). High prevalence of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* bacteria in

sheep and increased *Campylobacter* counts in the bile and gallbladders of sheep medicated with tetracycline in feed. *Appl Environ Microbiol*, 85 (11). doi: 10.1128/aem.00008-19.

Yaeger, M. J., Sahin, O., Plummer, P. J., Wu, Z., Stasko, J. A. & Zhang, Q. (2021). The pathology of natural and experimentally induced *Campylobacter jejuni* abortion in sheep. *J Vet Diagn Invest*, 33 (6): 1096-1105. doi: 10.1177/10406387211033293.

Yang, R., Jacobson, C., Gardner, G., Carmichael, I., Campbell, A. J. & Ryan, U. (2014). Longitudinal prevalence, faecal shedding and molecular characterisation of *Campylobacter* spp. and *Salmonella enterica* in sheep. *Vet J*, 202 (2): 250-4. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.08.001.

Vedlegg

1. Egenprodusert skjema for uttak av prøver i obduksjonssalen.
2. Resultat av DNA-ekstraksjon: DNA-konsentrasjon av *Campylobacter*-isolater.
3. Resultat av DNA-ekstraksjon: Maskinell DNA-ekstraksjon og konsentrasjon av organprøver.

Vedlegg 1

Egenprodusert skjema for uttak av prøver i obduksjonssalen.

Navn, eier	Jnr og evt fosternr	Dagens dato	PCR - vev		Dyrkning			Frys - vev	
			Cot	x		CCDA	TTE	Lever	x
NMBU	01/22 f3	01.01.22	Cot	x		CCDA	TTE	Lever	x
			Løpe	x	Cot	x	x	Cot	x
			Lever		Løpe	x			
			Cot			CCDA	TTE	Lever	
			Løpe		Cot			Cot	
			Lever		Løpe				
			Cot			CCDA	TTE	Lever	
			Løpe		Cot			Cot	
			Lever		Løpe				
			Cot			CCDA	TTE	Lever	
			Løpe		Cot			Cot	
			Lever		Løpe				
			Cot			CCDA	TTE	Lever	
			Løpe		Cot			Cot	
			Lever		Løpe				
			Cot			CCDA	TTE	Lever	
			Løpe		Cot			Cot	
			Lever		Løpe				
			Cot			CCDA	TTE	Lever	
			Løpe		Cot			Cot	
			Lever		Løpe				
			Cot			CCDA	TTE	Lever	
			Løpe		Cot			Cot	
			Lever		Løpe				

Vedlegg 2

Resultat av DNA-ekstraksjon: DNA-konsentrasjon av *Campylobacter*-isolater.

Prøve ID	Konsentrasjon (ng/μL)	A (260 nm)	A (280 nm)	260 / 280
<i>C. coli</i> 11	18,885	0,378	0,194	1,951
<i>C. coli</i> 12	12,258	0,245	0,141	1,742
<i>C. fetus</i> ssp. <i>veneralis</i>	42,131	0,843	0,416	2,026
<i>C. fetus</i> ssp. <i>fetus</i>	37,325	0,747	0,364	2,052
Negativ kontroll	0,491	0,01	-0,001	(!) - 13,530

Vedlegg 3

Resultat av DNA-ekstraksjon: Maskinell DNA-ekstraksjon og konsentrasjon av organprøver.

Prøvenr.	Journalnr.	ng/ μ L	A260	260/230	260/280	Organ
1	8	113,2	2,264	1,44	1,88	kotyl
2	17	28,15	0,563	0,71	1,88	kotyl
3	19 f2	9,25	0,185	0,2	2,13	kotyl
4	19 f3	46,4	0,928	1,02	1,95	kotyl
5	20	62,4	1,248	1,26	1,94	kotyl
6	23	80,15	1,603	1,33	1,94	kotyl
7	25 f1	-0,75	-0,015	-0,03	2,5	kotyl
8	26 f2	55,55	1,111	0,76	1,87	kotyl
9	22 f1	87,4	1,748	1,35	1,9	kotyl
10	30 f3	54,65	1,093	1,07	1,89	kotyl
11	30 f7	-11,05	-0,221	-0,59	1,97	kotyl
12	31 f1	22,35	0,447	0,07	1,69	kotyl
13	31 f2	109,55	2,191	1,52	1,89	kotyl
14	30 f2	-7,65	-0,153	-0,35	1,87	lever
15	30 f6	-9,25	-0,185	-0,45	1,75	lever
16	35 f1	26,3	0,526	0,7	1,99	kotyl
17	30	-3,9	-0,078	-0,15	1,95	lever
18	42	13,25	0,265	0,02	1,45	kotyl
19	46	-10,9	-0,218	-0,53	1,74	lever
20	49 f2	39,65	0,793	0,94	1,84	kotyl
21	49 f1	43,45	0,869	0,29	1,97	lever
22	48 f2	45,15	0,903	0,97	1,85	kotyl
23	47	132,15	2,643	1,62	1,88	kotyl
24	24	117,8	2,356	1,46	1,88	lever
25	57	-6,4	-0,128	-0,2	2,78	kotyl
26	63 f2	58	1,16	0,13	1,85	kotyl
27	62	-5,75	-0,115	-0,26	1,83	kotyl
28	61 f1	53,1	1,062	0,15	1,82	kotyl
29	61 f2/f3	61,8	1,236	0,14	1,82	kotyl
30	60 f2	27,75	0,555	0,73	1,82	kotyl
31	60 f3	32,8	0,656	0,83	1,83	kotyl
32	63 f1	11,8	0,236	0,41	1,45	kotyl
33	72	32,85	0,657	0,72	2	kotyl
34	70 f1	71,45	1,429	1,18	1,93	kotyl
35	70 f2	127,2	2,544	1,6	1,92	kotyl
36	70 f3	51,05	1,021	0,6	1,76	kotyl
37	68	54,8	1,096	0,12	1,87	kotyl
38	79	82,45	1,649	1,39	1,88	kotyl
39	77	40,2	0,804	0,38	4,02	lever
40	75 f3	2,25	0,045	0,07	2,36	lever
41	75 f4	2,3	0,046	0,07	3,83	lever

42	75 f6	39,8	0,796	1,01	1,89	lever
43	82 f3/f2	90,05	1,801	1,42	1,92	kotyl
44	85 f2	99,25	1,985	1,5	1,87	kotyl
45	75 f1	23,25	0,465	0,68	2	kotyl
46	82 f1	59,75	1,195	1,18	1,91	kotyl
47	85 f1	91,55	1,831	1,45	1,86	kotyl
48	84	41,65	0,833	1,02	2	kotyl
49	83	66,9	1,338	1,23	1,87	kotyl
50	89 f1	88,05	1,761	0,15	1,88	kotyl
51	89 f2	-0,95	-0,039	0	-2,6	kotyl
52	91	76,7	1,534	0,24	1,88	kotyl
53	106 f1	21,6	0,432	0,64	1,79	kotyl
54	106 f2	12,25	0,245	0,4	1,73	kotyl
55	107	2,45	0,049	0,1	1,07	lever
56	111 f1	36,9	0,738	0,96	2,03	kotyl
57	111 f2	-1,95	-0,039	-0,07	1,39	lever
58	111 f2	169,35	3,387	1	1,86	kotyl
59	116 f4	-4,6	-0,092	-0,21	1,84	kotyl
60	118	-9,2	-0,184	-0,05	1,9	kotyl
61	151	123	2,46	1,53	1,9	kotyl
62	158	-9,1	-0,182	-0,46	2,14	kotyl
63	177	11,8	0,236	0,02	1,47	kotyl
64	211	71,35	1,427	0,11	1,91	kotyl
101	19 f1	-21,25	-0,425	0,11	1,91	løpe
102	19 f4	126,65	1,533	-1,89	1,97	løpe
103	24	275,15	5,503	5,67	1,96	løpe
104	25	48,15	0,963	-0,46	1,9	løpe
105	28	-22,4	-0,448	0,16	2,25	løpe
106	29	-22,3	-0,446	0,16	1,87	løpe
107	31	18,05	0,361	-0,16	2,19	løpe
108	33	-20,1	-0,402	0,15	2,7	løpe
109	35 f2	124	2,48	-1,91	1,86	løpe
110	37	-7,95	-0,159	0,06	3,12	løpe
111	38	-20,65	-0,413	0,16	2,05	løpe
112	39	-22,25	-0,445	0,16	2,02	løpe
113	40	-4,85	-0,097	-0,02	2,31	løpe
114	42 f1	0,85	0,017	0,03	0,65	løpe
115	43 f2	-7,3	-0,146	-0,36	2,52	løpe
116	44	-4,15	-0,083	-0,02	83	løpe
116	44	-4,6	-0,092	-0,02	5,43	løpe
117	47	240,85	4,817	1,76	1,9	løpe
118	49 f1	20,55	0,411	0,52	1,76	løpe
119	48 f1	8,25	0,165	0,27	1,99	løpe
120	53 f1	-10,45	-0,209	-0,68	3,48	løpe
121	56 f1	-6,35	-0,127	-0,17	2,44	løpe
122	56 f2	35,65	0,713	0,81	1,84	løpe
123	57 f1	41,4	0,828	0,95	1,89	løpe

124	48 f2	-6,2	-0,124	-0,29	2,7	løpe
125	60 f1	-2,35	-0,047	-0,1	2,47	løpe
126	61 f1	58,75	1,175	0,42	1,83	løpe
127	56 f3	101,3	2,026	1,35	1,87	løpe
128	60 f3	-9,8	-0,196	-0,5	2,42	løpe
129	61 f2	-0,55	-0,011	-0,02	-0,58	løpe
130	59	-3,3	-0,066	-0,12	-9,43	løpe
131	61 f3	278,7	5,574	0,54	1,91	løpe
132	63 f1	2,9	0,058	0	0,47	løpe
133	72	99,15	1,983	1,34	1,89	løpe
134	70 f3	14,5	0,29	0,52	1,76	løpe
135	70 f2	-11,8				løpe
136	70 f1	29,35	0,587	0,88	1,91	løpe
137	79	23,3	0,466	0,12	1,52	løpe
138	54	-0,56				løpe
139	78	-1,3				løpe
140	84	16,65	0,333	0,51	1,57	løpe
141	82 f2	9,4	0,188	0,25	1,23	løpe
142	82 f1	45,45	0,909	0,18	1,69	løpe
143	85 f2	47,3	0,946	1,01	1,74	løpe
144	82 f4	5,85	0,117	0,23	1,04	løpe
145	75 f5	2	0,04	0,08	0,62	løpe
146	85 f1	19,95	0,399	0,27	1,46	løpe
147	82 f2	10,9	0,218	0,26	1,34	løpe
148	75 f2	148,3	2,966	1,59	1,83	løpe
149	82 f2	1,25	0,025	0,04	0,23	løpe
150	75 f7	70,4	1,408	0,52	1,81	løpe
151	90	-4,75				løpe
152	89	73,5	1,47	1,3	1,77	løpe
153	88	14,3	0,286	0,44	1,54	løpe
154	92	-2,35				løpe
155	91	50,9	1,018	1,06	1,74	løpe
156	95	22,65	0,453	0,58	1,53	løpe
157	98	43,1	0,862	0,87	1,7	løpe
158	101	104,1	2,082	0,09	0,69	løpe
159	106 f1	789,55	3,791	0,26	0,65	løpe
160	106 f2	-7,3				løpe
161	107 f2	-10,65				løpe
162	107 f3	-10,45				løpe
163	111 f1	54,35	1,087	1,16	1,77	løpe
164	111 f3	13,2	0,263	0,08	1,4	løpe
165	116 f1	-2,2				løpe
166	116 f2	-2,8				løpe
167	144	-9,65				løpe
168	148 f3	-8,25				løpe
169	148 f4	0,25				løpe
170	148 f5	10,45	0,209	0,31	2,01	løpe

171	151 f2	87,75	1,755	1,19	1,9	løpe
172	152 f1	75,8	1,516	1,2	1,95	løpe
173	155 f1	-11,15				løpe
174	155 f2	5,25	0,105	0,15	2,02	løpe
175	158 f1	-6				løpe
176	158 f2	32,55	0,651	0,72	1,79	løpe
177	158 f3	-4,25				løpe
178	161 f2	-7,05				løpe
179	177	-11,7				løpe
180	180	-6,25				løpe
181	202 f1	-11,05				løpe
182	202 f2	-10,35				løpe
183	211	61,85	1,237	0,97	1,86	løpe
184	176 f1	19,45	0,389	0,49	1,92	løpe
185	176 f2	34,5	0,69	0,72	1,89	løpe
186	176 f3	-0,75				løpe
187	176 f4	150,85	3,017	0,1	0,65	løpe
188	222 f1	158,6	3,172	1,54	1,94	løpe
189	222 f2	-8,6				løpe
190	119 f1	-8,7				løpe
191	119 f2	-4,6				løpe
192	232	-12,35				løpe



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Postboks 5003
NO-1432 Ås
67 23 00 00
www.nmbu.no