



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

NMBU Veterinærhøgskolen  
Institutt for Produksjonsdyrmedisin  
Produksjonsdyrklubben

Fordypningsoppgave 2023, 15 stp

Differensiering produksjonsdyrmedisin og mattrygghet

## **Effekt av vaksinerings mot *Staphylococcus aureus* på jurhelse hos NKS-søyer i Norge**

Efficacy of vaccination against *Staphylococcus aureus*  
on udder health among NKS ewes in Norway

Sunniva Johanne Bjormo og Edel Enger Optun  
Kull 2017

Veileder: Lisbeth Hektoen

# Innhold

Forord .....	5
Sammendrag .....	6
Definisjoner og forkortelser .....	8
Innledning.....	10
Sau i Norge.....	10
Norsk kvit sau.....	10
Sauekontrollen.....	11
Mastitt hos søye.....	11
Klinisk mastitt .....	11
Subklinisk mastitt.....	13
Kronisk mastitt .....	14
Risikofaktorer for utvikling av mastitt .....	14
Mikrobielle agens assosiert med mastitt .....	16
<i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
Koagulase negative stafylokokker .....	18
Immunforsvaret .....	18
Jurets immunforsvar .....	19
Vaksine.....	20
Vaksiner mot <i>Staphylococcus aureus</i> -mastitt hos søyer .....	20
Vaksinen Hipra VIMCO vet .....	21
Studier gjort på VIMCO vet.....	23
Kunnskapshull og betydning av vaksine under norske forhold .....	23
Formål .....	24

Materiale og metoder .....	25
Studiepopulasjon .....	25
Oversikt over deltagende besetninger .....	25
Studiedesign .....	26
Praktisk gjennomføring .....	26
Vaksinerings .....	26
Prøvetaking og klinisk scoring .....	26
Bakteriologisk undersøkelse .....	27
Innsamling av besetningsdata.....	28
Statistiske metoder .....	28
Resultater.....	29
Registrerte mastitt-behandlinger i besetningene .....	29
Bakterieforekomst i melkeprøver.....	30
Koagulase negative stafylokokker .....	33
<i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
Tomt glass .....	34
Klinisk scoring .....	35
Klinisk score i jurkjertler hvor <i>S. aureus</i> ble isolert .....	36
Tilvekst hos lam .....	37
Diskusjon.....	39
Utvalg av dyr og besetninger .....	39
Bakterieforekomst .....	39
Serotype <i>Staphylococcus aureus</i> i vaksinen.....	41
Klinisk scoring .....	42
Tilvekst hos lam .....	44

Begrensninger.....	44
Feilkilder .....	47
Konklusjon .....	49
Takk til bidragsytere.....	50
Summary .....	51
Referanser.....	53
Vedlegg .....	57
Vedlegg 1: Prosedyre vaksinerings.....	57
Vedlegg 2: Prosedyrebeskrivelse prøveuttak .....	58
Vedlegg 3: Skjema for notering og beskrivelse av klinisk scoring.....	59
Vedlegg 4: ME757 (Analyse av speneprøver) .....	61
Vedlegg 5: ME770 (Bakterier – påvisning av betalaktamaseproduksjon ved kløverbladmetode).....	64

## **Forord**

Mastitt er en viktig sykdom i sauene. Sykdommen fører til smerte og sterkt redusert velferd hos affiserte søyer og lammene til disse, samt betydelige økonomiske konsekvenser for bonden. Vi har et stort ønske om å bidra til forskningen på dette området i håp om å kunne redusere forekomsten av mastitt hos sau i fremtiden. Har man muligheten til å forebygge mastitt vil dette bety bedre velferd for søye, lam og bonde, lavere antibiotikabruk, i tillegg til bedre økonomi og produksjon.

I løpet av arbeidet med oppgaven har vi fått muligheten til å fordype oss i emnet og lære mye om mastitt. Den praktiske prøvetakingen har også gitt oss mye nyttig erfaring med sau og kliniske vurderinger, samtidig som vi har hatt det veldig hyggelig sammen underveis.

## Sammendrag

**Tittel:** Effekt av vaksinerings mot *Staphylococcus aureus* på jurhelse hos NKS-søyer i Norge

**Forfattere:** Sunniva Johanne Bjormo og Edel Enger Optun

**Veileder:** Lisbeth Hektoen, Institutt for Produksjonsdyrmedisin

I denne oppgaven har vi sett på om vaksinerings mot *Staphylococcus aureus* kan bidra til bedre jurhelse hos søyer. Halvparten av søyene av rasen NKS i fire besetninger fra Trøndelag og Vestland ble vaksinert med Hipra VIMCO vet. Det ble tatt melkeprøver fra 607 søyer om våren, og 547 av disse ble prøvetatt igjen om høsten. Det ble også gjort en klinisk scoring av jur, samt makroskopisk vurdering av melka. Basert på dette fikk hver jurkjertel en total klinisk score. Bakteriologisk dyrkning ble utført hos TINE Mastittlaboratoriet i Molde.

*S. aureus* var, etter KNS-gruppa, den hyppigst isolerte bakterien fra melkeprøvene. Om våren hadde vaksinert gruppe en forekomst av *S. aureus* på 4,0 %, mens kontrollgruppa hadde 3,8 %. Om høsten ble bakterien isolert i 6,7 % av melkeprøvene fra vaksinert gruppe, og 5,6 % fra kontrollgruppa. Forskjellene i forekomst var ikke statistisk signifikante ( $P=0,80$  om våren,  $P=0,44$  om høsten).

Gjennomsnittlig klinisk score om våren var 0,40 og 0,35 for henholdsvis vaksinert gruppe og kontrollgruppe ( $P=0,23$ ). Om høsten var tallene 0,30 og 0,23 ( $P=0,08$ ). Forskjellene mellom gruppene var ikke statistisk signifikante.

Lam fra vaksinerte søyer hadde i gjennomsnitt en daglig tilvekst på 295 g, mens lam fra kontrollgruppa hadde 296 g fra fødsel til høst ( $P=0,70$ ).

Basert på bakteriefunn, klinisk score og tilvekst hos lam kunne det ikke på vises noen forskjell mellom de to gruppene i denne studien. Det er behov for mer forskning på forekomst av mastitt og –agens hos norske søyer. Spesielt interessant er det å se hvilke(n) serotype(r) av *S. aureus* som er vanlig ved mastitt, og om dette er samme type som i vaksinen.

## **Definisjoner og forkortelser**

Adjuvans	Et stoff som ofte tilsettes i vaksiner for å gi en bedre eller forlenget virkning
Animalia	Norsk fag- og utviklingsmiljø innenfor kjøtt- og eggproduksjon, finansiert gjennom omsetningsavgift for kjøtt og egg (Animalia, 2023). Organisasjonen driver blant annet forskning, rådgivning, helsetjenester og kursvirksomhet
Carbopol	Polyakrylsyre. En type adjuvans i vaksine.
CMT	California mastitis test: en test for å undersøke celletall i melk
Eksopolysakkarid	Viskøse karbohydratpolymerer som produseres av bakterier, og danner enten en tettsittende kapsel rundt bakterien eller et løst forbundet ekstracellulært slim (biofilm) (Angelin & Kavitha, 2020)
Epidemiologi	Epidemiologi er studiet av helsetilstand og sykdomsutbredelse i populasjoner, samt av årsaker til sykdom og død ( <i>Epidemiologi</i> , No date)
IMM	Intramammære masser
Insidens	Antall nye tilfeller av en sykdom i løpet av en bestemt tidsperiode



IRKM	Insidensrate for klinisk mastitt
KNS	Koagulase negative stafylokokker
Kopplam	Lam som føres opp med flaske, og ikke går med mora
Mikrobe	Mikroorganisme; bakterier, virus og parasitter
MRSA	Methicillin resistent <i>Staphylococcus aureus</i>
Munnskurv	Infeksjon med parapox-virus som danner sår og skorper, ofte rundt munn, nese og jur
NKS	Norsk Kvit Sau
OR	Odds ratio
PNAG	Poly-N-acetyl $\beta$ -1,6 glucosamin eksopolysakkarid
ROS	Reaktive oksygenforbindelser
Saukontrollen	Landsomfattende husdyrkontroll for sau, driftet av Animalia
SAAC	Biofilmassosiert antigenkompleks
Vfs	Vinterføra sau
Virulens	En mikroorganismes sykdomsfremkallende egenskaper

## **Innledning**

### **Sau i Norge**

I Norge holdes sau for kjøtt- og ullproduksjon. Per 1. mars 2022 var det 932 841 vinterføra sau (vfs) i Norge fordelt på 13 356 bruk. Det gir en gjennomsnittlig besetningsstørrelse på 69,8 vfs. Besetningsstørrelsen varierer derimot veldig mellom brukene. 49 % av gårdsbrukene har 50 eller flere vfs, og hele 82 % av sauene tilhører flokker av denne størrelsen (Statistisk sentralbyrå, 2022).

De fleste norske sauer holdes inne i vinterhalvåret, og lammer inne i tidsperioden mars-mai, avhengig av geografi og klima, før de slippes ut på innmarksbeite. I sommermånedene går de fleste på utmarksbeite. Rutiner for tilsyn på utmarksbeite varierer. Dyrene sankes og sorteres i august-oktober. Videre velges det ut hvilke søyer som skal beholdes til neste sesong, samt hvilke søyelam som skal bli til livdyr. Værlam, søyelam og søyer som ikke skal være med videre i drifta sendes normalt til slakt rett etter sanking eller etter noen uker på innmarksbeite.

### **Norsk kvit sau**

Norsk kvit sau (NKS) er den vanligste sauerasen i landet. Av andel para søyer registrert i Sauekontrollen utgjorde NKS hele 65,2 % (Animalia, 2022b). Dette er en krysningsrase med formål om å produsere kjøtt og ull av god kvalitet. Rasen har innslag av blant annet dala, steigar, rygja, sjeviot og texel (Uldal, 2022). Avlsmålet vektlegger i dag spesielt kjøttproduksjon og morsegenskaper (NSG, 2022). I 2022 hadde NKS-søyene et gjennomsnittlig totalt antall fødte lam på 2,09 (Animalia, 2022b).

## **Saukontrollen**

Saukontrollen er en landsomfattende husdyrkontroll for sau, og danner også grunnlaget for avlsarbeidet (Animalia, 2022a). Det er Animalia som drifter de tekniske systemene bak løsningen. I 2022 hadde Saukontrollen 5511 medlemmer, noe som tilsvarte 41,3 % av sauebesetningene i landet (Animalia, 2022b). Obligatoriske registreringer er lamming, høstvekt på lam og utmelding av dyr som dør utenom slakt. Utover dette kan produsentene selv velge å registrere en rekke andre variabler, som for eksempel fødselsvekt, vårvekt, sykdommer, hvor sauene går på beite og fostermor ved adopsjon. Saukontrollen er et styringsverktøy for produsentene, og dataene kan blant annet brukes til å hente ut rapporter og lage avlsplan.

## **Mastitt hos søye**

Mastitt er en svært viktig og tapsbringende sykdom blant norske søyer. Data fra Saukontrollen viser at den hyppigste av de rapporterte årsakene til utrangeringer av søyer over ett års alder var mastitt, med hele 20,0 % i 2022 (Animalia, 2022b). Insidensen på sykdommen varierer blant besetningene, og kan spenne fra nesten null til 30 % per år (Tollersrud & Hektoen, 2017). I en spørreundersøkelse fra 2015 rapporterte norske sauebønder en gjennomsnittlig forekomst av mastitt hos søye på 6,4 % per år. Respondentene oppga at omtrent halvparten av disse forekommer på sommerbeite (Hektoen et.al., upubliserte data).

## **Klinisk mastitt**

International Dairy Federation (1999) deler klinisk mastitt inn i mild, moderat og alvorlig.

### ***Alvorlig klinisk mastitt***

Dyr med alvorlig klinisk mastitt blir systemisk påkjente og sykdommen utvikler seg raskt (International Dairy Federation, 1999). De kan få feber, redusert appetitt og bli letargiske. Juret er varmt, hovent og/eller smertefullt og det kan utvikles ødem som også kan spre seg i det subkutane vevet rundt juret (Constable et al., 2017). Melkeproduksjonen nedsettes og melkas sammensetning, smak og utseende endres. Lam fra disse søyene kan få nedsatt trivsel og tilvekst på grunn av dette (Arsenault et al., 2008; Berge, 2004; Larsgard & Vaabenoe, 1993; Mørk et al., 2007). Juret kan også nekrotisere raskt og det kan utvikles koldbrann (gangrenøs mastitt). En studie fra 2007 fant at koldbrann oppstod i 8,8 % av kjertler med tegn på klinisk mastitt (Mørk et al., 2007). Begge deler kan være svært smertefullt og gir søya nedsatt velferd og produksjon.

Infeksjonen kan avgrensnes slik at søya lever videre, men klinisk mastitt er også en viktig årsak til dødsfall eller avlivning. Dette gjelder spesielt for koldbrann. Sykdommen krever rask veterinærbehandling, og både søya og lammene må følges nøye opp i ettertid. I tillegg til de betydningsfulle dyrevelferdsmessige konsekvensene vil sykdommen også være både tidkrevende og tapsbringende økonomisk for bonden. Faktorer som spiller inn her er blant annet økt dødelighet blant både søyer og lam, redusert tilvekst hos lammene på grunn av nedsatt melkeproduksjon, kostnader knyttet til veterinærbehandling, rekruttering av nye søyer og økt arbeidsmengde for bonden (Arsenault et al., 2008; Berge, 2004; Larsgard & Vaabenoe, 1993; Tollersrud & Hektoen, 2017).

### ***Mild og moderat klinisk mastitt***

Ved moderat mastitt sees sekretforandringer i melka og det vil observeres hevelse/ødem i den affiserte jurkjertelen. Til forskjell fra alvorlig klinisk mastitt er ikke søya systemisk påkjent ved moderat klinisk mastitt (International Dairy Federation, 1999).

Mild klinisk mastitt gir også sekretforandringer i melka, gjerne i form av slintrer eller klumper. Det er lite eller ingen tegn til hevelse i den affiserte kjertelen, og søya er ikke systemisk påkjent (International Dairy Federation, 1999). Både mild og moderat klinisk mastitt kan også føre til redusert tilvekst hos lammene, på grunn av redusert melkeproduksjon (Arsenault et al., 2008; Larsgard & Vaabenoe, 1993).

### **Subklinisk mastitt**

Subklinisk mastitt kan defineres som en infeksjon i juret uten tilstedeværelse av kardinaltegn som varme, rødme, hevelse, smerte og makroskopisk endret sekret. Juret kan likevel ha nedsatt funksjon som redusert melkemengde, endringer i sammensetningen av melken og/eller tilstedeværelse av inflammatoriske bestanddeler/komponenter i melka (Conington et al., 2008). Diagnostikk av subklinisk mastitt kan gjøres ved å undersøke forekomst av betennesceller ved hjelp av å se på celletall i melk, og/eller bakterier i melka (Clements et al., 2003). Det finnes flere enkle metoder for å detektere mastitt i felt, blant annet California Mastitis Test (CMT) som indikerer celletall og indikatorpapir som endrer farge avhengig av pH i melka.

Subklinisk mastitt kan bidra til nedsatt melkeproduksjon og tidlig utrangering av affiserte søyer. På samme måte som klinisk mastitt kan subklinisk mastitt føre til redusert tilvekst og økt dødelig hos lam (Arsenault et al., 2008; Berge, 2004; Fthenakis & Jones, 1990).

Resultater fra Arsenault et al. (2008) viser likevel at nedsatt tilvekst hos lam fra søyer med subklinisk mastitt kun er assosiert med økt CMT-score i melk, og ikke bakteriefunn (Arsenault et al., 2008). Keisler et al (1992) fant derimot at lam ikke fikk nedsatt tilvekst de første 6-8 ukene som konsekvens av subklinisk mastitt, så lenge de fikk tilleggsfôring (Keisler et al., 1992).

### **Kronisk mastitt**

Ved kronisk mastitt viser søya ingen tegn på nedsatt allmenntilstand. Tilstanden har pågått over en lengre periode, og kan komme uten forutgående klinisk sykdom, etter akutt mastitt eller etter skader i juret (Grant et al., 2016). Indurasjon eller abscesser kan ofte palperes, som faste klumper og knuter, eller juret kan bli atrofisk. Hvis melk fortsatt produseres, kan utseende og sammensetning endres (Reksen, 2015).

En longitudinell undersøkelse fra Storbritannia viste at tilstedeværelse av palperbare intramammære masser (IMM) var et vanlig tegn etter akutt klinisk mastitt (Grant et al., 2016). Undersøkelsen fant også at søyer som hadde IMM på et tidspunkt, hadde større sjans for å utvikle akutt eller kronisk mastitt senere.

### **Risikofaktorer for utvikling av mastitt**

Waage et al. (2008) undersøkte risikofaktorer for utvikling av klinisk mastitt blant norske søyer. Studien var retrospektiv og så på data fra Sauekontrollen fra totalt 1056 besetninger gjennom et år. Av de 2857 søyene som utviklet mastitt, fikk 2644 (92,5 %) av disse mastitt fra 10 dager før til 100 dager etter lamming. Forfatterne fant her at odds ratio (OR) for å utvikle mastitt økte med økende antall fødte lam. For eksempel var sannsynligheten 6,7 ganger høyere for en to år gammel søye uten dystoki, hvis hun hadde over tre lam sammenliknet med en søye med ett lam. Økende alder på søya og fødselshjelp er også risikofaktorer, men er av

mindre betydning enn lammetall. Disse faktorene hadde størst betydning for søyer med opptil to lam, og ved lammetall over dette hadde alder og grad av fødselshjelp liten betydning. Et annet viktig funn var at søyer som hadde blitt behandlet for klinisk mastitt i løpet av de tre foregående årene hadde fire ganger høyere sannsynlighet for å utvikle mastitt på nytt, sammenliknet med søyer uten tidligere mastitthistorikk (Waage & Vatn, 2008).

En kanadisk studie (2008) fant at insidensen for klinisk mastitt var nært knyttet til region og antall lam fødte lam. Søyer som fødte tre lam var signifikant mer utsatt for å utvikle klinisk mastitt, sammenliknet med søyer som fødte ett lam (Arsenault et al., 2008). Det ble derimot ikke sett noen forskjell mellom søyer som fødte ett eller to lam.

Andre faktorer som disponerer for utvikling av mastitt er blant annet munnskurv, sår eller skader, både på jur, spener og andre steder. Utilstrekkelige rutiner rundt smittevern i besetningen, stress hos søya og dårlig hygiene er også av betydning (Arsenault et al., 2008; Tollersrud & Hektoen, 2017).

Risikofaktorer for utvikling av mastitt som har sammenheng med miljø og fôring er lite undersøkt i Norge. Indrebø (1990) undersøkte forekomst av mastitt og speneskade hos norske søyer på ulike underlag. Hun fant at mastittforekomsten var signifikant høyere hos sauer som gikk på talle sammenliknet med strekkmetall (Indrebø, 1990). Videre ble det funnet at speneskader var hyppigere til stede hos søyer med mastitt, sammenliknet med friske søyer. Antall speneskader var høyere på strekkmetall enn på talle.

På grunn av at norske driftsforhold er ganske forskjellige sammenliknet med andre land (sauene går inne ca. halve året), kan det være vanskelig å trekke paralleller fra studier gjort i

utlandet til norske besetninger. Det er også få artikler om risikofaktorer knyttet til miljø og fôring internasjonalt. En studie fra England fant at oppstillingsmiljøet til søyene hadde innvirkning på insidensraten av klinisk mastitt (IRKM) (Cooper et al., 2016). I studien så man på ulike typer underlag for søyer som ble holdt innendørs før og under lamming, og om dette hadde noe å si for IRKM. Studien konkluderte med at IRKM er lav, men meget variabel og at variasjon i management rundt lamming gjør det vanskelig å generalisere risikofaktorer for utvikling av mastitt. Cooper et al fant allikevel at produksjon innendørs generelt ga en økning i IRKM. For søyer med mange lam virket det derimot preventivt å lamme innendørs.

### **Mikrobielle agens assosiert med mastitt**

Det er flere mikrobielle agens som er vist å gi mastitt hos sau. En studie gjort i 2007 undersøkte forekomst av bakterier hos norske søyer med klinisk mastitt fra en uke før til åtte uker etter lamming. Studien viste at *Staphylococcus aureus* var den hyppigst forekommende bakterien, med 65,3 %, og at en tredjedel av tilfellene forekom innen én uke etter lamming (Mørk et al., 2007). Andre agens var *E. coli* (7,3 %), *Streptococcus* spp. (4,6 %), koagulase negative stafylokokker (KNS) (2,9 %), *Mannheimia haemolytica* (1,8 %) og diverse andre bakterier. Fra 13,2 % av prøvene ble ingen bakterier dyrket frem. En studie fra England viste at de vanligste bakterielle årsakene til subklinisk mastitt var streptokokker (42 %), KNS (33 %), *Pasteurella hemolytica* (17 %) og *S. aureus* (8 %) (Watkins et al., 1991). En annen studie fra Tabriz-regionen i Iran, viste at KNS var til stede i 76 % av tilfellene med subklinisk mastitt, etterfulgt av *E. coli* (8 %), *S. aureus* (8 %) og *Corynebacterium* spp. (8 %) (Beheshti et al., 2010).

### ***Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* er en gram positiv kokkbakterie som koloniserer en rekke arter. Hos sau detekteres den ofte på hud, slimhinner og i sår, i tillegg til å forekomme i melk fra



subklinisk infiserte jurkjertler (Mørk et al., 2012). I denne studien ble *S. aureus* funnet i prøver fra nasalslimhinnen hos i overkant av halvparten av alle undersøkte sauer. Dette regnes som hovedreservoaret hos sau (Mørk et al., 2012). Studien fant også at 1,5 % av melkeprøvene fra jur uten kliniske symptomer var positive for bakterien, mens bakterien ble isolert fra spene huden hos 10,8 %. Bakterien regnes som en opportunist, og hos sau er bakterien den dominerende årsaken til klinisk mastitt (Mørk et al., 2007; Watson et al., 1990). Studier fra ulike populasjoner har vist at prevalensen av subklinisk mastitt forårsaket av *S. aureus* varierer fra 1 % til 7 % blant kjøttproduserende sau (Gonzalo et al., 2002; Lafi et al., 1998).

Det finnes mange ulike genotyper av *S. aureus*, og de kan ha ulike egenskaper som bidrar til å skape infeksjon og inflammasjon. En kjent egenskap, som er viktig for mastitt hos storfe og trolig også hos sau, er bakteriens evne til å danne mikroabscesser (Reksen, 2015; Sağlam et al., 2017). Dette beskytter den fra fagocytose og eventuell behandling med antibiotika. På grunn av dette vil også bakterien skilles ut ujevnt i melka.

En annen virulensfaktor som er viktig for *S. aureus* er evnen til å danne biofilm. Dette er viktig for bakteriens overlevelse, evne til å bli værende på celleoverflaten og evne til å spre seg i det infiserte juret (Melchior et al., 2006; Vasileiou et al., 2019). Biofilm er en slimaktig matriks bestående av ulike eksteracellulære komponenter (polysakkarider, lipider, proteiner og DNA) (Melchior et al., 2006). Biofilmen er vanskelig for antibiotika å penetrere, og beskytter dermed bakterien fra antimikrobiell behandling. Flere in vitro studier har vist at bakterier som vokser i biofilm kan være 10-1000 ganger mer resistent mot antibiotika (Melchior et al., 2006).

Evnen til å produsere toksiner er en annen viktig bidragsyter til bakteriens virulens.

Toksinene kan blant annet hemme immunforsvaret gjennom ulike mekanismer, og på den måten forsterke bakteriens virulens (Azara et al., 2017).

*S. aureus* er naturlig følsom for penicillin, men bakterien kan ha flere egenskaper som gjør den resistent mot denne typen antibiotika. En godt kjent resistensmekanisme blant enkelte *S.aureus*-isolater er produksjon av enzymet  $\beta$ -laktamase (Brook, 2004). Penicillin er en type  $\beta$ -laktam-antibiotika, og  $\beta$ -laktamaser hindrer derfor antibiotikumets funksjon. Methicillin-resistente stammer (MRSA) er også en viktig gruppe av penicillin-resistente *S. aureus*, men en undersøkelse gjort i 2018 viser lav forekomst av MRSA hos norske sauer (Maaland et al., 2018).

### **Koagulase negative stafylokokker**

Koagulase negative stafylokokker (KNS) er stafylokokker som, i motsetning til *S. aureus*, ikke produserer koagulase. Blant aktuelle bakterier inkluderer gruppen *Staphylococcus warneri*, *S. chromogenes*, *S. simulans*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* og *S. caprae*. KNS er rapportert som den vanligste årsaken til subklinisk mastitt hos melkesau (Lafi et al., 1998). Berge (2004) fant i sin studie gjort i én besetning med kjøtt- og ullproduserende søyer at KNS var den vanligste gruppen bakterier hos søyer med subklinisk mastitt (Berge, 2004).

### **Immunforsvaret**

Kroppens immunforsvar kan deles inn i to hoveddeler; medfødt og ervervet. Disse to delene jobber tett sammen, og er viktige på hver sin måte.

Det medfødte immunforsvaret er kroppens førstelinjeforsvar, og har en uspesifikk reaksjon til fremmede mikroorganismer. Det medfødte immunforsvaret har imidlertid ikke evne til å

trenes opp, slik som det ervervede, og reagerer likt på alle typer fremmede mikroorganismer. Det ervervede immunforsvaret er derimot mer spesialisert, og angriper fremmede mikroorganismer spesifikt. På grunn av evnen til å gjenkjenne antigener, vil det ervervede immunforsvaret reagere raskere ved en ny infeksjon med samme smittestoff som det tidligere har blitt eksponert for. Denne egenskapen er årsaken til at kroppen kan bli immun mot sykdommer, og at vaksiner kan bidra til en raskere og bedre immunrespons mot det aktuelle agenset (Abbas et al., 2016).

### **Jurets immunforsvar**

Det finnes flere forsvarsmekanismer i juret, som inkluderer både det medfødte og ervervede immunforsvaret. Alle de ulike mekanismene spiller en viktig rolle i å hindre mikroorganismer fra å komme inn gjennom spenekanalen (Katsafadou et al., 2019; Rainard & Riollet, 2006).

Spenen beskytter juret på flere ulike måter. Spenesfinkteren er en viktig fysisk barriere som holder spenekanalen lukket fra miljøet rundt, og på den måten fysisk hindrer mikroorganismer i å komme inn i spenekanalen (Ezzat Alnakip et al., 2014). Fettsyrer fra huden på spenen har bakteriostatiske egenskaper og kan på den måten være med på å begrense mengden bakterier i speneåpningen og -huden (Ezzat Alnakip et al., 2014; Katsafadou et al., 2019). I juret finnes det epitelceller som produserer antibakterielle proteiner. Leukocytene i jurkjertelvevet produserer ulike mediatorer (cytokiner eller chemokiner) som kan fremme eller dempe inflammasjon, fagocyttere bakterier og gjenkjenne antigener på overflaten til ukjente mikroorganismer. Det er fire immunoglobuliner (IgG1, IgG2, IgM og IgA) i jurvevet som er viktige i bekjempelsen av bakterier (Ezzat Alnakip et al., 2014; Katsafadou et al., 2019). I tillegg finnes også en rekke antimikrobielle proteiner, akutfaseproteiner (f.eks. serum amyloid A), ribonukleaser og reaktive oksygenforbindelser (ROS) som er en del av immunforsvaret i jurkjertelvevet (Katsafadou et al., 2019).

En annen viktig del av immunforsvaret i juret er komplementsystemet, som er en del av det medfødte immunforsvaret. Denne delen av immunforsvaret bidrar ved aktivering av ulike proteiner som gjennom ulike reaksjonsveger spiller en rolle i inflammasjonsprosessen (Katsafadou et al., 2019; Rainard & Riollet, 2006).

## **Vaksine**

En vaksine (av latin *vaccina*, som betyr kukopper) er et preparat som er fremstilt for å beskytte kroppen mot sykdom fra et bestemt smittestoff (antigen). Beskyttelsen oppnås ved at kroppens ervervede immunforsvar aktiveres og danner spesifikke antistoff mot det aktuelle antigenet.

Innholdet i en vaksine kan være hele eller deler av den aktuelle mikroorganismen (bakterier eller virus). Disse kan være inaktivert, levende eller svekket, ufarliggjorte giftstoffer (toksiner) fra bakterier eller deler av mikroorganismer (uten de sykdomsfremkallende egenskapene) som er genteknologisk fremstilt.

### **Vaksiner mot *Staphylococcus aureus*-mastitt hos søyer**

Det er opp gjennom tiden utviklet og prøvd ut ulike typer vaksiner mot *Staphylococcus aureus*-mastitt. Utvikling av en effektiv vaksine er viktig, da mastitt hos søye er ansett å være en viktig sykdom både økonomisk og dyrevelferdsmessig.

En av de første vaksine som ble utviklet for intramuskulær bruk til sau inneholdt inaktiverede helceller av *S. aureus* og *S. simulans*, samt *S. aureus* eksopolysakkarid-antigen inne i liposomer. Det ble her funnet at vaksinen førte til redusert sykdoms-insidensrate, men det ble ikke funnet noen sykdomsbeskyttelse når eksopolysakkarid-komponenten ble fjernet fra vaksinen (Amorena et al., 1994).

I en annen studie ble det sett på effekten av *S. aureus*-vaksine med to ulike typer adjuvans. De to adjuvansene som ble brukt var mineralolje og Carbopol. Vaksinen inneholdt inaktiverede *S. aureus*-celler og alfa- og beta-toksin. Resultatet i denne studien viste at mineralolje som adjuvans førte til høyere antistoff-titer mot toksin, sammenliknet med Carbopol. Bruk av Carbopol ga høyere antistoff-titer mot eksopolysakkarider, sammenliknet med mineralolje (Tollersrud et al., 2002).

Et tredje studie så på effekten av en inaktivert helcelle vaksine som inneholdt *S. aureus* og tre ulike KNS (*S. epidermis*, *S. simulans* og *S. saprophyticus*). Denne ble ikke vist å ha noen effekt (Hadimli et al., 2005).

Under arbeidet med denne oppgaven er det ikke funnet andre kommersielt tilgjengelige vaksiner mot *S. aureus*-mastitt hos søye enn Hipra VIMCO vet. Det finnes en kommersiell vaksine mot mastitt forårsaket av *S. aureus*, koliforme bakterier og KNS hos kyr og kviger (Hipra Startvac). Schukken et al (2014) gjennomførte en studie for å se på effekten av denne vaksinen hos melkekyr, og fant den hadde moderat effekt. Det ble sett en større effekt hos kyr i 1. laktasjon sammenliknet med dyr i 3. eller høyere laktasjon. Særlig gjaldt dette for *S. aureus*-mastitter (Schukken et al., 2014).

### **Vaksinen Hipra VIMCO vet**

Vaksinen som ble brukt i denne studien produseres av det spanske selskapet Hipra. Den inneholder komponenter til aktiv immunisering mot *S. aureus* av friske søyer i besetninger hvor problemer med mastitt er tilbakevendende. Ifølge produsenten skal vaksinen redusere forekomsten av subklinisk mastitt, samt lesjoner i jur, somatiske celletall og bakterietall i melk, forårsaket av *S. aureus* (Hipra, 2019). Vaksinen er markedsført til både sau og geit, men med noe ulike indikasjoner. På sau er vaksinen markedsført med virkning på *S. aureus*, mens

den på geit er markedsført med virkning på både *S. aureus* og KNS. Hos søye er det vist at vaksinen gir immunitet fra seks uker etter vaksinerings, mens det ikke er kartlagt på geit.

Varigheten av beskyttelsen vaksinen gir er ikke beskrevet, hverken på sau eller geit (Hipra, 2019).

Ifølge produsentens anbefalinger skal søyene vaksineres to ganger før lamming. 1. dose gis fem uker før lamming, og 2. dose gis tre uker etter dette. Søyene må revaksineres før hver laktasjon. Vaksinen gis intramuskulært (Hipra, 2019).

### **Vaksinens innhold og funksjon**

Vaksinen inneholder inaktivert *S. aureus* som produserer serotype 8 (CP8) kapselpolysakkarid (biofilm). Tollesrud et al (2000) fant at den vanligst forekommende serotypen produsert av *S. aureus* ved mastitt hos norske melkekyr var serotype 8 (CP8) (Tollersrud et al., 2000), men det er ikke gjort lignende studier på sau.

En studie på søyer beskrev produksjon av antistoffer mot hovedkomponenten i stafylokokkers biofilm-matriks (poly-N-acetyl  $\beta$ -1,6 glukosamin eksopolysakkarid (PNAG)) (Pérez et al., 2009). I en annen studie ble det funnet at denne antistoffresponsen kan føre til beskyttelse mot mastitt forårsaket av *S. aureus* (Prenafeta et al., 2010). Den samme studien beskriver at immunisering med vaksiner som har høyt innhold av biofilmassosiert antigenkompleks (*slime associated antigen complex* (SAAC)) fører til redusert formering/spredning av *S. aureus* i intramammære infeksjoner. Studien konkluderer samtidig med at ytterligere forskning er nødvendig for å si noe mer sikkert om dette.

Vaksinen VIMCO vet fører til dannelse av antistoffer mot biofilmproduksjonen hos *S. aureus*, og vil på denne måten redusere virulensen til bakterien. Dette kan bidra til å redusere

forekomsten og alvorlighetsgraden av mastitt hos søye. Forutsatt at serotypen i vaksinen er den samme man finner hos søyer i Norge, kan man anta at vaksinen brukt i dette forsøket vil bidra til bedre jurhelse hos de vaksinerte.

### **Studier gjort på VIMCO vet**

Flere studier har sett på effekten av VIMCO vet på mastitt hos søyer. En studie gjort i 2019 fant at vaksinerte søyer hadde redusert forekomst av både klinisk og subklinisk mastitt forårsaket av stafylokokker (Vasileiou et al., 2019), men effekten var kun synlig hos søyer som var to år eller eldre. Flere studier har sett på effekten av vaksinen på melkeproduksjon og -kvalitet. I en studie fant de at vaksinen førte til at søyene økte melkeproduksjon per laktasjon med 35 liter (Tamayo et al., 2015b). En annen studie fra 2015 fant at celletall i tankmelk var signifikant redusert etter vaksinerings sammenlignet med året før (Tamayo et al., 2015a), mens en tredje studie så at vaksinerte søyer hadde 55 % lavere celletall enn ikke-vaksinerte søyer (Rodríguez Fernández et al., 2018).

### **Kunnskapshull og betydning av vaksine under norske forhold**

De fleste studier av mastitt hos søye er gjort på melkesau. Klinisk og subklinisk mastitt hos sau i kjøttproduksjon er lite undersøkt både i Norge og internasjonalt, spesielt i beiteperioden. Hvilke bakterier som er vanligst forekommende ved subklinisk mastitt er det spesielt lite kunnskap om. Det mangler også kunnskap om hvilke kostnader bonden har ved mastitt, knyttet til blant annet tidlig utrantering, veterinærutgifter og redusert avdrått.

Effekten av vaksinen brukt i dette forsøket er ikke undersøkt under norske forhold tidligere, eller hos sau holdt primært for kjøtt- og ullproduksjon. Dette er et viktig punkt da infeksjonsdynamikken kan være forskjellig og man ikke er interessert i kvaliteten på melka i seg selv, men at lammene har god helse og tilvekst. Under arbeidet med oppgaven er det

heller ikke funnet noen artikler på hvilken serotype av *S. aureus* som finnes hos norske søyer med mastitt og om disse bakteriene produserer biofilm.

## **Formål**

Formålet med oppgaven var å undersøke om vaksinerings mot *Staphylococcus aureus* kan ha en positiv effekt på jurhelse hos søyer av rasen NKS i norsk kjøtt- og ullproduksjon. Følgende spørsmål ble undersøkt:

- Er det lavere forekomst av *Staphylococcus aureus* i melkeprøver tatt vår og høst fra vaksinerte søyer sammenlignet med ikke-vaksinerte søyer?
- Har vaksinerte søyer færre kliniske tegn på mastitt vår og høst sammenlignet med ikke-vaksinerte søyer?
- Har lam under vaksinerte søyer bedre tilvekst enn lam under ikke-vaksinerte søyer?



# Materiale og metoder

## Studiepopulasjon

Fire besetninger ble rekruttert på grunnlag av beliggenhet, størrelse, medlemskap i Sauekontrollen og bøndenes vilje til å delta. Beliggenheten var viktig med tanke på den praktiske gjennomføringen. For å få historiske og fremtidige data var det nødvendig at produsentene rapporterte til Sauekontrollen. Det var Helsetjenesten for sau ved Animalia som stod for rekruttering av besetninger. Vi ønsket spesielt å rekruttere besetninger som hadde hatt problemer med mastitt tidligere, og det var ønskelig at besetningene hadde lite tap til rovdyr og lav eller ingen forekomst av munnskurv.

Av de fire besetningene som ble rekruttert til forsøket lå tre i Trøndelag og en i Vestland. Produsentene ble forespeilet at prosjektet ville medføre en del arbeid i forbindelse med prøvetaking, men de ville til gjengjeld få god oversikt over bakterier i egen besetning. Utgiftene til vaksinerings og bakteriologisk undersøkelse ble dekket av Animalia.

## Oversikt over deltagende besetninger

Informasjon om de fire besetningene som var med i forsøket er vist i Tabell 1.

**Tabell 1.** Oppsummering av utvalgte nøkkeldata fra 2022 for de fire besetningene som var med i forsøket.

Besetning	A	B	C	D
<b>Beliggenhet</b>	Trøndelag	Trøndelag	Trøndelag	Vestland
<b>Antall søyer med fostertelling (antall NKS-søyer)</b>	301 (223)	342 (243)	446 (182)	274 (216)
<b>Antall søyer i studieutvalget - vår</b>	161	164	187	95
<b>Antall søyer i studieutvalget - høst</b>	138	153	173	83
<b>Gjennomsnitt fødte lam per søye</b>	2,00	2,42	2,25	2,43
<b>Gjennomsnitt levendefødte lam per søye</b>	1,96	2,29	2,15	2,32
<b>Tilvekst fra fødsel-høst (g/dag)</b>	248	280	302	325
<b>Søyer som lammer uten hjelp</b>	48,5 %	39,8 %	80,3 %	29,5 %
<b>Søyer tapt inne</b>	10 (3,4 %)	1 (0,3 %)	4 (0,9 %)	3 (1,1 %)
<b>Søyer tapt på vårbeite</b>	2 (0,7 %)	0	4 (0,9 %)	5 (1,9 %)
<b>Søyer tapt på sommerbeite</b>	20 (6,9 %)	8 (2,4 %)	11 (2,4 %)	1 (0,4 %)
<b>Søyer tapt på høstbeite</b>	0	4 (1,2 %)	0	1 (0,4 %)
<b>Antall kopplam</b>	25	161	126	99

## **Studiedesign**

Halvparten av NKS-søyene i hver besetning ble vaksinert med VIMCO vet før lamming. Utvelgelsen av hvilke søyer som skulle vaksineres ble gjort på bakgrunn av ørenummer; de med oddetall sist i ørenummeret ble vaksinert. Av praktiske og økonomiske hensyn hadde studien en øvre grense på 600 søyer. Utvelgelsen skjedde tilfeldig, ut fra hva som var praktisk gjennomførbart. De samme søyene ble så langt som mulig undersøkt og prøvetatt igjen om høsten.

## **Praktisk gjennomføring**

### **Vaksinerings**

Halvparten av søyene i studiepopulasjonen ble vaksinert med Hipra VIMCO vet. Vaksineringsen ble utført av lokal veterinær etter prosedyre beskrevet i Vedlegg 1. Instruksjonene er basert på anbefalinger fra vaksineprodusenten, slik som beskrevet under “Vaksine”.

### **Prøvetaking og klinisk scoring**

Prøvetaking og klinisk scoring ble gjennomført to ganger per sau. Først på våren før beiteslipp, ca. 2-4 uker etter lamming. Siste prøvetakning ble utført på høsten etter innsett fra beite, ca. 3-5 måneder etter lamming.

Søya ble holdt av produsentene, mens en person tok melkeprøver og gjorde visuell og palpatorisk undersøkelse av juret. Samtidig var en tredje person sekretær, og noterte ned funn, individnummer på søya og organiserte melkeprøveglassene. Melking og klinisk scoring ble utført i henhold til prosedyrebeskrivelse (Vedlegg 2).

Kliniske funn eller avvik ved melking ble notert i eget skjema. Kliniske tegn som ble undersøkt var sekretforandringer (0-1), sår/skader (0-1), kroniske forandringer forenlig med kronisk mastitt (0-2) og tegn på akutt mastitt (0-1) (Tabell 2).

**Tabell 2.** Beskrivelse av definisjoner brukt ved klinisk scoring.

	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
<b>Sekret</b>	Normal	Tilstedeværelse av sekretforandringer, eks slintrer, fnokker eller klumper, og/eller endret farge, eks blodtilblandet	
<b>Sår/skader</b>	Normal	Tilstedeværelse av sår/skader på spenetupp, spene eller jur, inkludert munnskurv	
<b>Tegn på kronisk mastitt</b>	Normal	Små forandringer som indurasjon eller abscesser	Større forandringer som koldbrann, atrofi eller veldig knudrete kjertel
<b>Tegn på akutt mastitt</b>	Normal	Tilstedeværelse av tegn på akutt klinisk mastitt som varm, hard, rød og øm kjertel	

Hvis man ikke klarte å få ut melk ble årsaken til dette registrert. Se Vedlegg 3 for forklaring.

Etter prøvetaking ble melkeprøvene fryst i produsentenes frysere så raskt som praktisk mulig, og oppbevart der frem til sending. Ved sending ble prøvene pakket sammen med fryseelement, og sendt med ekspress over natta til TINE Mastittlaboratoriet i Molde for bakteriologisk undersøkelse.

### **Bakteriologisk undersøkelse**

Bakteriologisk undersøkelse av melkeprøvene ble utført på TINE Mastittlaboratoriet i Molde. Her ble små mengder melk sådd ut på blodagar-skål. Skålene ble inkubert i 35-37 °C og lest av etter 24 og 48 timer. Prøvekvaliteten ble bedømt ved første avlesning. Ved vekst av mer enn to kolonityper ble prøven ansett som forurenset. Ved mer enn to ulike kolonityper i

kraftig vekst ble det rapportert som “blandingsflora”, og potensielle patogener ble da ikke rapportert.

Bakterier ble identifisert ved hjelp av Maldi-TOF eller etter kriterier for diagnostisering av bakterier TOF. Se Vedlegg 4 for fullstendig beskrivelse av laboratorieprosedyrene.

Ved identifikasjon av *S. aureus* ble disse resistentstestet ved hjelp av kløverbladmetoden.

Dette er en test som påviser betalaktamase-produksjon. Se Vedlegg 5 for prosedyrebeskrivelse.

### **Innsamling av besetningsdata**

Etter avtale med de aktuelle produsentene har Sauekontrollen blitt brukt for å se på historiske produksjonsdata og sykdomsregistreringer fra besetningene. Fra Sauekontrollen har også informasjon om alder og lammetall på søyene blitt hentet ut.

### **Statistiske metoder**

For å behandle og sortere data fra Sauekontrollen og bakteriefunn fra TINE

Mastittlaboratoriet, ble Microsoft Excel brukt. Dette programmet ble også benyttet for å fremstille resultatene i figurer.

Nettsiden graphpad.com ble brukt for å beregne statistisk signifikans på forskjellen i bakterieforekomst, klinisk score og tilvekst hos lam mellom vaksinert gruppe og kontrollgruppa. For kontinuerlige data, som klinisk score og tilvekst hos lam, ble en uavhengig, to-halet t-test brukt. For å teste uavhengighet mellom kategoriske data, som bakterieforekomst, ble det benyttet en to-halet kji-kvadrattest. For alle testene ble det brukt et signifikansnivå ( $\alpha$ ) på 0,05. Clinicalcalc.com ble brukt til vurdering av utvalgsstørrelse, med samme signifikansnivå og en styrke på 80 %.

## Resultater

Totalt 607 søyer ble inkludert i forsøket på våren; 305 vaksinerte søyer og 302 uvaksinerte søyer (kontrollgruppe). På høsten ble flest mulig av disse prøvetatt på nytt, men på grunn av tap på beite og andre praktiske årsaker var det ikke mulig å prøveta alle på nytt. Totalt ble 267 vaksinerte søyer og 280 uvaksinerte søyer prøvetatt både vår og høst. Tabell 3 gir en oversikt over fordelingen av søyer i forsøket på besetningsnivå, samt alder og lammetall.

**Tabell 3.** Oversikt over antall søyer som ble tatt prøver av vår og høst, gjennomsnittsalder søye og gjennomsnittlig lammetall/søye fordelt på vaksinert gruppe og kontrollgruppe i de fire besetningene som var med i studien. V= vaksinert gruppe, K=kontrollgruppe.

	BESETNING									
	A		B		C		D		Totalt	
	V	K	V	K	V	K	V	K	V	K
<b>Antall søyer prøvetatt vår</b>	83	78	89	75	89	98	44	51	305	302
<b>Antall søyer prøvetatt høst</b>	69	69	79	74	79	94	38	45	265	282
<b>Gjennomsnittsalder søye (år)</b>	2,46	2,46	2,60	2,59	3,21	2,82	3,20	3,47	2,83	2,78
<b>Gjennomsnittlig fødte lam/søye</b>	1,83	2,03	2,54	2,47	2,46	2,39	2,55	2,61	2,32	2,35

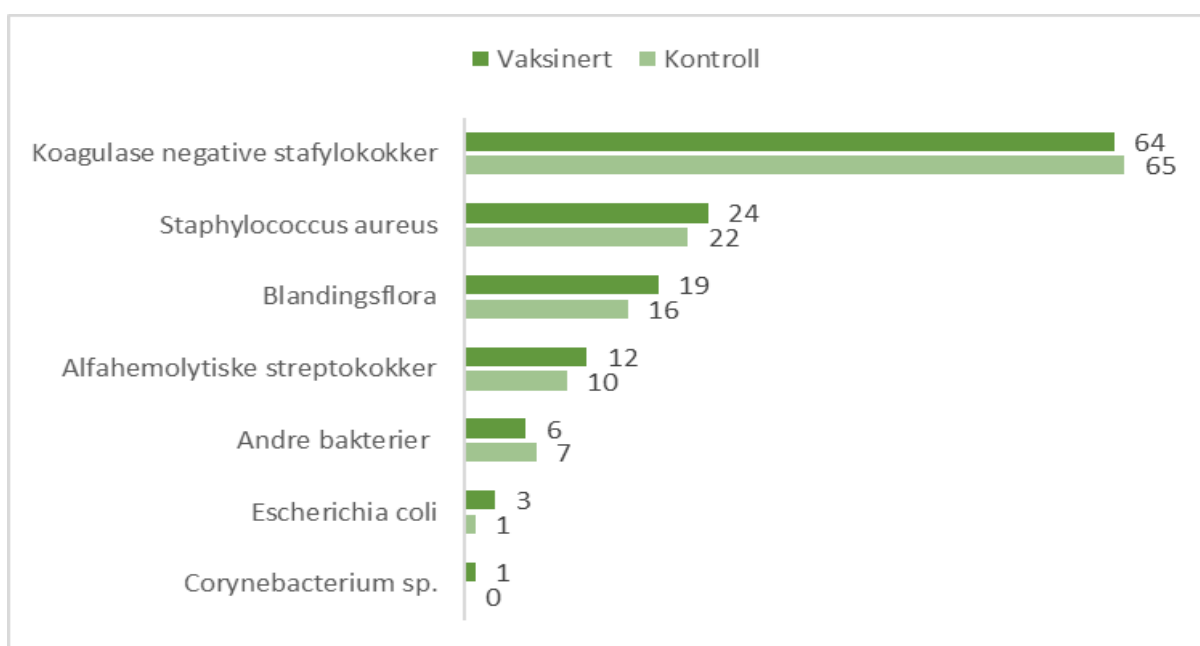
### Registrerte mastitt-behandlinger i besetningene

I Sauekontrollen var det ni registrerte mastitt-tilfeller i både besetning A (fem vaksinerte, fire kontroll) og D (seks vaksinerte, tre kontroll) i 2022. I besetning B var det to søyer som ble behandlet for mastitt (en vaksinert, en kontroll), mens det i besetning C ikke var noen.

## Bakterieforekomst i melkeprøver

Av de 607 søyene som ble prøvetatt om våren var det ikke mulig å få ut melk fra 36 jurkjertler. I 35 av prøvene er blandingsflora registrert. Spesifikke bakterier ble funnet i melk fra 215 jurkjertler, altså 18,2 % av prøvene.

I noen prøver ble flere bakterier isolert, og disse står her oppført under den bakterien som var mest fremtredende på blodskål. Der *S. aureus* var en av bakteriene, er denne prøven talt med under denne bakterien, uavhengig av hva som var oppgitt som den dominerende bakterien fra laboratoriet. En oversikt over bakteriefunn fra våren er vist i Figur 1, mens en oversikt for hver besetning er vist i Tabell 4.



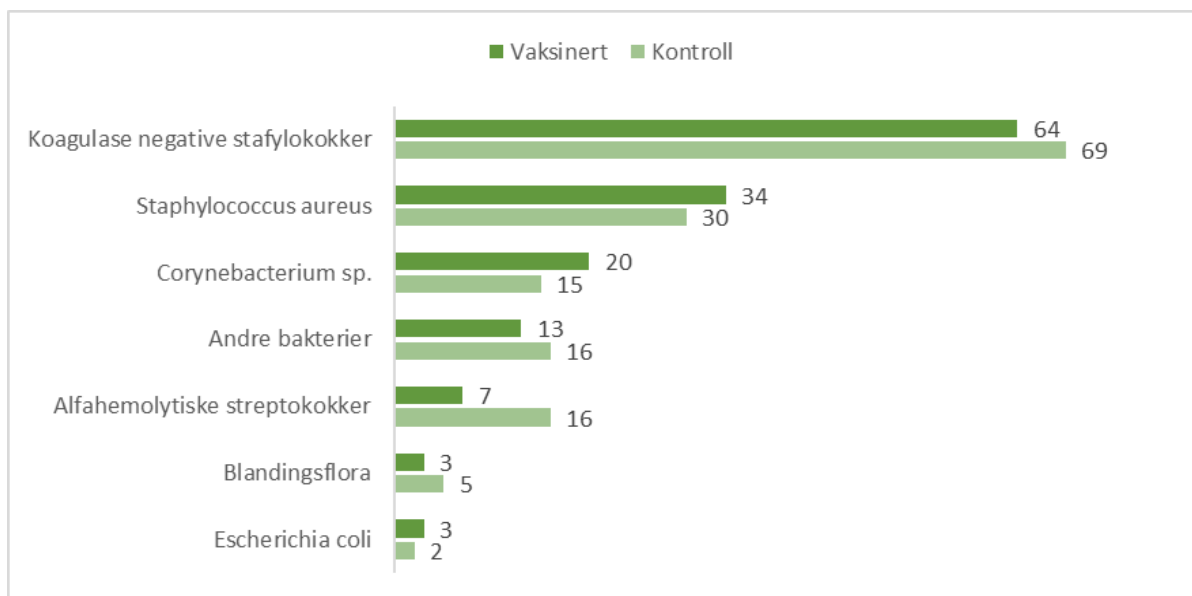
**Figur 1.** Det totale antall jurkjertler med bakterier til stede i melkeprøver fra vaksinert gruppe og kontrollgruppe om våren. Antall positive prøver med den aktuelle bakterien er angitt som tall til høyre for stolpen i figuren.

Andre bakterier inkluderer her *Listeria* sp., *Micrococcus luteus*, *Enterococcus* sp., *Mannheimia haemolytica*, *Streptococcus uberis* og *Truperella pyogenes*.

**Tabell 4.** Oversikt over bakterieforekomst angitt for vaksinert gruppe og kontrollgruppe i hver av de fire besetningene i studien fra prøver tatt om våren. V= vaksinert gruppe, K= kontrollgruppe.

BESETNING										
Bakterie	A		B		C		D		SUM	
	V	K	V	K	V	K	V	K	V	K
<b>Mastittbakterier ikke påvist</b>	123	112	132	115	140	148	69	89	464	464
<b>Koagulase negative stafylokokker</b>	7	9	20	18	26	29	11	9	64	65
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	11	11	3	5	7	3	1	24	22
<b>Blandingsflora</b>	16	13	1	2	2	1	0	0	19	16
<b>Alfahemolytiske streptokokker</b>	7	3	2	3	1	3	2	1	12	10
<b>Andre bakterier</b>	0	0	4	3	1	4	1	0	6	7
<i>Escherichia coli</i>	1	0	0	0	2	1	0	0	3	1
<i>Corynebacterium sp.</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<b>Tomt glass</b>	7	8	8	6	0	3	2	2	17	19
<b>SUM</b>	166	156	178	150	178	196	88	102	610	604

På høsten ble det tatt prøver av 547 søyer. Fra 46 av jurkjertlene var det ikke mulig å få ut melk, og noen av disse var avsinet. Totalt åtte prøver viste blandingsflora. Spesifikke bakterier ble isolert fra 289 av prøvene, noe som utgjør 27,6 % av de analyserte prøvene. Bakterier isolert fra prøvene om høsten vises i Figur 2, mens en oversikt for hver av de fire besetningene er presentert i Tabell 5.



**Figur 2.** Det totale antall jurkjertler med bakterier til stede i vaksinert gruppe og kontrollgruppe om høsten.

Antall positive prøver med den aktuelle bakterien er angitt som tall til høyre for stolpen i figuren. Andre

bakterier inkluderer her *Dermacoccus* sp., *Bibersteinia trehalosi*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Arcanobacterium pleuranimalium*, *Helcoccus ovis*, betahemolytiske streptokokker, *Enterococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Streptococcus dysgalactia*, *Mannheimia haemolytica*, *Streptococcus uberis* og *Truperella pyogenes*.



**Tabell 5.** Oversikt over bakterieforekomst for vaksinert gruppe og kontrollgruppe i hver av de fire besetning i prøver tatt om høsten. V= vaksinert gruppe, K= kontrollgruppe.

BESETNING										
Bakterie	A		B		C		D		SUM	
	V	K	V	K	V	K	V	K	V	K
<b>Mastittbakterier ikke påvist</b>	99	92	104	100	113	126	48	69	364	387
<b>Koagulase negative stafylokokker</b>	11	15	17	14	26	31	10	9	64	69
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	9	16	8	4	10	4	3	34	30
<i>Corynebacterium sp.</i>	10	6	3	4	6	5	1	0	20	15
<b>Andre bakterier</b>	3	6	6	4	1	5	3	1	13	16
<b>Alfahemolytiske streptokokker</b>	3	4	3	6	0	4	1	2	7	16
<b>Blandingsflora</b>	0	1	0	1	3	3	0	0	3	5
<i>Escherichia coli</i>	1	0	0	0	2	2	0	0	3	2
<b>Tomt glass</b>	1	5	9	11	3	2	9	6	22	24
<b>SUM</b>	138	138	158	148	158	188	76	90	530	564

### Koagulase negative stafylokokker

Av Figur 1 og 2 kommer det frem at KNS var den klart største gruppa med bakterier som ble isolert både vår og høst. I de analyserte prøvene i denne studien inneholder gruppa KNS bakteriene *Staphylococcus warneri*, *S. chromogenes*, *S. simulans*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* og *S. caprae*, i tillegg til andre uidentifiserte KNS. Forekomsten av KNS var i vaksinert gruppe og kontrollgruppe henholdsvis 5,4 % og 5,5 % på våren og 6,1 % og 6,6 % høsten. På våren utgjorde KNS 60 % av alle spesifikke bakterier, mens tallet var 46 % om høsten.

### ***Staphylococcus aureus***

På våren ble *Staphylococcus aureus* isolert fra 46 jurkjertler, fra totalt 38 søyer. Av disse hadde seks av prøvene sparsom vekst. *S. aureus* (inkludert de med sparsom vekst) utgjorde 21,4 % av prøvene med spesifikke bakteriefunn, og 4,0 % av alle analyserte prøver.

Om høsten ble bakterien isolert i 64 av prøvene, fra totalt 58 søyer. 11 av disse hadde sparsom vekst. Bakterien utgjorde 22,1 % av prøvene med spesifikke bakteriefunn, og 6,1 % av de analyserte prøvene totalt (inkluderert de med sparsom vekst). Av søyene som var infisert med *S. aureus*, var bakterien til stede både vår og høst hos 17 av disse.

Forekomst av *S. aureus* i vaksinert gruppe og kontrollgruppe var henholdsvis 4,0 % og 3,8 % på våren, og 6,7 % og 5,6 % på høsten. Vi fant at forskjellene i forekomst av bakterien blant gruppene ikke var statistisk signifikante, verken om våren ( $P=0,80$ ) eller høsten ( $P=0,44$ ).

To av *S. aureus*-isolatene om våren (4,3 %) viste produksjon av betalaktamase, og er dermed resistent mot penicillin. Om høsten utgjorde betalaktamase-produserende isolater 6,3 % med fire prøver. To av disse var fra samme kjertel hos samme søye både vår og høst, og alle ble funnet i besetning D.

### **Tomt glass**

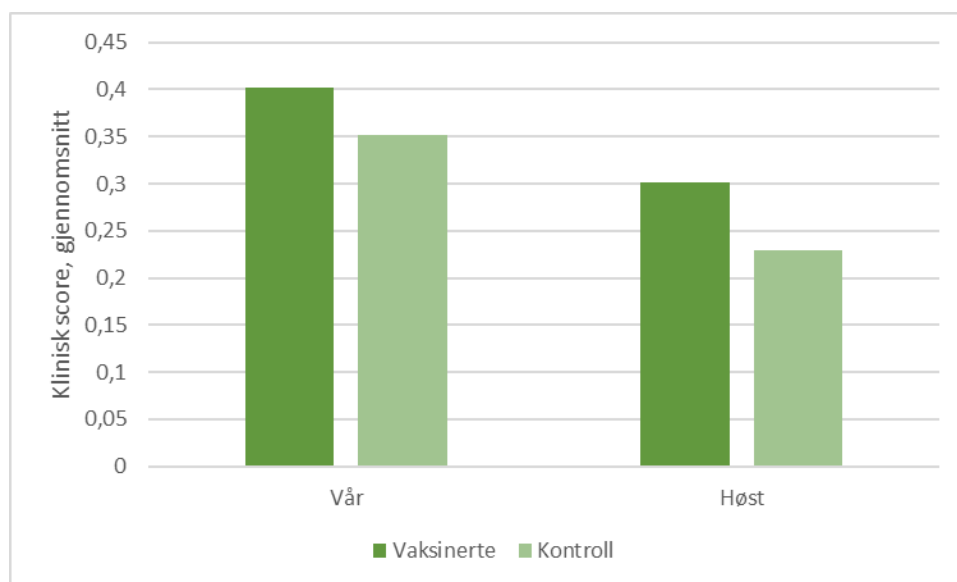
Årsaker til at det ikke var mulig å få ut melk fra noen kjertler som ble registrert var agalakti (at kjertelen kjentes tom ut eller var kronisk skadet), at spenen var tett eller at det ikke var mulig å få ut melk av andre årsaker (eksempelvis på grunn av store sår på spenen). Om våren gjaldt dette 35 jurkjertler, 17 i vaksinert gruppe og 19 i kontrollgruppa. Forskjellen var ikke statistisk signifikant ( $P=0,71$ ). Om høsten var det 22 jurkjertler i vaksinert gruppe og 24 i kontrollgruppa som ikke var mulig å melke ut av. Forskjellen var ikke statistisk signifikant ( $P=0,93$ ).

## Klinisk scoring

Klinisk scoring ble gjort av alle søyene i forsøket, og det ble regnet ut en total score for hver jurkjertel (0-5). Tabell 6 viser forekomst av hver klinisk parameter blant jurkjertlene, mens gjennomsnittlig total klinisk score er fremstilt i Figur 3.

**Tabell 6.** Oversikt over andel jurkjertler som har ulike kliniske forandringer. V = vaksinert, K = kontroll.

	Vår		Høst	
	V	K	V	K
<b>Sekretforandringer</b>	2,5 %	1,3 %	10,9 %	5,7 %
<b>Sår/skader</b>	10,5 %	9,4 %	2,6 %	1,6 %
<b>Kroniske forandringer</b>	16,7 %	15,1 %	10,0 %	9,8 %
<b>Tegn på akutt mastitt</b>	2,8 %	2,8 %	0,6 %	0,4 %

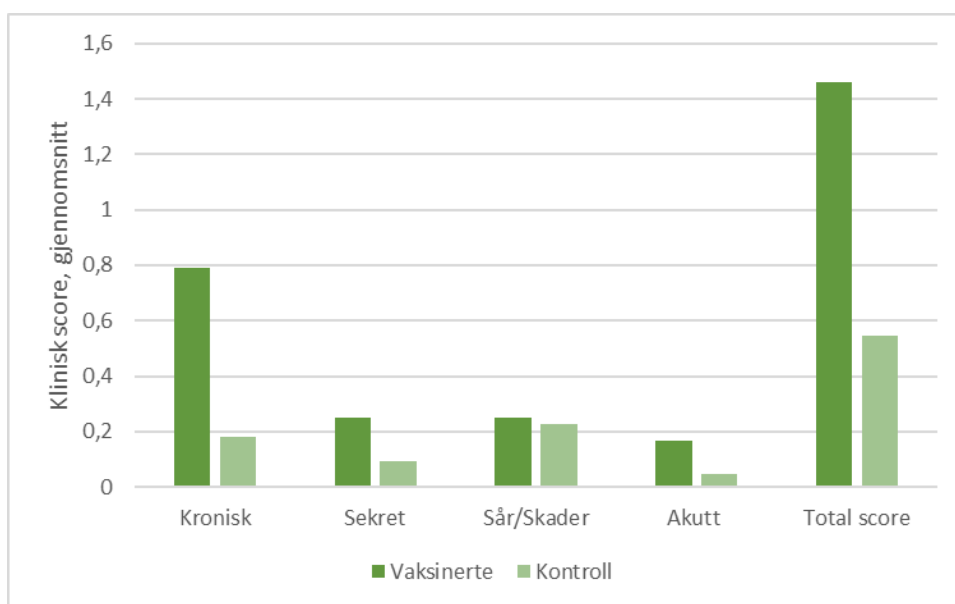


**Figur 3.** Oversikt over gjennomsnittlig klinisk scoring av jurkjertler på vår (n=1214) og høst (n=1094).

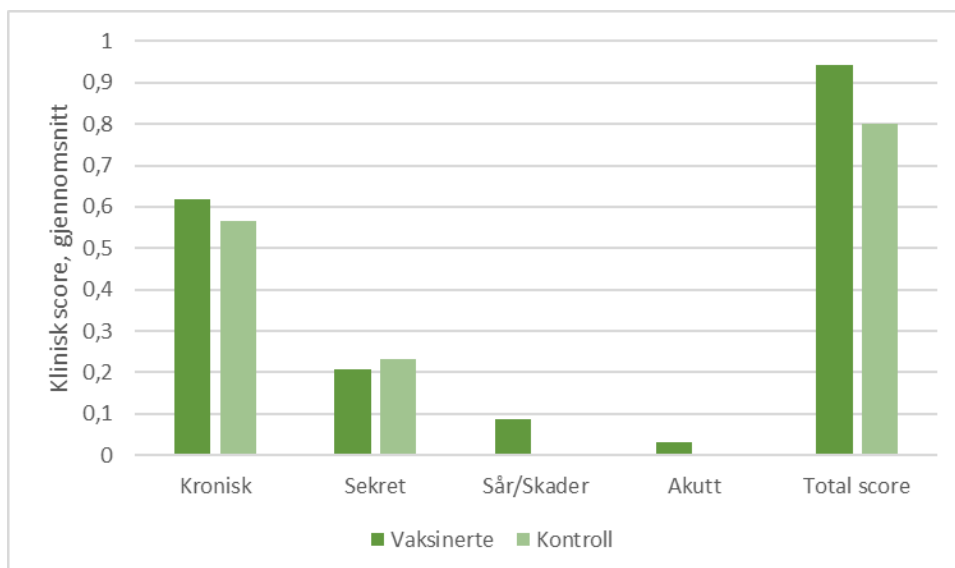
Forskjellen mellom gruppene var ikke statistisk signifikante, hverken om våren (P=0,23, 95 % KI -0,13-0,03) eller høsten (P=0,08, 95 % KI -0,16-0,01).

### Klinisk score i jurkjertler hvor *S. aureus* ble isolert

Blant jurkjertlene hvor *S. aureus* ble isolert var gjennomsnittlig totalscore hos vaksinert gruppe 1,46 om våren og 0,94 om høsten. For kontrollgruppa var totalscoren henholdsvis 0,54 og 0,80. Gjennomsnittlig score for hver parameter, samt totalscore fra søyene hvor *S. aureus* ble isolert er vist i Figur 4 og 5.



**Figur 4.** Oversikt over gjennomsnittlig klinisk scoring om våren fra jurkjertler hvor *S. aureus* ble isolert (n=24 vaksinerte, n=22 kontroll). Den kliniske scoringen er fordelt på de ulike kategoriene som ble vurdert samt gjennomsnittlig total klinisk score.

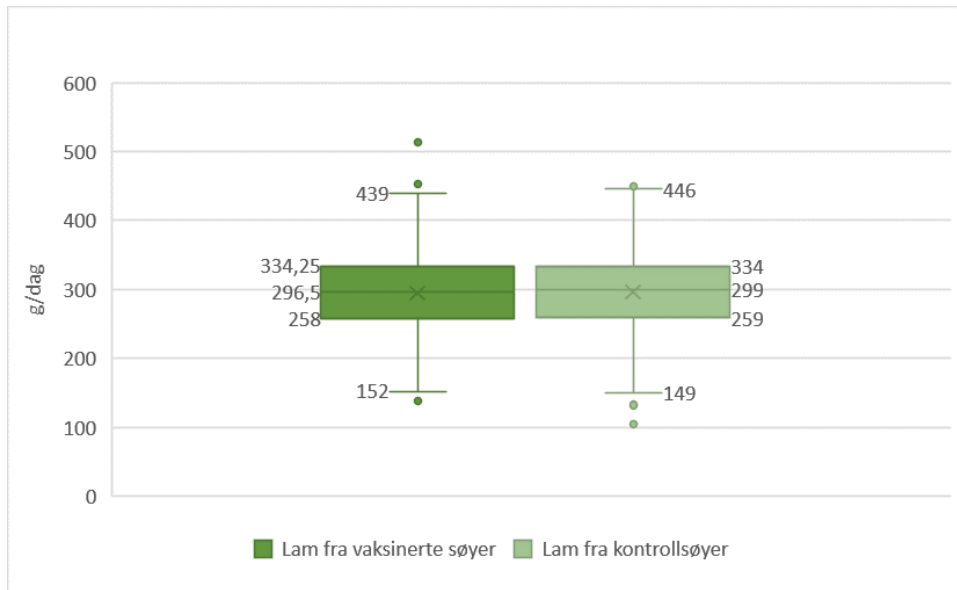


**Figur 5.** Oversikt over gjennomsnittlig klinisk scoring om høsten fra jurkjertler hvor *S. aureus* ble isolert (n=34 vaksinerte, n=30 kontroll). Den kliniske scoringen er fordelt på de ulike kategoriene som ble vurdert samt gjennomsnittlig total klinisk score.

## Tilvekst hos lam

Gjennomsnittlig tilvekst ble beregnet fra fødsel til høstvekt for de lammene som hadde data på dette, totalt 1193 lam. Det er ikke korrigert for tidspunkt for høstveiting. Tallene er beregnet ut fra hvem som var biologisk mor til lammene, og tar ikke hensyn til at noen lam har vært kopplam eller fosterlam, og da eventuelt har gått med andre søyer. Det er heller ikke korrigert for hvor mange lam søya har gått med. Lam som ikke har registrert høstvekt eller som har dødd før tidspunkt for høstveiting er ikke tatt med i utregningene.

Forskjellene var ikke statistisk signifikante ( $P=0,70$ , 95 % KI -7,73-5,23). Gjennomsnitt vises i Figur 6.



**Figur 6.** Gjennomsnittlig tilvekst fra fødsel til høstvekt hos lam fra vaksinerte søyer (n=586 lam) og hos lam fra søyer i kontrollgruppa (n=607 lam). Lam fra søyer i vaksinert gruppe hadde en gjennomsnittlig tilvekst 295 g/dag, mens den for lam fra søyer i kontrollgruppa var 296 g/dag. Punktene i figuren angir ekstremverdier for tilveksten: 514, 453 og 138 for lam fra vaksinerte lam, og 459, 132 og 104 for lam fra søyer i kontrollgruppa.

## Diskusjon

### Utvalg av dyr og besetninger

Antall søyer med fostertelling varierte i 2022 i de fire forsøksbesetningene fra 274 til 446. Hele 51 % av norske besetninger har færre enn 50 vfs (Statistisk sentralbyrå, 2022), mens gjennomsnittsstørrelsen blant de deltagende besetningene var på 341 søyer med fostertelling. Besetningsstørrelse er blant forfatterens kjennskap ikke oppgitt som en disponerende faktor for utvikling av mastitt hos søye, og må på bakgrunn av det kunne antas å ikke ha betydning for resultatet. Økt alder og lammetall er derimot viktige disponerende faktorer for mastitt (Waage & Vatn, 2008). De prøvetatte søyene var alle av rasen NKS, og alder og lammetall var relativt likt mellom vaksinert og kontrollgruppe både innad i og mellom besetningene. Når det gjaldt disse faktorene var det dermed ingen systematiske forskjeller som kan ha påvirket resultatet mellom de to gruppene, og den interne validiteten vurderes derfor som god. NKS er den klart vanligste sauerasen i Norge, og driftsforhold er generelt ganske like innad i landet. Det er derfor grunn til å tro at resultatene fra forsøket også vil gjelde andre norske NKS-søyer. At resultatene også er overførbare til søyer av andre raser som holdes for kjøtt- og ullproduksjon er trolig, gitt at driftsforhold og bakteriestammer er like.

### Bakterieforekomst

*Staphylococcus aureus* er den spesifikke bakterien som ble hyppigst isolert, både vår og høst. Bakterien ble funnet i jur både med og uten tegn på klinisk mastitt. Tidligere studier har slått fast at dette er den vanligste bakterien ved klinisk mastitt hos søyer (Mørk et al., 2007; Watson et al., 1990). En studie som undersøkte reservoaret for *S. aureus* hos klinisk friske, norske søyer om våren og høsten viste at kun 1,5 % av melkeprøver var positive for bakterien (Mørk et al., 2012). I forsøket vårt ble *S. aureus* isolert i 4,0 % og 5,9 % av melkeprøvene fra

henholdsvis vår og høst. Dette inkluderte også søyer med kliniske tegn på mastitt, noe som kan forklare at disse tallene er høyere enn det som ble funnet i studien fra 2012.

Tidligere studier som er gjort på vaksinen VIMCO vet er utført på melkesau. En mulig årsak til at vi ikke fant noen forskjell i bakterieforekomst mellom gruppene i vår studie kan ha vært at reservoaret for bakterien er ulikt. Det kan tenkes at juret er et viktigere reservoar for *S. aureus* hos melkesau, som hos melkeku, sammenlignet med kjøttproduserende sau der hud er vist å være viktig (Mørk et al., 2012). Det er under arbeidet med oppgaven ikke funnet noen artikler som ser på juret som reservoar for *S. aureus* hos melkesau.

KNS var den gruppa bakterier med størst forekomst totalt, både vår og høst, i begge grupper. En studie fra Hellas viste at KNS var den bakteriegruppa som ble isolert i størst grad hos søyer med mastitt, både klinisk og subklinisk. Den samme studien fant at stafylokokker, både KNS og *S. aureus*, i færre tilfeller var årsak til mastitt hos søyer vaksinert med VIMCO vet enn søyer fra kontrollgruppa (Vasileiou et al., 2019). I vår studie fant vi ikke signifikante forskjeller i forekomst av *S. aureus* mellom vaksinert gruppe og kontrollgruppe, hverken vår eller høst. Det var heller ingen betydelig forskjell i forekomst av KNS hos vaksinert gruppe og kontrollgruppa, og forekomsten var relativt lik både vår og høst.

*S. aureus* har god evne til å gjemme seg i biofilm eller mikroabscesser, og kan dermed ha ujevn utskillelse i melka (Reksen, 2015; Saçlam et al., 2017). Det kan derfor hende at bakterien forekom i flere av jurkjertlene, selv om den ikke ble påvist. Basert på vaksinsens virkemåte kan det tenkes at bakteriens evne til å feste seg til celleoverflaten hos de vaksinerte søyene var svekket, på grunn av antistoff-respons mot biofilmen (Vasileiou et al., 2019). Dette kunne i teorien ført til mer konstant utskillelse av *S. aureus* i denne gruppen, og gitt et



riktigere resultat med tanke på forekomst av bakterien. I kontrollgruppa kan det derimot ha vært flere falske negative melkeprøver når det gjelder *S. aureus*, fordi det kan tenkes at bakterien i større grad kunne beskyttes av biofilmen. En tidligere studie som har undersøkt effekten av vaksinen har funnet at denne reduserer forekomst av stafylokokker i melk (Vasileiou et al., 2019), og det er derfor lite sannsynlig at det har vært mange falske negative i vår studie.

I vårt forsøk var det også flere jurkjertler det ikke var mulig å melke ut av. Årsaker til at det ikke var mulig å melke ut av kjertlene kan tenkes å skyldes enten akutt mastitt eller tidligere infeksjon med bakterier, og tomt glass kan dermed ha vært en indikator på mastitt.

Forskjellene mellom gruppene var dog ikke statistisk signifikante, hverken vår eller høst.

### **Serotype *Staphylococcus aureus* i vaksinen**

Det er lite kunnskap om hvilke(n) serotype(r) *S. aureus* som finnes ved mastitt hos norske søyer, og om de(n) produserer biofilm. Dersom serotypen ikke er den samme som man finner i vaksinen, vil dette kunne være med på å forklare hvorfor man ikke ser noen forskjell i forekomst av *S. aureus* mellom gruppene. I en studie fant de at en vaksine som inneholdt biofilmproduserende *S. aureus* førte til spesifikk antistoffrespons mot hovedkomponenten i biofilm-matriksen. Denne antistoffresponsen var med på å redusere virulensen til bakterien (Pérez et al., 2009). Dette prinsippet er benyttet i vaksinen VIMCO vet. I en studie fra 2000 fant Tollersrud et al at den vanligste biofilm serotypen produsert av *S. aureus* ved mastitt hos storfe var CP8, som er den samme som i vaksinen. Det kan tenkes at den samme serotypen er vanlig hos norske søyer med mastitt. Man vil da kunne forvente en effekt av vaksinen, men dette må undersøkes nærmere.

## **Klinisk scoring**

Parameterne som ble brukt til klinisk scoring av jur ble valgt ut på bakgrunn av hvilke tegn som er til stede ved en akutt infeksjon (Constable et al., 2017), kroniske forandringer, samt forekomst av sår og skader som disponerer for infeksjon i juret. Målet var at dette skulle gi et godt bilde av jurets helsestatus på prøvetakingstidspunktet.

Denne måten å gjøre registreringer på ble valgt for å lage en standardisert vurdering av juret. De kliniske forandringene ble uttrykt gjennom en totalscore, som da også gjorde det lettere å sammenligne klinisk score for vår og høst. Det var flere personer som undersøkte søyene, men de ble ikke sortert i vaksinerings gruppe og kontrollgruppe ved scoring av juret. Eventuelle forskjeller i vurdering av jur mellom prøvetakerene bør derfor ha fordelt seg likt mellom de to gruppene, og i så måte ikke ha noe å si for forskjellen mellom gruppene.

Kroniske forandringer ble vektet fra 0-2. Uttalte kroniske forandringer, som atrofi og koldbrann, ble scoret til 2, og utgjorde da en stor del av totalscoren. På denne måten kan det tenkes at infeksjoner fra tidligere år kan ha bidratt til den totale kliniske scoren, og dermed ikke si noe om forekomsten av mastitt i perioden vi undersøkte. Søyer har stor risiko for å utvikle mastitt på nytt etter gjennomgått infeksjon (Waage & Vatn, 2008). Tilstedeværelse av kroniske forandringer, i form av IMM, kan også bidra til utvikling av flere kroniske forandringer samt tilfeller av akutt mastitt (Grant et al., 2016). På grunn av disse faktorene blir søyer som tidligere har hatt mastitt eller har kroniske forandringer som hovedregel utrangert påfølgende høst eller tidligere. Basert på dette kan man tenke at de søyene med kroniske forandringer har utviklet disse i perioden studien foregikk. Som vist i Tabell 6, var forskjellen mellom gruppene når det gjaldt kroniske forandringer små.

Selv om det ikke var ønsket ved rekruttering av besetninger, var det en del munnskurv i besetning A. Dette bidro til den totale kliniske scoren som sår/skader. Sår i forbindelse med munnskurv kan også være en inngangsport for bakterier, og derfor bidra til bakterieforekomst i melka. Da forskjellene i forekomst av sår/skader mellom gruppene var små (Tabell 6), har munnskurv trolig ikke påvirket resultatene i den ene eller andre retningen. Det var også kun denne ene besetningen som hadde problemer med munnskurv.

Det var en tydelig nedgang i gjennomsnittlig klinisk score fra vår til høst hos begge gruppene (Figur 3). Dette stemmer godt overens med når mastitt oftest oppstår (Waage & Vatn, 2008), med tanke på at melkeprøvene på høsten er tatt 3-5 måneder etter lamming og er innen et tidsrom hvor få søyer utvikler mastitt. Waage & Vatn (2008) så på data fra Sauekontrollen, og en svakhet med mastittregistreringer fra Sauekontrollen er at det antas å være en del underrapportering, spesielt med tanke på mastitt som oppstår i beiteperioden.

Blant kjertlene med *S. aureus* var gjennomsnittlig klinisk score generelt høyere enn gjennomsnittet for alle jurkjertlene. Dette stemmer godt overens med flere studier som fastslår at denne bakterien er den vanligste årsaken til klinisk mastitt, og dermed fører til utvikling av kliniske tegn (Mørk et al., 2007; Watson et al., 1990). Bakterien er ikke like vanlig i subklinisk mastitt (Gonzalo et al., 2002; Lafi et al., 1998), hvor man ikke har kliniske forandringer i juret. For vaksinert gruppe var det en nedgang i klinisk score fra vår til høst, mens det for kontrollgruppa var en økning (Figur 4 & 5). Det var en del søyer som ikke kunne prøvetas om høsten, 40 i vaksinert gruppe og 20 i kontrollgruppa. Det er ikke nærmere undersøkt hvordan dette kan ha påvirket forskjellen mellom de to gruppene med tanke på endring i klinisk score fra vår til høst, og det er derfor usikkert om vaksinerings har betydning for denne forskjellen.

## **Tilvekst hos lam**

Flere studier slår fast at både klinisk og subklinisk mastitt kan føre til redusert tilvekst og økt dødelighet hos lam (Arsenault et al., 2008; Berge, 2004; Fthenakis & Jones, 1990; Larsgard & Vaabenoe, 1993). I denne studien fant vi ingen forskjell i tilvekst mellom lam under søyer i vaksinert gruppe og kontrollgruppa. Dette kan tyde på at melkeproduksjonen er relativt lik blant søyene i de to gruppene. Stammen med resultatene for bakterieforekomst og klinisk score, tyder dette på at det ikke er forskjell i forekomst av subklinisk og klinisk mastitt mellom de to gruppene.

Data fra sauekontrollen viser at jo flere lam søya går med gjennom beitesesongen, jo dårligere tilvekst er det på lammene (Animalia, 2022b). Vi har ikke undersøkt hvor mange lam søyene i de to gruppene har gått med, og resultatet for tilvekst må derfor vurderes med et visst forbehold. Vi ser imidlertid ingen åpenbare grunner til at dette skulle være forskjellig i de to gruppene. Man kan tenke seg at søyer med mastitt om våren ville gå med færre lam, men det er ikke store forskjeller mellom gruppene om våren når det gjelder de jurhelseparameterne vi har undersøkt.

## **Begrensninger**

En av begrensningene i studier der man sammenlikner ulike grupper, er antall inkluderte dyr. Ved å bruke et større antall dyr er det større sannsynlighet for å påvise mindre forskjeller. Det er også mindre sjans for resultater som skyldes tilfeldigheter. Ved lav forekomst av sykdom vil det være få dyr som blir syke, noe som styrker behovet for et stort antall dyr i studieutvalget. Et ønske ved rekruttering av besetninger til forsøket var at det skulle være besetninger med tidligere mastitt-problematikk. Da det var vanskelig å finne dette, ble de besetningene som ønsket å delta, rekruttert. Dette betydde at en stor andel av søyene kom fra

besetninger hvor forekomsten av mastitt viste seg å være lav. Av hensyn til praktiske og økonomiske hensyn var 600 søyer et øvre tak for studien. Med 594 dyr (297 i hver gruppe) ville det vært mulig å påvise en forskjell i forekomsten av mastitt på 7,5 % (en litt høyere forekomst enn det norske sauebønder har rapportert i tidligere undersøkelser) i uvaksinert gruppe, og 2,5 % i vaksinert gruppe. Antall dyr nødvendig i et forsøk avhenger også av hvor stor reduksjon i forekomst av en sykdom man er interessert i å påvise. Hvis man ser for seg en mastittforekomst på 3 %, trenger man 3066 dyr for å påvise en reduksjon til 1,5 %. På grunn av at mastittforekomsten i forsøksbesetningene var lav, var potensialet lavt for reduksjon av forekomsten av mastitt ved hjelp av vaksinerings. Det kan derfor tenkes at antall dyr i forsøket kan ha bidratt til at det ikke var mulig å påvise en forskjell i forekomst av mastitt mellom gruppene.

En annen begrensning i forsøket kan være den geografiske fordelingen blant besetningene. Det kan for eksempel tenkes at det finnes ulike stammer av bakterien i ulike deler av landet, hvor vaksinen har ulik effekt på disse. Dette bør undersøkes videre.

Gjennomsnitt totalt antall fødte lam per søye var 2,34 for studieutvalget, mens tallet var ifølge data fra Sauekontrollen 2,09 for NKS i Norge for øvrig (Animalia, 2022b). Økende lammetall er av stor betydning når det gjelder risiko for utvikling av mastitt (Waage & Vatn, 2008). Da forskjellen mellom vaksinert gruppe og kontrollgruppa er liten, er det ingen grunn til å tro at dette har påvirket resultatet.

Andre faktorer som her kunne påvirket resultatene kan tenkes å være genetikk, fôring, miljø og management. Genetikk kan ha betydning for motstandskraften mot sykdom, ved blant annet utforming på jur og spener. Dyr med dårlig ernæringsstilstand har nedsatt immunforsvar

og er dermed mer utsatt for sykdom. Sammenhengen mellom mastitt hos søye og miljø er lite undersøkt, men en studie fant at det var sammenheng mellom forekomst av mastitt og hvilket underlag søyene gikk på (Indrebø, 1990). Management og hygieniske rutiner rundt lamming vil også variere mellom besetningene, og kan ha innvirkning på smittepresset. Siden studieutvalget i hver besetning ble delt i to, hvor halvparten ble vaksinert og halvparten ikke, bør disse faktorene være av mindre betydning når det gjelder forskjellen mellom gruppene. Det kan likevel tenkes at de produsentene som ønsket å delta i forsøket var produsenter med godt management, da inklusjonskriterier var blant annet medlemskap i Sauekontrollen og et ønske om å bidra til forskningen på området. Dette endrer ikke forskjellene mellom gruppene, men kan ha betydning for overføringsverdien til andre besetninger.

En annen faktor som kan være begrensende i forsøket er de parameterne som er undersøkt. Funn av bakterier i melk trenger ikke bety at juret har en inflammasjon, og fravær av bakterier i melkeprøver er heller ikke ensbetydende med fravær av sykdom i juret. Det ble ikke tatt noen prøver for å undersøke celletall i melk, noe som kunne bidratt til mer informasjon om de subklinisk infiserte kjertlene.

Av ulike årsaker var det ikke mulig å prøveta alle søyene på høsten igjen, deriblant at noen var borte/døde i løpet av beiteperioden. Årsaker til at noen søyer døde i beiteperioden kan tenkes å ha vært (ubehandlet) mastitt. Fra vaksinert gruppe var det 40 søyer som ikke ble prøvetatt igjen om høsten, mens tallet for kontrollgruppa var 20. Dette kan ha ført til at bakterieforekomsten om høsten var lavere enn den ville vært hvis alle ble prøvetatt. Sett i sammenheng med antall søyer i forsøket var andelen som ikke ble prøvetatt om høsten lav, og har sannsynligvis ikke påvirket forskjellen i mastittforekomst mellom gruppene.

## **Feilkilder**

Menneskelige feil kan ha skjedd på flere steder i den praktiske gjennomføringen av forsøket. En av disse er feil ved notering av søyas individnummer. Det kunne være vanskelig å lese øremerkene pga. skitt, og da produsenten leste opp nummeret kan det ha blitt oppfattet feil nummer. Tiltak som ble gjort for å minimere sjansen for feil her var at det ble brukt lesestav til å lese av ørenummeret der det var tilgjengelig. I besetninger hvor dette ikke var tilgjengelig ble produsenten bedt om å gjenta ørenummeret. Det kan også ha blitt notert feil ved klinisk scoring av jur. Det kan tenkes at laboratoriet har gjort feil ved analysering av prøvene. Dette kan være menneskelige feil som å ha skrevet inn feil resultat, ha blandet prøver eller lest av feil individnummer. Menneskelige feil kan også ha skjedd ved behandling av data og statistiske analyser. En annen ting som kan være en viktig feilkilde er feil administreringsmetode av vaksinen, f.eks. at den er gitt subkutan når den skal gis intramuskulært. Ved vaksinerings kan det også feil søyer ha blitt vaksinert, enten individer eller hele grupper.

Flere personer var med på å utføre prøvetaking og klinisk scoring av jur i undersøkelsen. Totalt besto prøvetakingsteamet av sju stykker som var inkludert i større eller mindre grad. For at vurderinger av kliniske tegn skulle bli så objektive som mulig ble tydelige klassifikasjoner bestemt på forhånd. Disse sto på et ark som man hadde med ved prøvetakingen, noe som gjorde det mulig å sjekke opp ved behov (Vedlegg 3). Det ble også brukt tid på de første søyene for å kalibrere prøvetakingsteamet. Ved usikkerhet rundt kliniske tegn ble dette diskutert med de andre personene til stede. Et viktig punkt her er at ikke alle prøvetakerene var til stede ved all prøvetakingen, og det var ingen felles kalibrering med alle sammen. Det kan derfor tenkes at noen har klassifisert kliniske tegn enten mer eller mindre alvorlig enn det som var ment som standarden. Det er likevel lite trolig at dette har gjort noe

stort utslag i resultatene, da det ikke var systematisk hvem som undersøkte søyer fra vaksinert gruppe eller kontrollgruppa.

Selv om melkeprøvene ble tatt ut med god hygiene kan det hende at prøvetakerene har forurenset prøvene. Forurensningen kan komme fra prøvetakeren selv, som hud eller sår, fra søya eller miljøet rundt. Tiltak som ble gjort for å forhindre dette var å tørke av spenetuppen før denne ble spritet av, og bytte til rene hansker rett før prøvetakingen. De fleste av prøvene med blandingsflora er fra første prøvetakingsdag hvor prosedyren ble testet ut for første gang og forholdene var utfordrende. Da det er få prøver som har blandingsflora er det grunn til å tro at forurensning av de resterende prøvene også er liten, og at disse har fordelt seg likt mellom gruppene.

Noen av søyene som ble prøvetatt på våren var tidligere blitt behandlet for akutt mastitt med antibiotika (benzylpenicillinprokain - Penovet vet). Dette kan ha ført til at bakterier som *S. aureus* som egentlig var til stede i juret har blitt eliminert, og man kunne forventet et annet resultat fra melkeprøvene hvis antibiotika ikke var blitt gitt. Det var likevel uaktuelt å ikke behandle klinisk syke dyr. Registrerte mastitt-tilfeller i 2022 var til sammen 20 i de fire besetningene, 12 vaksinerte og åtte ikke-vaksinerte. Vi har ikke sett på data på når disse ble behandlet i forhold til tidspunkt for prøvetaking på våren, eller om disse er av de prøvetatte søyene. Basert på at fordelingen mellom gruppene er relativt jevn og at dette er et lavt antall totalt, er det liten grunn til å tro at antibiotikabehandlingen har hatt innvirkning på forskjellene mellom gruppene.



## Konklusjon

Det kunne ikke påvises forskjeller mellom vaksinerte og uvaksinerte søyer i forekomst av *Staphylococcus aureus* i melkeprøver hverken vår eller høst. Det var heller ingen forskjell mellom vaksinerte søyer når det gjaldt kliniske tegn på mastitt sammenlignet med kontrollgruppa. Tilveksten var den samme hos lam fra vaksinerte søyer og lam fra søyer i kontrollgruppa.

Basert på funn vi har gjort i forsøket er det ingen forskjell i jurhelse mellom vaksinert gruppe og kontrollgruppe. Det er behov for mer forskning på vaksinsens effekt hos besetninger med kjøtt- og ullproduserende sau. Spesielt interessant er det å undersøke hvilke serotyper av *S. aureus* som finnes ved mastitt hos søyer i Norge. Det vil også være interessant å undersøke forekomst av og forebyggende tiltak mot mastitt i beiteperioden.

Vaksinering kan være et viktig tiltak i forebyggende sykdomsarbeid, og forskning på dette området vil bidra til mer kunnskap om forebyggende tiltak mot mastitt.

## **Takk til bidragsyttere**

Vi ønsker å takke vår veileder Lisbeth Hektoen for all hjelp og gode innspill før og underveis i arbeidet med oppgaven. Videre må vi spesielt få takke Helsetjenesten for sau i Animalia, ved Vibeke Tømmerberg og Siv Svendsen. Animalia har i stor grad bidratt til oppgaven finansielt, og Vibeke og Siv har hjulpet til med det praktiske arbeidet i forsøket.

Vi kunne ikke fått til denne oppgaven uten all hjelp og velvilje fra produsentene som deltok i forsøket, og vi er veldig takknemlige for all den tid de har viet til oss med prøvetaking, organisering og svar på spørsmål. Ikke minst må vi takke alle som har hjulpet oss med prøvetaking, datainnsamling fra Sauekontrollen og analysering av prøver på TINE Mastittlaboratoriet i Molde.

## Summary

*Title:* Efficacy of vaccination against *Staphylococcus aureus* on udder health among NKS ewes in Norway

*Authors:* Sunniva Johanne Bjormo and Edel Enger Optun

*Supervisor:* Lisbeth Hektoen, Department of Production Animal Clinical Sciences

In this study we investigated the effect of vaccination against *Staphylococcus aureus* to improve udder health in Norwegian ewes of the breed “Norwegian White Sheep” (NKS). Half of the ewes of NKS in four flocks from Trøndelag and Vestland were vaccinated with Hipra VIMCO vet. In the spring, milk samples were collected from 607 ewes, and in the fall, 547. A clinical examination of the udder was also performed, in addition to a macroscopic evaluation of the milk. Based on this, each mammary gland was given a total clinical score. The milk samples were sent to TINE Mastitis Laboratory in Molde for bacteriological culturing.

Bacteriological findings showed that *S. aureus* was the second most occurring bacteria, after coagulase-negative staphylococci (CNS). In the spring *S. aureus* was found in 4.0 % of the milk samples from vaccinated ewes, while the control group had 3.8 %. In the fall, the bacteria were isolated in 6.7 % and 5.6 % of the milk samples, respectively. The differences were not statistically significant ( $P=0.80$  in the spring and  $P=0.44$  in the fall).

The average clinical score was 0.40 and 0.35 in the spring for the vaccinated group and the control group ( $P=0.23$ ), respectively. In fall, the average was 0.30 and 0.23 ( $P=0.80$ ). These differences were not statistically significant.

Lambs from vaccinated ewes had a mean daily growth of 295 g, while lambs from ewes in the control group gained 296 g/day in average (P=0.70).

No difference was found in udder health based on bacterial findings, clinical score, and lamb growth between the two groups. However, there are still considerable knowledge gaps, and further research on mastitis in Norwegian ewes and pathogens causing it, is needed. It is particularly interesting to see which serotype(s) of *S. aureus* are common in mastitis, and whether this is the same type as in the vaccine.

## Referanser

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H. & Pillai, S. (2016). *Basic Immunology*. Fifth edition utg. St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Amorena, B., Baselga, R. & Albizu, I. (1994). Use of liposome-immunopotentiated exopolysaccharide as a component of an ovine mastitis staphylococcal vaccine. *Vaccine*, 12 (3): 243-249. doi: [https://doi.org/10.1016/0264-410X\(94\)90201-1](https://doi.org/10.1016/0264-410X(94)90201-1).
- Angelin, J. & Kavitha, M. (2020). Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential. *Int J Biol Macromol*, 162: 853-865. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.06.190.
- Animalia. (2022a). *Sauekontrollen*. Animalia: Animalia. Tilgjengelig fra: <https://www.animalia.no/no/Dyr/husdyrkontrollene/sauekontrollen/> (lest 26.04).
- Animalia. (2022b). *Årstatistikk Sauekontrollen*. Animalia.
- Animalia. (2023). *Om Animalia AS*. Animalia: Animalia. Tilgjengelig fra: <https://www.animalia.no/no/animalia/om-animalia/> (lest 02.05).
- Arsenault, J., Dubreuil, P., Higgins, R. & Bélanger, D. (2008). Risk factors and impacts of clinical and subclinical mastitis in commercial meat-producing sheep flocks in Quebec, Canada. *Prev Vet Med*, 87 (3-4): 373-93. doi: 10.1016/j.prevetmed.2008.05.006.
- Azara, E., Longheu, C., Sanna, G. & Tola, S. (2017). Biofilm formation and virulence factor analysis of *Staphylococcus aureus* isolates collected from ovine mastitis. *Journal of Applied Microbiology*, 123 (2): 372-379. doi: 10.1111/jam.13502.
- Beheshti, R., Shaieghi, J., Eshratkhah, B., Ghalehkandi, J. G. & Maheri-Sis, N. (2010). Prevalence and etiology of subclinical mastitis in ewes of the Tabriz region, Iran. *Global veterinaria*, 4 (3): 299-302.
- Berge. (2004). *Mastitt hos søye*: Norges Veterinærhøgskole.
- Brook, I. (2004).  $\beta$ -Lactamase-producing bacteria in mixed infections. *Clinical Microbiology and Infection*, 10 (9): 777-784. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1198-743X.2004.00962.x>.
- Clements, A. C. A., Taylor, D. J. & Fitzpatrick, J. L. (2003). Evaluation of diagnostic procedures for subclinical mastitis in meat-producing sheep. *Journal of Dairy Research*, 70 (2): 139-148. doi: 10.1017/S0022029903006022.
- Conington, J., Cao, G., Stott, A. & Bünger, L. (2008). Breeding for resistance to mastitis in United Kingdom sheep, a review and economic appraisal. *Vet Rec*, 162 (12): 369-76. doi: 10.1136/vr.162.12.369.
- Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H. & Grünberg, W. (2017). *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 11 utg., b. 2. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier.
- Cooper, S., Huntley, S. J., Crump, R., Lovatt, F. & Green, L. E. (2016). A cross-sectional study of 329 farms in England to identify risk factors for ovine clinical mastitis. *Preventive Veterinary Medicine*, 125: 89-98. doi: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.01.012>.
- Epidemiologi*. (No date). Vetinst.no: Veterinærinstituttet. Tilgjengelig fra: <https://www.vetinst.no/fagomrader/epidemiologi> (lest 15.04).
- Ezzat Alnakip, M., Quintela-Baluja, M., Böhme, K., Fernández-No, I., Caamaño-Antelo, S., Calo-Mata, P. & Barros-Velázquez, J. (2014). The Immunology of Mammary Gland of Dairy Ruminants between Healthy and Inflammatory Conditions. *J Vet Med*, 2014: 659801. doi: 10.1155/2014/659801.

- Fthenakis, G. C. & Jones, J. E. T. (1990). The effect of experimentally induced subclinical mastitis on milk yield of ewes and on the growth of lambs. *British Veterinary Journal*, 146 (1): 43-49. doi: [https://doi.org/10.1016/0007-1935\(90\)90075-E](https://doi.org/10.1016/0007-1935(90)90075-E).
- Gonzalo, C., Ariznabarreta, A., Carriedo, J. A. & San Primitivo, F. (2002). Mammary Pathogens and Their Relationship to Somatic Cell Count and Milk Yield Losses in Dairy Ewes. *Journal of Dairy Science*, 85 (6): 1460-1467. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74214-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74214-8).
- Grant, C., Smith, E. M. & Green, L. E. (2016). A longitudinal study of factors associated with acute and chronic mastitis and their impact on lamb growth rate in 10 suckler sheep flocks in Great Britain. *Preventive Veterinary Medicine*, 127: 27-36. doi: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.03.002>.
- Hadimli, H., erganiş, O., Kav, K. & Sayin, Z. (2005). Evaluation of a combined vaccine against staphylococcal mastitis in ewes. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 49: 179-182.
- Hipra. (2019). Vimco vet. Tilgjengelig fra: [https://static-web.hipra.com/migrate\\_files/product\\_files/VIMCO-EU-NO-715916-01.2%283%29.pdf](https://static-web.hipra.com/migrate_files/product_files/VIMCO-EU-NO-715916-01.2%283%29.pdf) (lest 10.10.2022).
- Indrebø, A. (1990). *Mastitt hos søya*: Norges Veterinærhøgskole.
- International Dairy Federation. (1999). *Suggested Interpretation of mastitis terminology*. Bulletin of the International Dairy Federation. 338.
- Katsafadou, A. I., Politis, A. P., Mavrogianni, V. S., Barbagianni, M. S., Vasileiou, N. G. C., Fthenakis, G. C. & Fragkou, I. A. (2019). Mammary Defences and Immunity against Mastitis in Sheep. *Animals (Basel)*, 9 (10). doi: 10.3390/ani9100726.
- Keisler, D. H., Andrews, M. L. & Moffatt, R. J. (1992). Subclinical mastitis in ewes and its effect on lamb performance. *Journal of Animal Science*, 70 (6): 1677-1681. doi: 10.2527/1992.7061677x.
- Lafi, S. Q., Al-Majali, A. M., Rousan, M. D. & Alawneh, J. M. (1998). Epidemiological studies of clinical and subclinical ovine mastitis in Awassi sheep in northern Jordan. *Preventive Veterinary Medicine*, 33 (1): 171-181. doi: [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(97\)00048-2](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(97)00048-2).
- Larsgard, A. G. & Vaabenoe, A. (1993). Genetic and environmental causes of variation in mastitis in sheep. *Small Ruminant Research*, 12 (3): 339-347. doi: [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(93\)90069-T](https://doi.org/10.1016/0921-4488(93)90069-T).
- Melchior, M. B., Vaarkamp, H. & Fink-Gremmels, J. (2006). Biofilms: A role in recurrent mastitis infections? *The Veterinary Journal*, 171 (3): 398-407. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.01.006>.
- Mørk, T., Waage, S., Tollersrud, T., Kvitle, B. & Sviland, S. (2007). Clinical mastitis in ewes; bacteriology, epidemiology and clinical features. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49 (1): 23. doi: 10.1186/1751-0147-49-23.
- Mørk, T., Kvitle, B. & Jørgensen, H. J. (2012). Reservoirs of *Staphylococcus aureus* in meat sheep and dairy cattle. *Veterinary Microbiology*, 155 (1): 81-87. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.08.010>.
- Maaland, M. G., Grøntvedt, C. A., Sunde, M. & Urdahl, A. M. (2018). *Survey of methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in sheep*. Norwegian Veterinary Institute.
- NSG. (2022). *Egenskaper in avlsarbeidet hos NKS*. Norsk sau og geit. Tilgjengelig fra: <https://www.nsg.no/sau/saueavl/avlsmal/nks-avlsmal/> (lest 28.12).
- Pérez, M. M., Prenafeta, A., Valle, J., Penadés, J., Rota, C., Solano, C., Marco, J., Grilló, M. J., Lasa, I., Irache, J. M., et al. (2009). Protection from *Staphylococcus aureus* mastitis associated with poly-N-acetyl  $\beta$ -1,6 glucosamine specific antibody production using

- biofilm-embedded bacteria. *Vaccine*, 27 (17): 2379-2386. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.02.005>.
- Prenafeta, A., March, R., Foix, A., Casals, I. & Costa, L. (2010). Study of the humoral immunological response after vaccination with a *Staphylococcus aureus* biofilm-embedded bacterin in dairy cows: Possible role of the exopolysaccharide specific antibody production in the protection from *Staphylococcus aureus* induced mastitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 134 (3): 208-217. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.09.020>.
- Rainard, P. & Riollet, C. (2006). Innate immunity of the bovine mammary gland. *Vet Res*, 37 (3): 369-400. doi: 10.1051/vetres:2006007.
- Reksen, O. (2015). *Jur- og spenesykdommer hos drøvtyggere*.
- Rodríguez Fernández, J. A., García Carrero, F., Delgado Rodríguez, C. & Sanz Franco, M. A. (2018). *Efficacy of vaccination against biofilm-producing Staphylococci as a preventive measure against subclinical mastitis in Lacaune and Manchega sheep in Spain*. The 2018 International Bovine Mastitis Conference Milano.
- Sağlam, A. G., Şahin, M., Çelik, E., Çelebi, Ö., Akça, D. & Otlu, S. (2017). The role of staphylococci in subclinical mastitis of cows and lytic phage isolation against to *Staphylococcus aureus*. *Vet World*, 10 (12): 1481-1485. doi: 10.14202/vetworld.2017.1481-1485.
- Schukken, Y. H., Bronzo, V., Locatelli, C., Pollera, C., Rota, N., Casula, A., Testa, F., Scaccabarozzi, L., March, R., Zalduendo, D., et al. (2014). Efficacy of vaccination on *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci intramammary infection dynamics in 2 dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 97 (8): 5250-5264. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8008>.
- Statistisk sentralbyrå. (2022). *Vinterfôra sauer, etter buskapsstorleik, statistikkvariabel og år I*: Sentralbyrå, S. (red.). Statistisk Sentralbyrå. Tilgjengelig fra: <https://www.ssb.no/statbank/table/03803/tableViewLayout1/> (lest 04.01).
- Tamayo, J. A., Calvo, T. & Sanz, M. A. (2015a). *Case study: reduction of bulk tank somatic cell count (BTSCC) after vaccination with a biofilm-producing staphylococcal mastitis vaccine in a dairy sheep flock in Spain*. 9th International Sheep Veterinary Congress, Harrogate, England.
- Tamayo, J. A., Sanz, M. A., Calvo, T. & Tabera, V. (2015b). *Evaluation of the impact of vaccination against staphylococcal mastitis in milk yield in assaf ewes in Spain*. World Buiatrics congress, Dublin, Ireland.
- Tollersrud, T., Kenny, K., Caugant, D. A. & Lund, A. (2000). Characterisation of isolates of *Staphylococcus aureus* from acute, chronic and subclinical mastitis in cows in Norway. *APMIS*, 108 (9): 565-572. doi: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0463.2000.d01-98.x>.
- Tollersrud, T., Nørstebø, P. E., Engvik, J. P., Andersen, S. R., Reitan, L. J. & Lund, A. (2002). Antibody Responses in Sheep Vaccinated against *Staphylococcus aureus* Mastitis: A Comparison of Two Experimental Vaccines Containing Different Adjuvants. *Veterinary Research Communications*, 26 (8): 587-600. doi: 10.1023/A:1020960402112.
- Tollersrud, T. & Hektoen, L. (2017). *Mastitt*. Animalia: Animalia. Tilgjengelig fra: <https://www.animalia.no/no/Dyr/sauehelsenett/sjukdommer/jur-og-spener/mastitt/> (lest 05.01).
- Uldal, S. H. (2022). *Saueraser*. Animalia: Animalia. Tilgjengelig fra: <https://www.animalia.no/no/Dyr/ull-og-ullklassifisering/saueraser-og-ulltyper/> (lest 28.12).

- Vasileiou, N. G. C., Chatzopoulos, D. C., Cripps, P. J., Ioannidi, K. S., Gougoulis, D. A., Chouzouris, T. M., Lianou, D. T., Gonzalez-Valerio, T. C., Vallverdu, R. G., Argyros, S., et al. (2019). Evaluation of efficacy of a biofilm-embedded bacteria-based vaccine against staphylococcal mastitis in sheep—A randomized, placebo-controlled field study. *Journal of Dairy Science*, 102 (10): 9328-9344. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16287>.
- Watkins, G. H., Burriel, A. R. & Jones, J. E. T. (1991). A field investigation of subclinical mastitis in sheep in southern England. *British Veterinary Journal*, 147 (5): 413-420. doi: [https://doi.org/10.1016/0007-1935\(91\)90083-Y](https://doi.org/10.1016/0007-1935(91)90083-Y).
- Watson, D., Franklin, N., Davies, H., Kettlewells, P. & FROSTS, A. (1990). Survey of intramammary infections in ewes on the New England Tableland of New South Wales. *Australian veterinary journal*, 67 (1): 6-8.
- Waage, S. & Vatn, S. (2008). Individual animal risk factors for clinical mastitis in meat sheep in Norway. *Preventive Veterinary Medicine*, 87 (3): 229-243. doi: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2008.04.002>.



## **Vedlegg**

### **Vedlegg 1: Prosedyre vaksinerings**

#### **Vaksinerings mot mastitt - prosedyrebeskrivelse:**

- Halvparten av søyene som skal lamme (alle aldersgrupper) vaksineres med Vimco mastittvaksine **5 og 2 uker** før de har hovedtyngden av lamming.
- Utvelgelsen av vaksine-/kontrollgruppe gjøres ut fra siste siffer i øremerket: Søyer med **ODDETALL som siste siffer (1, 3, 5, 7, 9) vaksineres.**
- La vaksinen nå en temperatur på 15°C til 25°C før den brukes. Flasken ristes før bruk. Administrer én dose (2 ml) ved dyp intramuskulær injeksjon i nakkemusklene.

Vaksinen kan gis samtidig med klostridievaksine, og evt. pasteurillosevaksine, men på hver sin side av dyret.

## **Vedlegg 2: Prosedyrebeskrivelse prøveuttak**

### **Prosedyrebeskrivelse – uttak av melkeprøver for studenter og Animalia**

Vi deler oss i to lag med to på hvert lag. Én har ansvar for å vaske og palpere jur, mens den andre har ansvar for å ta ut prøver på hver sau samt registrering av jurscore. Den som tar ut prøver skrur på lokket og merker hver prøve, slik at sjansen for kontaminasjon fra miljø og personer er lavest mulig. Prøvene tas av stående sau.

1. Husk selv å være ren på hendene. Bytt hansker mellom hver sau hvis synlig forurenset.
2. Se til at spenen er ren, tørk av eventuell skitt med rent og tørt papir. Melk ut litt melk i en kopp.
3. Desinfiser spenen med sprit på bomullsdott.
4. Åpne prøveglasset og melk i minst 2 ml. For å forhindre at prøven blir forurenset med bakterier fra skitt eller annet, er det lurt å holde prøveglasset på skrå, og passe på at melkestrålen går rett i glasset uten noe søl. Sett på lokket. Hvis man må ta prøve fra begge kjertler, begynn med den spenen nærmest deg slik at spenen ikke kontamineres under prøvetakning. Pass på man ikke kommer borti spenetupp, kork eller inni prøveglasset.
5. Noter i registreringsskjema hvilken søye som har hvilket prøveglass i hvilken eske.
6. Når prøvene er tatt palperes jurene, og jurscoringen registreres i registreringsskjema. For å være effektive kan én palpere og en registrere. Det kan være gunstig at den samme personen på hvert palperer alle jur slik at scoringen blir likest mulig.

### Vedlegg 3: Skjema for notering og beskrivelse av klinisk scoring

Produsent:

Eske:

Dato:

Individnr.		Glass nr.	Utmelking: 0, Ag, tett, ikke	Sekret: 0,1	Sår/skader: 0,1	Kronisk: 0, 1, 2	Akutt: 0,1	Merknad	Total score:
	H	1							
	V	2							
	H	3							
	V	4							
	H	5							
	V	6							
	H	7							
	V	8							
	H	9							
	V	10							
	H	11							
	V	12							
	H	13							
	V	14							
	H	15							
	V	16							
	H	17							
	V	18							
	H	19							
	V	20							
	H	21							
	V	22							
	H	23							
	V	24							
	H	25							
	V	26							
	H	27							
	V	28							
	H	29							
	V	30							
	H	31							
	V	32							
	H	33							
	V	34							
	H	35							

	V	36							
	H	37							
	V	38							
	H	39							
	V	40							

### Forklaring klinisk scoring:

Klinisk scoring gjøres ved å registrere avvik. 0 betyr ingen forandringer. På papirskjema lar vi feltet stå tomt ved 0, men det registreres som 0 i excel.

- **Utmelking:** hvis man ikke får melket ut, forklar hvorfor
  - 0 (normal): Det var mulig å melke normalt ut av kjertelen
  - Ag: agalakti (ingen melkeproduksjon i kjertelen) atrofi e.l.
  - Tett: spenen er tett, men juret er fylt. NB! Streng i spenen markeres med x under merknad
  - Ikke: ikke mulig å få ut melk, selv om juret kjennes fylt ut
- **Sekret:** Sekretforandringer (eks slintrer, klumper) og/eller endret farge (eks blodtilblandet)
  - Graderes fra 0 (normal) til 1 (tilstedeværelse av sekret- eller fargeforandringer)
- **Sår/skader:** Sår eller skader på spenespissen, spener eller jur
  - Graderes fra 0 (normal) til 1 (tilstedeværelse av sår/skader)
- **Kronisk:** Tegn på kronisk mastitt, som hard/knudrete kjertel, atrofisk kjertel eller tegn på koldbrann (misfarging med blå/svart). Graderes 0, 1, 2.
  - 0 (normal)
  - 1 (små forandringer): **Eks. små klumper, tydelig streng i spenen**
  - 2 (store forandringer): **Eks. store klumper, atrofisk kjertel, koldbrann**
- **Akutt:** Kliniske tegn på akutt mastitt, som varm, hard, rød og øm kjertel
  - Graderes fra 0 (normal) til 1 (tilstedeværelse av tegn på akutt mastitt)

## Vedlegg 4: ME757 (Analyse av speneprøver)



Metode

### Analyse av speneprøver

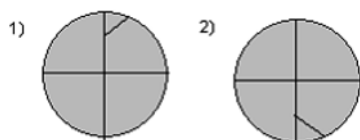
#### Hensikt

Speneprøver defineres som aseptisk uttatt melk fra enkeltspener på ku eller geit. Prøvene sendes laboratoriet i posten eller via TINEs egen inntransport. Laboratoriet distribuerer veiledning for prøveuttak i all speneprøveemballasje.

#### Beskrivelse

##### Utsæd:

Prøven blandes godt og 0.01 ml sås ut på ¼ blodskål som merkes med prøvens journalnummer Første kvadrant merkes med en hake, prøvene såes ut med urviseren.



Figur 1. Prøvene såes ut med urviseren når skålen ligger med agarflaten opp (1). Skålene merkes på undersiden (2)

Blodskål: Heart Infusion Agar med 5% vaska storfe erythrocytter og tilsatt 0.05% eskulin.

Inkuberes i 35-37°C i inkubatorskap TEM30.

Prøven avleses etter 18-24 timer og etter 2 døgn. Inkubasjonstiden kan forlenges ytterligere ved behov.

Alle videre inkuberings og sekundærutsæder inkuberes i 35-37°C i inkubatorskap TEM29.

Forøkt utsædvolum, 0.1 ml, kan vurderes ved manglende vekst på primærskål.

Når prøvene såes ut på fredag blir de inkubert 18-24 timer og satt ved 4°C ± 2°C fra lørdag til mandag før de avleses på mandag. Det samme gjelder etterarbeid som blir gjort på fredag. Prøvene inkuberes igjen 18-24 timer fra mandag til tirsdag. Tilsvarende skjer ved bevegelige helligdager. På dager før helligdager hvor laboratoriet er stengt over flere dager fryses prøvene og analyseres første ordinære arbeidsdag.

### Avlesning av primærskål:

Ved første avlesning bedømmes prøve kvaliteten foreløpig.

Ved vekst av mer enn to ulike kolonityper vurderes prøven som forurenset.

Sparsom vekst av blandingsflora: >2 ulike kolonityper vokser i utstryket, sammen med eller uten spesifikke mastittpatogener tilstede.

Redusert prøve kvaliteten rapporteres både når patogener rapporteres og når "mastittbakterier ikke påvist" rapporteres.

Kraftig vekst av blandingsflora: >2 ulike kolonityper i kraftig vekst. Rapporteres som "Blandingsflora". Potensielle patogener i utstryket skal ikke rapporteres.

### Vurdering av bakterievekst:

Når prøve kvaliteten vurderes som god nok rapporteres all vekst av *S. aureus* (100 cfu/ml).

Prøver med vekst av minimum 5 kolonier vurderes som positive (500 cfu/ml). Identifikasjon av bakterier skjer ved hjelp av Maldi- TOF eller etter kriterier for diagnostisering av bakterier TOF, [se refererte dokumenter](#). Minimumskrav til artsidentifisering i mastittdiagnostikken er utarbeidet i samarbeid med Veterinærinstituttet.

#### NMC Golden Rule:

*Ikke kall en mikroorganisme forurensing fordi den ikke er kjent som en mastittpatogen.*

*Ikke aksepter en mikroorganisme som primær mastittårsak fordi den er en kjent patogen.*

*Lær å skille mellom forurensa kulturer og mastittpatogener.*

*Vær varsom med å diagnostisere en intramammær infeksjon fra kulturer med flere kolonityper.*

Bakteriologiske negative prøver fra klinisk mastitt kan sjekkes for bakteriehemmende stoff på Mueller Hinton agar med *Kocuria Rhizophila*, [se refererte dokumenter](#)

### Antibiotikaresistenstesting:

Stafylokokker kan undersøkes for betalaktamaseproduksjon med kløverbladmetoden ([Se refererte dokumenter](#))

Betalaktamaseproduserende stammer kan testes for aktuelle antibiotika v.h.a agardiffusjonstest ([Se refererte dokumenter](#))

Enterobakterier testes for aktuelle antibiotika v.h.a. agardiffusjonstest.

*Corynebakterier, Trueperella pyogenes*, entero- og streptokokker resistentstestes vanligvis ikke da de i regelen er penicillinfølsomme.

### Rapportering:

Det rapporteres prøve kvaliteten pr. ku/geit og bakterievekst med tilhørende antibiotikafølsomhet pr. spene.

Rapporteres til dyreeier og evt.rekvirent på e-post eller pr. brev. Analyseresultater overføres Husdyrkontrollen og rapporteres elektronisk til nettsiden <http://medlem.tine.no>

---

Dokumenteier:  
Synnøve Strand Flemmen

Godkjent av:  
Synnøve Strand Flemmen

Godkjent dato:  
02.01.2019

Ref.nr:  
ME757

Utgave:  
1

side 2 av 3

**Referanser:**

National Mastitis Council. Microbiological Procedures for the Diagnoses of Bovin Udder infection and Determination of Milk Quality. Fourth Edition 2004.

National Mastitis Council. Laboratory Handbook of Bovine Mastitis. **Tredje utgave 2017.**

Laboratorierutiner for mastittdiagnostikk ved Statens Veterinære Laboratorier 1993.

**Gjelder for prosess**

Støtte:S9 Utvikle og levere rådgivingstjenester og yte medlemservice:S9-3 Levere analysetjenester (Mastittlaboratoriet):S9-3-4 Analysere

**Gjelder for organisasjon**

TRM Mastittlaboratoriet

**Refererte dokumenter**

Matrix Assisted Laser Desorption Ionization- Time Of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS)

Identifikasjon av bakterier i rutinediagnostikk

Bakteriehemmende stoff - påvisning i melk

Bakterier- påvisning av betalaktamaseproduksjon ved kløverbladmetode

Resistensbestemmelse - agardiffusjonsmetode

## Vedlegg 5: ME770 (Bakterier – påvisning av betalaktamaseproduksjon ved kløverbladmetode)



Metode

# Bakterier- påvisning av betalaktamaseproduksjon ved kløverbladmetode

### Hensikt

Metoden anvendes til å påvise produksjon av betalaktamaseenzymet penicillinase hos **stafylokokker**. Penicillinresistens hos stafylokokker skyldes hovedsaklig penicillinase-produksjon.

### Beskrivelse

#### Prinsipp

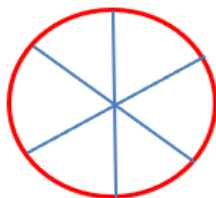
Betalaktamaseenzymene spalter betalaktamringen i penicillin slik at antibiotikumet inaktiveres. Produksjon av betalaktamaseenzymet penicillinase påvises ved å spre en kjent penicillinsensitiv referansestamme utover en agarskål. Teststammen avsettes som en strek fra kanten av skålen og inn til sentrum. En penicillintablett legges i sentrum og skålen inkuberes. Dersom teststammen produserer penicillinase, vil penicillin nær streken inaktiveres. Referansestammen vil derfor vokse langs teststammen og gi en karakteristisk brytning av penicillinsonen.

#### Kjemikalier, løsninger, medier og reagenser

Fysiologisk saltvann (0,9% NaCl)  
Mueller Hinton agar  
Eller  
Mueller Hinton agar med blod  
Penicillin-tabletter, Rosco Penicillin 10U  
Referansestamme, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

#### Arbeidsbeskrivelse

Skåler som skal brukes til kløverbladmetoden merkes med dato de blir laget og skål merkes slik at en får plass til 6 prøver pr. skål.







Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
67 23 00 00  
[www.nmbu.no](http://www.nmbu.no)