



# Sammenhængen mellem tilvækst hos ungdyr og *Mycoplasma bovis* i seks danske malkekvægsbesætninger



## Veterinært kandidatspeciale

Camilla Eskerod Kristensen, gvm553

Hovedvejleder:

Liza Rosenbaum Nielsen

Professor MSO

Institut for Produktionsdyr og Heste



Institutnavn: Institut for Produktionsdyr og Heste

Fakultet: Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet; Københavns Universitet

Forfatter: Camilla Eskerod Kristensen

Projekttype: Veterinært speciale, 30 ECTS point

Titel og evt. undertitel: Sammenhængen mellem tilvækst hos ungdyr og *Mycoplasma bovis* i seks danske malkekvægsbesætninger.

Title / Subtitle: Comparison of growth in calves and *Mycoplasma bovis* – a study of six Danish dairy herds.

Hovedvejleder: Liza Rosenbaum Nielsen, professor MSO, Institut for Produktionsdyr og Heste. Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet.

Medvejledere: Mette Bisgaard Petersen, ph.d. stud., Institut for Produktionsdyr og Heste Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet.

Kaspar Krogh, Specialkonsulent, fagdyrlæge, Videncentret for Landbrug, Kvæg.

Afleveret den: 25. juli 2014

Frederiksberg, d. 24 juli 2014

---

Camilla Eskerod Kristensen

gvm553

**Forside:** Billeder af dyr med kliniske tegn på *Mycoplasma bovis* fra projektbesætningerne samt brug af lasermåler. Fotograf: Camilla Eskerod Kristensen

## Forord

Dette veterinære speciale er gennemført som en del af et forskningssamarbejde mellem Institut for Produktionsdyr og Heste på Københavns Universitet (KU), Veterinærinstituttet på Danmarks tekniske Universitet (DTU), samt Videntretet for Landbrug, Kvæg, med Kaspar Krogh som projektleder. Samarbejdet har til formål at undersøge forskellige aspekter af epidemiologi og diagnostik af *Mycoplasma bovis*.

Projektet er gjort muligt med hjælp og økonomisk støtte fra Videntretet for Landbrug, Kvæg. Tak til projektleder og medvejleder Kaspar Krogh for gode råd og vejledning ved udvælgelse af specialets problemformulering. Tak til dyrlæge Ulla Torpe for at tage mig med rundt til besætninger med udbrud af *Mycoplasma bovis*, samt for at tage sig tid til de ekstra blodprøver og det ekstra arbejde tilvækstmålingerne har medført. En tak skal også lyde til Ulla, fordi hun var en stor hjælp i udvælgelsen af passende besætninger til projektet. Tak til Jørgen Nielsen, Videntretet for Landbrug, Kvæg, for hjælp med opgørelser over *Mycoplasmas bovis* udbredelse i Danmark, samt gode råd i den afsluttende fase.

Den største tak til Liza Rosenbaum Nielsen, som endnu engang har været en fantastisk vejleder. Hun har inspireret mig og været en enorm støtte gennem hele processen.

Tak til medvejleder Mette Bisgaard Petersen for hjælp og støtte ved besætningsbesøg, fremstilling af spørgeskema og gode råd om R og R-Studio. En stor tak skal også lyde til de deltagende landmænd for at tage godt imod mig og hjælpe mig med registreringer, samt for at de har taget sig tid til at svare på spørgeskemaet og andre opklarende spørgsmål. Uden deres medvilje og tålmodighed havde projektet ikke været muligt at gennemføre.

Tak til Carsten Enevoldsen for lån af lasermåler og til Ole Rasmusen fra Ribeegnens dyrlæger for rådgivning og hjælp i forbindelse med optimal anvendelse af lasermåleren, samt for at sponsorere brystomkredsmålingsudstyr.

Tak til Christina Henneke, Ida Østergaard og Winnie Østergård for gennemlæsning.

## Sammendrag

Det primære formål med dette veterinære speciale var at undersøge, om der er en sammenhæng mellem infektion med *Mycoplasma bovis* og tilvækst hos ungdyr hos dansk malkekvæg. Dette er blevet undersøgt ved hjælp af antistofmålinger på blodprøver udtaget to gange fra samme dyr med et par måneders mellemrum, samt vægttestimeringer med målebånd og krydshøjde på ungdyr i seks udvalgte malkekvægsbesætninger.

Det ønskedes derudover at beskrive forløbet, hvormed udbrud med *Mycoplasma bovis* udartede sig forskelligt i de seks besætninger, herunder at vurdere eventuelle forskelle og fællestræk hos de medvirkende besætninger, som kan have haft indflydelse på udviklingen af sygdom forårsaget af infektion med *Mycoplasma bovis*.

Projektbesætningerne blev udvalgt på grundlag af en kendt forekomst af *Mycoplasma bovis* infektioner hos ungdyr ved projektets start i februar 2014. Dataindsamlingen for hver af de seks projektbesætninger foregik ved: 1) udtagning af to hold parrede blodprøver fra 0-12 måneder gamle kalve ved målinger i februar/marts 2014 (N=497) og igen i april/maj 2014 (N=442), 2) vægttestimeringer udført på samme dage som blodprøveudtagningen ved hjælp af brystmål på de yngste (0-3 måneder) kalve og krydshøjde hos de ældste (3-12 måneder), 3) registreringer af huld og kliniske tegn på *Mycoplasma bovis*. Desuden blev der udtrukket registerdata fra Kvægdatabasen og Det Centrale HusdyrbrugRegister. Herudover blev der udført spørgeskemaundersøgelser og interview med ansvarshavende i de medvirkende besætninger.

Resultaterne i dette specialeprojekt var, at niveauet af antistoffer mod *Mycoplasma bovis* i de testede ungdyr svingede mellem 0 ODC % og 190 ODC %. For antistofmålingerne blev 37 ODC% (som anbefalet af producenten af det anvendte test-kit) valgt som grænseværdi til at skelne mellem testpositive og testnegative, og ungdyrene blev inddelt i følgende fire grupper: 1) dyr med testnegative antistofmålinger ved begge besøgsgange, 2) dyr der faldt i niveau fra testpositiv til testnegativ, 3) dyr der steg i niveau fra testnegativ til testpositiv og, 4) dyr der var testpositive ved begge målinger. De fire antistofgrupperinger blev sammenlignet med de estimerede tilvækstberegninger i samme periode ved hjælp af en multivariabel variansanalyse. Konklusionen var, at der var en signifikant lavere tilvækst hos ungdyr der var testpositive ved begge målinger i forhold til dyrene i gruppe 1 og 2 med hhv. lave og faldende antistoffer. Prævalensen af dyr med to gentagne positive antistofmålinger var på 22 % på tværs af alle besætninger.

Gennem spørgeskemaundersøgelsen blev det belyst, at de seks medvirkende projektbesætningerne alle havde oplevet, at udbruddet med *Mycoplasma bovis* startede umiddelbart efter indkøb af dyr og/eller andre stressfremkaldende faktorer, såsom ibrugtagelse af ny stald og ændringer i foder. Ingen af besætningerne anvendte pasteuriseringsanlæg til sødmælk ved udbruddets start, to besætninger påbegyndte pasteurisering af sødmælk umiddelbart inden opstarten af dette projekt i januar 2014 og oplevede en positiv effekt heraf på kalvesundheden. Fire ud af de seksbesætninger havde oplevet kalve født med symptomer på *Mycoplasma bovis*, samt nedgang i drægtighedsprocent. Halvdelen af besætningerne havde oplevet mere udtalte kliniske tegn hos tyrekalve sammenlignet med kviekalve. Besætningerne havde alle forsøgt sig med forskellige behandlingsstrategier, men ingen besætninger havde opnået en sikker behandlingseffekt. Spørgeskemaundersøgelsen har således været hypotesegenererende, men hypoteserne kunne ikke testes på det indsamlede materiale.

Gennem dette speciale er det blevet forsøgt at finde svar på nogle af de mange spørgsmål, der er omkring *Mycoplasma bovis*. Når et spørgsmål besvares åbner der sig dog hurtigt et nyt, og de kommende års forskning vil forhåbentligt bidrage til svar på nogle de mange ubesvarede spørgsmål.

## Summary

The aim of this veterinary master thesis was to examine the connection between the growth rate in calves and the prevalence of *Mycoplasma bovis* in six Danish dairy herds.

This has been studied through antibody measurements in blood samples and weight estimation by measuring the circumference around the chest with a measuring tape and the height of the young stock with a laser measuring tool.

The aim was also to describe the process by which an outbreak of *Mycoplasma bovis* generated differently at herd level, including evaluation of any possible common feature among the participating herds, which may have influenced the development of disease caused by infection with *Mycoplasma bovis*.

The herds in this project were selected on the basis of a known occurrence of *Mycoplasma bovis* infections and antibody reaction on ELISA test in young stock at the beginning of the project in February 2014. Data collection for each of the six project herds was done by: 1) obtaining two groups of paired blood samples from 0-12 months old calves by measurements in February / March 2014 (N = 497) and again in April / May 2014 (N = 442), 2) weight estimation were done on the same day as blood sampling using the circumference around the chest at the youngest calves and height of the oldest, 3) records of body condition and clinical signs of *Mycoplasma bovis*, 4) surveys and interviews with the responsible farmer at the participating herds, as well as 5) extraction of register data from the Cattle Database and the Central Husbandry Register.

The results of this master thesis were that the amount of antibodies against *Mycoplasma bovis* in the tested young stock ranged between 0 ODC% and 190 ODC%.

After antibody measurements, the young animals were divided into the following four groups (with a cut-of value at 37 ODC%): 1) animals with constant low or negative antibody measurements 2) animals with a drop in antibody level from positive to negative 3) animals with an increased antibody level from negative to positive and finally 4) animals that remained stable and highly positive in both measurements. The four antibody groups were compared with the estimated weight gain calculations, using a multivariate analysis of variance. The conclusion was that there was a significant difference (P=0.001) between growth in young animals with high and stable antibody levels compared to animals that did not have a high and stable level of antibodies to *Mycoplasma bovis*.

Through the survey, it was shown that the six participating herds all had experienced that the outbreak of *Mycoplasma bovis* began shortly after purchase of animals. None of the herds used a system for pasteurizing of milk at the start of the outbreak, two herds started the pasteurization of milk just before the start of this project in January 2014, and there seemed to be a positive effect on the results. 4 out of 6 of the herds had experienced calves born with symptoms of *Mycoplasma bovis*, as well as a decrease in the pregnancy rate. Half of the herds had experienced more severe symptoms in bull calves, compared to heifer calves. The six herds had all tried different treatment strategies, but none of them have found a successful strategy until now.

This master thesis tried to find answers to some of the many questions about *Mycoplasma bovis*. The fact is that when one question is answered, it will lead to more new questions. Future research will hopefully help answering some of the many unanswered questions.



## Indholdsfortegnelse

<b>FORORD</b> .....	<b>III</b>
<b>SAMMENDRAG</b> .....	<b>IV</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>VI</b>
<b>1 INDLEDNING</b> .....	<b>I</b>
1.1 Problemformulering .....	iii
1.2 Hypotese for tilvækstforsøget .....	iii
<b>2 MYCOPLASMA BOVIS INFEKTIONER I KVÆG</b> .....	<b>1</b>
2.1 Patogenese .....	1
2.2 Antistofproduktion og Immunrespons .....	2
2.3 Kliniske tegn hos kalve .....	3
2.4 Risikofaktorer .....	5
2.4.1 Flytninger og indkøb af dyr .....	5
2.4.2 Besætningsstørrelse .....	6
2.4.3 Race .....	7
2.4.4 Økologiske besætninger .....	7
2.5 Geografisk fordeling .....	8
2.6 Sammenhæng mellem <i>Mycoplasma bovis</i> og tilvækst .....	9
<b>3 MATERIALER OG METODER</b> .....	<b>11</b>
3.1 Projektbesætninger .....	12
3.1 Serologi .....	13
3.3 Tilvækstmålinger .....	15
3.3.1 Brystmål .....	15
3.3.2 Krydshøjde .....	15
3.3.3 Huldvurderinger .....	16
3.3.4 Tilvækstberegninger .....	16
3.3.5 Statistiske procedurer .....	18
3.3.6 Testning af tilvækstmålingernes gentagelighed .....	19
<b>4 RESULTATER</b> .....	<b>20</b>
4.1 Generelt om stikprøven .....	20
4.2 Brystmålinger .....	21
4.3 Krydshøjde .....	23
4.4 Estimeret vægt .....	24
4.5 Estimeret tilvækst .....	27
4.6 Antistofmålinger med ELISA .....	28
4.7 Sammenhæng mellem <i>Mycoplasma bovis</i> og tilvækstestimeringer .....	31
4.8 Variansanalyse af tilvæksten per ELISA-gruppe .....	32
<b>5 PILOT PROJEKT SPØRGESKEMA</b> .....	<b>36</b>
5.1 Materialer og metoder .....	36
5.2 Resultater .....	38
5.2.1 Udbrud med <i>Mycoplasma bovis</i> .....	38
5.2.2 Smittebeskyttelse i besætningerne .....	39
5.2.3 Effekt af behandlinger .....	41
5.2.4 Pasteurisering af råmælk og sødmælk .....	42
5.2.5 Drægtighed og reproduktion .....	42
5.2.6 Økonomiske konsekvenser på besætningsniveau .....	42
<b>6 SAMLET DISKUSSION</b> .....	<b>44</b>
<b>7 KONKLUSION</b> .....	<b>44</b>
<b>8 PERSPEKTIVERING</b> .....	<b>47</b>
<b>9 LITTERATUR</b> .....	<b>49</b>

<b>10 BILAG .....</b>	<b>52</b>
Bilag 1 Opgørelse .....	52
Bilag 2 Tankmålinger .....	56
Bilag 3 Huldvurdering.....	57
Bilag 4 vægtmålinger .....	59
Bilag 5 Validering af data .....	61
Bilag 6 Udgåede dyr .....	63
Bilag 7 Varians analyse af data.....	65
Bilag 8 Spørgeskema .....	66
Bilag 9 Billeder .....	71

## 1 Indledning

I Danmark blev *Mycoplasma bovis* første gang isoleret i 1981 (Kusiluka, et al., 2000), men bakterien blev allerede i 1961 isoleret fra en gruppe køer med mastitis på en gård i det nordlige USA (HALE, et al., 1962). *Mycoplasma bovis* har de seneste år forårsaget voldsomme sygdomsudbrud i besætninger i hele Europa (Nicholas and Ayling, 2003). Bakterien har formentlig altid været til stede i den europæiske kvægbestand, men grundet den langsommelige og komplicerede dyrkningsproces, samt ugunstige forhold har den ikke vist tydelige tegn på sygdom før nu (Nicholas, 2011). Der er de seneste år lavet flere undersøgelser af de tilgængelige diagnostiske tests, heriblandt hurtigtests som ELISA, PCR og latex-agglutinationstest. Vurderingerne af disse test er meget varierende, men de er generelt velegnede til at give et overblik over prævalensen i besætninger (Abdel Hafez, et al., 2009).

I Danmark har *Mycoplasma bovis* fået fornyet interesse i kvægverdenen, og er som en del af paraplybetegnelsen "multifaktorielle besætningsproblemer" en af de kvægsygdomme, der er sat særligt fokus på fra erhvervets side de seneste år. Prævalensen af *Mycoplasma bovis* i Danske malkekvægsbesætninger blev ved en opgørelse fra marts 2014 opgjort til 11%, men har det seneste år varieret mellem 9% og 21 % (bilag 3). Opgørelsen viste endvidere, at der ikke var en signifikant forskel i prævalensen af *Mycoplasma bovis* antistoffer i tankmælksprøver mellem økologiske og konventionelle besætninger, og det var i opgørelsen ikke muligt at se en signifikant sammenhæng mellem besætningsstørrelse og risikoen for positiv måling af antistoffer i tankmælken.

Sygdomsbilledet ved *Mycoplasma bovis* viser sig meget forskelligt mellem besætninger, og litteraturen har endnu ikke et endegyldigt svar på, hvordan sygdommen skal forebygges og håndteres. *Mycoplasma bovis* invaderer slimhinderne gennem respirationsorganerne eller yvervævet, og kan herfra spredes systemisk til led, mellemøre, øjne, kønsorganer og urinorganer (Rosengarten, et al., 2000). Sygdomsbilledet for *Mycoplasma bovis* er karakteriseret ved mastitis og arthritis hos køerne, mens det hos kalvene er otitis media, pneumonier og arthritis, der dominerer det kliniske billede (Pfutzner and Sachse, 1996). De kliniske manifestationer er beskrevet i litteraturen, men de økonomiske konsekvenser, smittedynamikken og udarbejdelse af handlingsplaner er områder der i høj grad mangler belysning og forskning. Mange af de ramte besætninger efterspørger netop handlingsplaner og retningslinjer for håndtering af smittede dyr. Infektioner hos enkeltdyr med *Mycoplasma bovis* har vist sig at være meget svær at bekæmpe. Dette skyldes sandsynligvis mikroorganismens manglende cellevæg som gør den resistent overfor penicillin (Maunsell, et al., 2011).

I dette projekt er *Mycoplasma bovis*' indflydelse på ungdyrs tilvækst samt potentielle risikofaktorer i forbindelse med overførsel af smitte fra køer til kalve blevet undersøgt. Det er ved flere undersøgelser vist, at *Mycoplasma bovis* kan overføres direkte til den spæde kalv gennem upasteuriseret råmælk eller sødmælk fra inficerede køer (Pfutzner and Sachse, 1996). Infektion hos kalvene har stor betydning for dyrevelfærden, men muligvis også en økonomisk betydning. Flere studier har set på sammenhængen mellem tilvækst hos ungdyr og *Mycoplasma bovis*, men disse studier er udført under andre forhold end danske og med andre grænseværdier for positive og negative testresultater (Walz, et al., 1997; Tschopp, et al., 2001; Stipkovits, et al., 2001; Hanzlicek, et al., 2011). Dette projekt vil derfor forsøge at belyse betydningen af *Mycoplasma bovis* i dansk malkekvæg. Formålet med dette speciale er, gennem indsamling af data, analyse af blodprøver og vægttestimeringer fra seks malkekvægsbesætninger, at forsøge at give et overblik over, hvorvidt der er en sammenhæng mellem forskellige antistofprofiler, baseret på gentagne antistofmålinger som indirekte udtryk for forskellige infektionsforløb, og tilvækst hos ungdyr.

De kvantitative undersøgelser er suppleret med en spørgeskemaundersøgelse blandt de medvirkende besætningsejere og ansvarshavende medhjælpere. Det er forsøgt at kortlægge management rutiner med potentiel betydning for interne og eksterne smitteveje i de medvirkende besætninger. Spørgeskemaundersøgelsen har endvidere medvirket til en dybere forståelse af konsekvenserne af *Mycoplasma bovis* udbrud for den enkelte besætningsejer.

Specialet indeholder altså kvantitative, såvel som beskrivende kvalitative metoder. Dette har til formål at belyse alle aspekter af *Mycoplasma bovis* betydning. Den beskrivende del med spørgeskema, interview og samtaler har til formål at belyse det unikke, der er i hver enkelt besætningsejers oplevelse af sygdommen, samt at opdage nye og endnu ukendte sider af *Mycoplasma bovis* og epidemiologien bag. Den kvantitative del indeholder litteraturstudier af tidligere videnskabelige undersøgelser, opgørelser over prævalenser på nationalt plan, samt eget studium af sammenhæng mellem antistofniveau og tilvækst hos ungdyr.

## 1.1 Problemformulering

”Er det ved hjælp af epidemiologiske analyser af data fra malkekvægsbesætninger, hvor der er konstateret kliniske tilfælde af *Mycoplasma bovis*, muligt at påvise, at det har en påvirkning på ungdyrs tilvækst, hvis de har været smittet med *Mycoplasma bovis*? For at undersøge dette udvælges ca. 600 ungdyr tilfældigt fordelt på seks besætninger. Der udtages blodprøver, som anvendes til at angive et niveau for *Mycoplasma bovis* antistoffer, der indikerer eksponering for/smitte med *Mycoplasma bovis* på individniveau. Samtidig laves en vægt samt tilvækstestimering på de 600 ungdyr ved 2 målinger med ca. 3 måneders mellemrum, for efterfølgende at sammenholde forskellige antistofprofiler med enkeltdyrs tilvækst.

Endvidere undersøges det hvilke faktorer, der kan have indflydelse på, at der udvikles kliniske tegn og *Mycoplasma bovis*-positive serologiske analyser i de pågældende besætninger. Dette gøres ved hjælp af en spørgeskemaundersøgelse og interview med kortlægning af flytningsrutiner, management og smittebeskyttelse i de 6 medvirkende besætninger for på den måde at forsøge at belyse, hvilke potentielle risikofaktorer og konsekvenser, der er at finde i de ramte besætninger.

## 1.2 Hypotese for tilvækstforsøget

$H_0$ : Der er ingen forskel på tilvæksten hos ungdyr med stabilt høje, faldende, stigende eller lave antistofniveauer.

$H_a$ : Der er forskel på tilvæksten hos ungdyr med stabilt høje, faldende, stigende eller lave antistofniveauer.

## 2 *Mycoplasma bovis* infektioner i kvæg

I dette afsnit vil dele af den tilgængelige teoretiske viden om *Mycoplasma bovis* blive fremlagt. Dette afsnit vil hovedsagligt beskæftige sig med den teori, som har betydning for, hvordan *Mycoplasmas bovis* udarter sig hos ungdyr. Endvidere vil der blive set nærmere på, hvordan *Mycoplasma bovis* diagnosticeres, samt hvordan den på nuværende tidspunkt er udbredt i Danmark. Ved gennemgang af den tilgængelige litteratur åbner der sig mange ubesvarede spørgsmål. Mange er gennem tiden kommet med bud på, hvordan *Mycoplasma bovis* udarter sig i kvæg, men kun meget få forfattere bygger udtalelserne på evidensbaserede videnskabelige undersøgelser. Specielt på området omkring smittedynamik, kronisk infektion og persisterende smittebærere, overlevelse i miljøet, immunrespons, antistofproduktion og diagnostik er der fortsat store huller i forståelsen.

### 2.1 Patogenese

*Mycoplasma bovis* tilhører familien af *Mycoplasmataceae*. *Mycoplasma* arterne er mikroorganismer, der minder meget om bakterier, de har dog ingen cellemembran. I stedet for en cellemembran udvikler *Mycoplasma* arterne en komplet plasma membran (Razin, et al., 1998). *Mycoplasma bovis* er værtspecifik og isoleres derfor meget sjældent fra andre arter end kvæg. Familien af *Mycoplasmataceae* tæller udover *Mycoplasma bovis* mange forskellige subspecies, som findes hos mange andre dyrearter og mennesker. Hos kvæget er *Mycoplasma bovis* den mycoplasma-art der oftest isoleres, men der er isoleret op i mod 30 forskellige arter (Nicholas, 2011). Den mest sygdomsfremkaldende af disse arter er *Mycoplasma mycoides subsp mycoides* også kendt som oksens ondartet lungesygge, en lidelse vi fortsat er fri for i Danmark (Kusiluka, et al., 2000).

*Mycoplasma bovis* spreder sig horisontal ved direkte kontakt mellem individer, ved mule-til-mule kontakt og ved ophostning af sekreter (Jain, et al., 1969; Maunsell, et al., 2011; Nicholas, 2011) Der er fortsat usikkerhed om hvordan *Mycoplasma bovis* via aerosoler kan overføres fra dyr til dyr og evt. mellem besætninger. Der kan også ske horisontal indirekte smitte fra kontamineret mælkeudstyr, ved ud fodring af kontamineret og upasteuriseret mælk til småkalve (Donovan, et al., 1998). Efter et dyr er blevet inficeret med *Mycoplasma bovis* spreder bakterien sig systemisk videre fra slimhinder i mund og yvervævet til resten af kroppen (Biddle, et al., 2003; Fox, 2012). *Mycoplasma bovis* kan overleve i stråmateriale, mælk, sand og vand i op til flere uger (pfutzh, 1984), men det er endnu ikke påvist, at dyr kan inficeres med disse bakterier. Wilson et al viste i 2011, at der ingen evidens var, for at sand kunne udgøre en risiko for transmission af *Mycoplasma bovis* til spæde kalve (Wilson., et al., 2011).

Direkte smitte fra køer med mastitis til mælkefodrede kalve gennem ikke pasteuriseret mælk anses for en af de vigtigste risikofaktorer, hvad angår sygdom hos kalve (Maunsell, et al., 2011; Nicholas, 2011). Et studie af Butler et al. viste i 2000, at etablering af et pasteuriseringsanlæg kunne begrænse transmissionen af *Mycoplasma bovis* fra køerne til kalvene. I studiet påviste man, at det var muligt at nedbringe prævalensen af ledbetændelser hos kalve fra 20 % til 0 % som følge af pasteurisering af den sødmælk, der blev udfordret til kalvene (Butler, et al., 2000). Årsagen til den gode effekt af pasteurisering er formodentlig, at *Mycoplasma*-bakterierne er yderst sårbare overfor varmebehandling som følge af den manglende cellevæg. *Mycoplasma bovis* er i stand til at persistere som en subklinisk intramammær infektion i goldperioden, det kan derfor ikke udelukkes, at der allerede ved udmalkning af råmælk kort efter kælvning kan være *Mycoplasma* bakterier i råmælken, uden at koen ellers har vist tegn på sygdom (Byrne, et al., 2005).

## 2.2 Antistofproduktion og Immunrespons

Ved infektion med *Mycoplasma bovis* reagerer immunforsvaret med et specifikt immunrespons, som i sammenspil med det uspecifikke immunforsvar vil forsøge at fjerne den invaderende ukendte organisme. Det specifikke immunsystem er inddelt i to undergrupper, det cellemedierede immunsystem og det humorale immunsystem. Ved invadering med en fremmede organisme vil det humorale immunsystem danne specifikke antistoffer, som efterfølgende vil kunne findes i eksempelvis serum og mælk fra dyr der har været udsat for smitte. Dyr, der har kliniske tegn på *Mycoplasma bovis*, vil udvikle antistoffer mod bakterien, og det samme vil dyr, der ikke har været syge, men som på et tidspunkt har været udsat for smitte med *Mycoplasma bovis*. Antistoffer er derfor en anvendelig markør til at undersøge, om et dyr har været udsat for smitte (Nicholas and Ayling, 2003).

De specifikke antistoffer (immunglobuliner) som serum og mælk indeholder, hvis dyret har været udsat for smitte, kan estimeres ved hjælp af serologiske test. Til at teste for *Mycoplasma bovis* anvendes en enzym linked immunosorbent assay (ELISA). Resultatet opgøres som ODC% (niveauet af baggrundkorrigeret optisk densitet i forhold til en positiv kontrolprøve), med en cut-off værdi på 37 ODC%, hvor alle test resultater under 37 ODC% regnes for negative og resultater over 37 ODC% regnes for positive.

Studier viser, at serokonvertering finder sted 5-12 dage efter inokulering med en høj koncentration af bakterien i aerosolform (Nicholas, 2011). Studier har endvidere vist, at høje antistoftitre vedvarer i op til 6 måneder efter inokulering (Nicholas, 2011; Maunsell, et al., 2011). Dyr kan altså have et højt antistofsvar i mange måneder efter de har været udsat for smitten, men det er endnu uvist, om høje antistofsvar er tegn på klinisk infektion, om dyret er smittefarligt eller på anden måde påvirket i perioder med høje antistofsvar.

Ifølge et review af Nicholas (2011), er det derfor på baggrund af enkeltdyrsantistofmålinger ikke muligt, at udtale sig om aktiv smitte, om et dyr er aktivt inficeret eller blot tidligere har været smittet.

Målingerne på spædekcalve er endvidere meget usikre, da kalve kan modtage maternelle antistoffer fra den råmælks givende ko (Maunsell, et al., 2011). I 2013 beskriver Iversen (2013) denne tendens hos ca. 30 kalve fra 3 besætninger. Her ses et initialt fald i ODC% fra dag 0 indtil dag 50. En klar indikation af, at der overføres maternelle antistoffer med råmælken. Hvornår kalvene igen vil serokonvertere afhænger af, om de udsættes for nysmitte (Iversen, 2013). Begrænsningerne ved ELISA er endvidere, at det i den tidlige fase af infektionen med *Mycoplasma bovis* ikke vil være muligt at detektere antistofferne, da de endnu ikke er dannet. Et faktum der vil betyde, at dyret tester negativt til trods for at dyret er inficeret med *Mycoplasma bovis*.

*Mycoplasma bovis* har tilpasset sig til at kolonisere de øvre luftveje også uden at give kliniske symptomer (Maunsell and Donovan, 2009). Meget tyder på, at *Mycoplasma bovis* kan give forskellige varianter immunrespons. Der er dog fortsat en meget begrænset viden om værtens evne til at udvikle et effektivt immunrespons mod *Mycoplasma bovis* infektioner (Maunsell and Donovan, 2009)

## 2.3 Kliniske tegn hos kalve

De kliniske tegn hos dyr smittet med *Mycoplasma bovis* optræder ofte forskelligt mellem individer og besætninger (Nicholas, 2011). *Mycoplasma bovis* invaderer slimhinderne i respirationsorganerne, urogenitalorganerne og gastrointestinalkanalen, samt øjne og yvervæv (Stipkovits, et al., 1993; Pfutzner and Sachse, 1996; Butler, et al., 2000; Nicholas, 2011).

Hos kalve er de kendte kliniske tegn pneumonier (lungebetændelser), arthritis (ledbetændelser) og otitis media (mellemørebetændelse). Ved pneumonier er *Mycoplasma bovis* ofte beskrevet som opportunistisk patogen, men optræder ifølge studier også som primært patogen (Gagea, et al., 2006). I forbindelse med primære *Mycoplasma bovis* pneumonier rapporteres om tilfælde med ledbetændelser, hvor det er muligt at dyrke bakteriologiske renkulturer fra både led og lunger (Stipkovits, et al., 1993; Butler, et al., 2000). Det mest karakteristiske kliniske tegn hos kalve inficeret med *Mycoplasma bovis* er otitis media. Til forskel fra infektioner i luftveje og arthritis er *Mycoplasma bovis* klart den bakterie, der oftest er isoleret fra kalve med otitis media (Walz, et al., 1997). Ved otitis media begynder de kliniske tegn typisk, når kalvene er 2-5 uger gamle, og de første kliniske tegn er karakteriseret ved hængende ører og øget tåreflåd. Lammelser i ansigtsmuskulaturen (Facial paralyse) er også rapporteret (Walz, et al., 1997; Nicholas and Ayling, 2003; Maunsell, 2007).



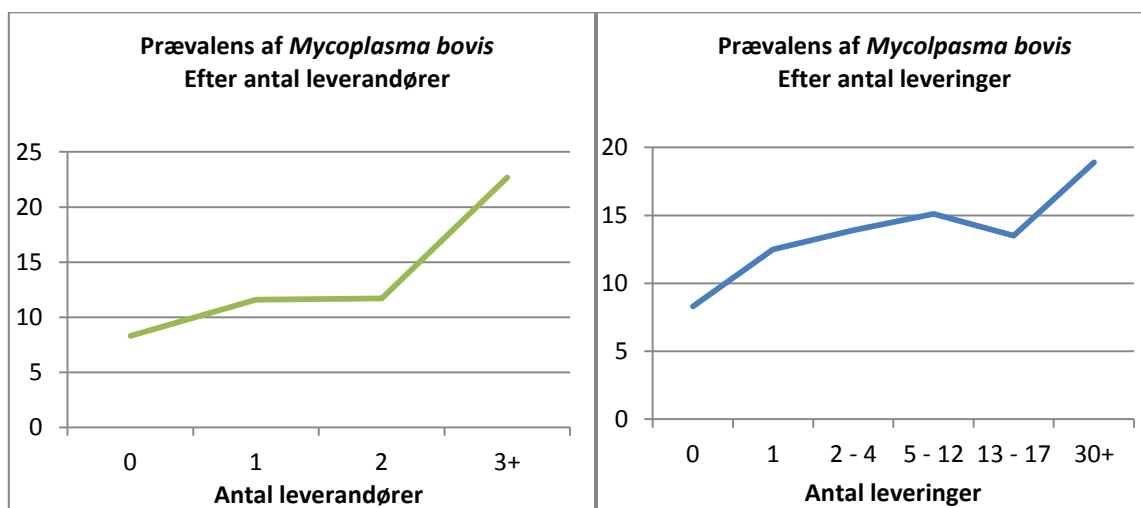
Morbiditet og mortalitet varierer meget mellem besætninger, årstider og opstaldningsforhold, men ved et studie i 1997 er der lavet en opgørelse over mortaliteten hos kalve med kliniske otitis media, og her er mortaliteten estimeret til 50% (Walz, et al., 1997).

## 2.4 Risikofaktorer

### 2.4.1 Flytninger og indkøb af dyr

Indkøb af dyr og flytning af dyr mellem besætninger, udgør muligvis en af de vigtigste risikofaktorer til introduktion af *Mycoplasma bovis* i en usmittet besætning (Pfutzner, 1990; Nicholas, 2011). Flytninger udløser stress hos både nye dyr, såvel som de dyr der allerede er i besætningen. Studier peger på, at nyindkøbte subklinisk inficerede dyr udskiller store mængder *Mycoplasma bovis* i op til flere dage efter flytning til den nye besætning (Thomas, et al., 1981).

Figur 1, som stammer fra en opgørelse lavet af Jørgen Nielsen fra Videncentret for Landbrug, Kvæg, i marts 2014 (se bilag 1), illustrerer at der muligvis er en sammenhæng mellem flytninger og indkøb, og forekomst af *Mycoplasma bovis* i malkekvægsbesætninger. Figur 1 viser, at selvom en besætningen kun har én leverandør, kan der godt have været én levering hver uge hele året. En levering er en flytning af et antal dyr på samme dag, fra ét CHR-nummer til ét andet CHR-nummer. Figur 1 medtager altså også flytninger i besætninger, der har dyr på forskellige ejendomme, hvor der typisk vil ske flytninger af kvier, kalve og/eller goldkøer et par gange om måneden. Figur 1 viser, at der er der en mulig tendens til at besætninger med tre eller flere leverandører og 30 eller flere flytninger per år har en højere prævalens af *Mycoplasma bovis* end besætninger med færre end tre leverandører og mindre end 30 flytninger per år.



Figur 1. Prævalens af *Mycoplasma bovis*-antistofpositive danske malkekvægsbesætninger versus antal leverandører (venstre graf) og antal leverancer (højre graf) i perioden 01.03.2013 til 01.03.2014 (kilde: Jørgen Nielsen, 2014, bilag 2)

I litteraturen er der beskrivelser af besætninger, ikke har indkøbt dyr i mange år, og som så pludselig oplever udbrud med *Mycoplasma bovis* (Nicholas, 2011). Sammenblandinger af nye dyr fra forskellige besætninger kan altså ikke være den eneste årsag til introduktion af *Mycoplasma bovis*. Overførsel med

sæd kan være en mulighed (Pfutzner and Schimmel, 1985), men der er også mulighed for at *Mycoplasma bovis* bakterieren er til stede i de fleste besætninger og at stressfyldte episoder kan få den til at gå i udbrud. En opgørelse over de besætninger i Danmark med de laveste antistofmålinger i tankmælken viser, at der ikke er kendskab til én eneste besætning i Danmark med en værdi helt nede på 0 ODC%. Den laveste antistofmåling ved tankmælksmålinger på alle danske besætninger i marts 2014 var på 0,27 ODC% (se Bilag 2).

## 2.4.2 Besætningsstørrelse

I litteraturen nævnes besætningsstørrelse som en af de vigtigste risikofaktorer. Ifølge Maunsell og Donovans opgørelse i 2009 er (stor) besætningsstørrelse den bedst testede risikofaktor, når det kommer til mastitis forårsaget af *Mycoplasma bovis*.

Tabel 1 viser sammenhængen mellem besætningsstørrelse og risikoen for positivt antistofsvær på tankmælksprøver for danske besætninger (se bilag 1). Ud fra Tabel 1 ses det, at der ikke umildbart er en sammenhæng mellem besætningsstørrelse og prævalens af *Mycoplasma bovis*. Besætninger med flere end 300 køer har den højeste prævalens på 18,3%, men i besætninger med mellem 75 og 100 køer er prævalensen også højere end gennemsnittet, nemlig 14,5%.

Tabel 1 oversigt over fordeling af prævalens efter besætningsstørrelse (kilde: Jørgen Nielsen, 2014, bilag 1)

Interval for antal årskøer (min - max)	Antal CHR-numre	Antal positive	Prævalens (i %)
0-50	400	49	12,3
50-75	373	36	9,7
75-100	289	42	14,5
100-125	354	34	9,6
125-150	540	43	8,0
150-175	323	36	11,1
175-200	259	27	10,4
200-225	213	31	14,6
225-299	333	36	10,8
300-	334	61	18,3
<b>I alt</b>	<b>3.418</b>	<b>395</b>	<b>11,6</b>

### 2.4.3 Race

Sammenhængen mellem de forskellige danske malkekvægsracer og prævalensen af *Mycoplasma bovis*, ikke tidligere beskrevet, men ved undersøgelsen af Jørgen Nielsen i 2014 blev det vist, at der er en signifikant højere prævalens hos Jersey og blandingsbesætninger, sammenlignet med besætninger med renracet stor Dansk Holstein eller Rød Dansk Malke race. Årsagerne hertil kan være mange, og det kunne være spændende at undersøge nærmere, hvorfor gruppen af øvrige har så høj en prævalens. Der kunne muligvis være tale om en stor andel af krydsninger, men det var muligvis mere passende at kalde gruppen "blandede besætninger", da racegruppen øvrige kan indeholde en stor andel af besætninger, som har manglende registreringer omkring reproduktion og avl, og derfor ender i gruppen med øvrige.

Race gruppe	Antal CHR-numre	Antal positive	Prævalens (i %)
Min. 90% Jersey	332	57	17,2
Min. 90% Stor Race	2.205	204	9,3
Øvrig (Krydsninger osv.)	881	134	15,2
<b>I alt</b>	<b>3.418</b>	<b>395</b>	<b>11,6</b>

Tabel 2 fordeling efter race hos køerne (kilde: Jørgen Nielsen, 2014, bilag 1)

### 2.4.4 Økologiske besætninger

Forskellen mellem økologiske besætninger og konventionelle besætninger blev også undersøgt ved opgørelsen i marts og som det fremgår af Tabel 3, er der ingen signifikant forskel mellem andel af antistofpositive økologiske eller konventionelle besætninger.

Økologi	Antal CHR-numre	Antal positive	Prævalens (i %)
Nej	3.074	348	11,3
Ja	341	46	13,5
<b>I alt</b>	<b>3.415</b>	<b>394</b>	<b>11,5</b>

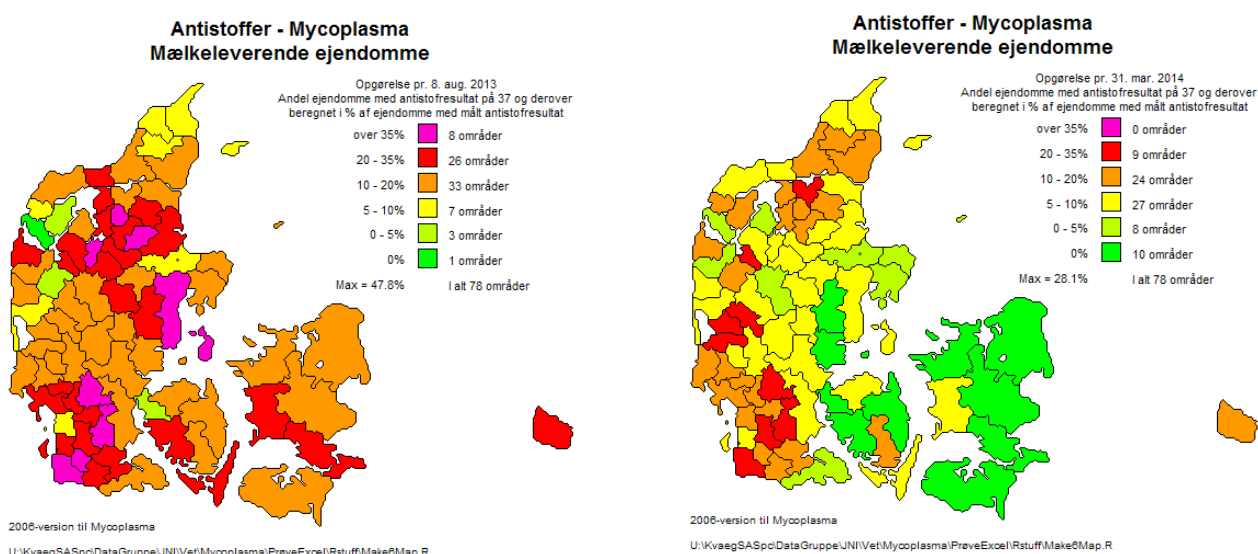
(Ikke signifikant forskel, når vi bruger Fisher's exact test.)

Tabel 3 Fordeling af *Mycoplasma bovis* versus driftsform økologisk eller ej (kilde: Jørgen Nielsen, 2014, bilag 1)

## 2.5 Geografisk fordeling

Antistoffer mod *Mycoplasma bovis* over grænseværdien er fundet hos besætninger fordelt over hele Danmark ved to testrunder. I juni 2013 og februar 2014 blev der udtaget tankmælksprøver fra alle danske besætninger. Disse er anvendt til fremstilling af de to nedenstående kort, der viser fordelingen af seroprævalensen af *Mycoplasma bovis* i Danmark. Jørgen Nielsen, Videncentret for Landbrug, Kvæg har inddelt CHR-numrene i 78 geografiske områder, hver med mellem 15 og 78 CHR-numre. For hvert af disse områder, er prævalens udregnet og indtegnet danmarkskortet, hvor farven er afhængig af områdets prævalens (Figur 2).

På de to kort ses det, at der er sket en forandring i seroprævalensen fra opgørelsen den 8. august 2013 til den 21. marts 2014. Der har ifølge opgørelsen illustreret med danmarkskortene på Figur 2 været et fald i seroprævalensen mellem de to perioder, specielt i den østlige del af Danmark ser der ud til at have været et fald i andelen af besætninger, der er positive på antistofmålinger af tankmælken.



Figur 2 Geografisk fordeling af antistoffer mod *Mycoplasma bovis* målt i tankmælk fra danske besætninger pr. 1. august 2013 og 31. marts 2014 (kilde: Jørgen Nielsen, 2014, bilag 2)

## 2.6 Sammenhæng mellem *Mycoplasma bovis* og tilvækst

I 1991 startede Donovan et. al. en omfattende undersøgelse af 3300 kviekalves tilvækst og registrerede alle tegn på sygdom gennem opvæksten fra fødsel og indtil 14 måneders alderen. Formålet med undersøgelsen var overordnet at se nærmere på, hvilken indvirkning forskellige lidelser har på kalves tilvækst. Studiet blev publiceret i 1998 og viste, at kalve der igennem de første 6 levemåneder er udsat for sygdom som lungebetændelse, diarre eller septikæmi alle har en signifikant lavere tilvækst og højde end kalve, der ikke har haft disse lidelser (Donovan et al., 1998). Det var ved dette studie ikke muligt at finde en direkte signifikant sammenhæng mellem kalve med *Mycoplasma bovis* forårsagede lungebetændelser og nedsat tilvækst.

I 1997 lavede Walz et. Al et studie af 5 kalve med otitis media forårsaget af *Mycoplasma bovis*. Kalvene med otitis media havde en lav tilvækst og blev afmagrede sammenlignet med andre kalve på samme alder (Walz, et al., 1997).

I et studie fra 2001 så Stipkovits, et al. at kalve med pneumoni forårsaget af blandingsinfektioner med *Pasturella multocida* og *Mycoplasma bovis* havde en nedsat tilvækst sammenlignet med raske kalve. Der er dog fortsat stor usikkerhed om *Mycoplasma bovis* rolle som primær patogen i forbindelse med pneumoni, samt hvilke test der kan bidrage til et bedre kendskab til enkeltdyrs smittestatus (Stipkovits et al., 2001).

I samme år undersøgte Tschopp et al. 415 kalve fra 13 forskellige schweiziske besætninger. I studiet blev der udtaget to gentagende blodprøver fra alle dyr, som blev undersøgt for antistoffer mod *Mycoplasma bovis* med ELISA. Dyrene blev herefter inddelt i følgende tre grupper; 1) seropositive på begge blodprøver (over 80 ODC%), 2) seronegative på begge blodprøver (under 80 ODC%) og 3) en gruppe af øvrige dyr som havde serokonverteret i løbet af projektet. Ved sammenligning mellem grupperne blev der kun sammenlignet tilvækst mellem gruppen af seropositive dyr og seronegative dyr. Dette studie viste at dyr med positive antistofmålinger havde en signifikant lavere tilvækst end dyr med negative antistofmålinger. Studiet viste, at de seropositive dyr havde en 7,6% lavere tilvækst end de seronegative dyr (Tschopp, et al., 2001).

Det seneste studie som har undersøgt sammenhængen mellem tilvækst hos ungdyr og *Mycoplasma bovis* er et studie af Hanzlicek et al. fra 2011. Undersøgelsen blev lavet på 6000 kalve i Kansas, USA. Der blev udtaget blod til serologisk dyrkning, næsesvaber til bakteriologisk dyrkning og kalvene blev alle vejet på dag 0, 10 og 42 efter fødsel. Blodprøverne blev analyseret for antistoffer mod *Mycoplasma bovis* ved hjælp af ELISA kit (Bio-X) og et resultat på mere end 13,71 ODC% blev betragtet som positivt. Konklusionen på

studiet var, at dyr der serokonverterede mellem dag 0 og 42 havde en signifikant ( $p=0,04$ ) lavere tilvækst end kalve, der ikke serokonverterede. Kalvene der ikke serokonketerede i perioden havde en gennemsnitslig daglig tilvækst på 490 g pr. dag gennem studie perioden, mens kalve der serokonverterede havde en gennemsnitslig daglig tilvækst på 350 g pr. dag. Studiet fandt foruden disse resultater ingen signifikante forskelle mellem antistof status og tilvækst (Hanzlicek, et al., 2011).

### 3 Materialer og metoder

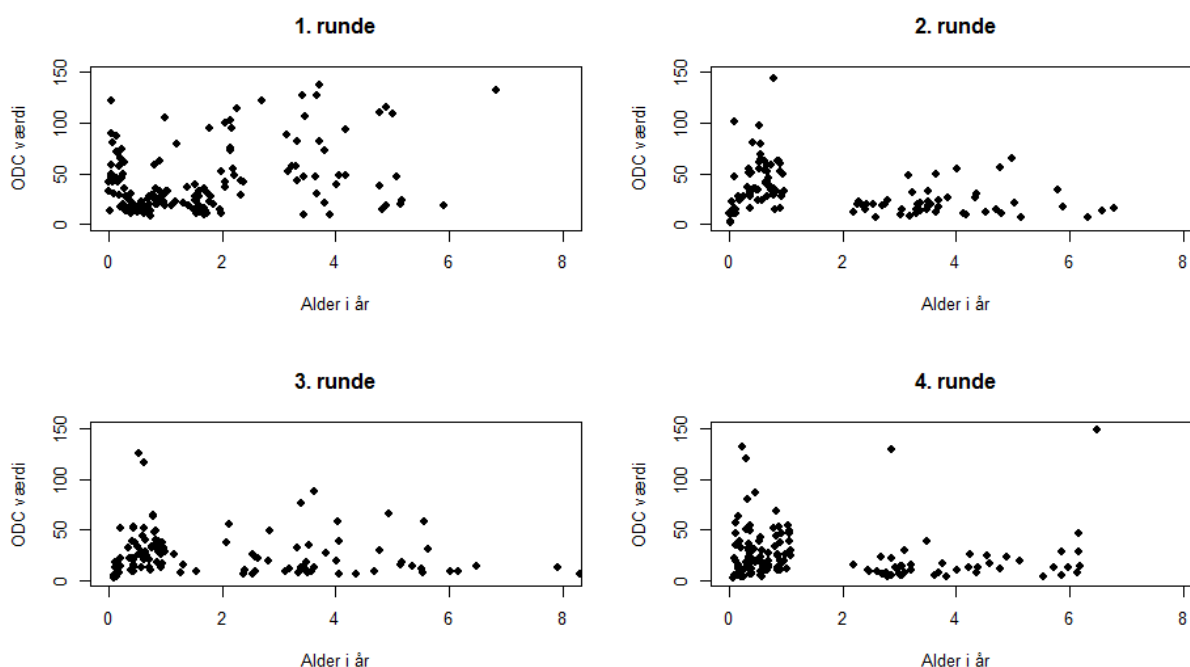
Datagrundlaget til denne del af opgaven stammer fra egne data indsamlet ved 2 besøg i seks projektbesætninger, data fra kvægdatabase omhandlende behandlinger og sygdomsudvikling i de medvirkende besætninger, samt data som er indsamlet som en del af et stort projektsamarbejde om *Mycoplasma bovis*. Et projektsamarbejde mellem Videncentret for Landbrug, Kvæg, DTU og Institut for Produktionsdyr og Heste, Københavns Universitet.

Projektets problemformulering vil blive besvaret ved hjælp af deskriptive analyser af indsamlede data, omfattende blodprøver til antistofanalyser med ELISA, højdemål, brystmål, kliniske symptomer på sygdom og huldvurderinger, desuden er der indhentet en stor mængde data fra den danske kvægdatabase. De medvirkende besætninger er igennem en spørgeskemaundersøgelse blevet udspurgt om rutiner og management, for på den måde at forsøge at kortlægge mulige smitteveje og ligheder mellem smittede besætningerne. De besætningsansvarlige blev endvidere bedt om at uddybe deres oplevelser af udbruddet med *Mycoplasma bovis*.



### 3.1 Projektbesætninger

Projektbesætningerne blev udvalgt på historik om udbrud af *Mycoplasma bovis* hos ungdyr eller på baggrund af informationer om tidligere høje antistofmålinger hos ungdyr i de 4 blodprøverunder, der blev gennemført i det overordnede forskningssamarbejdsprojekt, som dette speciale var tilknyttet. Besætningen blev medtaget, hvis der var et eller flere ungdyr med antistof målinger over 40, samt ved hjælp af opgørelser over antistofmålinger i besætningerne. Figur 3 viser en grafisk opgørelse over antistofmålinger i en af de medvirkende projektbesætninger (besætning D). En enkelt besætning (besætning A) blev medtaget i projektet uden forudgående antistofmålinger, men på grundlag af historik om sygdom hos kalve, der var bekræftet at være sandsynligt forårsaget af *Mycoplasma bovis*?



**Figur 3 Grafisk opgørelse over antistofmålinger for besætning D, antistofmålingerne er opgjort på baggrund af blodprøver og mælkeprøver med ca. 3 måneders mellemrum.**

Foruden reaktion på *Mycoplasma bovis* hos ungdyrene var det et krav til projektbesætningerne, at der som minimum skulle være 100 ungdyr i alderen 0 dage – 12 måneder for at opnå den ønskede stikprøvestørrelse. Da stikprøvestørrelsen er af afgørende betydning for den videnskabelige undersøgelses evidens, var målsætningen at udtage i alt 1200 blodprøver fra 600 dyr. For at kunne udføre højdemålingerne var det et krav til projektbesætningerne at ungdyr over 3 måneder stod opstaldet på fast underlag. Af økonomiske årsager udvalgte vi kun besætninger, der havde næste planlagte besøg i februar

eller marts, således at besøgene kunne lægges sammen med allerede planlagte besøg i det overordnede projekt.

Tabel 4 er en opgørelse over informationerne om de 6 projektbesætninger.

**Tabel 4 Demografiske opgørelser over de seks projektbesætninger.**

	HERD					
	A	B	C	D	E	F
<b><i>MycB</i> Antistof i tankmælk (ODC%) *</b>	46,9	29,6	59,6	23,5	25,7	26,3
<b><i>MycB</i> PCR niveau på tankmælk**</b>	28-40	29-40	40***	31-40	40	29-40
<b>Produktionstype</b>	konventionel					
<b>% Holstein</b>	82,5	89,9	86,2	96,5	98,9	98,1
<b>% andet (krydsning)</b>	17,5	9,1	13,8	3,5	1,1	1,9
<b>Ydelse (kg. EKM/årsko)</b>	10.471	8.173	8.579	10.053	10.150	11.040
<b>Årskøer (stk.)</b>	570	251	251	377	276	232
<b>Antal kvier (stk.)</b>	644	181	260	342	305	258
<b>Antal tyre (stk.)</b>	26	84	21	23	12	19
<b>Dødelighed**</b>						
- <b>Dødfødte (%)</b>	7,3	11,3	6,8	3,9	5,8	9,1
- <b>Kalve 0-180d (%)</b>	6,5	18,6	17,9	15,6	4,6	6,2
- <b>Køer (%)</b>	10,9	4,4	14,7	36,2	6,9	9,5
<b>Salmonellastatus</b>	2	2	1	1	1	1

*Kilde:* data fra kvægdatabasen, samt udskrifterne "nøgletal" og "velfærdsnøgletal, økologi" d. 24/4-2014

\*ved opgørelse en måling opgjort 05.03.14

\*\*på opgørelser fra det seneste halve år (01.01.14 til 01.07.14)

\*\*\* reaktioner på tankmælks polymerase chain reaction PCR august 2012 til december 2013.

\*\*\*opgørelser fra kvægdatabasen i perioden: 01-04-13 til 31-03-14

### 3.1 Serologi

I løbet af dataindsamlingsperioden blev de seks besætninger besøgt to gange. Ved det første besøg blev der indsamlet blodprøver fra 100 tilfældige dyr, fordelt på 25 dyr i de 4 aldersgrupperne; 0-3 måneder, 3-6 måneder, 6-9 måneder og 9-12 måneder. I besætning E betød det, at vi måtte udtage prøver fra samtlige 98 ungdyr i aldersgruppen 0-12 måneder. Ved det andet besøg forsøgte vi at finde de samme dyr igen, sådan at der ideelt set var to målinger fra hvert individ med 2-3 måneders mellemrum.

På de små kalve (0-3 måneder) blev blodprøven udtaget fra halsvenen (vena jugularis), kalvene blev efterfølgende målt med centimetermål lige bag ved forbenene. På de ældre kvier blev der målt krydsmål ved hjælp af en lasermåler, blodprøverne fra de ældre kvier blev udtaget fra halevenen.

De specifikke *Mycoplasma bovis* antistoffer (immunglobuliner) som serum og mælk indeholder, hvis et dyr har været udsat for smitte med *Mycoplasma bovis*, kan estimeres ved hjælp af serologiske test. Alle serologiske test blev i dette projekt udført ved hjælp af et kommercielt *Mycoplasma bovis* antistof ELISA kit (Bio-X) udført af Eurofins Steins Laboratorium i Holstebro. Til dette projekt er anvendt ELISA test på serum fra blodprøver. Blodprøverne blev udtaget af dyrlæge Ulla Torpe, som er ansat af Videncentret for Landbrug, Kvæg. Ulla udtog desuden svaber fra nogle af kalvene til dyrkning for bakterier på DTU, veterinær instituttet.

I den specifikke *Mycoplasma bovis* antistof-ELISA, vil *Mycoplasma bovis* immunoglobulinerne binde sig til en farveløs bakteriel kombination af antigen og enzymer som ved katalysering vil omdanne den farveløse prøve til et blåpigmenteret komponent. Det er intensiteten af den blåpigmenterede farve, som er proportional med titeren for specifikke antistoffer i testmaterialet (Ginter, 2012).

Resultatet opgøres som andelen af baggrundkorrigeret optisk densitet (OCD%) og udregnes ved hjælp af en negativ testprøve og divideret med differencen mellem en positiv og negativ testprøve optiske densitet i kendt positiv og negativ prøve.

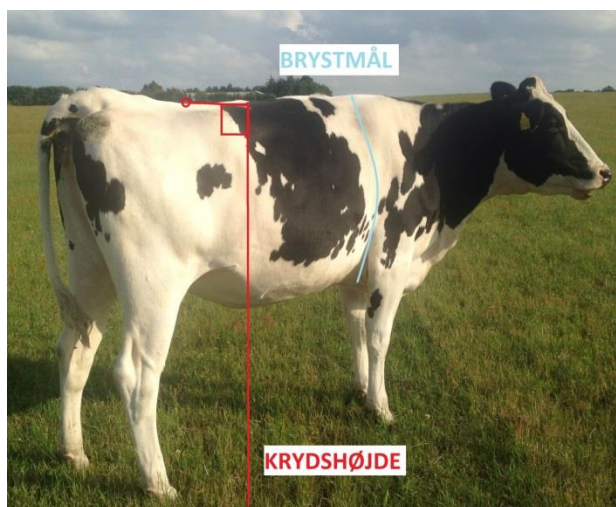
$$ODC\% = \frac{OD \text{ i prøven} - OD \text{ i negativ serum}}{OD \text{ i positiv serum} - OD \text{ i negativ serum}} \times 100\%$$

Begrænsningerne ved ELISA er, at det i den tidlige fase af infektionen med *Mycoplasma bovis* ikke vil være muligt at detektere antistofferne, da de endnu ikke er dannet. Et faktum der vil betyde, at dyret tester negativt til trods for at dyret er inficeret med *Mycoplasma bovis*. I dette projekt anvendes gentagne antistofmålinger for at kunne sige noget om enkeltdyrs immunreaktion på *Mycoplasma bovis*. Til påvisning af *Mycoplasma bovis* kan også anvendes bakteriologiske dyrkninger og Polymerase Chain Reaction (PCR). Der er usikkerhed forbundet med serologiske- såvel som mikrobiologiske- og bakterielle målinger. Forskellene mellem de tilgængelige metoder er diskuteret af Nicholas (2011), og her blev det fundet, at serologiske undersøgelser er den billigste og mest omkostningseffektive metode til at følge infektioner med *Mycoplasma bovis* på besætningsniveau (Nicholas, 2011).

### 3.3 Tilvækstmålinger

#### 3.3.1 Brystmål

Brystomfang er i mange år blevet anvendt som estimat for kalves vægt. I dette speciale er anvendt et centimetermålebånd og omkredsen er derfor angivet i centimeter. Der måles rundt om brystet lige bagved forbenene. Centimeter båndet strammes ikke, men skal ligge sig omkring dyret så hårene ligger sig ned. Der blev anvendt brystomfang på alle dyr, der ikke stod opstaldet på et jævnt underlag. På billedet Figur 4 er det illustreret, hvor på dyret målingen er foretaget.



Figur 4. Illustration af hvordan der er målt henholdsvis brystmål og krydshøjde. Bemærk: ingen kvier i projektet blev målt på græs (eget billede)

#### 3.3.2 Krydshøjde

Til estimering af vægt hos alle kvier over 3 måneder er der i dette projekt anvendt en lasermåler til at måle kviernes højde lige mellem hofterne ved overgangen fra lænd til korsben. Foruden lasermåler kan man anvende et stangmålingsinstrument til at måle krydshøjde. Lasermåleren blev udviklet ved et kvægfygdryrlægekursus i 2000. Med lasermåleren behøver man ikke røre ved dyrene, man skal bare kunne komme indenfor 1-2 meters afstand fra dem. Krydshøjden er valgt frem for skulderhøjden, da det er nemmere at måle denne, når kvierne står i fangegitre. Derudover er det muligt at måle krydshøjden, uden at kvierne er fikserende, blot de står stille i 30 sek. Dyret skal stå på et plant underlag, hvile på alle fire ben og holde hovedet rejst.

Lasermåleren består af en stang med centimetermål på og et laserlys, der sidder fast på stangen men er forskydeligt. Stangen placeres i 1-2 meters afstand fra dyret og ved hjælp af et lille vaterpas sikres det at

stangen står lodret. Herefter justeres laserlyset indtil det rammer målepunktet på rygsøjlen, højden kan herefter aflæses direkte på lasermåleren. På figur 4 og 5 er illustreret, hvor på dyret krydshøjden blev målt.



Figur 5 Billedet til venstre illustrer, hvor krydshøjde måles ved hjælp af lasermåler og billedet til højre viser hvorledes lasermålingerne blev udført i besætningerne (egne billeder)

### 3.3.3 Huldvurderinger

Der blev vurderet huld på de medvirkende dyr i 2. testrunde. Huldvurderingerne blev udført ved palpation og visuel vurdering af hvert enkelt ungdyr. Huldvurderingssystemet er udviklet af Jim Ferguson, Pennsylvania State University (bilag 3). Skalaen går fra 1 til 5 og er inddelt i kvarte point, huldscore 1 svarer til et meget afmagret dyr, mens et ekstremt overvægtigt dyr med et tykt fedtlag over hele kroppen vil opnå en huldvurdering på 5.

### 3.3.4 Tilvækstberegninger

I 2002 udarbejdede Videncentret for Landbrug, Kvæg, en rapport på grundlag af projektet "styring af kvieproduktionen". Under projektet blev der udarbejdet standardkurver for kviers tilvækst, og disse er anvendt i dette speciale.

Passende tilvækst hos ungdyr er af afgørende betydning for mælkekvægsbesætninger, såvel som for opfednings- og kødkvægsbesætninger. Ungdyrene er grundlaget for den næste generation af produktionsdyr for kvierens vedkommende, og for tyrene er god tilvækst altafgørende for produktionsresultaterne i opfedningsbesætninger (Fisker, et al., 2003).

Forskning har vist, at fodring i kalveperioden har direkte effekt på den senere mælkeydelse (Fisker, et al., 2003). En høj tilvækst i kalveperioden resulterer i en højere mælkeydelse i 1. laktation. Det endvidere vigtigt, at tilpasse kvierens tilvækst i den kritiske periode - perioden fra efter fravæning til kønsmodenhed, ved ca. 12 måneders alderen. I denne periode udvikles yvervævet og optimal tilvækst er derfor af betydning for at kvien udvikler sig som hun skal (Fisker, et al., 2003). Der er dog i disse år en del uvished og debat blandt forskere, da der ikke er enighed om, hvordan man definerer optimal tilvækst i den kritiske periode.

Det videnskabelige grundlag for analyser af tilvækst i denne opgave stammer fra to forskellige rapporter fra Videncentret for Landbrug, Kvæg det drejer sig om henholdsvis "*Vurdering af kviers vækst*" som er udformet i 2003 af Irene Fisker et al. og "*Kviers tilvækst kan stadig forbedres*" (KvægInfo – nr. 1761) fra 2007. I rapporten fra 2007 er resultatet af 8000 kviers vægtændringer over tid undersøgt. Den daglige tilvækst for SDM kvier på studielandbruget var 650 g pr. dag fra 2001 til 2005. Ifølge Videncentret for Landbrug, Kvæg bør målet for den daglige tilvækst dog, set ud fra et økonomisk synspunkt, ligge betydelig højere nemlig på 800 g pr. dag for Holsteinkvier, for at opnå en lavere kælvningsalder uden negative konsekvenser for ydelse og reproduktion ([www.landbrugsinfo.dk/kvaeg](http://www.landbrugsinfo.dk/kvaeg)).

Normerne for kviers tilvækst vil formentlig ændre sig over tid. De seneste års intensivisering af fodereffektivitet er en af årsagerne hertil, forbedret fodring og avl har formodentlig medført at kviers tilvækst har forandret siden den første rapport blev udformet i 2003. Som supplement til de to rapporter er der derfor også anvendt opgørelser fra bogen "*kvægets fodring*" (Martinussen, et al., 2010).

Tabel 3.2 på s. 81 i bogen er anvendt til at udforme formlerne, som er brugt til at omregning krydshøjde og brystmål til en estimeret vægt og igen til en estimeret daglig tilvækst (Fisker, et al., 2003; Martinussen, et al., 2010). Formlerne blev udformet ved hjælp af statistik programmet R og en gennemgang af arbejdet med at udforme formlerne er at finde i bilag 4.

Vægten kan estimeres ud fra brystomfang ved hjælp af følgende tredjegradspolynomie for kvier af racen dansk Holstein.

$$\text{Vægt}_{\text{bryst}} = 8.2 + -0.3465 * \text{bryst} + 0.006714 * \text{bryst} * \text{bryst} + 0.00004843$$

$$* \text{bryst} * \text{bryst} * \text{bryst}$$

Hvor *bryst* = brystomfang i centimeter.

Det er også muligt, at estimere vægten ud fra krydshøjden ved hjælp af følgende fjerdegradspolynomie for kvier af racen dansk Holstein (se dannelse af formel i bilag 4).

$$\text{Vægt}_{\text{højde}} = 16340 + -585.1 * \text{høj} + 7.846 * \text{høj} * \text{høj} + -0.04671$$

$$* \text{høj} * \text{høj} * \text{høj} + 0.0001054 * \text{høj} * \text{høj} * \text{høj} * \text{høj}$$

Hvor *høj* = krydshøjde i centimeter.

De to formler er, som nævnt kun for ungdyr af Holsteinracen, da den estimerede vægt afhænger af racen (Fisker, et al., 2003). Der er derfor kun kvier af Holsteinracen med i beregninger af vægt og tilvækst.

Den estimerede vægt blev for hver af kalvene omregnet til tilvækst pr. dag fra besøg 1 til 2. besøg. Beregning af daglig tilvækst er den meste anvendte, når det kommer til at kunne udtale sig om korrekt fodring og pasning af ungdyr af malkekvæg. Tilvækst vil desuden blive påvirket, hvis der er sygdom i form af parasitter, virus eller bakterielle infektioner hos kalvene og ungdyr (Fisker, et al., 2003).

Endelig blev alle dyr inddelt i fire grupper baseret på deres antistofmålinger: 1) dyr med testnegative antistofmålinger ved begge besøgsrunder, 2) dyr der faldt i niveau fra testpositiv til testnegativ, 3) dyr der steg i niveau fra testnegativ til testpositiv og, 4) dyr der var testpositive ved begge målinger.

### 3.3.5 Statistiske procedurer

I dette projekt blev Microsoft Excel anvendt til databehandling. Til fremstilling af grafiske optegnelser og multivariable analyser blev anvendt R og R-Studio x64 vol.3.0.2. Til beregninger af vægtede kappa med 2x2 tabeller blev anvendt EpiCalc 2000 version 9.1, kappa-værdien blev anvendt til at sammenligne huldvurderinger udført af forskellige personer.

Til sammenligning af tilvækstmålinger i de fire antistofgrupper blev udviklet en multivariabel variansanalysemodel ved hjælp af baglæns, stepvis fjernelse af ikke-signifikante variable. Der blev tjekket

for interaktioner mellem de signifikante hovedeffekter i modellen, og der blev forsøgt med en model, hvor besætning indgik som tilfældig effekt. Den endelige model blev valgt baseret på et Akaikes Informationskriterium (AIC) tættest på 0. Alle signifikansberegninger er udført på 95% niveau.

### 3.3.6 Testning af tilvækstmålingernes gentagelighed

For at undersøge hvorvidt det var muligt at gentage målingerne, blev der benyttet en 7. besætning (besætning G), hvori usikkerheden på de gentagne målinger af krydshøjde, brystmål og huld blev testet. Målingerne blev lavet på i alt 30 dyr, 15 dyr blev målt med lasermåleren (krydshøjde) og 15 kalve fik målt omkredsen af brystet lige bag forbenene med centimetermål (brystmål). Alle målinger blev gentaget efter 4 timers pause.

Resultaterne er opgjort på bilag 5 og fremlægges i dette afsnit, da disse resultater ikke var et formål med det overordnede studie. Resultatet viser en afvigelse på  $[-1,3;3]$  for målingerne af krydshøjde med lasermåler og for målingerne af brystmål var der en afvigelse på  $[-2;2]$ . Evnen til at gentage huldvurderinger blev også analyseret ved hjælp af vægtet kappa. Resultatet blev en vægtet Kappa værdi på 0,53, kappa er et udtryk for enigheden mellem to gentagende målinger, samt evnen til at gentage målinger således at de ligger tæt på den bedste rette linje. Den opnåede Kappa-værdi illustrer, at det var muligt at gentage målingen præcist i mere end halvdelen af tilfældene.

Undersøgelserne blev lavet i en besætning der ved tankmælksmålingen den 16. maj 2014 blev testet som værende blandt de 10 besætninger i Danmark med den laveste ELISA antistofmåling på tankmælk. Besætningen blev også anvendt til at afprøve spørgeskemaet og forberede interviewene.



## 4 Resultater

### 4.1 Generelt om stikprøven

Opgørelse de medvirkende besætninger

	HERD					
	A	B	C	D	E	F
Produktionstype			Konventionelle			
Årskøer (stk.)	570	251	251	377	276	232
Antal kvier (stk.)	644	181	260	342	305	258
Antal tyre (stk.)	26	84	21	23	12	19
<b>Antal kvier i projektet</b>						
- 0-3mdr.*	0	24	20	24	24	22
- 3-6mdr.*	18	18	24	32	24	11
- 6-9mdr.*	21	15	19	18	23	16
- 9-12mdr.*	18	19	27	18	27	29
- 12-15 mdr.*	6	5	1	7	0	0
Antal kvier udgået (stk.)	33	0	4	1	2	4
<b>IALT</b>	63	81	91	99	98	78
<b>Alder (dage) 1. måling</b>						
- Min.	92	9	1	26	17	4
- Gns.	244,2	177,8	194,4	183,2	192,6	191,0
- Max	426	361	362	398	359	356
Gns. antistofværdi** (ODC%)	43,1	40,7	29,5	31,7	34,1	37,9
Gns. huld	3,0	2,77	2,75	3,23	3,18	3,02
Visit 1	05.02.14	05.03.14	03.03.14	10.03.14	20.02.14	21.02.14
Visit 2	27.05.14	14.05.14	15.05.14	20.05.14	19.05.14	22.04.14
Tid fra 1. til 2. besøg (dage)	111	70	73	71	88	60

*Kilde:* data fra kvægdatabase d. 24.06.14, samt egne data og analyser i R.

\*Alder v. 1. blodprøveudtagning

\*\* for dyr i dette projekt

Målsætningen var at opnå en stikprøvestørrelse på 1200 prøver fra 600 dyr fordelt på de seks deltagende besætninger. Stikprøvestørrelsen nåede op på i alt 442 dyr, bl.a. fordi en del dyr måtte frasorteres i løbet af projekt perioden. Årsagerne hertil var blandt andet død, salg, flytning, ikke mulig at finde ved 2. besøg, manglende blodprøve ved 1. besøg, manglende vægtmåling, muligvis fejlregistrering af dyrets ckrnr ved blodprøveudtagning og ulæselige notater. Tre kalve udgik endvidere fra den statistiske analyse, fordi den

beregnete vægt eller estimerede tilvækst tydeligvis var fejlestimeret. En oversigt over udgåede dyr og årsager er at finde i bilag 6.

I forbindelse med den deskriptive analyse af datasættet er der blevet fremstillet en lang række grafer til visualisering af datasættet. Derudover blev der gennemført flere forskellige statistiske analyser og scenarier for at undersøge, om det var muligt at påvise en signifikant sammenhæng mellem antistofniveauer og tilvækst. Disse databehandlinger blev udført i statistikprogrammet R-Studio, koderne blev udarbejdet i samarbejde med Liza Rosenbaum og Jørgen Nielsen, Special konsulent hos Videncentret for Landbrug, Kvæg. På graferne er dyrenes udvikling i højde, brystomfang, estimeret vægt, tilvækst og registrerede antistofniveauer plottet som funktion af alder i dage.

## 4.2 Brystmålinger

Tabel 5 opgørelse over alle brystmålinger i centimeter (cm.)

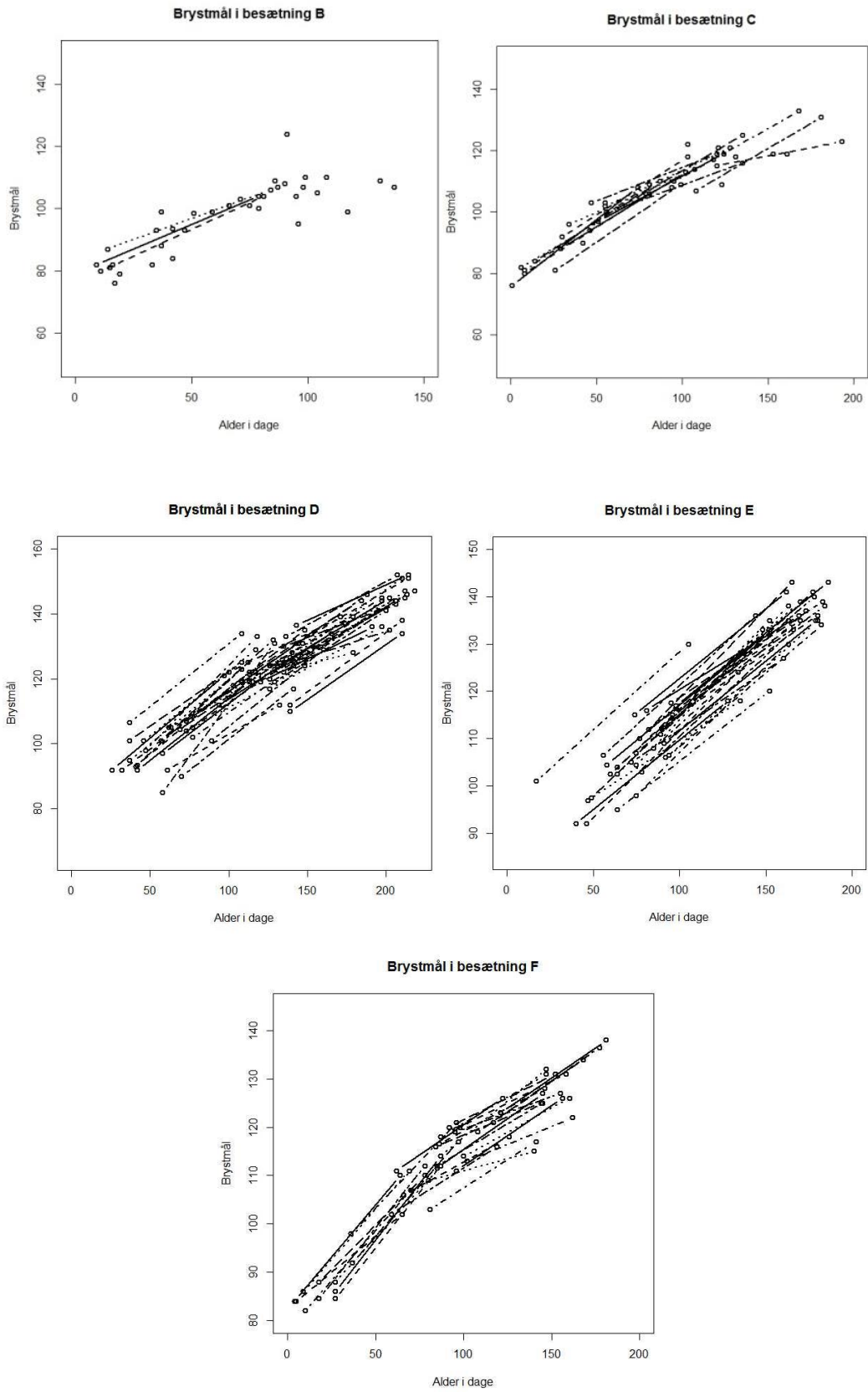
### Brystmålinger

Min.	1 <sup>st</sup> Quartile	Median	Gennemsnit	3 <sup>rd</sup> Quartile	Max.
96	117,5	126	124,4	132,5	147,5

I alt 432 målinger

Tabel 5 viser at brystmålingerne fordeler sig mellem 96 cm. og 147,5 cm. Den gennemsnitslige omkreds rundt om brystet på de målte kalve var 124,4 cm, der blev i alt lavet 432 brystmålinger.

Brystmålingerne er endvidere opgjort grafisk for 5 af besætningerne i figur 5. I besætning A var det ikke muligt at udføre brystmålene og der er derfor ingen graf. Ved sammenligning af de 5 grafer ses der som forventet et øget brystmål ved stigende alder. I besætning B blev der lavet en del brystmålinger ved det første besøg da mange af de små kalve gik i dybstrøelse. Ved anden runde var de flyttet til arealer med spalter og ingen/ringe fikseringsmuligheder, hvorfor der kun er udført brystmåling på 3 kalve ved andet besøg, de resterende blev vægtestimeret vha. højdemåling. Besætning C, D og E har rette stigende linjer, mens besætning F har et knæk i kurven ved dag 60.



Figur 6 Grafer for sammenhæng mellem brystmål og alder i dage for 5 af projektbesætningerne.

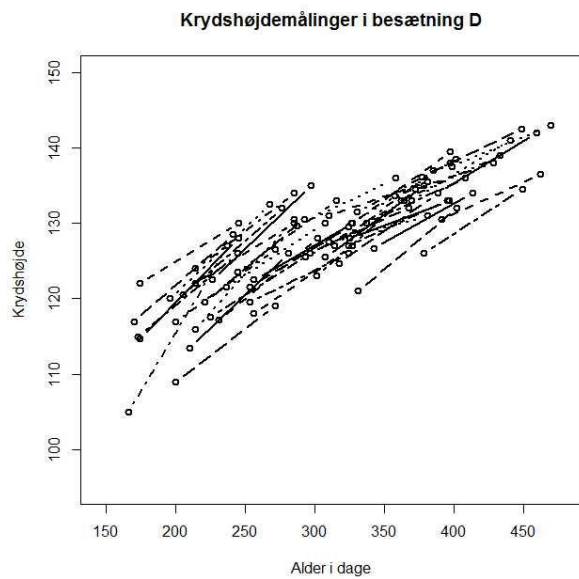
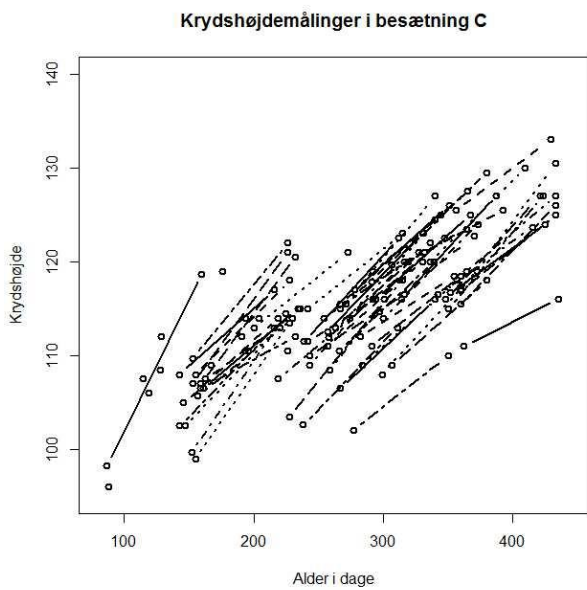
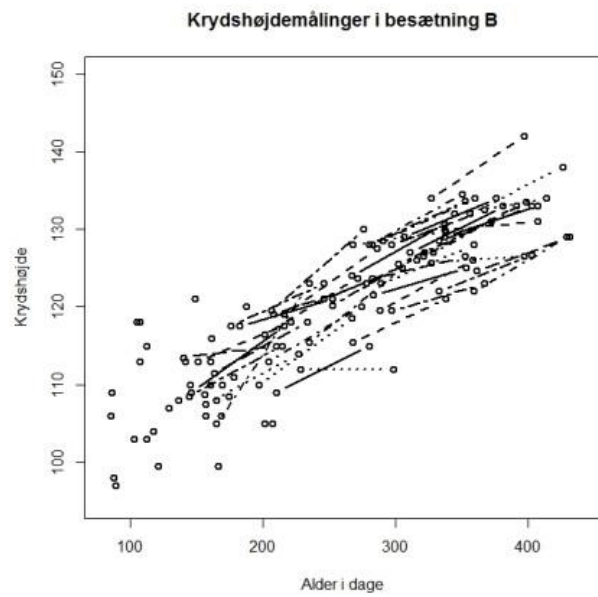
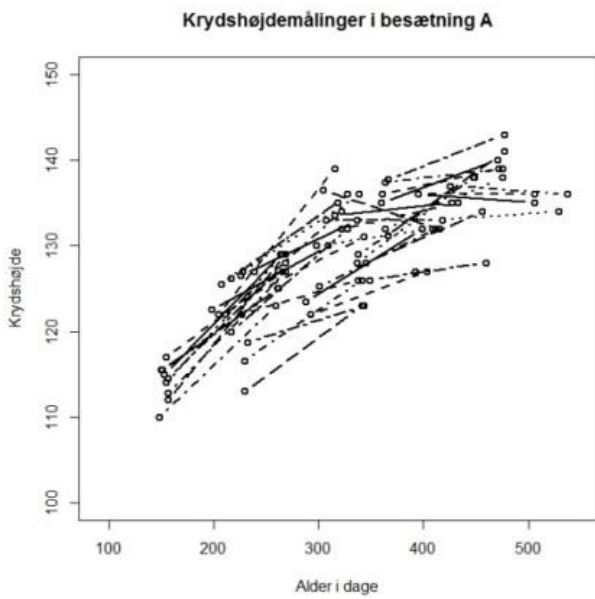
### 4.3 Krydshøjde

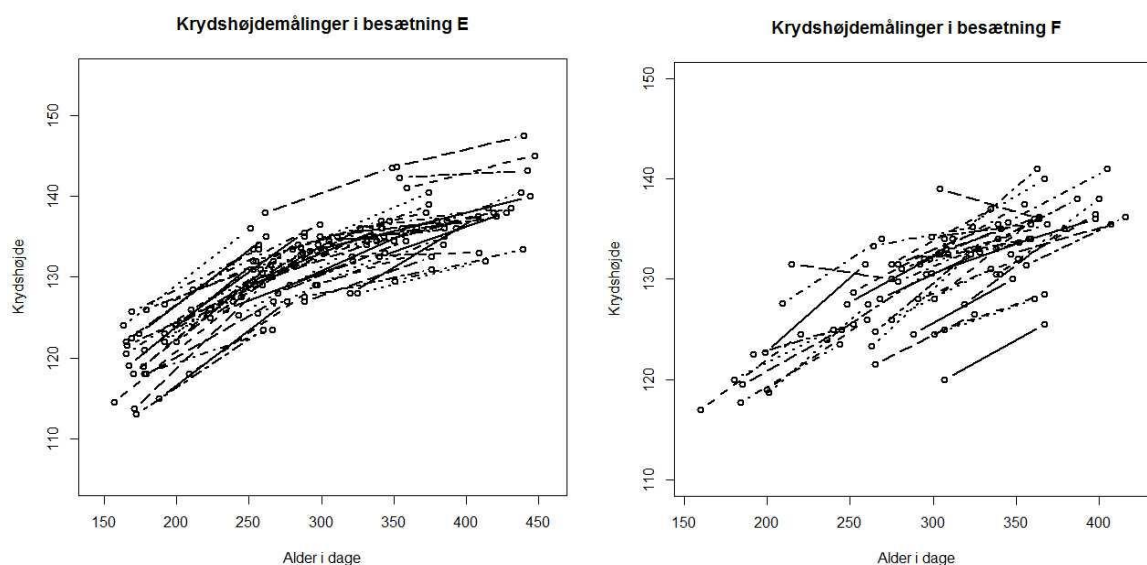
Tabel 6 opgørelse over alle krydshøjdemålinger (cm.)

#### Krydshøjdemålinger

Min.	1 <sup>st</sup> Quartile	Median	Gennemsnit	3 <sup>rd</sup> Quartile	Max.
79	107	121	118,4	131	152

I alt 585 målinger





Figur 7 Grafer for sammenhæng mellem krydshøjde og alder i dage for alle projektbesætningerne.

Tabel 6 viser at krydsmåligerne lå mellem 79cm og 162cm. Tabel 6 er en opgørelse af samtlige 585 krydshøjdemålinger.

Krydshøjdemålingerne er opgjort for alle 6 projektbesætninger grafisk i figur 7. Ud fra disse grafer ses at besætning C ligger betydeligt lavere end de andre 5 besætninger (bemærk at den lodrette akser er tilpasset den enkelte besætnings resultater for højdemåling). I besætning A, B, C og F ses store variationer mellem dyrene samt stejle kurver, der kunne tyde på en ikke ensartet tilvækst hos ungdyrene. I besætning D og E ses der en tydeligere tendenslinje, hvilket kunne tyde på en mere ensartet højde og dermed tilvækst os besætningernes ungdyr. I Besætning F ses, der at to dyr falder ud med et voldsom dyk i tilvækst, disse to dyr er udtaget fra videre analyse da sådanne fald i højden ikke er muligt rent biologisk. Endvidere var der i denne besætning netop problemer ved måling af denne aldersgruppe, så det er ikke usandsynligt, at der er sket en fejl ved måling af disse to dyr.

#### 4.4 Estimeret vægt

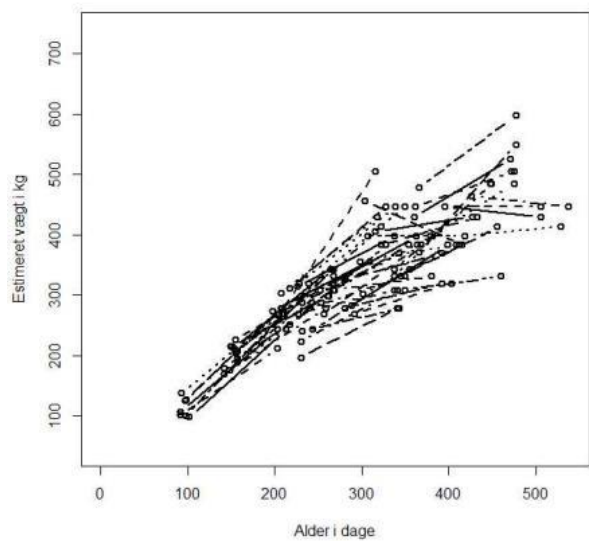
Tabel 7 opgørelse over estimeret vægt i kg., for alle dyr i projektet (kg.).

##### Estimeret vægt

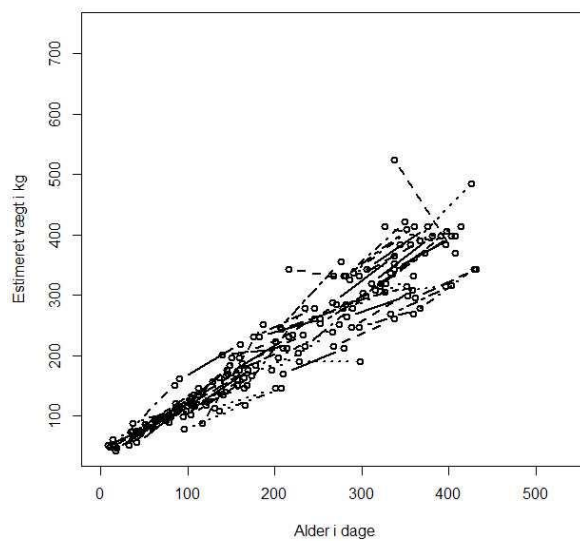
Min.	1 <sup>st</sup> Quartile	Median	Gennemsnit	3 <sup>rd</sup> Quartile	Max.
46,6	160,8	251,3	261,9	355,8	732,2

Tabel 7 viser at kalvene i projektet havde en gennemsnitslig vægt på 261,9 kg, og at den estimerede vægt varierede mellem 46,6 kg og 732,2 kg.

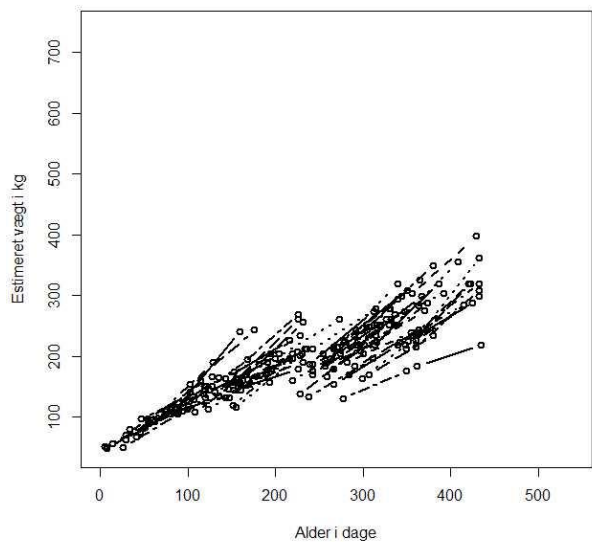
**Estimeret vægt i besætning A**



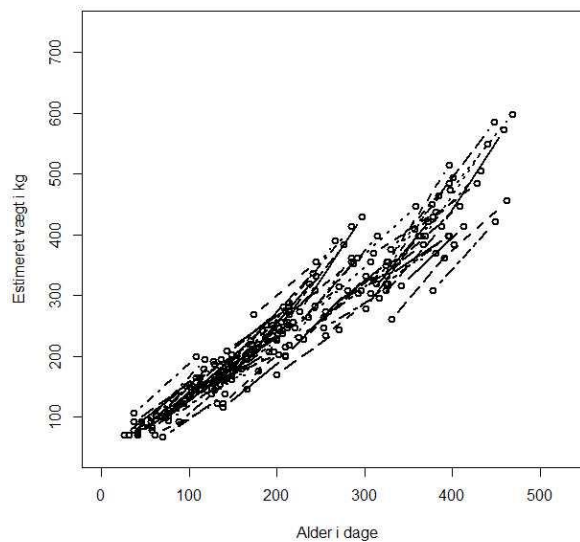
**Estimeret vægt i besætning B**

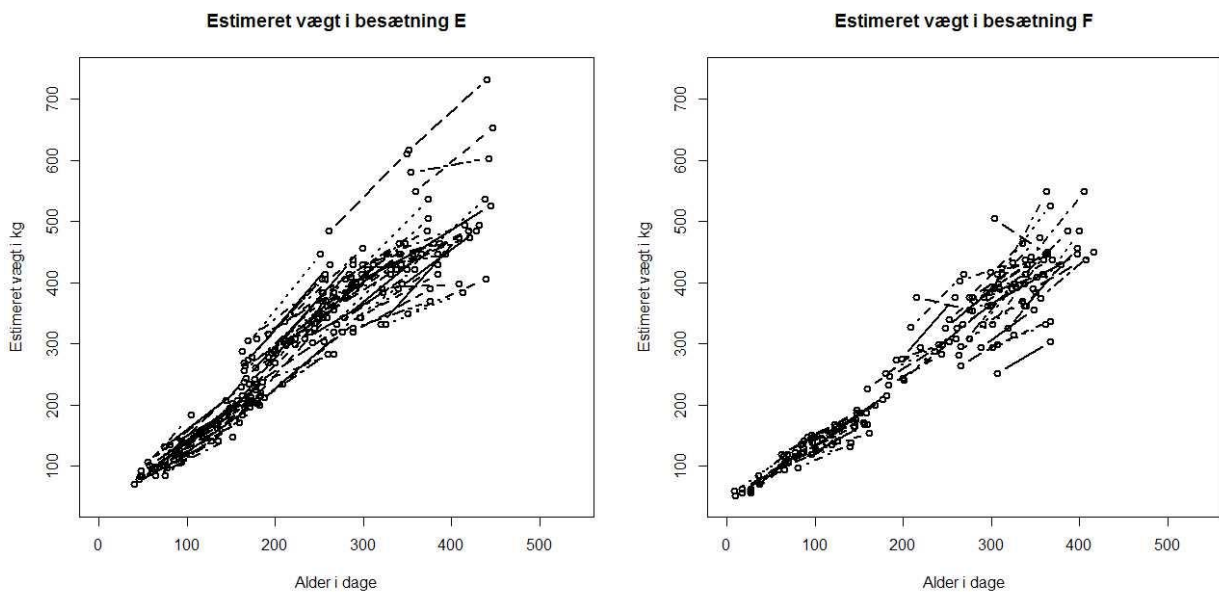


**Estimeret vægt i besætning C**



**Estimeret vægt i besætning D**





Figur 8 Grafer for sammenhæng mellem estimeret vægt i kg., og alder i dage for alle projektbesætningerne.

Ud fra disse graferne i figur 8 ses den estimerede vægt sammenholdt med alder i de seks besætninger. I Besætning A ses en lineær opadgående tendens på den grafiske fremstilling af estimeret vægt i kg., som funktion af alder i dage. Specielt for gruppen af kalve i aldersgruppen 100 til 200 dage. For de ældre kalve er der en større spredning i estimeret vægt og for gruppen af kvier 400 til 500 dage gamle flader kurverne mere ud og bliver tilnærmelsesvis vandrette. De estimerede vægter for besætning B har for kalvene i alderen fra 0 til 200 dage ikke den samme lineære opadgående stigning som besætning A, men kurven for aldersgruppen af 200 til 500 dage gamle kvier er mere stejl end i besætning B. Kurvens forløb for besætning F ligner besætning B, men besætningen opnår en højere vægt sammenlignet med besætning B.

Besætning C er klart den besætning med den laveste vægt i alle aldersgrupper. Kurvens forløb er derfor flade og noget tyder på at aldersgruppen af 200 til 300 dage gamle kvier stort set ikke vokser. Besætning D er til sammenligning den besætning med de mest opadgående kurver hos gruppen af kvier i alderen 300 til 500 dage, kurven har en tendens til et buet forløb som kunne tyde på at kvierne i denne besætning har en markant stigning i vægt efter dag 300.

I Besætning E ses en lineær opadgående tendens hos alle aldersgrupper. Besætning E er ifølge denne grafiske fremstilling den besætning der har den højeste vægt hos 400 dage gamle kvier. Der er en stor spredning på vægten for kvierne i aldersgruppen 200 til 500 dage.

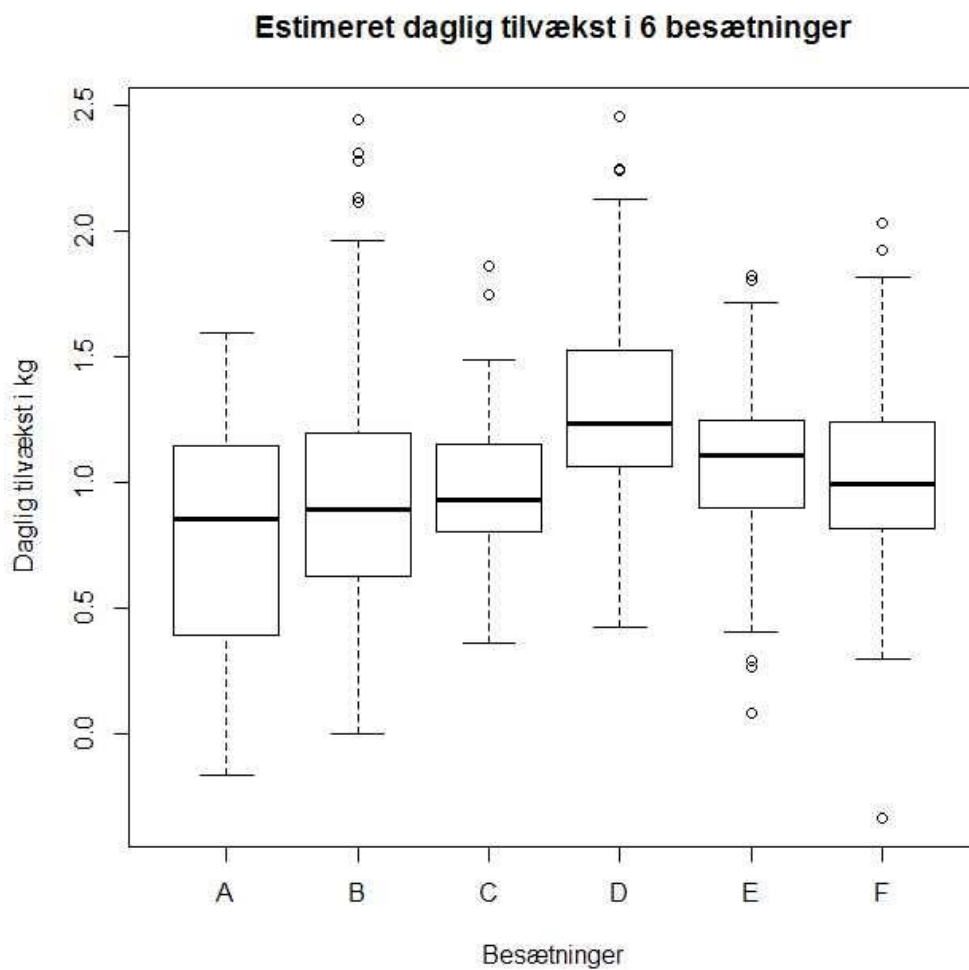
## 4.5 Estimeret tilvækst

Tabel 8 opgørelse over estimeret tilvækst for alle dyr i projektet (g. pr. dag fra 1. til andet besøg).

### Estimeret tilvækst

Min.	1 <sup>st</sup> Quartile	Median	Gennemsnit	3 <sup>rd</sup> Quartile	Max.
84,6	747,4	907,7	906,3	1067,9	1682,1

Tabel 8 viser en opgørelse over estimeret tilvækst for alle 497 kalve igennem projektperioden, den gennemsnitlige tilvækst er på 906,3 g. pr. dag, med et stort spænd mellem den mindste daglige tilvækst i projektperioden på 84,6 g pr. dag og 1682,1 kg som den maksimale daglige tilvækst gennem projektperioden.



Figur 9 boxplot af estimeret daglig tilvækst i de seks projektbesætninger



Boxplottet på figur 9 vises den estimerede tilvækst i de seks projektbesætninger. Ud fra boxplottet ses det at den gennemsnitslige tilvækst i g. pr dag varierer mellem besætningerne særligt gennemsnittet i besætning D ligger betydeligt højere end de resterende besætninger, men også besætning E ligger højere end de andre besætninger. Besætning C har en lille spredning på tilvæksten, mens der særligt i besætning A ses en stor spredning i daglig estimeret tilvækst.

## 4.6 Antistofmålinger med ELISA

Tabel 9 opgørelse alle antistofmålinger i projektet (ODC%).

### Antistofmålinger samlet

Min.	1 <sup>st</sup> Quartile	Median	Gennemsnit	3 <sup>rd</sup> Quartile	Max.
0	17	28	36	47	190

Tabel 10 opgørelse antistofmålinger ved 1. runde (ODC%).

### Antistofmålinger ved 1. runde

Min.	1 <sup>st</sup> Quartile	Median	Gennemsnit	3 <sup>rd</sup> Quartile	Max.
0	16	27	34	44	168

Tabel 11 opgørelse antistofmålinger ved 2. runde (ODC%).

### Antistofmålinger ved 2. runde

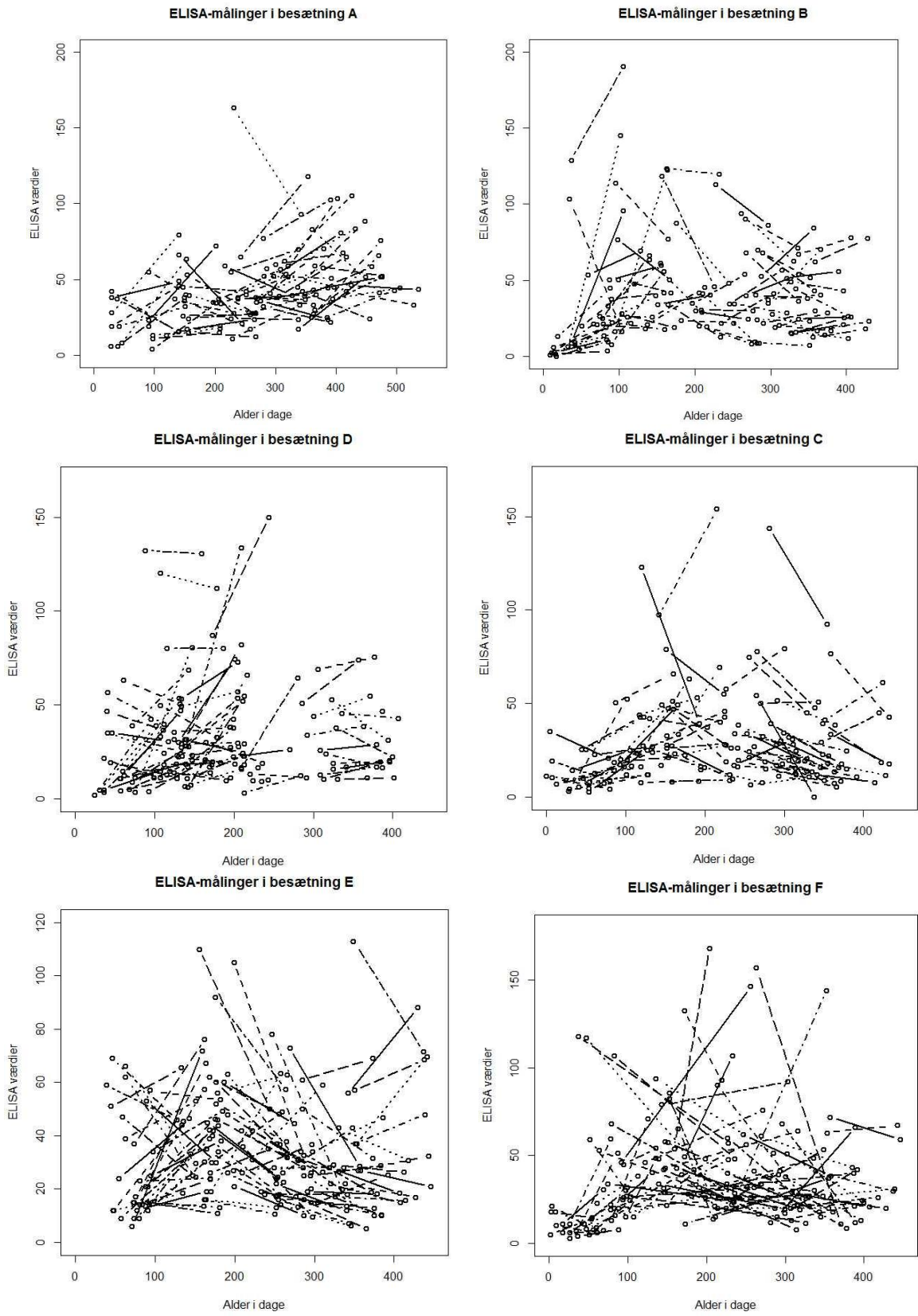
Min.	1 <sup>st</sup> Quartile	Median	Gennemsnit	3 <sup>rd</sup> Quartile	Max.
0	18	29	37	49	190

Tabel 12 opgørelse over differencen mellem de 2 antistofmålinger på enkeltdyrs niveau (ODC%).

### Difference antistofmålinger

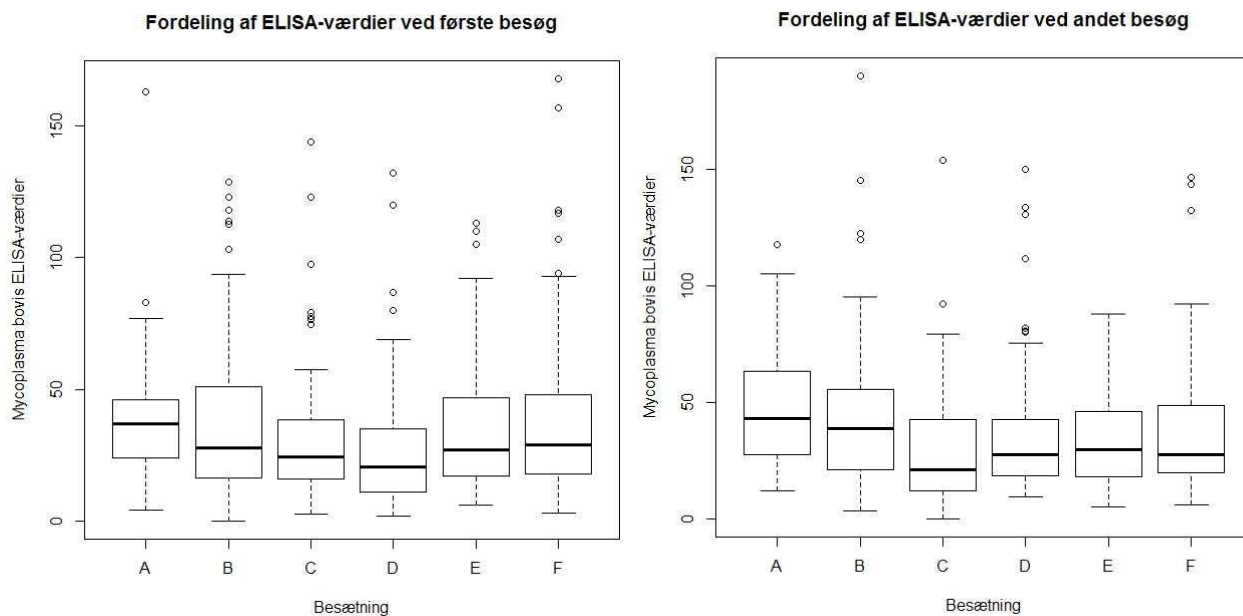
Min.	1 <sup>st</sup> Quartile	Median	Gennemsnit	3 <sup>rd</sup> Quartile	Max.
-87	-11	1	3	15	139

Tabel 9 viser at den gennemsnitslige antistof værdi for alle dyr i projektet var på 36 ODC%, med 0 som den mindste måling (på én kalv i 1. runde resterende målinger var over 0,03). Den højeste antistofmåling i projektet er på 190 ODC%. Tabel 10 og 11 gør det muligt at sammenligne de 2 runder og her ses det at den gennemsnitslige antistof værdi for alle dyr i 1. runde var på 34 ODC% sammenlignet med 37 ODC% i 2. runde. Der ses den samme fordeling i 1. og 2. runde med et gennemsnit tæt på grænseværdien på 37 ODC% ved begge testrunder. En opgørelse over differencerne mellem de 2 runder er opgjort i tabel 12. Her fremgår det at der har været fald i antistoffer ned på 87 ODC% og stigninger op til 139 ODC%.



Figur 10 Grafer for sammenhængen mellem ELISA-målinger (ODC%) og alder i dage for alle projektbesætningerne.

Figur 10 viser fordelingen af ELISA-målinger i de seks projekt besætninger. Figur 10 illustrerer, at der er sket både fald og stigninger i alle seks projektbesætninger, og at dette er sket uafhængigt af dyrets alder. Der ses ingen klar sammenhæng mellem alder i dage og ELISA-værdier.



Figur 11 Boxplot af ELISA-målinger ved 1. og 2. besøg for de seks projekt besætninger.

For at kunne sammenligne fordelingen af antistofværdier mellem de seks projektbesætninger, blev der lavet de to boxplots i Figur 11. Bemærk, at skalaen for ELISA-værdier ikke er den samme for de 2 runder. I 2. runde blev et dyr i besætning B målt til en antistofværdi på over 190 ODC%, og denne måling gør at skalaen for anden runde er længere. På boxplottet ses det at besætning A ligger højest på gennemsnittet ved begge målinger. Besætning B, E og F ligger også højt med begge målinger. Besætning C og D ligger lavest i begge runder. Alle besætninger overlapper hinandens boxplot og er der ikke en betydelig forskel mellem 1. og 2. runde.

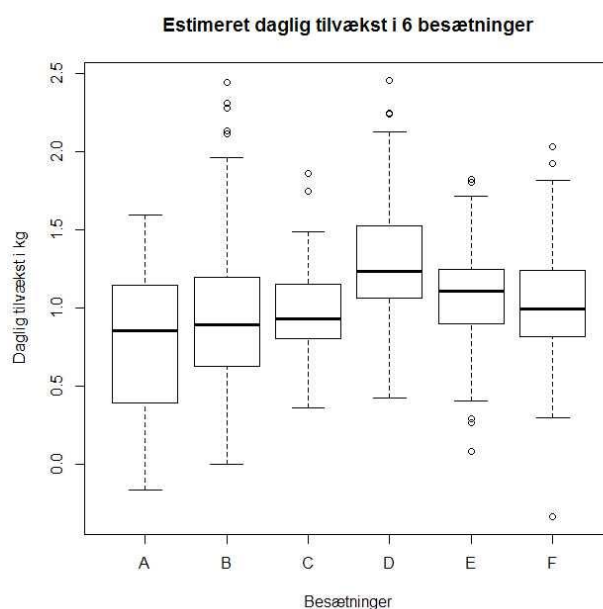
Fordelingen af dyr i de forskellige antistofgrupper, mellem besætninger ses i Tabel 13. I Besætning C, D, E og F er der generelt flere dyr der ligger stabilt lavt sammenlignet med besætning A og B. Tabellen viser endvidere at seroprævalensen for dyr med to gentagende positive antistoftest er på 22 % i dette projekt.

Besætning	1 Stabilt lav (%)	2 Faldet (%)	3 Steget (%)	4 Stabilt høj (%)
A	3	2	4	4,5
B	6	1	3	4,5
C	10	1	2	3
D	10	2	4	3
E	9	4	4	3
F	8,5	3	4	4
I alt	~48	~12	~18	~22

Tabel 13 2-vejs frekvenstabel over de forskellige antistofgrupperinger og de seks forskellige besætninger, i alt 507 dyr.

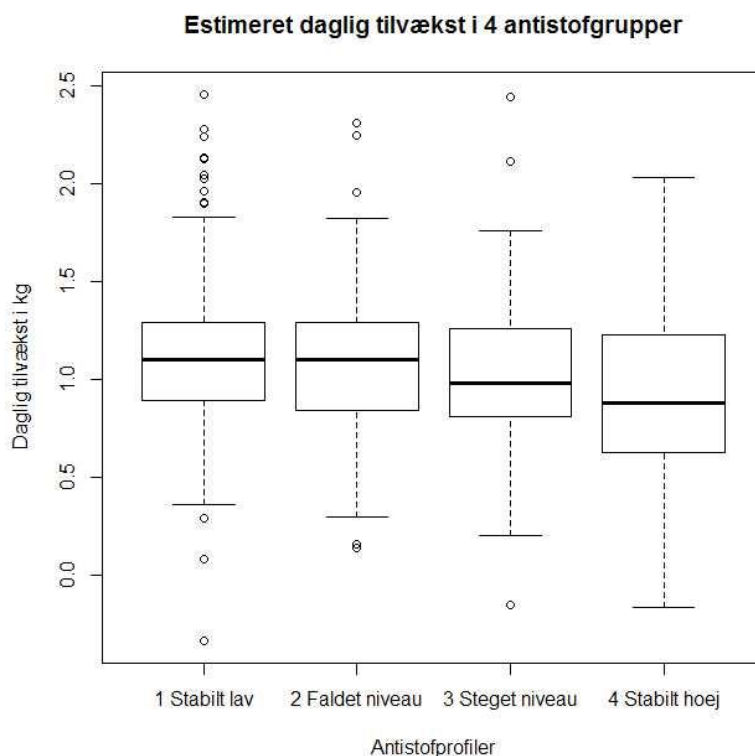
#### 4.7 Sammenhæng mellem *Mycoplasma bovis* og tilvækstestimeringer

For at kunne sammenligne den estimerede tilvækst med antistofmålingerne må det først undersøges om besætning er en variable af betydning for dyrenes tilvækst. Figur 12 viser, at dette er tilfældet i de 6 projektbesætninger. Besætning D er den der skiller sig mest ud ved at have en betydelig højere gennemsnitlig tilvækst sammenlignet med de andre besætninger.



Figur 12 Boxplot over estimeret daglig tilvækst i kg. i de 6 besætninger.

Herunder i Figur 12 ses et boxplot over den estimeret daglige tilvækst i de fire forskellige antistofgrupper. Gruppen af 'stabilt høje antistofmålinger' (dvs. over grænseværdien ved begge runder) har en stor spredning, men gennemsnittet for gruppen ligger under gennemsnittet for de andre tre grupper. I næste afsnit undersøges det om denne forskel er signifikant.



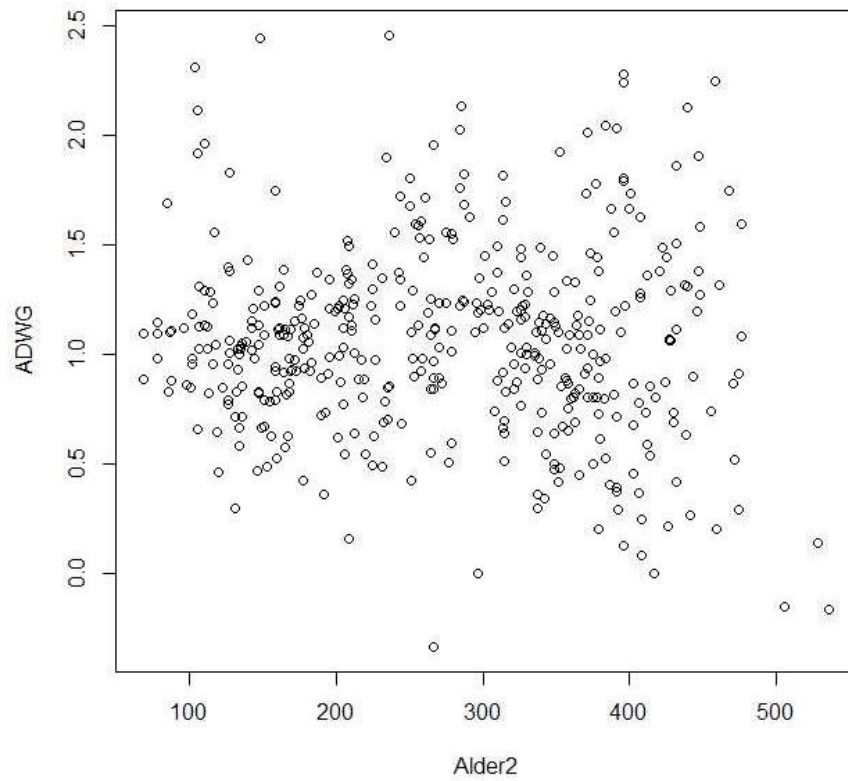
Figur 13 Boxplot som viser estimeret daglig i de 4 antistofgrupper

#### 4.8 Variansanalyse af tilvæksten per ELISA-gruppe

Boxplottet i Figur 13 indikerer, at dyrene i gruppen med stabilt høje antistofmålinger gennemsnitligt set har en lavere tilvækst end dyrene i de tre andre grupper. For at undersøge om der er en signifikant sammenhæng mellem antistofgrupperne og den daglige tilvækst blev der lavet først lavet en multivariabel variansanalyse (ANOVA) med daglig tilvækst som outcome, og antistofgrupperne, alder ved 2. runde og besætning som forklarende faktorer i modellen (se bilag 7, hvor resultaterne fra R er opgjort).

For at undersøge visuelt om der var en bestemt form på den evt. sammenhæng mellem alder og tilvækst blev plottet herunder lavet. Plottet viser fordelingen af daglig tilvækst sammenlignet med alderen ved 2.

test runde, men som det ses ud fra figur 14 ser det ikke ud til at der er en sammenhæng mellem alder og tilvækst i dette projekt.



Figur 14 Estimeret daglig tilvækst (ADWG) vs. alder ved 2. besøgsrunde

Ved en variansanalyse i R blev det undersøgt om der var en sammenhæng mellem gennemsnitslig daglig tilvækst og alder ved 2. runde. Testen viste, at daglig tilvækst ikke er signifikant associeret med alder ved 2. runde ( $p=0,28$ ), og alder blev derfor taget ud af modellen.

**Tabel 14** herunder viser den endelige model for sammenhængen mellem den gennemsnitlige daglige tilvækst og antistofgruppe samt besætning. Den daglige tilvækst var signifikant associeret med både besætning ( $p < 0,0001$ ) og antistofprofil ( $p = 0,001$ ). Besætning A blev sat som referencebesætning og antistofgruppe 1 blev sat som referencegruppe i modellen.

**Tabel 14 Endelig variansanalyse-model af daglig tilvækst hos kalve i seks *Mycoplasma bovis* smittede projektbesætninger i januar-juni 2014.**

Variable	Estimat ( $\beta$ )	S.E.	$p$
Intercept	0,850	0,065	-
Antistofgrupper			0,001
1 Stabilt lavt niveau	0 <sup>4</sup>	-	
2 Faldet niveau	0,032 <sup>4</sup>	0,062	
3 Steget niveau	-0,072	0,052	
4 Stabilt højt niveau	-0,122 <sup>12</sup>	0,051	
Besætninger			<0,0001
A	0 <sup>DE</sup>		
B	0,184 <sup>D</sup>	0,075	
C	0,160 <sup>D</sup>	0,074	
D	0,487 <sup>ABCEF</sup>	0,072	
E	0,253 <sup>AD</sup>	0,071	
F	0,209 <sup>D</sup>	0,080	

<sup>1234</sup> Tallene indikerer hvilke grupper, der er signifikant forskel til ( $p < 0,05$ )

<sup>ABCDEF</sup> Bogstaver indikerer, hvilke besætninger, der er signifikant forskel til ( $p < 0,05$ )

De små fogstaver skal læses således at 1 stabilt lavt niveau 0<sup>4</sup>, betyder at antistofgruppe er signifikant forskellig fra gruppe 4, men ikke fra de andre grupper og ligeså er besætning A signifikant forskellig fra besætning D og E, men ikke signifikant forskellig fra de øvrige besætninger.

### Kommentarer til antistofgrupper

Interceptet i analysen var 0,850. Det betyder at den gennemsnitlige daglig tilvækst på tværs af de målte dyr i antistofgruppe '1) lavt stabilt niveau' og besætning A er 850 g per dag. Dyr i gruppen '4) med stabilt højt niveau' af antistoffer' har i gennemsnit en signifikant lavere tilvækst pr. dag. Gruppen af dyr, der var testpositive ved begge runder havde en signifikant lavere tilvækst på -122 g pr dag sammenlignet med dyrene i gruppen af dyr, der var testnegative ved begge runder. Dyrene i gruppen '2) faldet antistofniveau'

lå 32 g højere i tilvækst per dag højere sammenlignet med dyr, der var testnegative ved begge runder, men det var ikke statistisk signifikant. Dyrene i gruppen '3) steget antistofniveau' lå 72 g lavere i tilvækst end dyr, der var testnegative ved begge runder, men det var ikke signifikant.

Samlet set er antistofgrupperne signifikant forskellige fra hinanden, men ved indbyrdes sammenligning af grupperne, sås det at gruppe 4 med stabilt højt antistofniveau var signifikant forskellig fra både gruppe 1 med stabilt lavt og gruppe 2 med faldet niveau. Gruppe 3 af dyr med stigende antistofniveau var ikke signifikant forskellig fra nogle af de andre grupper. Dyrene der var faldet i niveau var signifikant forskellig fra gruppen af dyr med stabilt høje antistoffer.

### **Kommentarer til besætninger**

Besætning A var referencebesætning hvad angår tilvækst pr. dag hos ungdyrene i perioden mellem 1. og 2. runde. Alle de andre besætninger lå højere end besætning A ligesom boxplottet også viste. Besætning D havde en tilvækst pr. dag på 487 g højere end besætning A blandt de undersøgte dyr i projektperioden. D er signifikant forskellig fra alle de andre besætninger med den højeste tilvækst hos kalvene. Besætning B, C og F er kun signifikant forskellige fra besætning D og tilvæksten i de 3 besætninger er derfor ikke signifikant forskellige fra hinanden.



## 5 Pilotprojekt spørgeskema

### 5.1 Materialer og metoder

Informationer om de medvirkende projektbesætninger og de ansvarshavende-besætningsejere eller -medarbejderes oplevelser og erfaringer med udbrud af *Mycoplasma bovis*, blev indsamlet ved hjælp af interview og samtaler. Derudover blev det forsøgt at lave en objektiv vurdering af overbelægning og opstaldningsforhold for alle dyr i besætningen.

Spørgeskemaer er ofte anvendt i veterinær epidemiologi til at opgøre deskriptive episoder i en population og til at søge efter risikofaktorer for sygdom. Da der fortsat er stor uvished om *Mycoplasma bovis* udbredelse, var det derfor oplagt at indsamle informationer fra de medvirkende besætninger ved hjælp af en spørgeskemaundersøgelse. Mange af de faktorer der kan have indflydelse på *Mycoplasma bovis* udbredelse er ikke registreret, og der er formodentlig mange ukendte faktorer på spil. Spørgeskemaundersøgelsen har dermed den fordel, at man får mulighed for at få adgang til informationer, som måske kan have indflydelse på *Mycoplasma bovis* udbredelse og som ellers let kunne gå til spilde. Under en spørgeskemaundersøgelse er det vigtigt, at interviewer stiller de samme spørgsmål uden at påvirke den responderende til at svare i en bestemt retning (Houe, et al., 2004).

Spørgeskemaet i dette projekt indeholder både et standardiseret kvalitativt interview, hvor der blev stillet et spørgsmål med et antal svarmuligheder samt en undersøgende kvalitativ del, hvor der bliver stillet åbne spørgsmål. Alle interviews blev udført af den samme person, og spørgsmålene blev stillet til de personer, der havde ansvaret for hver enkelt område – i de fleste tilfælde var det ejeren af bedriften. Varigheden af interviewene var mellem 10-40 minutter. Kommunikationen foregik som en emnebaseret samtale mellem interviewer og respondent. Respondenten blev ikke oplyst om svarmulighederne, men hvis svaret ikke umiddelbart kunne registreres i en svarkategori, stillede interviewer uddybende spørgsmål indtil der kunne registreres et svar tilsvarende en af kategorierne. Alle svar blev af interviewer noteret på en udprintet udgave af spørgeskemaet.

Fordelen ved denne interviewform er, at der er mulighed for at forklare eventuelle misforståelser. Ulemperne ved denne form for interview er at kropssprog og personlige præferencer kan have indflydelse på, hvordan spørgsmål modtages og besvares. Dertil er face to face interviews både tidskrævende og dyre (Houe, et al., 2004). I dette projekt var dette dog ikke så problematisk, da interviewer og interviewede allerede var til stede i besætningerne i forbindelse med indsamling af de andre data.

For at indhente de ønskede informationer om management forhold i projektbesætningerne, blev der udarbejdet et spørgeskema inddelt i to grupper henholdsvis "spørgsmål om udbruddet" og "spørgsmål om besætningen" derudover blev der indhentet informationer om flytninger ved hjælp af tegning af en skitse over ejendommen, samt en vurdering af overbelægning og opstaldningsforhold for alle dyr på ejendommen. Se det anvendte spørgeskema på i bilag 8.

Der blev udvalgt tre tilfældige besætninger til afprøvning af spørgeskemaet, besætningerne var ikke en del af projektet og blev kun anvendt til at afprøvning af spørgeskemaet. Besætningsejerne fra disse besætninger hjalp med opsætning af spørgeskemaet og kom med konstruktiv kritik, således at spørgeskemaet blev mere målrettet og præcist.

## 5.2 Resultater

### 5.2.1 Udbrud med *Mycoplasma bovis*

Tabel 15 Opgørelse af den generelle spørgeskemaundersøgelse omhandlende udbruddet med *Mycoplasma bovis* der blev foretaget blandt de 6 projektbesætninger.

	HERD					
	A	B	C	D	E	F
<b>Produktionstype</b>	Konventionelle					
<b>Årskøer (stk.)</b>	570	251	251	377	276	232
<b>Afgrænsning af udbrud</b>						
- Start	Juli '13	?*	Maj '12	Juni '13	April'12	Juni'13
- Slut	Maj '14		fortsat	Fortsat	Sep.'13	April'14
<b>Formodet årsag til udbrud (ejers udsagn)</b>	Indkøb af tyr	Indkøb af dyr	Indkøb af køer + brand	Indkøb af køer + 3 x malk	Indkøb af kalve	Indkøb af dyr + ny stald
<b>Kliniske tegn</b>						
- Kalve	+	+	+	+	+	+
- Kvier	-	-	+	-	-	+
- Køer	+	-	+	+	-	+
Andre symptomer	Gold YB Dræ.% ↓		Knuder i yvre	Kastninger		Dræ%↓
Bemærkninger			Flest tyre Dræ.% ↓	Flest tyre Dræ.% ↓	Flest tyre	
Symptomer hos nyfødte		+	+	+		+
<b>Aflivede/slagtede</b>						
- kalve	2	?	20	7	10	9
- kvier	-		-	-	-	
- køer	35/20		80/40	160/-	-	19/3
	6	9	5	11	3	6
<b>Medarbejder (antal)</b>						

Kilde: spørgeskemaundersøgelse af de medvirkende besætningsejere, samt informationer fra den danske kvægdatabase og nøgletal d. 24 april 2014

\*ejere og medarbejder udtaler "vi har da ikke *Mycoplasma* i besætningen?"

**Besætning A** kommer med i projektet fordi der er udbrud i besætningen ved projektets start. Besætningen valgte at installere et pasteuriseringssystem i februar, og oplevede en forbedring af sundhedstilstanden hos kalvene efter dette initiativ.

Ved interviewet af besætningsejer og medhjælper i **besætning B** fik snakken en lidt uventet drejning da besætningsejeren udtalte; "jamen vi har faktisk slet ikke *Mycoplasma bovis*" og forinden samtalen med besætningsejeren havde den ansvarlige medarbejder for kalvene udtalt "hvorfor er vi med i projektet når vi

slet ikke har *Mycoplasma* i vores besætning?”. Besætningen har dog den 2. højeste andel af antistoffer i tankmælken ved en måling den 5 marts 2014 (47 OCD %) ud af de seks projektbesætninger og PCR prøver fra tankmælken er varieret mellem 28-40 i perioden, endvidere sås der kliniske symptomer på *Mycoplasma bovis* ved begge besøg og ifølge opgørelser over bakteriologiske undersøgelser af øjnsvaber fra kalve i besætningen B er der også ved flere tilfælde dyrket *Mycoplasma bovis*. Der er dermed i alle tilfælde belæg for at besætningen er eller som minimum har været inficeret med *Mycoplasma bovis*.

**Besætning C** havde første udbrud i maj 2012, her formodede ejeren at udbrudet skyldes indkøb af 32 køer fra 2 forskellige besætninger. Alle disse dyr udviklede kliniske tegn på *Mycoplasma bovis* efter blot 3 dage i besætningen. Besætning C havde en periode uden udbrud i efteråret 2012, indtil der i juli 2013 udbrød en brand på gården, herefter blusede sygdommen igen op og mange kalve blev aflivet i den forbindelse. Besætning C oplyser desuden, at de i langt de fleste tilfælde har set symptomer på *Mycoplasma bovis* hos deres tyrekalve, ejeren hævder, at han passer kviekalve og tyrekalve helt ens. Med ud af de 20 kalve, der blev aflivet, var 18 stk. ifølge ejeren tyrekalve.

At det hovedsageligt er tyrekalvene der rammes blev også observeret i **besætning D**. Her oplevede besætningsejeren, at flere end 25 kalve blev født med hævede led eller udviklede det indenfor deres første 24 levetimer. Udbruddet i denne besætning startede i juni 2013, da der blev indkøbt 22 nye kælvkvier, samtidig med at besætningen begyndte at mælke 3 gange.

**Besætning E** så de første symptomer for 2 år siden i april 2012, da der blev indkøbt ungdyr til ejendommen. Besætningen har ikke set symptomer hos køerne, men kun hos kalve og ungdyr. Ved gennemgang af spørgeskemaet nævner besætningsejeren af besætning E, at de har set mange flere symptomer hos tyrekalve end hos kviekalve. Ud af de 10 døde/aflivede kalve var 6-7 stk. ifølge besætningsejeren, netop tyrekalve. Besætningen blev klar over, at de havde *Mycoplasma bovis*, da de blev kontaktet af den kalveopdrætter som modtager tyrkalvene, han havde observeret at mange af de tyrekalve han aftog fra besætningen havde symptomerne, og han havde derfor fået en dyrlæge til at stille diagnosen.

På bilag 9 ses billeder af opstaldningen af nogle af de medvirkende kvier i 4 forskellige besætninger.

## 5.2.2 Smittebeskyttelse i besætningerne

Tabel 16 Opgørelse over spørgsmål angående smittebeskyttelse i de 6 medvirkende besætninger.

	HERD					
	A	B	C	D	E	F
<b>Internsmittebeskyttelse</b>						
Pasteurisering af råmælk	Nej	Nej	Nej	Nej	Nej	Nej
- Ansvar for tildeling (antal)	5	5	2	1	2	3
Pasteurisering af sødmælk	Ja	nej	nej	Ja	Ja	nej
- Hvordan?	65°C i 30 min. (feb.'14)			60°C i 60 min. (jan.'14)	65°C i 30 min. (maj'14)	
<b>Sygeboks (kun sygedyr)</b>						
- Kalve	-	-	-	+	-	-
- Køer	+	-	-	+	-	-
<b>Mule-kontakt muligheder</b>						
- Fremmede dyr	-	-	-	-	-	+
- Køer og kalve	-	+	+	+	-	+
<b>Opstaldning af kalve (3-12 mdr.)</b>						
- >20 i fællesbokse	+	+	+	+	+	+
- 10-20 i fællesbokse						
- <10 i fællesbokse						
<b>Eksternsmittebeskyttelse</b>						
Hygiejneforanstaltninger for besøgende	+	-	-	+	-	-
Indkøb af dyr (senest)	Hundyr i juni '09 Tyr i maj '13	?	Juli '13	Juni '13	April'12	Juni'13
<b>Beliggenhed:</b>						
	Nord-vestjylland	Syd-vestjylland	Vensyssel	Østjylland	Sønderjylland	Sønderjylland

### 5.2.3 Effekt af behandlinger

Besætningerne har alle forsøgt sig med forskellige behandlinger af dyr med symptomer på *Mycoplasma bovis*.

I **besætning A** forsøgte man at behandle køer med yverbetændelserne og kalve med lungebetændelse, mellemørebetændelse, næseløb og feber (40°C) med Norodine (indholdstoffer trimethoprim og sulfadiazin) og Metacam (meloxicam) uden effekt. Besætning A forsøgte sig også med at behandle mastitter med Cefotron (indholdsstof: cefoperazon) til intramammær behandling, heller ikke her var der effekt af behandlingen.

**Besætning Bs** ejer udtaler, at de har behandlet mange kalve mod ledbetændelse og lungebetændelse, men da besætningsejeren ikke vil anerkende, at de har *Mycoplasma bovis* i besætningen, er det derfor ikke muligt at koble disse behandlinger på dyr med kliniske symptomer på *Mycoplasma bovis*.

I **besætning C** havde der i længere perioder været store problemer med at kalve blev født med symptomer på *Mycoplasma bovis*. Besætningsejeren havde derfor i samarbejde med besætningens dyrlæge besluttet at behandle alle nyfødte kalve med Draxxin (indholdsstof: tulathromycin), men efter en længere periode blev behandlingen indstillet, da der ikke kunne konstateres nogen effekt af behandlingen.

I **Besætning D** oplevede de ligesom flere af de andre besætninger, at kalve blev født med symptomer. Disse kalve blev forsøgt behandlet med Aquacycline (indholdsstof: oxytetracyclin) og ud af 25 behandlinger lykkes det ifølge ejeren at helbrede 15 kalve.

I **besætning E** ramte sygdom kun kalve, hovedsageligt tyrekalvene. Besætningen forsøgte at behandle 10-15 af de kalve, som havde tydlige symptomer på *Mycoplasma bovis* (mellemørebetændelse, lungbetændelse og ledbetændelse). Behandlingen bestod af en behandling med Zactran (indholdsstof: gamithromycin), men de oplevede ingen behandlingseffekt.

I **besætning F** er alle dyr med kliniske tegn forsøgt behandlet, køer med Norodine (indholdstoffer trimethoprim og sulfadiazin) og Metacam (meloxicam) og kalve er forsøgt behandlet med Resflor (indholdsstof: florfenicol og flunixin). Ejeren har ikke overblik over antal behandlede og helbredte, men han udtaler, at han syntes han har set effekt af behandlingerne med Resflor.

#### 5.2.4 Pasteurisering af råmælk og sødmælk

Ved pasteurisering af råmælk og sødmælk elimineres ikke blot *Mycoplasma bovis* bakterier, der sker også en eliminering af mange andre sygdomsfremkaldende bakterier. Direkte smitte med *Mycoplasma bovis* fra køer med mastitis til mælkefodrede kalve gennem upasteuriseret mælk anses for en vigtig risikofaktor hvad angår sygdom hos kalve (Maunsell, et al., 2011; Nicholas, 2011). I de 6 undersøgte besætninger blev der ved udbrud af *Mycoplasma bovis* ikke anvendt pasteurisering af mælken til kalvene (Ifølge interview med besætningsansvarlige). Årsagen til den gode effekt af pasteurisering er, at mycoplasma-bakterierne er yderst sårbare overfor varmebehandling, da bakterierne ingen cellevæg har. *Mycoplasma bovis* dræbes efter 5 min. ved 60 °C (Butler, et al., 2000). Tre af projektbesætningerne havde derfor efter anbefalinger fra deres rådgiver, valgt at etablere pasteuriseringssystem 1 – 2 måneder før opstarten af dette projekt. Fælles for de tre besætninger er nu, at de alle har set en effekt af pasteurisering af rå- og sødmælk til kalvene.

#### 5.2.5 Drægtighed og reproduktion

Besætningsejere såvel som medarbejdere i de medvirkende projektbesætninger anså det som en selvfølge, at kalve kunne fødes med kliniske tegn på *Mycoplasma bovis* infektion. I 4 ud af de 6 medvirkende besætninger havde de besætningsansvarlige oplevet, at der i perioder blev født kalve med hævede led og mellemørebetændelse (besætning B, C, D og F). Besætningsansvarlig i besætning A og C havde desuden observeret en mærkbar forringelse af drægtighedsprocenter, samt flere aborter hos både køer og kvier under udbrud med *Mycoplasma bovis*.

Forekomsten af bakterier i det systemiske kredsløb formodes at være årsagen til, at der kan ske smitte over placent., *Mycoplasma bovis* er i nogle tilfælde blevet isoleret fra væv fra fostre, levende såvel som døde. Desuden er der fundet *Mycoplasma bovis* bakterier i fosterhinderne hos køer (Jain, et al., 1969; Pftzner and Schimmel, 1985). Flere studier peger derfor også på, at der i besætninger med *Mycoplasma bovis* udbrud muligvis vil ses en forringet reproduktion og et øget antal aborter, men ingen har endnu set på forekomsten af kalve, der fødes med *Mycoplasma bovis* infektion (Nicholas, 2011).

#### 5.2.6 Økonomiske konsekvenser på besætningsniveau

*Mycoplasma bovis* har de seneste år ramt mange besætninger og har ført til aflivninger af køer såvel som kalve. I en af de medvirkende besætninger (besætning D) måtte man under et udbrud i juni 2013 aflive 160 dyr. I sådanne tilfælde kan det ikke undgås, at det medfører store økonomiske og sociale belastninger for de ramte landmænd, deres medarbejdere og familier.

Mange besætningsejere har kæmpet for at få tilkendt erstatning fra forsikringsselskaber. De forskellige forsikringsselskaber har forskellige forudsætninger og fremgangsmåder, nogle har krævet omgående aflivning af dyr ved de mindste tegn på sygdommen, mens andre har krævet beviser på sygdom forårsaget af *Mycoplasma bovis*. Forsikringsselskaberne har således haft afgørende indflydelse på, hvordan landmændene har valgt at udsætte dyr.



## 6 Diskussion

Der blev i dette studie påvist en signifikant forskel mellem daglig estimeret tilvækst og de fire antistofgrupperinger. Lignede studier udført i 2001 og 2011 (Tschopp, et al., 2001, Hanzlicek, et al., 2011), viste den samme tendens. I nærværende studie blev 37 ODC% anvendt som grænseværdi for serokonvertering. Ved studiet udført af Tschopp et al. blev 80 ODC% anvendt som grænseværdi, og der var en signifikant lavere tilvækst i gruppen af seropositive dyr sammenlignet med dyr, der var negative ved antistofmålingerne. Ved studiet udført af Hanzlicek et al. blev 13.71 ODC% anvendt som grænseværdi, og det viste ligeledes, at dyr der serokonverterede mellem dag 0 og 42 havde en signifikant lavere tilvækst end kalve, der ikke serokonverterede.

Der er altså anvendt 3 forskellige grænseværdier ved henholdsvis studiet fra lavet i Schweiz i 2001; studiet udført i USA i 2011 og dette studie. Der er anvendt den samme analysemetode; nemlig det specifikke ELISA kit (Bio-X). 13.71 ODC% er en meget lav grænseværdi set i forhold til firmaets anbefalinger og det viser sig også, at det i studiet med den laveste grænseværdi var det svært for forskerne at finde en sammenhæng mellem antistofniveau og tilvækst. Der findes dog en sammenhæng mellem antistof over grænseværdien og nedsat tilvækst i alle 3 studier.

I dette studie blev antistofmålingerne inddelt i 4 niveauer. Dyr i gruppen med stabilt høje antistofniveauer var signifikant forskellig fra både gruppen med stabilt lave antistofmålinger og gruppen af dyr der faldt i niveau. Den sidste gruppe bestod af de dyr der var serokonverteret under projektet, denne gruppe var ikke signifikant forskellig fra nogle af de andre grupper. Årsagen kan være, at de dyr der er blevet inficeret med *Mycoplasma bovis* og har serokonverterer i løbet af studiet, har en vægt, der endnu ikke er påvirket af infektionen og at det derfor ikke er muligt at påvise signifikante ændringer i tilvækst i dette studie. Det er også muligt, at der først ses ændringer i tilvækst efter længere tids infektion. De dyr der var faldet i niveau var signifikant forskellig fra gruppen af dyr med stabilt høje antistoffer, og årsagen til dette kan være, at disse dyr er rensset for infektion og at deres tilvækst derfor er tilbage på niveau med dyr i den stabilt lave gruppe. En anden forklaring kan være, at disse dyr ikke har haft så kraftig en infektion som dyrene i gruppen med stabilt høje antistoffer og at deres tilvækst derfor ikke er blevet påvirket i samme grad.

I dette projekt er det immunforsvarets antistoffer som gennem ELISA-analyser anvendes til at sige noget om enkeltdyrs immunreaktion på *Mycoplasma bovis*. Der er dog fortsat et stort hul i forskningen, når det kommer til at kunne udtale sig præcist omkring et dyrs tilstand ud fra et ELISA svar. Høje ODC % værdier er ikke nødvendigvis ensbetydende med at dyret er smittebærer. Det er også endnu uvist om et højt

antistofsvaret skyldes, at dyret har haft kliniske tegn eller om antistofsvaret blot er et tegn nylig smitte. Der mangler også fortsat viden omkring antistofsvarets varighed og viden om, hvornår dyret serokonverterer og om hvor længe antistofsvaret kan persistere og om dyr eventuelt kan udvikle sig til asymptomatiske smittebærere. Målingerne på spædekælve er endvidere meget usikre, da kælvene nogle gange modtager maternelle antistoffer fra råmælken (Maunsell, et al., 2011). Maternelle antistoffer har sandsynligvis haft en indflydelse på de antistofmålinger, der er foretaget i gruppen af de yngste kælve.

Målingerne til estimering af vægt har usikkerheder, da vi ikke vejer kælvene på en vægt, men i stedet omregner brystomkreds eller krydshøjde til en estimeret vægt. Ved måling af brystmål kan der være variationer i resultatet alt efter hvordan dyret fikseres under opmålingen. Det var kun i få tilfælde, at det lykkedes at måle på et afslappet dyr. Højdemålingerne med lasermåleren var også forbundet med usikkerhed. Laseren havde trods kalibrering en usikkerhed på plus/minus 1,5 cm. Herudover var ujævne underlag, som kælve der stod opstaldet i dybstrøelse, i ikke fikserede dyr og stressede dyr med til at øge usikkerheden på målingerne.

I dette studie var der kun et enkelt dyr med et antistof svar på 0 ODC % ved den første måling, men ved den anden måling havde dyret en antistofværdi på 9,6 ODC %. Det betyder, at ingen dyr havde et antistofsvaret på 0 gennem hele projektet. Jørgen Nielsens opgørelse over de besætninger i Danmark der har lavest andel antistoffer for *Mycoplasma bovis* i tankmælken viser, at ikke en eneste besætning har 0 ODC% i tankmælken.

## 7 Konklusion

Formålet med dette speciale var at undersøge, om det ved hjælp af epidemiologiske analyser af data fra malkekvægsbesætninger, hvor der var konstateret kliniske tilfælde af *Mycoplasma bovis* var muligt at påvise, at det havde en påvirkning på ungdyrs tilvækst, hvis de havde været smittet med *Mycoplasma bovis*. For at undersøge dette blev der undersøgt 497 ungdyr i 6 besætninger. Der blev udtaget blodprøver, som blev anvendt til at opdele de testede dyr i 4 antistofniveauer; 1) stabil lavt, 2) faldende, 3) stigende, og 4) stabil højt.

De fire antistofgrupperinger blev sammenlignet med de estimerede tilvækstberegninger i samme periode ved hjælp af en multivariabel variansanalyse. Konklusionen var, at der var en signifikant forskel ( $P=0,001$ ) mellem tilvækst hos ungdyr med stabilt højt antistofniveau og dyrene i gruppe 1-3, der ikke havde et stabilt højt antistofniveau for *Mycoplasma bovis*. Studiet viste endvidere, at der var en signifikant forskel på tilvæksten mellem besætningerne i dette projekt. Den gennemsnitslige estimerede tilvækst for alle kalve i projektet var 906 g. pr. dag, med en variation 85 g tilvækst pr. dag til 1682. Seroprævalensen på 22 % i studiet var angivet som den procentdel af dyr, der lå stabilt højt gennem hele projektperioden. Det gennemsnitslige specifikke *Mycoplasma bovis* antistofniveau for alle kalve i projektet er 36 ODC %. Differencen fra 1. til 2. prøve blev opgjort til i gennemsnit at stige med 2 ODC %, men varierede fra et fald i 86 ODC% til en stigning på 139 ODC%.

Endvidere blev det i studiet undersøgt, hvilke faktorer der kunne have indflydelse på, at der blev udviklet kliniske tegn og *Mycoplasma bovis*-positive serologiske analyser i de medvirkende besætninger. Dette blev udført ved hjælp af en spørgeskemaundersøgelse og interview om management og smittebeskyttelse i de 6 medvirkende besætninger. Spørgeskemaet fungerede som en form for hypotesegenerende studier og under samtaler med landmænd kom det frem, at køn muligvis kan have en betydning for spædkalves udvikling af sygdom. Flere landmænd påpegede at de havde oplevet kalve født med kliniske tegn på sygdom med *Mycoplasma bovis*.

## 8 Perspektivering

Gennem den kvantitative del af dette studie, blev der fundet en sammenhæng mellem høje specifikke antistoffer mod *Mycoplasma bovis* og nedsat tilvækst hos ungdyr. Projektets beskrivende del med spørgeskema og interview resulterede ikke i påviste sammenhænge, men åbnede op for mange nye og ubesvarede spørgsmål omkring *Mycoplasma bovis*.

I fremtidige studier omhandlende *Mycoplasma bovis* indvirkning på kalves tilvækst kunne man overveje at veje dyrene med en kvægvægt, fremfor at benytte de lidt usikre vægtestimeringer med målebånd og højtemålinger, da dette vil give mere præcise vægtmålinger. Herudover kunne man overveje at udtage svaber fra næsehulen fra alle dyr og undersøge materialet for *Mycoplasma bovis* bakterier. Er det muligt, at se en sammenhæng mellem dyrkning af bakteriekulturer og positive antistofmålinger? Har kalve med høje antistofmålinger på ELISA testen haft flere kliniske tegn end kalve med lave antistofmålinger? Er cut-of værdien på 37 ODC% den rette værdi til at vurdere om en kalv har serokonverteret?

Under spørgeskemaundersøgelsen kom det frem, at flere af besætningerne havde oplevet at der var flere kliniske tegn hos tyrekalve end kviekalve. Vi har ingen tyrekalve med i dette projekt, men i fremtiden kunne det være interessant at undersøge denne sammenhæng nærmere. Tyrekalve fodres ofte med råmælk af dårligere kvalitet end kviekalve, så man kunne undersøge, hvorvidt råmælkskvaliteten har en indvirkning på kalvenes evne til at modstå infektioner med *Mycoplasma bovis*. Besætningsejerne havde også oplevet kalve født med symptomer på *Mycoplasma bovis*, og derfor kunne det være interessant at undersøge, om det er muligt, at dyrke *Mycoplasma bovis* fra svaber på nyfødte kalve. Det vil videre være relevant at undersøge om den transplacentale overførsel af *Mycoplasma bovis* har betydning for kvægs evne til at blive drægtige? Er *Mycoplasma bovis* et abortfremkaldende patogen? Studier peger på at *Mycoplasma bovis* kan findes i sæd hos tyre, men hvornår er tyrene på tyrestationerne sidst blevet undersøgt?

Flere af besætningerne oplevede de samme kliniske tegn på *Mycoplasma bovis* og havde endvidere flere managementrutiner til fælles. Er det muligt at påvise en sammenhæng mellem disse to variabler på besætninger med *Mycoplasma bovis*? Har besætningsstørrelsen en betydning for om en besætning er mere disponeret for at opleve symptomer på *Mycoplasma bovis* eller ej? Flere af de medvirkende besætninger havde dyr på flere ejendomme og havde alle oplevet at udbruddet startede efter indkøb af nye dyr. Er det muligt at påvise, hvorfor flytninger af dyr har en indflydelse på, hvorvidt der udvikles sygdom forårsaget af *Mycoplasma bovis* i nogle besætninger men ikke i andre?

Kalvene i dette projekt var af racen Dansk Holstein, men er det muligt at påvise en forskel på prævalensen af antistoffer mod *Mycoplasma bovis* i besætninger med renracede Dansk Holstein (DH), Jersey, Rød Dansk Malkerace (RDM) versus besætninger med krydsninger? Sammenhængen mellem de forskellige danske malkekvægsracer og prævalensen af *Mycoplasma bovis*, er ikke tidligere beskrevet, men ved opgørelsen af Jørgen Nielsen i 2014 (bilag 1), blev det vist, at der er en signifikant højere prævalens hos Jersey og blandingsbesætninger, sammenlignet med besætninger med renracet Dansk Holstein eller Rød Dansk Malkerace. Årsagerne hertil kan være mange og det kunne være spændende at undersøge nærmere, hvorfor gruppen af øvrige har så høj en prævalens. Der kunne muligvis være tale om en stor andel af krydsninger, men det var muligvis mere passende at kalde gruppen "blandede besætninger", da racegruppen øvrige (krydsninger) kan indeholde en stor andel af besætninger som har manglende registreringer omkring reproduktion og avl, og derfor ender i gruppen med øvrige (krydsninger). Dette kunne rent hypotetisk betyde, at gruppen af øvrige er en gruppe af landmænd med mindre styr på management end gruppen med stor race. Gruppen med stor race kunne så repræsentere de besætninger, der har godt styr på registreringer omkring insemineringer, ikke anvender foldtyr og i det hele taget har gode managementrutiner. Det kunne derfor være spændende at undersøge om der er en forskel mellem RDM og Holstein.

Er *Mycoplasma bovis* reelt tilstede i alle besætninger?

## 9 Referencer

- Abdel Hafez, S.,M.; Yassin, M.,H. & Gomaa, A.,M. (2009): The use of latex agglutination test as a rapid method for detection of antibodies to *Mycoplasma bovis* in comparison whit ELISA. Vol. Immunobiology and immunopharmacology unit, animal reproduction research institut Giza Egypt:Assiut vet. med. J. Vol. 55 no 121.
- Bennett, R.H. & Jasper, D.E. (1977): Nasal prevalence of *Mycoplasma bovis* and IHA titers in young dairy animals. *The Cornell Veterinarian*. Vol. 67:3, pp. 361-373.
- Biddle, M.K., Fox, L.K. & Hancock, D.D. (2003): Patterns of mycoplasma shedding in the milk of dairy cows with intramammary mycoplasma infection. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. Vol. 223:8, pp. 1163-1166.
- Butler, J., Sickles, S., Johanns, C. & Rosenbusch, R. (2000): Pasteurization of discard mycoplasma mastitic milk used to feed calves: thermal effects on various mycoplasma. *Journal of Dairy Science*. Vol. 83:10, pp. 2285-2288.
- Byrne, W., Markey, B., McCormack, R., Egan, J., Ball, H. & Sachse, K. (2005): Persistence of *Mycoplasma bovis* infection in the mammary glands of lactating cows inoculated experimentally. *The Veterinary Record*. Vol. 156:24, pp. 767-771.
- Donavan, G.A., Dohoo, I.R., Montgomery, D.M. & et al. (1998): Calf and disease factores affecting growth in femal Holstein calves in Florida, USA. *Prev Vet Med*. Vol. 33:1-10.
- Donovan, G.A., Dohoo, I.R., Montgomery, D.M. & Bennett, F.L. (1998): Associations between passive immunity and morbidity and mortality in dairy heifers in Florida, USA. *Preventive Veterinary Medicine*. Vol. 34:1, pp. 31-46.
- Fisker, I., Skjøth, F., sejersen, K. & Kristensen, T. (2003): Vurdering af kviers vækst - resultater fra projekt 'styring af kvieproduktion'. *Dansk Kvæg Og Danmarks Jordbrudsforskning*.
- Fox, L.K. (2012): *Mycoplasma mastitis* Causes, transmission, and control. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. Vol. 28:2, pp. 225-237.
- Gagea, M.I., Bateman, K.G., Shanahan, R.A., van Dreumel, T., McEwen, B.J., Carman, S., et al (2006): Naturally occurring *Mycoplasma bovis*-associated pneumonia and polyarthritis in feedlot beef calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation : Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*. Vol. 18:1, pp. 29-40.
- Ginter, A. (2012): Beskrivelse af Bio-X Diagnostics *Mycoplasma bovis* ELISA kit. *Bio-X Diagnostics, Belgique*.
- HALE, H.H., HELMBOLDT, C.F., PLASTRIDGE, W.N. & STULA, E.F. (1962): Bovine mastitis caused by a *Mycoplasma* species. *The Cornell Veterinarian*. Vol. 52, pp. 582-591.
- Hanzlicek, G.A., White, B.J., Renter, D.G., Anderson, D.E. & Larson, R.L. (2011): Associations between the prevalence of Mollicutes and *Mycoplasma bovis* and health and performance in stocker calves. *The Veterinary Record*. Vol. 168:1, pp. 21.

Houe, H., Ersbøll, A., K. & Toft, N. (eds.) (2004): *Introduction to Veterinary Epidemiology*. 1st ed. Biofolia, Denmark.

Iversen, C.B. (2013): Brug af antistofmålinger til vurdering af smitte dynamik for *Mycoplasma bovis*. Vol. Veterinært balhelorprojekt, institut for Produktionsdyr og Heste, Copenhagen university.

Jain, N.c., Jasper, D.E. & Dellinge, J.D. (1969): Experimental Bovine Mastitis due to *Mycoplasma*. *Cornell Veterinarian*. Vol. 1, pp. 10-28.

Kusiluka, L.J., Ojeniyi, B. & Friis, N.F. (2000): Increasing Prevalence of *Mycoplasma bovis* in Danish Cattle. Vol. *Acta vet. scand*:41, pp. 139-146.

Martinussen, H., Møller, J., Spleth, P., Thøgersen, R. & Aaes, O. (eds.) (2010): *Kvægets fodring*. Landbrugsforlaget, Videncenteret for landbrug.

Maunsell, F.P. (2007): *Mycoplasma bovis* infection of dairy calves. *Dissertation Abstracts International*. Vol. 71:11.

Maunsell, F.P. & Donovan, G.A. (2009): < i> *Mycoplasma bovis* Infections in Young Calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. Vol. 25:1, pp. 139-177.

Maunsell, F., Woolums, A., Francoz, D., Rosenbusch, R., Step, D., Wilson, D.J., et al (2011): *Mycoplasma bovis* infections in cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. Vol. 25:4, pp. 772-783.

Nicholas, R. & Ayling, R. (2003): < i> *Mycoplasma bovis*: disease, diagnosis, and control. *Research in Veterinary Science*. Vol. 74:2, pp. 105-112.

Nicholas, R.A. (2011): Bovine mycoplasmosis: silent and deadly. *The Veterinary Record*. Vol. 168:17, pp. 459-462.

pfutzher, H. (1984): tencity of *Mycoplasma Bovis*. *Zentralblatt Für Bakteriologie, Mikrobiologie Und Hygiene.Series A: Medical Microbiology, Infectious Diseases, Virology, Parasitology*. Vol. 258:1, pp. 38-41.

Pfutzner, H. (1990): Epizootology of the *Mycoplasma bovis* infection in cattle. *Zentralblatt Für Bakteriologie, Mikrobiologie Und Hygiene.Series A: Medical Microbiology, Infectious Diseases, Virology, Parasitology*. Vol. 8.

Pfutzner, H. & Schimmel, D. (1985): Demonstration of *Mucoplasma-(M)-Bovis* in Descendant of Cows Affected whit M- bovis Mastitis and its Epidemiological Significance. *Zentralblatt Fur Veterinarmedizin Reihe B-Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases Immunology Food Hygiene Veterinary Public Health*. Vol. 32, pp. 265-279.

Pfutzner, H. & Sachse, K. (1996): *Mycoplasma bovis* as an agent of mastitis, pneumonia, arthritis and genital disorders in cattle. *Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)*. Vol. 15:4, pp. 1477-1494.

Razin, S., Yogev, D. & Naot, Y. (1998): Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*. Vol. 62:4, pp. 1094-1156.

Rosengarten, R., Citti, C., Glew, M., Lischewski, A., Droeße, M., Much, P., *et al* (2000): Host-pathogen interactions in mycoplasma pathogenesis: virulence and survival strategies of minimalist prokaryotes. *International Journal of Medical Microbiology*. Vol. 290:1, pp. 15-25.

Stabel, J.R. (2001): On-Farm Batch Pasteurization Destroys Mycobacterium paratuberculosis in Waste Milk. *Journal of Dairy Science*. Vol. 84:2, pp. 524-527.

Stabel, J.R., Hurd, S., Calvente, L. & Rosenbusch, R.F. (2004): Destruction of Mycobacterium paratuberculosis, Salmonella spp., and Mycoplasma spp. in Raw Milk by a Commercial On-Farm High-Temperature, Short-Time Pasteurizer. *Journal of Dairy Science*. Vol. 87:7, pp. 2177-2183.

Stipkovits, L., Rady, M. & Glavits, R. (1993): Mycoplasmal arthritis and meningitis in calves. *Acta Veterinaria Hungarica*. Vol. 41:1-2, pp. 73-88.

Stipkovits, L., Ripley, P.H., Varga, J. & Palfi, V. (2001): Use of valnemulin in the control of Mycoplasma bovis infection under field conditions. *The Veterinary Record*. Vol. 148:13, pp. 399-402.

Thomas, C.B., Willeberg, P. & Jasper, D.E. (1981): Case-control study of bovine mycoplasmal mastitis in California. *American Journal of Veterinary Research*. Vol. 42:3, pp. 511-515.

Tschopp, R., Bonnemain, P., Nicolet, J. & Burnens, A. (2001): Epidemiological study of risk factors associated with Mycoplasma bovis infections in fattening calves. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde*. Vol. 143:9, pp. 461-467.

Walz, P.H., Mullaney, T.P., Render, J.A., Walker, R.D., Mosser, T. & Baker, J.C. (1997): Otitis media in preweaned Holstein dairy calves in Michigan due to Mycoplasma bovis. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation : Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.* Vol. 9:3, pp. 250-254.

Wilson., D.,J., Justice-allen., A., Goodell., G., Baldwin., T.,J., Skriptunas., R.,T. & Cavender., K.,B. (2011): Risk of *Mycoplasma bovis* transmission from contaminated sand bedding to naive calves. Vol. J dairy Sci. 94, pp. 1318-1324.

[www.landbrugsinfo.dk/kvæg](http://www.landbrugsinfo.dk/kvæg) (senest: 20.07.2014)



## 10 Bilag

### Bilag 1 Opgørelse

# Mycoplasma – opgørelse af tankmælksundersøgelser

## Notat

Videncentret for Landbrug  
Kvæg

Til:	Kaspar Krogh m.fl.	Ansvarlig	JNI
Fra:	Jørgen Nielsen, KvægIT	Oprettet	31-03-2014
		Side	52 af 84

U:\KvaegSASpc\DataGruppe\JNI\Vet\Mycoplasma\PrøveExcel\ReadAndAnalyze4KvDB.sas

## Konklusion

Tidligere prøverunder gav en prævalens på hhv. 21 og 7. Denne giver 11%.

Sammenhæng til geografi, indkøb, størrelse, økologi og race ligner meget det, som vi har set før.

En liste over mælkeleverandører, som endnu ikke i 2014 har fået udtaget en prøve, ses til sidst i dette notat.

## Datagrundlag

Jeg har taget udgangspunkt i de data fra tankmælksanalyser af Mycoplasma (Vet.prøveart = 18), som jeg har kunnet trække fra Kvægdatabasen den 31. marts 2014.

Seneste udtagningsdato på disse prøver er 6. marts 2014. Og seneste resultater er modtaget i Kvægdatabasen den 10. marts 2014 kl. 14.

I alt foreligger den nu 11.201 resultater. Prøver som er udtaget senest 31. juli 2013 benævnes i dette notat som værende fra prøverunde 1. Prøver, som er udtaget i resten af 2013 benævnes som prøverunde 2. Prøver fra 2014 benævnes som prøverunde 3.

Prøverunde	Udtagningsperiode	Antal prøver	Antal ejendomme
1	Til og med 31. juli 2013	3.790	3.580
2	1. august 2013 – 31. december 2013	3.701	3.587
3	Fra og med 1. januar 2014	3.707	3.418
I alt		11.201	3.635

Dvs. der findes ejendomme, hvorfra der er udtaget flere prøver i samme prøverunde.

Der er 42 prøver, som har et negativt analyseresultat. Det er for alle på -777. Dem vælger jeg blot at regne med, som de er – dvs. en værdi under 37.

Sidst i dette notat ses en liste over CHR-numre som ikke er repræsenteret i runde 3.

I det følgende fokuserer jeg primært på data fra runde 3, men inden da først et lille afsnit som sammenligner til runde 1 og runde 2. Såfremt der er flere prøveresultater fra samme CHR-nummer inden for samme runde, benytter jeg i det følgende kun det seneste (målt på udtagningsdato).

## Sammenligning af resultater fra tidligere runder

Når jeg betragter analyseresultater fra hver runde for sig – får jeg følgende fordeling mellem positive og negative resultater.

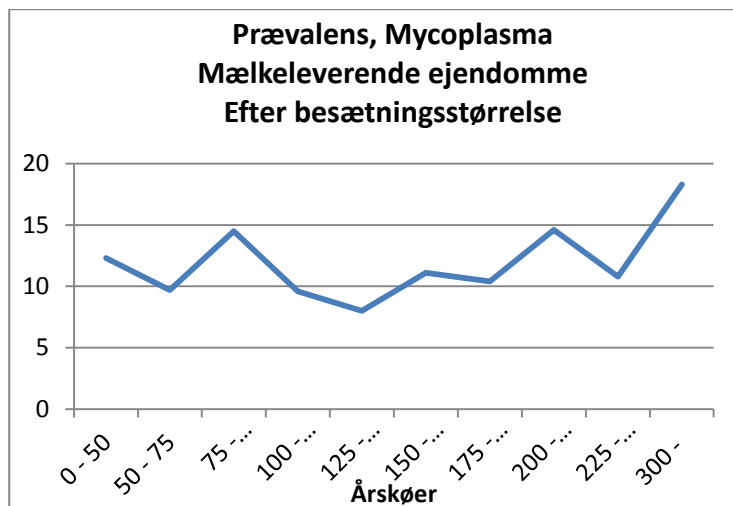
	Antal ejendomme				Procent ejendomme		
	Negativ Res < 37	Positiv Res ≥ 37	I alt		Negativ Res < 37	Positiv Res ≥ 37	I alt
<b>Runde 1</b>	2.840	740	3.580		79,3	20,7	100,0
<b>Runde 2</b>	3.330	257	3.587		92,8	7,2	100,0
<b>Runde 3</b>	3.023	395	3.418		88,4	11,6	100,0

Bemærk, at resultaterne fra runde 2 har ændret sig, men kun marginalt. Ændringen skyldes, at jeg nu også inddrager (relativt få) prøver fra december 2013. Ændringen betyder blandt andet, at andelen af positive ejendomme går fra 7,3 til 7,2.

Sammenligning af de CHR-numre, som er med i begge runder		Runde 3		I alt
		Negativ Res < 37	Positiv Res ≥ 37	
<b>Runde 1</b>	Negativ Res < 37	2.491	195	2.686
	Positiv Res ≥ 37	489	193	682 (20,3%)
<b>I alt</b>		2.980	388 (11,5%)	3.368

(Med et Fisher's exact test gives signifikant forskel på de to runder i ovenstående tabel.)

## Fordeling efter besætningsstørrelse



## Fordeling efter antal leverandører

Jeg har for hvert CHR-nummer optalt antal leverandører, dvs. hvor mange andre CHR-numre, som de i de seneste 12 måneder har modtaget dyr fra. Ca. halvdelen af de undersøgte CHR-numre har ingen leverandører, men ca. 500 har haft mindst 3 leverandører.

Antal leverandører	Antal CHR-numre	Antal positive	Prævalens (i %)
0	1.701	142	8,3
1	853	99	11,6
2	392	46	11,7
3+	471	107	22,7
I alt	3.417	394	11,5

### Fordeling af antal leveringer

Som jeg for hvert CHR-nummer har optalt *leverandører* ovenfor, har jeg også optalt antal *leveringer*. En levering er en flytning af et antal dyr på samme dag, fra ét CHR-nummer til èt andet CHR-nummer. Dvs. hvis et CHR-nummer har modtaget en lastbilfuld dyr hver uge fra én leverandør, og et par dyr hver anden uge fra en anden leverandør, så er der tale om  $52 + 26 = 78$  leveringer.

Interval for antal leveringer min - max	Antal CHR-numre	Antal positive	Prævalens (i %)	
0	0	1.701	142	8,3
1	1	304	38	12,5
2	4	367	51	13,9
5	12	378	57	15,1
13	17	370	50	13,5
30	-	297	56	18,9
I alt	3.417	394	11,5	

### Fordeling efter økologi

En ejendom (CHR-nummer) regnes for økologisk såfremt der dags dato er mindst en besætning med en af følgende brugsarter:

13 Kød, økologisk
15 Kød, ungdyr, økologisk
16 Mælk, økologisk
20 Mælk, ungdyr, økologisk

Økologi	Antal CHR-numre	Antal positive	Prævalens (i %)
Nej	3.074	348	11,3
Ja	341	46	13,5
I alt	3.415	394	11,5

(Ikke signifikant forskel, når vi bruger Fisher's exact test.)

## Fordeling efter race blandt køerne

Ud fra de data, som jeg meget umiddelbart har ved hånden, har jeg kigget på *køernes* race inden for de seneste 12 måneder. Set på de besætninger, hvor

- Over 90% er køerne er af stor malke race (dvs. Malke race undtaget Jersey og Krydsning)
- Over 95% er køerne er af stor malke race (dvs. Malke race undtaget Jersey og Krydsning)
- Over 90% er køerne er Jersey
- Over 95% er køerne er Jersey

Over 90% af køerne er af stor malke race	Antal CHR-numre	Antal positive	Prævalens (i %)
Nej	1.213	191	15,7
Ja	2.205	204	9,3
I alt	3.418	395	11,6

Over 95% af køerne er af stor malke race	Antal CHR-numre	Antal positive	Prævalens (i %)
Nej	1.609	232	14,4
Ja	1.809	163	9,0
I alt	3.418	395	11,6

Over 90% af køerne er Jersey	Antal CHR-numre	Antal positive	Prævalens (i %)
Nej	3.086	338	11
Ja	332	57	17,2
I alt	3.418	395	11,6

Over 95% af køerne er Jersey	Antal CHR-numre	Antal positive	Prævalens (i %)
Nej	3.124	344	11,0
Ja	294	51	17,3
I alt	3.418	395	11,6

Og så en form for samlet opgørelse vedr. racer:

Race gruppe	Antal CHR-numre	Antal positive	Prævalens (i %)
Min. 90% Jersey	332	57	17,2
Min. 90% Stor Race	2.205	204	9,3
Øvrig (Krydsninger osv.)	881	134	15,2
I alt	3.418	395	11,6

(Signifikant forskel, når vi benytter Fisher's Exact Test.)

Tilsyneladende en højere prævalens hos besætninger med Krydsninger osv. – lige som sidst. Og lige som i runde 2 har også Jersey besætninger en ganske høj prævalens.

## Bilag 2 Tankmålinger

Opgørelse over de laveste tankmælksantistofmålinger i Danmark, men en antistof måling under 3 ODC%.

Besætning	UDTAGDATO	MODTAGDATO	ANALYSEDATA	STATUS	GYLDIGFLAG
1	27-08-2013	05-09-2013	2.34	OK	1
2	21-10-2013	28-10-2013	2.62	OK	1
3	30-09-2013	08-10-2013	0.27	OK	1
4	27-08-2013	05-09-2013	2.14	OK	1
5	28-08-2013	05-09-2013	1.72	OK	1
6	04-11-2013	19-11-2013	2.01	OK	1
7	04-11-2013	19-11-2013	0.47	OK	1
8	11-11-2013	19-11-2013	2.26	OK	1
9	22-06-2014	30-06-2014	1.00	OK	1
10	16-05-2014	27-05-2014	0.94	OK	1
11	06-05-2014	14-05-2014	1.25	OK	1
12	26-04-2014	07-05-2014	1.24	OK	1
13	22-06-2014	30-06-2014	1.67	OK	1
14	03-02-2014	10-02-2014	2.97	OK	1
15	17-02-2014	28-02-2014	1.25	OK	1
16	19-05-2014	27-05-2014	0.14	OK	1
17	16-05-2014	27-05-2014	1.81	OK	1
18	17-02-2014	28-02-2014	2.18	OK	1
19	17-02-2014	28-02-2014	1.73	OK	1
20	18-06-2014	26-06-2014	2.53	OK	1
21	17-05-2014	27-05-2014	2.39	OK	1
22	14-05-2014	27-05-2014	2.82	OK	1
23	24-02-2014	05-03-2014	1.13	OK	1
24	06-05-2014	14-05-2014	1.58	OK	1
25	21-06-2014	30-06-2014	2.17	OK	1

## Bilag 3 Huldvurdering

Skala til huldvurdering.



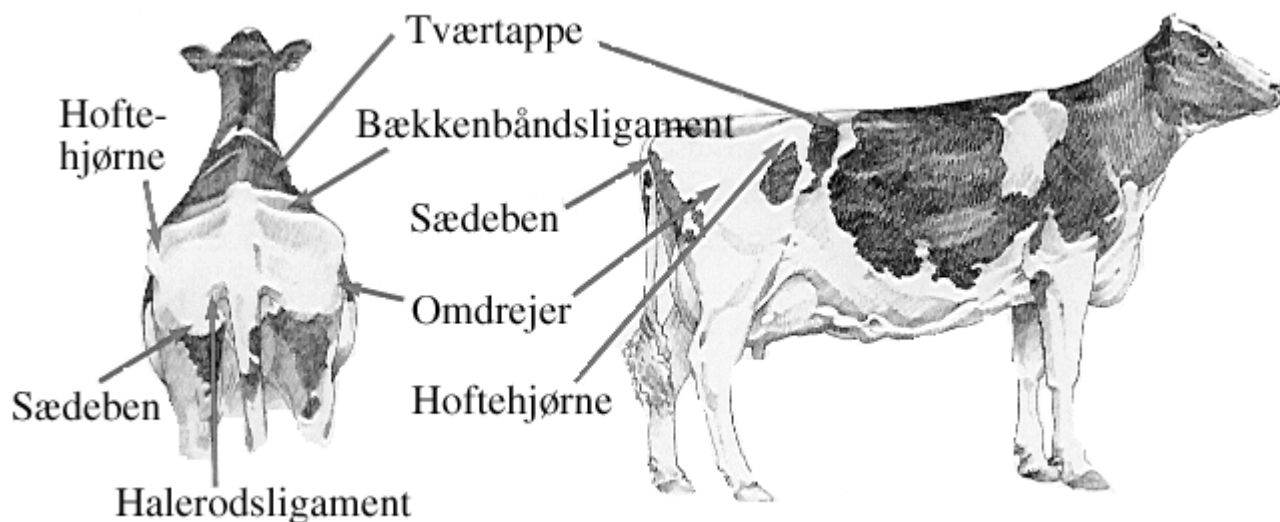
Sidst bekræftet: 17-06-2014 Oprettet: 01-07-2004 Revideret: 01-07-200

Kilde: <https://www.landbrugsinfo.dk/Kvaeg> (senest: d. 17.07.2014)

### Den visuelle metode

Bedømmelse efter den visuelle metode kræver ikke berøring med dyret. Ved bedømmelse efter den visuelle metode gives 1 generel karakter baseret på en synsmæssig vurdering af forskellige punkter på dyret.

Systemet er en 5 point skala med kvarte point, hvor en hel huld karakter svarer til 56 (40-77) kg.



Vigtige punkter i den visuelle huldvurdering. Billeder er venligst stillet til rådighed af Elanco Animal Health.

Omdrejeren flad > 4,00

Tværtappe netop følbare ved tryk = 4,00

Tværtappe "væk", ribben ikke synlige = 4,25

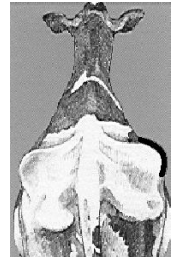
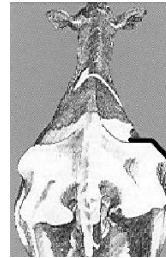
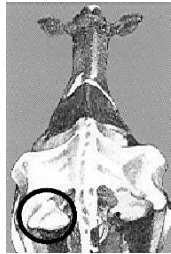
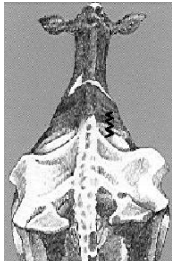
Sædeben usynlige = 4,50

Hoftehjørne utydeligt = 4,75

Hoftehjørne "væk", rundt kryds = 5,00



Hvis linien danner et fladt V er huldet  $\leq 3,0$  Hvis linien danner et fladt U er huldet  $\geq 3,25$

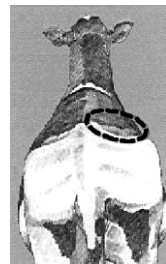
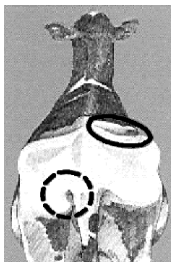
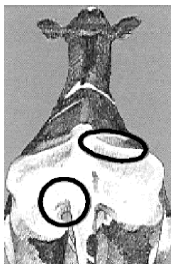


Tværtappe synlige  
 $\frac{1}{2}$  synlige: 2,25  
 $\frac{3}{4}$  synlige: 2,0  
 Savtakket spinaltappe:  
 $< 2,0$

Vinklet sædeben:  
 huld  $< 2,75$   
 Mærkbar fedt: 2,5  
 - mærkbar fedt:  $< 2,5$

Vinklet hoftehjørne  
 Huld  $\leq 2,75$

Rundt  
 hoftehjørne  
 Huld = 3,0



Bækkensbåndsligament  
 synlig og  
 halerodsligament synlig  
 Huld = 3,25

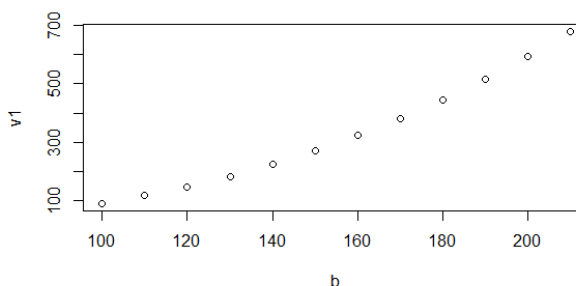
Bækkenbåndsligament  
 synlig og  
 halerodsligament  
 utydelig  
 Huld = 3,5

Bækkenbåndsligament  
 utydeligt og  
 halerodsligament  
 "væk"  
 Huld = 3,75  
 begge ligamenter  
 "væk"  
 Huld  $\geq 4,0$

## Bilag 4 vægtmålinger

### BRYST:

Formlen til udregning af vægt ud fra brystmål blev dannet ved hjælp af følgende R kode, samt tabel 3.2 i "kvægets fodring"<sup>1</sup>



### Analysis of Variance Table

Response: v1

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
b	1	406045	406045	1.1659e+07	< 2.2e-16 ***
b2	1	11408	11408	3.2756e+05	< 2.2e-16 ***
b3	1	27	27	7.8018e+02	2.914e-09 ***
Residuals	8	0	0		

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Call:

```
lm(formula = v1 ~ b + b2 + b3)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.28849	-0.08608	-0.01154	0.09005	0.24320

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	8.200e+00	6.006e+00	1.365	0.2093
b	-3.465e-01	1.223e-01	-2.833	0.0221 *
b2	6.714e-03	8.079e-04	8.311	3.32e-05 ***
b3	4.843e-05	1.734e-06	27.932	2.91e-09 ***

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1866 on 8 degrees of freedom

Multiple R-squared: 1, Adjusted R-squared: 1

F-statistic: 3.996e+06 on 3 and 8 DF, p-value: < 2.2e-16

>

Vægten kan således estimeres alene ud fra brystomfang ved hjælp af følgende formel for kvier af racen dansk Holstein

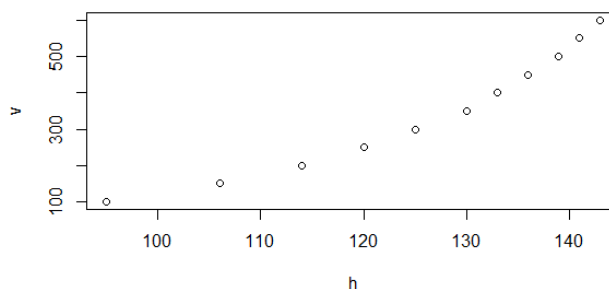
```
> # trejdegrads polynomiet for brystomfang omregnet til vægt  
> v1b <- 8.200e+00+3.465e-01*b+6.714e-03*b2+4.843e-05*b3
```

<sup>1</sup>(Martinussen, et al., 2010). Tabel 3.2. s. 81.



## KRYDSHØJDE

Formlen til udregning af vægt ud fra krydshøjde blev dannet ved hjælp af følgende R kode, samt tabel 3.2 i "kvægets fodring"<sup>2</sup>



### Analysis of Variance Table

```
Response: v
      Df Sum Sq Mean Sq    F value    Pr(>F)
h       1 256458  256458 18550.6722 1.056e-11 ***
h2      1  17357   17357  1255.5166 3.368e-08 ***
h3      1   1002    1002   72.4834 0.0001438 ***
h4      1     99     99    7.1903 0.0364641 *
Residuals 6     83     14
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> summary(modelh)
```

```
Call:
lm(formula = v ~ h + h2 + h3 + h4)
```

```
Residuals:
    Min     1Q   Median     3Q     Max
-5.119 -1.080  0.725  1.872  3.379
```

```
Coefficients:
      Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept) 1.634e+04  7.751e+03  2.108  0.0796 .
h           -5.851e+02  2.643e+02 -2.214  0.0688 .
h2           7.846e+00  3.357e+00  2.337  0.0581 .
h3          -4.671e-02  1.882e-02 -2.482  0.0477 *
h4           1.054e-04  3.932e-05  2.681  0.0365 *
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
Residual standard error: 3.718 on 6 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.9997, Adjusted R-squared:  0.9995
F-statistic: 4971 on 4 and 6 DF, p-value: 1.097e-10
```

Vægten kan således estimeres alene ud fra krydshøjde ved hjælp af følgende formel for kvier af racen dansk Holstein.

```
> # fjerdegrads polynomiet for højde omregnet til vægt
```

```
> vh <- 1.634e+04
```

<sup>2</sup>(Martinussen, et al., 2010). Tabel 3.2. s. 81.

## Bilag 5 Validering af data

### Resultat af gentagende målinger I kontrol besætning

dyrenr	dato	Født	alder	race	huld1	højde1	bryst1	huld2	højde2	bryst2	Forskel
1	17-04-2014	18-04-2013	364	HOL	3	125		3	126		1
2	17-04-2014	27-04-2013	355	HOL	3.25	138		3.25	137		-1
3	17-04-2014	03-05-2013	349	HOL	3.25	129.8		3.25	129		-0.8
4	17-04-2014	11-05-2013	341	HOL	3.25	134.5		3.25	133.2		-1.3
5	17-04-2014	20-05-2013	332	HOL	3	135.5		3	138.5		3
6	17-04-2014	26-05-2013	326	HOL	3	133.5		2.75	133		-0.5
7	17-04-2014	07-06-2013	314	HOL	3	129.5		3	132.5		3
8	17-04-2014	18-06-2013	303	HOL	3	131		2.75	131.3		0.3
9	17-04-2014	19-06-2013	302	HOL	2.75	135		3	136		1
10	17-04-2014	04-07-2013	287	HOL	3	129		3	128		-1
11	17-04-2014	07-07-2013	284	HOL	2.75	133		2.75	133		0
12	17-04-2014	09-07-2013	282	HOL	2.5	130		2.75	131		1
13	17-04-2014	17-07-2013	274	HOL	2.5	130.5		2.75	129.5		-1
14	17-04-2014	24-07-2013	267	HOL	2.75	132		2.75	134		2
15	17-04-2014	28-07-2013	263	HOL	3	130		2.75	130		0
16	17-04-2014	12-12-2013	126	HOL	2.75		115	2.5		115	0
17	17-04-2014	12-12-2013	126	HOL	3		123	3		123	0
18	17-04-2014	19-12-2013	119	HOL	3		124	3		122	-2
19	17-04-2014	29-12-2013	109	HOL	3		111	3		112	1
20	17-04-2014	31-12-2013	107	JER	2.75		104	2.75		105	1
21	17-04-2014	03-01-2014	104	HOL	3		111	3		113	2
22	17-04-2014	03-01-2014	104	HOL	3.5		119	3.5		119	0
23	17-04-2014	21-01-2014	86	HOL	3		110	3		110	0
24	17-04-2014	25-01-2014	82	HOL	2.75		107	2.75		107	0
25	17-04-2014	05-02-2014	71	HOL	2.75		108	3		108	0
26	17-04-2014	07-02-2014	69	HOL	3		104	3		105	1
27	17-04-2014	14-02-2014	62	HOL	2.75		101	3		101	0
28	17-04-2014	23-03-2014	25	HOL	3		86	3		87	1
29	17-04-2014	27-03-2014	21	HOL	2.75		93	2.75		94	1
30	17-04-2014	11-04-2014	6	HOL	3		85	3		85.5	0.5

2 x 2 tabel til analyse af gentagende huldregistreringer i kontrolbesætningen

		Method 2					
Huld		2,5	2,75	3	3,25	3,5	Total
Method 1	2,5	0	2	0	0	0	2
	2,75	1	5	3	0	0	9
	3	0	3	12	0	0	15
	3,25	0	0	0	3	0	3
	3,5	0	0	0	0	1	1
	Total	1	10	15	3	1	30

Cohen's Kappa				
Observed agreement		0.700		
Expected agreement		0.363	95	% confidence interval
Kappa		0.529	Lower	Upper
Standard error		0.122	0.291	0.767
Approximate standard error		0.131	0.271	0.786

Weighted Kappa				
Levels	2			
Weighted Observed agreement		0.700		
Weighted expected agreement		0.363		
Weighted Kappa		0.529	0.384	0.674
Standard error		0.074		

## Bilag 6 Udgåede dyr

HERD	dyrn.	udgået	årsag
A	6358	01-05-2014	ikke muligt at fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6356	01-05-2014	ikke muligt at fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6352	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6349	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6344	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6338	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6327	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6325	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6176	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6153	01-05-2014	manglende 1. blodprøve
A	6147	01-05-2014	ikke muligt at fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6145	01-05-2014	manglende 1. blodprøve
A	6103	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6085	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6061	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6036	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6020	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	6006	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	5968	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	5957	01-05-2014	manglende 1. blodprøve
A	5953	01-05-2014	ej fundet
A	5851	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	5830	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	5779	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	5778	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	5773	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	5769	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	5768	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	5764	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	5763	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	5757	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	5756	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	5751	01-05-2014	ikke muligt af fikserer/ opstaldet på ujævnt gulv
A	5872	02-05-2014	Negativt tilvækstestimat
B	3830	07-04-2014	død 5 mdr
B	3916	01-05-2014	Negativt tilvækstestimat
C	4205	22-04-2014	død 5 mdr
C	4219	02-03-2014	død 3 mdr
C	4235	02-04-2014	tyr solgt til levebrug
C	4260	28-03-2014	tyr solgt til levebrug
D	3785	01-05-2014	ej fundet

D	3757	01-05-2014	ej fundet
E	4428	28-03-2014	Tyr solgt til levebrug
E	4349	01-05-2014	ej fundet
E	4252	02-05-2014	ej fundet
E	4244	03-05-2014	ej fundet
E	4435	01-05-2014	urealistisk højt tilvækstestimat

## Bilag 7 Varians analyse af data

Estimaterne og SE er taget fra denne del af R-outputtet

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )	
(Intercept)	0.85049	0.06486	13.113	< 2e-16	***
as.factor(ELISAgp)2 Faldet niveau	0.03184	0.06231	0.511	0.609682	
as.factor(ELISAgp)3 Steget niveau	-0.07212	0.05242	-1.376	0.169598	
as.factor(ELISAgp)4 Stabilt hoej	-0.12154	0.05056	-2.404	0.016646	*
as.factor(HERD)B	0.18391	0.07479	2.459	0.014325	*
as.factor(HERD)C	0.15989	0.07442	2.149	0.032228	*
as.factor(HERD)D	0.48737	0.07203	6.766	4.32e-11	***
as.factor(HERD)E	0.25359	0.07122	3.561	0.000411	***
as.factor(HERD)F	0.20889	0.07966	2.622	0.009041	**

P-værdierne for de overordnede effekter

Response: ADWG

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
as.factor(ELISAgp)	3	2.601	0.86714	5.4289	0.001131 **
as.factor(HERD)	5	9.070	1.81402	11.3570	2.604e-10 ***
Residuals	433	69.162	0.15973		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Forskellen på de forskellige grupper er fra denne del:

```
> model2 <- aov(ADWG ~ ELISAgp + HERD, samlet)
```

```
> TukeyHSD(model2)
```

Tukey multiple comparisons of means  
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = ADWG ~ ELISAgp + HERD, data = samlet)

\$ELISAgp

	diff	lwr	upr	p adj
2 Faldet niveau-1 Stabilt lav	-0.00277631	-0.1612969	0.155744318	0.9999669
3 Steget niveau-1 Stabilt lav	-0.09622970	-0.2299587	0.037499257	0.2488500
4 Stabilt hoej-1 Stabilt lav	-0.18708671	-0.3137200	-0.060453413	0.0009115
3 Steget niveau-2 Faldet niveau	-0.09345339	-0.2746870	0.087780200	0.5443572
4 Stabilt hoej-2 Faldet niveau	-0.18431040	-0.3603734	-0.008247423	0.0361402
4 Stabilt hoej-3 Steget niveau	-0.09085701	-0.2449765	0.063262475	0.4261140

\$HERD

	diff	lwr	upr	p adj
B-A	0.17538223	-0.03770883	0.38847330	0.1743845
C-A	0.14113379	-0.06740908	0.34967665	0.3808197
D-A	0.46758623	0.26600742	0.66916503	0.0000000
E-A	0.23776453	0.03725670	0.43827236	0.0097216
F-A	0.19492187	-0.03079422	0.42063795	0.1347705
C-B	-0.03424845	-0.22260180	0.15410490	0.9953594
D-B	0.29220399	0.11159150	0.47281649	0.0000703
E-B	0.06238230	-0.11703411	0.24179871	0.9193451
F-B	0.01953963	-0.18766705	0.22674631	0.9998057
D-C	0.32645244	0.15122916	0.50167572	0.0000023
E-C	0.09663075	-0.07735941	0.27062090	0.6057593
F-C	0.05378808	-0.14873830	0.25631446	0.9739005
E-D	-0.22982170	-0.39540087	-0.06424253	0.0011630
F-D	-0.27266436	-0.46801232	-0.07731641	0.0010644
F-E	-0.04284267	-0.23708529	0.15139996	0.9886372

## Bilag 8 Spørgeskema

Interview af landmænd ang. Mycoplasma bovis

### Spørgsmål om udbruddet:

1. Hvornår blev du første gang opmærksom på at din besætning muligvis havde sygdom relateret til Mycoplasma?
  - a. Tidspunkt \_\_\_\_\_
  - b. Hvordan opdagede i sygdommen?
    1. Tankmælksprøver (PCR/antistoffer)
    2. Individprøver (PCR/antistoffer/dyrkning)
    3. Tilfældigt fund i forbindelse med.....?
2. Hvilke kliniske tegn har I set på ejendommen i de forskellige aldersgrupper (angiv ca. antal):

	Kliniske tegn			Aflivede	Slagtede	Behandlede	Helbredte
	Led	Lunger	Øre/YB				
<b>KALVE</b>							
<b>KVIER</b>							
<b>KØER</b>							

Andre symptomer? \_\_\_\_\_

3. Hvordan valgte i at håndterer sygdommen? (sæt ring og rigtige)
  - a. Udsættelse af alle klinisksyge dyr uden behandlingsforsøg.
  - b. Udsættelse af dyr efter antistof niveau. Grænse? \_\_\_\_\_
  - c. Hvis der er forsøgt behandlet er dette så sket systematisk eller mere tilfældigt?
    - i. Hvilke medikamenter er der forsøgt behandlet med?  
\_\_\_\_\_
    - ii. Hvilke dyregrupper er forsøgt behandlet?  
\_\_\_\_\_

4. Hvilke metoder er brugt til diagnostik:

	Kliniske tegn			Laboratorie		
	Dyrlæge	Rådgiver	anden	Blod	PCR	Ledvæske
<b>1. tilfælde</b>						
<b>Øvrige</b>						

- a. Evt. navn på rådgiver: \_\_\_\_\_
5. Er der udbetalt forsikringssum i forbindelse med udbruddet?  
\_\_\_\_\_
6. Har forsikringsselskaberne påvirket strategien for håndtering/udsætning af syge dyr?  
\_\_\_\_\_

Spørgsmål om besætningen:

### Om antal medarbejder:

7. Hvor mange forskellige mennesker hjælper med til malkning, fodring og pasning i øvrigt af dine kreaturer (Køer, kvier, ungdyr og kalve) Antal: \_\_\_\_\_

**Sygeboks:**

8. Anvendes der sygeboks til køer, kvier og kalve med mycoplasma-mistanke? (ring om rigtige)

Ja i alle tilfælde      Nej      Kun til køer      Kun til kvier      Kun til kalve

**Kælvningsboks:**

- |   |             |             |             |
|---|-------------|-------------|-------------|
| 9. Hvor mange kælver i kælvningsområdet?    | 1           | 2           | Flere       |
| 10. Syge køer i kælvningsområde?            | Aldrig      | sjældent    | altid       |
| 11. Nyfødte forbliver hos moderen og patter | Fjernes >1t | Fjernes >6t | Fjernes <6t |

**Kalve før fravæning:**

**Mælketildeling:**

12. Får kalven tildelt råmælk (min. 4L) <6 t efter fødsel?      ja      nej
13. Hvordan opbevares råmælken? (ring om rigtige)
- a. Tildeles direkte fra moder
  - b. Coloquick
  - c. Egen råmælksbank testet
  - d. Egen råmælksbank ikke testet
14. Hvem har ansvaret for råmælkstildeling? \_\_\_\_\_
15. Pasteuriseres råmælken?      ja      nej

Hvis ja:

- a. Ved hvilken temp.: \_\_\_\_\_
  - b. Varighed: \_\_\_\_\_
  - c. Undersøges det at pasteuriseringen virker?      Ja      nej
  - d. Hvordan tjekkes det? \_\_\_\_\_
16. Hvordan fodres der efter råmælksperioden?
- a. Rest sødmælk fra pencilmælk, celletals og råmælk
  - b. Sødmælk fra tanken + råmælk
  - c. Mælkeerstatning
  - d. Kvier og tyrer fodres ens
  - e. Kvier og tyrer fodres forskelligt
- Hvordan? \_\_\_\_\_
17. Hvis sødmælk, pasteuriseres denne?      ja      nej
- Hvis ja:
- a. Ved hvilken temp.: \_\_\_\_\_
  - b. Varighed: \_\_\_\_\_
  - c. Undersøges det at pasteuriseringen virker?      Ja      nej
  - d. Hvordan tjekkes det? \_\_\_\_\_
18. Hvordan rengøres kalvens drikkebrug/suttespand/sutteautomat?
- a. Dagligt med rent vand, bruger altid det samme brug til samme kalv.
  - b. Ugentligt med rent vand, bruger altid det samme brug til samme kalv.





26. Hvis ja, hvilke fodermidler og hvor mange gange? -

27. Foderhygiejne generel vurdering for alle dyr (kalv, kvier og køer) (1 = foder der er mugen og/eller har taget varme 10 = så rent du selv kunne spise det)

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10

28. Er der perioder i løbet af dagen hvor foderbordet er tomt hos ungdyr/kvier?

Hvis ja hvor længe (i gennemsnit om dagen)? \_\_\_\_\_ min.

29. Er der perioder i løbet af dagen hvor foderbordet er tomt hos køerne

Hvis ja hvor længe (i gennemsnit om dagen)? \_\_\_\_\_ min.

#### Afslutning:

30. Har i ændret nogle af jeres rutiner i forbindelse med eller efter udbrud af kliniske symptomer på Mycoplasma?        ja                nej

31. Hvis ja, Hvilke (flytning, hygiejne, mælkefodring, kælvning, overbelægning.):

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

32. Tak fordi du ville tage dig tid til at svare, jeg har et sidste spørgsmål. Hvorfor har du valgt at deltage i projektet? \_\_\_\_\_

#### Udfyld skitse med billede af ejendom:

Påtegn hvornår og hvordan dyr flyttes på ejendommen og til andre ejendomme. Hvordan kalve flyttes mellem afdelinger. Evt. i hold. Kontakt til andre grupper, sammenblanding, deling af drikke trug i kælvningsområde, kalve osv.

Påtegn hvor slagtebilen, gyllevogn, DAKA og fodervognen kører. Husk forskellige farver.

#### Selvstændig vandring på ejendommen

33. Fysisk adskillelse mellem kalve, hvordan har kalvene kontakt til hinanden?

- Kun 2 og 2
- Kalven har kontakt til 3 eller flere og der er mulighed for spredning af sygdom ned gennem rækkerne
- Er der/kan der være overbelægning i kalve afdelingen? (Meget små bokse, dårlig luft, flere dyr i samme hytte)

34. Fysisk adskillelse mellem køer og kalve

- Ingen mulekontakt overhovedet (separate stalde/staldafsnit, ingen mulighed for kontakt med muler/vand)
- Der er ofte mulighed for tæt kontakt mellem kalve og køer/voksne kvier eller køers/voksne kviers drikkevand (savl)

#### Vurdering af overbelægning:

**Overbelægningsgrad:** (objektivvurdering af liggemuligheder, æde pladser og luftudskiftning)

- Nej (ligge- og æde-plads til alle dyr og mulighed for fri bevægelse)
- Ja, i nogen grad
- Ja, i høj grad (der er ikke ligge- og æde-pladser nok til alle dyr og der er ikke mulighed for fri bevægelighed)

**Opstaldningsforhold:** (objektiv vurdering af opstaldningsforhold)

- Optimal: (alle opfyldt)

- i. Tilstrækkeligt rent foder og vand.
  - ii. Blødt liggeunderlag med rigelig plads.
  - iii. Frihed for unødige smerte og tilskabekomst (evt. fra inventar, glat gulv osv.)
  - iv. God luftudskiftning, uden træk.
2. Middel: (1-2 forhold ej opfyldt)
  3. Dårlig: (3-4 forhold ej opfyldt)

	Overbelægningsgrad	Opstaldningsforhold
Kalvehytter/bokse		
Kvier 1-12 mdr		
Kvier 12 mdr - kælvning		
Køer		
Goldkøer		
Kælvningsareal		

1. interviewers vurdering af foderhygiejne generel vurdering for alle dyr (kalv, kvier og køer) (1 = foder der er mugen og/eller har taget varme og 10 = så rent du selv kunne spise det)

1-----2-----3-----4-----5-----6-----7-----8-----9-----10

#### Efter besøg:

1. Antal kvier: \_\_\_\_\_
2. Antal køer: \_\_\_\_\_
3. Antal tyre: \_\_\_\_\_
4. Race: \_\_\_\_\_
5. Driftstype: \_\_\_\_\_
6. PCR Tankmælk: \_\_\_\_\_ (lav graf)
7. Sygdomsstatus: \_\_\_\_\_
8. Samdrifts chr: \_\_\_\_\_
9. Opgørelse over kalvedødelighed og kødødelighed: Kalve: \_\_\_\_\_ køer: \_\_\_\_\_
10. prøver udtagen mhp. Mycoplasma (individ-mælkeprøver, blodprøver ungdyr)

## Bilag 9 Billeder

Billeder af opstaldnings forhold for kvier i besætning B, C, E og F, billederne er taget med tilladelse fra ejer.

