

Karin Persson Waller  
Djurhälsa och antibiotikafrågor

## **Slutrapport av delstudie II:1 "Är överlevnaden av mikroorganismer på liggytan i Moving Floor-liggbås lägre än i bås som sköts enligt konventionella rutiner?" i projektet "Moving Floor för mjölkkor – hur påverkas kornas komfort och hygien"**

### Syfte

Att undersöka överlevnad av mikroorganismer (gödsel förorening eller simulering av mjökläckage från ko med juverinfektion med *Staphylococcus aureus*) på liggbåsens yta i Moving Floor-bås jämfört med bås som sköts enligt konventionella rutiner.

### Genomförande

I studien jämfördes överlevnad av mikroorganismer på mattan i tre olika liggbåsalternativ (A-C) som alla var placerade i samma stallmiljö men avskilt från gårdens nötkreatur:

A: Moving Floor-liggbås med båsmatta som automatiskt förflyttades förbi en skrapa med regelbundna intervall för att simulera normal förflyttning av mattan då en ko lämnar båset.

B: Båsmatta (samma som A), ej rörlig, där konventionell rengöring simulerades med manuell borttagning av förorening med skrapa (bitar av båsmatta användes – varje bit var av vanlig bredd och minst 30 cm lång)

C: Gummimatta av märke som är vanligt i konventionella liggbåsar, ej rörlig, där konventionell rengöring simulerades med manuell borttagning av förorening med skrapa (bitar av båsmatta användes – varje bit var vanlig bredd och minst 30 cm lång)

Undersökningar som genomfördes var simulering av gödsel förorening och simulering av mjökläckage från ko med juverinfektion med *Staphylococcus aureus*. Alla undersökningar gjordes i triplikat genom att använda tre olika närliggande delar på en ny del av vardera matta. Undersökningar gjordes utan strö och med två olika strömaterial (sågspån och exakthackad halm) och två strömängder per strötyp och tillfälle. Två delomgångar genomfördes samtidigt.

Svabbprov (Amies kolat medium) för bakteriologisk undersökning togs från båsmattans yta vid två tidpunkter (direkt före förorening samt efter 9 timmar). Mattorna rengjordes och desinficerades före start av varje omgång och nya delar av mattan (A) eller nya bitar matta (B, C) användes för varje omgång. Provet efter 9 timmar togs direkt efter skrapning av mattan. Alla moment

såsom provtagning, rengöring, skrapning samt mängd gödsel, mjölk och strö standardiserades noggrant.

Bakteriologiska analyser av svabbprover utfördes vid SVA. Svabbar som togs från delomgångar med gödsel förorening analyserades enligt följande: Svabbarnas innehåll blandades i medium och antalet bakterier per ml medium som växte på hästblodagar (de flesta aeroba bakterier) och på MacConkey-agar (gramnegativa bakterier) samt antalet bakterier som var laktosfermenterande på MacConkey-agar (koliformer t ex *Escherichia coli* och *Klebsiella* spp) beräknades med hjälp av spädningsserier. Svabbar som togs från delomgångar med mjölkförorening analyserades enligt följande: Svabbarnas innehåll blandades i medium och antalet *Staphylococcus aureus* per ml som växte på nötblodagar beräknades med hjälp av spädningsserier. Innan fältstudierna startade genomfördes flera pilotförsök och tester på laboratoriet.

Eftersom varje liggbåsalternativ och undersökningsomgång genomfördes i triplikat erhöles tre bakteriekoncentrationer per alternativ/omgång. För varje undersökningsomgång jämfördes de tre liggbåsalternativen avseende bakterieförekomst före respektive efter förorening deskriptivt. Jämförelser av förändring i bakterieförekomst (totalantal på MacConkey-platta och antal fekala koliformer) mellan prov tagna efter förorening och prov tagna före förorening mellan liggbåsalternativ A-C, mellan strömateriale och mellan strömateriale plus strö mängd gjordes med hjälp av Kruskal-Wallis equality of populations rank test. Skillnader är signifikant säkerställda om p-värdet är mindre än 0,05.

## Resultat

### *1. Gödsel förorening*

Mängden bakterier som växte i proverna tagna före gödsel förorening skiljde inte nämnvärt mellan liggbåsalternativen utom i några enstaka fall då koncentrationen bakterier var lägre för A än för B som i sin tur var lika eller lägre än för C. Koncentrationen var dock så låg relativt efter förorening att den inte bedömdes påverka slutresultatet.

Förekomsten av bakterier oavsett koloniutseende på nötblodagar eller på MacConkeyagar samt förekomsten av bakterier som växte på MacConkeyagar med utseende som fekala koliformer i prov taget 9 timmar efter gödsel förorening och efter rengöring av matta presenteras i Tabell 1. Mängden bakterier som växte på nötblodagar i proverna från alternativ B och C var i de flesta fall för hög för att räknas vilket var väntat.

Tabell 1. Medelkoncentration (n=3) bakterier (kolonier/ml) i prov tagna från tre liggbåsmattor 9 timmar efter förorening med gödsel.

Bakterie- odling	Alternati v <sup>1</sup>	Inget strö	Hackad halm <sup>2</sup>		Sågspån <sup>2</sup>	
			Liten <sup>3</sup>	Stor <sup>3</sup>	Liten	Stor
Växt på nötblad- agar	A	1750	1600	59000	130	800
	B	>10000 0	>10000 0	>10000 0	67000	73000
	C	>10000 0	>10000 0	>10000 0	117000	87000
Total växt på MacConkey	A	<100	<100	<100	<100	<100
	B	260000	235000	900000	120000	11000 0
	C	5900000	1600000	1100000	425000	19500 0
Växt av fekala koliformer	A	<100	<100	<100	<100	<100
	B	250000	205000	350000	7500	34500
	C	5700000	800000	2000000	185000	69000

<sup>1</sup> Liggbåsalternativ A är Moving Floor-bås som förflyttades 1 timme efter förorening och därefter varannan timme, B är samma båsmatta som A och C är en vanligt förekommande kommersiell matta. I alternativ B och C rengjordes mattan på konventionellt sätt strax före provtagning.

<sup>2</sup> Ströet placerades på mattan varpå en bestämd mängd gödsel placerades ovanpå ströet. För att simulera att kon trampar ner gödseln i mattan tryckte trycktes gödseln till med framfoten på stöveln.

<sup>3</sup> Mängden strö som användes definierades som liten eller stor. Liten mängd = mängd som precis täcker ytan på mattan, stor mängd = 2 x liten mängd.

Skillnader i totalt antal bakterier på MacConkey-platta och antal fekala koliformer mellan prov tagna efter förorening och prov tagna före förorening presenteras i Tabell 2. De statistiska beräkningarna visade en signifikant skillnad mellan liggbåsalternativen i både totalantal bakterier ( $p < 0,001$ ) och antal fekala koliformer ( $p < 0,001$ ) när alla delstudier (olika strötyp) inkluderades. Alternativ A hade lägst och alternativ C högst antal bakterier. Signifikanta skillnader sågs även mellan strötyper (inget, hackad halm, sågspån) för både totalantal bakterier ( $p = 0,025$ ) och antal fekala koliformer ( $p = 0,040$ ). Halm hade högst bakteriekoncentration medan inget strö och sågspån var lika. När man delade in materialet i fem grupper efter strötyp och mängd fanns en tendens ( $p = 0,095$ ) till att grupperna skiljde sig åt (högst i halm/stor och lägst i sågspån/liten) avseende totalantal bakterier men inte för fekala koliformer ( $p = 0,16$ ).

Vid beräkning av skillnader i bakterieantal mellan liggbåsalternativ inom vardera strötyp sågs signifikanta skillnader mellan liggbåsalternativen för både totalantal bakterier och antal fekala koliformer (inget strö ( $p = 0,027$  resp  $0,027$ ), hackad halm ( $p < 0,001$  resp  $< 0,001$ ), sågspån ( $p = 0,002$  resp  $< 0,001$ )). Oavsett strötyp hade alternativ A lägst och alternativ C högst bakteriemängd.

När vi jämförde strömedel för respektive liggbåsalternativ var skattningarna osäkra på grund av lågt antal mätningar. För alternativ A återfanns ingen signifikant skillnad mellan strögrupperna för totalantal bakterier ( $p = 0,21$ ) eller fekala koliformer ( $p = 0,64$ ). För alternativ B sågs en signifikant skillnad mellan strögrupperna ( $p = 0,017$  resp  $p = 0,031$ ) med lägst värden när sågspån användes

(lägst värden för liten mängd). För alternativ C sågs en liknande signifikant skillnad ( $p=0,016$  resp  $p=0,012$ ) mellan strögrupperna med lägst värden för stor mängd sågspån.

Tabell 2. Skillnader i bakteriekoncentration i prov tagna från liggbåsmattor efter jämfört med före förorening med gödsel angivet som medelkoncentration ( $n=3$ ) bakterier (kolonier/ml)

Bakterie- odling	Alternativ <sup>1</sup>	Inget strö	Hackad halm <sup>2</sup>		Sågspån <sup>2</sup>	
			Liten <sup>3</sup>	Stor <sup>3</sup>	Liten	Stor
Total växt på Mac- Conkey	A	0	0	0	-818	-167
	B	353 000	270 000	900 000	6 000	110 000
	C	5 900 000	1 633 000	1 967 000	353 000	187 000
Växt av fekala koli- former	A	0	0	0	-600	-33
	B	347 000	213 000	497 000	6 233	19 000
	C	5 733 000	833 000	1 133 000	200 000	58 000

<sup>1</sup> Liggbåsalternativ A är Moving Floor-bås som förflyttades 1 timme efter förorening och därefter varannan timme, B är samma båsmatta som A och C är en vanligt förekommande kommersiell matta. I alternativ B och C rengjordes mattan på konventionellt sätt strax före provtagning.

<sup>2</sup> Ströet placerades på mattan varpå en bestämd mängd gödsel placerades ovanpå ströet. För att simulera att kon trampar ner gödseln i mattan tryckte trycktes gödseln till med framfoten på stöveln.

<sup>3</sup> Mängden strö som användes definierades som liten eller stor. Liten mängd = mängd som precis täcker ytan på mattan, stor mängd = 2 x liten mängd.

2. *Simulering av mjökläckage från ko med juverinfektion med Staphylococcus aureus*  
Inga *S. aureus*-bakterier återfanns i prover tagna före förorening. Upprepade försök med förorening av olika koncentrationer av *S. aureus*-bakterier i mjölk utan strö samt uppföljning vid olika tidpunkter genomfördes liksom försök med liten mängd hackad halm och liten mängd sågspån. Tyvärr återfanns inte *S. aureus*-bakterier i den bakterieinblandade mjölken utom i något enstaka fall och i vissa fall sågs förorening av andra bakterier vilket försvårade identifieringen av *S. aureus*. Säker identifiering av *S. aureus* (ca 100 kolonier/ml) i uppföljande prover från båsmattorna återfanns endast i några prover tagna 4 timmar efter mjölkförorening av båsmattan i alternativ B och C i delstudien där liten mängd sågspån använts.

### Diskussion

Resultaten visade mycket lägre bakterieförekomst på mattan i Moving Floor-båset (A) än på mattan i de andra alternativen vid provtagning efter att synlig gödsel och eventuellt strö skrapats bort (B och C) 9 timmar efter gödsel förorening. Detta var väntat då principen för Moving Floor-båset är att gödsel som förorenat bakre delen av båsmattan skrapas av från mattan då mattan flyttas bakåt direkt efter att kon lämnat båset vilket innebär att gödseln får ligga ganska kort tid på mattan. I övriga alternativ lät vi gödseln ligga kvar i 9 timmar för att efterlikna en vanlig situation i mjölkstall där manuell rengöring av liggbåsen sker två gånger per dygn. I ett konventionellt liggbås

innebär detta att nästa ko som vill använda båset måste lägga sig på den gödsel-förorenade mattan och därmed kan ben och juver bli förorenade med gödsel vilket kan vara negativt för hudkvalitet och juverhälsa.

Förutom att gödseln skrapas av snabbt i Moving Floor-bås är den matta som används i båset slätare än konventionella gummimattor. En slätare yta är lättare att skrapa av och göra ren vilket blev tydligt i studien eftersom bakterieförekomsten efter avskrapning av gödseln alltid var lägre på denna matta (alternativ B) än på den konventionella mattan (alternativ C). En nackdel med en slät matta kan dock vara en ökad risk att korna halkar speciellt om mattan är fuktig.

Undersökningen visade också på skillnader i bakterieförekomst på båsmattan beroende vilket strö som använts. Förekomsten var alltid högst när hackad halm användes som strömedel och oftast lägst när sågspån användes. Skillnaden mellan ströalternativen var dock tydlig endast i liggbåsalternativ B och C medan strötyp (dvs inget strö, hackad halm, sågspån) inte hade betydelse för bakterieförekomsten på mattan i Moving Floor-bås. Skillnaden mellan sågspån och hackad halm för båset B och C kan bero på att sågspån är mer finfördelat och mer fuktabsorberande än hackad halm. Att använda strö på båsmattan har inte enbart betydelse för mattans renhet men har också stor betydelse för korns komfort eftersom liggunderlaget blir mjukare och risken för nötning av huden mot underlaget minskar.

Denna studie är en experimentell studie utförd i stallmiljö. Studien designades för att efterlikna vad som kan hända i ett lösdriftsstall. Jämförande studier mellan Moving Floor-bås och konventionella båset bör dock också göras i ett riktigt mjölkstall med djur för att få en korrekt bedömning av skillnaden i renhet mellan kor som exponeras för de olika systemen.

En invändning mot studiens design är att skillnaden mellan Moving Floor-båset och de övriga alternativen blir missvisande liten eftersom proverna togs efter att gödsel och eventuell strö skrapats bort från alternativ B och C. För att efterlikna den sanna skillnaden mellan Moving Floor-bås och de andra alternativen hade det kanske varit mer korrekt att ta prov innan avskrapning eftersom detta bättre reflekterar den miljö som korna skulle kunna exponeras för. Skillnaden var dock mycket tydlig för själva ögat eftersom all gödsel var borta från den exponerade ytan i alternativ A (Moving Floor-bås) när det var dags att skrapa alternativ B och C. Resultaten från den genomförda studien visar dock att det i jämförelse med Moving Floor's koncept inte är möjligt att lika effektivt rengöra liggbåsmattan manuellt med skrapa vilket kan innebära att gödsel ackumuleras på mattans yta i konventionella system.

Ett annat syfte med studien var att undersöka skillnader i förekomst av *S. aureus* efter simulerat mjölk-läckage. Tyvärr var det svårt att få bakterierna att överleva under de experimentella förhållandena varför det inte går att dra några slutsatser från dessa undersökningar.

### Slutsatser

I Moving Floor-bås med automatisk avskrapning var båsmattan mycket renare efter simulering av gödsel-förorening än båsmattan i de två alternativ som sköttes enligt konventionella rutiner med manuell avskrapning oavsett om strö använts eller inte innan gödsel-förorening. När hela materialet analyserades sågs att underlaget generellt var renare när sågspån användes jämfört med hackad

halm eller inget strö. Renheten på båsmattan i Moving Floor-bås var dock likadan oavsett om strö använts eller inte.

Rena liggbås är en viktig förutsättning för att korna ska hålla sig rena vilket i sin tur är bra för djurens välfärd och minskar risken för hasskador samt juverinflammation (mastit) orsakad av miljöbakterier.

#### Tack

Stort tack till Jordbruksverket för finansiering av studien och till Daniel Sjölund, Stånga, och Maria Persson, SVA, för genomförandet av studien i fält respektive laboratorieanalyser samt till Ann Nyman, SVA, för statistisk bearbetning av resultaten.