

Loppuraportti

Makera-hanke MMM 1490/03.01.02/2016, 1.3.2017-30.9.2020

Mycoplasma bovis -tartunnan hallinta nautojen lisääntymisteknologiassa

1. Hankkeen tavoitteet

Hankkeen yleisenä tavoitteena oli parantaa keinoja hallita *Mycoplasma bovis* -bakteerin leviämistä nautakarjataloudessa keinollisen lisääntymisen kautta. Tämän saavuttamiseksi hanke sisälsi viisi osatyötä tavoitteineen:

1. *M. bovis* -bakteerin leviämisen estäminen siemenannoksen mukana. Tavoitteena oli selvittää, miten teollisessa siementuotannossa käytettävät sperman käsittelyt ja antibiootit vaikuttavat *M. bovis* -bakteerin elinvoimaan ja säilymiseen lopputuotteessa, pakasteoljessa, ja miten herkkiä Suomesta eristetyt *M. bovis* -bakteerit ovat antibiooteille. Tähän liittyen tutkimme myös Suomen *M. bovis* -tartuntojen epidemiologiaa ja antibioottiherkkyyttä bakteerin perimään perustuen.
2. *M. bovis* -bakteerin leviämisen esto alkiosirron yhteydessä. Alkiotuotannossa tavoitteena oli selvittää, siirtyykö tartunta kontaminoituneesta siittiöstä tai kontaminoituneesta munasolusta hedelmöityksen jälkeen alkioon ja vaikuttaako *M. bovis* -bakteeri alkionkehitykseen.
3. Tartunnan esiintyvyydestiedon tuottaminen riskinarviointia varten. Tavoitteena oli saada taustatietoa, kuinka usein kaupallinen siemen on kontaminoitunut *M. bovis* -bakteerilla ja millainen tartuntavaara syntyy käytettäessä alkiotuotannossa teurastamolilta kerätyjä munasoluja.
4. *M. bovis* -positiivisen siemenen käyttöön liittyvä tartuntariski. Tavoitteena oli määrittää, millainen riski oli saada tartunta sellaiseen karjaan, jossa oli käytetty *M. bovis* -positiivista siementä.
5. Luotettavat laboratoriomenetelmät siemenannosten ja alkoiden omavalvontaan. Tavoitteena oli saada käyttöön luotettavat laboratoriomenetelmät *M. bovis* -bakteerin toteamiseen siemenannoksissa ja alkiotuotannossa ja -siirroissa.

2. Osapuolet ja yhteistyö

- Sinikka Pelkonen (vastuututkija), Tarja Pohjanvirta, Tiina Autio, Nella Vähänikkilä, eläintautibakteriologia ja -patologia, Ruokavirasto, Kuopio. Vastuu: hankkeen johto, *M. bovis* -tartunnan asiantuntija- ja laboratoriotyöt kaikissa osatyöissä
- Henri Simonen, Viking Genetics Ltd, Suomi ja Tanska. Vastuu: keinosiemennyssonneihin ja spermantuotantoon liittyvä asiantuntemus, *M. bovis* -kontaminaatiokoe pakasteolkien tuotannossa (osatyöt 1)
- Jani Halkilahti, asiantuntijamikrobiologian yksikkö, Terveyden ja hyvinvoinnin laitos (THL). Vastuu: *M. bovis* -bakteerin perimän bioinformatiikka (osatyö1)
- Jaana Peippo, Mervi Mutikainen, Heli Lindeberg, Luonnonvarakeskus LUKE, Jokioinen ja Maaninka. Vastuu: Alkiotuotannon asiantuntemus, osallistuminen alkiotutkimuksen laboratoriotyöhön (osatyö 2, 3)
- Vera Haapala, Timo Soveri, Heli Simojoki, eläinlääketieteellinen tiedekunta, Helsingin yliopisto (HY), Mäntsälä ja Helsinki. Vastuu: Epidemiologinen tutkimus kontaminoituneen sperman käytöstä (osatyö 4)

Projektiryhmän osapuolten yhteistyö kohdistui eri osatöihin ja toimi niissä erittäin hyvin. VikingGeneticsin toiminnan suuret muutokset hankkeen käynnistysvaiheessa vaikuttivat tutkimuksen toteutukseen ja hankesuunnitelmaa tarkistettiin ohjausryhmässä sen mukaisesti.

Ruokaviraston asiantuntijat osallistuivat hankkeen aikana myös eurooppalaisen CoVetLab-hankkeen *M. bovis* -hankkeeseen sekä olivat yhteistyössä Australian ja Uuden-Seelannin *M. bovis* -tutkijoiden kanssa.

3. Tulokset

Tulokset esitetään osatöittäin 1-5. Käytimme hankkeessa Ruokaviraston *M. bovis* -kantakokoelmaa, joka koostuu suomalaisista *M. bovis* -karjoista eristetyistä bakteerikannoista vuosilta 2012-2020. *M. bovis* -diagnoosissa käytettiin viraston akkreditoitua PCR-testiä ja viljelyä.

3.1. *M. bovis* -bakteerin leviämisen estäminen siemenannoksen mukana

Tulokset

Osatyössä tutkittiin, säilyykö *M. bovis* elossa kaupallisessa keinosiemennysolkien tuotannossa käytettäessä nykyisiä suositeltavia käsittelyjä. Sperman infektiokokeet ja käsittely teollisen tuotantotavan mukaan pakasteoljiksi tehtiin Viking Geneticsin Hollolan laboratoriossa. Ennen sperman käsittelyä siihen lisättiin vaihtoehtoisesti kahta *M. bovis* -kanta pitoisuuksilla 10^6 tai 10^3 CFU/ml. Kannoista toinen oli eristetty Suomessa käytetystä kaupallisesta pakastespermasta. Olkituotannossa käytettiin joko Maailman Eläinterveysjärjestö OIE:n mukaista alhaista antibioottisepitoisuutta (gentamysiini, tylosiini, linkomysiini, spektinomysiini) (GTLS) tai USA:n Certified Semen Services -järjestön edellyttämää korkeaa GTLS-pitoisuutta. Lisäksi tutkittiin fluorokinolonien ryhmään kuuluvan ofloksasiinin vaikutusta bakteeriin. Elävät *M. bovis* -bakteerit osoitettiin rikastusviljelystä reaaliaika-PCR-testillä. Kummallakaan antibiootikäsittelyllä ei ollut vaikutusta *M. bovis* -kantoihin korkeissa bakteeripitoisuuksissa. Sen sijaan matalassa bakteeripitoisuudessa USA:n Certified Semen Services -järjestön edellyttämä korkea GTLS-pitoisuus tehoi kumpaankin kantaan ja osoittautui siten paremmaksi menettelyksi.

M. bovis -bakteerin antibioottiherkkysmäärittäminen menetelmä pystytettiin Kuopiossa käyttäen kaupalliselta valmistajalta tilattua tähän tarkoitukseen suunniteltua nestelaimennoslevyä. MIC-määrittysten perusteella kannoista 99 % oli resistenttejä oksitetrasyklinille, kaikilla oli alentunut herkkyys tai olivat resistenttejä florfenikolille ja 35 % oli resistenttejä tulatromysiinille.

Kokogenomisekvenssin analytiikkaan kehitettiin THL:ssä bioinformatiikkatyöväu käyttäen nk. RIDOM-sovellusta, bakteerigenomit sekvensointiin Ruokavirastossa. Alustavien tulosten mukaan suomalaiset kannat ovat perimältään hyvin homogeenisia. Kontaminoituneen sperman välityksellä tartunnan saaneet lypsykarjat muodostivat spermakantojen kanssa oman ryppään. Parhailaan etsitään antibioottiresistenssiä aiheuttavia mutaatioita kokogenomisekvenssidatasta.

Toteutusvaiheen arviointi

Sperman infektiokokeet pystyttiin sopivasti tekemään Viking Geneticsin laboratoriossa, koska spermalaboratorion toiminta oli juuri päättynyt asemalla. Toisaalta koesarjaa ei pystytty toistamaan, koska vastaavaa laboratoriota ei ollut enää käytettävissä.

Yhteistyö THL:n ja Australian Melbournen yliopiston kanssa mahdollisti *M. bovis* -perimän bioinformatiikan.

Julkaisut

1. T. Pohjanvirta, N. Vähänikkilä, H. Simonen, S. Pelkonen and T. Autio. The effect of different extender protocols on viability of *Mycoplasma bovis* in bovine semen. European Mycoplasma Conference, 18.-19.3.2019, Lontoo. Posterisitys.
2. Pohjanvirta et al. Pohjanvirta T, Vähänikkilä N, Simonen H, Pelkonen S, Autio T. Efficacy of Two Antibiotic-Extender Combinations on *Mycoplasma bovis* in Bovine Semen Production. Pathogens. 2020 Sep 30;9(10):808. doi: 10.3390/pathogens9100808.
3. Tieteellisen julkaisun käsikirjoitus valmisteilla *Mycoplasma bovis* -bakteerin genetiikasta

3.2. *M. bovis* -bakteerin leviämisen esto alkiosiiirron yhteydessä

Tulokset

Osatyössä tutkimme, siirtyykö tartunta bakteerin tartuttamasta siittiöstä hedelmöityksessä munasoluun ja kontaminoituneesta munasolusta alkioon sekä vaikuttaako *M. bovis* -bakteeri alkionkehitykseen. Naudan munasolut alkiotuotantoa varten haettiin teurastamolta. Alkoiden kasvatus ja siihen liittyvät tartutuskokeet tehtiin LUKEn menetelmäohjeiden mukaisesti Ruokaviraston Kuopion laboratoriossa. Munasolujen hedelmöitys onnistui hyvin, koesarjoissa saatiin suuri määrä kehittyviä alkioita. Kokeissa käytettiin *M. bovis* luonnollisesti infektoimaa sonninspermaa sekä kokeellisesti bakteerilla ympättyä sonninspermaa. Monimutkaisissa koesarjoissa tartutettiin myös munasoluja ennen hedelmöitystä sekä alkioita varhaisessa kehitysvaiheessa. Päähavaintona oli, ettei *M. bovis* -bakteeri siirtynyt kontaminoituneesta spermasta hedelmöityksen jälkeen eikä kontaminoituneesta munasoluista alkioihin. Se ei myöskään haitannut alkoiden kehittymistä.

Toteutusvaiheen arviointi

Alkiontuotanto LUKEn avustuksella onnistui hyvin Ruokaviraston laboratoriossa, jossa oli mahdollisuus tehdä infektiokokeita.

Julkaisut

4. T Pohjanvirta*, Vähänikkilä N, Mutikainen M, Lindeberg H, Pelkonen S, Peippo J and T. Autio. Transmission of *Mycoplasma bovis* infection in in vitro embryo production. Käsikirjoitus
5. N. Vähänikkilä, M. Mutikainen, H. Lindeberg, T. Pohjanvirta, J. Peippo, S. Pelkonen and T. Autio. Experimental infection of bovine cumulus oocyte complexes with *Mycoplasma bovis*. European Mycoplasma Conference, 18.-19.3.2019, Lontoo. Posterisitys.
6. Peippo J, Vähänikkilä N, Mutikainen M, Lindeberg H, Pohjanvirta T, Simonen H, Pelkonen S, Autio T. Absence of transmission of *Mycoplasma bovis* via naturally contaminated semen during in vitro fertilization. International Embryo Technology Society (IETS), 16-19.1 2020, New York City, USA. Posterisitys.

3.3. Tartunnan esiintyvyydestä tuottaminen riskinarviointia varten

Tulokset

Tavoitteena oli saada taustatietoa, kuinka usein kaupallinen siemen on kontaminoitunut *M. bovis* sekä millainen tartuntavaara koeputkialkoiden tuotannossa syntyy käytettäessä teurastamolta satunnaisesti kerättyjä munasoluja. *M. bovis* -määritykseen saatiin pakastespermaalkia Tanskasta Viking Genetics:ltä 86 nuorsonnista yhteensä 277 erää, 2 olkea jokaisesta erästä, vuosilta 2016 – 2018. LUKEn alkionsiirtoryhmä keräsi *M. bovis* -määritystä varten 9 erää follikkelinesteitä munasarjoista, jotka tuotiin Kauhajoen tai Paimion teurastamoista LUKEn normaalia alkiontuotantoa varten. Kukin erä oli peräisin usean karjan eläimestä. *M. bovis* -määritettiin rikasteviljelystä PCR:llä. Mistään pakasteolki- tai follikkelinestestä ei löytynyt

M. bovis -bakteeria. Pakasteolkien kielteiset tulokset tukivat ennako-odotusta *M. bovis* -hyvin harvinaisesta esiintyvyydestä kaupallisessa spermassa. Follikkelinesteiden *M. bovis* -kielteisyyden antoi luottamusta LUKEn laboratoriolle toiminnan turvallisuudesta *M. bovis* -suhteen.

Toteutusvaiheen arviointi

Kaupallisten pakasteolkien saaminen Tanskasta oli vaikeaa ja piti tyytyä siihen mitä saatiin. Follikkelinestetutkimus rajattiin LUKEn alkioetuotannon aineistoon ja pyrittiin selvittämään tartuntariskiä koeputkialkioiden laboratoriotuotannossa. Otanta oli pieni, ottaen huomioon Suomen tautitilanne sekä yleinen tiedonvaja *M. bovis* esiintymisestä munasarjoissa tartuntaa kantavissa eläimissä.

Julkaisut

Tuloksia ei julkaista tieteellisesti vaan ne jäivät tutkimusryhmän käyttöön.

3.4. *M. bovis* -positiivisen siemenen käyttöön liittyvä tartuntariski

Tulokset

Tavoitteena oli määrittää, millainen riski oli saada tartunta sellaiseen karjaan, jossa oli käytetty *M. bovis* -positiivisen sonnin siementä. Työssä käytimme hyväksi osoittamaamme löydöstä spermaan liittyneestä karjan *M. bovis* -tartunnasta Suomessa. Olimme aiemmin tutkineet kyseiseltä sonnilta useita pakasteolkieriä *M. bovis* -varalta ja pystyimme kohdistamaan riskianalyysin sen mukaan. Aineisto saatiin M-Techistä. Se sisälsi Faban siemennystiedoista kaikkien 1.1.2008 alkaen syntyneiden lehmien tiedot, jotka olivat olleet jossain vaiheessa samalla tilalla kuin tunnetut *M. bovis* -positiivisella siemennetyt lehmät. Data sisälsi 329 577 lehmän siemennystiedot, luomiset, hoidot, lopetukset ja teurashylkäykset. *M. bovis* -positiiviseksi tiedetyillä sonnilla oli siemennetty 2006 ja -positiiviseksi tiedetyillä erällä oli siemennetty 269 lehmää. Data analysoitiin univariaabeli-analyysillä. Analyysi osoitti selkeän eron tilan todennäköisyydelle olla *M. bovis* -positiivinen, jos tila oli käyttänyt *M. bovis* -positiiviseksi tiedettyä siemenerää verrattuna tiloihin, jotka olivat käyttäneet muita eriä mukaan lukien siemeneriä joiden *M. bovis* -status oli tuntematon.

Toteutusvaiheen arviointi

FABAn datasta puuttuivat siemennystiedot 22 %:ssa siemennyksiä. Tunnetuista siemennyksistäkin osa on voinut olla *M. bovis* -positiivisia ilman tietoa asiasta, joten tämän ei katsottu olevan ongelma. Tutkimuksessa verrattiin tunnettuja *M. bovis* -positiivisia siemeneriä tai -positiiviseksi tiedetyn sonnin siemennyksiä muihin.

Julkaisut

7. Tieteellisen julkaisun käsikirjoitus on viimeistelyvaiheessa ja tavoitteena on julkaista artikkeli vuonna 2021 (Haapala et al. xxx).

3.5. Luotettavat laboratoriomenetelmät siemenannosten ja alkioiden omavalvontaan.

Tulokset

Tavoitteena oli saada käyttöön luotettavat laboratoriomenetelmät *M. bovis* -bakteerin toteamiseen siemenannoksissa ja alkionsiirrossa. Thermo Fisherin kehittämää *M. bovis* -PCR -menetelmää testattiin yhteistyössä Ruokavirastossa Kuopiossa, Thermofischerillä Vantaalla ja Eurofinsin Tanskan laboratoriossa. Työssä käytettiin laimennettua sonnien spermaseosta ja kahta eri *M. bovis* -kanta (ATCC ja tanskalaisen sonnin spermasta eristetty kanta). Reaaliaika-PCR menetelmä osoittautui herkäksi menetelmäksi *M. bovis* -DNA:n osoittamiseen naudan spermasta ja soveltuu laajaan spermaerien testaukseen. Kannat käyttäytyivät kuitenkin eri tavalla: ATCC -kannan osoitusraja oli 1.4×10^2 CFU/ml spermata, kun taas sonnin spermakannan kymmenen kertaa korkeampi. Vertasimme myös kolmea eri DNA-eristysmenetelmää *M. bovis* osoittamiseksi

keinosiemennysspermasta. Vertailussa InstaGene™ Matrix-kitti antoi herkimmän tuloksen. Se on lisäksi edullinen käyttää, tosin vaatii käsin pipetointia.

Julkaisut

Sperman tutkimusmenetelmä on julkaistu osatyön 1 julkaisussa (2).

8. N Vähänikkilä, T Pohjanvirta, L Vaahtoranta, M Silvennoinen, S K Skovgaard Jensen, S Pelkonen, T Autio. Detection of Mycoplasma bovis in bovine semen. 22nd Congress of the International Organization of Mycoplasmaology, 9.-12.7.2018 Portsmouth, NH, USA. Posterisitys.

4. Tulosten arviointi

4.1. Tulosten käytännön sovelluskelpoisuus

Hanke oli tavoitteiltaan käytännönläheinen. Osoitimme, etteivät sonninsperman nykyiset teollisen tuotannon käsittelymenetelmät takaa, että kaupallisesti myytävä pakastesperma olisi *M. bovis* -vapaata. Erityisesti OIE:n koodin mukainen käsittelysuositus toimii heikommin kuin USAn Certified Semen Services -järjestön suosittama käsittely. Tutkimus on kiinnostanut muun muassa kansainvälisen spermakaupan viranomaisia EU:ssa ja erityisesti Uutta-Seelantia. Nähtäväksi jää, johtaako tieteellinen julkaisumme toimenpiteisiin käsittelymenettelyjen parantamiseksi. Keinosiemennyssonnit erittäin harvoin erittävät spermassa *M. bovis* -bakteeria ja omassa tutkimuksessa ei missään vuosien 2016-18 nuorsonnien pakasteoljissa ollut *M. bovis*. Koska tartunta on hyvin yleinen monessa maassa, ja siten tartunnat suoraan eläimestä toiseen yleisiä, ei spermaa monessakaan maassa pidetä suhteellisesti merkittävänä tartuntalähteenä. Epidemiologinen retrospektiivinen tutkimuksemme osoitti Suomen oloissa moninkertaisen riskin saada tartunta karjaan käytettäessä *M. bovis* -positiivista siementä. Karjoja tartuttaneiden *M. bovis* -kantojen geneettisessä vertailussa kontaminoituneen sperman välityksellä tartunnan saaneet lypsykarjat muodostivat spermakantojen kanssa oman ryppäänsä. On tärkeä tiedostaa, että kaupallinen pakastesperma voi sisältää elävää *M. bovis* -bakteeria ja voi siten toimia tartunnanlevittäjänä, etenkin jos oljet on tuotettu laajasti hyväksytyllä OIE-koodin mukaisella käsittelyllä. Kuvassimme myös tehokkaan DNA-eristysmenetelmän käytettäväksi sperman *M. bovis* -diagnostiikassa. Menetelmää voidaan hyödyntää spermaerien tutkimisessa, mikäli niin halutaan. Sitä kannattaa käyttää diagnostiikassa tutkittaessa spermaa tai pakasteolkia *M. bovis* -varalta.

Suomen *M. bovis* -kantojen antibioottiresistenssi on nautakarjataloudessa käytettävälle antibiooteille huolestuttavan korkea, jolloin lääkitykset eivät tehoa. *M. bovis* aiheuttaa nuorten eläinten kasvattamoissa tyypillisesti hengitystietulehduksia, joita joudutaan lääkitsemään antibiooteilla.

Alkionsiirto joko huuhtelualkioilla tai koeputkialkioilla lisääntyy jatkuvasti nautajanjalostuksessa. Alkionsiirron bioturvallisuuden kannalta on hyödyllistä tietää, ettei *M. bovis* -tartunta siirry kontaminoituneesta siittiöstä munasoluun. Bakteeri ei myöskään *in vitro* alkioituotannossa siirry munasolun pinnalta tai follikkelinesteestä alkioon.

4.2. Tulosten tieteellinen merkitys

Hankkeessa saatiin tieteellisesti arvokkaita tuloksia, jotka pyritään julkaisemaan useammassa vertaisarvioidussa "open access" -julkaisussa tiedeyhteisön käyttöön. Tulokset kaupallisessa tuotannossa käytettävistä sperman käsittelymenetelmistä on julkaistu ansiokkaassa kansainvälisessä alan julkaisusarjassa. Alan tutkimuksia on julkaistu vähän. Hankkeessa syntyvät julkaisut lisäävät siksi merkittävästi tietoa tutkimusaiheesta. Saamamme tulokset osin poikkeavat

aiemmista havainnoista, mikä voi johtua erilaisista kokeellisen tutkimuksen koeolosuhteista ja -menetelmistä sekä käytetyistä *M. bovis* -bakteerikannoista. Hankkeesta laadituissa tieteellisissä julkaisuissa käsitellään yksityiskohtaisesti tulosten tieteellistä merkitystä ja suhdetta aiemmin julkaistuun tietoon.

5. Tiivistelmä ja toimintasuositukset

5.1. Tiivistelmä

Hankkeen tavoitteena oli selvittää, millaisia riskejä nautakarjataloudessa käytettävät keinollisen lisääntymisen tekniikat aiheuttavat *M. bovis* -bakteerin leviämislle karjoihin sekä tuottaa tietoa näiden riskien hallintaan. Retrospektiivinen epidemiologinen tutkimus osoitti, että Suomen oloissa karjalla oli moninkertainen riski saada tartunta käytettäessä *M. bovis* -positiivista siementä. Geneettinen analyysi suomalaisten karjojen *M. bovis* -kannoista paljasti ryppään samanlaisen bakteerikannan infektoimia karjoja. Toisaalta osoitimme, että *M. bovis* esiintyy hyvin harvoin keinosiemennyksessä käytettävissä pakasteoljissa. Tutkimuksemme mukaan nykyiset teollisen tuotannon käsittelymenetelmät sonninspermalle eivät takaa, että kaupallisesti myytävä pakastesperma olisi *M. bovis* -vapaata. Erytisesti Maailman Eläinterveysjärjestön OIE:n koodin mukainen käsittelysuositus toimii heikommin kuin USAn Certified Semen Services -järjestön suosittama käsittely. Alkionsiirron puolella tutkimme kokeellisesti *M. bovis* -bakteerin vaikutuksia koeputkialkioiden tuotannossa. *M. bovis* ei siirtynyt hedelmöityksessä kontaminoituneesta spermasta munasoluun eikä kontaminoituneesta munasolusta alkioon, eikä bakteeri haitannut alkioden kehittymistä. Hankkeessa kasvatettiin valmiuksia *M. bovis* -tartunnan tutkimukseen, kuten bakteeriperimän analysoinnissa tarvittava bioinformatiikka, antibioottiherkkyyden määrittäminen sekä *M. bovis* -bakteerien luotettava osoittaminen spermasta. Totesimme suomalaisten *M. bovis* -bakteerien olevan varsin resistenttejä tärkeimmille nautojen *M. bovis* -hoidossa käytettäville antibiooteille. Suomen nautakarjojen tartunta osoittautui eristettyjen bakteerien genetiikkaa vertailemalla varsin yhtenäiseksi muistuttaen vastaavana aikana Tanskassa levinnyttä tartuntaa. Hanke loi runsaasti kansainvälistä alan yhteistyötä.

5.2. Toimintasuositukset

Tutkimus osoitti, että lypsykarjatiloihin on moninkertainen riski tulla *M. bovis* -positiiviseksi, jos lehmille on käytetty siemennyksessä *M. bovis* -positiivista siemenerää. Sen tähden jatkossa pitäisi pyrkiä varmistamaan mahdollisuus siementää *M. bovis* -negatiivisella tai tarpeeksi tehokkaalla antibiootilla käsitellyllä siemenerällä, ettei uusia laajempia tartuntaryppäitä syntyisi siemennyksen kautta.

Tehokkain tapa tuottaa puhtaita pakastespermaoljia olisi seuloa sonniasemalle valitut sonnivasikat ja lähtökarjat tartunnan varalta, koska tartunta leviää herkästi eri karjoista saapuvien nuorten eläinten keskuudessa, jos yksikin eläin on sairastunut. Sonninsperman teollista käsittelyä tulisi kehittää siten, että *M. bovis* tuhoutuu tehokkaammin ja pakasteoljet olisivat puhtaita tartunnasta. Antibioottiresistenssin kehittymisen takia käsittelyn tehokkuutta tulisi seurata riittävän usein edustavalla määrällä *M. bovis* -kantoja. Tartuntatilanteen mukaan olisi aiheellista tutkia ajoittain nuorsonnien sperma *M. bovis* -varalta.

M. bovis -bakteerien antibioottiresistenssiä tulee seurata, mikä edellyttää tautidiagnostiikkaa ja bakteerikantojen eristämistä. Diagnostiikalla ja epidemiologisella tautiseurannalla tuetaan *M. bovis* -tartunnan hallintaa nautakarjataloudessa. Sen avulla lisätään valmiutta havaita tartuntalähteitä ja tarvittaessa tutkia niitä tarkemmin leviämisen hallitsemiseksi.