



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

Celltalet som en möjlig indikator för juverinfektion med
Staphylococcus aureus
- ett hjälpmedel för ostproducerande getbesättningar

Åsa Järnberg

Uppsala

2013

Examensarbete inom veterinärprogrammet

ISSN 1652-8697
Examensarbete 2013:36

Somatic cell count as a possible indicator of udder infection
with *Staphylococcus aureus* in dairy goat farms – an aid in
cheese producing goat herds

Åsa Järnberg

Handledare: Karin Persson Waller, Enheten för djurhälsa och antibiotikafrågor, SVA, samt Institutionen för kliniska vetenskaper, SLU

Biträdande handledare: Ylva Persson, Enheten för djurhälsa och antibiotikafrågor, SVA, samt Växa Sverige
Biträdande handledare: Patrice Humblot, Institutionen för kliniska vetenskaper, SLU

Examinator: Karin Östensson, Institutionen för kliniska vetenskaper, SLU

Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2013
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper
Kurskod: EX0736, Nivå A2E, 30hp

Nyckelord: Get Celltal Staphylococcus aureus mjölk CMT tankcelltal gränsvärde subklinisk mastit getost
Key words: Goat somatic cell count Staphylococcus aureus milk dairy bulk tank milk cut off subclinical mastitis CMT goat cheese

Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>
ISSN 1652-8697

Examensarbete 2013:36

Innehåll

SAMMANFATTNING	5
SUMMARY	6
LITTERATURÖVERSIKT	7
Ostproduktion och livsmedelshygien	7
Mastit	8
Bakteriologisk odling vid diagnos av juverinfektioner	9
Celltalet som inflammationsmarkör	10
Celltalsgränser för att indikera juverinfektion hos getter	10
CMT vid mastitdiagnostik hos get	11
PCR- och celltalsanalys av tankmjölk som indikator på besättningens juverhälsa	12
SYFTE	14
MATERIAL OCH METODER.....	15
Besättningar och getter.....	15
Provtagning	15
Undersökning av celltal	16
Bakteriologisk undersökning	16
Statistiska metoder	16
RESULTAT	18
Odlingsresultat	18
Celltal mätt med DeLavals celltalsräknare	20
Celltalet undersökt med CMT.....	22
Gränsvärden för celltal.....	24
Tankprovsresultat.....	25
DISKUSSION	26
Förekomst av juverinfektioner	26
Mätning av celltal för att identifiera juverhalvor infekterade med S. aureus.....	26
Celltal och PCR-undersökning för S. aureus av tankmjölk	30
Konklusion	32
Råd till djurägarna	33
Tack	33
REFERENSER	34

SAMMANFATTNING

Vid bakteriologisk undersökning av ostmassa i svenska getostproducerande besättningar identifieras ofta den patogena bakterien *Staphylococcus (S.) aureus*. Bakterien kan spridas till ostmassan via kontamination från omgivningen eller via infekterad mjölk från getterna. För att minska risken att bakterien hamnar i ostmassan är det viktigt att hitta smittkällan. Syftet med denna studie var att undersöka om celltalsmätning och PCR-analys för *S. aureus* av tankmjölk kan vara ett effektivt hjälpmedel för ostproducerande getbesättningar för att indikera juverinfektion med *S. aureus* hos getterna i besättningen. Syftet var också att undersöka huruvida celltalet mätt med California Mastitis Test (CMT) eller DeLavals celltalsräknare (DCC) kan användas för att identifiera juverhalvor infekterade med *S. aureus* inom besättningen. Till studien insamlades 1051 mjölkprover från båda juverhalvorna hos 530 getter i de 17 besättningar som deltog i studien. Tjugonio tankmjölkprover samlades också in från dessa besättningar. Juverhalvproverna odlades på blodagar och celltal mättes med CMT och DCC. Tankmjölken undersöktes med PCR för närvaro av *S. aureus* och celltalet mättes med DCC. Av alla juverhalvprover var 12 % odlingspositiva för koagulasnegativa stafylokocker (KNS) och 1,2 % (13 prover) för *S. aureus*. Av de 13 *S. aureus*-isolaten var ett penicillinasproducerande. DCC-cellalet för juverhalvor positiva för *S. aureus* varierade mellan 141 000 och 6 206 000 celler/ml och för odlingsnegativa prover mellan 18 000 celler/ml och 6 116 000 celler. DCC-cellalet för juverhalvor infekterade med *S. aureus* (medelvärde 2 206 000 celler/ml) var signifikant högre än för odlingsnegativa juverhalvor (medelvärde 434 000 celler/ml), juverhalvor infekterade med KNS (medelvärde 890 000 celler/ml) och juverhalvor infekterade med övriga (andra än KNS eller *S. aureus*) bakterier (medelvärde 966 000 celler/ml). Signifikant högre var även skillnaden i celltal mellan höger och vänster juverhalva inom geten för *S. aureus* (medelvärde 1 685 000 celler/ml) än för odlingsnegativa individer (medelvärde 154 000 celler/ml) och individer positiva för KNS (medelvärde 975 000 celler/ml) eller för övriga bakterier i minst en juverhalva (medelvärde 466 000 celler/ml). Det var inte möjligt att finna ett gränsvärde för DCC-cellalet som kunde identifiera *S. aureus* på juvernivå där både sensitivitet och specificitet var godtagbart höga. Inte heller kunde ett gränsvärde för skillnaden i DCC-cellalet mellan höger och vänster juverhalva inom get hittas. Signifikanta skillnader i medel-CMT fanns mellan odlingsnegativa prover (medelvärde CMT 2,3), prover infekterade med *S. aureus* (medelvärde CMT 4) samt prover infekterade med KNS (medelvärde CMT 2,8) eller övriga bakterier (medelvärde CMT 3). För medelskillnaden i CMT sågs endast signifikanta skillnader mellan odlingsnegativa juverhalvor (medelvärde CMT 0,49) och infekterade juverhalvor (medelvärde CMT 1,2). Inga statistiskt signifikanta samband kunde hittas mellan tankcelltal, eller påvisande av *S. aureus* vid PCR av tankmjölk eller vid juverhalvprovtagningen. Dock var 6 av de 8 besättningar där *S. aureus* hittades i juverhalvprover också PCR-positiva vid minst ett tillfälle. Resultaten tyder på att det kanske inte är möjligt att hitta alla *S. aureus* infekterade juverhalvor och getter med hjälp av celltalsundersökningar via DCC eller CMT. Dock kan det vara en hjälp vid försök att identifiera *S. aureus*-infekterade getter i besättningen, Tankcelltalet var inte pålitligt för att indikera *S. aureus*-förekomst hos getterna i besättningen. PCR-analys av tankmjölken för *S. aureus* är inte helt pålitligt, men upprepad provtagning kan ge en indikation på om getterna har juverinfektioner med *S. aureus*.

SUMMARY

In cheese producing goat farms the pathogenic bacteria *Staphylococcus (S.) aureus* is often isolated from curd samples. The bacteria can enter the curd as a contamination from the surroundings or through infected milk from the does. Thus it is important to find the source of contamination in order to prevent further spreading of the bacteria to dairy products. The aim of this study was to find out if somatic cell count (SCC) and PCR could be a helpful tool for cheese producing goat farms to identify herds where does are infected with *S. aureus*. The aim was to see whether the SCC measured by CMT or DeLaval's celltalsräknare (DCC) could be used to identify udder halves infected by *S. aureus* within the herd. In the study 1051 milk samples from both udder halves of 530 goats were collected as well as 29 bulk tank milk samples from the 17 participating herds. Milk samples from individual udder halves were cultured on blood agar plates and the SCC was measured by CMT and DCC. Bulk tank milk samples were analyzed with PCR for presence of *S. aureus* and the SCC was measured by DCC. Approximately 12 % of udder half samples were culture positive for Coagulase Negative Staphylococci (CNS) and 1.2 % (13 samples) for *S. aureus*. Of the 13 isolates of *S. aureus*, only one produced penicillinase. In *S. aureus*-positive udder halves the SCC ranged between 141 000 and 6 206 000 cells/ml and in culture negative halves between 18 000 and 6 116 000 cells/ml. The SCC for udder halves infected with *S. aureus* (mean 2 206 000 cells/ml) was significantly higher than for culture negative udder halves (mean 434 000 cells/ml) and halves infected with CNS (mean 890 000 cells/ml) or other (neither *S. aureus* nor CNS) bacteria (mean 966 000 cells/ml). Furthermore, the differences in SCC between udder halves within doe were also higher for does infected with *S. aureus* (mean 1 685 000 cells/ml) than for culture negative does (mean 154 000 cells/ml) and does with CNS (mean 975 000 cells/ml) and other bacteria (mean 466 000 cells/ml) in at least one udder half. However, neither for the SCC of the udder half nor the difference in SCC between the two halves was it possible to find a cut off value that could differentiate between udders infected or not infected with *S. aureus*. For *S. aureus* the CMT was significantly higher for udder halves infected with *S. aureus* (mean CMT 4) than for culture negative udder halves (mean CMT 2,3), halves infected with CNS (mean CMT 2,8) and halves infected with other bacteria (mean CMT 3). However, concerning the difference in CMT between both udder halves within doe there were only significant differences between culture negative (mean CMT 0,49) and infected (all bacteria) udder halves (mean CMT 1,2). No significant associations could be found between bulk tank milk SCC, *S. aureus* positive PCR of bulk tank milk, or *S. aureus* cultured from udder halves within the herd. However, 6 out of 8 herds where *S. aureus* was cultured from udder halves were PCR positive for *S. aureus* at least at one occasion. It might not be possible by measuring SCC by DCC or CMT to find all udder halves or does infected with *S. aureus*, but it can be a help in identifying at least some of them. Bulk tank milk SCC was not reliable in detecting *S. aureus* infected herds. However, PCR for *S. aureus* of BTM might with repeated sampling give an indication of whether or not the does carry *S. aureus* in their udders

LITTERATURÖVERSIKT

Internationellt sett är geten ett mycket viktigt produktionsdjur. Världens getpopulation har sedan 1970 mer än fördubblats och uppgår nu till över 800 miljoner djur (Earth policy institute 2011). De flesta av getterna finns i Afrika och Asien. I Europa finns omkring 20 miljoner getter (Aziz 2010). Den största getproducenten inom EU är Grekland, som 2007 stod för 37 procent av getterna inom unionen, följt av Spanien och Frankrike (Dias *et al.*, 2008).

I Sverige är getnäringen liten och det huvudsakliga syftet är framställning av getost. Dock har det ökade intresset för närproducerade och klimatsmarta produkter varit positivt för mindre mejerier som tillverkar ostar från egna råvaror. Getostproduktionen har historiskt varit ett viktigt tillskott för landets jordbrukare som levde under svåra förhållanden. När levnadsstandarden förbättrades minskade intresset för getosten. Under den senare delen av 70-talet påbörjades dock en process för att återinföra och modernisera den traditionella getostproduktionen, framför allt i Jämtland. Detta ledde inte bara till getostens uppsving på marknaden utan har även, genom att bland annat påverka förändringar i lagstiftningen, öppna nya marknader och öka allmänhetens intresse, banat väg för andra typer av lokalproducerade och traditionella produkter (Rytkönen *et al.*, 2012).

År 2001 fanns i Sverige totalt 80 mjölk- och mjölkproduktsanläggningar för alla mjölkproducerande djur sammanlagt, varav cirka hälften var gårdsmejerier (Livsmedelsverket 2002). Ungefär 10 år senare fanns cirka 100 gårdsmejerier, och av dem producerade omkring 80 ost av getmjölk (Högberg 2011). Hur många getter som används till denna produktion är dock svårt att uppskatta på grund av avsaknaden av heltäckande register. Idag uppskattas det finnas cirka 6000 getter i landet, varav omkring hälften består av svensk lantras (Räf 2012). Detta är en tydlig ökning sedan 1987 då den svenska getpopulationen bestod av 3500 getter (Cornell 1987).

Ostproduktion och livsmedelshygien

Inom EU har producentens ansvar för att sälja säkra livsmedel ökat genom krav på egenkontrollprogram och HACCP-planer (Hazard Analysis Critical Control Point) (Livsmedelsverket 2001). Vid framställning av ost finns risk för kontaminering av bakterier som kan vara hälsofarliga för konsumenten eller ge försämrad kvalitet på slutprodukten. Risken för förekomst av oönskade bakterier kan minimeras genom att kombinera flera faktorer som avdödar bakterier eller gör miljön mindre trivsamt för dem, exempelvis pastörisering, snabb pH-sänkning och mikrobiell konkurrens (Alomar *et al.*, 2008).

Sedan 1937 har det i Sverige funnits ett pastöriseringskrav för försäljning av mjölkprodukter, vilket uppkom för att förhindra smittspridning av tuberkulos (Livsmedelsverket 2012b). Sedan 2005 har dock detta krav lättats och gäller numera endast för konsumtionsmjölk och grädde i storskalig produktion (LIVSFS 2005:20). Pastörisering är en metod som går ut på att hetta upp mjölken med avsikt att avdöda bakterier som kan finnas i mjölken. Både önskvärda såväl som oönskade bakterier avdödas (Holsinger och Rajkowskij, 1997). Avsikten med att

inte pastörisera mjölken är att behålla den ofarliga florán av mjölksyrabakterier som finns i tankmjölken och att detta ska ge osten en godare smak (Lindblad och Rosengren, 2008). Vid tillverkning av opastöriserade ostar ökar dock risken för tillväxt av patogena bakterier som *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*/EHEC, salmonella och stafylokocker (Holsinger och Rajkowskij, 1997).

Stafylokocker kan bland annat spridas till ostmassan via infekterad mjölk från djur med juverinfektioner (Bergonier *et al.*, 2003, Jørgensen *et al.*, 2005) Den stafylokok som anses vara av störst betydelse för livsmedelssäkerheten i ost och andra livsmedel är *Staphylococcus (S.) aureus*. I en svensk studie av Rosengren (2010) där ostar provtogs i olika stadier av produktionen, återfanns *S. aureus* i 69 % av proverna från opastöriserade ostar, men bara i 6 % av proverna från pastöriserade ostar.

Staphylococcus aureus är en bakterie som ofta isoleras från getmjölk men den har även hittats på sphenud, slemhinnor och sår hos getter (Jørgensen *et al.*, 2005). Bakterien producerar sjukdomsframkallande toxiner när den växer till i livsmedel. Stafylokocker växer som bäst och har en hög toxinbildning kring de temperaturer som används vid ystning, det vill säga 30-40°C, men kan växa och bilda toxiner även vid lägre temperaturer (Schelin *et al.*, 2011). Under ostens lagringstid dör stafylokokerna av gradvis, men om toxiner bildats kan dessa finnas kvar långt efter att bakterierna dött (Alomar *et al.*, 2008). Toxinerna som bildas är dessutom värmestabila, vilket innebär att de inte neutraliseras vid upphettning och kan på så vis orsaka sjukdom även efter tillagning (Contreras *et al.*, 2007).

Mastit

Infekterade juver är en smittkälla för bakterier som kan spridas till mjölk och mjölkprodukter (Danielsson *et al.*, 1980). En inflammation i juvervävnaden kallas för mastit och kan ha många olika orsaker, där bakterieinfektion är vanligast. Mastit kan ge symtom som värme, svullnad och smärta och kallas då klinisk mastit. I vissa fall, så kallad subklinisk mastit, ses inga kliniska symtom och inga synliga förändringar som missfärgning eller flockbildning i mjölken. Mastit kan även klassificeras efter förlopp och delas då in i akut mastit med ett hastigt förlopp samt kronisk mastit som pågår under en längre tid. Klinisk mastit kan även delas in i lindrig, måttlig och höggradig utifrån hur allvarliga symtomen är. Akut mastit som orsakats av vissa agens, som *S. aureus*, kan lätt övergå till att bli kronisk. Oftast leder en klinisk mastit till smärta och lidande för djuret och bakterier som *S. aureus* kan ge så kraftig allmänpåverkan att djuret avlider (Radostits 2006).

Klinisk mastit hos mjölkkor leder till ekonomiska förluster till följd av bland annat minskad mjölkproduktion, kasserad mjölk, ökat behov av nyrekrytering och veterinärkostnader. Vid subkliniska mastiter sker förlusterna främst på grund av minskad mjölkproduktion (Bendali *et al.*, 1997) Det har visats även hos get att subkliniska juverinfektioner ger en nedgång i mjölkproduktionen (Leitner *et al.*, 2004b, Koop *et al.*, 2012b), men studier finns också där ingen nedgång i mjölkproduktion har skett (Koop *et al.*, 2010). Eftersom subkliniskt infekterade djur är svåra att hitta kan de fungera som effektiva smittspridare. Dessutom finns alltid en risk att en subklinisk infektion kan blossa upp och bli klinisk, (Radostits 2006).

Bakterier i mjölken innebär en risk för livsmedelssäkerheten och produktens kvalitet (Bendali *et al.*, 1997, Leitner *et al.*, 2004b, Koop *et al.*, 2012b). Ostutbytet påverkas av många faktorer, bland annat kaseinhalten och sammansättningen av olika typer av kasein (Pretto *et al.*, 2012, Wedholm *et al.*, 2008). Vid mastit förändras proteinsammansättningen så att kaseinhalten minskar och mjölken får dåliga syrningssegenskaper. Detta kan ge ett minskat ostutbyte samt dålig kvalitet på ost och syrade produkter och dålig syring kan även underlätta inväxt av oönskade bakterier (Auld *et al.*, 1995, Svensk Mjölk 1998, Ogola *et al.*, 2007).

Enligt en enkätundersökning utförd av Brandt (2009) upplever svenska getbönder själva att den vanligaste åkomman hos mjölkgetter är mastit. Hos getter är subkliniska mastiter vanligare än kliniska (Danielsson *et al.*, 1980, Zottola och Smith 1993, Jørgensen *et al.*, 2005). Koagulasnegativa stafylokocker (KNS) är de bakterier som oftast isoleras från getmjölksprover, följt av *S. aureus* (White och Hinckley 1999, Byeng Min *et al.*, 2007). Emedan KNS svarar för den största andelen av subkliniska mastiter (Hunter 1984, Ryan och Greenwood 1990, Contreras *et al.*, 1995, Moroni *et al.*, 2005b, Moroni *et al.*, 2005c) är *S. aureus* den vanligaste orsaken till klinisk mastit hos get (Bergonier *et al.*, 2003, Contreras *et al.*, 2007). *S. aureus* kan ge gangränös (kallbrandsartad) mastit med perakut förlopp på grund av produktion av så kallade alfatoxiner, vilket kan orsaka avsevärt lidande hos djuret (White och Hinckley 1999, Contreras *et al.*, 2003, Contreras *et al.*, 2007).

Enligt de behandlingsrekommendationer som är framtagna för mjölkkor kan bakterieorsakade mastiter behandlas med antiinflammatoriska preparat och antibiotika. Enligt Nordiska riktlinjer för mastitbehandling (2009) och Sveriges Veterinärmedicinska Sällsksaps (SVS) Riktlinjer för användning av antibiotika till produktionsdjur (2011) ska endast akut klinisk mastit behandlas under pågående laktation. Den antibiotika som används är i första hand bensylpenicillin. Även om *S. aureus* oftast är penicillinkänslig svarar den ibland dåligt på antibiotikabehandling och kan övergå till att bli kronisk juverinfektion som kan leda till att smittan sprids i besättningen om inte förebyggande åtgärder införs (SVA, 2012).

Enligt riktlinjerna för behandling av mjölkkor med subklinisk mastit (Riktlinjer för användning av antibiotika till produktionsdjur, 2011) bör kroniska subkliniska mastiter slås ut, framför allt djur infekterade med *S. aureus*. Enligt samma riktlinjer bör antibiotikabehandling av subkliniska mastiter utföras under sintiden.

Bakteriologisk odling vid diagnos av juverinfektioner

Bakteriologisk undersökning av mjölk genom odling är en beprövad metod som innebär att mjölkprover tas sterilt för att sedan odlas på en agarplatta. Bakterieodling av mjölkprover används i de flesta studier för att diagnostisera förekomst av juverinfektioner. Trots att det är en dyr och tidskrävande metod anses odling fortfarande vara den bästa tillgängliga metoden för att identifiera juverinfektion (Torres, 2009).

Celltalet som inflammationsmarkör

Många mastiter är subkliniska och i dessa fall försvårar avsaknaden av symtom för djurägaren att ställa diagnos. Vid inflammation i juvret ökar antalet leukocyter i mjölken, varför dessa kan användas som markörer på inflammation och därigenom indirekt som indikation på att infektion kan föreligga (Radostits 2006).

Celltalet kan mätas optiskt med till exempel Fossomatic (Robertson och Muller, 2007) eller DeLaval's celltalsräknare (DCC) (Berry och Broughan, 2007) vilka räknar antalet celler med DNA i mjölken. California Mastitis Test (CMT) är ett indirekt test där reaktionsvätskan reagerar med DNA i cellerna och ger upphov till gelbildning som kan graderas enligt en fast skala, oftast graderad ett till fem eller noll till fyra (Radostits 2006). Till skillnad från kor har getter apokrin utsöndring av mjölk, vilket resulterar i cellliknande cytoplasmatiska partiklar som kan misstas för celler när man räknar celltal med metoder som inte är beroende av DNA (Dulin *et al.*, 1982, Dulin *et al.*, 1983, Paape *et al.*, 2001, Haenlein 2002). Därför bör DNA-specifika metoder användas, som till exempel Fossomatic eller DCC som räknar både leukocyter och epitelceller, men inte de cytoplasmatiska partiklarna som saknar kärna (Dulin *et al.*, 1982, Poutrel och Lerondelle 1983, Berry och Broughan, 2007). Då Fossomatic används är det viktigt att instrumentet är kalibrerat med getmjölk då komjölkskalibrering kan ge upp till 25 % högre celltal än vid getmjölkskalibrering (Zeng 1996, Zeng *et al.*, 1999). Vid analys med DCC behöver instrumentet dock inte kalibreras med getmjölk. Dessutom är denna apparat bärbar, vilket gör att den kan användas för analys direkt på plats i besättningen och eftersom analysen sker i separata kassetter för varje mjölkprov finns ingen risk att föregående prov påverkar resultatet i nästa (Berry och Broughan, 2007).

Hos getter är dock värdet av att använda celltal för att diagnostisera subklinisk mastit omdiskuterat. Getter har jämfört med kor generellt högre celltal i mjölken (Nesbakken 1976, Lerondelle och Poutrel 1984, Park 1991, Droke *et al.*, 1993, Zeng och Escobar 1995, Bergonier *et al.*, 2003, Contreras *et al.*, 2007, Paape *et al.*, 2007). Deras celltal påverkas av många andra faktorer än bakterieinfektion (Luengo *et al.*, 2004) och icke-infektiösa faktorer kan utgöra så mycket som 90 % av fluktuationen (Wilson *et al.*, 1995). De viktigaste faktorerna för ökat celltal har visat sig vara laktationsstadium och laktationsnummer (Zeng och Escobar 1995, McDougall *et al.*, 2001, Paape *et al.*, 2001, Gomes *et al.*, 2006, Paape *et al.*, 2007 Olechnowicz och Sobek 2008, Koop *et al.*, 2009). Östrus har också visats kunna orsaka höga celltal (McDougall och Voermans 2002, Moroni *et al.*, 2007, Talafha *et al.*, 2008), liksom stress, då celltalshöjningen sannolikt kan bero på utspädningseffekt till följd av minskad mjölkproduktion (Lerondelle *et al.*, 1992). Getter infekterade med Capripri artrit-/encefalitvirus (CAEV) har också visats kunna ha upp till dubbelt så höga celltal som friska djur (Lerondelle *et al.*, 1992, Wilson *et al.*, 1995, Sanchez *et al.*, 2001, Turin *et al.*, 2005).

Celltalsgränser för att indikera juverinfektion hos getter

Att getternas celltal kan vara så olika högt vid olika tillfällen i laktationen gör det svårt att hitta en gräns för celltal som kan indikera juverinfektioner i alla stadier av laktationen (Hanlein and Hinckley 1994, Zeng och Escobar 1995a McDougall *et al.*, 2001, Paape *et al.*, 2001, Luengo *et al.*, 2004, Gomes *et al.*, 2006, Paape *et al.*, 2007, Olechnowicz och Sobek

2008, Koop *et al.*, 2009). Vissa studier har kommit till slutsatsen att mätning av celltal är en opålitlig metod som kan ge många falskt positiva och falskt negativa provsvar (Sheldrake 1981, Vihan 1989, White och Hinckley 1999). Andra studier har visat att det finns ett statistiskt signifikant samband mellan celltal och juverinfektion (Leitner *et al.*, 2004a, Moroni *et al.*, 2005b, Hall och Rycroft 2007). Undersökningar har också visat att ökningen av celltal vid subklinisk mastit är högre för *S. aureus* än för andra patogener (Deinhofer och Pernthaner 1995, Moroni *et al.*, 2005b, Koop *et al.*, 2012a).

Flera studier har försökt hitta ett gränsvärde för att identifiera friska och infekterade juverhalvor, men med varierande resultat. Zeng visade 1995 att juverhalvor med så höga celltal som 1 000 000 celler/ml kan vara friska, vilket visades patologiskt och histologiskt. Andra studier har kommit fram till samma slutsats (Poutrel och Lerondelle 1983, Hanlein och Hinckley 1995, Perrin *et al.*, 1997, White och Hinckley 1999). Wilson visade 1995 att getter frekvent kan ha celltal över 1 000 000 celler/ml i sitt juver och samtidigt vara negativa vid odling. Så höga celltal hos friska djur är dock vanligast i sen laktation (Park *et al.*, 1991, Zeng och Escobar 1995). Exempel på gränsvärden som föreslagits för att skilja mellan icke infekterade och infekterade juverhalvor har varit 345 000 celler/ml (Persson och Olofsson 2011), 500 000 celler/ml (Contreras *et al.*, 1996, Hall och Rycroft 2012), 1 000 000 celler/ml (Poutrel och Lerondelle 1983, Lerondelle *et al.*, 1984, Hall och Rycroft 2012), 1 100 000 celler/ml (Sanchez 1999) och 1 500 000 celler/ml (Koop *et al.*, 2011). I en studie av Koop (2011) var syftet att finna en celltalsgräns specifik för juverinfektion orsakad av *S. aureus*. Denna studie visade att ett gränsvärde på 1 500 000 celler i juverhalvorna gav hög sensitivitet och specificitet (90 % respektive 95 %).

En metod som tidigare använts för mastitdiagnostik hos nötkreatur går ut på att jämföra celltalet i alla juverdelar istället för att bara beakta det absoluta celltalet. Meningen med detta är att kunna bortse från fysiologiskt orsakade ökning i celltalet. I en studie på mjölkgetter av Nesbakken (1976) visades att fysiologiska förändringar i celltal sker samtidigt i båda juverhalvorna. En ökning av celltalet i en juverdel med mastit påverkade dock inte celltalet i den friska halvan. I en senare studie föreslog Lerondelle (1992) av samma anledning att getter med skillnader i celltal mellan juverhalvorna samt juverhalvor med celltal över 1 000 000 celler/ml bör undersökas för misstanke om juverinfektion. Inga studier finns dock gjorda på get för att testa denna hypotes och Maisi (1990b) såg att även den icke infekterade juverhalvan hade en signifikant ökning av celltalet.

CMT vid mastitdiagnostik hos get

CMT har använts länge i mastitdiagnostiken eftersom det är en billig och snabb metod som kan utföras på plats (McDougall *et al.*, 2001, Persson och Olofsson 2011). Trots att några studier har utdömt CMT som opålitligt för diagnos av subklinisk mastit hos get (Schaeren och Maurer 2006) har flera andra studier visat att det finns en god korrelation mellan CMT, celltal mätt med celltalsräknare och juverinfektioner (Pettersen *et al.*, 1981, Collins *et al.*, 1982, Karzis 2007, Petzer 2008, Persson och Olofsson 2011). Maisi (1990a) visade att CMT var högre för infekterade juverhalvor än för odlingsnegativa juverhalvor genom hela laktationen. CMT-undersökningar kan identifiera många infekterade individer, men testet resulterar även i

många falska positiva prover (Contreras *et al.*, 1996, Perrin *et al.*, 1997). CMT bör användas med försiktighet vid låg mjölkproduktion då utspädningseffekten kan påverka celltalet och i slutet av laktationen, då celltalet i mjölken fysiologiskt är som högst (Perrin 1997).

Många studier på mjölkgetter har föreslagit att gränsen för sannolik infektion ska utgå från CMT-poäng 2 i en skala från 1-5, vilket innebär att CMT 1 tyder på frihet från infektion och CMT 2-5 innebär möjlighet att infektion föreligger (Contreras *et al.*, 1996, McDougall *et al.*, 2001, McDougall *et al.*, 2010, Persson och Olofsson 2011). CMT kan därför anses vara en bra metod för att identifiera friska djur snarare än att med stor säkerhet identifiera individer med juverinfektion (Karzis 2007, Petzer 2008).

PCR- och celltalsanalys av tankmjölk som indikator på besättningens juverhälsa

Som redan nämnts har bakterieodling av mjölkprover på blodagarplattor i många år använts som standardmetod för att identifiera mastitpatogener (SVA 2011a). Polymerase Chain Reaction (PCR) är en annan teknik som kan användas istället för odling för att detektera förekomst av bakterier i mjölkprover. PCR-tekniken går ut på att ett visst DNA känns igen med korta bitar av arvs massa, så kallade primrar som är specifika för ett särskilt agens. När dessa primrar bundit in kan arvs massan uppföras i stora kvantiteter och därigenom kan man upptäcka även mycket låg förekomst av bakterien. Till skillnad mot odling är förutsättningen för PCR en bestämd frågeställning, eftersom de primrar som används är specifika för ett visst agens (Fohlman *et al.*, 2004, SVA 2011a). Vid odling kan en mängd olika bakterier växa på samma agarplatta. Vid PCR kan dock olika primrar kombineras och på så vis leta efter flera agens samtidigt (Fohlman *et al.*, 2004). Med realtids-PCR fås även en kvantitativ uppfattning om hur hög förekomsten är, till exempel sparsam, måttlig eller riklig förekomst (SVA 2011a).

Nackdelen med PCR är att eftersom sensitiviteten är så hög kan även mycket låggradig kontaminering ge falskt positiva prover. Om provet är taget till exempel på hud eller spenar där det normalt förekommer bakterier, måste en klinisk bedömning göras om huruvida positiva fynd är relevant eller inte (Fohlman *et al.*, 2004). Kontaminering med miljöbundna bakterier kan ge falskt positiva provsvar, liksom redan avdödade bakterier. Om bakterien redan förekommer normalt i miljön är PCR således av mindre nytta (SVA 2011b).

Hos mjölkkor har molekylära metoder som PCR sedan 90-talet fått en ökad användning inom mastitdiagnostiken på grund av den ökade sensitiviteten jämfört med odling, vilket ökar sannolikheten att mastiter identifieras (Katholm *et al.*, 2012). I en studie av Koskinen *et al.* (2010) på komjölk visades att sensitiviteten ökade vid användning av PCR jämfört med odling för flera olika mastitpatogener, både vid klinisk och vid subklinisk mastit.

PCR kan användas för undersökning av samlingsprover eller individprover och är lämpligt att använda till exempel för att undersöka tankmjölksprover då även bakterier som förekommer i mycket låg koncentration kan detekteras (Katholm *et al.*, 2012). Sensitiviteten för odling är begränsad vid provtagning på stora volymer såsom en hel mjölk tank. Då bakterien endast förekommer i liten mängd krävs upprepad provtagning för att uppnå god sensitivitet på besättningsnivå och detektera förekommande patogener (Riekrink *et al.*, 2006).

Mätningar av tankmjölkens celltal kan användas som ett mått på besättningens juverhälsa. Bakterier som kan tillföras tankmjölken senare genom kontamination påverkar inte celltalet i tankmjölken efter mjölkningen. Ett flertal studier på kor har visat att det finns en korrelation mellan förekomst av juverpatogener i tankmjölk och tankmjölkscelltal samt totalantal bakterier (Keefe *et al.*, 1997, Phuektes *et al.*, 2003, Rysanek *et al.*, 2009). I en studie på mjölkkor av Riekrink (2006) visades ett statistiskt signifikant samband mellan tankmjölkens celltal och förekomst av *S. aureus*. I Riekrinks studie användes odling som metod för att identifiera mastitpatogener och ett samband sågs även mellan tankmjölkens celltal och hur ofta *S. aureus* isolerades vid odling. Jayaro såg liknande resultat i sin studie från 2004. Studier på get har dock inte kunnat hitta någon korrelation mellan celltal och olika mikrobiella grupper i tankmjölk från getter (Tirard-Collet *et al.*, 1991, Foscino *et al.*, 2002), däremot har celltalet i getmjölk kunnat relateras till totalantal bakterier (Koop 2009). Hos mjölkkor har flera studier visat att en hög frekvens av juverinfektioner med *S. aureus* i besättningen kan associeras med en ökning av celltalet i tankmjölken (Jayaro *et al.*, 2004, Rysanek *et al.*, 2009). Tidigare studier på mjölkgetter har dock visat att förekomst av *S. aureus* i tankmjölken inte är korrelerat med celltalet (Tirard-Collet *et al.*, 1991, Foscino *et al.*, 2002, Phuektes *et al.*, 2003).

SYFTE

Det är inte ovanligt att den sjukdomsframkallande bakterien *S. aureus* hittas vid mejeriernas egenkontroll. Det är viktigt både med tanke på livsmedelssäkerheten och för kvaliteten på produkterna att källan identifieras så att risken att bakterierna hamnar i osten kan minskas. Bakterierna kan härröra direkt från getterna eller från en kontaminering i senare steg i produktionen. För att utreda var bakterierna kommer ifrån krävs omfattande provtagningar, men bakteriologiska provtagningar är tidsödande och kostar pengar. Det vore därför önskvärt om en enkel och förhållandevis billig analys av celltal i kombination med PCR för detektion av *S. aureus* kunde ge svar på om getterna är infekterade eller inte.

Syftet med denna studie var därför att utreda huruvida

- Celltalsmätning och PCR-analys av tankmjölk kan vara ett effektivt hjälpmedel för ostproducerande getbesättningar för att indikera juverinfektion med *S. aureus* hos getterna i besättningen.
- Ett högt celltal mätt med DCC eller CMT kan användas för att identifiera juverhalvor infekterade med *S. aureus* inom besättningen.
- Stora skillnader i celltal mätt med DCC eller CMT mellan en individs juverhalvor kan användas för att identifiera individer med juverinfektion orsakad av *S. aureus*.

MATERIAL OCH METODER

Besättningar och getter

Mjölksprover samlades in från 17 besättningar från mellersta och norra Sverige. Besättningarna hade upp till 180 mjölkande getter. Av besättningarna hade 3 stycken färre än 10 mjölkande getter. Medelantalet mjölkande getter per besättning var 50 djur. Av besättningarna hade 14 endast getter av svensk lantras. En besättning hade getter av finsk lantras, en hade jämtgetter och en besättning hade en blandning av svensk lantras och jämtget. Pastörisering av mjölken utfördes på 6 av gårdarna. På 2 av gårdarna användes pastörisering ibland och i 7 besättningar pastöriserades inte mjölken. Getternas dagliga mjölkproduktion uppskattades uppgå från 1 till 5 liter om dagen, med ett medeltal på 2,3 liter per dygn för alla besättningarna sammantaget.

Inom besättningarna valdes individer som skulle provtas slumpmässigt och proverna fördelades ungefär lika mellan getter som kom först och sist till mjölkning. I mindre besättningar (under 50 djur) provtogs alla individer och i större besättningar provtogs mellan 40 och 60 djur. Detta innebär att 25 till 100 % av besättningarnas mjölkande getter provtogs (se tabell 1 för detaljerad information). I 15 av besättningarna uppgick andelen provtagna getter till mellan 50 % och 100 %. Sammanlagt togs juverdelprover från 530 mjölkgetter. Av dessa getter hade 9 endast en lakterande juverhalva, vilket resulterade i 1051 mjölkprover. Laktationsmånaden registrerades inte för varje enskild get utan var en uppskattning på besättningsnivå av vilken laktationsmånad majoriteten av getterna befann sig i vid provtagningen.

Med undantag av en av de minsta besättningarna som inte hade någon tankmjölk att tillgå togs även 1-3 tankmjölksprover per besättning. De tankmjölksprover som togs var från laktationsmånad 1 till 8 baserat på den månad majoriteten av getterna killade.

Provtagning

Varje besättning besöktes vid ett tillfälle under mitt- till senlaktation (juni till oktober). Endast kliniskt friska djur provtogs. Juverdelprover togs före morgonmjölkningen i alla besättningar utom en där prover samlades före eftermiddagsmjölkningen. Efter att de första mjölkstrålarna mjölkats ur i kontrollkärl undersöktes mjölken med CMT och därefter togs ett mjölkprov för celltalsräkning med DCC och bakteriologisk odling. Provtagningen för celltalsräkning och bakteriologi utfördes aseptiskt efter sprittvätt av spentoppen och omkring 2 ml mjölk samlades därefter upp i sterila mjölkror. I de besättningar där personalen hade för vana att tvätta av spenarna före mjölkning gjordes detta före sprittvätt. Proverna förvarades kylda eller skickades kylda med post till eget labb på SVA för analys senare samma dag eller nästa dag i de fall där de skickades med post.

Tankmjölksprover togs i bronopolrör av djurägarna enligt skriftlig instruktion och skickades med post till SVA för analys av celltal och bakterieförekomst. Alla besättningar utom den

minsta skickade in minst ett tankmjölkprov under mitt- till senlaktation. Sex besättningar skickade dessutom in ett tankmjölksprov i tidig laktation.

Undersökning av celltal

I samband med provtagningen ute i besättningen undersöktes alla prover med CMT-vätska. CMT-klass bedömdes av provtagaren och graderades enligt en skala 1-5 enligt nedan:

1. Negativ. Frånvaro av reaktion, homogen blandning
2. Spår, svag förtjockning
3. Svagt positiv. Tydlig förtjockning, men ingen tendens till gelbildning
4. Tydligt positiv. Distinkt gelbildning med konvex yta under rotation
5. Starkt positiv. Distinkt gelbildning med kvarstående topp efter rotation.

DeLavals celltalsräknare användes på labb för analys av celltalet i mjölkproverna efter att provet blandats med vortex (Berry och Broughan 2007). Mjölkprovet drogs upp i engångskassetter innehållande propidiumjodid, en fluorescerande färgning som binder till cellkärnan. Under analysen utsattes provet för LED-ljus, vilket fick de infärgade cellkärnorna att avge fluorescerande ljus som sedan registreras av apparaten. Samma metod användes för prover från individuella juverhalvor och tankmjölksprover.

Bakteriologisk undersökning

Från varje mjölkprov ströks 10 µl mjölk med steril ögla på eskulinagarplattor (5 % nötblod). Dessa inkuberades sedan vid 37°C och lästes av efter 24 timmar. Plattor som var negativa vid första avläsningen inkuberades på nytt och avlästes en andra gång vid 48 timmar. Agarplattor med minst tre tydliga bakteriekolonier skickades till mastitlaboratoriet, SVA, för typning enligt protokollet för kvalitetsförsäkran SS-EN ISO/IEC 17025. *S. aureus* identifierades genom typiskt morfologiskt utseende på blodagarplatta med α -hemolys och β -hemolys eller genom positiv koagulasreaktion. KNS identifierades utifrån typiskt morfologiskt utseende på blodagarplatta och negativ koagulasreaktion. Streptokocker identifierades genom morfologiskt utseende på blodagarplatta och CAMP-test. Streptokockerna typades på artnivå biokemiskt genom 12 olika tester (esculin, glycerin, natriumhippurat, inulin, laktos, mannitol, raffinosa, sackaros, salicin, sorbitol, stärkelse och trehalos). Gramnegativer undersöktes med oxidastest och API 20 E (bioMérieux, Craponne, France) och API 20 NE (bioMérieux Craponne, France). *Bacillus* spp. identifierades genom typiskt morfologiskt utseende på agarplatta och gramfärgning. Blandflora bedömdes som fler än två kolonier med olika utseende. Alla prover positiva för stafylokocker vid odling analyserades för penicillinasproduktion med klöverbladsmetoden. Tankmjölksproverna undersöktes med realtids-PCR med det fasta kittet PathoProof Mastitis Major-3 Kit (Finnzymes Oy, Espoo, Finland), vilket inkluderar patogenerna *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma bovis* och *Streptococcus agalactiae*.

Statistiska metoder

Den minsta besättningen uteslöts från de statistiska analyserna då endast två mjölkande getter fanns vid provtagningen och tankmjölk saknades. Proverna från denna besättning inkluderades dock i odlingsresultaten.

Statistiska beräkningar utfördes med hjälp av programmet SAS (ver 9.2) och Microsoft Excel 2007. Medelvärden beräknades med minsta kvadratmetoden i SAS. Undersökningar av statistiska samband mellan olika variabler utfördes med χ^2 -test (PROC FREQ) för kvalitativa variabler och t-test samt ANOVA (PROC GLM) för kontinuerliga variabler.

Vid analys av celltal grupperades mjölkproverna efter odlingsresultat i

1) Odlingsnegativ, 2) Blandflora, 3) Infekterad eller

1) Odlingsnegativ, 2) Blandflora, 3) Infekterad med *S. aureus*, 4) Infekterad med KNS och 5) Infekterad med övriga specifika patogener.

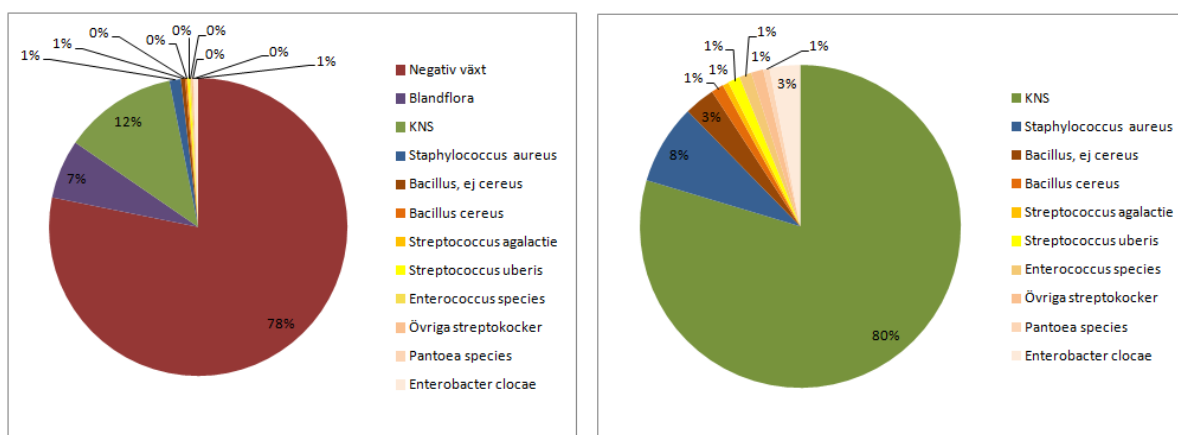
Variabler som analyserades för mjölkprover från individuella juverhalvor var: 1) Laktationsmånad, 2) Infektionsstatus (enligt ovan), 3) Besättning, 4) Juverhalva (höger eller vänster), 5) CMT, 6) DCC-celltal, 7) Skillnad i CMT mellan juverhalvor, 8) Skillnad i DCC-celltal mellan juverhalvor. Vid analys av tankmjölksproverna undersöktes följande parametrar: 1) Laktationsmånad, 2) Besättning, 3) Förekomst av *S. aureus* vid juverhalvprovtagning, 4) Förekomst av *S. aureus* vid PCR av tankmjölk, 5) Procentandel infekterade juverhalvor i besättningen, 6) Tankcelltal, 7) Datum för provtagning av tankmjölk och 8) Datum för provtagning av individuella juverhalvor.

Ett försök gjordes att beräkna ett gränsvärde för celltal för att skilja mellan juverhalvor infekterade eller icke infekterade med *S. aureus*. Detta gränsvärde definierades som medelvärdet för juverhalvprover infekterade med *S. aureus* minus 2 gånger medelvärdets medelfel (SE) för detta medelvärde ($SE = SD \sqrt{n}$). Antalet djur infekterade respektive icke infekterade med *S. aureus* som översteg detta gränsvärde beräknades med PROC FREQ.

RESULTAT

Odlingsresultat

Av proverna var 822 stycken (78 %) negativa vid odling och i 67 prover (6,4 %) konstaterades växt av blandflora. Från 162 av proverna (15 %) kunde renkultur med olika bakterier odlas fram. De bakterier som identifierades var KNS, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus (Str.) agalactiae*, *Str. uberis*, *Enterococcus* spp, *Pantoea* spp, *Enterobacter cloacae*, samt *Bacillus* spp och *Str.* spp. Majoriteten av de odlingspositiva proverna utgjordes av KNS (80 %) och *S. aureus* var det näst vanligaste fyndet (8 %). Av alla 129 prover positiva för KNS var 44 prover (34 %) penicillinasproducerande medan motsvarande siffra för *S. aureus* var 1 av 13 (7,7 %). Mer detaljerad information om odlingsresultaten redovisas i Tabell 2 och Figur 1.



Figur 1 – Odlingsresultat från juverhalvsprover från 530 getter i procent av samtliga prover (n=1051) till vänster och i procent av positiva odlingar (n=162) till höger.

Totalt var 132 getter positiva för någon patogen i minst en juverhalva. Andelen getter som var odlingspositiva i minst en juverhalva varierade mellan besättningarna. I de tre minsta besättningarna (under 10 getter) hittades inga bakterier vid odling. På 5 av de 17 gårdarna var mellan 1 % och 15 % av de provtagna getterna infekterade med någon bakterie i minst en juverhalva. I 9 av besättningarna uppgick andelen provtagna getter med juverinfektion till mellan 25 % och 50 % (se Tabell 1). KNS var den vanligaste bakterien i alla besättningar utom i tre. I två besättningar växte inga KNS. I den tredje besättningen var *Enterobacter cloacae* den mest frekvent isolerade bakterien (42 % av prover positiva för specifika patogener inom besättningen). I 5 av 15 besättningar där KNS växte i minst ett prov var alla KNS-isolat penicillinasnegativa. I en av besättningarna var alla isolerade KNS penicillinasproducerande.

Tabell 1. Översiktlig sammanställning av insamlade prover och provtagningsresultat för mjölkprover tagna från individuella juverhalvor från 530 lakterande getter samt tankmjölksprover i 17 besättningar

Besättning	Mjölkan de getter Antal	Provtagna getter Antal (%)	Infekterade individer Antal (%)	Infekterade juverhalvor Antal (%)	Juverhalvor med <i>S. aureus</i> Antal (%)	Antal PCR-positiva tankmjölksprover för <i>S. aureus</i>	Antal tankmjölksprover	Medelvärde Tankcelltal Celler/ml	Medelvärde för getternas celltal, Celler/ml
A	91	49 (54)	5 (10)	5 (5,2)	1 (1,0)	3	4	989 000	275 710
B	100	39 (39)	11 (28)	12 (15,4)	2 (2,6)	1	1	74 000	382 650
C	4	4 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	1	966 000	1 784 120
D	58	46 (79)	4 (9)	4 (4,3)	0 (0)	0	1	534 000	500 390
E	15	15 (100)	6 (40)	10 (33,3)	1 (3,3)	1	3	327 000	1 249 500
F	58	58 (100)	1 (2)	1 (1,2)	0 (0)	2	2	395 000	536 810
G	7	7 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	3	884 000	128 000
H	80	52 (65)	26 (50)	31 (30,4)	3 (2,9)	2	3	223 000	1 018 600
I	47	47 (100)	14 (30)	15 (16,0)	2 (2,1)	1	2	926 000	814 300
J	180	45 (25)	17 (38)	18 (90)	2 (2,2)	2	2	672 000	639 960
K	2	2 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0	0	-	831 500
L	50	42 (84)	21 (50)	27 (32,5)	0 (0)	0	1	1 887 000	1 200 010
M	59	42 (71)	4 (10)	5 (6,0)	0 (0)	0	1	1 092 000	590 510
N	15	15 (100)	2 (13)	3 (10)	0 (0)	0	1	477 000	915 440
O	16	16 (100)	8 (50)	11 (37,9)	1 (3,4)	0	1	2 122 000	1 021 960
P	58	39 (67)	15 (38)	15 (19,2)	1 (1,3)	0	2	80 000	211 350
Q	12	12 (100)	3 (25)	5 (20,8)	0 (0)	0	1	312 000	395 370
Totalt	841	530	137	162	13				

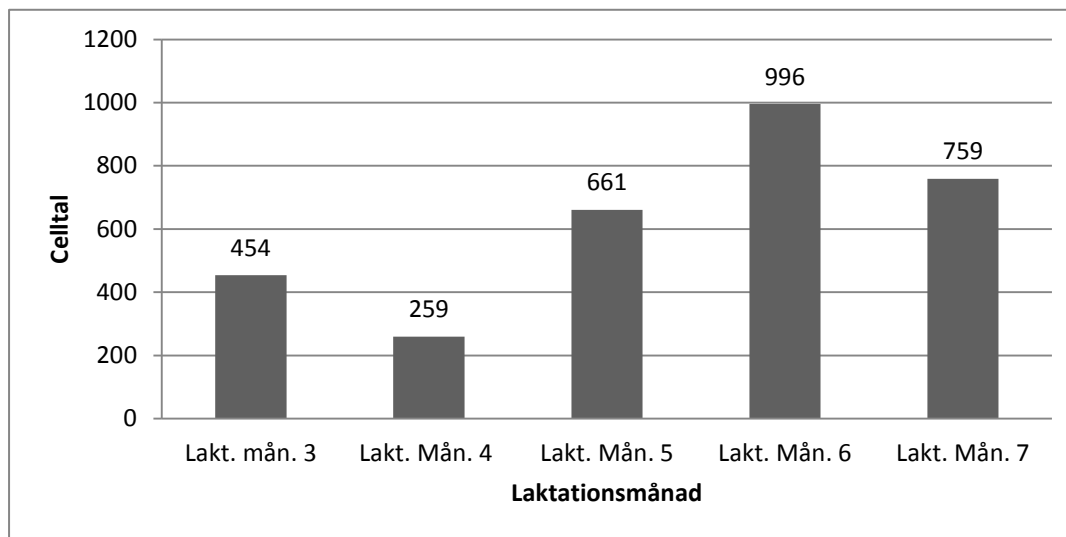
Tabell 2. Odlingsresultat för mjölkprover tagna från individuella juverhalvor från 530 lakterande getter i 17 besättningar

	Antal prover	Andel av alla prover (n=1051)	Andel av odlingar positiva för specifika patogener (n= 162)
Negativ växt	822	78,0	-
Blandflora	67	6,4	-
KNS	129	12,3	79,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	1,2	8,0
<i>Bacillus</i> , ej <i>cereus</i>	5	0,4	3,1
<i>Bacillus cereus</i>	2	0,2	1,2
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	0,1	0,6
<i>Streptococcus uberis</i>	2	0,2	1,2
<i>Enterococcus</i> species	2	0,2	1,2
Övriga streptokocker	2	0,2	1,2
<i>Pantoea</i> species	1	0,1	0,6
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	0,5	3,1
Totalt	1051	100	100

S. aureus identifierades i 8 av 17 besättningar (Tabell 1). I dessa besättningar hittades 1-3 *S. aureus*-positiva getter. Inga getter var dubbelsidigt infekterade med *S. aureus*, men en get var enspent, en get hade KNS i motsatt juverhalva, en get var infekterad med *Str. uberis* och från 3 getter isolerades blandflora. Övriga getter var odlingsnegativa i motsatt juverhalva.

Celltal mätt med DeLaval's celltalsräknare

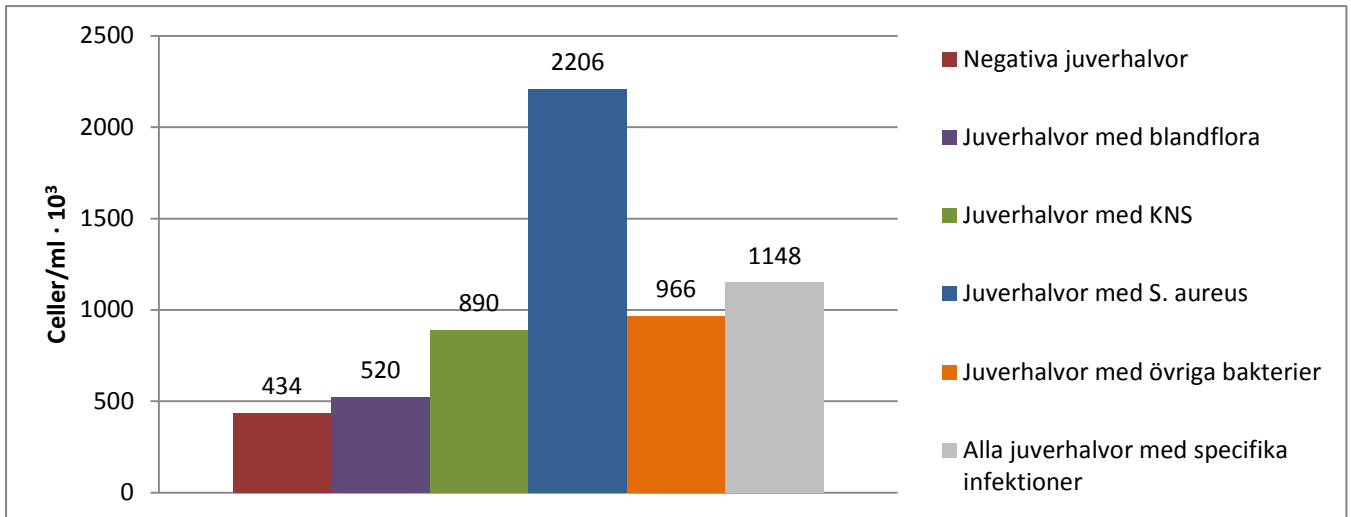
Merparten av besättningarna (10 av 16) provtogs i laktationsmånad 6-7. Celltalet ökade med laktationsmånad, men signifikanta skillnader sågs inte mellan alla laktationsmånader (Figur 2). Ingen systematisk effekt av laktationsmånad sågs för celltalet mätt med DCC.



Figur 2. Celltalets medelvärde relaterat till laktationsmånad för mjölkprov (n=1051) tagna från juverhalvor från 530 getter i 17 besättningar.

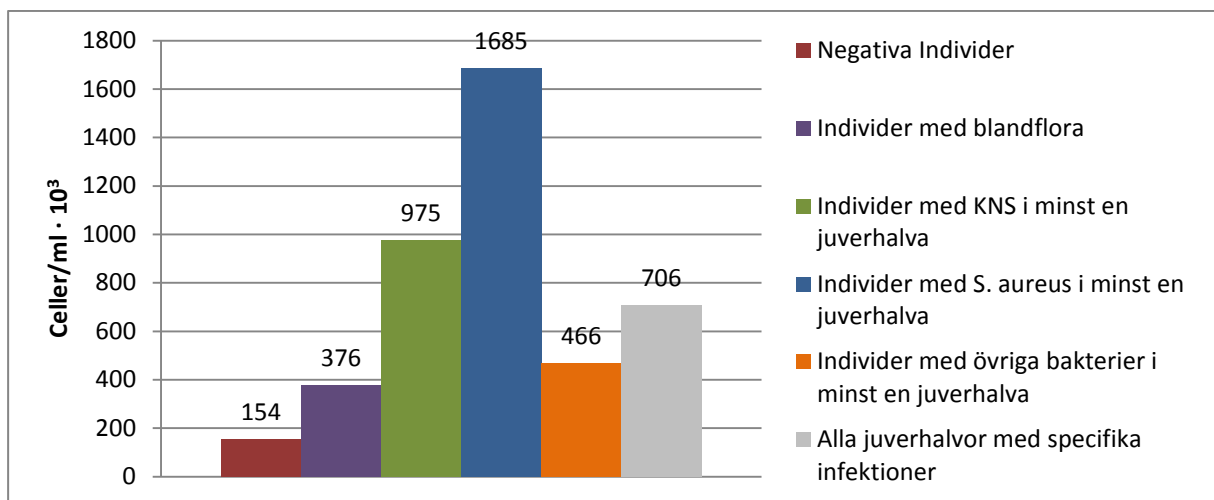
DCC-cellalet för juverhalvor med specifik infektion var signifikant högre ($p < 0,0001$) än för negativa juverhalvor (Figur 3). För juverdelar infekterade med *S. aureus* var celltalet signifikant högre än för KNS ($p < 0,0001$) och övriga bakterier ($p < 0,0001$). Ingen signifikant skillnad i celltal fanns mellan juverdelar infekterade med KNS och övriga bakterier eller mellan negativa juverhalvor och juverhalvor med blandflora.

För negativa prover varierade celltalet mellan 18 000 och 6 116 000 celler/ml. Prover som var positiva för *S. aureus* hade ett lägsta celltal på 141 000 celler/ml och ett högsta värde på 6 206 000 celler/ml. Prover positiva för övriga bakteriegrupper varierade mellan 42 000 och 4 971 000 celler/ml.



Figur 3. Celltalets medelvärde för juverhalvor indelade efter odlingsresultat (n=1051 prov från 530 getter)

Skillnader i celltal mellan höger och vänster juverhalva inom get beräknades. Statistiskt signifikanta skillnader ($p < 0,0001$) fanns mellan alla odlingsresultatsgrupper, utom mellan KNS och blandflora. Individer infekterade med *S. aureus* i en juverhalva hade den största skillnaden i celltal mellan juverhalvorna (Figur 4). Näst högst låg individer infekterade med övriga bakterier medan den lägsta skillnaden sågs hos negativa individer.



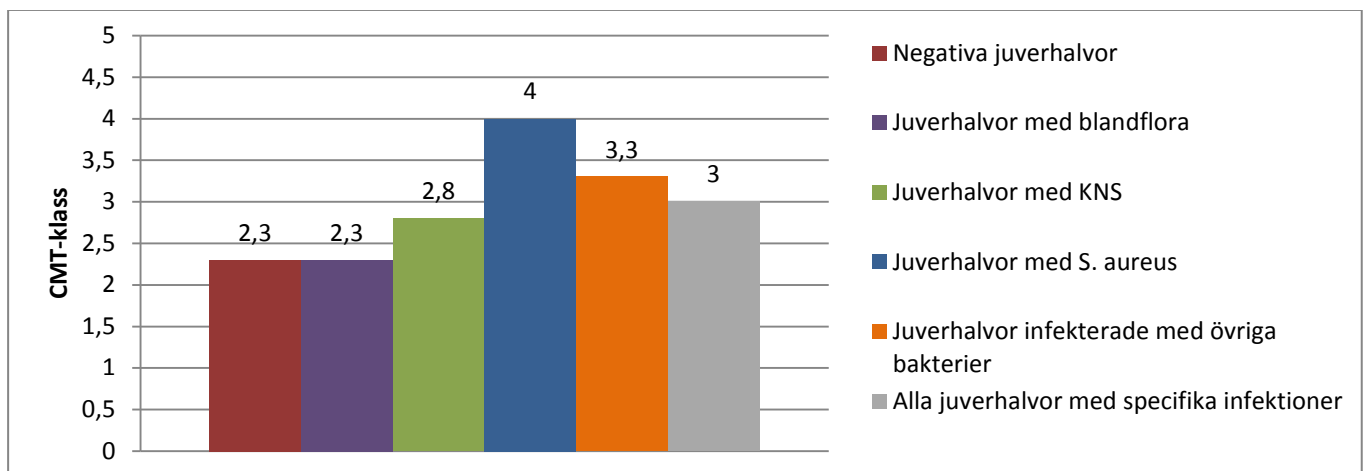
Figur 4. Medelvärde för skillnad i celltal mellan höger och vänster juverhalva inom getter, grupperat efter odlingsresultat (n=511)

Celltalet undersökt med CMT

För CMT sågs ingen påverkan av laktationsmånaden.

För bakteriologiskt negativa juverhalvor var medelvärdet för CMT 2,3, vilket var samma som för gruppen blandflora (Figur 5). Majoriteten av negativa prover hade CMT 2 (48 %) eller 1 (16 %), men CMT 4 (9 %) och 5 (2 %) var mindre vanligt (Figur 6).

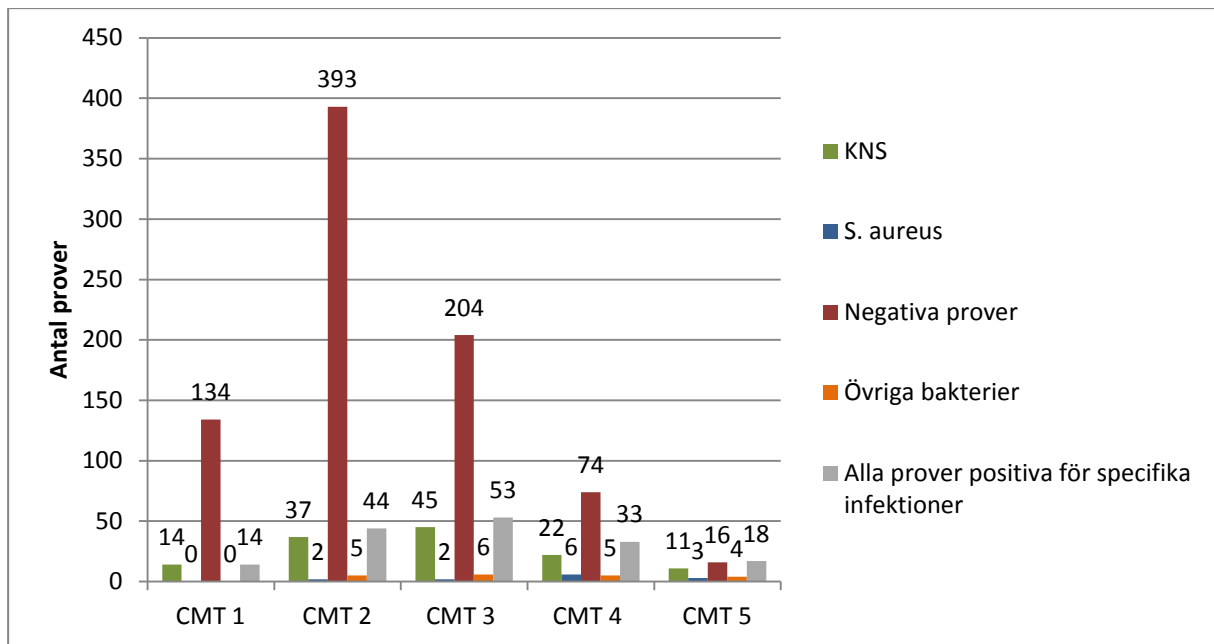
CMT var signifikant högre i infekterade jämfört med negativa juverhalvor ($p < 0,0001$) (Figur 5). Juverhalvor infekterade med *S. aureus* hade signifikant högre CMT än KNS och övriga bakteriegrupper ($p < 0,0001$) medan juverhalvor infekterade med KNS hade signifikant lägre CMT än övriga bakteriegrupper.



Figur 5. Medelvärde för CMT för juverhalvprover indelat i grupper efter odlingsresultat ($n=1046$)

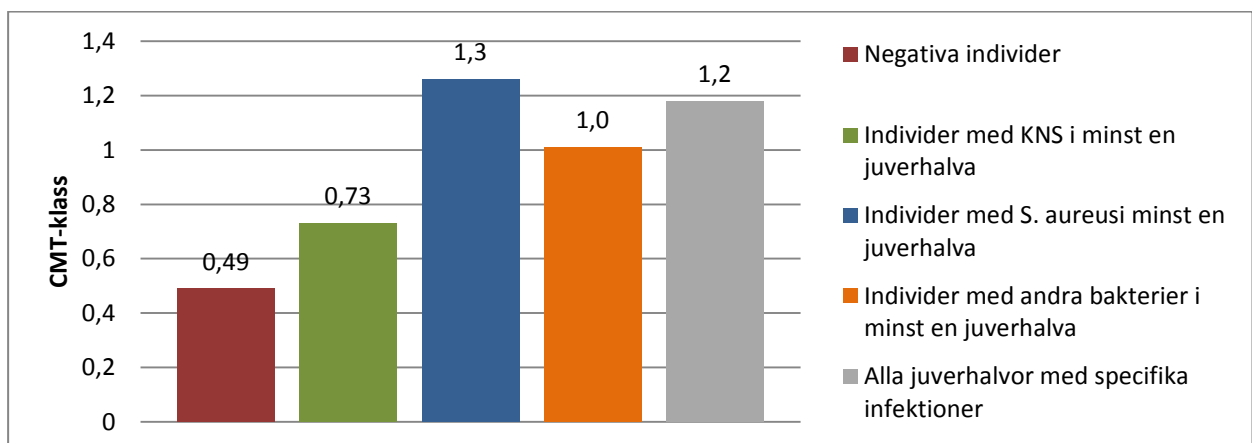
Majoriteten av juverhalvorna infekterade med KNS hade CMT 3 (32 %) eller 2 (29 %) medan ett fåtal prover hade CMT 1 (11 %) eller 5 (9 %) (Figur 6). Gruppen övriga bakterier var jämt fördelade över CMT 2 (25 %), 3 (30 %), 4 (25 %) och 5 (20 %). Ingen av juverhalvorna infekterade med övriga bakterier hade bedömts som CMT 1.

Bland prover positiva för *S. aureus* hade (46 %) CMT 4, övriga prover fördelades mellan CMT 2 (15 %), 3 (15 %) eller 5 (23 %). Ingen *S. aureus* hade CMT 1.

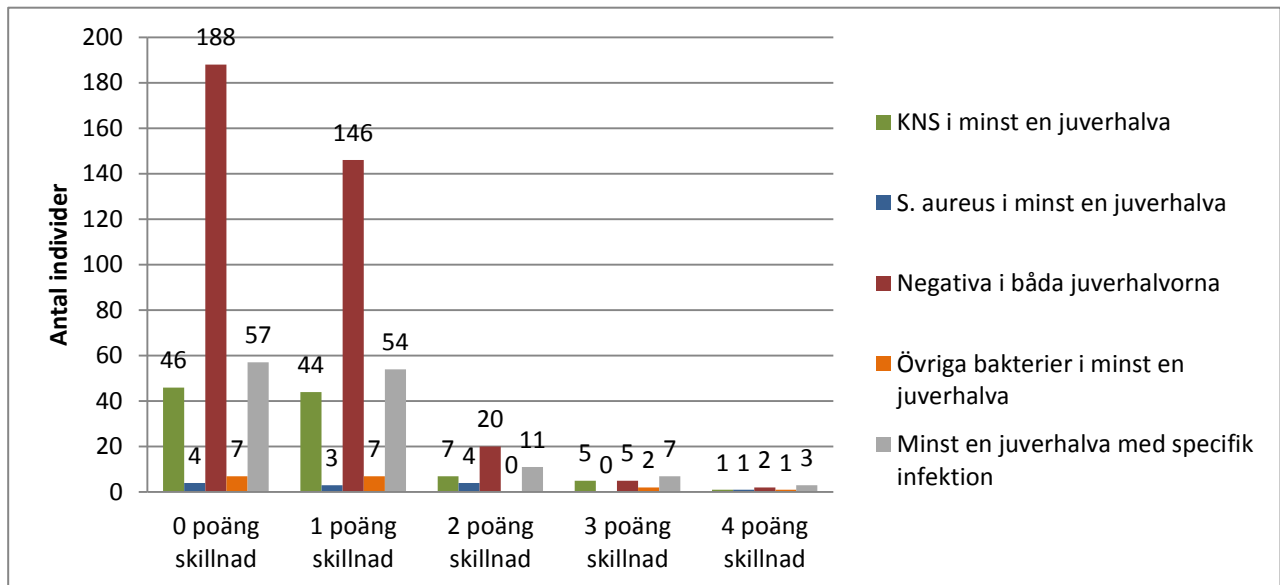


Figur 6. Fördelning av CMT för juverhalvor grupperat efter odlingsresultat (n=983)

Skillnader i CMT mellan höger och vänster juverhalva inom varje get beräknades. Statistiskt signifikanta skillnader fanns mellan infekterade och odlingsnegativa juverhalvor ($p < 0,0001$). Inga signifikanta skillnader kunde dock ses mellan getter med olika typer av juverinfektioner. Skillnaden i CMT var lägst för djur utan infektion i någon av juverhalvorna och högst för de djur där minst en halva var infekterad med *S. aureus* (Figur 7). Skillnad i CMT mellan 0 och 1 var vanligast för odlingsnegativa djur (92 %), individer med KNS (87 %) och individer med övriga infektioner (82 %) (Figur 8). För *S. aureus*-positiva individer var skillnaden i CMT ungefär jämt fördelad mellan 0 (33 %), 1 (20 %) och 2 (33 %). Endast en till två individer ur varje kategori hade så stora skillnader som 4 poäng mellan juverhalvorna.



Figur 7 - Medelvärde för individens skillnad i CMT mellan höger och vänster juverhalva, grupperat efter odlingsresultat (n=513)



Figur 8. Fördelningen av skillnaden i CMT mellan höger och vänster juverhalva inom get, grupperat efter odlingsresultat, blandflora ej redovisat (n=493)

Gränsvärden för celltal

Ett försök gjordes att fastställa ett gränsvärde för när DCC-celldatalet kan indikera sannolik infektion med *S. aureus* i en juverhalva. Ett gränsvärde beräknades utifrån medelcelldatalet för *S. aureus* och sattes till 1 400 000 celler/ml. Sedan beräknades hur många juverhalvor i de olika kategorierna negativa juverhalvor, juverhalvor infekterad med övriga bakterier och juverhalvor infekterade med *S. aureus* som skulle placeras under respektive över det beräknade värdet (Tabell 3).

Tabell 3. Fördelning av juverhalvor över och under celltalsgränsen 1 400 000 celler/ml, indelade efter odlingsresultat (n=966)

	Negativa Antal (%)	Övriga bakterier Antal (%)	<i>S. aureus</i> Antal (%)	Totalt Antal (%)
< 1400 000 celler/ml	735 (90,5)	105 (74)	5 (38,5)	845 (87,5)
> 1400 000 celler/ml	77 (9,5)	36(25,5)	8 (61,5)	121 (12,5)
Totalt	812	141	13	966 (100)

Sensitiviteten och specificiteten för en celltalsgräns på 1 400 000 celler/ml var 0,62 respektive 0,88. Det prediktiva värdet för ett negativt test (NPV) var 0,99 medan det prediktiva värdet av

ett positivt test (PPV) var 0,1 för *S. aureus*-infekterade juverhalvor. Av proverna positiva för *S. aureus* hade 5 stycken (38,5 %) lägre celltal än gränsvärdet och av dessa prover hade 4 celltal under 300 000 celler/ml. Vid detta gränsvärde på 1 400 000 celler/ml sågs redan ett stort antal falska negativa prover (93 %).

För skillnaden i celltal mellan juverhalvor inom get beräknades gränsvärdet för getter infekterade eller inte infekterade med *S. aureus* till 1 350 000 celler/ml. Om detta gränsvärde användes var sensitiviteten 0,58 och specificiteten 0,94. NVP var 0,99 och PPV 15,4.

Eftersom skillnaderna i CMT mellan odlingsgrupperna var så små beräknades inget gränsvärde för *S. aureus*-infektion. Inga prover positiva för *S. aureus* hade dock CMT under 2.

Tankprovsresultat

Laktationsmånad påverkade celltalet i tankmjölken signifikant ($p < 0,001$), vilket steg med ökande laktationsmånad (Tabell 4). Medelvärdet för celltalet i alla tankmjölksproverna ($n=29$) var 685 000 celler/ml (Tabell 2).

Tabell 4. Medelvärde för tankcelltalet fördelat på besättningarnas ungefärliga laktationsmånad (n=29)

Uppskattad laktationsmånad för majoriteten av alla getter i besättningarna	Medelvärde för tankcelltal, celler/ml $\cdot 10^3$	Antal tankmjölksprover
1	176	2
2	217	3
3	547	2
4	0	0
5	550	7
6	1391	2
7	966	9
8	611	4
		29

Av 29 tankmjölksprover var 17 PCR-positiva för *S. aureus*. Av de 16 besättningar som skickade tankmjölksprover var tankmjölken från 7 besättningar positiv för *S. aureus* vid minst ett tillfälle (Tabell 2). I besättning O och P hittades getter infekterade med *S. aureus* vid juverhalvprovtagningen, men PCR av tankmjölken var negativ för *S. aureus*. I besättning F provtogs alla lakterande getter utan att någon *S. aureus* kunde isoleras, men PCR för bakterien var positiv vid de två tillfällena tankmjölksprover togs

Inga statistiskt signifikanta samband kunde identifieras mellan tankmjölkcelltal och förekomst av *S. aureus* vid odling av juverhalvprover eller PCR av tankmjölk. Signifikanta samband hittades inte heller mellan tankmjölkcelltal och förekomst av andra juverinfektioner vid odling av juverhalvprover i besättningarna.

DISKUSSION

Eftersom *S. aureus* inte bara återfinns i juvret hos getter, utan även till exempel på hud och i sår (Jørgensen *et al.*, 2005), är det nog inte möjligt att helt utrota bakterien från landets getbesättningar. Dock vore det önskvärt att med enkel diagnostik kunna identifiera getter som bär patogenen i sina juver för att på så sätt minska risken för smittspridning till andra getter samt minska risken att denna sjukdomsframkallande bakterie överförs till konsumtionsprodukter.

Förekomst av juverinfektioner

I denna studie var KNS den vanligaste bakterien som framodlades från juverhalvprover, följt av *S. aureus*. Förekomsten av juverinfektioner i vår studie liknar den i en tidigare svensk studie (Persson och Olofsson 2011), även om prevalensen för *S. aureus* var något högre i den äldre studien. Förekomsten av juverinfektioner i studier från Storbritannien (Hall och Rycroft 2012) och Nederländerna (Koop 2012a) var högre än i de svenska studierna, även om prevalensen av KNS var ungefär densamma i alla studierna (12,3-15,5 %). Den lägre förekomsten i svenska studier kan bero på god juverhälsa i de provtagna besättningarna. Besättningarna i de svenska studierna var också förhållandevis små jämfört med de utländska studierna. Besättningsstorleken i den brittiska studien varierade mellan 100 och 1 000 mjölkande getter (medeltal cirka 440 getter). I den nederländska studien anges inte besättningsstorleken, men medelbesättningarna i landet anses ligga på mellan 400 och 600 mjölkgetter (Heidrich 2009). Enligt Bergonier (2003) kan en låg djurtäthet ge ett lägre smittryck och göra det enklare att hålla en god juverhälsa.

Av alla isolat med *S. aureus* var endast ett penicillinasproducerande. I en norsk studie på getmjölk av Mørk (2005) var 3 (5 %) av 60 *S. aureus*-isolat penicillinasproducerande, vilket är jämförbart med denna studie. Vår studie hade dock ett mindre totalantal *S. aureus*-positiva prover. I en iransk studie (Ebrahimi 2010) var samtliga 14 isolat av *S. aureus* från infekterade getter penicillinasproducerande.

Mätning av celltal för att identifiera juverhalvor infekterade med *S. aureus*

I denna studie hade juverhalvor infekterade med *S. aureus* signifikant högre DCC-celltal jämfört med odlingsnegativa juverhalvor, juverhalvor infekterade med KNS och juverhalvor infekterade med specifika patogener. Odlingsnegativa juverhalvor hade signifikant lägre DCC-celltal än infekterade juverhalvor (alla bakterier). Dessa resultat stämmer mycket väl överens med en tidigare svensk studie (Persson och Olofsson, 2011) och liknar dem från andra länder (Hall och Rycroft, 2007, Contreras *et al.*, 1996, Lerondelle och Poutrel, 1984, Poutrel och Lerondelle 1983) även om några av dessa studier visade ett högre celltal. Provtagningsperiod och metod för att mäta celltalet skiljde sig åt mellan studierna (Tabell 5), men i alla fanns signifikanta skillnader i celltal mellan negativa och infekterade juverhalvor. Variationen i celltal mellan studier skulle även kunna bero på andra faktorer, såsom förekomst av Capripneumonit-/Encefalit(CAE)-virus (Lerondelle *et al.*, 1992, Sanchez *et al.*, 2001, Turina *et al.*, 2005). Prevalensen av CAE i Sverige är i dagsläget okänd, men var mycket hög före införandet av kontrollprogram i Sverige 1998 (Nilson 1993).

Tabell 5. Medelvärden för infekterade (alla bakterier) och odlingsnegativa juverhalvor i tidigare studier på get

Studie	Medelvärde för odlingsnegativa juverhalvor Celler/ml	Medelvärde för infekterade juverhalvor Celler/ml	Föreslaget gränsvärde för att skilja mellan icke infekterade och infekterade juverhalvor Celler/ml
Vår studie, Sverige 530 getter provtagna i mitt- till senlaktation, analyserat med DCC	434 000	1 148 000	
Persson och Olofsson (2011), Sverige 111 getter provtagna i mitt- till sen laktation, analyserat med DCC	481 000	711 000	345 000
Hall och Rycroft (2007), Storbritannien Endast en juverhalva provtagen från 159 getter, alla laktationsstadier, analyserat med Fluorescens flödescytometer	428 000	2 785 000	1 000 000
Contreras et al. (1996), Spanien 369 provtagna getter i laktationsmånad 2-3, analyserat med Fossomatic	1 115 000	1 909 000	500 000
Lerondelle och Poutrel (1984), Frankrike 1217 getter provtogs både i början och slutet av laktationen, analyserat med Coulter Counter	1 540 000	-	1 000 000
Poutrel och Lerondelle (1983), Frankrike 153 getter provtagna i tidig till mittlaktation, analyserat med Fossomatic (övre värdet) och Coulter Counter (nedre värdet)	1 404 000 614 000	2 858 000 1 293 000	1 000 000 1 000 000

Ett av syftena med denna studie var att undersöka om det går att identifiera en celltalsgräns som kan skilja mellan juverhalvor infekterade med *S. aureus* och juverhalvor som inte är infekterade med bakterien. Trots att signifikanta skillnader fanns i celltal för juverhalvor

infekterade med *S. aureus* och andra juverhalvor gick det dock inte att identifiera en sådan celltalsgräns. Resultaten i vår studie skiljer sig från en nederländsk studie (Koop, 2011) i vilken en gräns på 1 500 000 celler/ml gav hög sensitivitet och specificitet (0,9 respektive 0,95). I tidig laktation och med ökande laktationsstadium sågs ökad sensitivitet och minskad specificitet för att identifiera *S. aureus*-infektion (Koop, 2011). I vår studie var både sensitiviteten och specificiteten lägre (0,62 respektive 0,88).

Orsaken till att ett tillförlitligt gränsvärde inte gick att identifiera i denna studie berodde på att det fanns *S. aureus*-infekterade juverhalvor med celltal under 300 000 celler/ml. Detta är under det lägsta gränsvärde som föreslagits i någon studie för att skilja mellan negativa juverhalvor och juverhalvor med juverinfektioner (Poutrel och Lerondelle 1983, Lerondelle och Poutrel, 1984, Contreras *et al.*, 1996, Hall och Rycroft 2012, Persson och Olofsson 2011). Det är också lägre än medelcelltalet för negativa juverhalvor i vår och andra studier (Persson och Olofsson, 2011, Hall och Rycroft, 2007) En gräns som inkluderat alla *S. aureus*-positiva prover skulle i denna studie behöva ligga under 300 000 celler/ml. En sådan gräns skulle även inkludera en stor andel av negativa juverhalvor och juverhalvor infekterade med andra agens. Att Koops studie (2011) kunde identifiera ett användbart värde skulle kunna bero på att stammarna av *S. aureus* i den studien var mer aggressiva och således gav en större ökning av celltalet.

Att istället försöka använda ett gränsvärde som kan identifiera icke infekterade juver skulle fungera bättre eftersom det negativa prediktiva värdet (NPV) var mycket högt (0,99), vilket innebär att en stor andel av de juverhalvor som enligt testet inte var infekterade med *S. aureus* verkligen inte var det. Att NPV var så högt beror främst på den låga prevalensen av den eftersökta bakterien. Dessutom hade en stor andel av juverhalvor infekterade med *S. aureus* så låga celltal att de skulle vara testnegativa. Vad gäller *S. aureus* är det viktigt att hitta alla infekterade individer för att förhindra smittspridning inom besättningen, vilket enligt denna studie inte skulle kunna åstadkommas genom att använda en celltalsgräns.

I denna studie undersöktes även om en stor skillnad i celltal mellan juverhalvorna kunde vara en indikator på juverinfektion med *S. aureus*. Skillnaderna i celltal mellan juverhalvorna var signifikant högre för getter med *S. aureus* än för odlingsnegativa getter, getter infekterade med KNS och getter infekterade med övriga bakterier. Precis som för det absoluta celltalet gick det dock inte att finna ett gränsvärde som kunde skilja mellan getter med eller utan *S. aureus*-infektion. Fysiologiska celltalsökningar borde påverka båda juverhalvorna i samma utsträckning, men infektion i en juverhalva borde inte påverka den motstående juverhalvas celltal. Skillnaden i celltal borde därför vara ett bättre redskap än det absoluta celltalet, men det finns motsägelsefulla uppgifter rörande detta. Enligt en studie (Maisi 1990b) kunde celltalet i motsatt juverhalva påverkas, medan en annan studie inte visade någon sådan effekt (Nesbakken 1976). Ett annat problem vid analys av skillnader i celltal kan vara dubbelsidiga juverinfektioner. Vid dubbelsidiga infektioner kan celltalet i båda juverhalvorna öka och celltalsskillnaden mellan juverhalvorna minskar därför. I denna studie hittades inga individer som var dubbelsidigt infekterade med *S. aureus*. Dock förekom getter som var positiva för *S. aureus* i en juverhalva och för andra patogener i den andra juverhalvan.

Ute i besättningar är CMT ett mer praktiskt test för att bedöma celltalet än DCC. Det är enkelt, snabbt och billigt och kan utföras på många djur. Juverhalvor infekterade med *S. aureus* hade signifikant högre CMT än negativa juverhalvor, juverhalvor infekterade med KNS och juverhalvor infekterade med andra bakterier. För skillnaden i CMT fanns signifikanta skillnader mellan infekterade och odlingsnegativa juverhalvor, men inte mellan juverhalvor infekterade med *S. aureus* och andra bakterier. Resultatet indikerar dock att CMT-undersökning och skillnaden i CMT mellan getens juverhalvor kan vara ett bra verktyg för att hitta juverinfektioner i besättningen, även om inget gränsvärde kunde hittas för att identifiera *S. aureus*. Att skillnaderna mellan odlingsresultaten i DCC-celtal var större än skillnaderna i CMT kan bero på att celltalet mätt med DCC är ett kontinuerligt mått med ett stort spann mellan högsta och minsta värdet medan CMT är en fast skala mellan 1 och 5 och därigenom mindre flexibelt. Med en kontinuerlig skala kan även mindre skillnader i celltalet iaktas. Majoriteten av proverna bedömdes i denna studie av samma person, men totalt bedömdes CMT av tre olika personer. Bedömningen av CMT är subjektiv och tolkningen kan därför bero på den som läser av testet. Om samma person bedömt alla proverna hade det blivit mer standardiserat.

Ökande laktationsmånad gav ett högre tankcelltal. Dock sågs inga signifikanta skillnader i celltalet hos juverhalvproverna mellan olika laktationsmånader. Laktationsstadium har i tidigare studier visats ha en viktig påverkan på celltalet hos mjölkgetter (Zeng och Escobar 1995, McDougall *et al.*, 2001, Paape *et al.*, 2001, Gomes *et al.*, 2006, Paape *et al.*, 2007, Olechnowicz och Sobek 2008, Koop *et al.*, 2009). Orsaken till att signifikanta skillnader inte kunde ses i denna studie kan vara att getternas egna individuella laktationsstadium inte registrerades utan laktationsstadiet beräknades som ett medelvärde för besättningen. Dessutom var endast en besättning provtagen i laktationsmånad 3 och 5 och ingen i laktationsmånad 4.

Materialet som användes till denna studie utgjordes till stor del av friska djur och därför var en låg prevalens av *S. aureus* förväntad. För bakteriell undersökning av mjölkprover saknas idag en guldstandard, men odling av mjölkprover används i de flesta studier som referens och anses vara den bästa tillgängliga metoden för att identifiera juverinfektion (Torres 2009). Det är dock ingen perfekt metod (Erskine och Eberhart 1988) eftersom det inte alltid speglar de patogener som finns i juvret (Buelow *et al.*, 1996, Sol 2002). Vissa bakterier som *S. aureus* utsöndras intermittent (Sears *et al.*, 1990) eller i så små mängder att de inte följer med i den lilla provmängd som inokuleras på blodagarplatta vid odling (Buelow *et al.*, 1996). Koop visade 2011 att trots att specificiteten för bakteriologisk odling är så gott som 100 % är sensitiviteten mycket låg, vilket skulle betyda att infektionsprevalensen egentligen är högre än uppskattat. Sears *et al.* (1990) visade i en studie på mjölkkor att sensitiviteten för att med bakteriologisk odling korrekt kunna identifiera *S. aureus* i en infekterad juverdel inte var högre än 0,74. Om fler prover togs över tid kunde sensitiviteten ökas till 0,94 vid sammanlagt 2 prover och 0,98 om totalt 3 mjölkprover odlades från samma juverdel. Detta innebär att odling kan ha resulterat i en falskt låg prevalens av *S. aureus* i vår studie och innebära att en andel av våra odlingsnegativa prover var falskt negativa. Detta skulle kunna förklara varför

några av de negativa proverna hade lika höga celltal som de högsta celltalen hos *S. aureus*-positiva prover (6 116 000 respektive 6 202 000 celler/ml). Om getterna provtagits vid upprepade tillfällen skulle sensitiviteten för odlingen ha kunnat förbättras i vår studie. Användning av PCR istället för odling skulle kunna förbättra sensitiviteten ytterligare (Koskinen *et al.* 2010).

Celltal och PCR-undersökning för *S. aureus* av tankmjölk

Ett av syftena med denna studie var att se om celltalsundersökning med DCC eller bakteriologisk undersökning av förekomst av *S. aureus* med PCR av tankmjölken kan indikera att getterna i besättningen har juverinfektioner med *S. aureus*. I vår studie kunde dock inga signifikanta samband ses mellan tankmjölkscelltal och förekomst av *S. aureus* vid juverhalvprovtagning eller vid PCR-analys av tankmjölk. Inga samband kunde heller ses mellan tankcelltal och hög prevalens av andra juverinfektioner i besättningen. År 2004 utförde Jayaro en studie där 126 mjölkbesättningar vid fyra tillfällen skickade in tankmjölksprover för analys av tankcelltal och bakterieodling. Denna studie visade att om *S. aureus* isolerats från mjölktanken vid bakterieodling vid flera tillfällen skilda i tid i samma besättning kunde en signifikant ($p < 0,05$) ökning i celltal ses hos tankmjölken. Samma resultat såg Riekrink (2006) i en liknande studie som omfattade 258 besättningar och Rysanek (2009) som undersökte tankmjölksprover från 268 mjölkbesättningar. Alla dessa tre studier visade även samma resultat för *Str. agalactiae* och de använde alla bakterieodling för att identifiera förekomst av bakterien. I en liknande studie på get där 3 tankmjölksprover togs med 2 veckors mellanrum kunde man inte se någon korrelation mellan tankcelltal och isolering av *S. aureus* vid bakteriologisk odling av tankmjölkprover. Däremot fanns en korrelation mellan tankcelltal och totalantal stafylokocker i tankmjölken (Koop *et al.*, 2010).

Att *S. aureus*-infektioner, som kan ge en signifikant höjning av celltalet hos individen, inte ger utslag på tankmjölkscelltalet i studierna på get kan bero på att prevalensen av infekterade juverhalvor är så låg att tankmjölkscelltalen inte påverkas nämnvärt (Deinhofer och Pernthaner, 1995, Luengo *et al.*, 2004). I vår studie utfördes bakteriologiska undersökningar av tankmjölken med PCR istället för odling, då sensitiviteten är högre än för odling och studien var fokuserad på *S. aureus*. Eftersom de tidigare studierna (Jayaro 2004, Riekrink *et al.*, 2006, Rysanek *et al.*, 2009) på mjölkkor använt sig av odling istället för PCR kan det betyda att en högre andel infekterade individer behövdes i besättningen för att en besättning skulle klassas som positiv för *S. aureus*. Detta skulle kunna vara en orsak till att ett höjt tankmjölkscelltal kunde ses i studierna på mjölkkor, men förklarar inte varför ingen höjning av celltalet kunde ses i Koops *et al.* (2010) studie på mjölkgetter. Eftersom sensitiviteten för odling är låg kan det vara nödvändigt med upprepad provtagning över tid för att förbättra sensitiviteten (Sears *et al.*, 1990), vilket inte gjordes i någon av de tidigare studierna (Riekrink *et al.*, 2006, Koop *et al.*, 2010).

Det har setts hos mjölkkor att tankmjölkscelltalet kan förbli lågt trots hög förekomst av *S. aureus*-mastiter om mastiter upptäcks tidigt eller om individer med höga celltal utesluts och den infekterade mjölken således inte inkluderas i tankmjölken (Torgerson *et al.*, 1992). På

mjölkosidan finns det exempel på besättningar där man sett att tankcelltalet påverkats (Edmondson 2012) eller inte påverkats (Torgerson *et al.*, 1992) av hög förekomst av *S. aureus* bland korna i besättningen. I en studie av Edmondson (2012) kunde *S. aureus* isoleras från 34 (25 %) mjölkkor i en besättning med 135 lakterande kor. I den besättningen hade tankcelltalet ökat från 91 000 celler/ml till 554 000 celler/ml under en niomånaders period och den höga förekomsten av *S. aureus*-mastiter berodde på att den automatiska spendoppningen i mjölkroboten hade slutat fungera. I en annan studie av Torgerson *et al.* (1992) sågs trots en hög incidens av *S. aureus*-mastiter bland korna ingen ökning av besättningens tankcelltal. Detta ansågs dock bero på djurskötarnas förmåga att tidigt hitta kliniska mastiter bland korna i besättningen och således kom den infekterade mjölken med höga celltal aldrig med i tankmjölken. I dessa studier undersökte man inte tankmjölken bakteriologiskt, infektion med *S. aureus* hittades via bakteriologisk undersökning av mjölken från kor med höga celltal.

Prevalensen av juverinfektion med *S. aureus* i besättningarna i de tre tidigare nämnda studierna på tankmjölk från kor (Jayaro *et al.*, 2004, Riekrink *et al.*, 2006, Rysanek *et al.*, 2009) skulle alltså kunna vara högre än i de positiva besättningarna i vår studie och således ha större möjlighet att påverka tankcelltalet. I de tre studierna som utfördes på mjölkkor togs inga individuella juverdelprover och inga data finns över hur många djur i besättningarna som hade juverinfektioner med *S. aureus*. I vår studie hittades som mest tre infekterade juverhalvor i samma getbesättning.

PCR-undersökning av tankmjölk för att detektera *S. aureus* var i vår studie inte en pålitlig metod för att identifiera gårdar med förekomst av *S. aureus* hos getterna, trots att 6 av 8 besättningar där *S. aureus* hittades vid juverhalvprovtagning vid minst ett tillfälle var PCR-positiva vid tankmjölksanalys. Inga signifikanta samband kunde ses mellan fynd av *S. aureus* vid odling av juverhalvprover och vid PCR av tankmjölksprover.

Ett negativt svar för *S. aureus* vid PCR-analys var inte heller pålitligt. Även om PCR-testet var negativt vid ett provtagningstillfälle kunde det vid en annan tidpunkt i samma besättning vara positivt och getter med *S. aureus*-infekterade juver hittas vid juverhalvprovtagningen. Detta var fallet i 4 av de 16 besättningarna. Det förekom även att tankmjölksprovet var positivt vid PCR, trots att inga *S. aureus*-infekterade getter hittades vid juverhalvprovtagningen och alla mjölkande getter i besättningen provtogs.

Vissa bakterier, som *S. aureus*, utsöndras intermittent (Sears 1990) eller i så små mängder att de inte följer med i den lilla provmängd som analyseras (Buelow *et al.*, 1996). Den intermittenta utsöndringen skulle kunna förklara varför PCR inte var positivt för *S. aureus* vid varje tankprovtagning, trots att bakterien hittades i besättningen vid den individuella provtagningen. Eftersom inte alla tankmjölksprover skickades i nära anslutning till den individuella provtagningen kan naturligtvis infektläget i besättningen ha förändrats och det är svårt att jämföra prover tagna vid olika tillfällen. I de fall där PCR-testet för *S. aureus* var positivt, men inga positiva djur hittades vid juverhalvprovtagningen, skulle det positiva provsvaret kunna bero på infekterade djur missades vid provtagningen. Det skulle även kunna bero på kontamination av mjölkprovet vid provtagning och hantering eller från en reservoar,

till exempel i rörsystemet till mjölktanken. I de fall där *S. aureus*-positiva djur identifierats vid individprovtagning och tankmjölksprover sedan insamlats senare finns det en risk att djurägaren slagit ut positiva djur mellan provtagningarna och att mjölken från dessa getter således inte kom med i tankmjölksprovet. Detta skulle möjligen kunna vara fallet för besättningarna O och P. Bakterierna kan också komma från exempelvis hud, mjölkare eller mjölkledningarna.

Konklusion

Resultaten i denna studie visar att juverinfektion hos get med *S. aureus* leder till högre mjölkcelltal än andra bakterieinfektioner. Celltalet mätt med DCC eller CMT kan således vara en hjälp att identifiera *S. aureus*-infekterade getter i besättningen. Dock är det inte möjligt att med celltalsundersökning identifiera alla *S. aureus*-infekterade getter. Skillnaden i celltal mätt med DCC och CMT mellan getens båda juverhalvor kan också vara ett verktyg för att identifiera juverinfektion, men med CMT var det inte en specifik indikator för juverinfektion orsakad av *S. aureus*. Tankcelltalet var inte ett pålitligt mått för att indikera *S. aureus*-förekomst hos getterna i besättningen. PCR-analys av enstaka tankmjölksprov avseende förekomst av *S. aureus* var inte heller en helt pålitlig indikator för *S. aureus*-förekomst hos getterna. Upprepad tankmjölksprovtagning och bakterieundersökning kan dock troligen ge en indikation på om getterna i besättningen har juverinfektioner med *S. aureus* eller inte.

RÅD TILL DJURÄGARNA

Vi rekommenderar att juverhalvor med högt celltal (mätt med CMT eller DCC) bör provtas och undersökas för förekomst av *S. aureus*. Det kan dock vara så att alla juverhalvor infekterade med *S. aureus* inte kan hittas med hjälp av celltalsundersökningar.

Vi rekommenderar att djur med stora skillnader i celltal (mätt med CMT eller DCC) mellan juverhalvorna bör provtas och undersökas för förekomst av *S. aureus*. Vid dubbelsidig infektion kan dock skillnaden mellan juverhalvor bli mindre eftersom båda halvorna får ett ökat celltal. Skillnader i CMT mellan getens båda juverhalvor är inte specifikt för *S. aureus*, men kan indikera att juverinfektion med denna eller någon annan bakterie föreligger.

Vi rekommenderar att PCR-undersökning av tankmjölken avseende förekomst av *S. aureus* utförs upprepade gånger under laktationsperioden för att resultatet ska vara tillförlitligt. Resultatet av ett enda prov är inte tillförlitligt på grund av bakteriens intermittenta utsöndring och risken för kontamination av provet.

Vi kan inte rekommendera att ett högt tankmjölkscelltal används som en indikator på att getterna är infekterade med *S. aureus*.

För att få en så god helhetssyn som möjligt över hälsoläget i besättningen bör alla fynd, både från tankmjölk och individuella juverhalvor vägas samman.

Tack

Ett stort tack till mina engagerade handledare Ylva och Karin som tålmodigt stöttat och pushat mig för att göra detta arbete så bra som möjligt. Tack till Patrice som hjälpt mig att hitta rätt väg genom den statistiska djungelns dunkla stigar. Ett stort tack till Maja som varit en ovärderlig hjälp i labbet och en sann expert på fina Excel-filer. Tack till Sandbergs forskningsfond som gjort denna studie möjlig. Slutligen ett stort tack till alla getter och djurägare som så väl bemött mig och visat intresse för projektet.

REFERENSER

- Alomar, J., Lebert, A. A., Montel, M. C. (2008) Effect of temperature and pH on growth of *Staphylococcus aureus* in Co-Culture with *Lactococcus garvieae*, *Curr. Microbiol.* 56, 408-412
- Auldist, M.J., Coats, S., Rogers, G.L., McDowell, G.H. (1995) Changes in the composition of milk from healthy and mastitic dairy cows during the lactation cycle, *Australian Journal of Experimental Agriculture* 35, 427-436
- Aziz, M. A. (2010) Present status of the world goat populations and their productivity, King Faisal University, Al-Ahsa, Saudi Arabia, *Lohmann Information*, Vol. 45 (2), Oct. 2010, 42-52
- Baudry, C., DeCrémoux, R., Chartier, C., Perrin, G. (1997) Impact of mammary gland inflammation on milk yield and composition in goats. *Vet. Res.* 28, 277–286.
- Bendali, F., Sanaa, M., Leroy, I., Mtaallah, B., Mialet, J. P., (1997) Economic effect of subclinical mastitis control in dairy cattle: observational study in French Dairy herds, *Epidémiol. Santé anim.* 31-32
- Bergonier, D., de Crémoux, R., Rupp, R., Lagriffoul, G., Berthelot, X. (2003) Mastitis of dairy small ruminants *Vet. Res.* 34, 689–716 689
- Berry E. och Broughan J. (2007) Use of the DeLaval cell counter (DCC) on goats' milk, *Journal of Dairy Research* 74 345–348.
- Buelow K. L., Thomas C. B., Goodger W. J., Nordlund K. V., Collins M.T. (1996) Effect of milk sample collection strategy on the sensitivity and specificity of bacteriological culture and somatic cell count for detecting staphylococcus aureus intramammary infection in dairy cattle, *Preventive Veterinary Medicine* 26 1-8
- Byeng R. M., Tomita G. M., Hart, S. P., (2007) Effect of subclinical intramammary infection on somatic cell counts and chemical composition of goat's milk *Journal of Dairy Research*, Volume 74, Issue 02, May 2007, pp 204 210
- Contreras A., Corrales J. C., Sierra D. (1995) Prevalence and aetiology on non-clinical intramammary infection in Murciano-Granadina goats. *Small Ruminant Res.* 1995;17:71
- Contreras A., Sierra D., Corrales J. C., Sanchez A., Marco J. (1996) Physiological threshold of somatic cell count and California Mastitis Test for diagnosis of caprine subclinical mastitis, *Small Ruminant Research* 2 1 259-264
- Contreras, A., Luengo, C., Sanchez, A., Corrales, J. C., (2003) The role of intramammary pathogens in dairy goats *Livestock Production Science* 79 273–283
- Contreras, A., Sierra, D., Sanchez, A., Corrales, J. C., Marco, J., Paape, M. J., Gonzalo C. (2007) Mastitis in small ruminants *Small Ruminant Research* 68 (2007) 145–153
- Danielsson M L, Hammarberg K-E och Wittander G. 1980. Getostens bakteriologi och hygien. *Vår föda*, 32; 3
- Deinhofer, M., Pernthaner, A. (1995) *Staphylococcus* spp. as mastitis-related pathogens in goat milk *Veterinary Microbiology* 43 161-166
- Droke E. A., Paape, M. J., Di Carlo A. L., Prevalence of High Somatic Cell Counts in Bulk Tank Goat Milk 1993 *J Dairy Sci* 76:1035-1039

- Dulin, A.M., Paape, M. J., Schultze, W. D., Weinland, B. T. (1983) Effect on parity, stage of lactation and intramammary infection of somatic cell and cytoplasmic particle in goat milk, *J Dairy Sci.* Nov 66(11), 2426-33
- Ebrahimi , A., Shams, N., Shahrokh, S., Mirshokraei p. (2010) Characteristics of Staphylococci isolated from mastitic goat milk in Iranian dairy herds, *Veterinary World* 3(5), 205-208
- Edmondson, P. W. (2012) Raised herd somatic cell count due to Staphylococcus aureus following the failure of an automatic teat spraying system, *Vet Rec.* 170 (11) 287 (Abstract)
- Erskine, R. J., och Eberhart, R. J., (1988) Comparison of duplicate and single quarter milk samples for the identification of intramammary infections, *J Dairy Sci* 71, 854-856
- Fohlman, J., Blomberg, J., Fröman, G., Engstrand, L., Johansson, A., Friman, G. (2004) Mikrobiell diagnostik med PCR blir kliniskt värdefull när analysiden kortas, *Läkartidningen*, 101 (17), 1488-1492
- Foschino, R., Invernizzi, A., Barucco R., Stradiotto K., (2002), Microbial composition, including the incidence of pathogens, of goat milk from the Bergamo region of Italy during a lactation year, *journal of Dairy Research* 69 213-225
- Gomes, V., Libera, A. M. M. P. D., Paiva, M., Madureira, K. M., Araujo, W. P., (2006) Effect of the stage of lactation on somatic cell counts in healthy goats, *Small Ruminant Research* 64, 30–34
- Hall, S. M., Rycroft, A. N., (2007) Causative organisms and somatic cell counts in subclinical intramammary infections in milking goats in the UK. *Vet Rec*, 160(1), 19-22.
- Haenlein, G. H. F., (2002) Relationship of somatic cell counts in goat milk to mastitis and productivity, *Small Ruminant Research* 45, 163–178
- Holsinger, V. H., Rajkowskij, K. T. (1997) Milk pasteurisation and safety: a brief history and update, *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.* 16 (2), 163-178
- Hunter, A. C., (1984) Microflora and somatic cell content of goat milk *Vet Rec.* 31, 318-20.
- Jayarao, B. M., Pillai, S- R., Sawant, A. A., Wolfgang, D. R., Hegde N. V., (2004) Guidelines for Monitoring Bulk Tank Milk Somatic Cell and Bacterial Counts, *J. Dairy Sci.* 87, 3561–3573
- Jensen, N.E., Knudsen, K., (1991) Interquarter comparison of markers of subclinical mastitis: somatic cell count, electrical conductivity, N-acetyl-beta-glucosaminidase and antitrypsin, *J Dairy Res.* 58(4), 389-99.
- Jørgensen, H. J., Mørk, T., Rørvik, L. M., (2005), The occurrence of staphylococcus aureus on a farm with small scale production of raw milk cheese *J. Dairy Sci.* 88, 3810–3817
- Katholm, J., Bennedsgaard, T. W., Koskinen, M. T., Rattenborg, E. (2012), Quality of bulk tank milk samples from Danish dairy herds based on real-time polymerase chain reaction identification of mastitis pathogens, *J. Dairy Sci.* 95, 5702–5708
- Koop, G., Nielen, M., van Werven, T., (2009) Bulk milk somatic cell counts are related to bulk milk total bacterial counts and several herd-level risk factors in dairy goats *J. Dairy Sci.* 92, 4355–4364
- Koop, G., Dik, N., Nielen, M., Lipman, J. A (2010) Short communication: Repeatability of differential goat bulk milk culture and associations with somatic cell count, total bacterial count, and standard plate count, *J. Dairy Sci.* 93, 2569–2573

- Koop, G., van Werven, T., Toft, N., Nielen M., (2011), Estimating test characteristics of somatic cell count to detect *Staf aureus*-infected dairy goats using latent class analysis *J. Dairy Sci.* 94, 2902–2911
- Koop, G., (2012a) Udder health in dairy goats, ch 4.2 CNS species in goat milk. Part II: differences in pathogenicity, 85-99.
- Koop, G., De Vliegheer, S., De Visscher, A., Supré, K., Haesebrouck, F., Nielen, M., van Werven, T. (2012b), Differences between coaguase-negative *Staphylococcus* species in persistence and in effect on somatic cel count and milk yield in dairy goats, *J Dairy Science* 95 (9), 5075-5084
- Koskinen, M. T., Wellenberg, G. J., Sampimon, O. C., Holopainen, J., Rothkamp, A., Salmikivi, L., van Haeringen, W. A., Lam, T. J. G. M., Pyörälä, S., (2010). Field comparison of real-time polymerase chain reaction and bacterial culture for identification of bovine mastitis bacteria. *J. Dairy Sci.* 93, 5707–5715.
- Leitner, G., Merin, U., Silanikove, N., Ezra, R., Chaffer, M., Gollop, N., Winkler, M., Glickman Anita., Saran, A. (2004a) Effect of subclinical intramammary infection on somatic cell counts, NAGase activity and gross composition of goats' milk, *Journal of Dairy Research Volume* 71 (03), 311-315
- Letiner, G., Merin, U., Silanikove, N. (2004b) Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in goats, *J Dairy Sci.* 87, 1719-1726.
- Luengo, C., Sanchez, A., Corrales, J. C., Fernandez, C., Contreras, A., (2004), Influence of intramammary infection and non-infection factors on somatic cell counts in dairy goats *Journal of Dairy Research* 71, 169–174
- Lerondelle, C., Richard Y., Issartial, J., (1992) Factors affecting somatic cell count in goat milk, *Small Ruminant Research*, 8, 129-139
- Lerondelle, C. och Poutrel, B. (1984) Characteristics of non clinical mammary infections of goats, *Ann. Reach. Vet.* 15 (1), 105-112
- Maisi, P., (1990a) Analysis of physiological changes in caprine milk with CMT, NAGase and antitrypsin, *Small Ruminant Research*, 3, 485-492
- Maisi, P., (1990b) Milk NAGase, CMT and antitrypsin as indicators of caprine subclinical mastitis infections, *Small Ruminant Research*, 3, 493-501
- McDougall, S., Murdough, P., Pankey, W., Delaney, C., Barlow, J., Scruton, D., (2001) Relationships among somatic cell count, California Mastitis Test impedance and bacteriological status of milk in goats and sheep in early lactation, *Small ruminant research* 40, 245-254
- McDougall, S. och Voermans, M., (2002) Influence of estrus on somatic cell count in dairy goats, *J. Dairy Sci.* 85, 378–383
- Moroni, P., Pisoni, G., Vimercati, C., Rinaldi, M., Castiglioni, B., Cremonesi, P., Boettcher, P., (2005a), Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from chronically infected dairy goats *J. Dairy Sci.* 88, 3500–3509
- Moroni, P., Pisoni, F., Ruffo G., Boettcher, P. J., (2005b) Risk factors for intra-mammary infections and relationship with somatic cell counts in Italian dairy goats, *Prev. Vet. Med.* 69, 163–173.
- Moroni, P., Pisoni, G., Antonini, M., Ruffo, G., Carli, S., Varisco, G., Boettcher, P., (2005c) Subclinical mastitis and antimicrobial susceptability of *Staphylococcus caprae* and *epidermidis* isolated from two italian goat herds *J. Dairy Sci.* 88, 1694–1704

- Moroni, P., Pisoni, G., Savoini, G., van Lier, E., Acuna, S., Damian, J. P., Meikle A., (2007) Influence of oestrus of dairy goats on somatic cell counts, milk traits and sex steroid receptors in the mammary gland, *J. Dairy Sci.* 90, 790–797
- Mørk, T., Tollersrud, T., Kvitle, B., Jørgensen, H. J., Waage, S. (2005) Comparison of *Staphylococcus aureus* genotypes recovered from cases of bovine, ovine, and caprine mastitis, *Journal of Clinical Microbiology*, 43(8), 3979–3984
- Nesbakken, T. T., (1976) The cell count in milk of goats, *Nord Vet Med* 28(11), 550-556
- Nilson, J. (1993) Caprine arthritis-encephalitis virus - a common virus in Swedish goat herds, *Svensk-Veterinaertidning* 45 (16) 737-742
- Ogola, H., Shitandi, A., Nanua, J (2007), Effect of mastitis on raw milk compositional quality, *J. Vet. Sci.* 8(3), 237-242
- Olechnowicz, J., Sobek, Z., (2008) Factors of variation influencing production level, SCC and basic milk composition in dairy goats, *Journal of Animal and Feed Sciences*, 17, 41–49
- Paape, M. J., Dulin, A. M., Wergin, W. P., Guidry, A. J., Weinland, B. T. (1982) Differentiation and enumeration of somatic cells in goat milk, *Journal of Dairy Science* 1980 Vol. 63 123-124
- Paape, M. J., Poutrel, B., Contreras, A., Marco, J. C., Capuco, A. V., (2001) Milk somatic cells and lactation in small ruminants, *J. Dairy Sci.* 84 (E. Suppl.) E237-E244
- Paape, M. J., Wiggans, G. R., Bannerman, D. D., Thomas, D. L., Sanders, A. H., Contreras, A., Moroni, P., Miller R. H., (2007) Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts *Small Ruminant Research* 68, 114–125
- Park Y. W. (1991) Interrelationships between somatic cell counts, electrical conductivity, bacteria counts, percent fat and protein in goat milk, *Small Ruminant Research*, 5, 367-375
- Perrin, G. G., Mallereau, M. P., Lenfant, D., Baudry C. (1997) Relationships between California mastitis test (CMT) and somatic cell counts in dairy goats, *Small Ruminant Research* 26, 167-170
- Persson, Y., och Oloffson, I. (2011) Direct and indirect measurement of somatic cell count as indicator of intramammary infection in dairy goats, *Acta Vet Scand.* 53(1), 15.
- Petzer, I. M., Donkin, E. F., Du Preez, E., Karzis, J., van der Schans, T. J., Watermeyer J. C., van Reenen, R. (2008) Value of tests for evaluating udder health in dairy goats: somatic cell counts, California Milk Cell Test and electrical conductivity, *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 75, 279–287
- Phuektes, P., Browning, G. F., Anderson, G., Mansell. P. D. (2003) Multiplex polymerase chain reaction as a mastitis screening test for *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* and *Streptococcus uberis* in bulk milk samples, *J. Dairy Res.* 70,149–155
- Poutrel, B., Lerondelle, C. (1983), Cell count of goat milk, California mastitis test ,Coulter Counter and fossomatic for predicting half infection, *Journal of Dairy Science* , 66 (12), 2575-2579.
- Poutrel, B. (1984) Udder infection of goats by coagulase-negative staphylococci, *Veterinary Microbiology*, 9, 131—137
- Preto, D., De Marchi, M., Penasa, M., Cassandro, M. (2012) Effect of milk composition and coagulation traits on Grana Padano cheese yield under field conditions, *J Dairy Res.* 24, 1-5

- Richard, G.M., Riekerink, O., Barkema, H. W., Veenstra, S., Poole, D.e> Randy T. Dingwell, Gregory P. Keefe, 2006, Prevalence of contagious mastitis pathogens in bulk tank milk in Prince Edward Island, *Can Vet J Volume 47*, 2006, 567-572
- Robertsson, N. H., och Mullere, C. J. C. (2005) somatic cell count in goats as an indicator of clinical mastitis, *SA Anim Sci*, 6
- Ryan, D. F., Greenwood, P. L., (1990) Prevalence of udder bacteria in milk samples from four dairy goat herds, *Aust Vet J.* 67(10), 362-363
- Rysanek, D., Zouharova, M., Babak, V. (2009) Monitoring major mastitis pathogens at the population level based on examination of bulk tank milk samples, *Journal of Dairy Research*, 76, 117–123.
- Sanchez, A., Contreras, A., Corrales J. C. (1999) Parity as a risk factor for caprine subclinical intramammary infection, *Small Ruminant Research* 31 197-201
- Sanchez, A. Contreras, A., Corrales, J. C., Marco, J. C. (2001), Relationships between infection with caprine arthritis encephalitis virus, intramammary bacterial infection and somatic cell counts in dairy goats, *Veterinary Record*, 148, 711-714
- Schaeren, W. och Maurer [Prevalence of subclinical udder infections and individual somatic cell counts in three dairy goat herds during a full lactation] *Schweiz Arch Tierheilkd* , 148, 641-648
- Sheldrake, R. F., Hoare, R. J., Woodhouse V. E. (1981) Relationship of somatic cell count and cell volume analysis of goats's milk to intramammary infection with coagulase negative staphylococci, *Journal of Dairy Research* , 48 (03), 393 – 403
- Schelin, J., Wallin-Carlquist, N., Thorup Cohn, M., Lindqvist, R., Barker, G. C., Rådström, P. (2011) The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment, *Virulence*, 2(6) 580-592
- Sears, P. M., Smith, B. S., English, P. B., Herer, P. S., Gonzalez, R. N. (1990) Shedding pattern of *Staphylococcus aureus* from bovine intramammary infection, 1990 *J Dairy Sci*, 73, 2785-2789
- Sol, J., Sampimon, O. C., Hartman, E., Barkema, H. W., (2002) Effect preculture freezing and incubation on bacteriological isolation from subclinical mastitis samples, *Veterinary Microbiology* 85, 241-249
- Talafha, A. Q., Lafi, S. Q., Ababneh, M. M., (2008) The effects of oestrus synchronization treatment on somatic cell count of transitiona-anestrus local-Damascus cross breed goat's milk, *Trop Anim Health Prod* 41, 161–170
- Tirard-Collet, P. J., Zee, A., Carmichael, L., Simard, R. E., (1991) A study of the microbiological quality of goat milk in Quebec, *J. Food Prot.* 54, 263-266
- Torgerson, P. R., Gibbs, H. A., Anderson, D. B. (1992) High incidence of clinical mastitis due to *Staphylococcus aureus* in two dairy herds with low milk cell counts, *Veterinary Record* 130 54-55
- Torres, A. H., Rajala-Schultz, P. J., De Graves F. J., (2009) Diagnosis of intramammary infections at dry-off based on sampling strategy, epidemiology of pathogens, and agreement beyond chance *J Vet Diagn Invest* 21, 427–436
- Turina, L., Pisonia, G., Gianninoa, M. L., Antoninib, M., Rosatic, S., Ruffoa, G., Moronia P. (2005) Correlation between milk parameters in CAEV seropositive and negative primiparous goats during an eradication in italian farms, *Small Ruminant Research* 57, 73–79
- Wedholm, A., Møller, H. S., Stensballe, A., Lindmark-Månsson, H., Karlsson, A. H., Andersson, R., Andrén, A., Larsen, L. B. (2008) Effect of minor milk proteins in chymosin separated whey and

casein fractions on cheese yield as determined by proteomics and multivariate data analysis, *J Dairy Sci.* 91 (10) 3787-3797

- Vihan, V. S. (1989) Determination of NAGase Activity in milk for diagnosis of subclinical caprine mastitis, *Small Ruminant Research*, 2, 359-366
- White, L.S. Hinckley 1999, Prevalence of mastitis pathogens in goat milk, *Small Ruminant Research*, 33, 117-121
- Wilson, D. J., Stewart, K. N., Sears, P. M., (1995) Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats, *Small Ruminant Research* 16, 165-169
- Zottola, E. och Smith, B. (1993) Growth and survival of undesirable bacteria in cheese. In: *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (Fox, P.F. ed.) 2nd Ed. London Press, 471- 523.
- Zeng, S. S., Escobar, E. N., (1995) Effect of parity and milk production on somatic cell count, standard plate count and composition of goat milk, *Small Ruminant Research*, 17, 269-274
- Zeng, S. S., (1996) Comparison of goat milk standards with cow milk standards for analyses of somatic cell count, fat and protein in goat milk, *Small Ruminant Research*, 2, 221-225
- Zeng, S. S., Escobar, E. N., Harta, S. N., Hinckley, L., Baulthausc, M., Robinson, G. T., Jahnke G., (1999) Comparative study of the effects of testing laboratory, counting method, storage and shipment on somatic cell counts in goat milk, *Small Ruminant Research*, 31, 103-107

Web-baserade källor

- Rodrigo Ataide Dias, Garry Mahon, Giovanni Dore, EU sheep and goat population in December 2007 and production forecasts for 2008 [online], tillgänglig: http://www.eds-destatis.de/de/downloads/sif/sf_08_067.pdf 2012-11-28
- Earth Policy Institut, 2011, World on the Edge by the Numbers – Growing Goat Herds Signal Global Grassland Decline [online], tillgänglig: http://www.earth-policy.org/data_highlights/2011/highlights14 2012-11-28
- George F. W. Haenlein Lynn S. Hinckley 1995, Goat milk somatic cell count situation in USA [online], tillgänglig: <http://www.dawog.net/Goats/DCE/gm-11.htm> 2012-11-28
- Livsmedelsverket 2001, SLV rapport 17 Lokal och regional livsmedelsproduktion - Kartläggning, analys och förslag till åtgärder [online], tillgänglig: <http://www.slv.se/sv/grupp3/Rapporter/Smaskalig-livsmedelsproduktion/2001-SLV-rapport-17-Lokal-och-regional-livsmedelsproduktion---Kartlaggning-analys-och-forslag-till-atgarder/#utanfor> 2012-11-28
- Livsmedelsverket 2012b, livsmedelsverkets hemsida, [online], tillgänglig: <http://www.slv.se/sv/Fragor--svar/Fragor-och-svar/Drycker/Varfor-pastoriseras-mjolken-och-vilka-metoder-finns-det/> 2012-11-28
- LIVSFS 2005:20, livsmedelsförordningen [online], tillgänglig: http://www.slv.se/upload/dokument/lagstiftning/2005-2006/2005_20_kons_ny.pdf 2012-12-10
- Nordiska riktlinjer för mastitbehandling 2009, [online], tillgänglig: http://www.sva.se/upload/Redesign2011/Pdf/antibiotika/Nordiska_riktlinjer_for_mastitbehandling_lagupplust.pdf 2012-11-28

- Persson, Y., Gustafsson, K., (2010) Förebyggande åtgärder viktiga vid mastit, *Djurhälsonytt 2* 2010[online], tillgänglig: http://www.sva.se/upload/Redesign2011/Pdf/Djurh%C3%A4lsa/F%C3%A5r_och_get/Forebygg_mastit_Djurhalsonytt_2.pdf 2012-12-10
- SVA 2011a, SVAs hemsida [online], tillgänglig: <http://www.sva.se/sv/Diagnostik-och-produkter1/Provtagningsinstruktioner/Virologi/PCR-metoden/> 2012-12-11
- SVA 2011b, SVAs hemsida[online], tillgänglig: <http://www.sva.se/sv/Diagnostik-och-produkter1/Aktuella-analyser/Notkreatur1/Mastit/For--och-nackdelar-med-odling-och-PCR-diagnostik/> 2013-01-03
- SVA 2012, SVAs hemsida [online], tillgänglig: <http://www.sva.se/sv/Djurhalsa1/Notkreatur/Endemiska-sjukdomar/Mastit/Mastit-orsakad-av-Staphylococcus-aureus/> 2012-12-10
- Svensk mjölk 1998, Rapport nr 4953 1998-03-17, [online], tillgänglig: <http://www.svenskmjolk.se/Global/Dokument/Dokumentarkiv/Forskning/Forskningsrapporter/FoR%204953%201998-03-17%20Mj%C3%B6lk%C3%A5r.pdf> 2012-11-28

Övriga referenser

- Brandt, L. (2009) Djurhållning och hälsoproblem I svenska mjölkgetbesättningar – sett ur djurägarperspektiv, Examensarbete 2009:5 ISSN 1652-8697 Uppsala 2009 (**Examensarbete**)
- Cornell B. (1987) *Vår Svenska getskötsel*. Lantbruksinformation Nr 13. 11 sid.
- Högberg, M. (2011) Gårdsanalyser av mjölkens sammansättning hos Svenska lantrasgetter med en mobil infraröd spektrometri-metod, MIRIS, (**Examensarbete**)
- Heidrich (2009) Netherlands and Germany: dairy goat products, Dairy Artisan Series 2010, 3-4
- Lindblad, M. och Rosengren, Å. (2008), Bilaga 4 till Handledning för kontroll av hantverksmässig tillverkning av ost, Prov eller inte prov – handledning för mikrobiologisk provtagning vid hantverksmässig tillverkning av ost
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W. & Constable, P. D. (2007) *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th edition, Edinburgh: Saunders Elsevier. 673-676.
- Rytkönen, P., Bonow, M., Johansson, M., Persson Y. (2012) Goat farming and dairying in Sweden – a pioneering experience in the re-emergence of local food in Sweden (**Opublicerad**)
- Räf K. (2012) Getter. Fårskötsel- Svenska Fåravelsförbundets tidskrift för får- och getägare 2, 20-25.
- SVS Riktlinjer för användning av antibiotika till produktionsdjur, nötkreatur och gris, Husdjurssektionen, mars 2011