



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

Frekventa mjölkningar av kor i samband med celltalsförhöjningar i mjölken

Liza Engqvist

Uppsala

2013

Examensarbete inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2013:75*

Frekventa mjölkningar av kor i samband
med celltalsförhöjningar i mjölken

Frequent milking of cows in connection
with increased milk somatic cell count

Liza Engqvist

Handledare: Karin Östensson, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examinator: Hans Gustafsson, Institutionen för kliniska vetenskaper

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

*Nyckelord: frekventa mjölkningar, förhöjda celltal, SCC, mastit, AMS
Key words: frequent milking, increased somatic cell count, SCC, mastitis, AMS*

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>
ISSN 1652-8697
Examensarbete 2013:75*

SUMMARY

Mastitis (udder inflammation) is a common disease in dairy cows, causing farmers considerable economic losses through decreased milk production and quality, and involves significant use of antibiotics. The most common form of mastitis is the subclinical (silent) mastitis (SCM) which is a challenge for the farmer because it is difficult to detect and treat. Cows with SCM have no visible symptoms although the somatic cell count (SCC) in the milk is increased which is generally an early sign of mastitis. Antibiotic treatment of SCM shall be used restrictively; being confined only to the dry period. Consequently, SCM may be present for a considerable time during the cows lactations in a herd, with a negative effect on the SCC and hence on the milk volume and quality. There is also a potential risk that SCM develops into clinical mastitis (CM) with visible symptoms. Early intervention against increased SCC and SCM during lactation would therefore be of great importance both for economy and animal health. Frequent milking (FM) is an effective, supportive therapy in CM. Whether FM can also reduce elevated SCC and prevent development of SCM has not been investigated, although new experience from practice suggests that it may be so. Furthermore, how frequently episodes of pathologically increased SCC appear in dairy cows with good udder health has been little studied.

The aim of this graduation project was to carry out a pilot study to examine the frequency of increased SCC among cows in automatic milking systems and to investigate if increased SCC is affected by FM. The study was conducted in three herds with automatic cell counting of the udder bulk milk. To be included in the study, the cow should have a milk production of > 15 kg per day, a history of good udder health and a SCC of < 200,000 cells/ml at udder level in the last test milking. If the cow showed an increased SCC to > 400,000 cells/ml in udder bulk milk which remained for one day, FM was implemented for two or four days depending on the SCC development. In addition to SCC in the udder bulk milk, SCC at udder quarter level was analysed before and after the FM. The control group consisted of cows in the same herd during the study period that met the same criteria as the trial cows, but were not subjected to FM. The study was discontinued after approximately five months for practical reasons. It consisted of a total of 18 cows exposed to FM and an equal number of control cows. The raw data contained a number of missing values and it had not been possible to treat all cows according to the schedule. Due to this, in combination with the limited material, it was not relevant to perform statistical analyses, why the results are presented with descriptive statistics. The frequency per month of cows with elevated SCC in each herd varied between 2 % and 7 %. No clear differences were seen between the trial and control group although there was a tendency for more cows to show a normalized SCC after the FM compared to the untreated control cows. There was no consistent reduction in SCC after the FM either in the udder bulk milk or at quarter level. However, the results are uncertain due to the heterogeneous and limited material available. To examine a possible effect of FM on increased SCC in depth, a significantly higher number of cows must be studied. Based on experience from the pilot study it is recommended to apply approximately the same criteria for selection of cows, expose all cows to the same increased milking frequency, exclude the udder quarter samples and use a few herds only. Such a simplified study design and with minimized manual measures would increase the possibility of continuing the study for a considerably longer time than the pilot study, to obtain sufficient material for valid results and conclusions.

SAMMANFATTNING

Mastit (juverinflammation) är en mycket vanlig sjukdom hos mjölkkor som orsakar mjölkproducenterna stora ekonomiska förluster genom nedsatt produktion och mjölk kvalitet och representerar en avsevärd antibiotikaanvändning. Klinisk mastit (KM) ger synliga symtom som t.ex. juversvullnad. Den vanligaste formen är dock subklinisk (tyst förlöpande) mastit (SKM) som är en utmaning för mjölkproducenten eftersom den är svår att upptäcka och behandla. Kor med SKM har inga synliga symtom men förhöjda celltal i mjölken vilket är ett tidigt tecken på mastit. Vid SKM rekommenderas eventuell antibiotikabehandling inte under laktationen utan enbart under sintiden vilket innebär att SKM kan finnas i besättningen under lång tid med negativ effekt på både den levererade mjölkens mängd, celltal och kvalitet. Det finns också en potentiell risk för att en SKM utvecklas till en KM. Tidigt insatta åtgärder mot SKM och celltalsförhöjningar (CF) *under laktationen* skulle således ha stor betydelse för såväl produktionsekonomi som djurhälsa. Frekventa mjölkningar (FM) är en regelmässigt rekommenderad och effektiv understödjande behandling vid KM. Om FM även kan reducera tillfälliga CF och kupera utvecklingen av SKM är inte undersökt men nya erfarenheter från praktiken talar för att det kan vara så. Hur ofta CF till patologiska nivåer förekommer hos mjölkkor med god juverhälsa är sparsamt studerat.

Syftet med detta examensarbete var att i en pilotstudie undersöka frekvensen av CF hos kor i automatiska mjölkningssystem samt hur celltalen påverkas av FM. Studien utfördes i tre besättningar med automatisk cellräknare av mjölken på juvernivå. För att få ingå i studien skulle korna ha en mjölkproduktion på minst 15 kg/dygn, tidigare god juverhälsa samt ett okorrigerat celltal på < 200 000 celler/ml på juvernivå i senaste provmjölkningen. Vid en CF till > 400 000 celler/ml som kvarstod i ett dygn sattes FM in och pågick i två eller fyra dagar beroende på celltalsutvecklingen. Även celltal på juverdelsnivå analyserades före och efter FM. Kontrollgruppen utgjordes av kor i samma besättning och under samma tidsperiod som uppfyllde samma kriterier som försökskorna men inte utsattes för FM. Studien fick av praktiska skäl avbrytas efter ca fem månader. Totalt ingick då 18 försökskor och lika många kontrollkor. Rådata var behäftade med ett flertal missade värden och alla kor hade inte kunnat behandlas riktigt enligt schemat. Detta i kombination med att materialet var tämligen begränsat gjorde att det inte var relevant att utföra statistiska signifikansanalyser varför resultaten redovisas med deskriptiv statistik. Frekvensen kor med CF per månad var mellan 2 % och 7 % av alla kor i respektive besättning. Inga tydliga skillnader kunde ses mellan försöks- och kontrollgrupperna även om det fanns en tendens till att fler försökskor hade fått normaliserat celltal efter FM jämfört med de obehandlade kontrollkorna. Det kunde inte heller observeras några enhetliga skillnader mellan celltalet före och efter FM i försöksgruppen, vare sig i samlingsmjölken från hela juvret eller på juverdelsnivå. På grund av det heterogena och begränsade materialet är resultaten dock mycket osäkra. För att säkrare kunna se en eventuell effekt av FM på CF behövs en studie som omfattar ett avsevärt större antal kor. Baserat på erfarenheter från pilotstudien rekommenderas tillämpning av ungefär samma kriterier för urval av kor, exponering av alla försökskor för samma ökade mjölkningfrekvens, uteslutning av juverdelsprover samt användning av ett fåtal besättningar. En sådan förenkling och minimering av djurägarens arbetsinsats ökar möjligheten för att låta studien pågå under avsevärt längre tid för att uppnå ett större ko-material och därmed rimligt säkra slutsatser.

INNEHÅLL

Inledning.....	1
<i>Bakgrund.....</i>	<i>1</i>
Litteraturgenomgång.....	2
<i>Mastit hos ko.....</i>	<i>2</i>
<i>Olika former av mastit.....</i>	<i>6</i>
<i>Juverinfektioner – patogenicitet och smittkälla.....</i>	<i>9</i>
<i>Celltal i mjölk som mastitindikator.....</i>	<i>12</i>
<i>Fysiologiska variationer i celltal.....</i>	<i>16</i>
<i>Predisponerande faktorer för mastit.....</i>	<i>19</i>
<i>Mjölkningsfrekvensens påverkan på celltalen.....</i>	<i>21</i>
<i>Automatiska mjölkningsystem (AMS).....</i>	<i>24</i>
<i>”Spontana” celltalsförhöjningar.....</i>	<i>25</i>
Pilotstudien.....	26
<i>Syfte.....</i>	<i>26</i>
<i>Material och metoder.....</i>	<i>26</i>
<i>Resultat.....</i>	<i>29</i>
<i>Diskussion.....</i>	<i>33</i>
<i>Slutsatser.....</i>	<i>35</i>
Referenser.....	36
Bilaga 1 – Information till djurägare.....	43
Bilaga 2 – Djurägarmedgivande.....	46
Bilaga 3 – Instruktion med tabell.....	50
Bilaga 4 – Instruktion om hur mjölkprov tas.....	52
Bilaga 5 – Protokoll för dokumentation.....	53
Bilaga 6 – Försökskor.....	54
Bilaga 7 – Kontrollkor.....	61

INLEDNING

Syftet med detta examensarbete var att i en pilotstudie undersöka hur vanligt förekommande det är med celltalsförhöjningar i mjölken hos kor i automatiska mjölkningssystem (AMS) samt hur frekventa mjölkningar (FM) påverkar dessa celltalsökningar.

Bakgrund

Mastit (juverinflammation) är en mycket vanlig sjukdom hos mjölkkor som orsakar mjölkproducenterna stora ekonomiska förluster. I Sverige drabbas drygt 60 % av korna av mastit under ett år och ungefär 2/3 av dessa är subkliniska (tyst förlöpande) mastiter. Totalt sett slås ca 25 % av Sveriges kor ut varje år på grund av mastit (Statens Veterinärmedicinska Anstalt, SVA, 2011).

Mastit leder till nedsatt produktion och försämrad mjölksammansättning och kvalitet vilket i sig ger inkomstbortfall men djurägarens ekonomi drabbas också genom ökade kostnader och merarbete (Seegers et al., 2003; Halasa et al., 2007). Den kliniska formen av mastit (klinisk mastit, KM) med synliga inflammationssymtom innebär dessutom ett djurvälfrädsproblem. Den subkliniska formen av mastit (subklinisk mastit, SKM) orsakar störst ekonomisk skada på grund av att den har en kronisk karaktär och kan pågå under lång tid utan att noteras eftersom den är symtomlös och således inte upptäcks med blotta ögat. Mastit i båda formerna medför att mjölkens celltal ökar vilket kan leda till avdrag på mjölkpriset (för översikt se Andersson et al., 2011) eftersom det är förknippat med nedsatt kvalitet. Celltalen mäts i Sverige regelbundet både i kokontrollen och på mejerierna som en indikator på mastit.

Mastitbehandlingar står för den största andelen av antibiotikaanvändningen till mjölkkor (SVARM, 2011). Detta trots att den svenska antibiotikapolicyn (Sveriges Veterinärmedicinska Sällskap, SVS, 2011) är mycket restriktiv till antibiotikaanvändning vid mastit. I normalfallet bör endast akut KM behandlas med antibiotika och ska rutinmässigt kompletteras med individuellt utformade understödjande åtgärder i form av ex vis täta urmjölkningar. I de flesta fall av kronisk eller återuppblussande KM rekommenderas enbart understödjande åtgärder.

De SKM står för en mindre del av antibiotikaanvändningen (SVARM, 2011) men har stor ekonomisk betydelse. Vid SKM, som förlöper symtomlöst och alltså inte påverkar kons välbefinnande, ska eventuell antibiotikabehandling enbart ske under laktationen (SVS, 2011). Behandling under laktationen har dålig effekt och dessutom läker många fall spontant under laktationens gång. Det innebär dock att kor med förhöjda celltal kan finnas i besättningen under lång tid med negativ effekt både på mängden producerad mjölk och den levererade mjölkens celltal. Det finns också en potentiell risk att en SKM utvecklas till en klinisk eftersom mastitreaktionen är dynamisk. Tidigt insatta åtgärder mot SKM (celltalsförhöjningar) under laktationen skulle således ha stor betydelse för såväl produktionsekonomi som djurhälsa. Det skulle också kunna bidra till att minska antibiotikaanvändningen vilket är angeläget i ljuset av antibiotikaresistensutvecklingen.

Frekventa urmjölkningar (FM) har, som nämnts, god effekt som understödjande åtgärd vid behandlingen av KM. Om FM även kan reducera tillfälliga celltalsförhöjningar och kupera utvecklingen av SKM är inte undersökt men nya erfarenheter från praktiken talar för att det kan vara så, om åtgärden sätts in tidigt. Det finns indikationer på att till och med utvecklingen av KM möjligen kan kuperas med tidigt insatta FM som enda behandling (personlig kommunikation Charlotte Hallén Sandgren, DeLaval, 2012). Förhöjda celltal är ett av de första tecknen på mastit. Om det visar sig att FM faktiskt kan reducera celltalen och i förlängningen minska andelen kor som utvecklar mastit så öppnas nya möjligheter till förbättrad juverhälsa med mindre antibiotikaanvändning.

Att fortlöpande kontrollera kornas individuella celltal för att tidigt upptäcka förhöjningar och genomföra FM är arbetskrävande i konventionell mjölkning. Det är dock betydligt enklare att använda sig av i AMS där det går att programmera hur många gånger per dag korna ska få tillstånd att mjölka sig. I en del AMS finns det även möjlighet att automatiskt få information om kornas celltal vid varje mjölkning och ställa in roboten så att den larmar då celltalen ökar över en viss nivå. Om FM har effekt på juverhälsan skulle en sådan åtgärdsrutin främst vara till nytta i besättningar med AMS. Idag mjölkas ca 20 % av korna i Sverige med AMS och andelen AMS-besättningar fortsätter att öka (Svensk mjölk, 2012a). Det skulle således vara praktiskt möjligt att tillämpa FM på en ganska stor del av de svenska korna. Men först behöver det förstås utredas om FM faktiskt har en gynnsam effekt på symtomlösa celltalsförhöjningar. Detta har preliminärt undersökts i en pilotstudie i detta examensarbete. Innan studien redovisas ges först en litteraturgenomgång inom områden av betydelse för förståelsen och tolkningen av celltal och mastit generellt.

LITTERATURGENOMGÅNG

Mastit hos ko

Mastit hos ko orsakas av att juvret utsätts för trauma eller invasion av främmande agens, vanligen bakterier, som främst kommer in i juvret via spenen. Mastit kan vara klinisk med uttalade, tydliga symtom på inflammation, eller subklinisk utan tydlig symtombild. Allvarlighetsgrad samt duration kan variera och beror ofta på vad som orsakat inflammationen.

Den vanligaste orsaken till mastit hos mjölkkor är en bakteriell infektion (Reneau, 1986; Harmon, 1994; Sandholm, 1995a) vilket ofta kan konfirmeras med hjälp av odling av mjölkprov från den drabbade juverdelen. Dock behöver en negativ odling inte utesluta att bakterier eller andra agens är inblandade. Det kan bero på att det finns för få bakterier för att de ska växa ut vid odling eller att det är ett svåroddlat agens som ex vis mykoplasma eller jästsvamp. Att mjölken innehåller få bakterier kan bero på att bakterieutsöndringen varierar, att infektionen är utläkt och endast få eller inga bakterier finns kvar i juvret eller att provet påverkats, ex vis av för mycket sprit vid tvättningen av spenen. Inflammationsreaktionen kvarstår en tid efter det att infektionen eliminerats. Det förekommer även korta subkliniska bakterieinfektioner som kroppen snabbt bekämpar där bakterier inte längre kan påvisas trots

att det finns tecken på inflammation, samt icke-infektiösa orsaker som exempelvis trauma (Saloniemi, 1995; Sandholm, 1995a). Trauma kan också underlätta för mikroorganismer att invadera och etablera en infektion i juvret.

Förekomsten av mastit i en besättning hänger starkt ihop med tiden som läggs ned på skötsel av korna samt olika sköselfaktorer, särskilt de som har med mjölkning och juverhygien att göra, såsom mjölkningsrutiner, spendoppning, mjölkningsordning och sintidsbehandling samt allmän hygien (Reneau, 1986; Halasa et al., 2007). Andra faktorer som påverkar juverhälsan är den enskilda kons egenskaper, ladugårdens utformning, inredning och skötsel, underlag och strömmaterial, gödselhantering, mjölkningssystem m.m. (Reneau, 1986; Schepers et al., 1997).

Inflammationsreaktionen

Inflammation är kroppens försvar mot trauma och främmande ämnen. Det är viktigt att skilja mellan infektion, som betecknar tillståndet när patogena mikroorganismer har fått fäste i vävnaden, och inflammation som är kroppens och vävnadens försvarsreaktion mot någon insult t.ex. en infektion. Infektion leder i stort sett alltid till inflammation medan en inflammation inte nödvändigtvis är orsakad av en infektion. Inflammation kan även orsakas av olika sorters trauma eller vara fysiologiska processer som uppkommer när kroppen behöver eliminera ett överskott av celler eller kroppsegna ämnen (Sandholm, 1995a).

I sin klassiska form har akut inflammation de fem kardinaltecknen värme, rodnad, smärta, svullnad och nedsatt funktion. Vid mastit är det juvret som påverkas och på grund av hyperemi blir juvret varmt och rött, ödem i vävnaden gör det svullet och olika inflammationsmediatorer irriterar nervändarna i vävnaden och orsakar smärta. Dessa faktorer tillsammans med skador i vävnaden ger nedsatt funktion vilket främst yttrar sig som sänkt mjölkproduktion och förändringar i mjölken. Ibland kan systemisk påverkan av prostaglandiner förekomma vilket påverkar hypotalamus och startar en feberreaktion. Inflammationsmediatorerna samverkar både systemiskt och lokalt för att skadan ska bli så lindrig som möjligt samtidigt som den negativa faktorn som orsakat inflammationen elimineras (Sandholm, 1995a). De bidrar också till nedregleringen av inflammationsreaktionen och läkningsprocessen.

Den akuta inflammationsfasen börjar med att makrofagerna i juvret reagerar på något som är främmande och startar upp inflammationsreaktionen genom att producera olika inflammationsmediatorer som ex vis prostaglandiner, cytokiner och histaminer (för översikt se Harmon, 1994; Sandholm, 1995a; Sordillo *et al.*, 1997). Detta gör att endotelet i blodkärlen vid platsen för skadan påverkas och uttrycker ämnen på ytan som gör att leukocyter fastnar och aktivt migrerar ut i vävnaden och mjölken, lockade av de frisatta inflammationsmediatorerna. Endotelet och epitelet får också en ökad permeabilitet vilket gör att blodkomponenter som ex vis plasmaproteiner kan läcka ut i vävnaden och mjölken. Därefter migrerar en stor mängd fagocyterande celler ut i vävnaden och främst neutrofiler börjar, med hjälp av andra immunologiska celler och humoral faktorer, att snabbt bekämpa mikroorganismerna och/eller städa bort skadliga ämnen. Den slutliga uppstädningen av

skadade och döda celler m.m. är det framför allt de lite långsammare makrofagerna som står för, varefter en mer proliferativ fas tar över då kroppen försöker reparera och återbilda juvrets skadade vävnad till ursprungsskick. Om skadan är omfattande eller om inflammationen pågår under en längre tid bildas fibrotisk vävnad som ersätter den ursprungliga. I juvret är det framför allt den mjölkproducerande alveolarvävnaden som blir fibrotisk vilket leder till sänkt mjölkproduktion. Dock kan juvret till viss del kompensera förlust i en juverdel genom att öka produktionen i de kvarvarande men ofta räcker inte detta för att upprätthålla samma mjölkproduktion som tidigare (Taponen & Myllys, 1995; Hortet & Seegers, 1998).

Effekt på mjölkkinnehåll och volym

Vid mastit påverkas juvret och mjölken på flera sätt, olika starkt beroende på graden av mastitreaktionen. Effekten beror på ökad cellmigration som ger högre mjölkcelltal, ökad permeabilitet som leder till ett ökat utflöde av proteiner, enzymer och andra faktorer från blodet samt att inflammationsreaktionen direkt påverkar de mjölksyntetiserande juvercellerna med förändring av mjölkens sammansättning och en reducerad mjölkproduktion som följd. En del faktorer, ensamma eller i kombination med andra, kan användas som indikatorer på mastit.

Celltal – en inflammationsindikator

I normal mjölk finns en liten mängd somatiska celler, huvudsakligen leukocyter. Cellkoncentrationen (celltalet) i mjölk från en frisk juverdel i mittlaktation är < 100 000/ml, sannolikt till och med < 50 000/ml (för översikt se Schukken et al., 2003). Den stora mängden inflammatoriska celler som migrerar in i juvret och vidare ut i mjölken vid en mastit (för översikt se Sordillo et al., 1997) ger ett ökat celltal. Leukocytmigrationen är en del av inflammationsreaktionen och celltalet är därför en direkt och pålitlig indikator på mastit som reflekterar en inflammation i juvret oavsett orsak (Reneau, 1986).

Humorala inflammationsindikatorer

Inflammationen ger även upphov till andra mjölkförändringar som skulle kunna användas som mastitindikatorer (för översikt se Pyörälä, 2003). Halten av blodproteinerna albumin och antitrypsin samt enzymet plasminogen ökar i mjölken p.g.a. läckage från blodet genom den ökade permeabiliteten vid mastit. Ju gravare inflammationen är, desto mer börjar mjölken likna blod i sin sammansättning. Mjölken får också ett ökat innehåll av intracellulära enzymer som frisätts genom skada på juvercellerna eller från leukocyterna, framför allt under fagocytosen, ex vis laktatdehydrogenas och N-acetyl- β -D-glukosaminidas (NAGase). En förhöjd cellkoncentration ger också förhöjt mjölkkinnehåll av ämnesomsättningsprodukter från cellerna där t.ex. adenosintrifosfat (ATP) kan analyseras och användas som mastitindikator. Även mjölkkoncentrationen av akutfasproteiner som haptoglobin and serum amyloid A ökar vid mastit. Vid KM kan till och med makroskopiska förändringar ses i mjölken som förtjockade stråk och klumpar (flockor), huvudsakligen bestående av delvis sönderdelade celler och protein, och vid grav mastit kan mjölken bli ännu tjockare och ibland blodtillblandad. Den förändrade mjölksammansättningen vid mastit ger ett förhöjt pH vilket

dock är en grov mastitindikator som i många lindriga fall inte ger något utslag (för översikt se Pyörälä, 2003).

Genom att mjölksyntesen störs minskar innehållet av laktos redan vid måttliga celltalsförhöjningar (Berglund et al., 2007) vilket också kan användas som mastitindikation. Koncentrationsförändringen är dock kvantitativt så liten att laktos under praktiska förhållanden inte är en lämplig inflammationsindikator. Även mjölkens innehåll av joner förändras vilket leder till en ökad elektrisk konduktivitet som också kan användas som mastitindikator (för översikt se Pyörälä, 2003). Det är dock en parameter som också påverkas av t.ex. mjölkens fettinnehåll och därför är osäker. Elektrisk konduktivitet ska därför endast användas om det kan göras jämförelser mellan olika fraktioner av mjölken och kons olika juverdelar (Bruckmaier et al., 2004; Bansal et al., 2005; Sarikaya et al., 2005).

Celltalet är den mastitindikator som utan jämförelse är mest grundligt utvärderad och mest använd i hela världen. I frysta mjölkprov förstörs cellerna och i sådana fall kan en annan indikator användas. En del indikatorer som NAGase och ATP är direkt relaterade till förekomsten av leukocyter och har följaktligen god korrelation med celltalen (Emanuelson et al., 1987) medan andra främst beror på graden av kärlpermeabilitet och har sämre korrelation till celltalen under olika faser av mastitprocessen och vid olika former av mastit. Användbarheten av flertalet parametrar som mastitindikatorer under praktiska förhållanden påverkas inte enbart av hur väl de speglar mastitreaktionen utan också av tillgängliga analysmetoder. Analyserna behöver vara enkla och snabba att genomföra, pålitliga och billiga. För t.ex. NAGase, antitrypsin och ATP finns automatiserade analysmetoder men dessa indikatorer används ändå sällan i rutinarbete sannolikt beroende på att de oftast inte har uppenbara fördelar framför celltalet. Rutinmässiga celltalsanalyser görs vanligen med en fluorescensbaserad elektronisk cellräkning (Fossomatic, A/S N. Foss Electric, Hillerød, Danmark) som uppfyller kraven på en bra analysmetod.

Mjölksammansättning

Förändringarna i mjölken vid mastit medför generellt sämre kvalitet, hållbarhet och processegenskaper hos mjölken (för översikt se Korhonen & Kaartinen, 1995). Denna påverkan är olika stark beroende på graden av inflammation men kan upptäckas redan vid mycket lindriga celltalsförhöjningar utan närvaro av kliniska symtom (för översikt se Schukken et al., 2003). Halten av serumproteiner ökar p.g.a. läckage från blodet. Klinisk mastit är förknippad med påtagligt förhöjd proteolytisk och lipolytisk aktivitet i mjölken genom enzym som härrör från både blodet och leukocyterna i mjölken. Särskilt neutrofilerna har hög proteolytisk aktivitet i samband med fagocytosprocessen.

Mastit påverkar också mjölksyntesen och därmed mjölkens sammansättning av näringsämnen på ett ofördelaktigt sätt. Värdefulla mjölkkomponenter minskar medan mindre önskvärda faktorer ökar. Så minskar ex vis syntesen av laktos och kasein. Det reducerade kaseininnehållet ger direkt minskad grad av ostutvinning. Mjölkens halter av joner och mineraler ökar. Mjölkens fettinnehåll påverkas negativt bland annat genom närvaro av en

ökad mängd fria fettsyror (för översikt se Korhonen & Kaartinen, 1995 och Le Roux et al., 2003).

Mjölproduktionen

Mastitpåverkan av de mjölksyntetiserande cellerna leder också till minskad producerad mjölkvolym som är ett uttalat symptom på mastit. Även här ses den kraftigaste effekten vid KM. Flera undersökningar har dock visat ett samband mellan ökade celltal och reduktion av mjölproduktionen redan vid lindriga celltalsförhöjningar och att reduktionen ligger kvar efter det att celltalen gått tillbaka (Miller et al., 1983; Hillerton, 1999; Koldewey et al., 1999; Boland et al., 2013). Den observerade storleken på produktionssänkningen vid höga celltal varierar en hel del i olika studier och detta anses bero på geografiska faktorer som variationer i producerad mjölmängd och olika bakteriologisk bakgrund (Halasa et al., 2007; Boland et al., 2013). Produktionsnedgången har i olika studier grovt uppskattats till ca 375 kg per fall av KM och vid SKM ca 0,5 kg per 2-faldig ökning av celltalet (för översikt se Seegers et al., 2003) eller 5 % under en laktation med SKM (Hagnestam-Nielsen et al., 2009). Det har också påvisats samband mellan hög mjölkproduktion och låga celltal (Emanuelson & Persson, 1984).

Olika former av mastit

Mastit förekommer i olika former och kan klassificeras med avseende på symptom eller duration. Mastitreaktionen är dock mycket dynamisk och kan variera i form över tid. Det påverkar också koncentrationen av olika mastitindikatorer samt förekomsten av bakterier i mjölken vid infektiösa mastiter .

Klinisk mastit – symptom och behandling

KM ger tydliga symptom och är tämligen lätt att upptäcka och eventuellt behandla i en besättning vilket gör dem till ett mindre problem jämfört med SKM (Bansal et al., 2005). Symtomen vid KM är lokala i form av värme, svullnad, rodnad och ömhet i juvret. KM ger även tydliga makroskopiska förändringar i mjölken (flockor) och mängden producerad mjölk minskar (Harmon, 1994; Pyörälä, 1995; Seegers et al., 2003; Blowey & Edmondson, 2010). Ju tidigare i laktationen kon drabbas av mastit desto mer påverkas mjölkproduktionen (Hagnestam et al., 2007). Ibland kan mastiten också vara förenad med systemiska reaktioner i form av feber, nedsatt allmäntillstånd med sänkt aptit m.m.

Behandling vid KM består av understödjande behandling och åtgärder samt eventuellt antibiotika. Antiinflammatorisk behandling med NSAID är indikerat vid höggradig KM och bäst effekt ses vid tidigt insatt behandling och infektion med gramnegativa bakterier. NSAID förbättrar välbefinnandet genom att minska feber och juversvullnad, förbättra våmmotoriken och sänka hjärt- och andningsfrekvens (Läkemedelsverket, 2009). För att hjälpa juvret på traven i läkningen kan åtgärder som frekventa urmjolkningar och juvermassage sättas in samt eventuellt oxytocininjektioner för att främja mjölknedsläppningen. I allvarliga fall är det även viktigt att se över vätskebalansen och eventuellt tillföra vätska per os eller intravenöst samt underlätta för kon att dricka. Kon ska i övrigt ha god komfort, erbjudas smakligt foder m.m.

Det är också väsentligt att vidta åtgärder för att begränsa smittspridningen genom att om möjligt isolera kon från friska individer och sätta henne sist i mjölkningsordningen (Pyörälä, 1995; SVS, 2011).

Många fall av KM kräver antibiotikabehandling men även här bör fördelar och nackdelar vägas mot varandra. Rekommendationen enligt SVS antibiotikapolicy (2011) är att enbart antibiotikabehandla akuta KM under laktation och att framför allt arbeta profylaktiskt i besättningen för att undvika fler fall. Generellt rekommenderas parenteral behandling i 3-5 dagar beroende på agens (eventuellt kompletterad med intramammarier). Vid terapivikt bör resistensundersökning genomföras (Pyörälä, 1995; SVS, 2011). I Sverige kan infektiösa agens isoleras i de flesta fall av akut KM och grampositiva bakterier som är känsliga för penicillin dominerar även om det förekommer ex vis β -laktamasproducerande *Staphylococcus aureus* (Bengtsson et al., 2009; Ericsson Unnerstad et al., 2009). Rekommendationen enligt SVS är att om behandling med antibiotika sker ska bensylpenicillin vara förstahandsval och mjölkprov ska tas för bakteriologisk undersökning. Efter odling på selektiv agar (Selmaplattan/SVA) i fält kan preliminär avläsning göras efter ca 24 timmar då den insatta antibiotikan vid behov kan bytas ut mot ett annat preparat. Vid växt av Stafylokocker ska penicillinastest göras vid första avläsningen. Tidigare rekommenderades att fluorokinoloner kunde användas som förstahandspreparat vid höggradig mastit orsakad av *Escherichia coli* i samband med kalvning eller vid dokumenterade besättningsproblem med *Klebsiella spp.* Enligt nya föreskrifter som trädde i kraft 1 januari 2013 ska användandet av kinoloner till djur begränsas (SJVFS 2012:32). Kinoloner får nu enbart användas om det gäller ett akut livshotande tillstånd där det inte finns tid att invänta svar från bakteriologisk undersökning eller om besättningen under de senaste sex månaderna genomgått mikrobiologisk undersökning med resistensbestämning som visat att annat verksamt alternativ saknas för behandling av mastit.

Subklinisk mastit – symtom och behandling

Vid SKM ses inga yttre symtom på sjukdom utan förändringar kan endast ses i mjölkens mikroskopiska komposition med hjälp av laborietester. Det är den mastitform som medför störst problem i mjölkbesättningar eftersom det ger stora ekonomiska konsekvenser i form av sänkt mjölkproduktion, utslagning av kor och smittspridning och det är en utmaning att hitta drabbade individer. Nedsatt mjölkproduktion som är en vanlig följd av SKM är svår att upptäcka eftersom sjukdomen kommer smygande. Undersökning av celltal är den vanligaste och mest beprövade mastitindikatorn i praktiken. I Sverige undersöks samlingsmjölken (från hela juvret) från 85 % av alla kor varje månad i den s.k. kontrollen (Svensk mjölk, 2012b). I AMS undersöks också ofta celltalen. Där fås en indikation på vilka kor som har SKM. I besättningar där särskilda insatser behöver göras för att förbättra juverhälsan måste vidare utredningar göras. Det är sällsynt att kons samtliga juverdelar har mastit samtidigt så för att identifiera de drabbade juverdelarna behöver en undersökning göras på juverdelsnivå. I praktiken är det främst motiverat att identifiera de infektiösa mastiterna för att förhindra vidare smittspridning så vanligen görs även en bakteriologisk undersökning av juverdelar med höga celltal.

Det är vanligt att det inte går att odla fram något infektiöst agens vid SKM. Vid en undersökning i Sverige 2008-2009 var endast 60 % av proverna bakteriologiska positiva (Persson et al., 2011). Det är också viktigt att ha i åtanke att det finns en gråzon där även kor med låga celltal kan vara positiva vid bakteriologisk undersökning (Sandholm, 1995b; Hillerton, 1999; Jánosi & Baltay, 2004).

SKM ska enligt svensk antibiotikapolicy enbart antibiotikabehandlas under sintiden och behandlingen ska noga följas upp vid kalvning och under påföljande laktation. Det är viktigt att enbart behandla dem som har en god prognos att tillfriskna. Förstahandsvalet är långtidsverkande intramammarier med bensylpenicillin och aminoglykosid (SVS, 2011). Detta stöds av annan litteratur som också understryker vikten av att begränsa behandling av SKM till sintiden (Taponen & Myllys, 1995) och rekommenderar att kon slås ut vid eventuell terapivikt (Jánosi & Baltay, 2004).

Det finns uppgifter om att SKM kan behandlas med relativt god effekt även under laktationen (van den Borne et al., 2010) vid jämförelse med obehandlade juverdelar. I detta ska dock vägas in tveksamhet angående varaktighet i tillfrisknandet och de ekonomiska konsekvenserna av behandlingen i form av direkta behandlingskostnader, extra arbete samt förluster i kasserad mjölk. I särskilda fall då ett mycket smittsamt infektionsagens blivit ett besättningsproblem kan behandling även av SKM under laktationen vara motiverat för att bryta smittspridningen och möjligen kunna kupera besättningsinfektionen. Ett sådant exempel är *Streptococcus agalactiae* (för översikt se Keefe, 1997). Det är en höggradigt smittsam bakterie med låg spontanavläkningsfrekvens som generellt är mycket känslig för penicillin.

Akut, kronisk och exacerbativ mastit

Förutom KM och SKM kan man även klassificera mastit efter duration och huruvida den är ny eller återkommande. En KM kan vara akut eller kronisk, där den akuta har inträffat nyligen, vanligen med påtagliga symtom, medan den kroniska har pågått under längre tid och kan ha mindre uttalade symtom (Biggs, 2009; Blowey & Edmondson, 2010). Det vanliga förloppet är att en akut mastit inte läker av utan övergår i en kronisk. Primärt kroniska, kliniska mastiter måste anses som ovanligt. Däremot är subklinisk mastit alltid att betrakta som kronisk.

En mastit som återkommer kallas recidiverande (återuppblussande) och ett mastittillstånd som förvärras, t.ex. en SKM som blir klinisk, kallas exacerbativ (försämring av ett tillstånd). Gemensamt för alla mastiter som blir kroniska eller ständigt återkommer är att de har sämre prognos för tillfrisknande och större risk för ärrvävnad och permanenta skador i juvret. Två patogener som är vanligt förekommande vid subklinisk mastit med kliniska faser är *S. aureus* och *Str. agalactiae* och dessa bakterier skapar ofta besättningsproblem eftersom de är starkt juverbundna och höggradigt smittsamma (för översikt se Blowey & Edmondson, 2010).

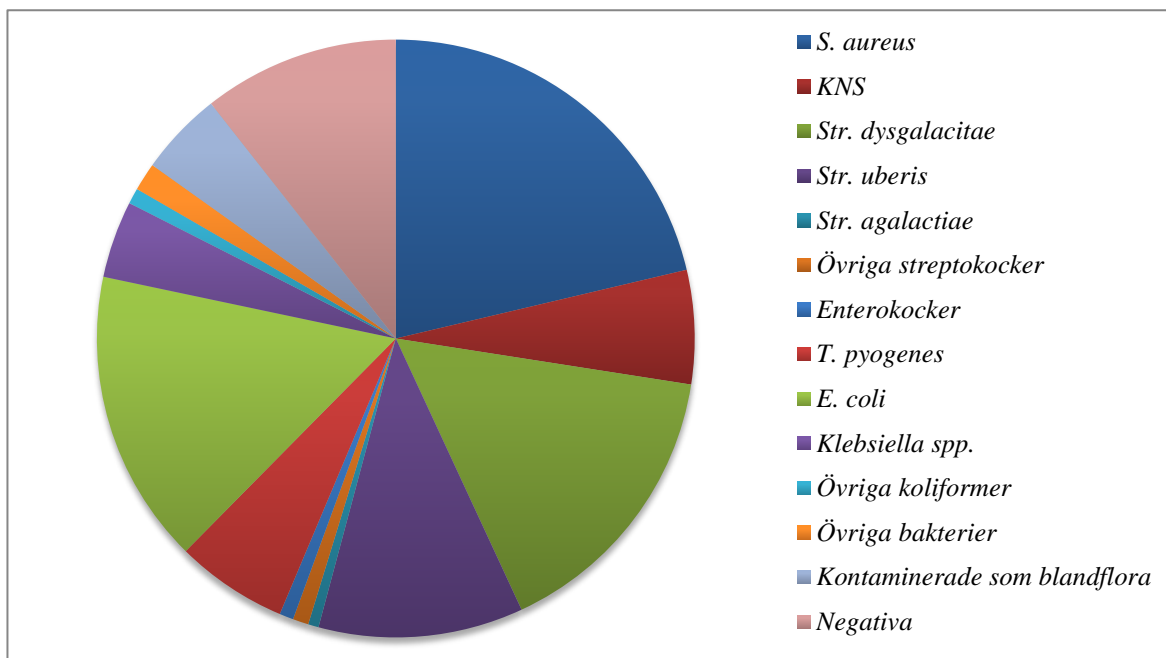
Antibiotikabehandling vid kronisk eller exacerbativ KM är i allmänhet inte effektivt och rekommenderas inte enligt svensk antibiotikapolicy (SVS, 2011). Kor som är så dåliga att behandling krävs av djurskyddsskäl ska givetvis få den behandling som behövs alternativt

slaktas men i många fall kan understödande behandling utan antibiotika vara tillräckligt för att kuperasymtomen och den KM. Kor med kronisk och exacerbativ KM bör slås ut ur besättningen. Så länge de finns kvar ska de grupperas tillsammans med andra mastitkor och mjölkas sist i ordningen. Om de av särskilda skäl ska behållas i besättningen bör affekterade juverdelar sinläggas för resten av kons liv.

Juverinfektioner – patogenicitet och smittkälla

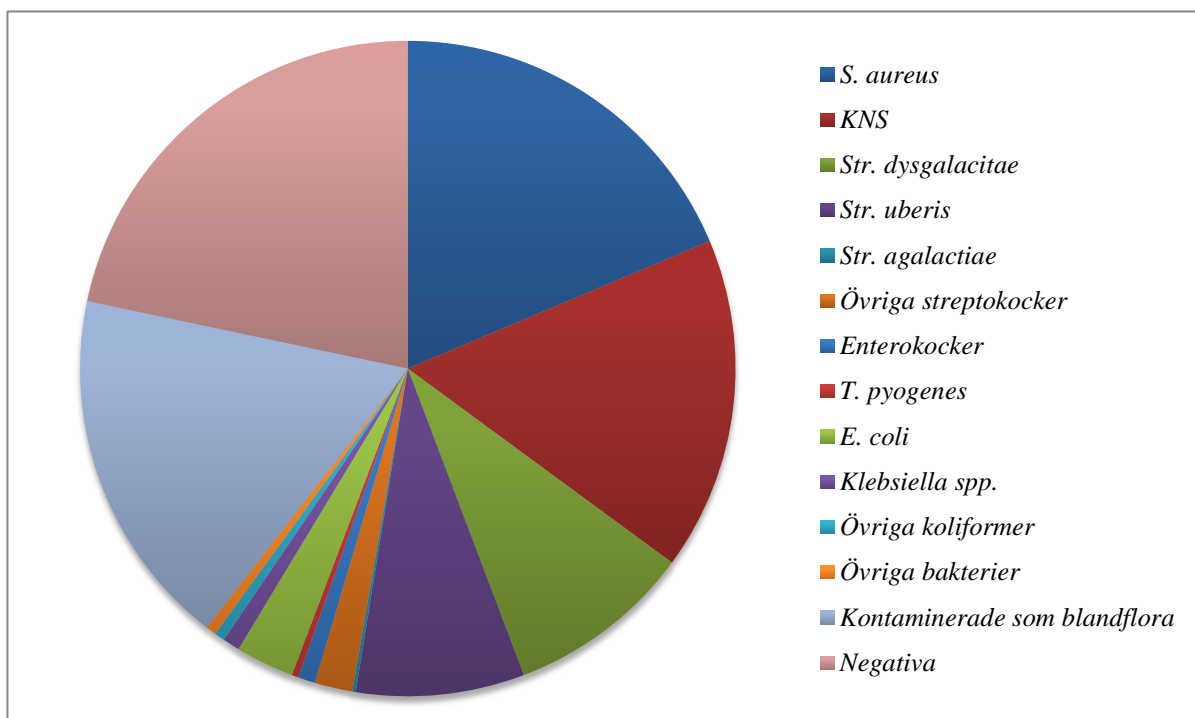
Patogenicitet

Infektion med bakterier är vanligaste orsaken till mastit (Reneau, 1986; Harmon, 1994; Schepers et al., 1997) och är ofta ett problem hos högproducerande kor (Hagnestam et al., 2007). Mastitbakterier kan delas in i högpatogena som ex vis *S. aureus*, *Streptococcus* spp. och koliforma bakterier (ex vis *E. coli* och *Klebsiella* spp.) samt lågpatogena som ex vis koagulasnegativa stafylokocker (KNS) och *Corynebacterium bovis* (Berning & Shook, 1992; Coulon et al., 2002). Bakteriell infektion leder till en hastig celltalsökning men generellt ger högpatogener större förändringar i celltalen eftersom de skapar en kraftigare inflammatorisk reaktion och oftare ger kliniska symtom. En svensk studie av Ericsson Unnerstad et al. (2009) visade tydligt att högpatogener dominerar vid akut KM (figur 1). Dock beror graden av reaktion även på individens immunförsvar, tidigare infektioner samt duration och allvarlighetsgrad på nuvarande infektion (Reneau, 1986; Harmon, 1994; Schepers et al., 1997; Coulon et al., 2002; Jánosi & Baltay, 2004). Den kraftiga initiala ökningen av celltalen håller i sig i timmar till dagar för att därefter minska i takt med att bakterierna elimineras. Dock kvarstår förhöjda celltal långt efter det att infektionen försvunnit. Det är vanligt att det tar flera veckor innan celltalen sjunkit till normal nivå igen (Harmon, 1994; Coulon et al., 2002).



Figur 1. Fördelning av 1056 bakteriologiska diagnoser vid akut klinisk mastit från 987 juverdelar och 829 kor i en svensk studie 2002-2003 (Ericsson Unnerstad et al., 2009).

SKM orsakas ofta av mera lågpatogena bakterier och där står KNS för en betydande andel (Saloniemi, 1995; Coulon et al., 2002; Jánosi & Baltay, 2004) men *S. aureus*, som räknas till högpato­generna, orsakar en nästan lika stor del av de SKM i Sverige (figur 2, Persson et al., 2011). En av anledningarna till att *S. aureus* ofta orsakar SKM och har en förmåga att ge kroniska problem är att den kan överleva inuti fagocyterande celler samt omvandlas till en variant utan cellväggar. Detta gör att bakterien både kan gömma sig för immunförsvaret och undkomma effekten av de antibiotika som utövar effekt på bakteriernas cellväggar. Det antas även att denna förmåga är orsaken till de fluktuationer i både celltal och bakterieförekomst som kan ses vid kroniska infektioner med *S. aureus* eftersom de bakterier som överlevt inuti de fagocyterande cellerna kommer ut i vävnaden igen när cellerna dör och då kan föröka sig och skapa en ny inflammatorisk reaktion (Pyörälä, 1995b; Biggs, 2009). Flertalet SKM kännetecknas av att både cellhalt och bakterieförekomst varierar över tid vilket gör dem svårare att detektera (Harmon, 1994; Saloniemi, 1995) och det blir särskilt problematiskt vid infektioner med smittsamma bakterier som t.ex. *S. aureus* som då hinner spridas i besättningen (Jánosi & Baltay, 2004).



Figur 2. Fördelning av 590 bakteriologiska diagnoser vid subklinisk mastit från 583 juverdelar och 583 kor i en svensk studie 2008-2009 (Persson et al., 2011).

Det är vanligast att bara en juverdel är affekterad vid KM (Reneau, 1986) men även de friska juverdelarna kan påverkas av den drabbade. Detta kan yttra sig som förhöjda celltal i de delar av juvret som inte visar symtom på KM (Emanuelson & Wever, 1989; Bansal et al., 2005). Vid SKM kan det dock vara så att de övriga juverdelarna har låga celltal och vid samlingsprov från hela juvret maskeras mastiten p.g.a. utspädningseffekten. Det mest optimala är därför att ta mjölkprov på juverdelsnivå men på grund av att det är mer arbets- och kostnadskrävande är det inte alltid praktiskt möjligt (Dohoo et al., 1984a; Brolund, 1985;

Reneau, 1986; Schepers et al., 1997). Det är ofta en klar skiljelinje i cellhalt mellan KM orsakade av högpatogener jämfört med kor som inte är infekterade alls (Reneau, 1986).

Smittkälla

Mastiter kan också delas in baserat på var de har sin huvudsakliga smittkälla vilket delvis påverkar vilka åtgärder som prioriteras vid bekämpningen. Man skiljer framför allt på juverbundna bakterier som endast överlever en kort tid i omgivningen och miljöbundna bakterier som framför allt återfinns på inredning, i strömmaterial och i faeces. De juverbundna bakterierna sprids främst vid mjölkning och orsakar ofta kroniska problem och SKM. Exempel på dessa är *S. aureus*, *Str. agalactiae* och mykoplasmaplakter där de två förstnämnda är särskilt smittsamma. Av de miljöbundna bakterierna är *E. coli*, *Klebsiella* spp. och *Str. uberis* vanliga men även *Pseudomonas* spp. och *Trueperella pyogenes* (tidigare *Arcanobacterium pyogenes*) hör till denna grupp. De miljöbundna bakterierna påverkas mycket av hur stallet är utformat och vilket sorts strömedel som används. Vid sågspån som strömedel är det ex vis vanligare med *Klebsiella* spp. och vid dålig stallhygien med smutsiga kor är *E. coli*-infektioner vanligare. Det finns även några bakterier som både återfinns i juvret och miljön och till dem hör ex vis *Str. dysgalactiae* och KNS (Pyörälä & Sandholm, 1995; Pyörälä, 1995b; Biggs, 2009).

Mastit orsakad av koliforma bakterier i allmänhet och *E. coli* i synnerhet tenderar att öka om prevalensen av mer juverbundna och kroniska bakterier som *S. aureus* och *Str. agalactiae* minskar vilket tros bero på att dessa opportunistiska miljöbakterier lättare kan få fäste när andra bakterier inte koloniserar spenkanalen och juvret. *E. coli* återfinns ofta i stor mängd i omgivningen men det krävs generellt att kons immunförsvar är nedsatt som ex vis runt kalvning för att bakterien ska få fäste och orsaka en manifest infektion. På grund av att de inte fäster i vävnaden utan följer med mjölken ut vid mjölkning ger FM och understödande behandling god effekt vid infektion med *E. coli*. En annan viktig aspekt är att dessa bakterier är gramnegativa och har endotoxiner i cellväggen som frigörs i små mängder vid bakterietillväxt och i större mängder när bakterien dör. Endotoxinerna återfinns i juvret där de dels startar inflammationsreaktionen och dels ger en systemisk påverkan via olika mediatorer. Vid massiv endotoxinfrisättning ökar mediatorernas påverkan så till den grad att det ger negativa effekter på celler och organ och om inte detta tillstånd hävs går kon till slut i chock och dör. Detta beror bl.a. på inflammationssvaret och att endotoxinerna påverkar cellväggarna i olika organ i kroppen samt ger störningar i koagulationssystemet och den perifera cirkulationen. Detta ses bl.a. som kliniska symtom i form av feber, ökad hjärtfrekvens och förmagsatoni (Pyörälä & Sandholm, 1995; Biggs, 2009). Det finns belägg för att tidigt insatt behandling med NSAID kan fungera väl som understödande vid höggradiga *E. coli*-mastiter, troligen på grund av dess förmåga att hämma de negativa effekterna av endotoxin (Biggs, 2009; Läkemedelsverket, 2009).

Beroende på smittkälla används olika strategier för att bekämpa mastit orsakad av de olika bakterierna. Vid smittsamma bakterier som framför allt sprids vid mjölkning är det viktigt med god hygien vid mjölkning, gruppering och utslagning av kroniska smittbärare. Vid

besättningsproblem med *S. aureus* är det generellt en god strategi att isolera och slakta ut drabbade kor eftersom antibiotikabehandling inte alltid är effektivt. Vid andra smittsamma mastitutbrott med penicillinkänsliga agens som t.ex. *Str. agalactiae* kan det finnas en poäng med att istället identifiera och behandla smittade kor och på så sätt eliminera bakterien från besättningen. För att undvika mastit orsakad av miljöbundna bakterier bör man bl.a. eftersträva en god stallhygien med rena kor och liggytor, undvika överbeläggning och att korna lägger sig ned direkt efter mjölkning när spenkanalerna fortfarande är öppna (Pyörälä & Sandholm, 1995; Pyörälä, 1995b; Biggs, 2009).

Celltal i mjölk som mastitindikator

Celltal är ett generellt och väletablerat verktyg som kan användas för att för att kontrollera förekomsten av SKM och för att få en överblick över hur allvarliga mastitproblemen är i en besättning (Dohoo et al., 1984a; Reneau, 1986; Emanuelson & Wever, 1989; Schukken et al., 2003). I Sverige kan mjölkproducenterna ansluta sig till ”Kokontrollen” som är ett databaserat övervakningsverktyg och hjälpmedel som regleras officiellt vilket ger kvalitetssäkrade in- och utdata. De producenter som är med i kokontrollen provmjölkar sin besättning ungefär en gång i månaden och får då fram en mängd olika resultat gällande mjölken och dessutom finns ett flertal andra tjänster kopplade till kontrollen som ger underlag för bl.a. foder, hälsa, avel och ekonomi. Provmjölkningsdelen är den mest grundläggande delen i kokontrollen och vid varje provmjölkning mäts mjölkavkastning samt mjölkens halt av fett, protein och urea samt celltal för varje mjölkande ko i besättningen. Celltalet redovisas både som okorrigerat celltal och som korrigerat celltal vilket innebär att man vid beräkning av celltalet tar med faktorer som avkastning, ras, laktationsnummer och dagar efter kalvning. Celltalet används för att efter deltagande i ett visst antal provmjölkningar kunna dela in korna i juverhälsoklasser mellan 0 och 9 där 0 är de kor med den bästa och 9 är de kor med den sämsta juverhälsan (Svensk mjölk, 2013a, 2013b).

Även om inflammationsstatus är den faktor som har störst effekt på celltalen finns också fysiologiska faktorer som, dock i mindre grad, kan påverka denna parameter ex vis ras, ålder, laktationsstadium och laktationsnummer (Reneau, 1986; Schepers et al., 1997). Dock har dessa övriga faktorer en begränsad inverkan i jämförelse med infektionsstatus enligt Dohoo et al. (1984a). Celltalsundersökning kan kompletteras med bakteriologisk undersökning av juverdelar hos kor med misstänkt SKM för att hitta de juverdelar som är infekterade. Det är då viktigt att tänka på fluktuationerna i både celltal och bakterieutsöndring som kan förekomma vilket gör att ett negativt prov inte kan utesluta infektion (Jánosi & Baltay, 2004). Som tidigare nämnts är celltalet från en frisk ko i mittlaktation < 100 000 celler/ml men ett så lågt tröskelvärde för att klassificera kor med mastit är inte realistiskt i praktiken vilket gör att ett högre värde på celltalen ofta används. Ett flertal studier pekar på att ett tröskelvärde runt 200 000 celler/ml minimerar risken för diagnostiska felkällor och är av praktiskt värde vid klassificering av kor gällande juverhälsa (för översikt se Schukken et al., 2003).

Celltalen mäts antingen på juverdelsnivå, på individnivå med samlingsprov från hela juvret eller på besättningsnivå med tankmjölksprov. Tankmjölksprov tas efter det att man försiktigt

blandat mjölken för att undvika felmätning då cellerna blir ojämnt fördelade eftersom mjölken skiktat sig vid förvaring. Vid bedömningen av celltal är det viktigt att skilja på celltal i samlingsmjölk och i mjölk från enskilda juverdelar eftersom det är ovanligt att alla juverdelar har samma status, särskilt vid förhöjda celltal. Kor som har låga celltal i samlingsmjölken kan ha enstaka juverdelar med förhöjda celltal och kor med höga celltal kan ha juverdelar som producerar mjölk med lågt antal celler (Forsbäck et al., 2009).

Bedömning av celltal i fält

Celltal i mjölk kan analyseras med olika metoder. Den vanligaste metoden i fält är California Mastitis Test (CMT; Schalm et al., 1971) vilken ger en grov uppskattning av mjölkens celltalsområde. Bortsett från portabla cellräknare som är ganska kostsamma att köpa och använda är CMT den enda test som kan göras direkt i stallet. Att få kännedom om celltalen redan där är ofta en viktig faktor i diagnostiken. I CMT används en reagensvätska som dels löser upp cell- och cellkärnmembran vilket gör att cellernas DNA blottläggs, och dels reagerar med DNA och bildar en gel. Ju mer celler i mjölken, desto mer DNA kan reagera med reagenset och desto mer gelartad blir blandningen. Oftast finns det även en pH-indikator i CMT-vätskan som blir mer lila ju mer basisk mjölken är. Testet görs i fält i en s.k. paddel med fyra skålar, en för varje juverdel. En första mycket grov okulär bedömning av mjölken görs och därefter blandar man mjölken med lika delar CMT-vätska, roterar paddeln så att allt blandas och läser av resultatet efter ca 15 sekunder. I de skandinaviska länderna används siffrorna 1-5 vid bedömning av CMT (tabell 1; Saloniemi, 1995), dock är denna skala subjektiv eftersom den bygger på enskilda personers okulära bedömning. Enligt skandinavisk bedömning av CMT indikerar 3 – 5 tydligt inflammation.

Tabell 1. Skala, definition och celltalsområde vid bedömning CMT

Skala	Definition	Antal celler/ml
1	Negativ – ser ut som vanlig mjölk	< 200 000
2	Spår; flockbildning i mjölken när paddeln vippas	150 000 – 500 000
3	Gel börjar bildas	400 000 – 1 500 000
4	Tydlig gelbildning	800 000 – 5 000 000
5	Tydlig gelbildning med kvarstående topp efter rotation	> 5 000 000

Cellräkning

När celltal ska bestämmas mer exakt kan detta ske antingen manuellt med hjälp av ljusmikroskop vilket är referensmetoden (IDF 148-1/ ISO/DIS 13366-1), eller med en automatisk cellräknare. För mätning av celltal behöver inte provet tas eller förvaras sterilt men ska inte förorenas. Mjölksproven ska transporteras och förvaras kallt (0-4°C) och om inte

det är möjligt måste det tillföras någon form av konserveringsmedel ex vis bronopol. Även köldgrader bör undvikas eftersom de somatiska cellerna skadas av frysning.

Manuell cellräkning i mikroskop är mycket tidsödande. Fluorescensbaserad elektronisk cellräkning är den mest använda automatiska metoden som används exempelvis i den svenska kokontrollen och mejeriernas celltalsanalyser. Cellernas kärna färgas med en DNA-specifik fluorescerande färg varefter cellerna räknas elektroniskt där varje kärna ger upphov till en impuls. Det är en enkel, snabb och billig metod (Holtorp, 1989). Det finns även portabla celltalsräknare och instrument som kan appliceras i en del automatiska mjölkningssystem, som ex vis DeLaval VMS, som också använder fluorescensbaserad elektronisk räkning. I AMS kan cellhalten i samlingsprovet mätas vid varje enskild mjölkning och resultaten förs automatiskt in i mjölkrobotens datasystem (DeLaval, 2013a).

Differentierat celltal

Cellerna i komjölk består nästan uteslutande av leukocyter och ett fåtal procent epitelceller (för översikt se Sordillo et al., 1997). Beräkning av totalantalet leukocyter (celler) kan kompletteras med differentialräkning (DCC) vilket innebär att man räknar leukocyter av olika sorter som finns i mjölken. Detta för att få kännedom om hur stort inslaget av den mest karaktäristiska inflammatoriska cellen (neutrofilen) är. Utöver förhöjt celltal ändras förhållandet mellan olika typer av leukocyter vid inflammation så att andelen neutrofiler ökar. DCC kan därför vara ett bra komplement till totalräkning och ger mer information om det inflammatoriska tillståndet än totalantalet leukocyter. DCC av leukocyter i blod används sedan länge som diagnostiskt hjälpmedel.

Det finns idag ingen automatisk metod för DCC av leukocyter i mjölk vilket säkert är en förklaring till att det inte används rutinmässigt. DCC kan utföras manuellt i mikroskop eller, efter centrifugering och rening av cellerna, genom märkning med monoklonala antikroppar och räkning med ex vis flödescytometri (Dosogne et al., 2003). Båda metoderna är mycket tidsödande och lämpar sig enbart i forskning.

Värdet av DCC bedöms olika i olika studier och beror sannolikt på hur detaljerat juverhälsan behöver bedömas. Grovt sett följer det totala celltalet och andelen neutrofiler varandra väl. I ett flertal studier visas dock att andelen neutrofiler är ett känsligare och mer direkt mått på mastit som förändras långt tidigare än det totala celltalet gör och som direkt påvisar om en inflammation pågår även om celltalet är normalt (Östensson et al., 1988; Kelly et al., 2000; Rivas et al., 2001). Pillai et al., (2013) har anfört att en kombination av SCC och DCC kan vara till hjälp att identifiera kor som har låga celltal och inflammatoriska förändringar och därigenom slippa göra bakteriologisk undersökning medan Emanuelson & Wever (1989) fann att enbart total SCC bäst skiljde på infekterade och infekterade juverdelar och att DCC inte gav nämnvärt bättre resultat.

Celler i mjölk vid god juverhälsa

I mjölk från kor med god juverhälsa i mittlaktation dominerar makrofager och utgör ca 60 % eller mer. Resterande celler består av upp till ca 28 % lymfocyter, ca 12 % neutrofiler och 2 % epitelceller (för översikt se Burvenich et al., 1995). Andelarnas storlek kan variera något beroende på exempelvis när under mjölkningen provet är taget (Östensson et al., 1988). Det friska juvrets första försvarslinje är det anatomiska försvaret i spenkanalen som hindrar att mikroorganismer får fäste och kan ta sig in i juvret via spenen (för översikt se Sordillo et al., 1997). Inuti juvret tar det ospecifika, cellulära försvaret vid och det är dessa celler som återfinns i mjölken.

Makrofager utvecklas från cirkulerande monocyter i blodet och i det friska juvret jobbar de dels med att eliminera döda celler och överskott av mjölkkomponenter, dels ingår de i det primära, ospecifika försvaret mot främmande organismer. Makrofagerna är väsentliga i beredskapen därför att de står för initieringen av inflammationsprocessen. De har hand om antigenpresentationen för lymfocyterna och när de träffar på främmande agens i juvret börjar de omedelbart att utsöndra inflammationsmediatorer som får neutrofiler att migrera ut i vävnaden (för översikt se Burvenich et al., 1995; Sordillo et al., 1997).

Celler i mjölk vid mastit

Akut inflammation i juvret resulterar, bl.a. på grund av makrofagernas utsöndring av olika inflammationsmediatorer, i att en ökad andel neutrofiler migrerar ut i vävnad och mjölk. Neutrofiler är de viktigaste cellerna vid bekämpandet av mastit där fagocytosen är den mest väsentliga processen för att oskadliggöra skadliga agens. Specifik antikroppsproduktion och immunologiskt minne spelar liten roll vid mastit och därför har denna förmåga hos lymfocyterna mindre betydelse. De hjälper dock de fagocyterande cellerna genom att känna igen och döda främmande, samt skadade kroppsegna, celler och utsöndra toxiska ämnen som får dessa skadade celler att gå i apoptos. Lymfocyterna producerar även opsoniserande immunoglobuliner som underlättar fagocytosen samt cytokiner som i sin tur aktiverar andra celler i immunförsvaret (för översikt se Burvenich et al., 1995 och Sordillo et al., 1997).

Eftersom neutrofilerna är nyckelförsvaret i juvret kan de utgöra > 90 % av de somatiska cellerna i mjölken vid höggradig, akut mastit. Ju allvarligare inflammation desto kraftigare cellsvär och desto större andel neutrofiler bland mjölkens celler. Den stora mängden celler som ackumuleras vid skada i juvret behövs eftersom neutrofilernas fagocytosförmåga avtar i mjölken. Neutrofiler som migrerar ut i mjölken behåller sin viabilitet i maximalt ett par dagar eftersom de även fagocyterar mjölkens fett och kasein, vilket gör att förmågan att eliminera främmande agens minskar, och därefter genomgår de apoptos. De döda och döende cellerna elimineras av makrofager eller försvinner ut med mjölken vid digivning och mjölkning. När juvret töms stimuleras migrationen av nya neutrofiler ut i juvervävnaden vilket säkerställer att det ständigt finns funktionsdugliga celler som kan bekämpa inflammationer. Då inflammationsprocessen börjar nedregleras blir makrofagerna åter viktiga aktörer som genom fagocytos städar upp och dessutom stimulerar läkning och återställande av skadad vävnad (för översikt se Burvenich et al., 1995; Sordillo et al., 1997).

Som nämnts ovan finns det ett mycket starkt samband mellan inflammation i juvret och förhöjda celltal. Det inte sannolikt att en ko har varaktigt förhöjda celltal utan att ha någon form av skada i juvret (Harmon, 1994). Vid kroniska infektioner förändras dock proportionerna av olika celler jämfört med akut inflammation så att cellerna till största delen består av makrofager och lymfocyter (för översikt se Burvenich et al., 1995; Pillai et al., 2013).

Fysiologiska variationer i celltal

Trots att den enskilt största orsaken till förhöjda celltal hos kor är olika former av mastit så förekommer även andra variationer i celltalen som beror på fysiologiska faktorer. En fysiologisk faktor som påverkar celltalen i hög grad är det individuella svar kor ger på samma sorts behandling (Emanuelson & Persson, 1984; Schepers et al., 1997). Andra fysiologiska faktorer som påverkar är ras, tidpunkt under mjölkning, tidpunkt på dygnet, årstid, laktationsstadium samt ålder och laktationsnummer. Rena teknikaliteter som hur mjölkprov tas, förvaras och transporteras samt hur och när cellerna räknas kan också inverka men dessa detaljer avhandlas inte här även om det bör framhållas att det är viktigt att göra likadant vid upprepade provtagningar för att undvika att få olika resultat (Dohoo et al., 1984a; Reneau, 1986).

Ras

Ras har en signifikant påverkan på celltalen vilket främst beror på att olika raser har olika hög risk att få juverhälsoproblem. Svensk låglandsboskap (SLB) har högre mastitfrekvens och sämre juverhälsa jämfört med Svensk röd och vit boskap (SRB) vilket gör det mindre sannolikt att skillnaderna i celltal mellan raserna enbart skulle bero på fysiologiska faktorer (Emanuelson & Persson, 1984; Brolund, 1985; Reneau, 1986; Saloniemi, 1995).

Mjölfracfraktion

Beroende på tidpunkt under mjölkningen kan mjölken delas in i följande fraktioner: den mjölk som kommer ut först är den s.k. för- eller cisternmjölken. Det är mjölk som lagrats i spen- och juvercisternen sedan förra mjölkningen. Efter aktivering av mjölkkningsreflexen erhålls alveolar- eller bulkmjölken som är huvudfraktionen mjölk och representerar den största volymen. Efter avslutad maskinmjölkning går det fortfarande att få ut en del mjölk för hand och denna fraktion kallas strip- eller eftermjölk. Till sist finns residualmjölken som är den sista mjölkvolymen som finns kvar i juvret efter mjölkning. Den går bara att få ut med hjälp av tillfört oxytocin som ger en ytterligare sammanpressning av alveolerna (Östensson et al., 1988).

Undersökningar av olika mjölfracfraktioner visar att den s.k. cistern- eller förmjölken har en relativt hög total cellhalt som sjunker till ett minimum i början på alveolarfraktionen för att därefter stiga och nå sitt maximum i residualmjölken (Sandholm, 1995b; Bruckmaier et al., 2004), detta gäller såväl kor med friska juver som kor med mastit men hos kor med mastit är ökningen mer uttalad (Östensson et al., 1988; Bansal et al., 2005). De olika celltyperna (makrofager, lymfocyter och neutrofiler) har höga nivåer i cisternmjölken som minskar initialt

till en lägstanivå i början på alveolarfraktionen för att sedan öka under mjölkningen och nå maxnivåer i residualmjölken. Viabiliteten på dessa celler är som lägst i cisternmjölken men ökar sedan stadigt under hela mjölkningen. Även proportionerna mellan cellerna förändras under mjölkningen och makrofager som dominerar i cisternmjölken minskar i andel till förmån för neutrofilerna som dominerar i alveolar- och residualmjölk. Lymfocyterna varierade knappt mellan fraktionerna men ökade något i slutet av alveolarfraktionen. Fördelningen av celler under de olika fraktionerna kan förklaras med att makrofager som dominerar i cisternmjölken tillhör de viktiga initiala försvaret nära spenkanalen medan neutrofilerna främst behövs för skyddet längre upp i alveolerna (Östensson et al., 1988; Vangroenweghe et al., 2002; Sarikaya et al., 2005).

Tidsvariationer

Celltalen varierar över dygnet vilket är viktigt att ta hänsyn till när man tar enstaka mjölkprov för celltalsmätning eftersom dessa prov bör tas samma tid på dygnet. Vid tankmjölksprov spelar detta dock mindre roll eftersom mjölk från hela besättningen blandas. Variationerna i tid beror främst på hur ofta korna mjölkas eftersom celltalen är som högst timmarna efter mjölkning (för översikt se Dohoo et al., 1984a och Reneau, 1986; Schepers et al., 1997). Celltalen kan vara lindrigt förhöjda upp till 7 timmar efter mjölkning och vid mätning av celltal inom 3 timmar efter mjölkning kan man få värden på runt 200 000 celler/ml trots att kon i allmänhet har god juverhälsa och låga celltal (för översikt se Hovinen & Pyörälä, 2011). Detta gör att celltalen generellt är högre vid kvällsmjölkningen jämfört med morgonmjölkningen eftersom det ofta är kortare tid mellan morgon- och kvällsmjölkningen (för översikt se Dohoo et al., 1984a och Reneau, 1986; Schepers et al., 1997). Variationerna under dygnet blir mer uttalade om kon har mastit och blir stressad (Brolund, 1985; Reneau, 1986). I övrigt har varken stress eller brunst setts påverka celltalen hos friska kor men kor med SKM kan få förhöjda celltal av stress (för översikt se Dohoo et al., 1984a och Reneau, 1986).

Man kan även se variationer i celltal från dag till dag och dessa varierar också i högre grad hos kor med dålig juverhälsa vilket gör att besättningar med dålig juverhälsa har större variation över tid i tankmjölkscelltal jämfört med friskare besättningar (Reneau, 1986). En studie som jämförde celltal och mjölkkomposition på juverdelsnivå fann att friska kors celltal hade en variation på runt 2 % från dag till dag och att celltalsvariationerna mellan juverdelarna var små. Detta indikerar att prov på juverdelsnivå kan vara ett mer finkänsligt verktyg för att upptäcka SKM eftersom dessa ofta bara drabbar en juverdel (Forsbäck et al., 2010). Det kan även noteras att celltalen varierar mer sett över längre tidsperioder vilket gör att det rekommenderas att ta mjölkprov och undersöka celltalen regelbundet under laktationen (för översikt se Dohoo et al., 1984a).

Laktationsstadium

Runt kalvning har kor i allmänhet höga celltal eftersom de producerar råmjölk med ett högt innehåll av celler och antikroppar, och av denna anledning ska man tolka celltalsmätningar med försiktighet de två första veckorna efter partus. Hos kor med god juverhälsa sjunker

vanligen cellhalterna efter 4-7 dagar och bör ligga på < 300 000 celler/ml efter 5 dagar och < 100 000 celler/ml efter 14 dagar (för översikt se Harmon, 1994; Saloniemi, 1995; Sandholm, 1995b). Under perioden 2 veckor efter kalvning och igenom hela laktationen ska kor normalt sett ha låga celltal och ligga < 100 000 celler/ml. I slutet av laktationen har en del studier visat på ökade celltal medan andra inte kunnat påvisa någon signifikant ökning av celltalen förrän den producerade mjölmängden är nere på under 4 kg per dag. Ökningen som sker vid små mjölmängder strax innan sinläggning kan dels bero på minskad spädning av cellerna och dels på att det uppstår en steril, fysiologisk inflammation i juvret när kon går i sin. Denna inflammation har till uppgift att städa rent juvret från mjölk, döda celler och kvarvarande mikroorganismer (för översikt se Dohoo et al., 1984a; Saloniemi, 1995; Sandholm, 1995a).

Hos kor med SKM ses en mer långsam sänkning av celltalen efter kalvning och en mer markant ökning i slutet av laktationen (Saloniemi, 1995; Jánosi & Baltay, 2004). Det är även sannolikt att SKM eller andra störningar i juvret orsakar de uttalade höjningar av celltal under laktationen som visats i ett flertal studier eftersom liknande studier på oinfekterade kor inte kunnat visa på liknande celltalshöjningar (för översikt se Dohoo et al., 1984a). I en annan studie sågs tydliga fysiologiska effekter under laktationen men samtidigt sågs effekter av infektiös bakgrund (Wever & Emanuelson, 1989) och betydelsen av infektion stöds av en studie genomförd av Hagnestam-Nielsen et al. (2009) som visar att äldre kor i sen laktation med SKM har högst celltal och producerar minst mjölk. I en studie av Laevens et al. (1997) fann man dock att högre celltal var mer uttalade i början av laktationen hos förstakalvare vilket skulle kunna förklaras av att det är mindre vanligt att kvigors juverhälsa övervakas innan kalvning och att detta skulle kunna leda till att fler kvigor, jämfört med kor, kalvar in med mastit.

Som nämnts finns det ett samband mellan hälsostatus i besättningen och snittcelltal under laktationen vilket kan förklara att celltalen ökar under laktationen (Brolund, 1985). Studier pekar också på att effekten av laktationsstadiet blir mindre signifikant om man även räknar med producerad mjölmängd vilket indikerar att ökningen i slutet av laktationen framför allt beror på minskad mjölmängd och minskad spädning av cellerna (Emanuelson & Persson, 1984; Ulf Emanuelson et al., 1987).

Fördelningen av celler varierar under laktationen och hos friska kor kan epitelcellerna öka och utgöra andelar på upp mot 15 % de 4 första veckorna efter partus och under den perioden dominerar även lymfocyterna. Mot slutet av laktationen ökar neutrofilerna och makrofagerna och de första veckorna efter sinläggning dominerar neutrofilerna. Närmare kalvning minskar neutrofilerna till förmån för lymfocyter och makrofager och 2 veckor innan kalvning dominerar lymfocyterna följt av makrofager och neutrofiler (för översikt se Burvenich et al., 1995).

Ålder och laktationsnummer

Äldre kor har i allmänhet högre celltal än yngre kor och ju högre laktationsnummer desto högre celltal men detta är sannolikt en effekt av att kon varit exponerad för bakterier och risk

att få mastit under en längre tidsperiod. Enbart ålder ger inte automatiskt högre celltal men ju fler gånger en ko har haft mastit desto känsligare blir juvret vilket leder till att inflammationen blir svårare att eliminera, cellreaktionen blir kraftigare och celltalen minskar långsammare efter utläkning. Detta leder till högre celltal med längre duration än tidigare vilket kan tolkas som att celltalen ökar med stigande ålder (Emanuelson & Persson, 1984; för översikt se Harmon, 1994; Saloniemi, 1995). En studie av Laevens et al. (1997) visade inga signifikanta samband mellan ålder, antal laktationer och stigande celltal hos kor med friska juver men när man tog med även de kor som klassificerats som infekterade blev det ett signifikant samband vilket indikerar att det som ger ökade celltal med stigande ålder finns hos de infekterade korna.

Denna effekt gör att tröskelvärdet för mastit baserat på celltal stiger med kons ålder och att celltal som markör för juverhälsa måste ses i relation till andra faktorer. I allmänhet påverkar rent fysiologiska faktorer celltalen i mindre utsträckning än de faktorer som predisponerar för mastit men för att kunna göra en bra bedömning av celltalen och på ett korrekt sätt identifiera kor med SKM är det bra att ta hänsyn till dessa faktorer (Dohoo et al., 1981).

Predisponerande faktorer för mastit

Som tidigare nämnts är den vanligaste orsaken till förhöjda celltal hos kor någon form av inflammation i juvret vilket innebär att de faktorer som påverkar celltalen i störst utsträckning är de som predisponerar för mastit. Dessa faktorer är bl.a. inhysning, årstid, allmän skötsel, utfodring och mjölkkningsrutiner (för översikt se Dohoo et al., 1984a och Reneau, 1986).

Inhysning

Storleken på besättningen tycks spela mindre roll men utformningen av stallet, hur korna hålls (uppbundet eller lösdrift) samt vilken sorts mjölkmaskiner som används påverkar celltalen på besättningsnivå. Även utformningen av stallet och inredningen, strömmaterial, underlag och gödselhantering inverkar (för översikt se Reneau, 1986) och för dessa faktorer är lösdrift och sandbädd som underlag förknippat med låga celltal (för översikt se Dufour et al., 2011). Gällande mjölkningssystem fann en äldre studie av Bodoh et al. (1976) ett samband mellan låga celltal och besättningar med mjölkgrup jämfört med mjölkning i uppbundna system men det påpekas att dessa skillnader kan bero på skillnad i modernitet och underhåll. Installation av automatiska mjölkningssystem (AMS) har visat sig ge en förhöjning av celltalen som sedan sjunker under en period på 12 till 18 månader för att därefter lägga sig på samma nivå som innan installation (för översikt se Dufour et al., 2011). Välskötta mjölkningssystem som kontrolleras årligen är också förknippade med låga celltal (för översikt se Dohoo et al., 1984a och Dufour et al., 2011).

Årstid

Variationer under året har varit en parameter i flera studier av celltal vilket har gett blandade resultat. Ett flertal har visat på högre celltal under sommaren eller under sen sommar och tidig höst (juli-september) jämfört med vinter och tidig vår men skillnaden beror sannolikt på skötsel- och omgivningsfaktorer snarare än årstiden i sig (Bodoh et al., 1976; Dohoo et al.,

1984a, 1984b). Under sommaren är mastitfrekvensen generellt högre eftersom korna exponeras mer för smuts och bakterier och för att temperaturen är gynnsammare för bakterietillväxt, framför allt i europeiskt klimat, vilket kan förklara de högre celltalen under sommaren (för översikt se Harmon, 1994; Saloniemi, 1995). Andra studier har inte kunnat visa på någon årstidstrend gällande celltal eftersom celltalen har varierat oregelbundet under hela året samt från ett år till ett annat (Emanuelson & Persson, 1984; för översikt se Reneau, 1986 och Harmon, 1994).

Allmän skötsel

Skötsel av korna är en av de viktigaste faktorerna när det kommer till celltal och incidens av mastit och beror till störst del på den som ansvarar för besättningen och de som utför den dagliga skötseln av korna. Flertalet sköselfaktorer kan ge lägre celltal men ofta hänger dessa samman med en kunnig, engagerad och motiverad skötare eller djurägare som är villig att lägga tid och energi på att förbättra juverhälsa och celltal på lång sikt (för översikt se Dohoo et al., 1984a, Reneau, 1986 och Dufour et al., 2011).

Utfodring

Näringsstatus hos den enskilda kon påverkar både hälsan, juverhälsan och celltalen. Kons energibalans påverkar celltalen på både kort och lång sikt eftersom lägre energiintag ger lägre mjölkproduktion vilket ger en ökning av celltalen (Sandholm, 1995b). Vid akuta fel i foder- och/eller vattensystem ses drastiska sänkningar i mjölkproduktionen med påföljande höjningar av celltalen (för översikt se Harmon, 1994). Flera studier understryker vikten av Selen (Se) och E-vitamin och menar på att brist på dessa ämnen har en negativ inverkan på immunförsvaret medan optimala nivåer kan motverka mastit och sänka celltalen (för översikt se Sordillo et al., 1997). Dock beskriver en annan översikt att Se-tillskott förvisso kan sänka celltalen men påpekar även riskerna med att slentrianmässigt tillföra extra Se och E-vitamin samt olika foderkoncentrat eftersom för stora tillskott också kan inverka menligt på de kor som redan har en bra näringsstatus (för översikt Dufour et al., 2011). Andra tillskottsämnen som studerats är vitamin A, betakaroten och koppar (Cu) och samtliga ger problem med immunförsvaret vid brist och precis som med Se och vitamin E understryks vikten av att undvika suboptimala nivåer av dessa ämnen (för översikt se Sordillo et al., 1997).

Mjölkningsrutiner

För att undvika celltalshöjningar är det visat att det är viktigt med god hygien och välbeprövade mjölkningsrutiner. Det innebär bl.a. en genomtänkt mjölkningsordning där problemkor mjölkas sist, individuella torkdukar för varje ko, handskar vid hantering av juvret, rena, torra och välklippta juver samt frekvent kontroll av mjölken med hjälp av CMT. Av de åtgärder som sker efter mjölkning är spendopp den faktor som påverkar mest men det anses även bra om korna kan hållas stående en tid efter mjölkningen medan spenkanalerna fortfarande är öppna (för översikt se Dohoo et al., 1984a, Reneau, 1986, Dufour et al., 2011 och Olechnowicz & Jaśkowski, 2012).

Sintidsbehandling är en annan viktig aspekt på god juverhälsa och låga celltal. Sintidsbehandling av alla kor ger lägre celltal men har visat sig ge bäst effekt i kombination med spendopp och om man enbart sintidsbehandlar och inte spendoppar ger selektiv sintidsbehandling lägre celltal än behandling av alla kor. Det är dock svårt att bedöma eftersom andra faktorer som kan påverka också spelar in som ex vis övervakning av juverhälsan hos alla kor under sintiden. Att övervaka och åtgärda juverhälsoproblem under sintiden är en viktig faktor som tillsammans med sintidsbehandling av alla kor verkar fungera väl för att celltalen ska bli lägre. Dock, som tidigare nämnts, spelar det mindre roll med sintidsbehandling om den inte kombineras med åtgärder även under laktationen som ex vis spendopp. Det är viktigt att kon mår som bäst i slutet av sintiden och precis under och efter kalvning eftersom det är en kritisk period som ger stor påverkan på juverhälsan under kommande laktation. Det är viktigt att säkerställa rätt energibalans och näringsstatus samt ha god hygien i kalvningsboxen eftersom det påverkar både juverhälsa och celltal (för översikt se Dohoo et al., 1984a, Reneau, 1986, Dufour et al., 2011 och Olechnowicz & Jaśkowski, 2012).

Mjölkningsfrekvensens påverkan på celltalen

Det vore fördelaktigt om mjölkningsfrekvensen (MF) kunde anpassas individuellt beroende på kons laktationsstadie, producerad mjölmängd och juverhälsostatus. Både för korta och för långa mjölkningsintervall (MI) kan påverka juvret negativt och det optimala är att sprida ut mjölkningarna jämnt över dygnet. Flera studier visar på att ökad MF ger ökad mjölkproduktion på både kort och lång sikt (Allen et al., 1986; Hogeveen et al., 2001b; Österman et al., 2003; Shields et al., 2011). Tätare MI tömmer juvret på bakterier oftare och är förknippat med mindre incidens av mastit men gör också att spenen blir mer sliten och att spenkanalen står öppen och exponeras för patogener under längre tid per dygn (för översikt se Hovinen & Pyörälä, 2011).

En studie av Weiss & Bruckmaier (2002) undersökte effekten av MI på mjölkkompositionen och fann att celltalen var som högst när juvret var som minst fyllt men i övrigt verkade inte MI ha någon påverkan på celltalen. I en holländsk studie av Poelarends et al. (2002) sågs en tendens till ökade celltal vid ökade MI för kor som mjölkade i snitt 20 kg/dygn medan celltalen minskade vid ökade MI för de kor som mjölkade 40 kg/dygn. Dock varierade både MI och celltal vilket gör det svårt att dra några slutsatser från resultaten.

Förlängda mjölkningsintervall

Enstaka förlängda MI kan uppstå vid mjölkning med AMS på grund av fel på mjölkroboten eller planerat underhåll. Pettersson et al. (2002) undersökte celltal och förekomst av patogener i mjölk efter stopp i AMS och såg förhöjda celltal omkring 2 till 3 dagar efter stoppet. Längden och frekvensen av stoppen korrelerade med celltalshöjningarna och vid upprepade stopp i över 4 timmar sågs även en ökad frekvens av positiva bakteriologiska prov. I en äldre studie uteslöts 1 mjölkning vilket ökade ett enstaka MI till 24 timmar och därefter undersöktes mjölken med avseende på celltal och bakterieförekomst. Studien visade att juver infekterade med högpatogener fick uttalade celltalshöjningar efter det förlängda MI medan ingen ökning av celltalen sågs i oinfekterade juver (Fox & Schultz, 1985). Två senare studier (Lakic et al.,

2009; 2010) visade däremot en ökning av både totala antalet celler och andelen neutrofiler hos kor med låga utgångscelltal vid ett enstaka förlängt MI på 24 timmar. Såsom konstaterats i flera tidigare studier (Östensson et al., 1988; Kelly et al., 2000; Rivas et al., 2001) kunde reaktionen avläsas tidigast i neutrofilerna. Andelen neutrofiler steg först och nådde sin topp tidigare än det totala celltalet, som initialt steg långsammare och nådde sin topp efter det att neutrofilerna börjat minska i andel. Det var anmärkningsvärt då erfarenheten är att andelen neutrofiler och totalt antal celler generellt följer varandra väl med sammanfallande topp i reaktionen. Lakics (Lakic et al., 2009, 2010) resultat indikerar att andra leukocyter än neutrofiler står för cellökningen under en viss period efter ett förlängt MI vilket kan tyda på en annan kemotaktisk bakgrund än den vid inflammation med patologisk bakgrund.

Det finns flera äldre studier som undersökt kontinuerligt förlängda MI och mjölkning 1 gång per dygn. Mjölkning 1 gång per dygn leder till minskad mjölkproduktion men den totala minskningen varierar i olika studier från mellan 5 och 50 %. Studier över kortare perioder visar inte på förhöjda celltal i samband med mjölkning 1 gång per dygn medan studier över en hel laktation visar på ökade celltal. I de studier där celltalen ökade sågs att kor med god juverhälsa hade en tendens att få lindrigare celltalshöjningar medan kor med SKM fick mer uttalade höjningar (för översikt se Davis et al., 1999). Hos kor som normalt mjölkades 2 gånger per dygn men som under en kortare period mjölkades 1 gång per dygn sågs skador på juverepitelet och ökat inflöde av somatiska celler, främst neutrofiler. Celltalen ökade signifikant de första dagarna med förlängda MI men sjönk därefter även om en viss höjning kvarstod även efter det att korna börjat mjölkas 2 gånger per dygn igen (Stelwagen & Lacy-Hulbert, 1996).

Senare studier har både sett lindriga (Clark et al., 2006) och inga (O'Brien et al., 2002) förhöjningar på celltalen vid kontinuerlig mjölkning 1 gång per dygn. De lindriga höjningar som sågs av Clark et al. (2006) låg ändå väl under strafftröskeln för celltal i det aktuella landet (Nya Zeeland) som då var 400 000 celler/ml. I studien av O'Brien et al. (2002) menar författarna på att de oförändrade celltalen troligen beror på att korna innan försöket hade låga celltal, inga juverinfektioner samt var i god energibalans.

Mjölkning 3 gånger per dygn

Vid införandet av AMS i en besättning ökar vanligen MF från 2 till upp emot 3 mjölkningar per dygn eller i undantagsfall till och med något mer. Flertalet studier har undersökt hur en ökad MF påverkar celltal och juverhälsa och de flesta studier som jämfört en MF på 2 gånger per dygn med en MF på 3 gånger per dygn visar på positiva effekter på celltalen. Pearson et al. (1979) såg att de kor som mjölkades 3 gånger per dygn hade lägre värden vid undersökning med Wisconsin Mastitis Test (ett test som liknar CMT) och även en lägre andel kasserad mjölk p.g.a. antibiotikabehandling och mastit jämfört med kor som mjölkades 2 gånger per dygn. Klei et al. (1997) visade att celltalen minskade på individnivå för de kor som mjölkades 3 gånger per dygn jämfört med 2 gånger per dygn och celltalen blev i andra studier även lägre på besättningsnivå (Hogeveen et al., 2001a; Smith et al., 2002). En studie tittade på celltal relaterat till både MF och olika kalvningsintervall (KI), det ena på 12 och det andra på

18 månader. Ingen skillnad i celltal sågs mellan de kor som mjölkades 2 respektive 3 gånger per dygn och hade ett KI på 18 månader men båda dessa grupper hade lägre celltal än den grupp som mjölkades 2 gånger per dygn och hade ett KI på 12 månader. En jämförelse mellan korna med KI på 12 månader visade att de som mjölkades 3 gånger per dygn hade signifikant lägre celltal än de som mjölkades 2 gånger per dygn (Österman et al., 2003).

En studie såg ingen påverkan på celltalen vid mjölkning 3 gånger jämfört med mjölkning 2 gånger per dygn (Gisi et al., 1986). Vid en experimentell studie där MF på 2 och 3 gånger jämfördes på kor som avsiktligt smittats med *Str. agalactiae* sågs ingen skillnad mellan grupperna men dock en tendens till lägre celltal och lägre andel kor som drabbades av infektion hos de som mjölkades 3 gånger per dygn. Dock hade alla kor i studien god juverhälsa sedan tidigare (Waterman et al., 1983). När Allen et al. (1986) jämförde besättningar som mjölkades 2 respektive 3 gånger per dygn sågs en signifikant ökad mjölmängd hos de besättningar som mjölkades flest gånger per dygn. Celltalen bedömdes med hjälp av CMT och i besättningar med en MF på 3 gånger per dygn sågs högre celltal hos kor i 1:a till 3:e laktation och lägre celltal hos kor i 4:e laktation eller senare jämfört med de besättningar som hade en MF på 2 gånger per dygn.

Mjölknig 4 gånger per dygn

Vid jämförelse mellan en MF på 2 och 4 gånger per dygn kunde inga positiva effekter på celltalet ses av den högre MF, vare sig hos de kor som delades in i grupper (Hale et al., 2003; Soberon et al., 2011) eller hos de kor där halva juvret mjölkades 2 gånger och andra halvan mjölkades 4 gånger per dygn (Wall & McFadden, 2007; Shields et al., 2011). Dock var celltalen generellt låga och bibehölls låga i alla studier vilket i sig kan ses som en fördel eftersom det indikerar att en MF på upp till 4 gånger per dygn kan appliceras utan att celltalen påverkas.

Mjölknig fler än 4 gånger per dygn

Några studier har även undersökt ännu tätare MF än 4 gånger per dygn och resultaten, precis som studiernas upplägg, varierar. Kor med varierande infektionsstatus i juvret som tidigare mjölkats 2 gånger per dygn blev under olika perioder mjölkade med MI på alltifrån 3 till 15 timmar och därefter undersöktes celltalen. Korna hade högst celltal vid MI på 3 timmar och lägst celltal vid MI på runt 9 timmar och detta sågs på såväl infekterade som oinfekterade juverdelar men skillnaderna var mer uttalade i de infekterade delarna (Fernando & Spahr, 1983). Vid mjölkning av 6 kor var 4:e timme sågs initialt en höjning av celltalen som därefter sjönk till en nivå något över den som korna låg på innan försöket. Fem av korna var friska medan en hade SKM och hos denna ko sjönk celltalet hela tiden stadigt vilket slutade med en total sänkning på runt 60 %. Resultaten anses av författarna vara en indikation på att korna vänjer sig vid en ökad MF och att den ökade MF till och med skulle kunna ha positiva effekter på kor med SKM eftersom det gör att bakterier mjölkas ur mer frekvent (Van Der Iest & Hillerton, 1989). I en senare studie undersöktes också ett MI på 4 timmar men dessa kor delades upp i 2 grupper varav den ena gruppen mjölkades 6 gånger per dygn de 21 dagarna efter kalvning och därefter 3 gånger per dygn resten av laktationen medan den andra gruppen

mjölkades 3 gånger per dygn hela laktationen. De kor som mjölkades 6 gånger per dygn hade lägre celltal än de andra och skillnaden var tydligast under den första perioden med täta MI men en tendens till lägre celltal sågs under hela laktationen vilket kan indikera en kvarvarande effekt (Dahl et al., 2004).

Automatiska mjölkningssystem (AMS)

I svenska besättningar med manuella mjölkningssystem sker mjölkning generellt 2 gånger per dygn och ofta med ett något ojämnt intervall med kortare tid mellan morgon- och kvällsmjölkningen. I slutet av 1990-talet började AMS introduceras på svenska gårdar och vid årsskiftet 2010/11 fanns det 755 besättningar med AMS som totalt hade 1156 mjölkrobotar (Svensk mjölk, 2012a). I AMS kan mjölkning ske oftare eftersom mjölkroboten eller mjölkrobotarna är i drift dygnet runt och djurägaren ställer in hur många gånger en ko ska få tillstånd att gå och mjölka sig. I praktiken blir det vanligen mellan 2 och 3 gånger per dygn men bara för att korna har tillstånd att mjölka sig ofta är det inte säkert att de gör det. En studie i en besättning med 66 kor fann att MI i medel var på 9,2 timmar men att 27 % av alla MI var under 6 eller över 12 timmar och att 6 % av korna i snitt bara gick och mjölkade sig 1 gång per dygn (Hogeveen et al., 2001b).

En förutsättning för att korna ska fungera bra i ett AMS är att kotrafiken i stallet är optimal, d.v.s. att korna förflyttar sig på ett bra sätt mellan mat, viloplatser och mjölkrobot och får tillräckligt med tid för att uppfylla sina behov av foder och vila mellan mjölkningarna. Kotrafiken kan vara fri, vilket innebär att korna kan gå i stort sett vart de vill och har fri tillgång till foderavdelningen, eller styrd vilket innebär att stallet är avgränsat med grindar så att korna måste gå igenom mjölkroboten för att komma till fodret. Det finns även en variant med selekterad, styrd kotrafik där korna kan gå som de vill ända tills de får mjölkningstillstånd och då slussas de via styrd kotrafik in i mjölkroboten. Fördelen med fri kotrafik är att korna kan röra sig fritt, vilket ger mindre stress och mer välmående kor, att inga avgränsningar behövs samt att systemet fungerar bra med fullfoder. Nackdelen är att de kor som inte frivilligt går och mjölkar sig måste hämtas. Fördelen med styrd kotrafik är att man slipper hämta korna men det blir lätt köbildning, särskilt för lågrankade kor, vilket gör att kapaciteten i mjölkroboten inte utnyttjas optimalt och att korna kan förlora viktig tid i foder- eller liggavdelningen. Det gör att styrd kotrafik fungerar bäst vid fri tillgång till foder. Styrd, selekterad kotrafik kombinerar systemen och ger bäst resultat om man ser till mjölkningsintervall, besök i foderavdelningen och antal mjölkningar per ko och dygn även om också detta system kan skapa viss köbildning vid mjölkroboten (för översikt se Johansson, 2007 och Svennersten-Sjaunja & Pettersson, 2007).

Fördelarna med AMS är minskad arbetsbörda vid mjölkningen, att korna blir mjölkade på samma sätt och enligt samma rutiner varje gång och att MF kan anpassas efter den individuella kon vilket kan ge högre avkastning och förbättrad juverhälsa vid god skötsel. Det gäller dock att inte bara se systemet som ett annat sätt att mjölka utan som ett helt nytt skötselsystem som kräver god tillsyn och välfungerande rutiner. Nackdelarna med AMS är att vid dålig skötsel kan det, troligen beroende på kombinationen med varierande MI, ge lägre

mjölkproduktion och försämrad juverhälsa. Mjölkrobotarna i AMS är dessutom i drift hela tiden och kräver kontinuerligt tillsyn och underhåll eftersom det snabbt blir problem vid driftstopp (för översikt se Svennersten-Sjaunja & Pettersson, 2007 och Hovinen & Pyörälä, 2011).

Juverhälsa i AMS

Juverhälsan kan både förbättras och försämrats i AMS jämfört med manuella mjölkningssystem. Ofta blir både celltal och juverhälsa initialt sämre vid installation av AMS trots nya välbyggda stall och förbättrad mjölkningsprocess och detta kan hålla i sig de första åren. En del mindre studier visar på att det går att uppnå god juverhälsa med god skötsel, hygien och effektiv mastitövervakning. Besättningar som redan innan bytet har god juverhälsa och låga celltal verkar ha lättare att bibehålla detta och i en italiensk studie av Casirani et al. (2002) blev celltalen till och med något lägre efter installationen. Eftersom juverdelarna mjölkas separat minskar risken för smitta inom juvret och risken för övermjölkning blir också mindre. Däremot försvåras gruppering och mjölkningsordning vilket ökar smittrisker och därmed smittrycket och gör att det blir än mer viktigt ha god översikt på vilka kor och patogener som skapar problem i besättningen. AMS ställer högre krav på att korna har bra liggkomfort med låg grad av nedsmutsning eftersom den automatiska rengöringen blir bäst om juvret inte är så nedsmutsat. För att kunna utnyttja systemet optimalt är det även en fördel att vara intresserad av datorer och teknik så att man kan göra rätt inställningar och tolka all data som går att få ut ur roboten (för översikt se Hovinen & Pyörälä, 2011).

”Spontana” celltalsförhöjningar

Ibland inträffar celltalsförhöjningar utan synbar orsak. De brukar därför kallas ”spontana” även om det givetvis är någon faktor som triggat celltalsökningen, till exempel ett förlängt mjölkningsintervall (Pettersson et al., 2002; Lakic et al., 2009, 2010). Oftast går de tillbaka spontant efter några mjölkningar eller dagar men de kan också utvecklas till etablerad mastit. Det finns mängder med litteratur och studier gällande celltal i mjölk i allmänhet men få undersökningar har fokuserat enbart på spontana celltalsförhöjningar och hur vanligt förekommande de är. Några studier har tittat på variationer i celltal över tid (Berglund et al., 2007; Forsbäck et al., 2009, 2010) men då ofta kopplat till andra faktorer vilket gör att just *frekvensen* celltalsförhöjningar hamnar i skymundan. Celltalsförhöjningar i mjölken beror i allmänhet på någon form av stimuli som stör juvret eftersom rent fysiologiska faktorer hos friska kor har en mycket liten inverkan på celltalen (Harmon, 1994) och även mindre celltalshöjningar med kort duration uppstår sällan ur tomma intet. Det behövs fler studier inom området som undersöker celltalsförhöjningar med avseende på frekvens, duration och allvarlighetsgrad.

PILOTSTUDIEN

Syfte

Syftet med pilotstudien var att undersöka i vilken omfattning celltallsförhöjningar förekommer hos mjölkkor samt studera om tidigt insatta FM kan få celltalen att gå tillbaka. Studien genomfördes i besättningar med AMS och automatisk celltalsmätning.

Material och metoder

Besättningar

Kriterierna för urval av besättningar till studien var att de skulle ha AMS, online cellräkning, styrd kotrafik med obligatorisk passage genom roboten varje runda i stallet för att säkerställa en ökad mjölkningfrekvens, djurägaren skulle vara motiverad att delta i studien och besättningen skulle av praktiska skäl ligga inom ett rimligt avstånd från SLU i Uppsala. Det visade sig vara svårt att hitta besättningar som uppfyllde alla kriterier.

Studien genomfördes i 3 privata mjölkbesättningar (tabell 2) med DeLavals automatiska mjölkningssystem (DeLaval VMS) och online celltalsräknare (OCC, DeLaval, 2013a).

Tabell 2. Besättningsdata avseende produktion och juverhälsa

Gård	Antal mjölkkor	Ras	Besättningsdata föregående kontrollår	
			Beräknat tankcelltal (celler/ml)	Mjölkproduktion fg kontrollår (kg mjölk)
A	54	SRB	425 000	8578
B	138	SRB	262 000	8290
C	125	SRB/SLB/annan	318 000	9162

Två av gårdarna (A och C) hade system för styrd kotrafik, så kallat feed-first och som innebär att kotrafiken är uppbyggd enligt principen vila-äta-mjölkas. Korna kommer från viloavdelningen in i grovfoderfällan, och därifrån styrs de alltid in till mjölkroboten om de har ett mjölkningstillstånd (DeLaval, 2013b). Med detta system ska således kon mjölkas efter varje åt-tillfälle och passage genom roboten såvida hon har mjölkningstillstånd.

Den 3:e gården (B) hade två DeLaval VMS-enheter men bara OCC på den ena och styrd kotrafik men inte feed-first-systemet. Det innebär att korna frivilligt måste gå till mjölkroboten för att bli mjölkade vilket gör att det inte är säkert att de mjölkar sig så många gånger per dygn som de faktiskt har tillstånd till.

Urval av kor

För att undvika ett heterogent och svårtolkat material bestämdes att enbart kor med tidigare god juverhälsa skulle få ingå i studien. Det fästes ingen avseende vid kornas ålder eller laktationsstadium.

Baserat på data från den senaste provmjölkningen gjordes en urvalslista på samtliga kor i besättningen som mjölkade > 15 kg och hade ett celltal på < 200 000 celler/ml. Vid varje ny

provmjolkning under studiens gång gjordes ett nytt urval baserat på dessa kriterier för att även få med kor som kalvade in vartefter. På gården utan feed-first-system gjordes ytterligare urval så att bara de kor som uppfyllde de nämnda kriterierna och dessutom hade mjölkat sig mer än 2 gånger per dygn i genomsnitt under de senaste 7 dagarna och generellt hade många rundor per dygn i stallet togs med. Detta för att öka sannolikheten för att de, om de gavs högre mjölkningstillstånd, faktiskt även skulle mjölka sig oftare.

I samband med celltalsförhöjningen undersöktes kon av djurägaren och de utan tecken på klinisk mastit eller de med tecken på lindrig mastit och en historia av förhöjda celltal fick ingå i studien. Detta innebar att kon skulle ha opåverkat allmäntillstånd, ingen feber, endast lindriga-måttliga symtom från juvret samt tillåtas ha haft > 250 000 i okorrigerat celltal vid minst 2 provmjolkningar de senaste 4 månaderna. Dessa regler användes för att djuren i studien inte skulle utsättas för annan behandling än vad som rekommenderas för kor i allmänhet. För akut klinisk mastit eller vid höggradig mastit oavsett om den är akut eller recidiverande finns inte visat att täta mjölkningar är tillräckligt som enda behandling varför djurägaren fick behandla dessa kor enligt sina gängse principer. För en uppblående mastit med lindriga-måttliga symtom är dock FM rekommenderad som enda behandling (SVS, 2010).

Studiens upplägg

Roboten programmerades att larma då någon av de selekterade kornas celltal i samlingsmjölken ökade till mer än 400 000 celler/ml och kvarstod under minst 1 dygns tid. I samband med larmet tog djurägaren ett första manuellt mjölkprov (nr 1) från varje juverdel och skickade in till SLU för räkning av mjölkcellerna. Därefter ökades den aktuella kons antal mjölkningstillstånd per dygn i roboten enligt tabell 3 eller med minst 1 mjölkning mer per dygn än normalt (dock aldrig mer än 6 gånger per dygn).

Tabell 3. Mjölkningsfrekvens vid olika grad av celltalsförhöjning för kor med olika mjölkproduktion

Celltal/ml	Kons mjölkproduktion/dygn		
	15-20 kg	20-25 kg	> 25 kg
400 000 – 1 000 000	4 ggr/d	5 ggr/d	5 ggr/d
> 1 000 000	4 ggr/d	5 ggr/d	6 ggr/d

Efter 2 dagar med frekventa mjölkningar (FM) undersöktes celltalet igen och om det sjunkit till samma nivå som innan förhöjningen togs ett andra manuellt mjölkprov (nr 2) och skickades in varpå behandlingen med FM för den episoden ansågs avslutad. Om celltalet efter 2 dagar börjat sjunka men inte nått samma nivå som före höjningen eller om det var fortsatt högt fortsatte FM med samma frekvens i ytterligare 2 dagar och först därefter togs mjölkprov nr 2 och episoden ansågs slutbehandlad oavsett resultat. Efter mjölkprov nr 2 minskades

antalet mjölkningar med 1 per dag tills kon var nere på ursprungligt antal mjölkningar per dag.

Om kon under tiden för de FM fick lindriga tecken på mastit så låg de FM alltid kvar i totalt 4 dagar. Om kon fick tecken på allvarligare mastit togs hon ur studien och behandlades enligt djurägarens gängse rutiner.

Samma ko fick ingå i studien med högst 3 episoder av celltalsökning med minst 1 månads mellanrum.

Som kontrollgrupp användes kor med celltalsförhöjningar enligt de uppsatta kriterierna, som inträffat under studien men som djurägarna inte hade behandlat med FM. Dessa data togs ut efter studiens slut från robotens datasystem där alla celltalsdata från OCC-mätningarna på samtliga kor finns lagrade.

Instruktioner till djurägarna

Innan djurägarna beslutade om deltagande i studien besöktes de av projektledningen och fick information om projektet och studiens upplägg. De fick skriftlig information om studien (bilaga 1) och skrev under ett djurägarmedgivande (bilaga 2). Vid besöket lämnades även en sammanfattning med instruktioner och en tabell för hur mjölkningsfrekvensen skulle ökas (bilaga 3), skriftlig instruktion om hur mjölkprovet skulle tas (bilaga 4) samt allt provtagningsmaterial. Till sist lämnades även ett protokoll som skulle fyllas i för att underlätta för djurägarna att lämna önskad dokumentation (bilaga 5).

Studien påbörjades när djurägarna fått listan på det första urvalet av kor. Under studiens gång fick de uppdaterade versioner av urvalet efter varje ny provmjölkning. Kontakt hölls med djurägarna per telefon ungefär varannan vecka under studien för att kunna följa utvecklingen och för att djurägarna skulle kunna ventilera eventuella problem och frågeställningar. Djurägarna kunde även kontakta ansvariga när som helst om oklarheter eller frågor uppstod.

Data

Materialet består av data från DeLaval VMS datasystem (DelPro) rörande både de kor som exponerades för FM (försöksgruppen) och de kor som under studien haft celltalsförhöjningar men som djurägaren inte hade behandlat med FM (kontrollgruppen). Data rör framför allt celltal, mjölmängd och statistik på antal mjölkningar per dygn. Provmjölkningsresultat från Svensk Mjolk har använts för selektion av korna och även där är det framför allt information om mjölmängd och celltal som använts. Anteckningar och muntlig information från djurägarna har också använts för att få en bild av de deltagande korna.

Djurägarna skickade in mjölkprov från varje juverdel i början och slutet av kons deltagande i studien och dessa har undersökts med avseende på celltal. Mjölkproverna är tagna av djurägarna i rör med tillsats av bronopol och har sedan lagts i skyddsror och skickats via post i vadderade kuvert.

Cellräkningsmetoder

Totalt celltal

Celltalet på ko-nivå i den månatliga testen i ko-kontrollen analyseras med en automatiserad fluorescensbaserad elektronisk cellräkningsteknik efter infärgning av DNA (Fossomatic 5000, A/S N. Foss Electric, Hilleröd, Danmark). Celltalet i samlingsmjölken från juvret som analyseras on-line i de automatiska mjölkningssystemen bygger på samma teknik som Fossomatic (DeLaval, 2013a). Celltalet på juverdelsnivå mättes i laboratoriet med DeLaval's portabla cellräknare (DCC; DeLaval, Tumba, Sverige). Tjugo mikroliter av mjölkprovet sugas automatiskt upp i en engångskassetten där det blandas med propidiumjodid som är en fluorescerande DNA-specifik färg. Kassetten placeras i instrumentet som läser av fluorescens från den infärgade cellkärnan och därigenom räknas varje cell.

Resultat

Målsättningen var att få med minst 50 kor i studien vilket bedömdes som ett rimligt antal ur statistisk synpunkt. Eftersom det inte finns uppgifter om hur frekvent celltalsförhöjningar kan förväntas förekomma i en besättning var det dock osäkert om det önskade antalet kor skulle kunna uppnås eftersom tidsperioden för studien var begränsad till maximalt 5 mån på grund av att den gjordes som ett examensarbete. Totalt 18 kor visade sig uppfylla kriterierna och valdes ut av djurägarna att ingå i studien. Av dem kom 7 kor från gård A, 6 kor från gård B samt 5 kor från gård C. För några av korna i studien saknas vissa data.

Det visade sig finnas kor som uppfyllde alla kriterier under studieperioden men som inte hade identifierats av djurägarna. Dessa kor utgör kontrollgrupp. Det var totalt 25 kor fördelade på gårdarna enligt: A – 11 kor, B – 7 kor och C – 7 kor. Av dessa redovisas bara resultat för 18 stycken, lika många som antalet försökskor från respektive besättning. Försökskornas ålder var 2-6 år, laktationsnummer 1-4, och laktationsstadie 1-14 månader. Bland kontrollkorna var åldern 3-5,5 år, laktationsnumret 1-4, och laktationsstadiet 1-15 månader. De flesta korna var av rasen SRB men 1 försöksko och 1 kontrollko var SLB, och 1 försöksko och 3 kontrollkor var korsningar.

En enkel beräkning där alla kor med celltalshöjningar enligt kriterierna inkluderades visar att gård A hade en månatlig frekvens på ca 7 % av alla kor på gården, gård B en frekvens på ca 2 % och gård C en frekvens på ca 3 %. Den totala studieperioden för respektive gård var 5 månader för gård A, 4,5 månader för gård B och 3 månader för gård C. Eftersom resultaten baseras på mycket varierande indata och materialet är mycket spretigt har inga statistiska analyser kunnat utföras utan resultaten redovisas som deskriptiv statistik.

Celltal samlingsmjölk

Medelcelltalet på ko-nivå i de båda grupperna från respektive gård har räknats ut vid tidpunkten innan höjningen, vid den högsta toppen samt vid tidpunkten för slutprov (studiegruppen) eller fiktiv tidpunkt för slutprov (kontrollgruppen). Resultaten redovisas i tabell 4 (försöksgruppen) och tabell 5 (kontrollgruppen). För försöksgruppen saknar gård B uppgift om tidpunkten för mjölkprov 2 på en ko. Då har tidpunkten satts till efter 5 dagar med

FM vilket är medeltalet för antal dagar med FM på den gården. På gård C saknas uppgifter om tidpunkt för mjölkprov 2 samt celltalsdata för perioden.

Tabell 4. Medelcelltal (x 1000 celler/ml) för försökskorna redovisat per gård. Slutprovet togs då de frekventa mjölkningarna avslutades.

	Innan höjning	Högsta värdet	Slutprov (mjölkprov 2)
Gård A	152	4 888	182
Gård B	223	2 888	502
Gård C	177	1 594	139

För kontrollkorna (tabell 5) sattes tidpunkten för det fiktiva slutprovet till medelvärdet för antal dagar med FM för respektive gård. Medelantal dagar med FM var 4 dagar för gård A och 5 dagar för gård B respektive C. Gård B saknar 2 värden vid tiden för slutprov.

Tabell 5. Medelcelltal (x 1000 celler/ml) för kontrollkorna redovisat per gård

	Innan höjning	Högsta värdet	Fiktivt slutprov
Gård A	144	2 318	489
Gård B	181	2 034	201
Gård C	174	3 488	487

Tabell 6 visar det antal kor som vid tidpunkten för slutprov låg under 400 000 celler/ml. Det är totalt 12 av 18 kor i försöksgruppen samt 7 av 18 kor i kontrollgruppen som ligger under detta värde. En försöksko på gård B och 1 på gård C saknade slutprov och där togs värdet från celltalsdata istället och 2 kontrollkor från gård B saknade värden.

Tabell 6. Antal kor med mjölkcelltal på ko-nivå som ligger under 400 000 celler/ml vid slutprov eller motsvarande fiktiva tidpunkt för kontrollkorna, redovisat per gård. Totalantal kor i båda grupperna är 18 stycken.

	Försökskor	Kontrollkor
Gård A	5	3
Gård B	2	2
Gård C	5	2

För att se hur celltalen utvecklade sig även efter studieperioden kontrollerades de även dag 10 efter celltalshöjningen. Antal kor med celltal under 400 000 celler/ml på konivå vid den tidpunkten visas i tabell 7. Flera kor saknade värden för dag 10. Då togs värden från den sista dagen med tillgängliga celltalsdata (dag 7, 8 eller 9) efter celltalshöjningen. En försöksko saknade data från och med dag 5 varför hon togs bort ur materialet. Totalt 8 av 17 kor i

studiegruppen och 9 av 18 kor i kontrollgruppen låg under 400 000 celler/ml vid tiden för sluprovet.

Tabell 7. Antal kor med mjölkcelltal på ko-nivå som ligger under 400 000 celler/ml dag 7, 8, 9 eller 10 redovisat per gård. Totalantal kor i båda grupperna är 18 stycken.

	Försökskor	Kontrollkor
Gård A	4	4
Gård B	2	3
Gård C	2	2

Resultaten (celltalen över tid) för varje ko redovisas i separata stapeldiagram i bilaga 6 (försökskor) och 7 (kontrollkor). För varje ko anges den gård de kommer ifrån (A-C) samt ett löpnummer. För de flesta kor saknas en del celltalsdata. Det första celltalsvärdet som anges är det sista (normala) före höjningen till > 400 000 celler/ml. Enda undantaget är ko B11 där så många celltalsdata saknades före höjningen att det inte blev rimligt att ange något av dem som startvärde. Diagrammen visar celltal över 10 dagar för alla kor utom för ko A1 och B5. Ko A1 respektive B5 har ett diagram som sträcker sig över 12 respektive 15 dagar för att både mjölkprov 1 och 2 ska komma med. För försökskorna (bilaga 6) är tidpunkten för mjölkprov 1 respektive 2 markerad. Mellan dessa prov har kon exponerats för FM. Markeringen ligger alltid på första mjölkningen det dygn provet är taget. Provet kan dock vara taget vid någon annan tidpunkt under det dygnet. Två kor (B2 och C5) saknar mjölkprov 2 och de saknar således markering för det andra mjölkprovet. I dessa fall är det oklart hur länge de FM har pågått.

Celltal på juverdelsnivå

För försökskorna finns även celltalsresultat på *juverdelsnivå* för mjölkprov 1 och 2 (tabell 8). Även här anges för varje ko den gård de kommer ifrån samt ett löpnummer, som identitet. En del prov saknas och därmed också celltalsvärde vilket har markerats med ”-”. Om juverdelar (JD) som saknar något av proven sorteras bort återstår 50 JD som har celltalsvärden för både mjölkprov 1 och 2. Av dessa JD är det 9 stycken som ökar i celltal, 26 stycken som har i stort sett oförändrade celltal och 15 JD som minskar i celltal.

Av de 50 JD kan många betraktas som friska och/eller behäftade med lindrig mastitreaktion (< 400 000 celler/ml i mjölkprov 1). Då dessa räknades bort återstod 15 JD med > 400 000 celler/ml. Av dessa 15 var det 4 JD som ökade i celltal, 3 JD som låg i stort sett oförändrade och 8 JD som minskade i celltal.

Tabell 8. Celltal på juverdelsnivå för försökskorna, mjölkprov 1 och 2.

Konummer	Juverdel	Celltal x 1000 prov 1	Celltal x 1000 prov 2
A1	HF	83	207
	HB	409	669
	VB	25	24

	VF	> 10 000	4892
A2	HF	914	28
	HB	11	266
	VB	428	448
	VF	6	9
A3	HF	53	-
	HB	4419	-
	VB	3380	-
	VF	54	-
A4	HF	4159	858
	HB	9	20
	VB	16	9
	VF	25	15
A5 tvåspent	VB	3429	1038
	VF	79	70
A6	HF	36	-
	HB	72	-
	VB	71	-
	VF	34	-
A7	HF	14	-
	HB	258	-
	VB	46	-
	VF	13	-
B1	HF	2703	4738
	HB	106	58
	VB	65	29
	VF	139	60
B2	HF	1425	3400
	HB	9	12
	VB	183	741
	VF	272	2909
B3	HF	343	56
	HB	5098	925
	VB	1	10
	VF	3	4
B4	HF	5	14
	HB	2174	2231
	VB	4	8
	VF	3	12
B5	HF	27	7
	HB	3904	4025
	VB	59	44
	VF	176	47
B6	HF	82	243
	HB	477	1375
	VB	55	16
	VF	18	14
C1	HF	40	41
	HB	3558	568
	VB	145	96
	VF	46	36

C2	HF	3005	472
	HB	18	40
	VB	9	11
	VF	11	9
C3	HF	25	21
	HB	40	15
	VB	35	26
	VF	3207	822
C4	HF	5	-
	HB	429	-
	VB	10	-
	VF	6	-
C5	HF	715	-
	HB	64	-
	VB	670	-
	VF	713	-

Diskussion

Under den tid som kunde avsättas för det här examensarbetet kunde totalt inte mer än 18 kor med celltalsförhöjningar som uppfyllde kriterierna identifieras i de 3 besättningarna och exponeras för FM. Det beror dels på att celltalsförhöjningar visade sig förekomma i relativt låg frekvens, dels på att det blev en påtaglig belastning för djurägarna i deras dagliga arbete att identifiera sådana kor och vidta manuella åtgärder med provtagning m.m. Med tanke på omständigheterna är 18 försökskor ett tämligen gott resultat även om det är ett för litet material att göra statistiska beräkningar på.

Ett relativt stort antal presumtiva försökskor (25 st) som uppfyllde kriterierna förbisågs under tiden som undersökningen pågick. Dessa kunde användas som kontrollkor. Att det gick att finna kontrollkor under samma tidsperiod som studien pågick gör försöks- och kontrollgruppen mera jämförbar

Utifrån denna studie är det inte möjligt att dra några säkra slutsatser om effekten av FM. Materialet är tämligen litet och heterogent vilket kan förväntas i en fältstudie som denna. Det är mycket svårt att uppnå exakt lika behandling av alla kor och data saknas både avseende provtagningar och celltalsdata från roboten, för både studie- och kontrollkor. Snarare har studien fyllt en viktig funktion genom att den visat i vilka avseenden framtida studier med samma ändamål behöver förändras vilket är ett väsentligt syfte med en pilotstudie.

I resultaten syns ingen tydlig effekt av FM. Celltalen går ofta ner i samband med starten av FM men en nedgång vid denna tidpunkt, det vill säga några dagar efter celltalsförhöjningen, ses även i kontrollgruppen. Det finns möjligen en tendens till att försökskorna har lägre celltal vid slutprovet än kontrollkorna har vid samma tidpunkt efter den initiala celltalsförhöjningen. Likaså att en större andel av försökskorna har ett celltal på under 400 000 celler/ml vid slutet av den studerade perioden jämfört med andelen bland kontrollkorna. Det finns dock ingen tydlig skillnad mellan försöks- och kontrollkor i den här pilotstudien. Det kan också noteras

att celltalskurvan hos både försöks- och kontrollkor ofta uppvisar samma mönster med 2 pucklar, det vill säga att celltalen går upp och ner en andra gång inom de 10 studerade dagarna från första celltalsförhöjningen. Vad detta betyder kan inte besvaras av den här studien.

Inte heller resultaten på juverdelsnivå visar någon tydlig nedgång av celltalet efter FM. Studien visar att celltalsökning vanligen förekommer bara i någon enstaka juverdel. En påtaglig celltalsförändring i en juverdel kan således döljas i samlingsmjölkens celltal genom utspädning från juvrets andra delar med eventuell lågt celltal. Därför hade det förväntats att en eventuell effekt av FM på celltalen skulle ha setts tydligare på juverdelsnivå än på ko-nivå. Då det gäller juverdelsproven saknas dock i ganska många fall mjölkprov 2 och i dessa fall går det inte att utläsa en eventuell effekt av FM. Dessutom kan juverdelsresultat inte jämföras med kontrollgruppen som identifierades i efterhand och där det enbart finns celltalsdata på konivå från robotens lagrade data.

Resultaten från gård B är svåra att utvärdera eftersom korna inte har mjölkat sig så ofta som önskat och som mjölkningstillståndet medgett. Anledningen är främst att denna gård inte har feed-first-systemet. Korna styrs således inte genom roboten från ätavdelningen. Inför framtida studier vore det önskvärt att de genomfördes enbart i besättningar med feed-first systemet vilket ökar chansen att uppnå den önskade mjölkningsfrekvensen. Dessutom har gård B två robotar varav bara den ena har en celltalsräknare och det i kombination med fri kotrafik gör att det är svårt att styra aktuella kor till rätt robot vilket också ger hög frekvens missade värden. Det kan dock påpekas att även på gård A och C som har feed-first har få kor mjölkat sig helt enligt planen. En förklaring till att korna inte mjölkat sig tillräckligt många gånger trots det styrda kotrafiksystemet är att de helt enkelt inte hinner med så många rundor i stallet enligt vila-äta-mjölkas-principen som krävs för den önskade högre mjölkningsfrekvensen.

Vid den retrospektiva genomgången av robotens lagrade data visade det sig att djurägarna hade förbisett många kor som uppfyllde kriterierna för att ingå i studien. Djurägarna uppgav att de hade svårt att hinna med och att åtgärderna var arbetskrävande, att det var olika personal och att engagemanget minskade med tiden. En djurägare tyckte studietiden var lite för lång och att det på slutet blev för jobbigt med passningen. En kortare period, på 3-4 månader, hade i detta avseende varit bättre. En annan lärdom är att mjölkproven på juverdelsnivå blev ett extra och dessutom manuellt moment som var tidskrävande och följaktligen upplevdes som hindrande.

Det finns från pilotstudien vissa om än osäkra indikationer på att FM kan reducera celltalsförhöjningar. En sådan effekt skulle innebära en eftersträvarvärd behandling av höga celltal/subklinisk mastit under laktationen. Därför rekommenderas förnyade och utökade studier med delvis reviderad uppläggning. Pilotstudien har pekat på ett flertal olika faktorer som är viktiga att ha i åtanke. Den låga frekvensen celltalsförhöjningar som observerades i studien gör att sådana studier behöver pågå under mycket längre tid än vad som kunde allokeras till pilotstudien, för att ett rimligt stort material ska kunna uppnås. Vidare behöver

upplägningen förenklas. Det kommer sannolikt att i vissa avseenden ge ett än mer heterogent material vilket dock i viss mån kan kompenseras med ett större antal studerade kor.

Undersökning av ett stort antal kor bör kunna ge en tämligen säker indikation på om FM över huvud taget har någon effekt på celltalsökningar. Det bör läggas upp enbart på åtgärder som kan sättas in automatiskt och därför i första hand enbart avse celltal på konivå. In- och utsättning av FM kan baseras på de automatiska celltalsmätningarna med programmering av datasystemet i roboten så det kan ske automatiskt. Celltal på konivå kan hämtas från roboten. Studier bör fokusera på mera uttalade celltalsförhöjningar; ökning till förslagsvis mer än 600 000 celler/ml. Samtliga sådana episoder av celltalsförhöjningar bör ingå i studien oavsett kons tidigare juverhälsa. I övrigt bör kriterierna i pilotstudien användas. Mjölkningsfrekvensen behöver sannolikt öka påtagligt för att eventuell effekt ska ses och kan möjligen för enkelhetens skull vara samma för alla kor, förslagsvis 6 ggr/dygn.

Först i ett senare steg, om diagnostiken behöver förfinas, kan celltalen undersökas på juverdelsnivå.

Slutsatser

Baserat på pilotprojektet går det inte att se någon tydlig effekt av FM på celltalsförhöjningar av det här slaget hos kor. Celltalskurvan efter förhöjningen är tämligen lika i försöks- respektive kontrollgrupp. De kor som fått förhöjda celltal under 1 dygn eller mer går i allmänhet ned i celltal av sig själva vare sig de blir frekvent mjölkade eller inte – och inom ungefär samma tid.

Det är dock inte möjligt att dra några säkra slutsatser av dessa begränsade data utan studier av ett betydligt större antal kor och episoder av celltalsförhöjningar behöver göras för att med större säkerhet kunna visa huruvida FM gör någon skillnad eller inte. Vidare studier är önskvärda. Om FM skulle kunna kuperas celltalsökningar och utgöra en behandlingsmetod för SKM under laktationen så kan detta både minska antibiotikaanvändningen och öka lönsamheten för mjölkproducenten.

REFERENSER

- Allen, D.B., DePeters, E.J., Laben, R.C., 1986. Three Times a Day Milking: Effects on Milk Production, Reproductive Efficiency, and Udder Health. *Journal of Dairy Science* 69, 1441–1446.
- Andersson, I., Andersson, H., Christiansson, A., Lindmark Månsson, H., Oskarsson, M., Persson, Y., Widell, A., 2011. Systemanalys celltal.
- Bansal, B.K., Hamann, J., Grabowski, N.T., Singh, K.B., 2005. Variation in the composition of selected milk fraction samples from healthy and mastitic quarters, and its significance for mastitis diagnosis. *Journal of Dairy Research* 72, 144–152.
- Bengtsson, B., Ericsson Unnerstad, H., Ekman, T., Artursson, K., Nilsson-Öst, M., Persson Waller, K., 2009. Antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows. *Veterinary Microbiology* 136, 142–149.
- Berglund, I., Pettersson, G., Östensson, K., Svennersten-Sjaunja, K., 2007. Quarter Milking for Improved Detection of Increased SCC. *Reproduction in Domestic Animals* 42, 427–432.
- Berning, L.M., Shook, G.E., 1992. Prediction of Mastitis Using Milk Somatic Cell Count, N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase, and Lactose. *Journal of Dairy Science* 75, 1840–1848.
- Biggs, A., 2009. Mastitis in cattle. Crowood Press, Ramsbury.
- Blowey, R., Edmondson, P., 2010. Mastitis control in dairy herds, 2nd ed. CABI, Wallingford, Oxfordshire, UK; Cambridge, MA.
- Bodoh, G.W., Battista, W.J., Schultz, L.H., Johnston, R.P., 1976. Variation in Somatic Cell Counts in Dairy Herd Improvement Milk Samples. *Journal of Dairy Science* 59, 1119–1123.
- Boland, F., O’Grady, L., More, S.J., 2013. Investigating a dilution effect between somatic cell count and milk yield and estimating milk production losses in Irish dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 96, 1477–1484.
- Brolund, L., 1985. Cell counts in bovine milk: causes of variation and applicability for diagnosis of subclinical mastitis (Diss). Swedish University of Agriculture Sciences, Uppsala.
- Bruckmaier, R.M., Ontsouka, C.E., Blum, J.W., 2004. Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis. *Veterinarni Medicina Czech* 49, 283–290.
- Burvenich, C., Guidry, A.J., Paape, M.J., 1995. Natural Defence Mechanisms of the Lactating and Dry Mammary Gland, in: *Proceedings of the Third International Mastitis Seminar*: Tel Aviv, Israel, 28 May - 1 June 1995. Beit-Dagan: National Mastitis Reference Center, Beit-Dagan, pp. 3–13.
- Casirani, G., Piccinini, R., Migliorati, L., Pirlo, G., Zecconi, A., 2002. The Effects of Voluntary Milking System on Teat Tissues, Intramammary Infections and Somatic Cell Count, in: *The First North American Conference on Robotic Milking*, March 20-22, 2002, Toronto, Canada. Wageningen Pers, Wageningen, p. IV 49–54.
- Clark, D.A., Phyn, C.V.C., Tong, M.J., Collis, S.J., Dalley, D.E., 2006. A systems comparison of once-versus twice-daily milking of pastured dairy cows. *Journal of dairy science* 89, 1854–1862.
- Coulon, J.B., Gasqui, P., Barnouin, J., Ollier, A., Pradel, P., Pomiès, D., 2002. Effect of mastitis and related-germ on milk yield and composition during naturally-occurring udder infections in dairy cows. *Animal Research* 51, 383–393.

- Dahl, G.E., Wallace, R.L., Shanks, R.D., Lueking, D., 2004. Hot Topic: Effects of Frequent Milking in Early Lactation on Milk Yield and Udder Health. *Journal of dairy science* 87, 882–885.
- Davis, S.R., Farr, V.C., Stelwagen, K., 1999. Regulation of yield loss and milk composition during once-daily milking: a review. *Livestock Production Science* 59, 77–94.
- DeLaval, 2013a. Produktinformation, DeLaval VMS i detalj [WWW Document]. URL <http://www.delaval.se/-/Produkt-Information/Mjolkning/Systems/Automatic/DeLaval-VMS-in-detail/> (accessed 1.31.13).
- DeLaval, 2013b. Information om DeLavals system för kotrafik, feed first [WWW Document]. URL <http://www.delaval.se/-/Produkt-Information/Mjolkning/Systems/Automatic/Cow-traffic-concepts/> (accessed 1.31.13).
- Dohoo, I.R., Meek, A.H., Martin, S.W., 1984a. Somatic cell counts in bovine milk. *The Canadian veterinary journal. La revue vétérinaire canadienne* 23, 119.
- Dohoo, I.R., Meek, A.H., Martin, S.W., 1984b. Somatic cell counts in bovine milk: relationships to production and clinical episodes of mastitis. *Canadian journal of comparative medicine. Revue canadienne de médecine comparée* 48, 130.
- Dohoo, I.R., Meek, A.H., Martin, S.W., Barnum, D.A., 1981. Use of total and differential somatic cell counts from composite milk samples to detect mastitis in individual cows. *Can J Comp Med* 45, 8–14.
- Dosogne, H., Vangroenweghe, F., Mehrzad, J., Massart-Leën, A.M., Burvenich, C., 2003. Differential leukocyte count method for bovine low somatic cell count milk. *J. Dairy Sci.* 86, 828–834.
- Dufour, S., Fréchette, A., Barkema, H.W., Mussell, A., Scholl, D.T., 2011. Invited review: Effect of udder health management practices on herd somatic cell count. *Journal of Dairy Science* 94, 563–579.
- Emanuelson, U., Olsson, T., Holmberg, O., Hageltorn, M., Mattila, T., Nelson, L., Åström, G., 1987. Comparison of Some Screening Tests for Detecting Mastitis. *Journal of Dairy Science* 70, 880–887.
- Emanuelson, U., Olsson, T., Mattila, T., Åström, G., Holmberg, O., 1987. Effects of parity and stage of lactation on adenosine triphosphate, somatic cell count and antitrypsin content in cows' milk. *Journal of Dairy Research* 55, 49–55.
- Emanuelson, U., Persson, E., 1984. Studies on Somatic Cell Counts in Milk from Swedish Dairy Cows: I. Non-genetic Causes of Variation in Monthly Test-day Results. *Acta Agriculturae Scandinavica* 34, 33–44.
- Emanuelson, U., Wever, P., 1989. Potential of differential somatic cell counts as indicators of mastitis in quarter milk samples from dairy cows. *Acta veterinaria Scandinavica* 30, 475.
- Ericsson Unnerstad, H., Lindberg, A., Persson Waller, K., Ekman, T., Artursson, K., Nilsson-Öst, M., Bengtsson, B., 2009. Microbial aetiology of acute clinical mastitis and agent-specific risk factors. *Veterinary Microbiology* 137, 90–97.
- Fernando, R.S., Spahr, S.L., 1983. Effects of Milking Interval on Selected Milk Constituents from Normal and Infected Quarters. *Journal of Dairy Science* 66, 1155–1161.

- Forsbäck, L., Lindmark-Månsson, H., Andrén, A., Åkerstedt, M., Andrée, L., Svennersten-Sjaunja, K., 2010. Day-to-day variation in milk yield and milk composition at the udder-quarter level. *Journal of Dairy Science* 93, 3569–3577.
- Forsbäck, L., Lindmark-Månsson, H., Andrén, A., Åkerstedt, M., Svennersten-Sjaunja, K., 2009. Udder quarter milk composition at different levels of somatic cell count in cow composite milk. *Animal* 3, 710–717.
- Fox, L.K., Schultz, L.H., 1985. Effect of Infection Status on Quarter Milk Production and Composition Following Omitted Milking. *Journal of Dairy Science* 68, 418–423.
- Gisi, D.D., DePeters, E.J., Pelissier, C.L., 1986. Three Times Daily Milking of Cows in Californian Dairy herds. *Journal of Dairy Science* 69, 863–868.
- Hagnestam, C., Emanuelson, U., Berglund, B., 2007. Yield losses associated with clinical mastitis occurring in different weeks of lactation. *Journal of dairy science* 90, 2260.
- Hagnestam-Nielsen, C., Emanuelson, U., Berglund, B., Strandberg, E., 2009. Relationship between somatic cell count and milk yield in different stages of lactation. *Journal of Dairy Science* 92, 3124–3133.
- Halasa, T., Huijps, K., Østerås, O., Hogeveen, H., 2007. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Veterinary Quarterly* 29, 18–31.
- Hale, S., Capuco, A., Erdman, R., 2003. Milk yield and mammary growth effects due to increased milking frequency during early lactation. *Journal of Dairy Science* 86, 2061–2071.
- Harmon, R.J., 1994. Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts¹. *Journal of Dairy Science* 77, 2103–2112.
- Hillerton, J.E., 1999. Redefining mastitis based on somatic cellcount. *Bulletin of the International Dairy Federation* 345, 4–6.
- Hogeveen, H., Miltenburg, J.D., den Hollander, S., Frankena, K., 2001a. Milking three times a day and its effect on milk production and udder health. *IDF Mastitis Newsletter* 367.
- Hogeveen, H., Ouweltjes, W., De Koning, C., Stelwagen, K., 2001b. Milking interval, milk production and milk flow-rate in an automatic milking system. *Livestock production science* 72, 157–167.
- Holtorp, C., 1989. Mastitis, milk quality and new EEC-regulations [Fossomatic]. *Scandinavian dairy industry* 4, 46–49.
- Hortet, P., Seegers, H., 1998. Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows. *Preventive veterinary medicine* 37, 1–20.
- Hovinen, M., Pyörälä, S., 2011. Invited review: Udder health of dairy cows in automatic milking. *Journal of Dairy Science* 94, 547–562.
- Jánosi, S., Baltay, Z., 2004. Correlations among the somatic cell count of individual bulk milk, result of the California Mastitis Test and bacteriological status of the udder in dairy cows. *Acta Veterinaria Hungarica* 52, 173–183.
- Johansson, M., 2007. Robotmjölkning - helt rätt för rätt brukare. *Skånska Lantbruk - Hushållningssällskapetets medlemstidning* för 40, 26–27.

- Keefe, G., 1997. Streptococcus agalactiae mastitis: A review. The Canadian veterinary journal - La revue vétérinaire canadienne 38, 429–437.
- Kelly, A.L., Tiernan, D., O’Sullivan, C., Joyce, P., 2000. Correlation between bovine milk somatic cell count and polymorphonuclear leukocyte level for samples of bulk milk and milk from individual cows. Journal of dairy science 83, 300–304.
- Klei, L.R., Lynch, J.M., Barbano, D.M., Oltenacu, P.A., Lednor, A.J., Bandler, D.K., 1997. Influence of milking three times a day on milk quality. Journal of dairy science 80, 427–436.
- Koldewij, E., Emanuelson, U., Janson, L., 1999. Relation of milk production loss to milk somatic cell count. Acta veterinaria Scandinavica 40, 47.
- Korhonen, H., Kaartinen, L., 1995. Changes in the composition of milk induced by mastitis, in: Sandholm, M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L., Pyörälä, S. (Eds.), The Bovine Udder and Mastitis. University of Helsinki, Finland, pp. 76–82.
- Laevens, H., Deluyker, H., Schukken, Y.H., De Meulemeester, L., Vandermeersch, R., De Muelenaere, E., De Kruif, A., 1997. Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. Journal of Dairy Science 80, 3219–3226.
- Lacic, B., Svennersten Sjaunja, K., Norell, L., Dernfalk, J., Östensson, K., 2010. The effect of a single prolonged milking interval on inflammatory parameters, milk composition and yield in dairy cows. Veterinary Immunology and Immunopathology 140, 110–118.
- Lacic, B., Wredle, E., Svennersten-Sjaunja, K., Östensson, K., 2009. Is there a special mechanism behind the changes in somatic cell and polymorphonuclear leukocyte counts, and composition of milk after a single prolonged milking interval in cows? Acta Veterinaria Scandinavica 51, 4.
- Le Roux, Y., Laurent, F., Moussaoui, F., 2003. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. Veterinary Research 34, 629–645.
- Läkemedelsverket, 2009. Behandling med NSAID till nötkreatur, får, get och gris - ny rekommendation, Information från Läkemedelsverket supplement 1:2009.
- Miller, R. h., Emanuelsson, U., Persson, E., Brolund, L., Philipsson, J., Funke, H., 1983. Relationships of Milk Somatic Cell Counts to Daily Milk Yield and Composition. Acta Agriculturae Scandinavica 33, 209–223.
- O’Brien, B., Ryan, G., Meaney, W.J., McDonagh, D., Kelly, A., 2002. Effect of frequency of milking on yield, composition and processing quality of milk. Journal of Dairy Research 69, 367–374.
- Olechnowicz, J., Jaśkowski, J.M., 2012. Somatic cells count in cow’s bulk tank milk. J. Vet. Med. Sci. 74, 681–686.
- Pearson, R.E., Fulton, L.A., Thompson, P.D., Smith, J.W., 1979. Three Times a Day Milking during the First Half of Lactation. Journal of Dairy Science 62, 1941–1950.
- Persson, Y., Nyman, A.-K.J., Grönlund-Andersson, U., 2011. Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden. Acta Vet Scand 53, 36.
- Pettersson, G., Berglund, I., Husfloen, A., Tukiainen, R., Svennersten-Sjaunja, K., 2002. Effects of temporal technical stoppages in an AMS on bulk milk SCC and number of positive bacterial tests

- on udder quarter level, in: *Technology for Milking and Housing of Dairy Cows*: Hamar, Norway, 11-13 Feb 2002. Ringsted: NJF The Nordic Association of Agricultural Scientists, Ringsted.
- Pillai, S.R., Malvisi, M., Snel, G.G.M., Schwarz, D., König, S., Czerny, C.P., Piccinini, R., 2013. Differential cell count as an alternative method to diagnose dairy cow mastitis. *Journal of Dairy Science* 96, 1653–1660.
- Poelarends, J., Willems, D.J., De Koning, K., 2002. Relationship Between Milking Interval and Somatic Cell Count, in: *The First North American Conference on Robotic Milking*, March 20-22, 2002, Toronto, Canada. Wageningen: Wageningen Pers, Wageningen, p. IV 82–85.
- Pyörälä, S., 1995a. Therapy of clinical mastitis, in: Sandholm, M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L., Pyörälä, S. (Eds.), *The Bovine Udder and Mastitis*. University of Helsinki, Finland, pp. 201–208.
- Pyörälä, S., 1995b. Staphylococcal and Streptococcal Mastitis, in: Sandholm, M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L., Pyörälä, S. (Eds.), *The Bovine Udder and Mastitis*. University of Helsinki, Finland, pp. 143–148.
- Pyörälä, S., 2003. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary research* 34, 565.
- Pyörälä, S., Sandholm, M., 1995. Coliform Mastitis, in: Sandholm, M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L., Pyörälä, S. (Eds.), *The Bovine Udder and Mastitis*. University of Helsinki, Finland, pp. 149–160.
- Reneau, J.K., 1986. Effective Use of Dairy Herd Improvement Somatic Cell Counts in Mastitis Control. *Journal of Dairy Science* 69, 1708–1720.
- Rivas, A.L., Quimby, F.W., Blue, J., Coksaygan, O., 2001. Longitudinal Evaluation of Bovine Mammary Gland Health Status by Somatic Cell Counting, Flow Cytometry, and Cytology. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 13, 399–407.
- Saloniemi, H., 1995. Use of somatic cell count in udder health work, in: Sandholm, M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L., Pyörälä, S. (Eds.), *The Bovine Udder and Mastitis*. University of Helsinki, Finland, pp. 105–110.
- Sandholm, M., 1995a. Inflammation in mastitis, in: Sandholm, M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L., Pyörälä, S. (Eds.), *The Bovine Udder and Mastitis*. University of Helsinki, Finland, pp. 59–75.
- Sandholm, M., 1995b. Detection of inflammatory changes, in: Sandholm, M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L., Pyörälä, S. (Eds.), *The Bovine Udder and Mastitis*. University of Helsinki, Finland, pp. 89–104.
- Sarikaya, H., Werner-Misof, C., Atzkern, M., Bruckmaier, R.M., 2005. Distribution of leucocyte populations, and milk composition, in milk fractions of healthy quarters in dairy cows. *Journal of Dairy Research* 72, 486.
- Schalm, O.W., Carroll, E.J., Jain, N.C., 1971. *Bovine Mastitis*. Lea and Febiger, Philadelphia, USA.
- Schepers, A.J., Lam, T., Schukken, Y.H., Wilmink, J.B.M., Hanekamp, W.J.A., 1997. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. *Journal of Dairy Science* 80, 1833–1840.
- Schukken, Y.H., Wilson, D.J., Welcome, F., Garrison-Tikofsky, L., Gonzalez, R.N., 2003. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research* 34, 579–596.

- Seegers, H., Fourichon, C., Beaudeau, F., 2003. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary Research* 34, 475–491.
- Shields, S.L., Rezamand, P., Sevier, D.L., Seo, K.S., Price, W., McGuire, M.A., 2011. Effects of increased milking frequency for the first 21 days post partum on selected measures of mammary gland health, milk yield and milk composition. *Journal of Dairy Research* 78, 301–307.
- Smith, J.W., Ely, L.O., Graves, W.M., Gilson, W.D., 2002. Effect of milking frequency on DHI performance measures. *Journal of dairy science* 85, 3526.
- Soberon, F., Ryan, C.M., Nydam, D.V., Galton, D.M., Overton, T.R., 2011. The effects of increased milking frequency during early lactation on milk yield and milk composition on commercial dairy farms. *Journal of Dairy Science* 94, 4398–4405.
- Sordillo, L.M., Shafer-Weaver, K., DeRosa, D., 1997. Immunobiology of the mammary gland. *Journal of dairy science* 80, 1851–1865.
- Statens Veterinärmedicinska Anstalt, SVA, 2011. Fakta om mastit [WWW Document]. URL <http://www.sva.se/sv/Diagnostik-och-produkter1/Aktuella-analyser/Notkreatur1/Mastit/Fakta-om-mastit/> (accessed 1.30.13).
- Stelwagen, K., Lacy-Hulbert, S.J., 1996. Effect of milking frequency on milk somatic cell count characteristics and mammary secretory cell damage in cows. *Am. J. Vet. Res.* 57, 902–905.
- SVARM (No. ISSN 1650-6332), 2011. , Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring. National Veterinary institute, Uppsala, Sweden.
- Svennersten-Sjaunja, K.M., Pettersson, G., 2007. Pros and cons of automatic milking in Europe. *Journal of Animal Science* 86, 37–46.
- Svensk mjölk, 2012a. Automatisk mjölkning i de nordiska länderna [WWW Document]. URL <http://www.svenskmjolk.se/Mjolkgarden/Mjolkkvalitet/Mjolkning/Automatisk-mjolkning-i-de-nordiska-landerna/#.UUNh7I6EO6k> (accessed 3.15.13).
- Svensk mjölk, 2012b. Husdjursstatistik [WWW Document]. URL <http://www.svenskmjolk.se/Global/Dokument/Dokumentarkiv/Statistik/Husdjursstatistik%202012.pdf> (accessed 6.12.13).
- Svensk mjölk, 2013a. Tolkningsguide kokontrollen [WWW Document]. URL <http://www.svenskmjolk.se/Global/Dokument/Dokumentarkiv/Produkter%20och%20tjanster/Produktblad/Tolkningsguide%20för%20Kokontrollen%204Mb.pdf> (accessed 6.29.13).
- Svensk mjölk, 2013b. Kokontrollen - basen för beslut [WWW Document]. URL <http://www.svenskmjolk.se/Mjolkgarden/Service--radgivning/Kokontrollen/#.Uc73reBWS0o> (accessed 6.29.13).
- Sveriges Veterinärmedicinska Sällskap, SVS, 2011. Riktlinjer för användning av antibiotika till produktionsdjur. Nötkreatur och gris. [WWW Document]. URL http://svf.se/Documents/Sallskapet/Husdjurssektionen/SVS%20Riktlinjer%20för%20användning%20av%20antibiotika%20till%20produktionsdjur_2011-05-31.pdf (accessed 3.23.13).
- Taponen, J., Mylly, V., 1995. The economic impact of mastitis, in: Sandholm, M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L., Pyörälä, S. (Eds.), *The Bovine Udder and Mastitis*. University of Helsinki, Finland, pp. 261–264.

- Van den Borne, B.H.P., van Schaik, G., Lam, T.J.G.M., Nielen, M., 2010. Therapeutic effects of antimicrobial treatment during lactation of recently acquired bovine subclinical mastitis: Two linked randomized field trials. *Journal of Dairy Science* 93, 218–233.
- Van Der Iest, R., Hillerton, J.E., 1989. Short-term effects of frequent milking of dairy cows. *Journal of Dairy Research* 56, 587–592.
- Vangroenweghe, F., Dosogne, H., Burvenich, C., 2002. Composition and Milk Cell Characteristics in Quarter Milk Fractions of Dairy Cows with Low Cell Count. *The Veterinary Journal* 164, 254–260.
- Wall, E.H., McFadden, T.B., 2007. The milk yield response to frequent milking in early lactation of dairy cows is locally regulated. *Journal of dairy science* 90, 716.
- Waterman, D.F., Harmon, R.J., Hemken, R.W., Langlois, B.E., 1983. Milking Frequency as Related to Udder Health and Milk Production. *Journal of Dairy Science* 66, 253–258.
- Weiss, D., Bruckmaier, R.M., 2002. Influence of the Milking Interval on Milk Composition in Automatic Milking Systems, in: *The First North American Conference on Robotic Milking*, March 20-22, 2002, Toronto, Canada. Wageningen Pers, Wageningen, p. IV 78–81.
- Wever, P., Emanuelson, U., 1989. Effects of systematic influences and intramammary infection on differential and total somatic cell counts in quarter milk samples from dairy cows. *Acta veterinaria Scandinavica* 30, 465.
- Östensson, K., Hageltorn, M., Aström, G., 1988. Differential cell counting in fraction-collected milk from dairy cows. *Acta veterinaria Scandinavica* 29, 493.
- Österman, S., Östensson, K., Svennersten-Sjaunja, K., Bertilsson, J., 2003. How does Extended Lactation in Combination with Different Milking Frequencies Effect Somatic cell Counts in Dairy Cows? (Diss). Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

BILAGA 1 – INFORMATION TILL DJURÄGARE

INFORMATION TILL DJURÄGARE

Angående pilotstudien

”Frekventa mjölkningar av kor i samband med celltalsförhöjningar i mjölken”

*Examensarbete av Liza Engqvist, åk 6, veterinärprogrammet, SLU
Handledare: Karin Östensson, institutionen för kliniska vetenskaper, SLU*

Syftet med studien

Syftet med examensarbetet är att i en pilotstudie undersöka om förhöjda celltal i mjölken hos kor, som det första tecknet på mastit, kan fås att varaktigt gå tillbaka genom tidigt insatta frekventa mjölkningar (FM). Om det visar sig vara riktigt, öppnas nya möjligheter till förbättrad juverhälsa och samtidigt avsevärt reducerad antibiotikaanvändning. Mastit står för en majoritet av all antibiotika som används till nötkreatur.

Mastit leder till nedsatt mjölkproduktion och den kliniska formen (synliga symptom i form av svullnad, ömhet etc.) innebär även lidande/obehag för korna. Subklinisk mastit (tyst förlöpande utan synliga symptom men med höga celltal och produktionsnedgång) utvecklas ofta till en klinisk. FM är en viktig del i rutinmässig behandlingen av klinisk mastit, kombinerat med antibiotika. Täta mjölkningar avlägsnar bakterier och inflammationsprodukter som är skadliga för juvervävnaden vilket påskyndar läkningen.

Om FM även påverkar subklinisk mastit är inte undersökt men nya erfarenheter från praktiken talar för att det kan vara så, om åtgärden sätts in tidigt. Det finns indikationer på att till och med klinisk mastit kan läka med FM som enda behandling (utan antibiotika).

Genomförande och kriterier

Studien avses genomföras i privata mjölkbesättningar. FM är generellt arbetskrävande men enklare att applicera i automatiska mjölkningssystem, AMS. För att kunna genomföra studien krävs att gården är utrustad med AMS med celltalsräknare. För att säkerställa att korna verkligen mjölkar sig så ofta man vill krävs egentligen ett strikt ko-trafiksystem enligt ”feed-first” men på grund av svårighet att hitta besättningar som uppfyller alla kriterier kommer vi att prova att genomföra studien även i besättningar utan detta system. Totalt 3-4 gårdar kommer att ingå i denna studie som avses pågå tills data från totalt ca 50 kor eller episoder med förhöjda celltal har erhållits.

För att materialet ska vara så homogent som möjligt utgår vi endast från kor med normala celltal. Celltalsförhöjningen ska följa vissa kriterier för att inkluderas i studien. Korna ska vara kliniskt friska och inte ha några kända sjukdomar. Således kan ålder, laktationsstadium m.m. variera bland korna i studien beroende på vilka kor som drabbas.

Detaljerad beskrivning av studiens upplägg:

1. Baserat på data från AMS och Svensk Mjolk selekteras kor som mjölkar minst 15 kg per dygn och har haft ett okorrigerat celltal på $< 200\,000/\text{ml}$ den senaste provmjölkningen.
2. För dessa kor programmeras datorn i AMS att larma då deras respektive celltal ökar till mer än $400\,000$ celler/ml under en period på 1 dygn.
3. I anslutning till larmet undersöker djurägaren om kon har synliga symtom på mastit (**klinisk mastit**). Kor med klinisk mastit får endast delta i studien om båda följande kriterier är uppfyllda:
 - Ingen påverkan av allmäntillståndet.
 - En historia av tidvis förhöjda celltal; $> 250\,000$ i okorrigerat celltal vid minst två provmjölkningar under de senaste 4 månaderna.
4. På kor som ska ingå i studien tar djurägaren i samband med larmet manuellt ett mjölkprov från varje juverdel för celltalsbestämning i rör som tillhandahålls av SLU. Proverna skickas med post till de projektansvariga, SLU i föradresserade kuvert med frisvar.
5. Efter larmet ökas den tillåtna mjölkningsfrekvensen i AMS enligt särskild tabell till maximalt 6 ggr/d beroende på celltalsförhöjningens storlek, kons mjölmängd samt "normala" mjölkningstillstånd.
6. Under 2 dygn mjölkas kon så ofta som beslutats utifrån kriterierna ovan (ex vis 6 ggr/d).
 - Om celltalen då gått tillbaka till ungefär nivån före celltalsökningen tas ett nytt manuellt mjölkprov från alla juverdelar enligt samma rutiner som när larmet utlöstes. Därefter minskas mjölkningsfrekvensen med 1 mjölkning/d tills man är tillbaka på kons ursprungliga mjölkningstillstånd.
 - Om celltalen inte sjunkit eller har börjat sjunka men ännu inte är tillbaka på den tidigare nivån kan den högre mjölkningsfrekvensen få ligga kvar i ytterligare 2 dygn. Då tar djurägaren åter manuellt mjölkprov från alla juverdelar enligt samma rutiner som när larmet utlöstes. Därefter minskas mjölkningsfrekvensen med 1 mjölkning/d tills man är tillbaka på kons ursprungliga mjölkningstillstånd.
7. Om kon har klinisk mastit - som uppfyller kriterierna för att få ingå i studien – eller får sådana symptom under perioden av FM ska hon alltid ha FM under minst 2d + 2d – varefter mjölkningsfrekvensen trappas ner med 1 g/d.
8. Om kon får klinisk mastit med allvarigare symtom än de angivna kriterierna bör djurägaren behandla kon enligt sina gängse rutiner - eventuellt kompletterat med de frekventa mjölkningarna. Det ska i så fall ske i samråd med den behandlande/ansvariga besättningsveterinären.

Korna sköts precis som vanligt och vistas i sin vanliga miljö såväl före, som under och efter studien med undantag för de FM och de två manuella mjölkprovtagningarna. Daglig tillsyn och observation av djuren sker enligt djurägarens gängse rutiner.

I övrigt gäller att:

- Samma ko får ingå i studien med högst 3 episoder av celltalsökning med minst 1 mån mellanrum.
- Som kontroll används data från episoder av celltalsförhöjningar före/efter studien (d.v.s. utan FM) som finns lagrade i AMS.

Denna inledande pilotstudie kommer att fortgå tills det önskade antalet kor har uppnåtts (d.v.s. 50 st) och tidsperioden beror således på hur frekvent korna på gårdarna får dessa celltalshöjningar.

BILAGA 2 – DJURÄGARMEDGIVANDE

[Datum]

Institutionen för Kliniska Vetenskaper
Examensarbete av student åk 6: Liza Engqvist
Handledare: Karin Östensson

[Mottagarnamn
Mottagaradress
Postnummer
Ev. Land]

Ort

Examensarbete/pilotstudie: Frekventa mjölkningar av kor i samband med celltalsförhöjningar i mjölken

Syftet med examensarbetet är att i en pilotstudie undersöka om förhöjda celltal i mjölken hos kor, som det första tecknet på mastit, kan fås att varaktigt gå tillbaka genom tidigt insatta frekventa mjölkningar (FM). FM är en viktig del i rutinmässig behandlingen av klinisk mastit, kombinerat med antibiotika. Om FM även påverkar subklinisk mastit är inte undersökt men nya erfarenheter från praktiken talar för att det kan vara så, om åtgärden sätts in tidigt. Det finns indikationer på att till och med klinisk mastit kan läka av med FM som enda behandling (utan antibiotika).

Studien ska genomföras i privatägda mjölkobesättningar. För att kunna genomföra studien krävs att gården är utrustad med automatiskt mjölkningssystem (AMS) med celltalsräknare och ett särskilt ko-trafiksystem kallat "feed-first". Avsikten är att totalt fyra gårdar ska ingå och att data ska kunna erhållas från totalt minst 50 kor eller episoder med förhöjda celltal. Vi har dock i dagsläget ingen vetskap om med vilken frekvens celltalsförhöjningar enligt våra kriterier kan tänkas inträffa i en genomsnittsbesättning.

Kriterierna för de kor som ska inkluderas i studien är att de från ett normalt celltal spontant får en viss grad av förhöjda celltal i mjölken samt att de inte har några andra kända sjukdomar.

Varje djurägare får en separat detaljerad beskrivning av studiens upplägg och genomförande. Här följer endast en kortare beskrivning av vad denna studie innebär för djurägaren.

1. Vid ett första gårdsbesök ges detaljerad information om projektet och genomförandet diskuteras med djurägaren.
2. Alla kor som mjölkar minst 15 kg/dygn och har haft normala celltal (< 200 000/ml) vid de 2 senaste provmjölkningarna väljs ut baserat på data från AMS och Svensk Mjolk.
3. AMS programmeras att larma då dessa kors respektive celltal ökar till mer än 400 000/ml och ligger kvar under 1 dygn.
4. När AMS larmat om att en ko har fått förhöjda celltal undersöker djurägaren den aktuella kon med avseende på synliga symptom på mastit (klinisk mastit). Kor med

klinisk mastit får endast på mycket specifika villkor ingå i studien (se papper med detaljerad information). Om den inte ska ingå i studien behandlas den enligt djurägarens gängse rutiner.

5. Om kon ska ingå i studien ska djurägaren i samband med larmet ta ett manuellt mjölkprov från varje juverdel för celltalsbestämning. Mjölksproverna skickas via post till SLU enligt anvisning.
6. Därefter får kon, beroende på normalt mjölkningstillstånd, tillstånd att mjölkas oftare i AMS (upp till max 7 ggr/d) och detta tillstånd ligger kvar i AMS i **2 dagar**.
 - Om celltalen då gått tillbaka till nivån före celltalsökningen tas ett nytt manuellt mjölkprov från alla juverdelar enligt samma rutiner som när larmet utlöstes. Därefter minskas mjölkningsfrekvensen med 1 mjölkning/d tills man är tillbaka på kons ursprungliga mjölkningstillstånd.
 - Om celltalen inte sjunkit eller har börjat sjunka men ännu inte är tillbaka på den tidigare nivån kan den högre mjölkningsfrekvensen få ligga kvar i ytterligare 2 dygn. Då tar djurägaren åter manuellt mjölkprov från alla juverdelar enligt samma rutiner som när larmet utlöstes. Därefter minskas mjölkningsfrekvensen med 1 mjölkning/d tills man är tillbaka på kons ursprungliga mjölkningstillstånd.
7. Om kon har klinisk mastit - som uppfyller kriterierna för att få ingå i studien – eller får sådana symptom under perioden av FM ska kon alltid ha FM under minst 2d + 2d – varefter mjölkningsfrekvensen trappas ner med 1 g/d.
8. Om kon får klinisk mastit med allvarligare symptom än de angivna kriterierna bör djurägaren avbryta de FM och behandla kon enligt sina gängse rutiner.

Korna sköts precis som vanligt och vistas i sin vanliga miljö såväl före, som under och efter studien med undantag för de FM och de två manuella mjölkprovtagningarna. Daglig tillsyn och observation av djuren sker enligt djurägarens gängse rutiner. Samma ko får ingå i studien med högst 3 episoder av celltalsökning med minst 1 mån mellanrum.

Som kontroll används data från episoder av celltalsförhöjningar före/efter studien (d.v.s. utan FM) som finns lagrade i AMS. Detta innebär att djurägaren måste godkänna att de inblandade i projektet får tillgång till data från AMS både innan, under och efter studien.

Under projektets gång kommer kommunikationen mellan projektansvariga och djurägaren främst att ske per telefon. Vid behov eller vid önskemål från djurägare/-skötare eller de projektansvariga kan extra besök göras på gården under studien för att underlätta kommunikation och genomförande av alla moment.

Denna inledande pilotstudie kommer att fortgå tills det önskade antalet kor har uppnåtts (d.v.s. 50 st) och tidsperioden beror således på hur frekvent korna på de fyra gårdarna får dessa celltalsförhöjningar.

Vid studiens avslutande görs ett sista gårdsbesök för att samla in data och göra en utvärdering av studiens genomförande och diskutera med djurägaren. Då examensarbetet är klart kommuniceras resultaten ordentligt med djurägaren som givetvis även erhåller ett ex av examensarbetet och en inbjudan till den muntliga redovisningen.

Kontaktuppgifter projektansvariga:

Vet stud Liza Engqvist (åk 6)

E-post: lien0003@stud.slu.se

Mobil: 070-3957439

Leg vet/docent Karin Östensson

E-post: karin.ostensson@slu.se

Mobil: 070-46 114 46

Avdeln f reproduktion,

Inst f kliniska vetenskaper, SLU

Tel: 018-671000 (vx); 018-672249 (dir).

Postadress: Box 7054, 750 07 Uppsala

Djurägarmedgivande

Jag har tagit del av ovanstående information om studien ”Frekventa mjölkningar av kor i samband med celltalsförhöjningar i mjölken”. Jag är införstådd med att deltagande i studien är frivilligt och att jag därför också kan avbryta mitt deltagande, samt att jag alltid kan kontakta projektansvariga med frågor om projektet.

Härmed godkänner jag att min besättning deltar i studien. Jag ger även tillåtelse till att relevanta uppgifter och data rörande besättningen hämtas från gårdens AMS samt Svensk Mjölks databaser till lokal persondator för att utnyttjas i statistiska beräkningar inom ramen för forskningsprojektet. Alla uppgifter kommer att behandlas konfidentiellt så att besättningen inte kan spåras.

Djurägarens namn _____

Adress _____

Postadress _____

Telefonnummer _____

Besättningsnummer _____

Ort, datum

Namnunderskrift djurägare

Namnförtydligande

Jag godkänner även att överblivna mjölk- och blodprover sparas för att läggas i en biobank.

JA

NEJ

BILAGA 3 – INSTRUKTION MED TABELL

MJÖLKNINGSFREKVENSENS VID OLIKA CELLTALS FÖRHÖJNING OCH MJÖLKMÄNGD

Celltal/ml (ökn kvarstående 1 dygn)	Kons mjölkproduktion/dygn		
	15-20 kg	20-25 kg	> 25 kg
400 000 - 1 000 000	4 ggr/d*	5 ggr/d*	5 ggr/d*
> 1 000 000	4 ggr/d*	5 ggr/d*	6 ggr/d

*Eller minst 1 mjölkning mer per dygn än vad kon har innan (dock aldrig mer än 6 ggr/d)

1. Utvalda kor – larm vid celltal > 400 000 vid alla mjölkningar under 1 dygn.
2. Vid LARM – KONTROLLERA om kon har synliga symptom på mastit (**klinisk mastit**).
 - a. Ingen klinisk mastit = OK
 - b. Klinisk mastit **med följande kriterier, båda punkterna ska vara uppfyllda** = OK (kon får ändå ingå i studien)
 - Ingen påverkan av allmäntillståndet, ingen feber, lindr-måttl symptom från juvret.
 - En historia av tidvis förhöjda celltal; > 250 000 i okorrigerat celltal vid minst två provmjölkningar under de senaste 4 mån.
3. Tag MJÖLKPROV från alla juverdelar – särskilda rör och kuvert. Skicka till SLU.
4. ÖKA MJÖLKNINGSFREKVENSEN enligt tabellen ovan (eller till minst 1 mjölkning mer per dygn än vad kon har innan, dock aldrig mer än 6 ggr/d). Får ligga kvar 2 dygn.
5. EFTER 2 DYGN:
ALT I
 - **Om celltalen då gått tillbaka** till nivån före celltalsökningen:
Tag åter manuellt **mjölkprov** från alla juverdelar enligt samma rutiner som vid larmet.
Därefter **minskas mjölkningsfrekvensen med 1 mjölkning/d** tills man är tillbaka på kons ursprungliga mjölkningstillstånd.
ALT II
 9. **Om celltalen INTE sjunkit eller har börjat sjunka men ännu inte är tillbaka** på nivån före celltalsökningen:
Låt den ökade **mjölkningsfrekvensen** få ligga kvar i **YTTERLIGARE 2 DYGN**.
Därefter - tag **manuellt mjölkprov** från alla juverdelar enligt samma rutiner som när larmet utlöstes.

Därefter minskas mjölkningsfrekvensen med 1 mjölkning/d tills man är tillbaka på kons ursprungliga mjölkningstillstånd.

6. Om kon har klinisk mastit enl ovan - eller får sådana symptom - **OBS kriterierna!** - under perioden av frekventa mjölkningar – ska den ökade mjölkningsfrekvensen ligga kvar 2d + 2d – varefter mjölkningsfrekvensen trappas ner med 1 g/d.
7. Om kon får klinisk mastit med allvarligare symtom - behandla kon enligt gårdens gängse rutiner - eventuellt kompletterat med de frekventa mjölkningarna. Allt i samråd med den behandlande/ansvariga besättningsveterinären.
8. Under hela studien ska djurägaren ha uppsikt över djurens hälsotillstånd enligt sina gängse rutiner.

BILAGA 4 – INSTRUKTION OM HUR MJÖLKPROV TAS

PROVTAGNING MJÖLK

”PILOTSTUDIE ”FREKVENTA MJÖLKNINGAR AV KOR I SAMBAND MED CELLTALSFÖRHÖJNINGAR I MJÖLKEN”

- Rören ni har fått innehåller ett konserveringsmedel doserat till ca 10 ml mjölk, därför är det viktigt att det blir ungefär den volymen/rör; mjölknivån ca 2-3 cm från rörets överkant.
- Provet behöver **INTE** vara sterilt men undvik att skräp kommer med.
- Ska analyseras ang celltal och olika celltyper.

1. Märk ett rör för varje juverdel med permanent-/spritpenna

HF (höger fram)

HB (höger bak)

VB (vänster bak)

VF (vänster fram)

2. Märk minst ett av rören med **kons nummer** samt **första bokstaven i gårdens namn** (så vi vet vem det kommer från).

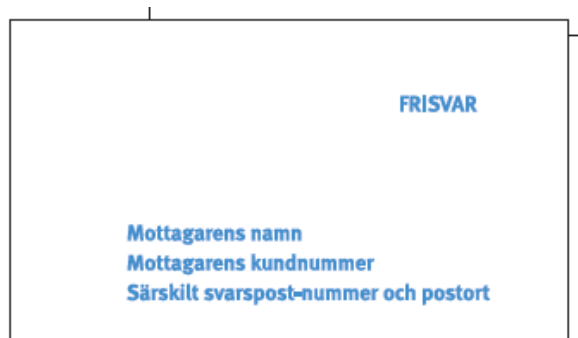
3. Tag prov från varje juverdel:

- **Mjölka ur de första 5 strålarna.**
- Mjölka därefter i röret.
- Röret ska vara nästan fyllt – mjölknivån ca 2-3 cm från överkanten.

Om provet tas direkt efter mjölkningen behöver inga strålar mjölkas ur först.

4. Lägg varje rör i en hylsa och sen i det vadderade kuvertet.

5. Klistra på adressetiketten och skriv ”FRISVAR” i kuvertets övre, högra hörn.



6. Posta brevet.

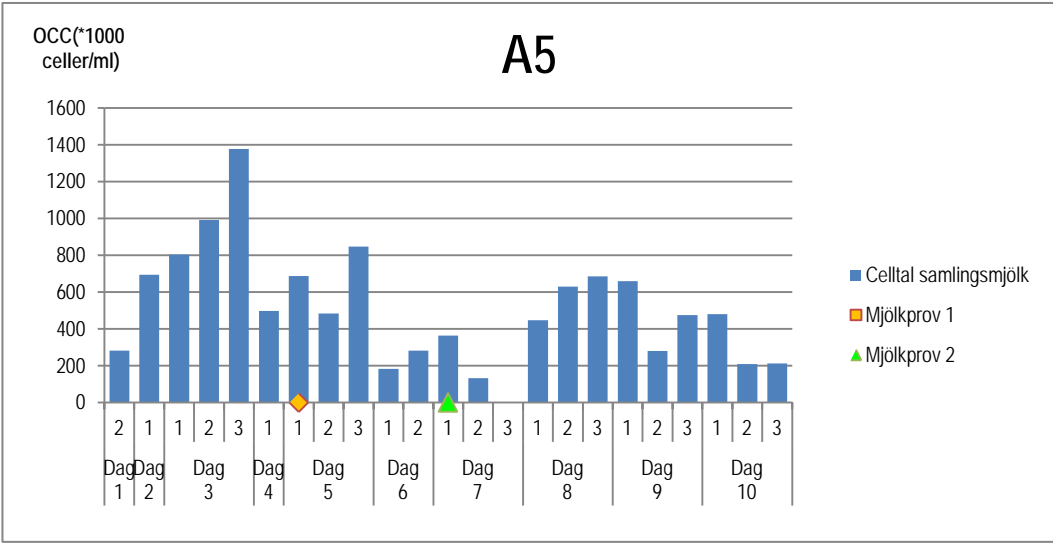
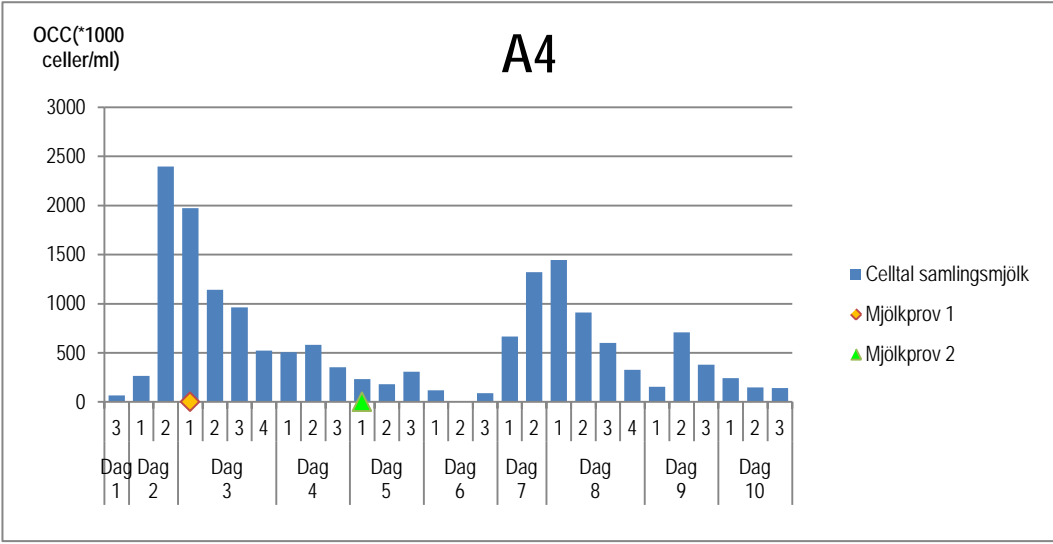
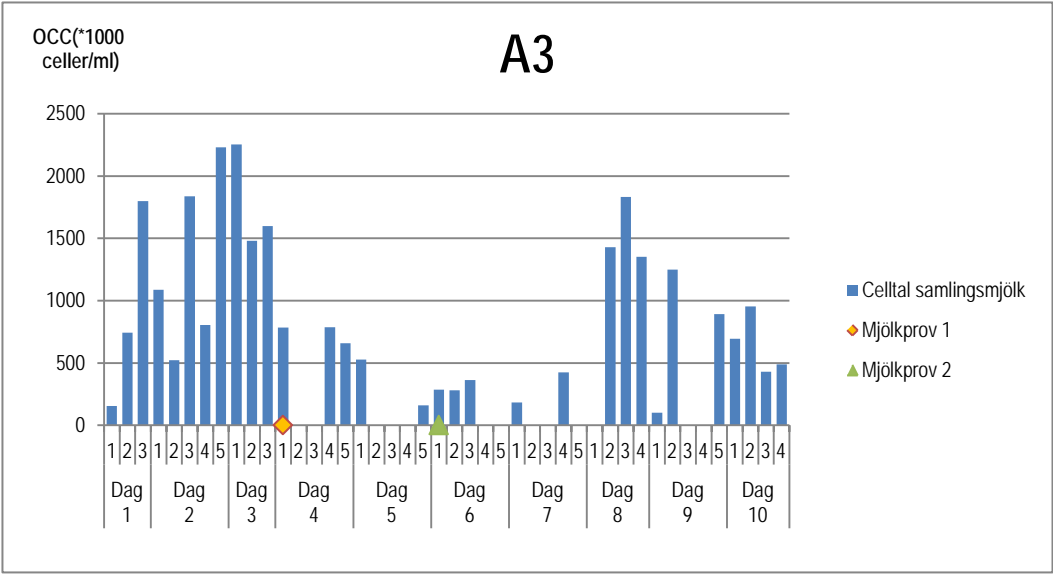
BILAGA 5 – PROTOKOLL FÖR DOKUMENTATION

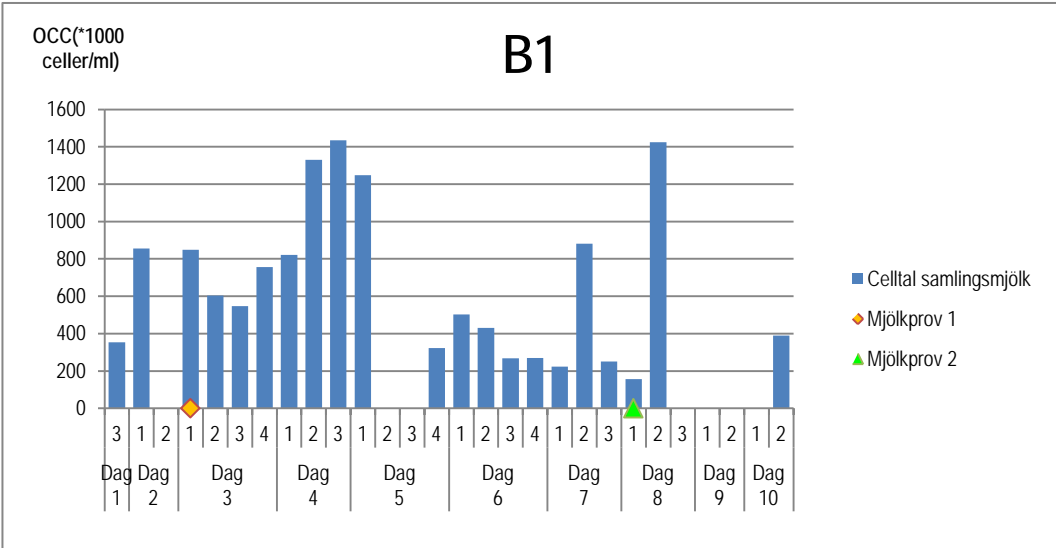
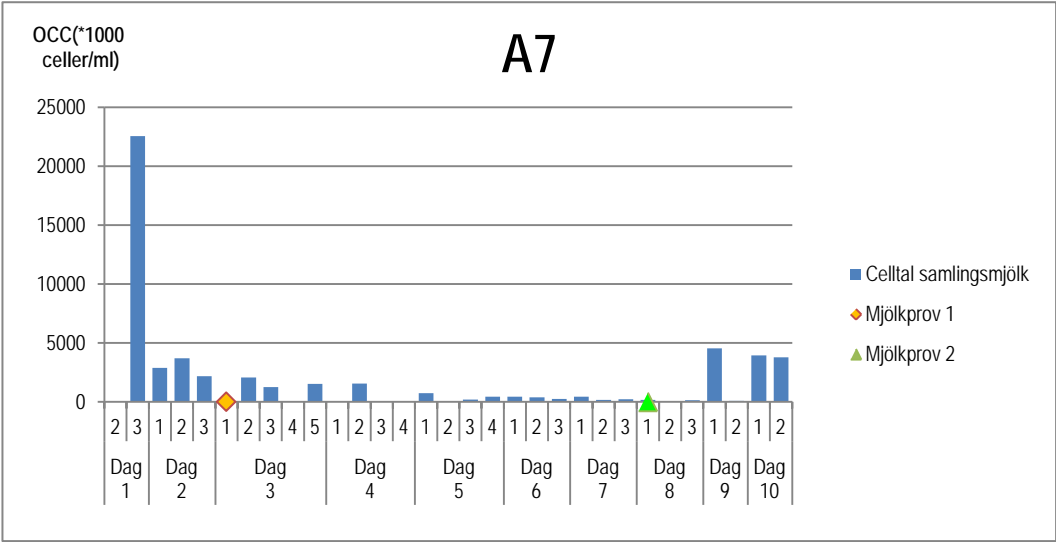
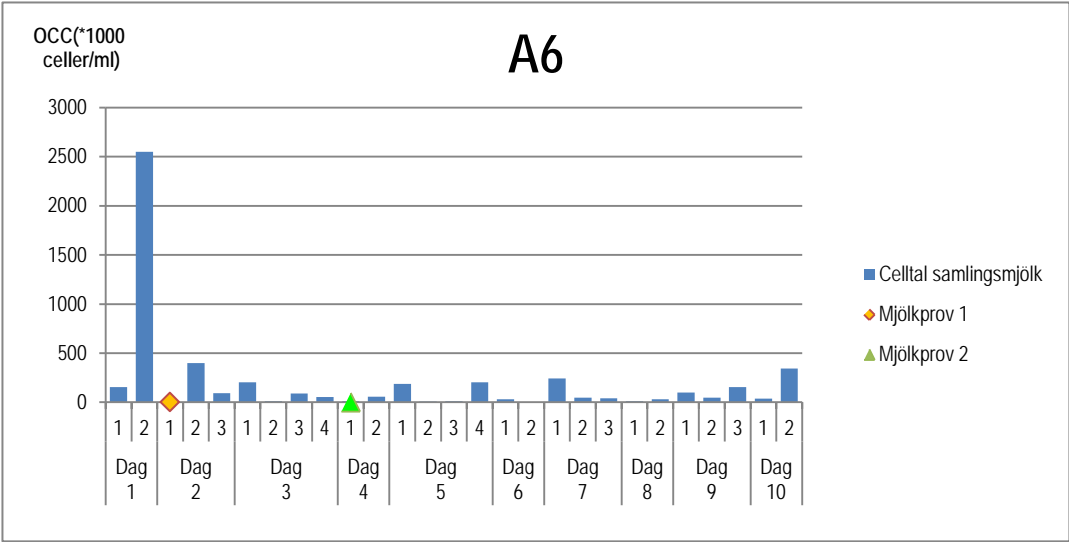
PROTOKOLL PILOTSTUDIE "FREKVENTA MJÖLKNINGAR AV KOR I SAMBAND MED CELLTALSFÖRHÖJNINGAR I MJÖLKEN"
 Kontaktperson: Liza Engqvist 070-39 574 39 (lien0003@stud.slu.se) alt Karin Östensson (handledare) 070-46 114 46

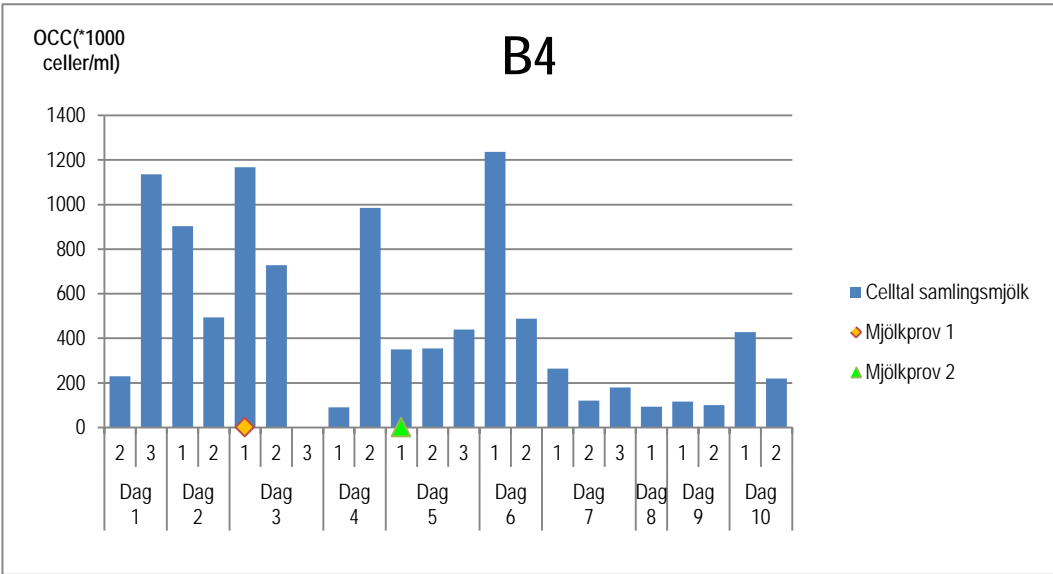
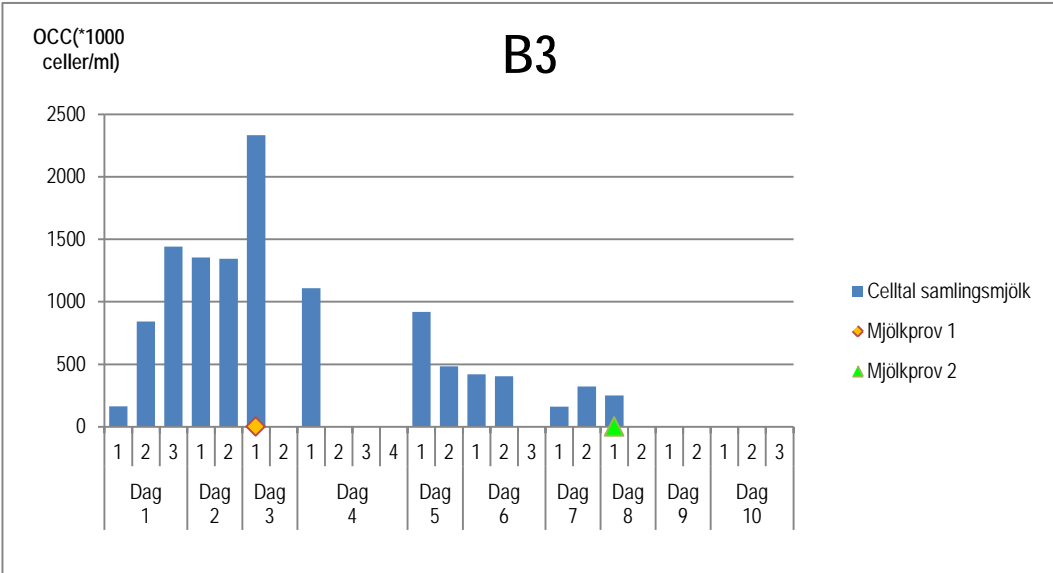
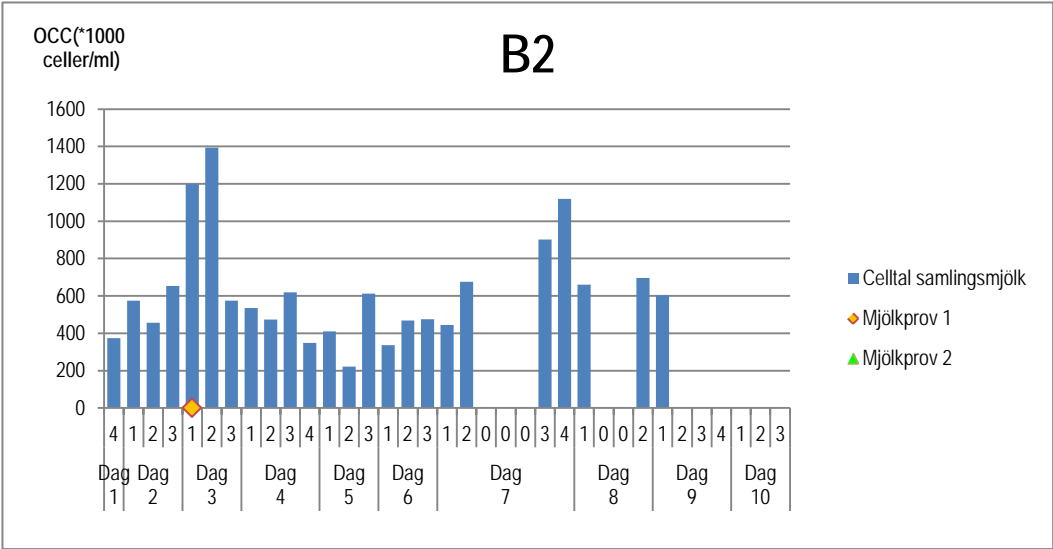
Datum	Ko nr	Koll (Klin mastit etc)	Mjolkprov nr 1 (före)	Mjolkkningsfrekvens per dygn		Koll efter 2 dygn (kryssa relevant kolumn)		Datum (då nedtrappn. av mjölkkn.tillståndet börjar)	Mjolkprov nr 2 (efter)	Övrigt:
				Innan	Ökat till	Börja nedtrappning mjölkkn. tillstånd med 1 mjölkkn/dygn	Fortsätt med frekvent mjölkkn. + 2 dygn			

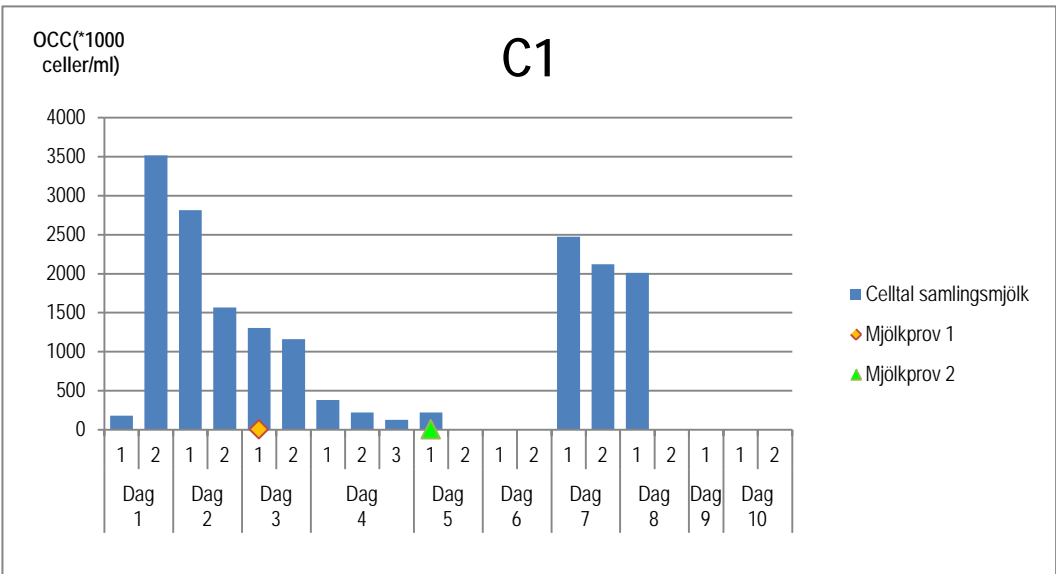
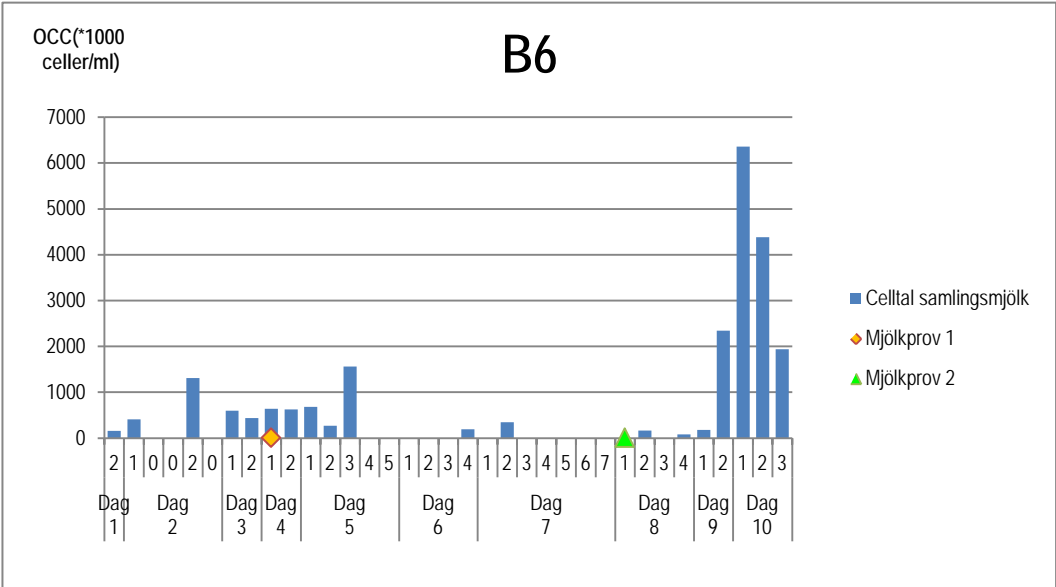
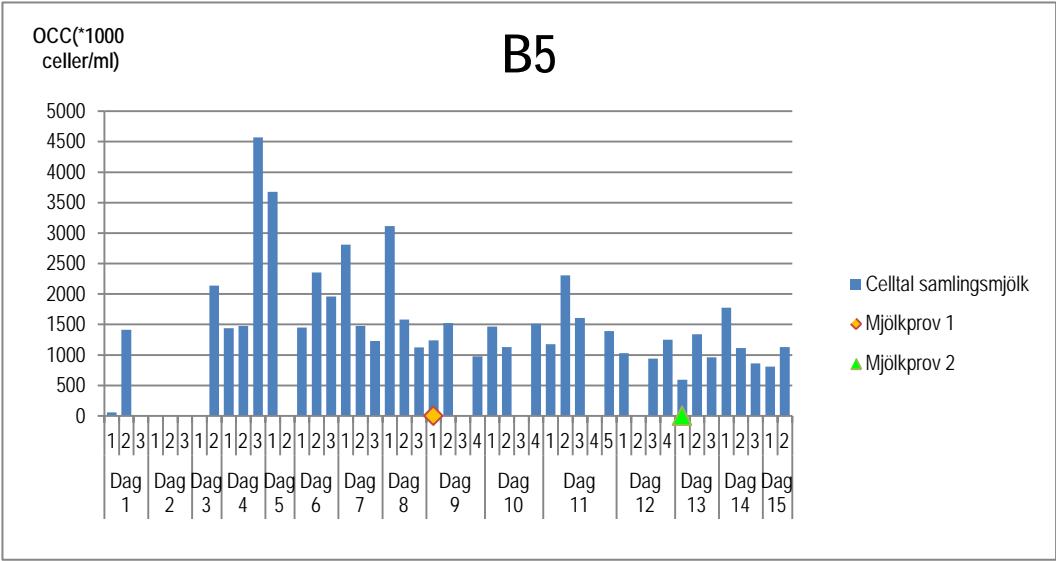
Datum: Skriv in startdatum för kons medverkande (det datum när roboten larmar)
 Ko nr: Skriv in kons nummer
 Koll: Kryssa i att kollat att kon kan ingå i studien (se separat tabell för kriterier)
 Mjolkprov 1: Kryssa när tagit första mjölkprovet (ett per juverdel) i samband med start och skickat iväg (särskilda rör/kuvert)
 Mjolkkningsfrekvens
 Innan: Fyll i kons normala antal mjölkningstillstånd/dygn vid start
 Ökat till: Fyll i nya antalet mjölkningstillstånd/dygn (se separat tabell för hur mkt de ska ökas)
 Koll efter 2 dagar: Kryssa i om mjölkningstillståndet börjar trappas ner eller om frekvent mjölkning fortsätter + 2 dygn
 Datum avslutande: Fyll i datum för när nedtrappningen av mjölkningstillståndet börjar.
 Mjolkprov 2: Kryssa när sista mjölkprovet i samband med avslutandet tagits och skickats iväg (särskilda rör/kuvert)
 Övrigt: Fyll i ev anmärkningar el om kon tagits ur studien pga ex vis mastit (skriv i så fall datum när kon togs ur)

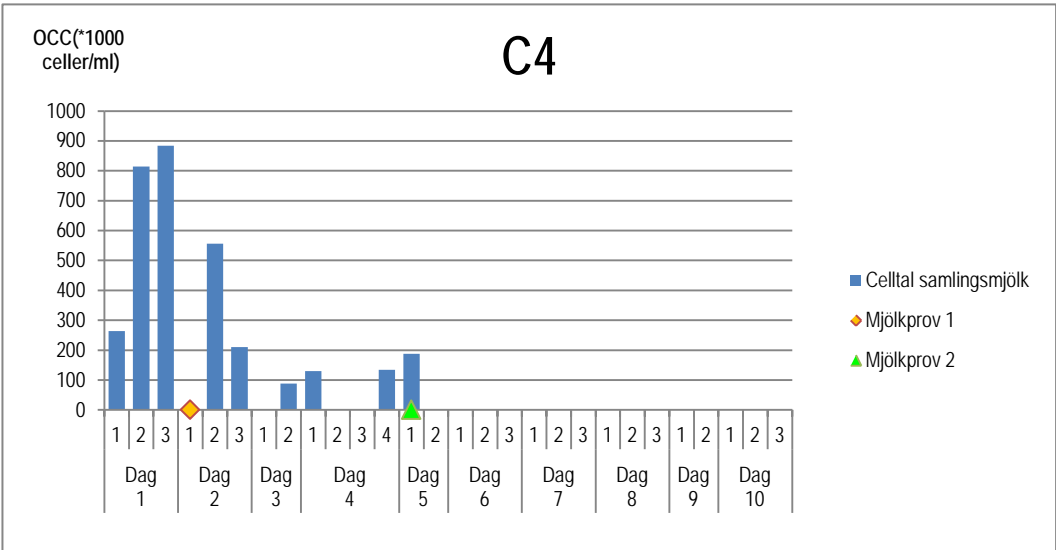
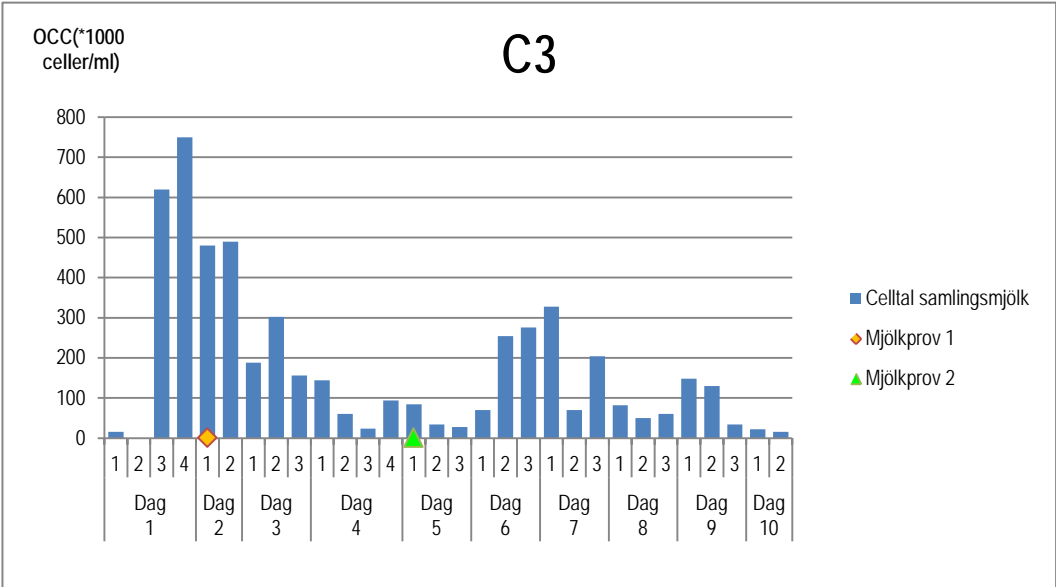
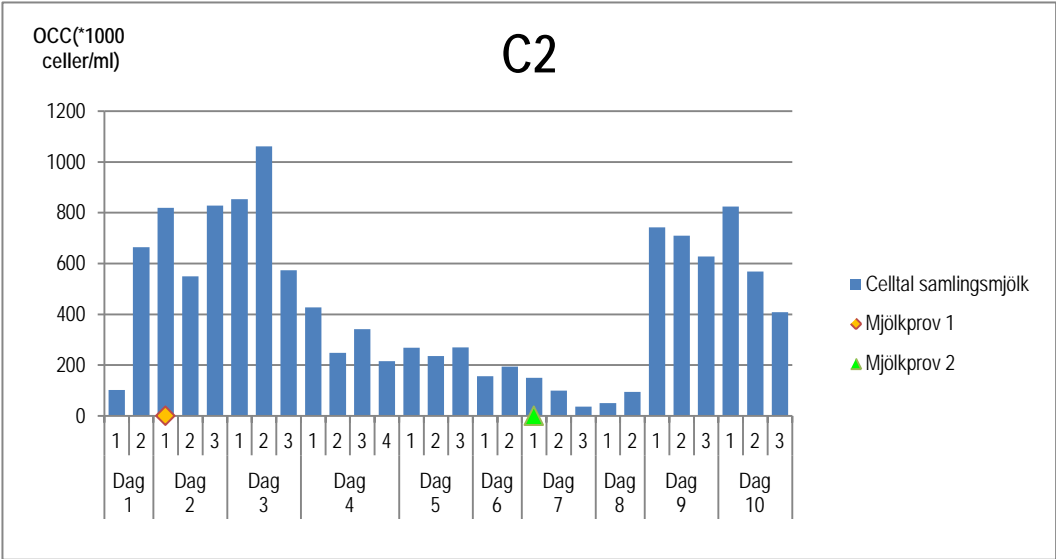
Detta protokoll ska vara uppsatt eller förvaras med tabellen "Mjolkkningsfrekvens vid olika celltalförhöjning och mjölmängd"





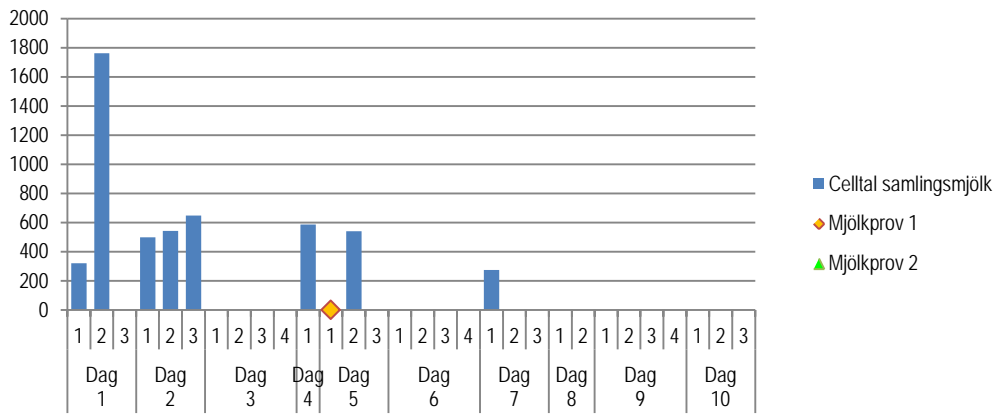






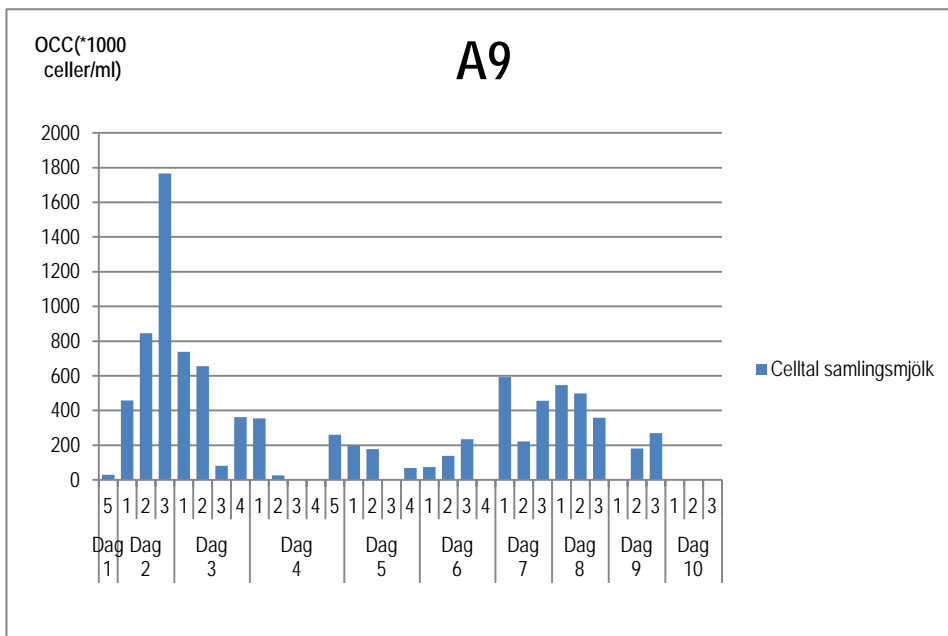
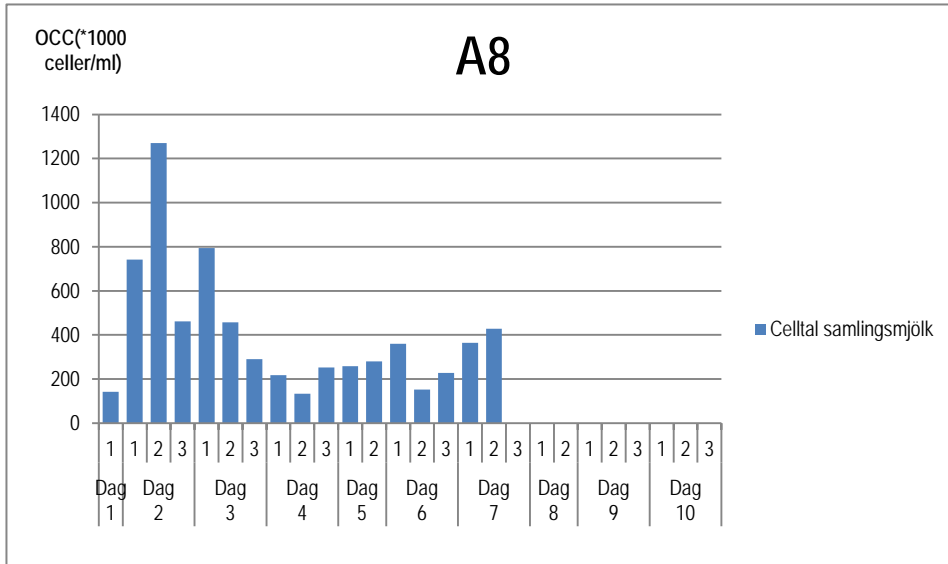
OCC(*1000
celler/ml)

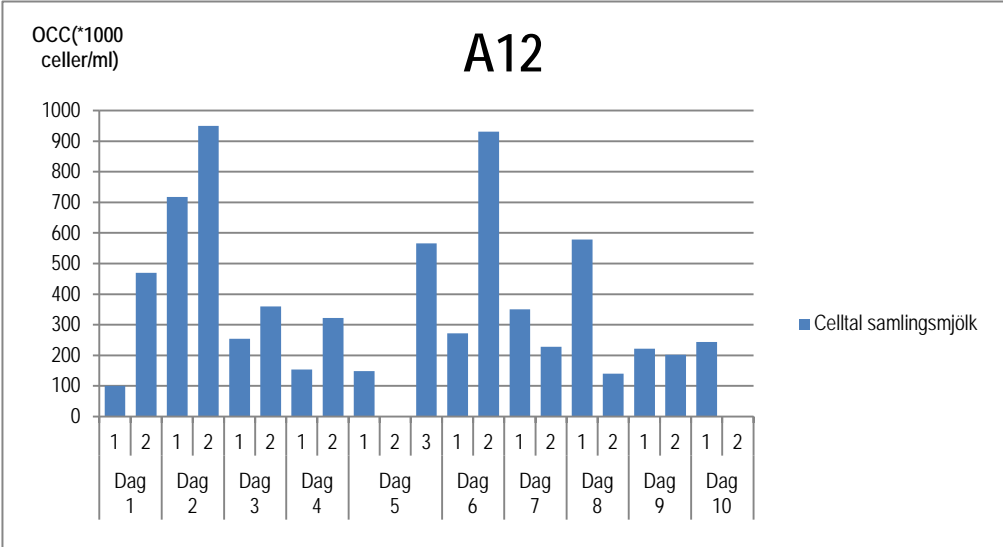
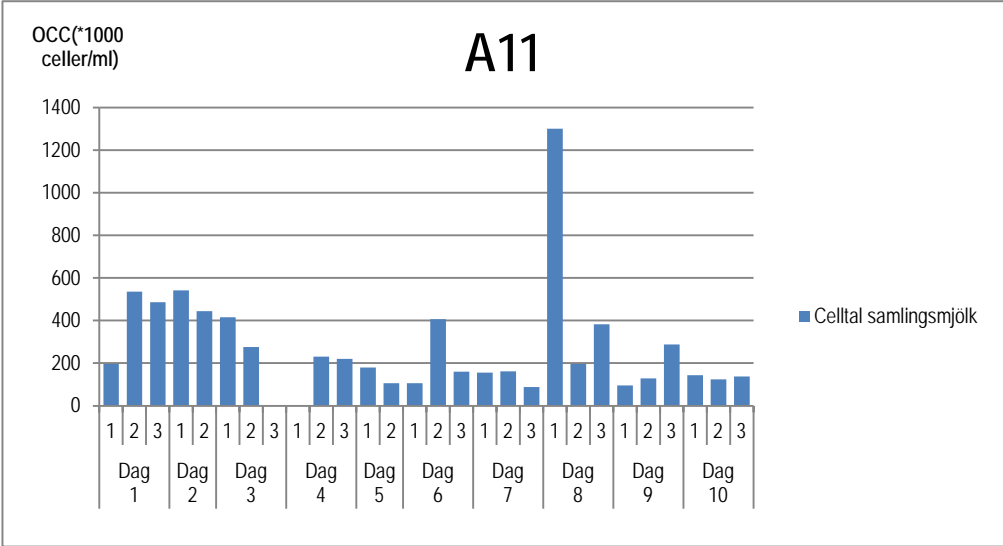
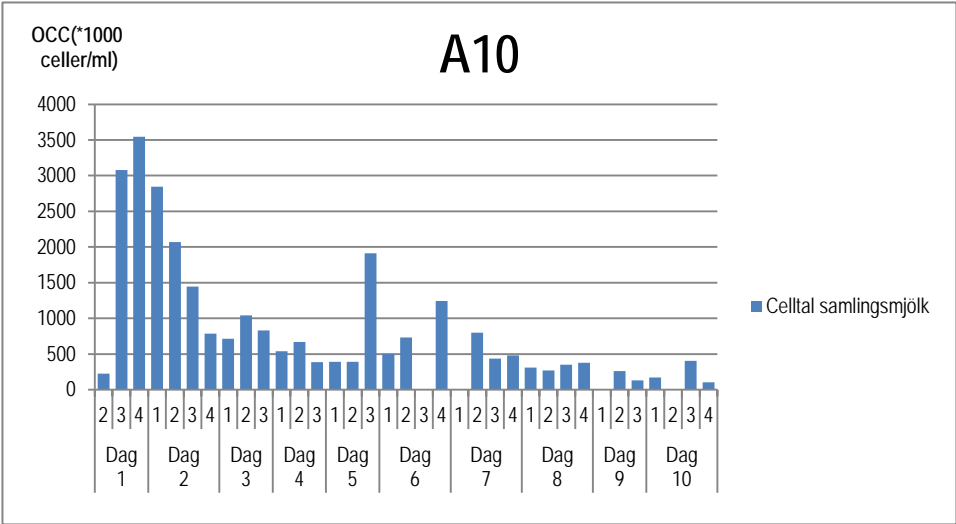
C5

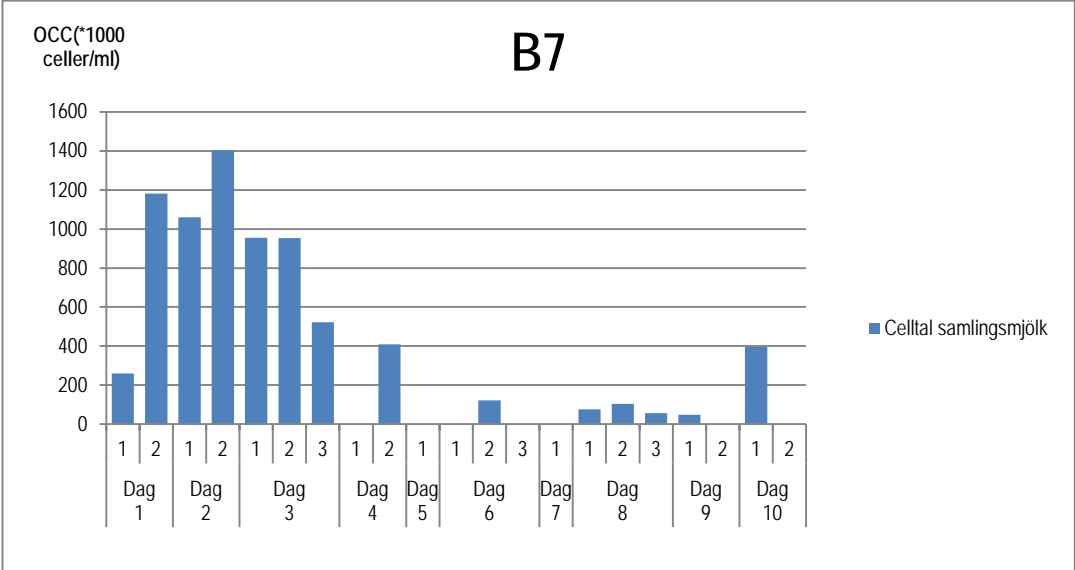
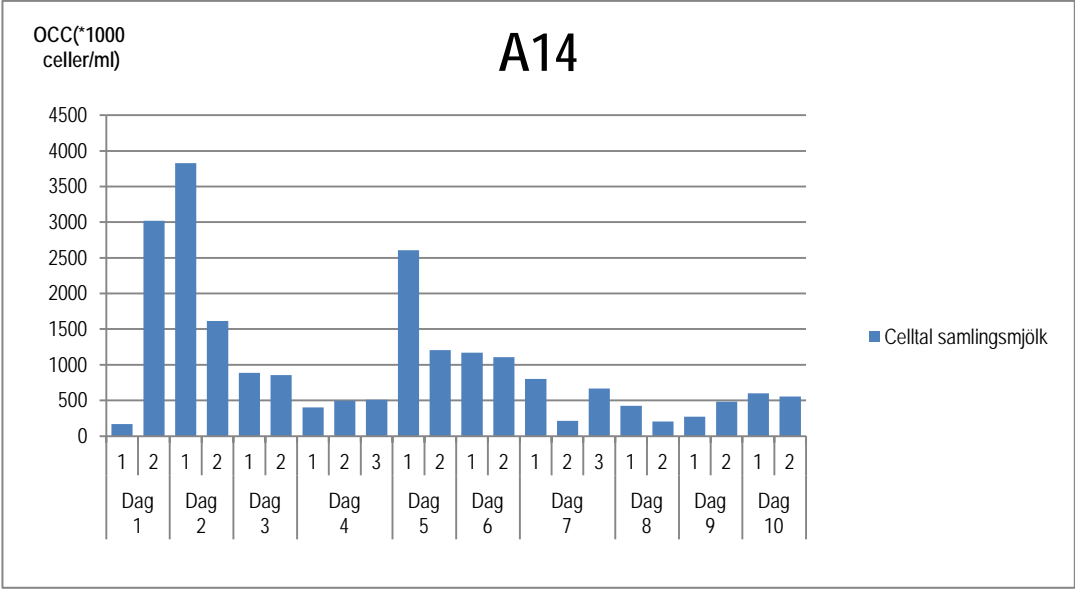
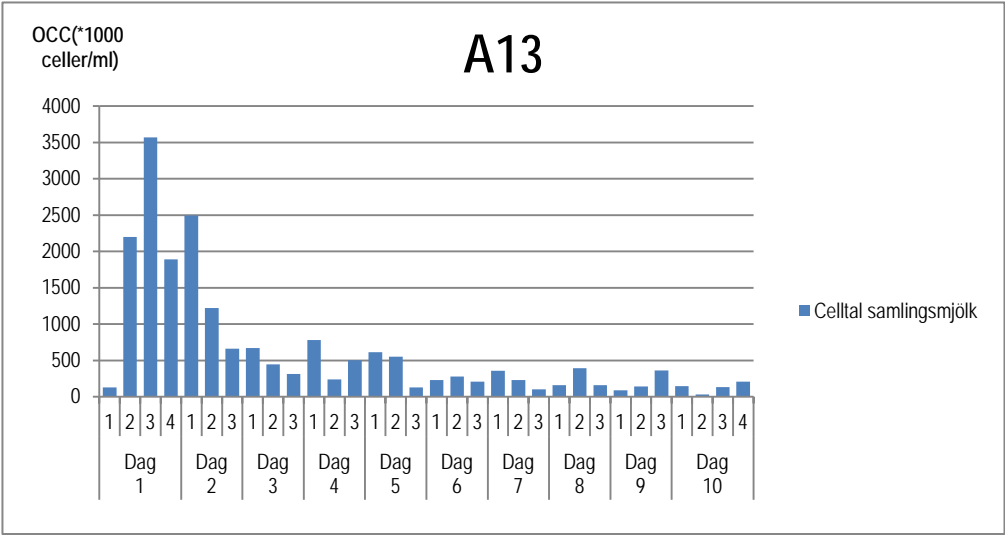


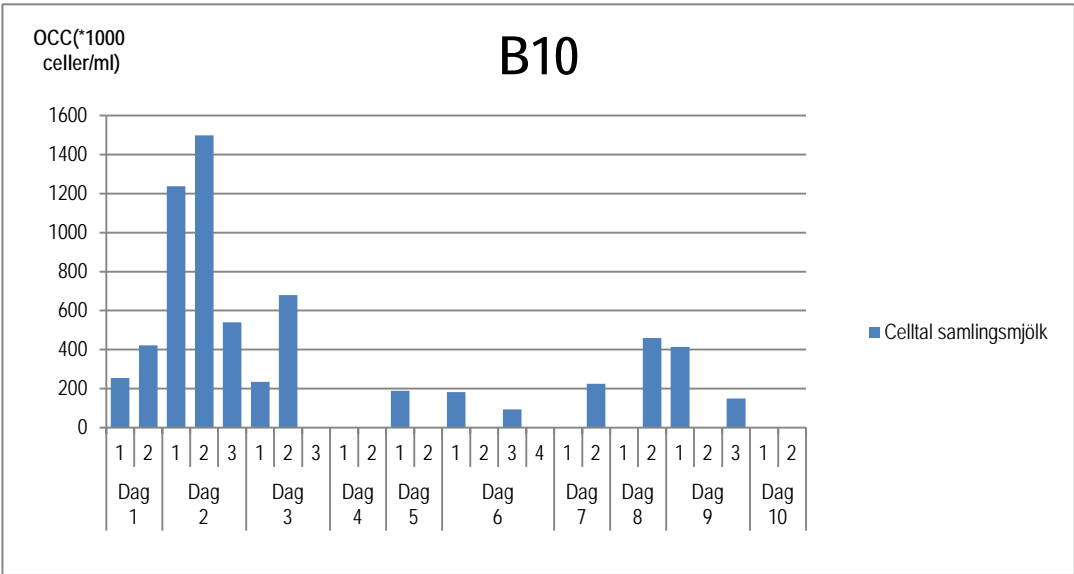
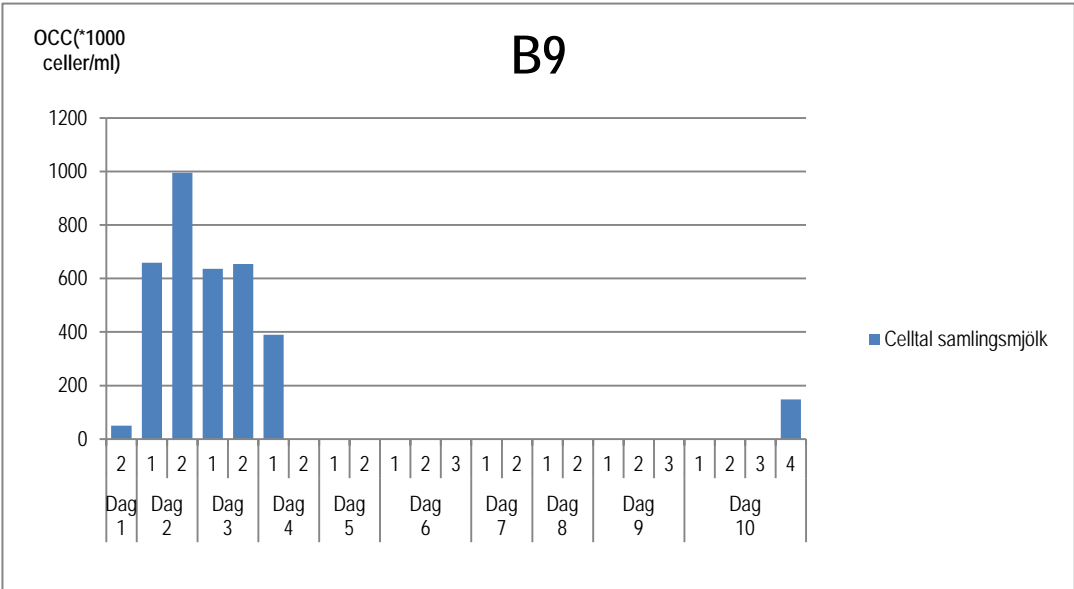
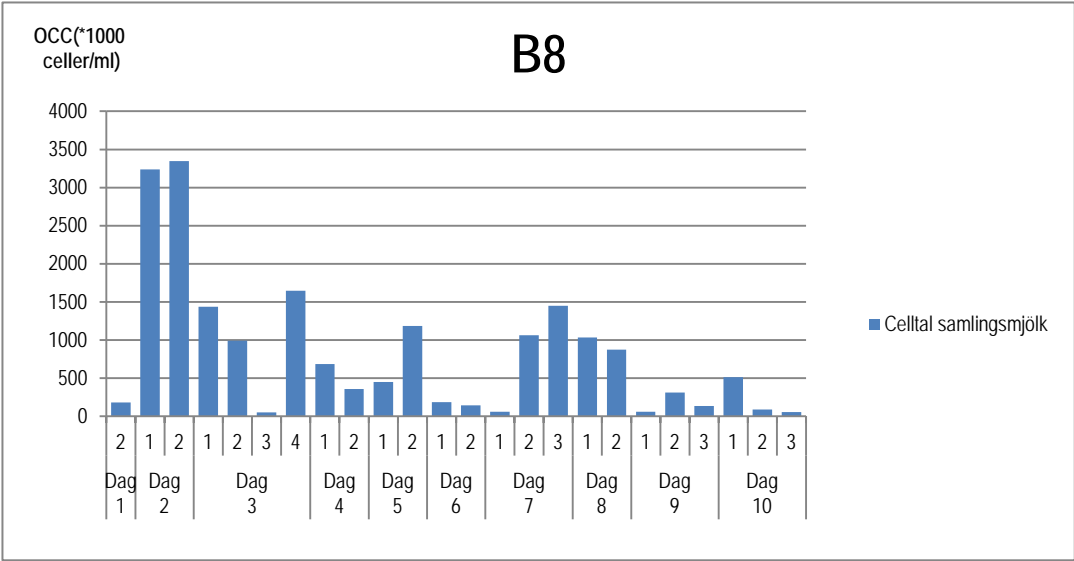
BILAGA 7 – KONTROLLKOR

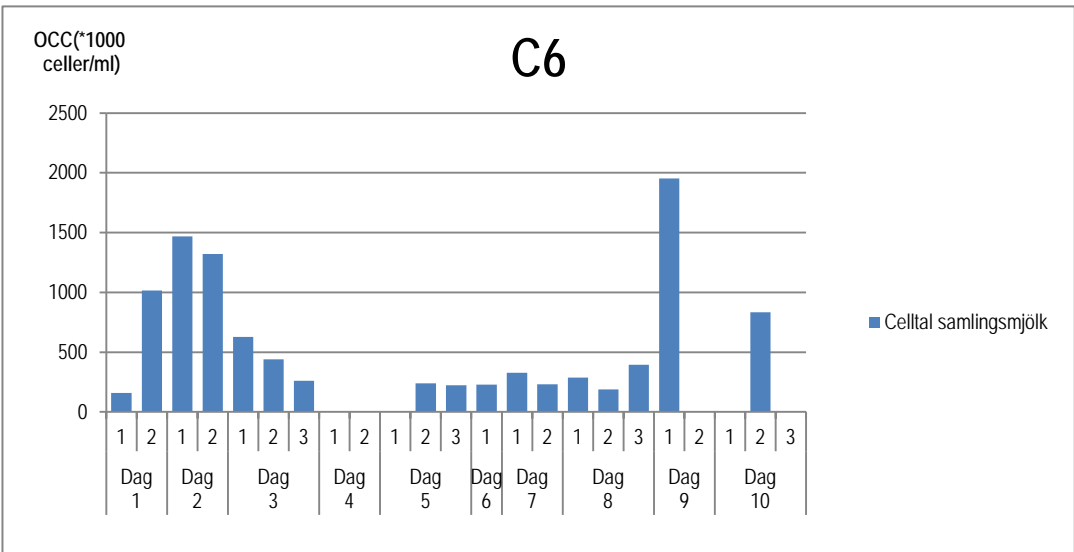
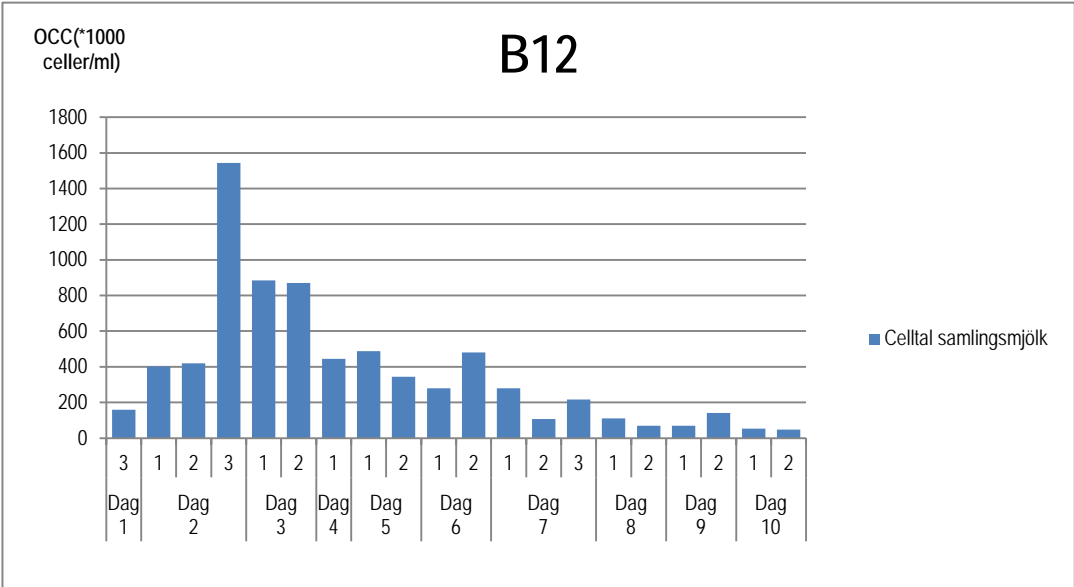
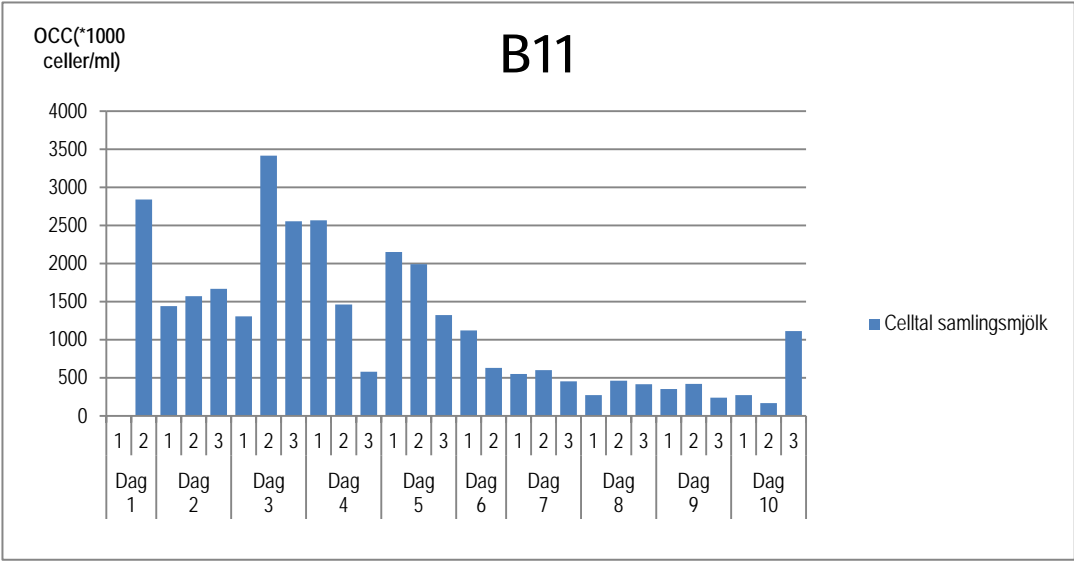
Kontrollkornas celltal på ko-nivå från tiden före ökningen till > 400 000 celler/ml (dag 1) till dag 10 efter celltalsförhöjningen. Kontrollkorna har inte exponerats för frekventa mjölkningar. Där inga celltal finns angivna har data saknats i det automatisk mjölkningssystemet databas.





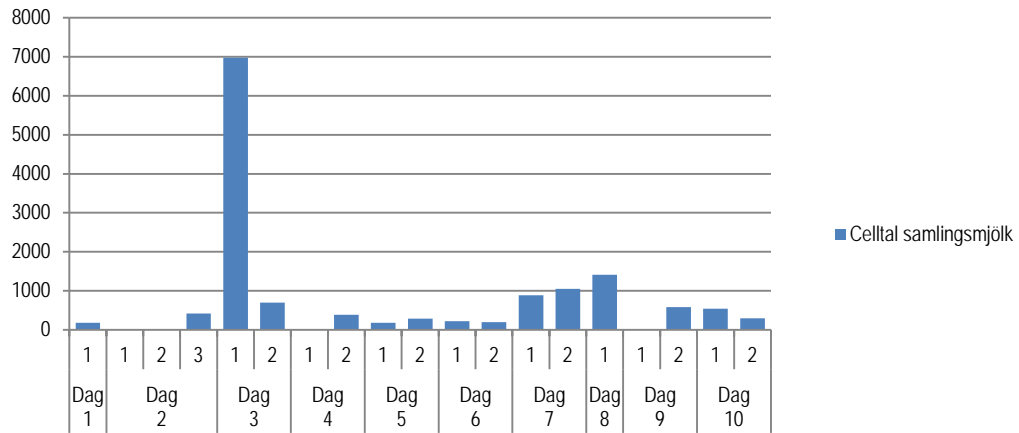






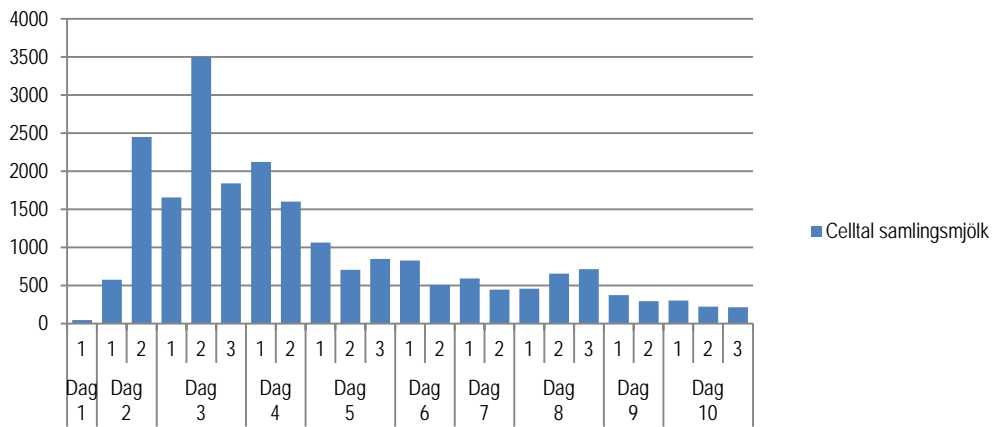
OCC(*1000
celler/ml)

C7



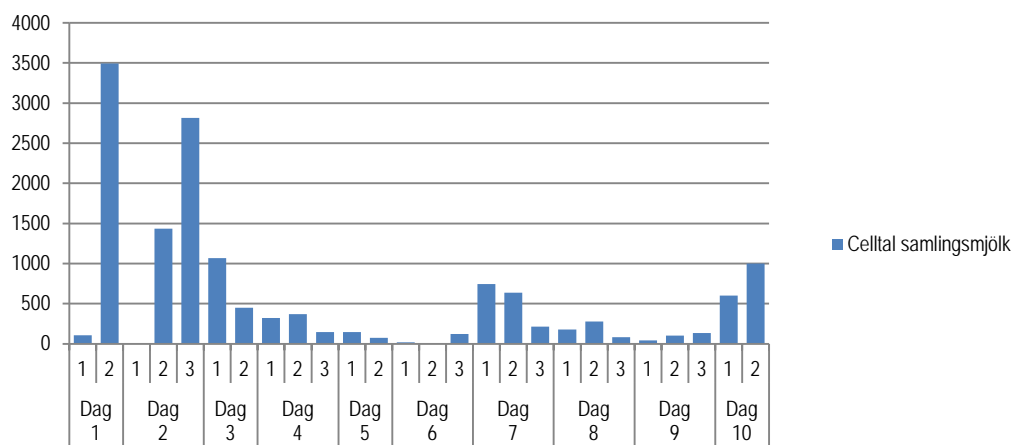
OCC(*1000
celler/ml)

C8



OCC(*1000
celler/ml)

C9



OCC(*1000
celler/ml)

C10

