



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Institutionen för kliniska vetenskaper

Juverinfektion hos tackor med kliniskt friska juver - bakterieförekomst och celltal i mjölk

Nikolina Tomic

Uppsala
2015

Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2015:69*

Juverinfektion hos tackor med kliniskt friska juver - bakterieförekomst och celltal i mjölk

Intramammary infection in ewes with clinically healthy udders – bacterial findings and somatic cell counts in milk

Nikolina Tomic

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

Biträdande handledare: Ylva Persson och Ann Nyman, Avdelningen för djurhälsa och antibiotikafrågor, SVA.

Examinator: Ulf Magnusson, Institutionen för kliniska vetenskaper, SLU.

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0736

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2015

Delnummer i serie: Examensarbete 2015:69

ISSN: 1652-8697

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Får, juverinfektion, mastit, subklinisk, celltal, CMT, DCC.

Key words: Sheep, udder infection, mastitis, subclinical, somatic cell count, CMT, DCC.

Sveriges lantbruksuniversitet

Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för Kliniska vetenskaper

SAMMANFATTNING

Subklinisk mastit (juverinflammation utan synliga symtom) är vanligt hos flera mjölkproducerande arter inklusive får. I kött- och pälsfårbesättningar kan subklinisk mastit ge lägre slaktvikt hos lammen till följd av minskad mjölkproduktion hos tackan. Risken att lammen försöker dia en annan tacka ökar om de inte blir mätta av sin mammas mjölk. Eftersom de flesta mastiter är bakteriellt orsakade kan lammens tjuvdiande vara en potentiell smittväg för juverinfektioner. För att förhindra smittspridning behövs snabba och pålitliga fältmetoder för att detektera juverinfektion.

Syftet med studien var att kartlägga förekomsten av juverinfektioner hos tackor med kliniskt friska juver i svenska kött- och pälsfårbesättningar. Ytterligare ett syfte med studien var att utvärdera förmågan hos California Mastitis Test (CMT) och DeLaval Cell Counter (DCC) att identifiera juverinfektioner hos tackor med kliniskt friska juver.

Mjölksprov togs från lakterande juverhalvor från 773 tackor i 23 kött- och pälsfårbesättningar under perioden juni 2013 till augusti 2014. Tackorna provtogs antingen i samband med avvänjning 2013, lamning 2014 eller avvänjning 2014. Två besättningar provtogs enbart en gång, två besättningar provtogs tre gånger och 19 besättningar provtogs två gånger. I studien undersöktes 2101 mjölksprov från 773 tackor avseende bakterieförekomst genom odling. CMT utfördes på 83 % av alla juverdelar där mjölksprov togs ifrån och DCC användes på 75 % av alla mjölksprov.

Juverinfektion påvisades hos 24 % av alla provtagna tackor medan 15 % av alla provtagna tackor hade blandflora i ett eller båda mjölksproverna. Av alla provtagna tackor var 61 % utan någon växt vid odling. Det vanligaste bakteriefyndet var koagulasnegativa stafylokocker (KNS) och den återfanns i 58 % av alla mjölksprover som kom från juverdelar med juverinfektion. Statistiskt signifikanta samband återfanns mellan juverinfektion och CMT respektive DCC både på juverdelsnivå och individnivå men jämförelse av juverdelar inom tacka visade dock starkast samband. Högt celltal i en juverdel och lågt celltal i den andra juverdelen innebär att tackan med stor sannolikhet bär på en juverinfektion.

Resultaten från studien visar att juverinfektioner hos får med kliniskt friska juver är vanligt förekommande i svenska kött- och pälsfårbesättningar och att mätning av mjölkens celltal med CMT eller DCC är användbart för identifiering av tackor med juverinfektion.

SUMMARY

Subclinical mastitis (inflammation in the udder without clinical signs of disease) is common among several milk producing species, including sheep. Subclinical mastitis may cause lower slaughter weight amongst lambs from wool- and meat-producing farms as ewes with subclinical mastitis produce less milk. The risk that the lambs try to suckle another ewe increases if the lambs do not get sufficient milk from their own mother. Since most cases of mastitis are caused by bacteria, lamb cross-suckling may be a potential way to spread intramammary infections (IMI). To prevent spread of bacteria quick and reliable field methods for detection of IMI are needed.

The aim of this study was to determine the prevalence of IMI in ewes with clinically healthy udders in Swedish wool- and meat-producing farms. Another aim was to evaluate the ability of the California Mastitis Test (CMT) and DeLaval Cell Counter (DCC) to identify IMI in ewes with clinically healthy udders.

Milk samples were taken from lactating udder halves from 773 ewes in 23 wool- and meat-producing farms from June 2013, to August 2014. The ewes were either sampled at weaning 2013, lambing 2014, or weaning 2014. Two farms were sampled once, 2 farms were sampled three times and 19 farms were sampled twice. A total of 2101 milk samples from 773 ewes were examined for bacteriological growth through culturing. CMT was performed in 83% of all udder halves sampled, and DCC was performed on 75% of all milk samples.

IMI were present in 24% of all ewes sampled while 15% of the ewes had contamination in one or both milk samples. The remaining 61% of the ewes had no growth of bacteria. The most common bacterial finding was coagulase-negative staphylococci (CNS), which were found in 58% of all milk samples with IMI. Statistically significant associations between IMI and CMT or DCC were found both on udder half and individual level, but the comparison of udder halves within ewe gave the best result. High cell counts in one udder half and low cell counts in the other udder half indicate that the probability that the ewe has an IMI is high.

The results of the study show that IMI in ewes with clinically healthy udders are common in Swedish wool- and meat-producing farms, and that measuring the milk somatic cell count with CMT or DCC is useful for identification of ewes with IMI.

Innehållsförteckning

Inledning	1
Litteraturöversikt	2
Mastit	2
Riskfaktorer	2
Förekomst av subklinisk mastit och juverinfektion	2
Diagnostik av subklinisk mastit och juverinfektion.....	3
Behandling av subklinisk mastit.....	4
Syfte	6
Material och metoder	7
Besättningar och får.....	7
Provtagning.....	7
Bakteriologisk undersökning.....	8
Celltalsundersökning.....	8
Statistisk bearbetning	8
Resultat	10
Bakterieförekomst på juverdelsnivå	10
<i>Skillnader mellan avvänjning och lamning</i>	14
Bakterieförekomst på individnivå	14
<i>Skillnader mellan avvänjning och lamning</i>	14
Bakterieförekomst på besättningsnivå.....	17
<i>Skillnader mellan avvänjning och lamning</i>	17
CMT på juverdelsnivå och samband med bakterieförekomst	17
<i>Skillnader mellan avvänjning och lamning</i>	19
<i>CMT som hjälpmedel för att identifiera tackor med juverinfektion</i>	19
DCC-celltal på juverdelsnivå och samband med bakterieförekomst.....	20

<i>Skillnader mellan avvänjning och lamning</i>	21
DCC-celltal på individnivå och samband med bakterieförekomst.....	21
<i>Skillnad mellan lamning och avvänjning</i>	22
DCC-Celltal på besättningsnivå och samband med bakterieförekomst	22
<i>Skillnader mellan avvänjning och lamning</i>	23
DISKUSSION.....	23
Juverinfektion i kliniskt friska juver.....	23
Skillnader mellan avvänjning och lamning.....	25
CMT som markör för att finna juverinfektioner	25
DCC som markör för att finna juverinfektion	25
Styrkor och svagheter med CMT och DCC	26
Metodologiska problem och felkällor	26
Råd till fårägare.....	28
Konklusion.....	29
Tack	30
Referenser.....	31

Inledning

Fårnäringen i Sverige växer och den främsta anledningen till att hålla får är att hålla betesmarker öppna (Jordbruksverket, 2012). De flesta fårägarna föder upp får för att sälja köttet, men fårnäringen i Sverige innefattar också päls- och ullproduktion och ett mindre antal mjölkproducerande besättningar. Besättningsstorleken ökar och ju större besättningarna blir desto mer arbete krävs för att övervaka djuren och deras hälsa. Pålitliga och snabba test som är lätta för en djurägare att använda för att identifiera viktiga sjukdomar, som till exempel mastit (juverinflammation), behövs för att underlätta hälsoarbetet i besättningarna.

I kött- och pälsproducerande besättningar (till skillnad mot i mjölkbesättningar) är lammens överlevnad och tillväxt helt beroende av tackans mjölkproduktion. Minskad mjölkproduktion och nedsatt kvalitet på mjölken, som till exempel kan vara fallet vid mastit, leder till att lammen växer sämre och får sämre motståndskraft mot sjukdomar (Fthenakis & Jones, 1990, Moroni *et al.*, 2007, Arsenault *et al.*, 2008). Risken att lammen försöker dia en annan tacka kan också öka om de inte blir mätta av sin mammas mjölk. Eftersom de flesta mastiter är bakteriellt orsakade kan lammens tjuvdiande vara en potentiell smittväg för juverinfektioner.

Mastit kan vara klinisk (med symtom) eller subklinisk (utan symtom) och båda formerna orsakas vanligen av en bakteriell infektion i juvret (Radostits *et al.*, 2007). Klinisk mastit upptäcks oftast relativt lätt men subklinisk mastit är svår att upptäcka på grund av bristen på symtom. Det är därför oklart hur vanlig denna mastitform är bland svenska kött- och pälsproducerande får. Studier gjorda utomlands visar dock att subklinisk mastit kan vara vanligt förekommande i den typen av fårbesättningar (Bergonier *et al.*, 2003).

Vid subklinisk mastit ökar cellkoncentrationen (celltalet) i mjölk. Mätning av celltalet i mjölk med California Mastitis Test (CMT) eller direkt cellräkning används därför rutinmässigt för att diagnosticera subklinisk mastit hos mjölkkor. Celltalet kan hos mjölkkor även ge en indikation på om juvret är infekterat eller inte. Ovan nämnda metoder kan även användas för att undersöka celltal i mjölk från får men sådana studier har främst gjorts på mjölkproducerande får och inte på kött- och pälsproducerande fårraser. Dessutom saknas säkra gränsvärden för diagnostik av subklinisk mastit eller juverinfektion hos får samt kunskap om vilka bakterier som förekommer i juvret hos kliniskt friska kött- och pälsproducerande får. Denna studie är en del i ett större projekt, där även en studie av riskfaktorer för juverinfektion hos kliniskt friska får samt en enkätstudie om djurägarattityder till juverhälsa hos får genomfördes (Hoffman, 2015).

Litteraturöversikt

MASTIT

Mastit är inflammation i juvervävnaden och kan delas in efter symtom eller duration. Typiska symtom vid klinisk mastit är svullnad, värme, rodnad i juvret samt förändrad mjölk (Radostits *et al.*, 2007). Andra symtom vid klinisk mastit är hälsa och feber (Mørk *et al.*, 2007). Beroende på hur länge mastiten pågått delas den in i akut eller kronisk form. Akut mastit uppkommer plötsligt medan kronisk mastit har pågått under en längre tid. En akut klinisk mastit kan bli kronisk och en subklinisk mastit kan övergå i en klinisk mastit (Watkins *et al.*, 1991). Mastit uppkommer till följd av att det lokala eller allmänna immunförsvaret blivit nedsatt på något sätt till exempel genom skador, nedsmutsning, värme, kyla eller undernäring (Anderson *et al.*, 2002). Flertalet fall av mastit orsakas av en bakterieinfektion vilken nästan uteslutande sker via spenkanalen. I juvret förökas den infektiösa patogenen och invaderar juvervävnaden. Efter att juvret infekterats utvecklas en inflammation i juvret och förekomsten av kliniska symtom beror på tackans immunförsvaret samt på patogen och infektionsdos (Radostits *et al.*, 2007).

Bakterier som orsakar juverinfektioner hos idisslare delas ofta in i juverbundna bakterier och omgivningsbakterier beroende på om den viktigaste smittkällan finns i juvret eller i djurens närmiljö. Hos får sprids juverbundna bakterier vanligen mellan tackor genom lamm som diar på andra tackor än sin mamma (Bergonier *et al.*, 2003, Vautor *et al.*, 2003, Mørk *et al.*, 2007). Dessa bakterier kan dock också spridas mellan tackor via händer om man undersöker juvren utan att vidta lämpliga hygienåtgärder. Juverinfektion med omgivningsbakterier sker oftast vid dålig hygien i närmiljön och om djurets allmänna immunförsvaret är nedsatt (Bergonier *et al.*, 2003, Radostits *et al.*, 2007).

RISKFAKTORER

Få studier har gjorts om riskfaktorer för subklinisk mastit och juverinfektion hos kött- och pälsproducerande får. En studie från Kanada visar dock att två eller flera lamm ökar risken för subklinisk mastit (Arsenault *et al.*, 2008). Att ha tre eller fler lamm var även en riskfaktor för juverinfektion hos tackor i den nyligen genomförda svenska studie som ingick i samma projekt som denna studie (Hoffman 2015). Enligt den senare studien löper även tackor som är över tre år högre risk att drabbas av juverinfektion. Utländska studier som är gjorda på köttproducerande får visar att även risken för klinisk mastit ökar med antalet lamm per tacka (Larsgard & Vaabenoe, 1993, Mørk *et al.*, 2007, Arsenault *et al.*, 2008, Waage & Vatn, 2008) och att risken att utveckla klinisk mastit skiljer mellan de norska fårraserna (Larsgard & Vaabenoe, 1993, Waage & Vatn, 2008).

FÖREKOMST AV SUBKLINISK MASTIT OCH JUVERINFEKTION

Få studier är gjorda om förekomst av subklinisk mastit eller juverinfektion hos kött- och pälsproducerande fårbesättningar. I de studier som genomförts varierar prevalensen subklinisk mastit hos kött- och pälsproducerande får mellan 5 och 30 % (Watkins *et al.*, 1991, Bergonier & Berthelot, 2003). Det är dock svårt att jämföra prevalenser för subklinisk mastit mellan studier då det inte finns en allmänt vedertagen definition av subklinisk mastit hos får. Definitionen för subklinisk mastit varierar därför mellan publicerade studier.

Förekomst av subklinisk mastit i svenska fårbesättningar har endast undersökts i en studie av fyra kött- och pälsfårbesättningar i vilken juverinfektion återfanns i 10 % av juverdelarna och 24 % av tackorna när totalt 80 tackor med kliniskt friska juver undersöktes (Börjesson, 2011). I ovan nämnda utländska studier förekom juverinfektion i 8 – 24 % av juverdelarna från kliniskt friska juver (Watson *et al.*, 1990, Blagitz *et al.*, 2014). Koagulasnegativa stafylokocker (KNS) är den vanligaste bakteriegruppen som isolerats från fårjuver oavsett produktionsform och de utgör mellan 25 och 93 % av alla positiva bakterieisolat (Bergonier & Berthelot, 2003, Börjesson, 2011, Blagitz *et al.*, 2014). Som angivits ovan var KNS det vanligaste bakteriefyndet även i den svenska studien (Börjesson, 2011). Som jämförelse kan nämnas att *Staphylococcus aureus* är det vanligaste fyndet vid klinisk mastit hos svenska kött- och pälsproducerande får (Gustafsson & Andersson, 2009) liksom hos får undersökta i utländska studier (Mørk *et al.*, 2007, Radostits *et al.*, 2007).

Förekomsten av antibiotikaresistens bland juverbakterier från får i Sverige är inte kartlagd. Börjesson (2011) såg i sin studie att 8 % av alla KNS-arter (1 av 12 isolat) producerade penicillinas. Det framgår dock inte vilken KNS-art det rörde sig om. De två *S. aureus*-isolat som Börjesson (2011) fann i sin studie var båda penicillinasnegativa. En undersökning gjord i utlandet på subkliniska mastiter av Ebrahimi *et al.* (2007) visade att 14 % av KNS-isolaten var resistent mot penicillin. De enda två isolaten av *S. aureus* som Ebrahimi *et al.* (2007) hittade var båda resistent mot penicillin.

Vid en undersökning utförd 2007 och 2008 genomförd av Svensk veterinärmedicinsk antibiotikaresistensmonitorering - patogena bakterier (Svarmpat) analyserades mjölkprov från tackor som diagnosticerats med klinisk mastit. Alla *S. aureus*-isolat var känsliga för alla antibiotika de testades mot (Gustafsson & Andersson, 2009). Förstahandsvalet vid behandling av kliniska mastiter i Sverige är penicillin (Gustafsson *et al.*, 2014).

DIAGNOSTIK AV SUBKLINISK MASTIT OCH JUVERINFEKTION

Subklinisk mastit diagnosticeras genom att mäta förekomst av någon inflammationsmarkör i mjölk. Den vanligaste markören som studeras är somatiska celler men även andra markörer som konduktivitet och olika enzymer kan användas (Radostits *et al.*, 2007).

Mjölakens celltal kan undersökas med direkta och indirekta metoder. Celltalet mäts snabbt och enkelt med automatiserade celltalsräknare som till exempel Fossomatic (Radostits *et al.*, 2007). Studier visar att sådana celltalsräknare även kan användas för att påvisa subklinisk mastit hos får (McDougall *et al.*, 2001, Bergonier *et al.*, 2003, Fragkou *et al.*, 2014). Gränsvärdena för subklinisk mastit som angivits i litteraturen varierar dock mellan 200 000 celler/ml och 1 000 000 celler/ml (Ariznabarreta *et al.*, 2002, Bergonier *et al.*, 2003, Berthelot *et al.*, 2006, Lafi 2006, Fragkou 2014). Vanligen sker denna typ av cellräkning på speciella laboratorier. Mätning av celltal med en direkt mätmetod kan dock numera även utföras på plats i besättningar men det kräver en portabel celltalsräknare som är dyr i inköp (McDougall *et al.*, 2001). Gonzalo *et al.*, (2008) jämförde den portabla celltalsräknaren DeLaval Cell Counter (DCC) med Fossomatic-instrumentet och fann att de ger samma resultat vid mätning av celltalet i får mjölk.

En annan möjlighet att undersöka mjölakens celltal är att göra ett mjölkutstryk och räkna cellerna manuellt i ett mikroskop efter färgning. Denna metod ger även en bild av vilka olika typer av celler som finns i mjölken men är väldigt tidskrävande, vilket medför att denna metod sällan används (Andersson *et al.*, 2011).

Ett indirekt grovt mått på mjölakens celltal kan fås genom CMT-undersökning som kan genomföras direkt på gården. Åsikterna om hur bra CMT är på att påvisa subklinisk mastit eller indikera juverinfektion går dock isär (Fthenakis 1994, Bergonier *et al.*, 2003, Clements *et al.*, 2003, Lafi 2006, Arsenault *et al.*, 2008). Clements *et al.* (2003) fann att CMT var av mindre nytta för att påvisa inflammation i juvret som indikation på juverinfektion när prevalensen av subklinisk mastit var låg. Fördelen med CMT är dock att det går snabbt och enkelt att utföra men en nackdel är att testet är beroende av att den som utför det har kunskap om provtagningstekniken och att tolka resultatet (McDougall *et al.*, 2001, Clements *et al.*, 2003).

Det vanligaste och bästa sättet att diagnosticera juverinfektion är odling av mjölkprover. Odling av mjölkprov tar tid och är kostsamt eftersom en sådan undersökning bör göras på laboratorium för bästa resultat.

BEHANDLING AV SUBKLINISK MASTIT

Eftersom förekomst av subklinisk mastit hos kött- och pälsproducerande får normalt inte undersöks behandlas sannolikt inte får för subklinisk mastit i Sverige. De studier som finns rörande behandling av subklinisk mastit hos får är gjorda på mjölkfår och omfattar främst behandling med antibiotika via intramammarier i samband med sinläggning (Chaffer *et al.*, 2003, Gonzalo *et al.*, 2004, Kioassis *et al.* 2013).

Det råder oenighet huruvida intramammariebehandling har någon effekt på subkliniska mastiter hos får. Kioassis *et al.*, (2013) fann att de tackor som behandlades för subklinisk mastit inför sintiden oftast hade subklinisk mastit även

vid nästkommande lamning. Andra studier visar att behandling med intramammarier vid sinläggning är en bra behandlingsstrategi mot subklinisk mastit (Chaffer *et al.*, 2003, Gonzalo *et al.*, 2004). Bergonier *et al.*, (2003) såg vid en genomgång av tidigare genomförda studier att subklinisk mastit hos får avläker spontant i 35 till 67 % av fallen.

Generella riktlinjer för sintidsbehandling av får saknas i Sverige. Det finns dessutom inga intramammarier som är godkända att använda på får i Sverige, om intramammarier används görs det enligt kaskadprincipen (Gustafsson *et al.*, 2014).

Syfte

Syftet med studien var i första hand att undersöka förekomsten av juverinfektioner hos tackor med kliniskt friska juver i svenska kött- och pälsfårbesättningar. Ett annat syfte var att utvärdera om undersökning av mjölkens celltal med hjälp av CMT och DCC kan användas för att identifiera tackor med juverinfektion.

Material och metoder

BESÄTTNINGAR OCH FÅR

Urvalskriterierna för att ingå i projektet var att besättningen skulle vara kött- och pälsproducerande och ha minst 50 tackor. Besättningarna valdes ut för att uppnå så stor geografisk spridning som möjligt samtidigt som det skulle vara möjligt för provtagarna att ta sig till besättningarna på ett rimligt sätt. Totalt tackade 23 besättningar ja till att delta i studien. Från dessa 23 besättningar togs mjölkprover under perioden juni 2013 till augusti 2014. Besättningarna var spridda från norra Skåne till Västerbotten. Totalt hade 18 besättningar vårlammande tackor och 5 besättningar hade vinterlammande tackor. En besättning hade både vår- och vinterlammande tackor och har på grund av detta behandlats som två besättningar. Mellan 17-29 tackor provtogs slumpmässigt i varje besättning. Antalet tackor som provtogs per besättning baserades på möjligheten att undersöka statistiska samband och på ekonomiska hänsyn.

PROVTAGNING

Av de 23 besättningarna provtogs 19 vid två tillfällen, en gång i samband med avvänjning 2013 och en gång vid lamning 2014. Två besättningar provtogs vid tre tillfällen, vid avvänjning 2013, vid lamning 2014 och vid avvänjning 2014. Två besättningar provtogs endast vid lamning. Mjölkproverna togs av veterinärer, veterinärstudenter och djurägare med erfarenhet av mjölkprovtagning.

Varje tacka som provtogs undersöktes först avseende juverstatus. För att ingå i studien skulle tackan ha ett kliniskt friskt juver. Tecken på klinisk mastit, såsom värme, svullnad, knölar i juvret eller mjölkförändringar gjorde att tackan inte fick ingå i studien. Juvret undersöktes först genom inspektion och palpation. Efter det provmjölkades tackan i ett kontrollkärl för att säkerställa att tackan var lakterande och att mjölken var normal samt för att skölja bort eventuella bakterier som kunde ha koloniserat spenkanalen. Därefter rengjordes spenarna och tvättades med 70-procentig alkohol. När spriten dunstat togs ett mjölkprov per juverhalva i varsitt sterilt mjölkkrör för bakteriologisk odling och celltalsräkning med DCC (Gonzalo et al., 2006). Hos de tackor där mjölk erhöles kontrollerades mjölken med CMT på varje provtagen juverdel på plats ute i besättningarna efter att mjölkprovet tagits. Proverna förvarades kylda och transporterades till SVA av provtagaren eller skickades kylda med post till SVA. Vid de uppföljande provtagningstillfällena var intentionen att tidigare provtagna tackor skulle provtas igen i den mån det var möjligt. I realiteten var detta dock svårt att genomföra. En individremiss med uppgifter om tackans identitetsnummer, lamningsnummer, antal levande födda lamm, eventuella förlossningsproblem och eventuell tidigare behandling för mastit fylldes i för varje tacka som provtogs och en enkät skickades ut till alla besättningar som deltog i projektet. Enkäten bestod av frågor om besättningen

generellt och syftade till, tillsammans med individremisserna, att få fram vilka faktorer som predisponerar för bakterieförekomst i kliniskt friska juver.

BAKTERIOLOGISK UNDERSÖKNING

Bakteriologisk odling av mjölkproverna gjordes på SVA enligt gängse, ackrediterade rutiner (SS-EN ISO/IEC 17025). Undersökningen startade samma dag proverna kom in till laboratoriet det vill säga samma dag som provtagning eller dagen efter.

Varje mjölkprov blandades noggrant. Sedan togs 10 µl mjölk med steril ögla från varje mjölkkrör och ströks ut på en agarplatta innehållande 5 % hästblod. Plattorna inkuberades vid 37°C i 24 timmar. Vid växt av fler än tre morfologiskt likadana bakteriekolonier fastställdes bakterieart med hjälp av maldi-tof (matrix-assisted laser desorption ionisation time of light) masspektrometer (Wilson & Walker, 2010). Vid växt av *S. aureus* räckte det med en bakteriekoloni för att artbestämma bakterien, även vid växt i blandflora. De plattor som inte uppvisade någon bakterieväxt vid första avläsningen inkuberades vid 37°C under ytterligare 24 timmar innan en ny avläsning gjordes. Mängden bakterier delades in i sparsam, måttlig och riklig beroende på antalet kolonier. Lindrig växt var färre än 10 bakteriekolonier, måttlig växt var mellan 10 till 50 bakteriekolonier och allt över 50 bakteriekolonier bedömdes som riklig växt. Vid växt av fler än två olika bakterieagens bedömdes provet vara kontaminerat (blandflora). Växte det en koloni med *S. aureus* i blandflora diagnosticerades bakterieväxten som *S. aureus*. Prover positiva för stafylokocker vid odling testades avseende penicillinasproduktion med klöverbladsmetoden (Bryan & Godfrey, 1991).

I den här studien ansågs en juverdel ha en juverinfektion när bakterieväxt i renkultur eller *S. aureus* i blandflora återfanns vid odling av mjölkprovet.

CELLTALSUNDERSÖKNING

För att bestämma antalet celler i mjölken från vardera juverhalva användes två metoder, CMT och DCC. Vid juverundersökningen i besättningen undersöktes mjölken med hjälp av CMT (Schalm *et al*, 1957). Resultatet graderades enligt en femgradig skala (1-5) där 1 är ingen reaktion (lågt celltal) och 5 är höggradig reaktion (høgt celltal). För att få mer detaljerad information om mjölkens celltal undersöktes mjölkproverna på SVA med hjälp av DCC (DeLaval International AB, Tumba) enligt tillverkarens instruktioner.

STATISTISK BEARBETNING

Deskriptiva sammanställningar av bakteriefynd per besättning och provtagningstidpunkt på juverdelsnivå och individnivå liksom jämförelser av

celltal (mätt med DCC eller CMT) vid olika bakteriefynd, mängd bakterier, provtagningstillfällen och provtagare genomfördes främst med hjälp av Excel.

Samband mellan beroende variabler (DCC-celltal och CMT på juverdelnivå) och förklarande variabler (bakteriologiska fynd, antal bakteriekolonier per prov, provtagningstidpunkt samt juverdel) undersöktes statistiskt med hjälp av univariabel blandad linjär eller logistisk regressionsanalys. I en blandad modell (där både fixa och slumpmässiga faktorer ingår) kan man ta hänsyn till och justera för både upprepade mätningar inom individ/juverdel och till att får inom en besättning är mer lika varandra än får i olika besättningar. Då DCC-celldata inte var normalfördelat transformerades det med hjälp av den naturliga logaritmen till \ln DCC innan statistisk analys. Före analys av samband mellan CMT och de förklarande variablerna kategoriserades CMT i två kategorier; CMT 1-2 och CMT 3-5.

Samband mellan DCC-celltal, CMT och bakteriefynd undersöktes även på individnivå med hjälp av en univariabel blandad logistisk regressionsanalys, men då med bakteriologisk positiv/negativ (tackan räknades som positiv vid ett tillfälle om hon var positiv i en eller två juverdelar) som den beroende variabeln och celltalet som den förklarande variabeln. Celltalet mätt med DCC kategoriserades i tre kategorier; lågt celltal ($< 250\ 000$ celler/ml) i båda juverdelarna, högt celltal ($\geq 250\ 000$ celler/ml) endast i en juverdel och högt celltal ($\geq 250\ 000$ celler/ml) i båda juverdelarna. Celltalsgränsen fastställdes till $250\ 000$ celler/ml då gränsen för de bakterienegativa mjölkprovernas övre kvartil och de bakteriepositiva mjölkprovernas nedre kvartil var $250\ 000$ celler/ml. Celltalet mätt med CMT delades in i tre kategorier; lågt CMT (1-2) i båda juverdelarna, högt CMT (3-5) i någon av juverdelarna samt högt CMT (3-5) i båda juverdelarna.

Alla statistiska analyser genomfördes med hjälp av statistikprogrammet Stata (Release 13.1; College Station, TX, USA: StataCorp LP).

Resultat

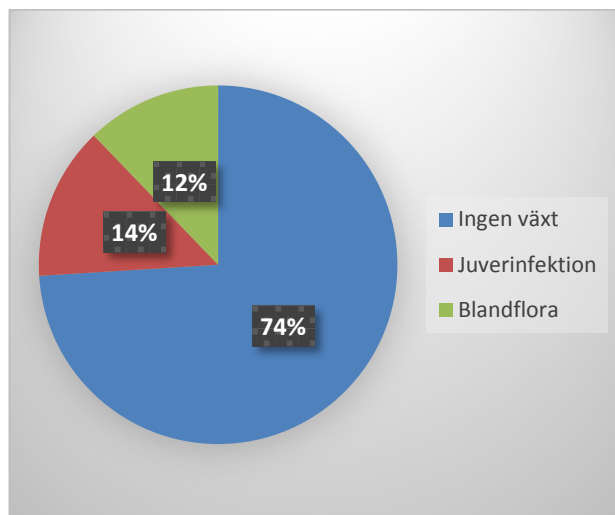
Totalt togs mjölkprov för bakteriologisk undersökning vid minst ett provtagningsstillfälle från 773 olika tackor. Av dessa tackor provtogs 269 stycken vid två tillfällen och 25 stycken vid tre tillfällen. Av de 773 tackorna provtogs 508 stycken vid avvänjning och 533 vid lamning.

BAKTERIEFÖREKOMST PÅ JUVERDELSNIVÅ

Totalt odlades 2101 mjölkprover från 1546 olika juverdelar; 958 juverdelar provtogs en gång, 538 juverdelar provtogs två gånger och 50 juverdelar provtogs tre gånger. Som ses i Figur 1 påvisades ingen bakterieväxt i nästan tre fjärdedelar av proverna medan juverinfektion och blandflora påvisades i 14 % respektive 12 % av proverna.

Bland juverdelarna med juverinfektion var fynd av KNS vanligast (58 % av alla mjölkprov från infekterade juverdelar) följt av *S. aureus* (9,3 %) och *Mannheimia haemolytica* (6,2 %). En detaljerad redovisning av odlingsresultaten ges i Tabell 1.

Av KNS-arterna var *S. simulans* vanligast (25,6 % av alla KNS) följt av *S. warneri* (9,5 %) och *S. equorum* (8,9 %). Sjuttion olika KNS-arter identifierades. Se Tabell 2 för en detaljerad redovisning av fynden.



Figur 1. Bakteriologiskt resultat för samtliga mjölkprov som ingick i studien (n=2101) och som är tagna från individuella juverdelar från 773 olika tackor från 23 besättningar.

Tabell 1. Odlingresultat för mjölkprover (n=2101) från upp till tre provtagningar av individuella juverdelar från 773 tackor i 23 besättningar

Odlingsfynd	Antal	Andel (%) av alla mjölkprover	Andel (%) av alla mjölkprover(n=290) där juverinfektion förekom
Ingen växt	1555	74	
Blandflora	258	12,3	
KNS	168	8,0	58,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	27	1,3	9,3
<i>Mannheimia haemolytica</i>	18	0,9	6,2
<i>Streptococcus uberis</i>	10	0,5	3,4
<i>Bacillus</i> species	9	0,4	3,1
<i>Pantoea</i> species	9	0,4	3,1
Streptokock övrig	8	0,4	2,8
<i>Enterococcus</i> species	7	0,3	2,4
<i>E. coli</i>	7	0,3	2,4
<i>Aerococcus viridans</i>	5	0,2	1,7
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	4	0,2	1,4
<i>Streptococcus pluranimalium</i>	3	0,1	1,0
<i>Providencia</i> species	3	0,1	1,0
<i>Streptococcus ovis</i>	2	0,1	0,7
<i>Streptococcus suis</i>	2	0,1	0,7
<i>Mannheimia</i> species	1	< 0,1	0,3
<i>Streptococcus gallolyticus</i>	1	< 0,1	0,3
Växt - ej specificerad	1	< 0,1	0,3
<i>Rothia nasimurium</i>	1	< 0,1	0,3
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pvar	1	< 0,1	0,3

poinsettiae

Gramnegativ stavbakterie	1	< 0,1	0,3
	2101	100	100

Andelen penicillinasproducerande isolat för de olika KNS-arterna presenteras i Tabell 2. Totalt producerade 12,7 % (21 av 165 isolat) av isolaten penicillinas. Bland dessa isolat återfanns 5 KNS-arter. Fyra av de 5 arterna hade enstaka isolat som producerade penicillinas medan nästan alla isolat av *S. xylosus* som testades producerade penicillinas. Inget av de 27 isolat av *S. aureus* som identifierades producerade penicillinas.

Tabell 2. *Fördelning av alla isolat av koagulasnegativa stafyloocker (KNS; n=165) som växte i renkultur vid odling av mjölkprov från individuella juverdelar från 773 tackor i 23 besättningar samt fördelat på prov tagna vid avvänjning och lamning. Dessutom anges andelen (%) penicillinasproducerande (pc+) isolat inom varje KNS-art*

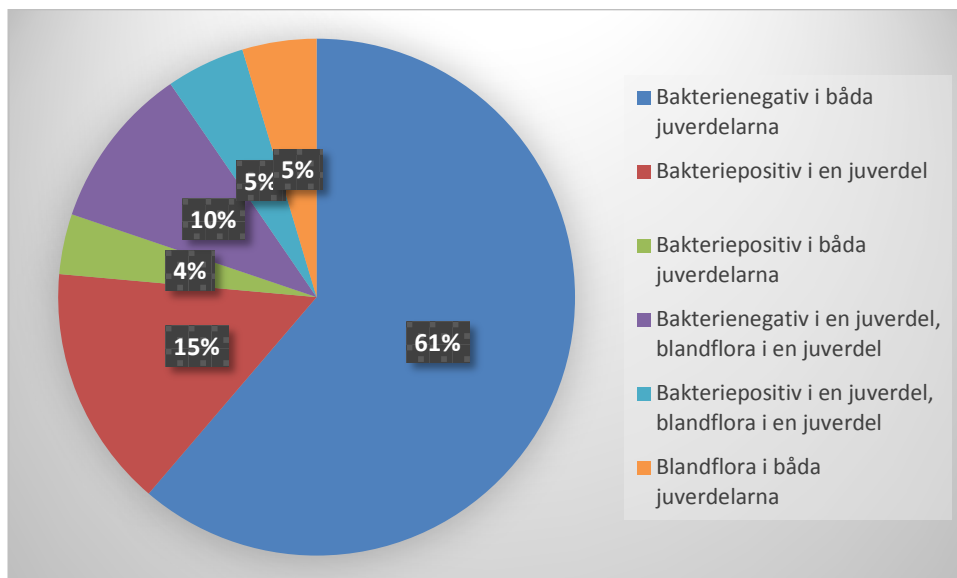
KNS	Totalt antal, (% pc+)	Antal vid avvänjning, (% pc+)	Antal vid lamning, (% pc+)
<i>S. simulans</i>	41 (0)	17 (0)	24 (0)
Stafylokokk övrig	33 (9)	21 (14)	12 (0)
<i>S. warneri</i>	16 (0)	6 (0)	10 (0)
<i>S. equorum</i>	15 (13)	5 (40)	10 (0)
<i>S. xylosus</i>	13 (92)	12 (92)	1 (100)
<i>S. haemolyticus</i>	12 (8)	7 (0)	5 (20)
<i>S. chromogenes</i>	11 (18)	7 (29)	4 (0)
<i>S. cohnii</i>	6 (0)	2 (0)	4 (0)
<i>S. auricularis</i>	5 (0)	1 (0)	4 (0)
<i>S. rostri</i>	3 (0)	2 (0)	1 (0)
<i>S. pasteurii</i>	2 (0)	1 (0)	1 (0)
<i>S. sciuri</i>	2 (0)	1 (0)	1 (0)
<i>S. lentus</i>	1 (0)	1 (0)	0 (0)
<i>S. vitulinus</i>	1 (0)	0 (0)	1 (0)
<i>S. caprae</i>	1 (0)	1 (0)	0 (0)
<i>S. hyicus</i>	1 (0)	0 (0)	1 (0)
<i>S. epidermis</i>	1 (100)	0 (0)	1 (100)
<i>S. succinus</i>	1 (0)	0 (0)	1 (0)
Totalt	165 (13)	84 (21)	81 (4)

Skillnader mellan avvänjning och lamning

Det var ingen signifikant skillnad mellan vilka agens som identifierades vid avvänjning respektive lamning ($p=0,22$). Vid avvänjningen förekom dock 9 isolat av *Bacillus* spp. medan det inte återfanns några sådana isolat vid lamning.

BAKTERIEFÖREKOMST PÅ INDIVIDNIVÅ

Juverinfektion påvisades vid minst ett tillfälle hos 24 % av alla provtagna tackor. Som Figur 2 visar var det vanligast att tackorna var bakteriologiskt negativa i båda juverdelarna vid provtagning. Bland tackor med juverinfektion återfanns sådan infektion vanligen i endast en juverdel.

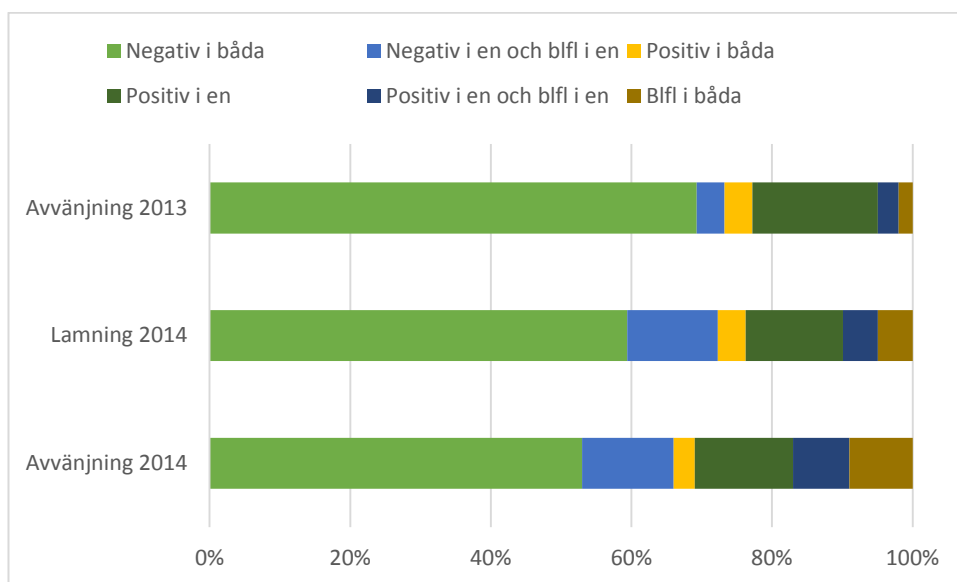


Figur 2. Fördelning av odlingsresultat från individuella juverdelprover ($n=2101$) tagna från 773 tackor i 23 besättningar vid ett till tre tillfällen per individ. Bakterienegativ = ingen växt, bakteriepositiv = juverinfektion.

Skillnader mellan avvänjning och lamning

Fördelningen av bakteriefynd för alla tackor där mjölkprov tagits från båda juverdelarna vid samma provtagning fördelat på de tre provtagningstillfällena presenteras i Figur 3. Andelen tackor som var bakterienegativa i båda juverdelarna var ungefär lika stor vid avvänjning och lamning. Andelen tackor som hade blandflora i båda juverdelarna var högst vid avvänjningen 2014. Det var ingen signifikant skillnad i andelen tackor med juverinfektion (positiva i en eller två juverdelar) eller andelen tackor utan bakterieväxt (negativ i båda juverdelarna) mellan lamning och avvänjning ($p=0,14$), men om man tar hänsyn till vilket år

provtagningen skedde var det högre sannolikhet att tackan bar på en juverinfektion om hon var provtagen i samband med lamning 2014 ($p=0,02$) eller avvänjning 2014 ($p=0,04$) jämfört med vid avvänjning 2013. Andelen tackor med eller utan juverinfektion skiljde inte mellan lamning och avvänjning under 2014 ($p=0,63$).



Figur 3. Fördelning av odlingsresultat per tacka vid undersökning av 773 tackor i 23 besättningar. Resultaten redovisas uppdelat på juverinfektion (positiv), ingen växt (negativ) och blandflora (blfl) i en eller båda juverdelarna för provtagning vid avvänjning 2013 ($n=342$), lamning 2014 ($n=533$) och avvänjning 2014 ($n=192$).

Av de 294 tackor som provtogs mer än en gång hade 92 tackor (31 %) juverinfektion vid minst ett provtagningstillfälle. Av de 25 tackor som provtogs tre gånger hade en tacka (4 %) växt av samma bakterieart vid alla tre tillfällena. Av de 269 tackor som provtogs två gånger hade 12 tackor (4 %) juverinfektion med samma bakterie vid båda tillfällena. I Tabell 3 presenteras de tackor som hade växt av samma bakterier i samma eller olika juverdelar vid mer än ett tillfälle.

Tabell 3. Tackor som provtogs avseende bakterieförekomst i juvret vid flera tillfällen och som hade växt av samma bakterie i samma eller olika juverdelar vid mer än ett av dessa tillfällen (n=14)¹

Besättning	Öronnummer		Provtagningstillfälle		Typ av besättning
		Avväjning 2013	Lamning 2013/2014	Avväjning 2014	
Juverinfektion med samma bakterieagens i samma juverdel					
C	420	<i>P. species</i>	<i>P. spp</i>	<i>P. spp</i>	Vårlammande
C	6100	<i>S. chromogenes</i>	Ej påvisad	<i>S. chromogenes</i>	Vårlammande
B	9188	<i>S. simulans</i>	<i>S. simulans</i>	Ej provtagen	Vårlammande
M	10061	Ej provtagen	<i>S. simulans</i>	<i>S. simulans</i>	Vinterlammande
M	10087	Ej provtagen	<i>M. haemolytica</i>	<i>M. haemolytica</i>	Vinterlammande
M	9062	Ej provtagen	<i>S. simulans</i>	<i>S. simulans</i>	Vinterlammande
M	10189	Ej provtagen	<i>S. simulans</i>	<i>S. simulans</i>	Vinterlammande
M	6126	Ej provtagen	<i>S. simulans</i>	<i>S. simulans</i>	Vinterlammande

O	9073	Ej provtagen	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	Vinterlammande
O	11070	Ej provtagen	<i>S. simulans</i>	<i>S. simulans</i>	Vinterlammande
S	9233	Ej provtagen	<i>S. simulans</i>	<i>S. simulans</i>	Vårlammande
S	42	Ej provtagen	<i>M. haemolytica</i>	<i>M. haemolytica</i>	Vårlammande

Juverinfektion med samma bakterieagens i olika juverdelar

F	11045	<i>S. chromogenes</i> (vänster juverdel)	<i>S. chromogenes</i> (höger juverdel) och <i>S. simulans</i> (vänster juverdel)	Vårlammande	
M	7102	Ej provtagen	<i>S. warneri</i>	<i>S. warneri</i>	Vinterlammande

¹ P = *Providencia*, S = *Staphylococcus*, M = *Mannheimia*.

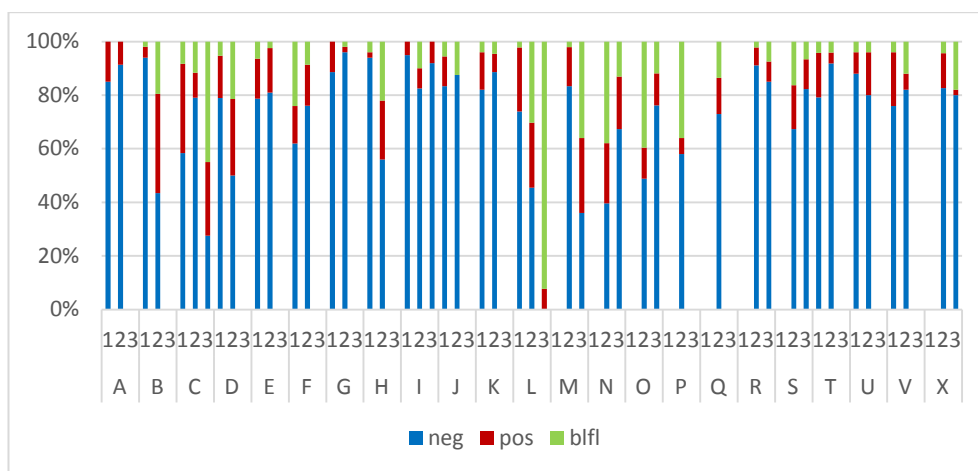
BAKTERIEFÖREKOMST PÅ BESÄTTNINGSNIVÅ

Fördelningen av andelen mjölkprov med olika bakteriefynd i besättningarna som ingick i studien presenteras i Figur 4. Andelen juverinfektioner per besättning varierade mellan 4 och 24 %. Den totala prevalensen i alla besättningar sammantaget var 14 %. I cirka hälften av besättningarna var prevalensen bakterienegativa mjölkprov över 70 %. Andelen prov med blandflora per provtagningsstillfälle varierade mellan 0 och 45 %. Totalt ingick 16 olika provtagare i projektet, utav dessa hade 5 provtagare mer än 20 % blandflora som resultat vid mjölkprovtagning.

Två besättningar hade flera fynd av samma bakterie bland tackorna med juverinfektioner. I besättning H växte *S. equorum* i 7 av 13 (54 %) juverdelar med juverinfektion. I besättning M återfanns *S. simulans* i 10 av 24 (42 %) juverdelar med juverinfektion.

Skilnader mellan avvänjning och lamning

I de flesta besättningarna var prevalensen juverinfektion ungefär likadan oavsett provtagningsstidpunkt, se Figur 4 för odlingsresultat fördelat på provtagningsstillfälle och besättning.



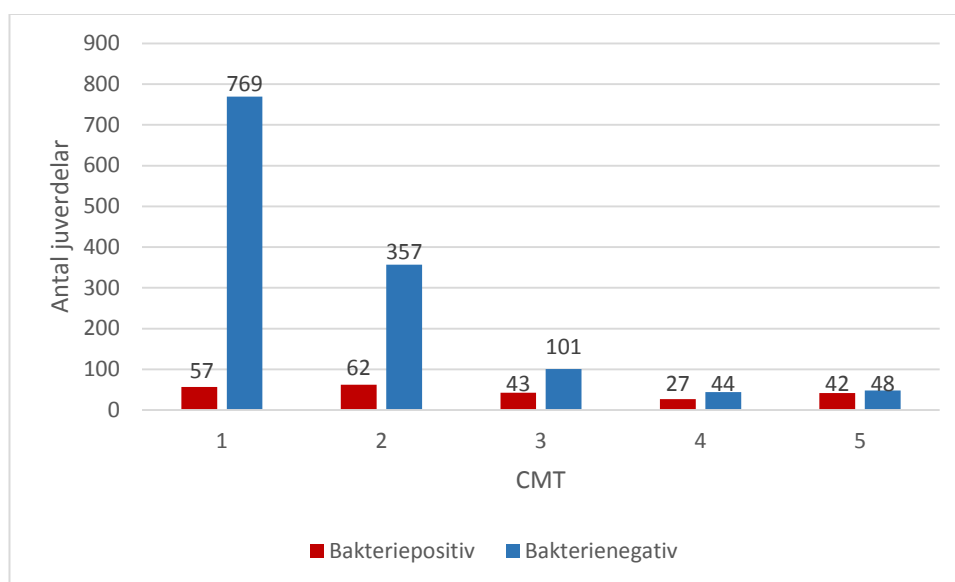
Figur 4. Fördelning av bakterienegativa (neg) juverdelar och juverdelar med juverinfektion (pos) eller växt av blandflora (blfl) i besättning A-X vid avvänjning 2013 (1), lamning 2014 (2) och avvänjning 2014 (3). Mjölkprov togs från individuella juverdelar från 773 tackor.

CMT PÅ JUVERDELSNIVÅ OCH SAMBAND MED BAKTERIEFÖREKOMST

Medianvärdet för CMT avseende alla juverdelar som provtagits med CMT var 1; se Figur 5 för detaljerad information. Tre fjärdedelar av alla undersökta juverdelar

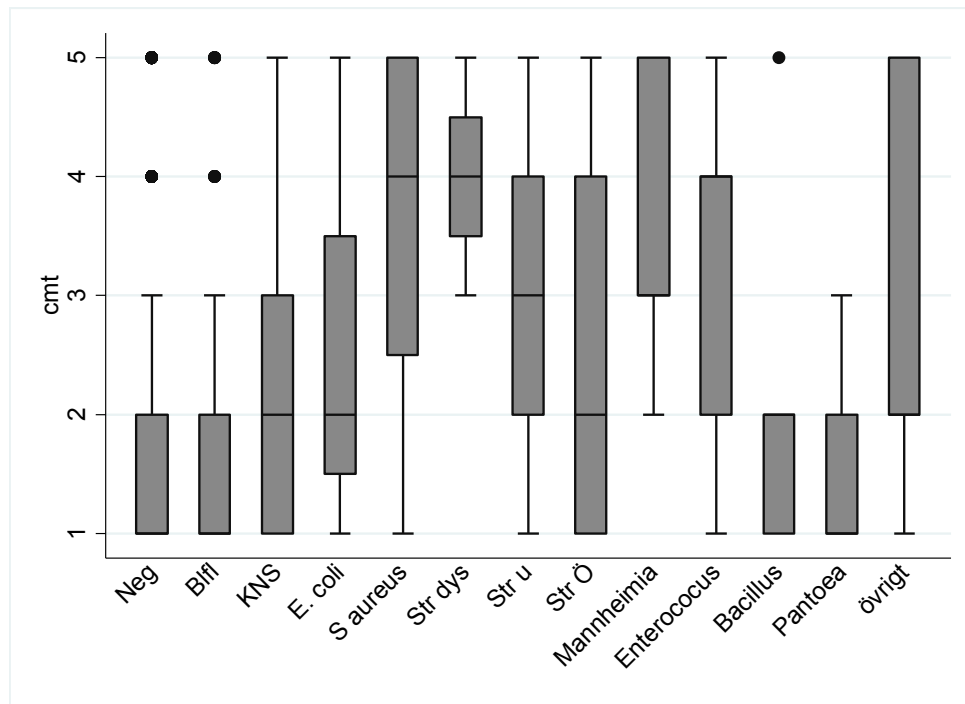
som hade CMT 4 eller 5 hade en juverinfektion. Av de juverdelar som hade CMT 1 eller 2 var 80 % bakterienegativa.

Det förelåg en signifikant högre sannolikhet att CMT klassades som 3 – 5 om det fanns en juverinfektion i den provtagna juverdelen jämfört med ingen bakterieväxt ($p=0,001$). Den statistiska analysen visade inte på någon signifikant skillnad i CMT mellan bakterienegativa juverdelar och juverdelar som hade växt av blandflora, *Bacillus* species, *Escherichia coli*, *Enterococcus* species, *Pantoea* species eller övrig växt ($p=0,075-0,96$). Vid växt av KNS ($p=0,001$), *Staphylococcus aureus* ($p=0,001$), *Mannheimia haemolytica* ($p=0,001$), *Streptococcus uberis* ($p=0,001$) eller övrig streptokock ($p=0,001$) var dock sannolikheten högre att en juverdel med juverinfektion hade CMT mellan 3 och 5 än om en juverdel var bakterienegativ.



Figur 5. Antal juverdelar med juverinfektion (bakteriepositiv) och juverdelar utan växt (bakterienegativ) inom vardera CMT-klass (1-5) vid undersökning av mjölkprover från alla juverdelar ($n=1748$) från 773 tackor.

Majoriteten av de bakterienegativa mjölkproven och de mjölkprov där det växte blandflora hade CMT 1-2. I både juverdelar med *S. aureus* och *Streptococcus dysgalactiae* var medianvärdet för CMT 4 men spridningen i CMT-värden var ganska stor bland juverdelar med växt av *S. aureus*. Samband mellan förekomst av *S. dysgalactiae* och högt CMT kunde inte undersökas eftersom antalet observationer var för litet. Se Figur 6 för detaljerad information om CMT fördelat på odlingsresultat. KNS-arterna hade för få observationer per isolat för att kunna jämföras.



Figur 6. Boxplot (medianvärde, undre och övre kvartilen samt minimum och maximum) av CMT för 1748 mjölkprov som odlats för att påvisa bakterieförekomst och undersökts med CMT. Neg = negativ bakterieväxt, Bfl = blandflora, KNS = koagulasnegativa stafylokocker, E. coli = *Escherichia coli*, S aureus = *Staphylococcus aureus*, Str dys = *Streptococcus dysgalactiae*, Str u = *Streptococcus uberis*, Str Ö = Streptokock övrig, Mannheimia = *Mannheimia* spp., Enterococcus = *Enterococcus* spp., Bacillus = *Bacillus* spp., Pantoea = *Pantoea* spp., Övrigt = övrig påvisad bakterieväxt i renkultur.

Skillnader mellan avvänjning och lamning

Medianvärdet för CMT vid lamning var 1 och medianvärdet för CMT vid avvänjning var 2. Det var signifikant vanligare med juverdelar med CMT 3-5 än CMT 1-2 vid avvänjning än vid lamning ($p=0,001$)

CMT som hjälpmedel för att identifiera tackor med juverinfektion

Skillnader i CMT mellan juverdelar inom tacka beräknades. När det förelåg en skillnad i CMT mellan juverdelarna hade 62 % av tackorna juverinfektion i minst en juverhalva, oavsett antal CMT-steg som skiljde mellan juverhalvorna. Vid två stegs skillnad i CMT mellan juverdelarna hos en tacka bar 41 % av tackorna på en juverinfektion. Nästan 18 % av tackorna som inte hade någon skillnad i CMT mellan sina juverdelar bar på en juverinfektion. Det var nästan 3 gånger högre risk

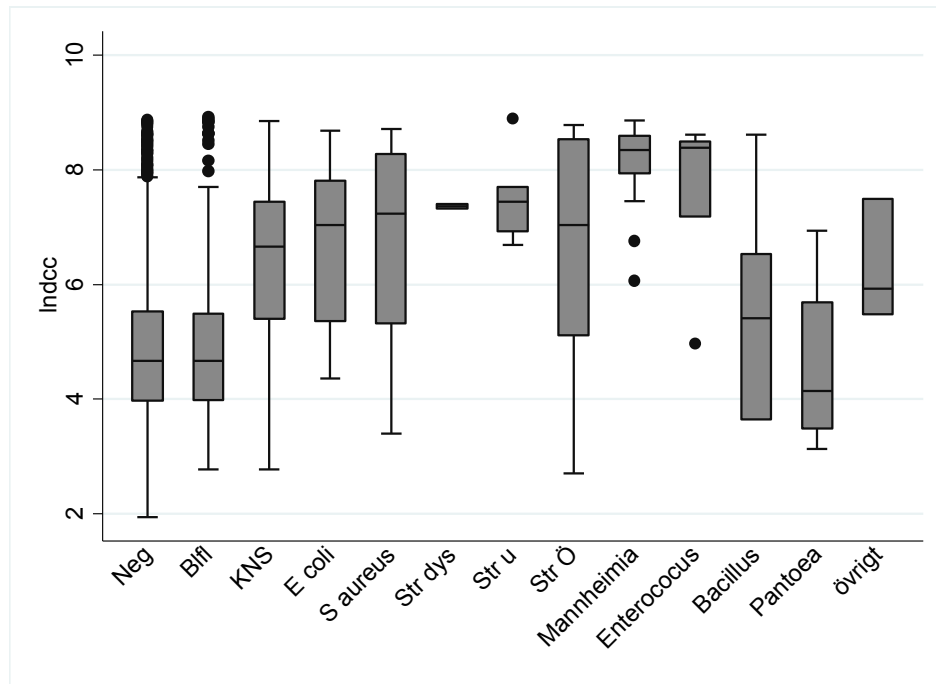
($p < 0,001$) att en tacka med CMT 3-5 i båda juverdelarna hade en juverinfektion och drygt 7 gånger högre risk ($p < 0,001$) att en tacka med CMT 3-5 i ena juverhalvan och 1-2 i andra hade en juverinfektion jämfört med tackor som hade CMT 1-2 i båda juverdelarna. Det var även 3 gånger högre risk för tackor med CMT 3-5 i ena juverhalvan och 1-2 i andra juverhalvan att ha en juverinfektion jämfört med tackor som hade CMT 3-5 i båda juverdelarna ($p = 0,001$).

DCC-CELLTAL PÅ JUVERDELSNIVÅ OCH SAMBAND MED BAKTERIEFÖREKOMST

Celltalsmätning med DCC utfördes på 1583 av 2101 mjölkprov (75 %). Medianen för DCC-celltal för alla mjölkprov var 123 000 celler/ml. För bakterienegativa juverdelar var medianvärdet 107 000 celler/ml och för juverdelar med juverinfektion var medianvärdet 974 000 celler/ml. Mjölkprov med blandflora hade ett medianvärde på 105 000 celler/ml.

Celltalet var signifikant högre i juverdelar med juverinfektion jämfört med bakterienegativa juverdelar ($p = 0,001$). Mjölkprov med blandflora hade ett signifikant högre celltal än bakterienegativa mjölkprov ($p = 0,037$). Figur 7 visar medianvärdet och spridningen i DCC-celltal i juverdelar med olika bakteriefynd.

Celltalet var signifikant högre i mjölkprov med måttlig och riklig bakterieväxt jämfört med i mjölkprov med sparsam bakterieväxt ($p = 0,0001$). Celltalet var även signifikant högre i mjölkprov med riklig bakterieväxt jämfört med mjölkprov med måttlig bakterieväxt ($p = 0,0001$).



Figur 7. Boxplot (medianvärde, undre och övre kvartilen samt minimum och maximum) av celltal i mjölk mätt med DCC för juverdelar ($n=1583$) med olika bakteriefynd ($n=773$ tackor). Neg = negativ bakterieväxt, Blfl = blandflora, KNS = koaulasnegativa stafylokocker, E. coli = *Escherichia coli*, S aureus = *Staphylococcus aureus*, Str dys = *Streptococcus dysgalactiae*, Str u = *Streptococcus uberis*, Str Ö = Streptokock övrig, Mannheimia = *Mannheimia* spp., Enterococcus = *Enterococcus* spp., Bacillus = *Bacillus* spp., Panthoea = *Panthoea* spp., Övrigt = övrig påvisad bakterieväxt i renkultur.

Skillnader mellan avvänjning och lamning

Vid avvänjning var DCC-celldatalet signifikant högre ($p<0,001$) än vid lamning. Medianvärdet var 140 000 celler/ml vid avvänjning och 109 000 celler/ml vid lamning för alla undersökta mjölkprov.

DCC-CELLTAL PÅ INDIVIDNIVÅ OCH SAMBAND MED BAKTERIEFÖREKOMST

Andelen tackor som hade lågt celltal ($< 250\,000$ celler/ml) i båda juverdelarna och hade en juverinfektion i minst en juverdel var 7 %. Andelen tackor som hade högt celltal i en juverdel och lågt celltal i en juverdel och hade en juverinfektion i minst en juverdel var 23 %. Andelen tackor som hade högt celltal i båda juverdelarna och hade en juverinfektion i minst en juverdel var 28 %. Det var 2,5 gånger högre risk att en tacka hade en juverinfektion om hon hade ett celltal över 250 000 celler/ml i båda juverdelarna ($p<0,001$) och nästan 4 gånger högre risk om hon hade ett celltal över 250 000 celler/ml i en juverdel och under 250 000 celler/ml i den andra

juverdelen ($p < 0,001$) jämfört med tackor med ett celltal under 250 000 celler/ml i båda juverdelarna.

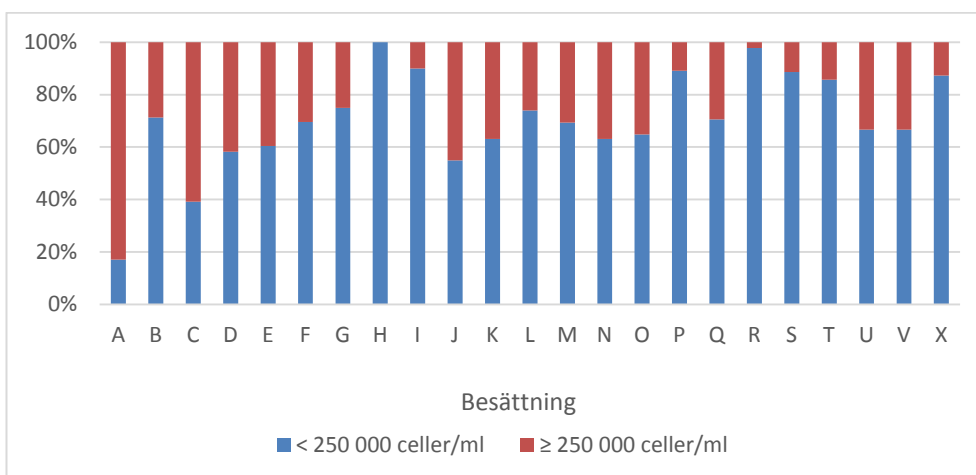
Skillnad mellan lamning och avvänjning

Vid avvänjning var det signifikant vanligare att celltalet var högt i båda juverdelarna jämfört med vid lamning då det var vanligare att ha lågt celltal i båda juverdelarna ($p < 0,001$) eller att ha högt celltal endast i en juverdel ($p < 0,001$).

DCC-CELLTAL PÅ BESÄTTNINGSNIVÅ OCH SAMBAND MED BAKTERIEFÖREKOMST

Andelen mjölkprov med celltal under 250 000 celler/ml varierade mellan 21 och 100 % i besättningarna, Figur 8 visar andelen mjölkprov som låg över respektive under 250 000 celler/ml i varje besättning. I nästan en fjärdedel av besättningarna hade mer än 80 % av mjölkproverna ett celltal under 250 000 celler/ml.

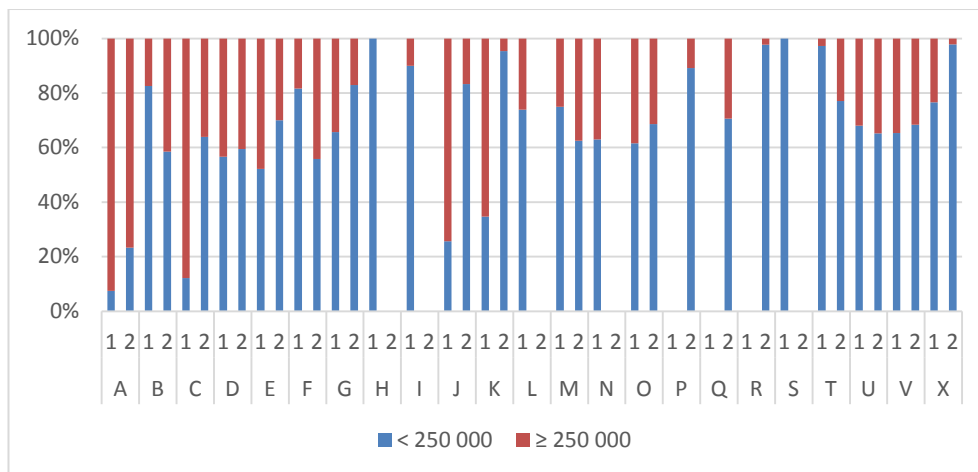
Fyra av besättningarna hade ungefär lika stor andel tackor med juverinfektion som andel tackor med högt celltal. En besättning hade högre andel tackor med juverinfektion än andel tackor med högt celltal. Övriga besättningar hade upp till tio gånger fler tackor med högt celltal än med juverinfektion.



Figur 8. Andelen mjölkprov ($n=1583$) fördelat på högt ($\geq 250\,000$ celler/ml) respektive lågt ($< 250\,000$ celler/ml) celltal i de fårbesättningar som ingick i studien.

Skillnader mellan avvänjning och lamning

I studien genomfördes juverundersökningar både vid avvänjning och vid lamning i 15 besättningar. I 9 av besättningarna som provtogs upprepade gånger var celltalet högre vid avvänjning än vid lamning. Se Figur 9 för jämförelse av andelen mjölkprov i varje besättning som hade högt respektive lågt celltal.



Figur 9. Fördelningen av andelen mjölkprov (n=1583) fördelat på högt celltal ($\geq 250\,000$ celler/ml) respektive lågt celltal ($< 250\,000$ celler/ml) vid avvänjning (1) och lamning (2) för de fårbesättningar som ingick i studien.

DISKUSSION

JUVERINFEKTION I KLINISKT FRISKA JUVER

Prevalensen juverinfektion på individnivå uppgick i denna studie till 24 % vilket överensstämmer med en tidigare genomförd kanadensisk studie på kötrastackor som hölls under liknande förutsättningar som svenska får. I den kanadensiska studien hade 28,8 % av tackorna juverinfektion (Arsenault *et al.*, 2008). Våra resultat stämmer även överens med den studie som Börjesson (2011) genomförde på 4 svenska besättningar. Watkins *et al.* (1991) angav att 20,4 % av tackorna hade juverinfektion i en studie gjord bland köttproducerande tackor i England. I samma studie hade 13,2 % av juverdelarna en infektion vilket är jämförbart med denna studie. Blagitz *et al.* (2014) har samma prevalens bakterienegativa juverdelar som i vår studie, det framgår dock inte om resterande 25 % bär på en juverinfektion eller har förekomst av blandflora. Data från studier på mjölkproducerande får tyder på

att prevalensen juverinfektioner hos tackor varierar kraftigt mellan studier (Lafi *et al.*, 1998, Heras *et al.*, 1999, Bergonier & Berthelot, 2003).

Den vanligaste bakteriegruppen som isolerades i vår studie var KNS (58 % av alla positiva mjölkprov). Det resultatet stämmer med studier gjorda på köttfår i andra länder (Bergonier & Berthelot, 2003, Blagitz *et al.*, 2014). I vår studie förekom 17 olika KNS-arter och det var *S. simulans* och *S. equorum* som var vanligast. Att *S. simulans* var vanligt förekommande överensstämmer med flera studier gjorda på mjölkfår (Las Heras *et al.*, 1999, Leitner *et al.*, 2004) däremot finns ingen studie som nämner *S. equorum* som vanlig orsak till juverinfektion hos får.

Andelen tackor med juverinfektion varierade mellan besättningarna i studien. I de flesta besättningarna återfanns endast några isolat av vardera bakteriearten men i två besättningar återfanns samma bakterieart, *S. equorum* respektive *S. simulans*, i en stor andel av juverinfektionerna. Dessa fynd kan tyda på en smittsam spridning av bakterieagens i dessa besättningar. Genotypning av bakterieisolaten behövs dock för att konfirmera detta. I besättningen där *S. simulans* var vanligt förekommande isolerades *S. simulans* i samma juverdel vid både lamning och avvänjning hos vissa tackor vilket tyder på persistent juverinfektion. Då nämnda besättning var en vinterlammande besättning provtogs den först vid lamning och sedan vid avvänjning. Enligt Thorberg *et al.* (2009) är det vanligt att *S. simulans* ger upphov till persisterande juverinfektioner hos mjölkkor. I besättningen där *S. equorum* var vanlig provtogs nästan alla tackor både vid avvänjning och påföljande lamning och fynd av *S. equorum* var mindre vanligt vid lamning än vid avvänjning. Resultaten tyder på att *S. equorum* läker av spontant under sintiden.

Flertalet KNS-isolat och alla *S. aureus*-isolat var känsliga för penicillin vilket är glädjande. I andra delar av världen är detta ofta inte fallet för *S. aureus* (Hawari *et al.*, 2014). Det var främst *S. xylosus* som uppvisade en utbredd penicillinresistens i vår studie, 92 % av isolaten var resistenta mot penicillin. KNS har setts som en relativt harmlös grupp av bakterier, då de inte ansetts orsaka några allvarliga skador i juvret och inte ge upphov till stora öknings i celltal (Watkins *et al.*, 1991). Det finns dock studier som visar att KNS ger upphov till förhöjt celltal hos mjölkfår (Winter & Colditz, 2002, Saratsis *et al.*, 2009) och kan leda till kliniska mastiter (Mørk *et al.*, 2007). Även om inte *S. xylosus* är patogen kan den fungera som en potentiell bärare av resistensgenen som i sin tur kan överföras till mer patogena bakterier (Radostits *et al.*, 2007). Om *S. xylosus* skulle ge upphov till en klinisk mastit kan den komma att bli svårbehandlad med tanke på den utbredda resistensen som ses i vår studie. I en svensk studie av KNS-isolat från kor med subklinisk mastit (Persson-Waller *et al.*, 2011) var nästan 43 % av *S. xylosus*-isolaten resistenta mot penicillin. I samma studie var 33 % av *S. haemolyticus*-isolaten från fall av subkliniska mastiter hos mjölkkor resistenta mot penicillin. Som jämförelse var 8 % av *S. haemolyticus*-isolaten i vår studie resistenta mot penicillin.

SKILLNADER MELLAN AVVÄNJNING OCH LAMNING

Prevalensen av juverinfektioner var densamma oavsett provtagningstidpunkt men celltalet mätt med både CMT och DCC var signifikant högre vid avvänjning än vid lamning, vilket överensstämmer med en studie gjord av Sevi *et al.* (2004). Det högre celltalet vid avvänjning kan bero på att sinlägningsprocessen startat i juvret då lammen diar mindre och mindre allteftersom de äter mer gräs alternativt grovfoder. Då juvret sinläggs minskar mjölmängden och även om celltalet är konstant blir koncentrationen av celler högre eftersom mängden celler fördelas i mindre mängd mjölk i juvret (Radostits *et al.*, 2007).

CMT SOM MARKÖR FÖR ATT FINNA JUVERINFEKTIONER

Resultaten från studien visar att det fanns en signifikant högre sannolikhet att CMT klassades som 3 – 5 i mjölkprov från juverdelar med juverinfektion jämfört med i mjölkprov med negativ bakterieväxt. Av de juverdelar som hade CMT < 3 hade endast 10 % juverinfektion medan motsvarande siffra för juverdelar med CMT ≥ 3 var 37 %. Studier utförda på mjölk- respektive kött- och pälsproducerande får utomlands och i Sverige har visat att CMT är användbart till att identifiera juverinfektion hos tacka (Fthenakis, 1995, Arsenault *et al.*, 2008, Börjesson, 2011). Resultaten från den här studien visar dock att CMT på juverdelsnivå främst är användbart för att identifiera friska juverdelar.

Resultaten visar också att skillnaden i CMT mellan juverdelar inom tacka kan användas för att identifiera tackor med juverinfektion. Det var avsevärt högre risk att en tacka med CMT < 3 i ena juverhalvan och ≥ 3 i den andra juverhalvan hade en juverinfektion jämfört med en tacka med lågt celltal (CMT < 3) i båda juverdelarna eller en tacka med högt celltal (CMT ≥ 3) i båda juverdelarna. Av de tackor som hade CMT < 3 i en juverdel och CMT ≥ 3 i den andra juverdelen hade 65 % juverinfektion i en eller båda juverdelarna medan juverinfektion endast återfanns i 23 % av de tackor som hade CMT < 3 i båda juverdelarna. Bland tackor som hade CMT ≥ 3 i båda juverdelarna hade 39 % juverinfektion.

När samband mellan CMT och förekomst av specifika bakterieagens undersöktes hade en större andel juverdelar med växt av KNS, *Staphylococcus aureus*, *Mannheimia haemolytica*, *Streptococcus uberis* eller övrig streptokock CMT 3-5 jämfört med bakterienegativa juverdelar vilket tyder på att dessa agens resulterar i en kraftigare inflammationsreaktion i juvret än övriga agens. I analysen samlades alla 17 KNS-arter i en grupp eftersom antalet observationer per art var för litet. Det är dock troligt att det finns skillnader i inflammationsreaktion mellan olika KNS-arter och studier har visat att KNS förekommer i juverdelar med både lågt och högt CMT (Gonzalo *et al.*, 2002, Arsenault *et al.*, 2008). För att studera skillnader i CMT mellan KNS-arter krävs dock ett större material.

DCC SOM MARKÖR FÖR ATT FINNA JUVERINFEKTION

Resultatet från vår studie visar att det även finns ett signifikant samband mellan juverinfektion och ett högt DCC-celltal ($\geq 250\,000$ celler/ml). Enligt resultaten kan 75 % av alla juverinfektioner identifieras om celltalsgränsen sätts till 250 000 celler/ml. Även Börjesson (2011) fann ett samband mellan celltal mätt med DCC och juverinfektion i en studie gjord på fyra gårdar. Börjesson kom dock fram till ett gränsvärde på 500 000 celler/ml. Likaså visade Hariharan *et al.* (2004), i en studie gjord på 50 köttrastackor på en gård i Skottland, att tackor med juverinfektion har högre celltal än tackor med bakteriologiskt negativa juver. Studier utförda på mjölkfår har även de visat att mjölkprov från infekterade juverdelar har ett högre celltal än mjölkprov från bakterienegativa juverdelar (González-Rodríguez *et al.*, 1995, Gonzalo *et al.*, 2002, Clements *et al.*, 2003).

Vår studie visade även att tackor med högt celltal ($\geq 250\,000$ celler/ml) i en juverdel och lågt celltal ($< 250\,000$ celler/ml) i den andra juverdelen hade en högre risk att bära på en juverinfektion än tackor med lågt celltal i båda juverdelarna.

STYRKOR OCH SVAGHETER MED CMT OCH DCC

I besättningar där prevalensen juverinfektion är låg är ett celltalstest som går att utföra på plats i besättningen och som med stor sannolikhet kan identifiera friska individer användbart. Odling av mjölkprov kan sedan användas för verifiering av juverinfektion hos tackor som identifierats som eventuellt positiva med hjälp av undersökning av celltalet. I en besättning där prevalensen juverinfektioner är låg är det viktigt att snabbt kunna identifiera de tackor som bär på en juverinfektion för att kunna förhindra att andra individer smittas. I en besättning med hög prevalens av juverinfektioner är det viktigt att hitta de som är friska för att förhindra att de smittas av tackor som redan bär på en juverinfektion.

Enligt resultaten i den här studien var ett lågt CMT eller DCC-celltal en god indikator på att en juverdel inte hade någon juverinfektion. Det bästa sättet att identifiera tackor med juverinfektion var dock att jämföra celltalet i tackans två juverdelar. Om en tacka hade högt celltal i en juverdel och lågt celltal i den andra juverdelen var sannolikheten stor att hon bar på en juverinfektion.

METODOLOGISKA PROBLEM OCH FELKÄLLOR

I denna studie har många personer varit inblandade i provtagningen. Eftersom CMT till viss del är ett subjektivt mått innebär detta en risk att bedömningen inte varit likadan för alla provtagare vilket kan ha påverkat resultatet.

Från svaren på den individremiss som skickats med varje mjölkprov har det framkommit att en del tackor haft knölar i juvret vilket lett till uteslutning av tackan från studien. Detektion av knölar i juvret kan vara svårt varför det är möjligt att sådana förändringar inte har upptäckts hos alla tackor och att de tackorna felaktigt ingick i studien.

Att ta prov för bakteriologisk undersökning från tackor är svårt och kontamineringsrisken är hög både för vana och ovana provtagare. I 12 % av alla mjölkproverna förekom blandflora vilket kan ha inneburit att det finns en risk att en existerande juverinfektion kan ha missats. Andelen prover med blandflora varierade mellan 4 och 36 % bland provtagarna.

Ambitionen var att mjölkprov skulle tas från samma tacka vid både avvänjning och lamning för att kunna se om en eventuell juverinfektion fanns kvar över tid. I realiteten var det dock svårt att provta samma tacka vid båda tillfällena då det blev väldigt mycket arbete för djurägaren att plocka ut de berörda tackorna.

Råd till fårägare

Utifrån denna studies resultat och tidigare vetenskaplig forskning följer här några råd till fårägare i Sverige om hur juverhälsan lättast kontrolleras i besättningar.

- Juverhälsostatus hos alla tackor i en besättning bör kontrolleras vid lamning och avvänjning.
- Vid genomgång av tackornas juver ska plasthandskar användas och bytas mellan varje tacka för att inte sprida smittor mellan tackorna.
- Tackor som misstänks ha en juverinfektion ska tillsammans med sina lamm isoleras i väntan på bakteriologisk provtagning och diagnos. Provtagning ska ske så snart som möjligt vid misstanke om juverinfektion.
- Provtagning för bakteriologisk undersökning är svår att genomföra utan att mjölkprovet kontamineras. Ta gärna hjälp av en provtagare med erfarenhet av mjölkprovtagning från får när provtagning är aktuellt.
- Tackor med knölar eller andra juverförändringar som tyder på mastit bör slaktas ut efter avvänjning.
- I besättningar med problem med mastiter bör en besättningsveterinär gå igenom tackornas juver i samband med lamning och avvänjning. Använd CMT för att identifiera tackor med juverinfektion. Mjölkprov bör tas från tackor som har högt CMT i en juverdel och lågt CMT i den andra juverdelen. Mjölkprov bör också tas från tackor med högt CMT i båda juverdelarna.
- Tackor med akuta kliniska mastiter ska behandlas enligt rådande rekommendationer och antibiotikaval ska grundas på bakteriologisk odling.
- I besättningar med mastitproblem bör tackor med juverinfektioner utan kliniska symtom grupperas i en egen grupp för att minska risken för smittspridning.

Konklusion

Studien visade att 24 % av undersökta tackor utan kliniska symtom hade juverinfektion och att KNS var vanligaste bakteriefyndet. Sjutton olika KNS-arter identifierades varav *S. simulans* var vanligast. Resultaten tyder även på att juverinfektioner med *S. simulans* kan ha ett smittsamt förlopp.

Vår studie visar att CMT och DCC bäst används genom att resultatet från en tackas båda juverdelar jämförs med varandra. Ett högt CMT eller DCC i en juverdel och lågt CMT eller DCC i den andra juverdelen tyder på att tackan med stor sannolikhet bär på en juverinfektion.

Resultaten från studien visar att juverinfektioner hos får med kliniskt friska juver är vanligt förekommande i svenska kött- och pälsfårbesättningar och att mätning av mjölkens celltal med CMT eller DCC är användbart för identifiering av tackor med juverinfektion.

Tack

Ett stort tack till mina tre fantastiska handledare som med engagemang och stort tålamod har guidat mig genom det här arbetets tillblivelse. Tack till Karin Persson Waller för alla aha-upplevelser i min skrivprocess, allt ditt tålamod och all din pedagogik, det har gjort att det här arbetet till vad det är och det har gjort mig till en mycket förbättrad vetenskaplig författare. Tack till Ylva Persson för den här fantastiska resan som projektet har inneburit och tack för all konstruktiv kritik under resans gång. Tack Ann Nyman för din okuvliga optimism, ditt glada humör och dina magiska uträkningar. Tack till Maria Persson för allt arbete du lagt ner på att odla mjölkprover, läsa plattor och den glädje som man alltid möts av vid varje möte med dig. Tack till mastitlaboratoriet på SVA för all er hjälp med analyser av mjölkproverna och för att ni tog er tid att svara på frågor.

Tack till Stiftelsen lantbruksforskning för finansiering av projektet.

Slutligen, ett stort, stort tack till alla djurägare som har deltagit och ställt upp med tid och engagemang i projektet, utan er hade projektet inte gått att genomföra.

Referenser

- Anderson, D.E, Hull, B., Pugh, D.G. (2002) *Diseases of the mammary gland*. In: Puhg, D.G (ed.) *Sheep and Goat medicine*. 1:ed: 345-355. Philadelphia, WB Saunders Company.
- Andersson, I., Andersson, H., Christiansson, A., Oscarsson, M., Persson, Y., Widell, A. (2011) Systemanalys celltal, Rapport nr: 7091: 2011-10-20.
<http://www.vxa.se/Global/Dokument/Dokumentarkiv/Forskning/Forskningsrapport/er/1/Systemanalys%20celltal%202011-10-20.pdf>
- Ariznabarreta, A, Gonzalo, C, San Primitivo, F. (2002) Microbiological quality and somatic cell count of ewe milk with special reference to staphylococci. *Journal of Dairy Science*, 85:1370-1375.
- Arsenault, J., Dubreuil, P., Higgins, R., Bélanger, D. (2008) Risk factors and impacts of clinical and subclinical mastitis in commercial meat-producing sheep flocks in Quebec, Canada. *Preventive Veterinary Medicine*, 87:373-393.
- Bergonier, D., De Crémoux, R., Rupp, R., Lagriffoul, G., Berthelot, X. (2003) Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary Research*, 34:689-716.
- Bergonier, D., Berthelot, X. (2003) New advances in epizootology and control of ewe mastitis. *Livestock Production Science*, 79:1-16.
- Berthelot, X., Lagriffoul, G., Concordet, D., Barillet, F., Bergonier, D. (2006) Physiological and pathological thresholds of somatic cell counts in ewes milk. *Small Ruminant Research*, 62:27-31.
- Blagitz, M., Souza, F., Batista, C., Diniz, S., Haddad, J., Benites, N., Melville, P., Della Libera, A. (2014) Clinical findings related to intramammary infections in meat-producing ewes. *Tropical Animal Health and Production*, 46:127-132.
- Bryan, L., Godfrey, A. (1991) Beta-lactam antibiotics: mode of action and bacterial resistance. In: Lorian V (Ed) *Antibiotics in Laboratory Medicine*. William & Wilkins, Baltimore, USA, p 648.
- Börjesson, T. (2011) *Mastit hos tacka – Celltalet som markör för detektion av juverinfektion*. Sveriges Lantbruksuniversitet. Examensarbete inom veterinärprogrammet, 2011:60.
- Chaffer, M., Leitner, G., Zamir, S., Winkler, M., Glickman, A., Ziv, N., Saran, A. (2003) Efficacy of dry-off treatment in sheep. *Small Ruminant Research*, 47:11-16.
- Clements, C.A., Taylor, D.J., Fitzpatrick, J.L. (2003) Evaluation of diagnostic procedures for subclinical mastitis in meat-producing sheep. *Journal of Dairy Research*, 70:139-148.

DeLaval (2005). Instruction book. DeLaval cell counter DCC. Tumba: DeLaval International AB.

Ebrahimi, A., Lotfalian, S., Karimi, S. (2007) Drug resistance in isolated from milk of sheep and goats with subclinical mastitis in Shahrekord district. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 8:76-79.

Fthenakis, G., Jones, E. (1990) The effect of experimentally induced subclinical mastitis on milk yield of ewes and on the growth of lambs. *British Veterinary Journal*, 146:43-49.

Fthenakis, G.C. (1994) Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in ewes of southern Greece. *Small Ruminant Research*, 13:293-300.

Fthenakis, G.C. (1995) California Mastitis Test and Whiteside Test in diagnosis of subclinical mastitis of dairy ewes. *Small Ruminant Research*, 16: 271-276.

Fragkou, I.A., Boscos, C.M., Fthenakis, G.C. (2014) Diagnosis of clinical or subclinical mastitis in ewes. *Small Ruminant Research*, 118:86-92.

González-Rodríguez, M., Gonzalo, C., San Primitivo, F., Cármenes, P. (1995) Relationship between somatic cell count and intramammary infection of the half udder in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 78:2753-2759.

Gonzalo, C., Ariznabarreta, A., Carriedo, J.A., San Primitivo, F. (2002) Mammary pathogen and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 85:1460-1467.

Gonzalo, C., Linage, B., Carreido, J., de la Fuente, F., San Primitivo, F. (2004) Evaluation of the overall accuracy of the DeLaval Cell Counter for somatic cell counts in ovine milk. *Journal of Dairy Science*, 89:4613-4619.

Gonzalo, C., Boixo, J.C., Carreido, J.A., San Primitivo, F. (2006) Evaluation of rapid somatic cell counters under different analytical conditions in ovine milk. *Journal of Dairy Science*, 87:3623-3628.

Gonzalo, C., Linage, B., Carreido, J., De La Fuente, L. (2008) *Short Communication*: Evaluation of the overall accuracy of the DeLaval Cell Counter for somatic cell count in ovine milk: Effect of soak time in diluted and undiluted milk samples. *Journal of Dairy Science*, 91:3114-3118.

Gustafsson, K., Andersson, U. (2009) Clinical mastitis in ewes: Bacteriology and antibiotic resistance. The 7th International Sheep Veterinary Congress, Norway, Stavanger.

Gustafsson, K., König, U., Lindqvist-Frisk, K. (2014) Sveriges Veterinärmedicinska Sällskaps riktlinjer för antibiotikaanvändning till får och get. <http://www.svf.se/sv/Sallskapet/Husdjurssektionen/Policy-for-antibiotikaanvandning-till-far-och-get1/>

- Hariharan, H., Donachie, W., Macaldowie, C., Keefe, G. (2004) Bacteriology and somatic cell counts in milk samples from ewes on a Scottish farm. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 68:188-192.
- Hawari, A., Obeidat, M., Awaisheh, S., Al-Daghistani, H., Al-Abbadi, A., Omar, S., Qrunfleh, I., Al-Dmoor H., El-Qudah, J. (2014) Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in Awassi sheep in Al-Balqa province of Jordan. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 9:116-121.
- Heras, A.L, Dominguez, L., Fernández-Garayzábai, J.F. (1999) Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in dairy ewes of the Madrid region. *Small Ruminant Research*, 32:21-29.
- Hoffman, M. (2015) *Juverinfektion hos tackor med kliniskt friska juver – möjliga riskfaktorer och djurägarattityder*. Sveriges Lantbruksuniversitet. Examensarbete inom veterinärprogrammet, 2015:38.
- Jordbruksverket, Statistik från Jordbruksverket, Statistikrapport 2012:07.
- Kiossis, E., Brozos, C., Petridou, E., Zdragas, A. (2013) Study on the possible survival of *Staphylococcus chromogenes* through the dry period in dairy ewes. *Small Ruminant Research*, 115:124-129.
- Lafi, S.Q., Al-majali, A.M., Rousan, M.D., Alawaneh, J.M. (1998) Epidemiological studies of clinical and subclinical mastitis in Awassi sheep in northern Jordan. *Preventive Veterinary Medicine*, 33:171-181.
- Lafi, S.Q. (2006) Use of somatic cell count and California mastitis test results from udder halves milk samples to detect subclinical intramammary infection in Awassi sheep. *Small Ruminant Research*, 62:83-86.
- Larsgard, A.G., Vaabenoe, A. (1993) Genetic and environmental causes of variation of mastitis in sheep. *Small Ruminant Research*, 12:339-347.
- Leitner, G., Shaffer, M., Shamay, A., Shapiro, F., Merin, U., Ezra, E., Sharan, A., Silanikove, N. (2004) Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in sheep. *Journal of Dairy Science*, 87:46-52.
- McDougall, S., Murdough, P., Pankey, M., Delaney, C., Barlow, J., Scruton, D. (2001) Relationships among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacteriological status of milk in goats and sheep in early lactation. *Small Ruminant Research*, 40:245-254.
- Moroni, P., Pisoni, G., Varisco, G., Boettcher, P. (2007) Effect of intramammary infection in Bergamasca meat sheep on milk parameters and lamb growth. *Journal of Dairy Research*, 74:340-344.

- Mørk, T., Waage, S., Tollersrud, T., Kvitle, B., Sviland, S. (2007) Clinical mastitis in ewes; bacteriology, epidemiology and clinical features. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49:23.
- Persson Waller, K., Aspán, A., Nyman, A., Persson, Y., Grönlund Andersson U. (2011) CNS species and antimicrobial resistance in clinical and subclinical bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, 152:112-116.
- Radostits, O., Gay, C., Hinchcliff, K., Constable, P. (2007) *Veterinary Medicine – a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th ed, Edinburgh; Saunders Elsevier.
- Saratsis, P., Alexopoulos, C., Tzora, A., Fthenakis, G. (2009) The effect of experimentally induced subclinical mastitis on the milk yield of dairy ewes. *Small Ruminant Research*, 32:205-209.
- Schalm, O., Noorlander, D. (1957) Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 130:199-208.
- Sevi, A., Albenzio, M., Marino, R., Santillo, A., Muscio, A. (2004) Effects of lambing season and stage of lactation on ewe milk quality. *Small Ruminant Research*, 51:251-259.
- Thorberg, B., Danielsson-Tham, M., Emanuelsson U., Persson-Waller, K. (2009) Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative staphylococci. *Journal of Dairy Science*, 92:4962-4970.
- Vautor, E., Abadie, G., Guibert, J.M., Huard, C., Pepin, M. (2003) Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on farms with dairy sheep using pulsed-field gel electrophoresis. *Veterinary Microbiology*, 96:69-79.
- Waage, S., Vatn, S. (2008) Individual animal risk factors for clinical mastitis in meat sheep in Norway. *Preventive Veterinary Medicine*, 87:229-243.
- Watkins, G.H., Burriel, A.R., Jones, J.E.T. (1991) A field investigation of subclinical mastitis in sheep in southern England. *British Veterinary Journal*, 147:413-420.
- Watson, D., Franklin, N., Davies, H., Kettlewell P., Frost A. (1990) Survey of intramammary infections in ewes on the New England Tableland of New South Wales. *Australian Veterinary Journal*, 67:6-8.
- Wilson, K., Walker, J. (2010) *Principles and techniques of biochemistry and molecular biology*. 7th ed, Cambridge University Press.
- Winter, P., Colditz, I. (2002) Immunological responses of the lactating ovine udder following experimental challenge with *Staphylococcus epidermidis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 89:57-56.

