

# Hur påverkas juverhälsan hos svenska mjölkkor vid infektion med olika arter av koagulasnegativa stafylokker?

Projektnummer: V1430007

Ann Nyman, Forskare, AgrD, Avdelningen för djurhälsa och antibiotikafrågor, Statens veterinärmedicinska anstalt, Uppsala

## BAKGRUND

Att kor drabbas av juverinflammation (mastit) orsakar ekonomiska förluster för mjölkbönder (Halasa et al., 2007), ger en försämrad mjölkråvara och kan negativt påverka djurvälståndet. De ekonomiska förlusterna beror på den minskade mjölkproduktionen (Hagnestam et al., 2007; Dürr et al., 2008) och den försämrade mjölkkvaliteten hos de drabbade korna (Forsback et al., 2010), men även på kostnader för veterinärvård, ökad arbetsinsats för lantbrukaren och ökad utslagning (Halasa et al., 2007). Drygt 35 % av förstakalvarna och ca 20 % av äldre kor drabbas av nyinfektion i juvret varje år och de flesta infektioner orsakas av *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*; ca 26 %) och koagulasnegativa stafylokker (KNS) (ca 22 %) (Växa Sverige, 2013). Koagulasnegativa stafylokker har på senare år fått mer betydelse då de i flera länder, bl.a. Finland, Holland och Tyskland, har blivit det vanligast förekommande fyndet vid mastit (Pitkala et al., 2004; Tenhagen et al., 2006; Sampimon et al., 2009). I två svenska nationella studier av kliniska (för ögat synliga) respektive subkliniska (för ögat ej synliga) mastiter fann man att KNS var det näst vanligaste fyndet vid subklinisk mastit och femte vanligaste fyndet vid klinisk mastit (Ericsson Unnerstad et al., 2009; Persson et al., 2011). KNS-mastiter kan orsaka ett över laktationen förhöjt celltal (Taponen et al., 2007) vilket ger en minskad mjölkproduktion (De Vliegher et al., 2005) och en försämrad lönsamhet för lantbrukaren. Kor med höga celltal och/eller låg mjölkproduktion har även större risk för att bli utslagna vilket också påverkar lantbrukarens lönsamhet negativt.

Koagulasnegativa stafylokker är ett samlingsnamn på en grupp stafylokker som tidigare har betraktats som likartade och därför betraktats som en grupp. Emellertid finns det över 50 olika arter och underarter av KNS varav ca 20 är mer eller mindre vanligt förekommande i mjölk från mjölkkor. I Sverige har man i olika forskningsstudier sett att det är 4 KNS-arter som är vanligast vid subklinisk mastit; *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. chromogenes*, och *S. haemolyticus* (Thorberg et al., 2009; Persson Waller et al., 2011). Man kan med olika analysmetoder artbestämma KNS, men de mer avancerade och pålitliga metoderna har tidigare endast använts i forskningssyfte. De metoder som funnits tillgängliga tidigare har varit omständliga och tidsödande (biokemiska metoder) eller väldigt dyra (sekvenseringsmetoder etc.). De biokemiska analyserna har dessutom visat sig vara otillförlitliga och ej använts som rutinmetoder. Emellertid så har analysmetoderna utvecklats och sedan 2013 finns nu en rutinmetod, matrix-assisted laser desorption/ionization – time of flight (maldi-tof), för artbestämning av bl.a. KNS på Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA). Maldito-f är en metod som är både säker, snabb och relativt billig att utföra. Användandet av artbestämning av KNS med hjälp av maldi-tof har medfört att i stället för att bara ange KNS i svaret till den som skickat in ett mjölkprov svaras KNS-arten ut vilket har medfört många frågor från fältet om betydelsen av de olika arterna och hur kor med en viss KNS-art ska hanteras. Exempelvis är vissa KNS-arter ofta resistenta mot penicillin genom produktion av betalaktamas (ca 35 % av de som påvisats vid subklinisk mastit (Persson et al., 2011)) och vad har det för betydelse för hanteringen av de drabbade korna? I flera studier har man kunnat visa att resistens förekommer väldigt ofta hos vissa KNS-arter, medan andra nästan aldrig uppvisar resistens (Persson Waller et al., 2011; Sampimon et al., 2011) och detta kan

påverka hur man ska hantera (sintidsbehandling, utslagning, gruppering etc.) kor som är infekterade med olika KNS-arter.

Man har i studier redovisat resultat som tyder på att vissa KNS-arter påverkar juverhälsan olika, vissa orsakar celltalshöjningar jämförbara med de som orsakas av *S. aureus* och vissa orsakar ihållande infektioner (Sampimon et al., 2009; Supre et al., 2011). Hur de olika KNS-arterna påverkar de svenska mjölkornas juverhälsa är undersökt på mindre material (11 besättningar (Thorberg et al., 2009), men den teknik man använde då för att typa KNS-arter var inte lika tillförlitlig som dagens metoder. I Thorberg et al. (2009) studie fann man att ihållande infektioner var vanligt vid fynd av *S. chromogenes*, *S. epidermidis* och *S. simulans*, men i den studien kunde man inte se någon skillnad i celltal mellan kor som var infekterade med någon av dessa tre olika arter, men en viss skillnad i mjölkproduktion kunde dock ses. Att ingen skillnad kunde ses i celltal kan bero på att det inte var så många kor per art (ca 40 st) som undersöktes.

Det övergripande målet med denna studie är att ge ökad kunskap om hur olika KNS-arter påverkar celltalet och mjölkproduktionen över laktationen, hur ihållande (persistenta) KNS-infektioner är, hur penicillinresistensen ser ut och om en ökad sjuklighet och utslagning kan ses för vissa KNS-arter för att kunna ge bättre råd till veterinärer och lantbrukare om hur man ska hantera kor smittade med olika KNS-arter. Det är troligt att mastiter orsakade av KNS kommer att bli vanligare även i Sverige vilket medför att det kommer finnas ett ökat behov av information gällande KNS-mastiter inom de närmsta åren.

## **MATERIAL OCH METODER**

Alla lantbrukare som skickade in juverdelsmjölksprover för bakteriologisk analys till Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA), Uppsala, under perioden september 2014 till och med maj 2015 från kor med misstänkt subklinisk mastit och i vilka KNS hade påvisats kontaktades via telefon och tillfrågades om de ville delta. Detta första prov skickades således in innan själva studien startade och kommer hädan efter kallas det initiala provet. Alla deltagande lantbrukare skulle vara med i Kokontrollen och korna skulle inte ha varit behandlade med antibiotika i perioden från det initiala provet skickades in tills de tackade ja till att delta. Lantbrukarna ombads ta uppföljande mjölkprov inom två veckor från alla juverdelar från samma ko som det initiala provet inkommit från.

### **Provtagning**

Ett brev med sterila mjölkkrör, desinficeringsmedel, bomullssvabbar och en remiss skickades ut till alla deltagande lantbrukare tillsammans med en instruktion för hur man utför en steril provtagning och hur mjölkproven skulle förvaras i väntan på att de kunde skickas till SVA. Lantbrukarna uppmanades att skicka proverna samma dag de togs. Mjölkrören skulle skickas i vadderat kuvert tillsammans med en remiss med information om den provtagna kon.

### **Mjölkanalyser**

Alla mjölkprover med tillräcklig mängd mjölk undersöktes på SVA samma dag de anlände med hjälp av California mastitis test (CMT). CMT används för att gradera mjölkprover och graderas i skalan 1–5, där CMT 1 betyder att det är få inflammationsceller i mjölken och CMT 5 att det är väldigt mycket inflammationsceller i mjölken. Ett slumpmässigt urval av mjölkprover undersöktes även med avseende på celltal med hjälp av DeLavals celltalsräknare (DeLaval Internatioal AB, Tumba, Sverige) två till tre dagar efter proven anlant till laboratoriet. De bakteriologiska analyserna av juverdelsmjölksproverna och artidentifieringen med hjälp av Maldi-tof utfördes enligt ackrediterade rutiner. Beta-laktamasproduktion undersöktes med hjälp av klöverbladsmetoden (Franklin and Wierup, 1982).

## Kodata

För alla deltagande kor inhämtades data från Kokontrollen gällande mjölkproduktion (kg mjölk/dag), heljuvercelltal, procent fett och protein samt mjölkurea (mmol/l) från provmjölkningen före rekrytering till studien och ett år framåt. Data gällande ras, laktationsnummer, kalvningsdatum, sjukdomar och utslagning inhämtades också från Kokontrollen.

## Statistiska analyser

Deskriptiva sammanställningar gjordes gällande distributionen av de olika KNS-arterna i de initiala proven på juverdelsnivå och deras betalaktamasproduktion samt hur fördelningen av dessa såg ut över ras (Svensk röd boskap (SRB), Svensk Holstein (SH), korsningar mellan dessa båda raser samt övriga raser), laktationsnummer (förstakalvare, andrakalvare, tredjekalvare och äldre) och laktationsstadie. Medianer för CMT och celltal på juverdelsnivå beräknades per KNS-art. På ko- och besättningsnivå summerades distributionen av de sju vanligast förekommande KNS-arterna. För att undersöka vilka samband som statistiskt kunde påvisas mellan förekomst av KNS-art och ras, laktationsnummer och laktationsstadie, samt mellan CMT respektive celltal och KNS-art på juverdelsnivå användes olika regressionsmodeller. Endast de sju vanligaste KNS-arterna togs med i dessa regressionsanalyser då det fanns för få fynd av de andra KNS-arterna. Olika regressionsmodeller användes även för att undersöka samband mellan persistens, celltal respektive mjölkavkastning (vid provmjölkningen närmast före och efter det initiala provet togs) och KNS-art. I analysen inkluderades även antal juverdelar med fynd av respektive KNS-art, ras, laktationsnummer, laktationsstadie, procent protein och fett i mjölken, mjölkurea och antal dagar från provmjölkningen till det initiala provet togs.

Samband mellan utslagning respektive fall av klinisk mastit och KNS-art undersöktes med hjälp av chi<sup>2</sup>-test.

## RESULTAT

Totalt tillfrågades 217 lantbrukare om de ville delta i denna studie. Av dessa tackade 201 lantbrukare ja till att delta och 180 av dessa skickade även in ett uppföljningsprov från deltagande kor (från 1 till 13 kor per besättning). Från de 201 deltagande besättningarna rekryterades 671 kor (1 till 21 kor per besättning) och för 611 kor (från 178 av besättningarna) fanns data tillgängligt från Kokontrollen. Från 521 av de 671 korna inkom uppföljningsprovet. Totalt inkom 1191 initiala juverdelprover där KNS påvisades i totalt 783 prover. Fördelningen av KNS-art och betalaktamasproduktion presenteras i tabell 1. Totalt identifierades 19 olika KNS-arter varav *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. chromogenes* och *S. haemolyticus* var de vanligast förekommande. Betalaktamasproduktionen varierade mycket mellan arterna där alla *S. xylosus*-isolat producerade betalaktamas, medan inga *S. simulans*- eller *S. hyicus*-isolat producerade betalaktamas.

Tabell 1. Fördelning (antal och andel prov) av koagulasnegativa stafylokocker och om betalaktamasproduktion kunde påvisas ( $\beta+$ ), i mjölkprover från 783 juverdelar från 671 kor (1–4 juverdelprover per ko) med misstänkt subklinisk mastit från 201 besättningar. Fynden är ordnade efter förekomst.

<i>Staphylococcus (S.)</i>	Fördelning av isolat		$\beta+$	
	n	%	n	%
<i>S. epidermidis</i>	206	26	86	42
<i>S. simulans</i>	169	22	0	0
<i>S. chromogenes</i>	148	19	29	20
<i>S. haemolyticus</i>	110	14	66	60
<i>S. saprophyticus</i>	32	4	28	87
<i>S. xylosus</i>	31	4	31	100
<i>S. hyicus</i>	25	3	0	0
<i>S. sciuri</i>	12	2	2	17
<i>S. capitis</i>	9	1	0	0
<i>S. warneri</i>	6	1	2	33
<i>S. equorum</i>	5	1	3	60
<i>S. succinus</i>	2	<1	2	100
<i>S. cohnii</i>	2	<1	0	0
<i>S. rosteri</i>	2	<1	1	50
<i>S. lentus</i>	1	<1	0	0
<i>S. fleuretti</i>	1	<1	0	0
<i>S. hominis</i>	1	<1	1	100
<i>S. pasteurii</i>	1	<1	0	0
<i>S. caprae</i>	1	<1	0	0
KNS, men där KNS-art inte kunnat säkerställas	19	2	12	63
<b>Totalt</b>	<b>783</b>	<b>100</b>	<b>263</b>	<b>34</b>

Fördelningen av KNS-art över ras, laktationsnummer och laktationsstadium varierade, men det enda som skiljde sig signifikant åt var fördelningen av KNS-art över laktationsnummer. Där visade sig *S. chromogenes* vara mer vanligt förekommande än andra KNS-arter hos förstakalvare jämfört med äldre kor.

I uppföljningsproverna kunde samma KNS-art åter påvisas i 33 % av de initiala 783 juverdelsmjölkproverna. I 23 % av de initiala proverna kom inget uppföljningsprov in, i 21 % påvisades blandflora, i 15 % kunde ingen bakterie påvisas, i 5 % påvisades en annan bakterie än KNS och i 3 % påvisades en annan KNS-art än den som varit där initialt. Den högsta procentuella andelen persistenta infektioner (dvs. där samma KNS-art åter påvisades i samma juverdel i uppföljningsprovet) uppvisades för *S. hyicus* och *S. simulans* med 48 % respektive 43 %. Den lägsta andelen persistenta infektioner såg för juverdelar med ett initialt fynd av *S. xylosus* och *S. saprophyticus* där en persistent infektion sågs i 19 % respektive 6 % av juverdelarna.

Totalt analyserades CMT i 760 av juverdelsmjölkproverna och mediangraderingen för dessa prover var CMT 3 (kvartilavstånd (IQR): 3–4). I tabell 2 presenteras mediangradering av CMT med IQR för de KNS-arter för de arter som hade minst 5 observationer. Celltal analyserades i 281 av juverdelsmjölkproverna och mediancelltalet i dessa prover var 1 251 000 celler/ml (IQR: 539 000–2 613 000 celler/ml). Mediancelltal och IQR för de KNS-arter som hade minst 5 observationer presenteras i tabell 2.

Tabell 2. Fördelning av California Mastitis Test (CMT) gradering och celltalmätning (x 1000 celler/ml) i juverdelsmjölksprover från kor med fynd av olika koagulasnegativa stafylokocker. Median och kvartilavstånd (IQR) samt antal observationer (n) för CMT och celltal inom KNS-art presenteras. Endast resultat för KNS-arter med  $\geq 5$  observationer presenteras.

<i>Staphylococcus (S.)</i>	CMT			Celltal		
	Median	IQR	n	Median	IQR	n
<i>S. epidermidis</i>	3	3; 4	199	1 960	1 090; 3 314	50
<i>S. simulans</i>	3	3; 4	167	1 263	681; 2 458	58
<i>S. chromogenes</i>	3	3; 4	143	1 126	438; 1 826	61
<i>S. haemolyticus</i>	3	3; 4	108	1 801	812; 2 824	42
<i>S. saprophyticus</i>	3.5	3; 4	30	374	167; 1 203	18
<i>S. xylosus</i>	3	2; 4	29	432	150; 1 180	16
<i>S. hyicus</i>	4	3; 5	24	2 048	653; 3 486	11
<i>S. sciuri</i>	3	2; 4	11	-	-	-
<i>S. capitis</i>	3	3; 4	9	-	-	-
<i>S. warneri</i>	3	3; 3	6	-	-	-
<i>S. equorum</i>	4	4; 4	5	-	-	-
Totalt	-	-	731	-	-	256

De statistiska regressionsanalyserna påvisade signifikanta samband mellan CMT-gradering respektive celltal och KNS-art, dock i interaktion med laktationsnummer (dvs. hur CMT och celltal påverkades av KNS-art var även beroende på vilket laktationsnummer kon hade):

- I juverdelar med fynd av *S. epidermidis* var det vanligare med högre CMT hos andrakalvare och äldre kor jämfört med hos förstakalvare ( $p < 0,005$ ).
- I juverdelar med fynd av *S. simulans* var det vanligare med högre CMT hos andrakalvare jämfört med hos förstakalvare ( $p = 0,049$ ).
- I juverdelar med fynd av *S. hyicus* var CMT högre hos förstakalvare jämfört med andrakalvare ( $p = 0,03$ ).
- För förstakalvare var CMT högre i juverdelar med fynd av *S. hyicus* jämfört med alla andra KNS-fynd ( $p = 0,02$ – $p = 0,001$ ) förutom *S. saprophyticus*.
- För andrakalvare var CMT högre i juverdelar med fynd av *S. epidermidis* ( $p = 0,01$ ) eller *S. haemolyticus* ( $p = 0,02$ ) jämfört med juverdelar med fynd av *S. chromogenes*.
- För tredjekalvare och äldre kor var CMT högre i juverdelar med fynd av *S. epidermidis* jämfört med juverdelar med fynd av *S. simulans* ( $p = 0,01$ ), *S. chromogenes* ( $p = 0,03$ ) eller *S. haemolyticus* ( $p = 0,025$ ).

För celltalet såg resultaten liknande ut:

- I juverdelar med fynd av *S. epidermidis* eller *S. simulans* var celltalet högre hos andrakalvare och äldre kor jämfört med förstakalvare ( $p \leq 0,03$  respektive  $p \leq 0,002$ ).
- I juverdelar med fynd av *S. hyicus* var celltalet högre hos förstakalvare jämfört med andrakalvare ( $p = 0,03$ ).
- För förstakalvare var celltalet högre i juverdelar med fynd av *S. hyicus* jämfört med i juverdelar med fynd av *S. simulans* ( $p = 0,003$ ), *S. chromogenes* ( $p = 0,02$ ), *S. saprophyticus* ( $p = 0,04$ ) eller *S. xylosus* ( $p = 0,003$ ). Celltalet var även högre i juverdelar med fynd av *S. haemolyticus* jämfört med i juverdelar med fynd av *S. simulans* eller *S. xylosus* ( $p = 0,008$ ).
- För andrakalvare var celltalet högre i juverdelar med fynd av *S. epidermidis* jämfört med i juverdelar med fynd av *S. chromogenes* ( $p < 0,001$ ), *S. saprophyticus* ( $p < 0,001$ ), *S.*

*xylosus* ( $p=0,002$ ) eller *S. hyicus* ( $p=0,02$ ). Celltalet var även högre i juverdelar med fynd av *S. simulans* jämfört med i juverdelar med fynd av *S. chromogenes* ( $p=0,005$ ), *S. saprophyticus* ( $p<0,001$ ) eller *S. xylosus* ( $p=0,006$ ), i juverdelar med fynd av *S. haemolyticus* jämfört med i juverdelar med fynd av *S. chromogenes* ( $p=0,01$ ), *S. saprophyticus* ( $p<0,001$ ) eller *S. xylosus* ( $p=0,01$ ) och i juverdelar med fynd av *S. chromogenes* jämfört med i juverdelar med fynd av *S. saprophyticus* ( $p=0,049$ ).

- För tredjekalvare och äldre kor var celltalet högre i juverdelar med fynd av *S. epidermidis* jämfört med juverdelar med fynd av *S. saprophyticus* ( $p=0,001$ ) eller *S. xylosus* ( $p<0,001$ ), i juverdelar med fynd av *S. simulans* jämfört med i juverdelar med fynd av *S. saprophyticus* ( $p=0,02$ ) eller *S. xylosus* ( $p=0,007$ ) och i juverdelar med fynd av *S. haemolyticus* jämfört med i juverdelar med fynd av *S. xylosus* ( $p=0,04$ ).

När samband mellan KNS-art och kocelltal respektive mjölkavkastning vid provmjölkningen närmast före och efter den initiala provtagningen undersöktes såg signifikanta samband mellan KNS-art och kocelltal vid provmjölkningen närmast före den initiala provtagningen, men inte med kocelltal vid provmjölkningen närmast efter den initiala provtagningen eller med mjölkavkastning vid endera provmjölkningen. Kor med fynd av *S. chromogenes* hade signifikant lägre kocelltal vid provmjölkningen än kor med fynd av *S. epidermidis* ( $p<0,05$ ), *S. haemolyticus* ( $p=0,01$ ), *S. saprophyticus* ( $p=0,005$ ) and *S. hyicus* ( $p=0,001$ ). Kor med fynd av *S. hyicus* hade signifikant högre kocelltal än kor med fynd av *S. epidermidis* ( $p=0,03$ ), *S. simulans* ( $p=0,01$ ) eller *S. xylosus* ( $p=0,02$ ). Kor med fynd av *S. saprophyticus* hade signifikant högre kocelltal än kor med fynd av *S. simulans* ( $p=0,03$ ) eller *S. xylosus* ( $p=0,05$ ).

För kor med persistenta infektioner av en specifik KNS-art kunde ingen statistisk skillnad ses i kocelltal eller mjölkproduktion vid de tre närmast efterföljande provmjölkningarna efter det initiala provet togs.

Det var få djur som behandlades för klinisk mastit (27 kor inom 60 dagar från det initiala provet togs) och som slogs ut på grund av juverhälsa (52 kor som slogs ut inom 305 dagar efter det initiala provet togs där någon slags juverrelaterad orsak har angetts som orsak) och inga statistiskt signifikanta samband kunde ses mellan förekomst av klinisk mastit eller utslagning på grund av juverhälsa och KNS-art.

## DISKUSSION

I denna studie påvisades flera olika KNS-arter i mjölkprov från kor med misstänkt subklinisk mastit. Dock var det fyra arter, *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. chromogenes* and *S. haemolyticus*, som var vanligast förekommande vilket stämmer överens med resultat från en tidigare svensk studie (Persson Waller et al., 2011) och med en nyligen publicerad finsk studie (Taponen et al., 2016). I studier från andra länder (Belgien, Kanada, Argentina) är *S. chromogenes* det mest vanliga fyndet medan *S. epidermidis* inte är lika vanligt (Fry et al., 2014; De Visscher et al., 2015; Raspanti et al., 2016; Condas et al., 2017a). Varför förekomsten av vissa KNS-arter skiljer sig åt mellan länder är inte undersökt, men skillnader i inhysning, skötselfaktorer, besättningsstorlek och klimat kan troligen vara faktorer som har betydelse.

Vi fann att det var en stor variation i betalaktamasproduktion mellan de olika KNS-arterna. Våra resultat liknar de resultat som Taponen et al. (2016) och Persson Waller et al. (2011) fick, dvs en hög förekomst av betalaktamasproduktion hos *S. epidermidis* och *S. haemolyticus* och en låg förekomst hos *S. chromogenes* och *S. simulans*. I andra studier har man visat en hög förekomst av antibiotikaresistens och resistensgener hos alla olika undersökta KNS-arter (Sampimon et al., 2011; Raspanti et al., 2016). Kunskap om antibiotikaresistens är viktigt när man ska ta beslut om behandling med antibiotika och eftersom det var en så stor variation mellan

KNS-arter är det viktigt att man undersöker antibiotikaresistensen innan man sätter in en behandling.

Persistenta juverinfektioner påvisades i denna studie i 33 % av juverdelarna och förekomsten varierade mellan KNS-arter. Det var vanligare med persistenta juverinfektioner i juverdelar med fynd av *S. hyicus* eller *S. simulans* jämfört med de andra KNS-arterna. Detta resultat är i linje med de fynd Gillespie et al. (2009) gjorde där de fann att de flesta isolat av *S. hyicus*, *S. simulans* and *S. epidermidis* var av väldigt likartade genotyp vid upprepad provtagning. I en tidigare svensk studie av Thorberg et al. (2009) var persistenta juverinfektioner med *S. chromogenes*, *S. epidermidis* och *S. simulans* vanligare än i vår studie, men likt vår studie var persistenta juverinfektioner ovanliga för *S. xylosus* och *S. haemolyticus*. Då vi inte använde oss av någon genotypning i denna studie kan man emellertid inte vara helt säker på att de återkommande fynden av samma KNS-art i samma juverdel verkligen var samma KNS-art utan de kan ha varit olika underarter. För att få bättre kunskap om persistenta infektionen behövs studier där genotypning av bakterieisolaten används.

*Staphylococcus chromogenes* och *S. xylosus* var vanligare att hitta i mjölkprov från förstakalvare än i mjölkprov från äldre kor. I andra studier har man funnit att *S. chromogenes* är vanligare hos förstakalvare än hos äldre kor (Thorberg et al., 2009; Mork et al., 2012; De Visscher et al., 2016a). Varför *S. chromogenes* är vanligare hos förstakalvare är inte klargjort. Man har kunnat påvisa *S. chromogenes* i spenkanaler hos kvigkalvar redan vid 11 månaders ålder (De Vlieghe et al., 2003), men i andra studier har man även kunna påvisa *S. chromogenes* i spenkanaler hos sinkor (De Visscher et al., 2016b). I en schweizisk studie har man kunnat visa att juverödem är en riskfaktor för juverinfektion med *S. chromogenes* (Dolder et al., 2017) och då juverödem drabbar framför allt kvigor och inte äldre kor runt kalvning (Emery et al., 1969) kanske förekomst av juverödem kan förklara att fler förstakalvare drabbas av *S. chromogenes*-infektioner. Att *S. xylosus* kan vara vanligare hos förstakalvare har även visats tidigare (De Visscher et al., 2015), men i en annan studie såg man att sådan juverinfektion var vanligare hos äldre kor jämfört med yngre (De Visscher et al., 2016a). Så vitt vi vet har inga studier gjorts där man har undersökt riskfaktorer för juverinflammation orsakad av *S. xylosus* så sådana studier behövs.

I denna studie undersöktes samband mellan KNS-art och celltal både på juverdelsnivå och på konivå. På juverdelsnivå mättes både CMT och celltal och de statistiska analyserna gav väldigt lika resultat för dessa båda mått. Vi fann också att sambandet mellan KNS-art och CMT/celltal varierade beroende på laktationsnummer. Hos förstakalvare var celltalet högre i juverdelar med fynd av *S. hyicus* jämfört med fynd av de andra KNS-arterna, men hos äldre kor var celltalet högre i juverdelar med fynd av *S. epidermidis* jämfört med fynd av de andra KNS-arterna. En studie från Kanada visade också att celltalet var högt i juverdelar med fynd av *S. hyicus* (Condas et al., 2017b) så det verkar som *S. hyicus* kan orsaka ett kraftigare inflammatoriskt svar jämfört med andra KNS-arter. Celltalet, både på juverdelsnivå och konivå, var lägre vid fynd av *S. chromogenes* eller *S. xylosus* jämfört med de andra KNS-arterna oavsett laktationsnummer hos kon. Andra studier har visat att *S. chromogenes* kan orsaka både högre och lägre celltal jämfört med andra KNS-arter (Fry et al., 2014; Condas et al., 2017b). Skillnaderna i resultat kan bero på studiedesign, val av studiepopulation m.m., men skillnaderna kan även bero på att det inte är samma underart av *S. chromogenes* i de olika studierna eftersom det inte är omöjligt att olika underarter av *S. chromogenes* kan ge olika inflammatoriskt svar.

Vi kunde inte hitta något samband mellan KNS-art och mjölkavkastning och här varierar också resultaten från andra studier; vissa har inte heller hittat något samband med mjölkavkastning (Pearson et al., 2013; Tomazi et al., 2015), medan man i en tidigare svensk studie kunde påvisa vissa skillnader mellan arter (Thorberg et al., 2009). Fler upprepade studier måste genomföras för att vi ska få klarhet i om, och i så fall hur, mjölkproduktion kan påverkas av olika KNS-arter.

## SLUTSATSER

Denna studie har gett oss mer kunskap om vilka KNS-arter som kan påträffas vid subklinisk mastit och mer bevis på att variationen i penicillinresistens är stor mellan de olika KNS-arterna. Några KNS-arter gav högre celltal och mer långvariga juverinfektioner så dessa KNS-arter bör man vara mer uppmärksam på eftersom de skulle kunna orsaka besättningsproblem. Tyvärr kan det vara svårt att få en enkel generaliserad rådgivning gällande KNS då vi även fann att effekten på celltalet av en viss KNS-art skiljde sig mellan unga och äldre kor. Mer forskning behövs som fokuserar på hur man kan förebygga KNS-infektioner, men denna studie har förbättrat vår baskunskap om KNS-arter och vi är därför bättre rustade för att svara på frågor från lantbrukare och rådgivare.

## PUBLIKATIONER

- Impact of udder health of dairy cows by intramammary infections with different coagulase-negative staphylococci species. 6<sup>th</sup> IDF International Mastitis Conference, 7–9 September 2016, Nantes, France. p. 66.
- Associations between udder quarter findings of different coagulase-negative staphylococci and somatic cell count. 2<sup>nd</sup> Seminar on coagulase-negative staphylococci, 18–19 May 2017, Gent, Belgium. p. 53-56.
- Ett vetenskapligt manuskript kommer att skickas till Journal of Dairy Science i juni/juli.

## RESULTATFÖRMEDLING TILL NÄRINGEN

- Inlägg på Spjuverbloggen (2016-04-20): <http://spjuverbloggen.sva.se/koagulasnegativa-stafylokocker-spelar-det-nagon-roll-vilken-sort/>
- Notis i SVAvet: [http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om\\_sva/publikationer/trycksaker/sva\\_vet-nr4\\_2014\\_webb.pdf](http://www.sva.se/globalassets/redesign2011/pdf/om_sva/publikationer/trycksaker/sva_vet-nr4_2014_webb.pdf)
- Information på SVAs hemsida (2014-2017): <http://www.sva.se/forskning-och-utveckling/aktuella-forskningsprojekt/hur-paverkas-juverhalsan-hos-svenska-mjolkkor-vid-infektion-med-olika-arter-av-koagulasnegativa-stafylokocker>
- Presenterat projektet och slutresultaten på Växa Sveriges vårmöte 2015 och 2017.
- Presenterat projektet på SVAs projektrådsmöte 2015 (där näringen är speciellt inbjuden)
- Föreläst om projektet på Växa Sveriges HPM kurs 2016 (hälsopaket mjölk, en kurs som ges framförallt för Växas fältveterinärer)
- Presenterat projektet och resultaten på Veterinärkongressen 2016: KNS betydelse på juverhälsoområdet (s.130–131 i förfarandet)
- Vi har delat ut ett informationsblad om projektet 2014 och 2016 i samband med Växa Sveriges Djurhälso- och utfodringskonferens.
- Vi ska också skicka in artikeln till tidningen Husdjur och till Svensk veterinärtidning under juni/juli 2017.

## REFERENSER

Condas, L.A.Z., De Buck, J., Nobrega, D.B., Carson, D.A., Naushad, S., De Vliegher, S., Zadoks, R.N., Middleton, J.R., Dufour, S., Kastelic, J.P., Barkema, H.W., 2017a. Prevalence of non-aureus Staphylococcus species causing intramammary infections in Canadian dairy herds. J Dairy Sci: 100, 5592-5612.

Condas, L.A.Z., De Buck, J., Nobrega, D.B., Carson, D.A., Roy, J.P., Keefe, G.P., DeVries, T.J., Middleton, J.R., Dufour, S., Barkema, H.W., 2017b. Distribution of non-aureus staphylococci



species in udder quarters with low and high somatic cell count, and clinical mastitis. *J Dairy Sci*: 100, 5613-5627.

De Visscher, A., Piepers, S., Haesebrouck, F., De Vliegheer, S., 2016a. Intramammary infection with coagulase-negative staphylococci at parturition: Species-specific prevalence, risk factors, and effect on udder health. *J Dairy Sci*: 99, 6457-6469.

De Visscher, A., Piepers, S., Haesebrouck, F., De Vliegheer, S., 2016b. Teat apex colonization with coagulase-negative *Staphylococcus* species before parturition: Distribution and species-specific risk factors. *J Dairy Sci*: 99, 1427-1439.

De Visscher, A., Piepers, S., Supre, K., Haesebrouck, F., De Vliegheer, S., 2015. Short communication: Species group-specific predictors at the cow and quarter level for intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in dairy cattle throughout lactation. *J Dairy Sci*: 98, 5448-5453.

De Vliegheer, S., Barkema, H.W., Stryhn, H., Opsomer, G., de Kruif, A., 2005. Impact of early lactation somatic cell count in heifers on milk yield over the first lactation. *J Dairy Sci*: 88, 938-947.

De Vliegheer, S., Laevens, H., Devriese, L.A., Opsomer, G., Leroy, J.L., Barkema, H.W., de Kruif, A., 2003. Prepartum teat apex colonization with *Staphylococcus chromogenes* in dairy heifers is associated with low somatic cell count in early lactation. *Vet Microbiol*: 92, 245-252.

Dolder, C., van den Borne, B.H.P., Traversari, J., Thomann, A., Perreten, V., Bodmer, M., 2017. Quarter- and cow-level risk factors for intramammary infection with coagulase-negative staphylococci species in Swiss dairy cows. *J Dairy Sci*: 100, 5653-5663.

Dürr, J.W., Cue, R.I., Monardes, H.G., Moro-Méndez, J., Wade, K.M., 2008. Milk losses associated with somatic cell counts per breed, parity and stage of lactation in Canadian dairy cattle. *Livestock Science*: 117, 225-232.

Emery, R.S., Hafs, H.D., Armstrong, D., Snyder, W.W., 1969. Prepartum grain feeding effects on milk production, mammary edema, and incidence of diseases. *J Dairy Sci*: 52, 345-351.

Ericsson Unnerstad, H., Lindberg, A., Persson Waller, K., Ekman, T., Artursson, K., Nilsson-Ost, M., Bengtsson, B., 2009. Microbial aetiology of acute clinical mastitis and agent-specific risk factors. *Vet Microbiol*: 137, 90-97.

Forsback, L., Lindmark-Mansson, H., Andren, A., Svennersten-Sjaunja, K., 2010. Evaluation of quality changes in udder quarter milk from cows with low-to-moderate somatic cell counts. *Animal*: 4, 617-626.

Franklin, A., Wierup, M., 1982. Evaluation of the Sensititre method adapted for antimicrobial drug susceptibility testing in veterinary medicine. *Vet Microbiol*: 7, 447-454.

Fry, P.R., Middleton, J.R., Dufour, S., Perry, J., Scholl, D., Dohoo, I., 2014. Association of coagulase-negative staphylococcal species, mammary quarter milk somatic cell count, and persistence of intramammary infection in dairy cattle. *J Dairy Sci*: 97, 4876-4885.

Gillespie, B.E., Headrick, S.I., Boonyayatra, S., Oliver, S.P., 2009. Prevalence and persistence of coagulase-negative *Staphylococcus* species in three dairy research herds. *Vet Microbiol*: 134, 65-72.

Hagnestam, C., Emanuelson, U., Berglund, B., 2007. Yield losses associated with clinical mastitis occurring in different weeks of lactation. *J Dairy Sci*: 90, 2260-2270.

Halasa, T., Huijps, K., Østerås, O., Hogeveen, H., 2007. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Vet Quarterly*: 29, 18-31.

Mork, T., Jorgensen, H.J., Sunde, M., Kvitle, B., Sviland, S., Waage, S., Tollersrud, T., 2012. Persistence of staphylococcal species and genotypes in the bovine udder. *Vet Microbiol*: 159, 171-180.

Pearson, L.J., Williamson, J.H., Turner, S.A., Lacy-Hulbert, S.J., Hillerton, J.E., 2013. Peripartum infection with *Streptococcus uberis* but not coagulase-negative staphylococci reduced milk production in primiparous cows. *J Dairy Sci*: 96, 158-164.

Persson Waller, K., Aspan, A., Nyman, A., Persson, Y., Andersson, U.G., 2011. CNS species and antimicrobial resistance in clinical and subclinical bovine mastitis. *Vet Microbiol*: 152, 112-116.

Persson, Y., Nyman, A.K., Gronlund-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.

Pitkala, A., Haveri, M., Pyorala, S., Myllys, V., Honkanen-Buzalski, T., 2004. Bovine mastitis in Finland 2001--prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *J Dairy Sci*: 87, 2433-2441.

Raspanti, C.G., Bonetto, C.C., Vissio, C., Pellegrino, M.S., Reinoso, E.B., Dieser, S.A., Bogni, C.I., Larriestra, A.J., Odierno, L.M., 2016. Prevalence and antibiotic susceptibility of coagulase-negative *Staphylococcus* species from bovine subclinical mastitis in dairy herds in the central region of Argentina. *Rev Argent Microbiol*: 48, 50-56.

Sampimon, O.C., Barkema, H.W., Berends, I.M., Sol, J., Lam, T.J., 2009. Prevalence and herd-level risk factors for intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in Dutch dairy herds. *Vet Microbiol*: 134, 37-44.

Sampimon, O.C., Lam, T.J., Mevius, D.J., Schukken, Y.H., Zadoks, R.N., 2011. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine milk samples. *Vet Microbiol*: 150, 173-179.

Supre, K., Haesebrouck, F., Zadoks, R.N., Vaneechoutte, M., Piepers, S., De Vlieghe, S., 2011. Some coagulase-negative *Staphylococcus* species affect udder health more than others. *J Dairy Sci*: 94, 2329-2340.

Taponen, S., Koort, J., Bjorkroth, J., Saloniemi, H., Pyorala, S., 2007. Bovine intramammary infections caused by coagulase-negative staphylococci may persist throughout lactation according to amplified fragment length polymorphism-based analysis. *J Dairy Sci*: 90, 3301-3307.

Taponen, S., Nykasenoja, S., Pohjanvirta, T., Pitkala, A., Pyorala, S., 2016. Species distribution and in vitro antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitic milk. *Acta Vet Scand*: 58, 12.

Tenhagen, B.A., Koster, G., Wallmann, J., Heuwieser, W., 2006. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *J Dairy Sci*: 89, 2542-2551.

Thorberg, B.M., Danielsson-Tham, M.L., Emanuelson, U., Persson Waller, K., 2009. Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative staphylococci. *J Dairy Sci*: 92, 4962-4970.

Tomazi, T., Goncalves, J.L., Barreiro, J.R., Arcari, M.A., dos Santos, M.V., 2015. Bovine subclinical intramammary infection caused by coagulase-negative staphylococci increases somatic cell count but has no effect on milk yield or composition. *J Dairy Sci*: 98, 3071-3078.

Växa Sverige, 2013. Animal health 2011/2012: Annual report from the Animal Health section.