



## **Är antalet neutrofiler ett bättre mått än celltalet på tankmjölkens kvalitet? Slutrapport av projektet SLF H0530114**

Åse Sternesjö och Erik Wickström, Inst för livsmedelsvetenskap, SLU, 750 07 Uppsala

### **BAKGRUND**

Tankmjölkens innehåll av somatiska celler ingår i mejeriernas kvalitetsprogram för mjölkråvaran och är betalningsgrundande till producent. Celltalet (SCC) får enligt EU:s hygiendirektiv inte överstiga 400 000 celler per ml (EC, 2004), men det är vanligt att mejerierna ställer högre krav på råvarans kvalitet, eftersom förhöjda SCC uppvisat samband med ökad proteolytisk aktivitet, minskat ostutbyte, försämrade ostkvalitet och minskad stabilitet hos pastöriserad mjölk (Auldred and Hubble, 1998). De flesta studier som genomförts för att undersöka samband mellan SCC och mjölk kvalitet är baserade på mjölk från individuella, ofta experimentellt infekterade juverfjärdedelar. Resultat och slutsatser från dessa studier kan inte enkelt appliceras på leverantörmjölk, som är en blandning av mjölk från kor i besättningen. Det saknas därför entydiga vetenskapliga rön för vid vilken nivå tankmjölkens celltal har en negativ effekt på mjölk kvaliteten.

Mjölkens celler utgör en blandning av olika celltyper, varvid mjölk från ett friskt juver huvudsakligen innehåller makrofager. Vid mastit sker en dramatisk ökning av andelen polymorfnukleära celler (PMN), s.k. neutrofiler, och dessa kan vid akut klinisk mastit utgöra mer än 90 % av SCC (Sordillo et al., 1997). PMN har under senare år studerats flitigt, bl.a. med avseende på en rad proteolytiska enzymer (Hurley et al., 2000; Somers et al., 2003). Med hänsyn till de kaseinförluster proteolytiska enzymer i mjölken orsakar har forskare föreslagit att PMN skulle utgöra ett bättre mått än SCC med avseende på mjölkens teknologiska kvalitet (Kelly et al., 2000; O'Brien et al., 2003). I vårt projekt ville vi därför studera om antalet PMN (PMNC) i tankmjölken ger en känsligare och bättre indikation på förändringar i mjölkens sammansättning än SCC, den "gyllene standarden" i dagens kvalitetsprogram för mjölkråvaran.

### **Finns det ett samband mellan antalet neutrofila celler och mjölk kvalitet?**

Studier av PMN i mjölk har i tidigare arbeten främst varit relaterade till mastitdiagnostik (Pillai et al., 2001) eller funktionen hos juvrets immunförsvaret (Paape et al., 2002). Kelly et al. (2000) studerade sambandet mellan SCC och PMNC i mjölk från individuella kor respektive tankmjölk från ett mindre antal besättningar. I båda fallen erhöles en signifikant, positiv korrelation mellan SCC och PMNC. Korrelationskoefficienten mellan SCC och PMNC var dock lägre för tankmjölksprover ( $R=0.69$ ) än för individuella koprover ( $R=0.88$ ). Skillnaden i korrelationskoefficient berodde sannolikt på en stor variation i antalet neutrofila celler mellan tankmjölksprover med samma celltal, dvs. tankmjölk med samma celltal kan ha väldigt olika egenskaper beroende på hur det specifika celltalet är sammansatt. Frågan huruvida tankmjölkens innehåll av neutrofila celler är ett bättre mått på mjölkens sammansättning och egenskaper än celltalet har framförts (Kelly et al., 2000; Le Roux, 2003, O'Brien et al., 2003) men det finns ännu inga studier som undersökt om så är fallet.

### **Alfa-laktalbumin och mjölk kvalitet?**

I en avhandling vid Inst för livsmedelsvetenskap, SLU, (Åkerstedt, 2008) påvisades samband mellan förekomsten av akutfasproteinerna (APP) haptoglobin (Hp) och serum amyloid A (SAA) i mjölken och förändringar i mjölkens sammansättning. Hp och SAA är s.k. positiva

APP hos nötkreatur, dvs. deras koncentrationer ökar drastiskt vid en skada eller sjukdom. Det finns även proteiner som nedregleras vid skada och sjukdom, och ett mjölkprotein som minskar i koncentration vid mastit är  $\alpha$ -laktalbumin ( $\alpha$ -LA).  $\alpha$ -LA spelar en viktig roll i mjölksyntesen, eftersom det utgör en del av laktosyntetaset, enzymet som katalyserar syntesen av laktos från glukos och galaktos. Koncentrationen  $\alpha$ -LA är korrelerat med laktoskoncentrationen och eftersom laktos och mjölmängd är korrelerat, följer i regel även  $\alpha$ -LA-koncentration och mjölmängd varandra. Det är dock oklart vilken betydelse variationen i  $\alpha$ -LA har för reglering av mjölmängden. Studier har visat att koncentrationen av  $\alpha$ -LA påverkas av mastit, och att  $\alpha$ -LA minskar med ökat celltal. Av den anledningen har  $\alpha$ -LA föreslagits utgöra en markör för juvrets funktion (Caffin et al., 1984), och även att  $\alpha$ -LA skulle bete sig som ett negativt APP (Hogarth et al., 2004). Idag saknas emellertid studier med syfte att undersöka samband mellan  $\alpha$ -LA och olika mjölk kvalitetsparametrar i leverantörmjolk.

### **PROJEKTETS SYFTE**

Det primära syftet med studierna har varit att undersöka om PMNC utgör ett bättre mått än SCC på leverantörmjölks sammansättning och teknologiska kvalitet i relation till mastit. Frågeställningen utvidgades i ett senare skede av studierna till att inkludera motsvarande utvärdering av  $\alpha$ -LA.

### **MATERIAL OCH METODER**

Studierna genomfördes som ett samarbete mellan främst SLU, SVA (Avdelningen för lantbrukets djur och antibiotikafrågor), Milko och Svensk Mjolk.

#### **Tankmjölksprover**

I projektet ingick två olika uppsättningar med leverantörmjölksprover. Omgång 1 bestod av 228 slumpmässigt utvalda leverantörmjölksprover från producenter fördelade över landet. Proverna erhöles från Eurofins Steins Laboratorium AB i Jönköping, och användes för analys av SCC och PMN (PMN% och PMNC). Omgång 2 bestod av 91 tankmjölksprover från Milko-producenter. Milkoproverna analyserades för en rad kvalitetsparametrar utöver SCC och PMNC, såsom innehåll av protein, fett och laktos, proteinsammansättning, kaseinmängd, kaseintal, proteolys och koaguleringssegenskaper.

#### **Inflammatoriska markörer**

SCC analyserades i färska tankmjölksprover med en fluoro-opto-elektronisk cellräknare (Fossomatic 5000, Foss Electric, Hillerød, Danmark). För bestämning av PMNC i tankmjölk användes en mikroskoperingsmetod baserad på IDF's standard (2006). Objektglas med utstryk av helmjölk bereddes i överrensstämmelse med IDF-metoden och färgades med en modifierad Newman-färglösning (Wickström et al., 2009).

#### **Kvalitetsparametrar**

Mjölks innehåll av totalprotein, fett och laktos analyserades i färska mjölkprover med IR-teknik (Fourier Transform Instrument, FT 120, Foss). Kaseininnehållet bestämdes indirekt genom löpfallning av kaseinerna och därefter IR-bestämning av vasslefraktionens proteininnehåll. Kaseintalet beräknades genom att dividera kaseininnehållet med mängden totalprotein och multiplicera med 100. Mjölks proteinsammansättning bestämdes i avfettade tankmjölksprover enligt Hallén et al. (2008). Proteinerna reducerades och separerades därefter på en analytisk RP C4-kolonn ( $\alpha_{S1}$ ,  $\alpha_{S2}$ ,  $\beta$  och  $\kappa$  kasein,  $\alpha$ -LA och  $\beta$ -laktoglobulin,  $\beta$ -LG). Elueringen utfördes med ett gradientprogram med stegvis ökande

koncentration av acetonitril. För att bestämma mjölkprovets proteolytiska status bestämdes mängden fria aminoterminaler i avfettade mjölkprover enligt en fluorescaminmetod (Wiking et al., 2002). Mjölakens intakta proteiner denaturerades och avlägsnades genom centrifugering. Peptider i supernatanten bestämdes genom en reaktion mellan fri aminoterminal och fluorescamin. Den vid reaktionen bildade fluoroscensen mättes och relaterades till en standardkurva konstruerad genom analys av leucine i HCL. Analys av tankmjölakens koaguleringssegenskaper utfördes på en Bohlin VOR Reometer (Malvern Instruments, Uppsala) enligt Hallén et al. (2007). Gelstyrkan bestämdes 25 minuter efter tillsats av chymosin och koaguleringstiden definierades som tiden från tillsats av chymosin till gelstyrkan uppnått 5 Pa.

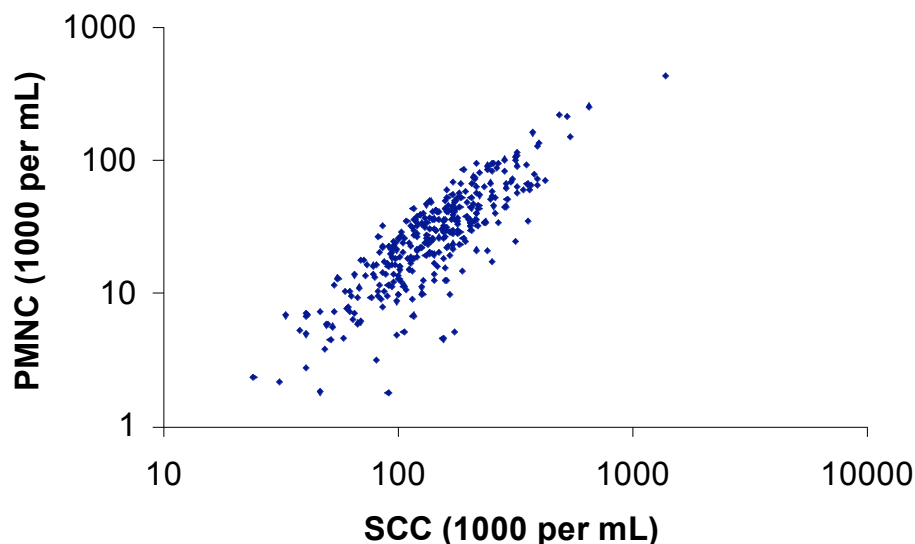
### Statistisk analys

För att undersöka korrelationen mellan PMNC och SCC användes Pearson korrelation och linjär regression. Skillnader i PMNC mellan olika SCC-klasser analyserades med Student's unpaired t-test (SAS version 9.1) efter indelning av resultaten i följande SCC-klasser:  $\leq 100$ , 101-200, 201-300, 301-400 och  $>400$  x 1000 celler per ml. Samband mellan SCC, PMNC, respektive  $\alpha$ -LA och olika mjölk kvalitetsparametrar, analyserades med Student's t-test efter indelning av resultaten i  $<25$  percentilen (låg), 25-75 percentilen (medium), och  $>75$ e percentilen (hög). SCC-, PMNC- och proteolysvärden log-transformerades för att erhålla normalfördelning och skillnader mellan grupper betraktades som signifikanta vid  $p < 0.05$ .

## RESULTAT

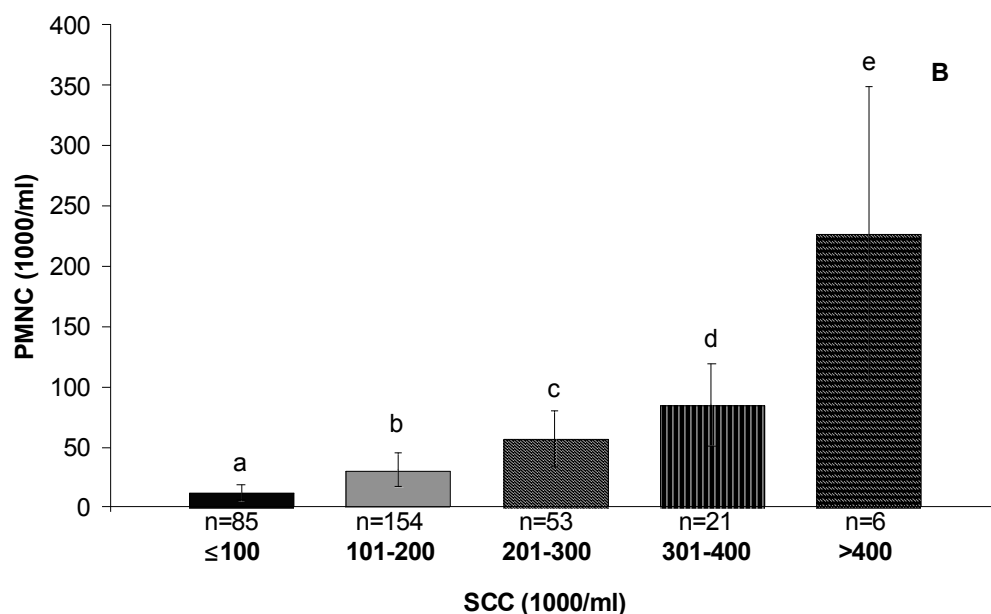
### Antalet neutrofiler som markör för leverantörmjölkskvalitet i relation till mastit

Ett starkt samband mellan SCC och PMNC observerades med såväl Pearsons korrelations- ( $r=0.849$ ) som linjär regressionsanalys ( $p < 0.001$ ), se Figur 1.



**Figur 1.** Korrelation mellan det totala antalet celler (SCC) och antalet polymorf nukleära celler (PMNC) i 319 leverantörmjölksprover.

Antalet PMNC ökade med ökande SCC och det var signifikanta skillnader mellan samtliga celltalsklasser med avseende på PMNC (Fig. 2).



**Figur 2.** Antalet polymorfnukleära celler (PMNC) i leverantörsmjölkprover (n=319) fördelade i olika celltalsklasser (SCC). Staplarna illustrerar medelvärde±standardavvikelse för de olika SCC-klasserna, varvid SCC-klasser med olika superskript skiljer sig signifikant ( $P < 0.05$ ) med avseende på PMNC.

Den enda kvalitetsparameter som uppvisade samband med PMNC var kaseintalet; kaseintalet minskade med höga PMNC (Tabell 1).

**Tabell 1.** Skillnader i sammansättning och egenskaper mellan leverantörsmjölkprover med lågt, medium och högt antal polymorfnukleära celler (PMNC). I tabellen anges medelvärde±standardavvikelse för de olika PMNC-klasserna, och olika superskript anger att skillnaderna är signifikanta ( $P < 0.05$ )

	Lågt PMNC <sup>1</sup> n=23	Medium PMNC <sup>2</sup> n=45	Högt PMNC <sup>3</sup> n=23
PMNC (× 1000/mL)	15.45±6.73 <sup>a</sup>	43.66±13.07 <sup>b</sup>	137.82±81.16 <sup>c</sup>
SCC (× 1000/ml)	80.61±29.96 <sup>a</sup>	157.89±47.68 <sup>b</sup>	381.83±243.30 <sup>c</sup>
PMN (%)	19.11±4.66 <sup>a</sup>	28.10±5.11 <sup>b</sup>	36.72±5.36 <sup>c</sup>
Fett (g/100 ml)	4.60±0.42	4.39±0.48	4.55±0.28
Laktos (g/100 ml)	4.63±0.13	4.62±0.11	4.58±0.07
Totalprotein (g/100 ml)	3.57±0.22	3.52±0.19	3.53±0.12
Kasein (g/100 ml)	2.61±0.16	2.57±0.14	2.56±0.08
Vassleprotein (g/100 ml)	0.97±0.06	0.95±0.05	0.95±0.05
Kaseintal	73.22±0.70 <sup>a</sup>	72.98±0.67 <sup>a</sup>	72.61±0.52 <sup>b</sup>
Proteolys (mM)	1.05±0.07	1.07±0.06	1.07±0.07
Koaguleringsstid (s)	123.61±43.16	116.93±40.93	122.22±45.71
Gelstyrka	349.39±123.69	354.18±95.04	345.17±152.17

<sup>1</sup> <25e percentilen av provresultaten (PMNC-range: 5-25 × 1000/ml); <sup>2</sup> 25-75e percentilen av provresultaten (PMNC-range: 26-80 × 1000/ml); <sup>3</sup> >75e percentilen av provresultaten (PMNC-range: 81-437 × 1000/ml)

SCC uppvisade samband med fler kvalitetsparametrar, såsom laktos, kaseinmängd, kaseintal och proteolys (Tabell 2).

**Tabell 2.** Skillnader i sammansättning och egenskaper mellan leverantörmjolkprover med lågt, medium och högt totalantal somatiska celler (SCC). I tabellen anges medelvärde± standardavvikelse för de olika SCC- klasserna, och olika superskript anger att skillnaderna är signifikanta (P<0.05)

	Lågt SCC <sup>1</sup> n=23	Medium SCC <sup>2</sup> n=45	Högt SCC <sup>3</sup> n=23
SCC (× 1000/ml)	74.70±22.40 <sup>a</sup>	155.60±31.25 <sup>b</sup>	392.22±237.10 <sup>c</sup>
PMNC (× 1000/ml)	16.66±8.270 <sup>a</sup>	45.33±17.850 <sup>b</sup>	133.35±84.80 <sup>c</sup>
PMN (%)	21.6±6.8 <sup>a</sup>	28.5±6.6 <sup>b</sup>	33.6±7.4 <sup>c</sup>
Fett (g/100 ml)	4.68±0.47 <sup>a</sup>	4.39±0.44 <sup>b</sup>	4.47±0.28 <sup>ab</sup>
Laktos (g/100 ml)	4.65±0.13 <sup>a</sup>	4.61±0.10 <sup>ab</sup>	4.57±0.08 <sup>b</sup>
Totalprotein (g/100 ml)	3.60±0.22	3.53±0.17	3.50±0.15
Kasein (g/100 ml)	2.63±0.16 <sup>a</sup>	2.58±0.13 <sup>ab</sup>	2.54±0.11 <sup>b</sup>
Vassleprotein (g/100 ml)	0.96±0.07	0.96±0.04	0.95±0.05
Kaseintal	73.17±0.69 <sup>a</sup>	73.06±0.56 <sup>b</sup>	72.51±0.70 <sup>b</sup>
Proteolys (mM)	1.03±0.06 <sup>a</sup>	1.07±0.06 <sup>ab</sup>	1.08±0.07 <sup>b</sup>
Koaguleringsstid (s)	125.8±44.9	118.6±40.9	116.7±44.0
Gelstyrka (Pa)	348.3±123.0	353.2±97.9	348.2±149.2

<sup>1</sup> <25e percentilen av provresultaten (SCC range: 33-104 × 1000/ml); <sup>2</sup> 25-75e percentilen av provresultaten (SCC range: 105-221 × 1000/ml); <sup>3</sup> >75e percentilen av provresultaten (SCC range: 222-1397 × 1000/ml).

### **α-laktalbumin som markör för leverantörmjölkskvalitet i relation till mastit**

Studien uppvisade inga signifikanta samband mellan α-LA och kända inflammatoriska markörer som SCC och PMNC, men trenden visade att SCC och PMNC ökade vid minskande mängd α-LA. I studien förelåg samband mellan α-LA och laktos, α<sub>s1</sub>-, α<sub>s2</sub>-, β-kasein, och β-laktoglobulin (β-LG), varvid lågt α-LA motsvarades av ökade mängder α<sub>s1</sub>-, α<sub>s2</sub>- och β-kasein, samt minskade mängder laktos och β-LG (Tabell 3).

## **DISKUSSION**

Vi har för första gången studerat samband mellan leverantörmjölks sammansättning och antalet neutrofiler, eftersom det av flera forskare framförts som troligt att detta skulle vara ett mer specifikt och känsligt mått på mjölkkråvarans kvalitet än SCC. Undersökningarna har genomförts med leverantörmjolkprover, vilket är unikt eftersom majoriteten av tidigare studier använt mjölk från infekterade juverdelar och experimentellt framkallade mastiter. I studien konstaterades ett oväntat starkt samband mellan SCC och PMNC (R=0.85), med tanke

**Tabell 3.** Skillnader i sammansättning och egenskaper mellan leverantörmjölksprover indelade i låg, medium och hög koncentration  $\alpha$ -laktalbumin ( $\alpha$ -LA). I tabellen anges medelvärde $\pm$  standardavvikelse för de olika  $\alpha$ -LA-klasserna, och olika superskript anger signifikanta skillnader ( $P < 0.05$ )

Variabel	Låg $\alpha$ -LA <sup>1</sup> (n=23)	Medium $\alpha$ -LA <sup>2</sup> (n=45)	Hög $\alpha$ -LA <sup>3</sup> (n=23)
Fett (g/100 mL)	4.44 $\pm$ 0.37	4.55 $\pm$ 0.47	4.40 $\pm$ 0.28
Laktos (g/100 mL)	4.57 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	4.62 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	4.63 $\pm$ 0.09 <sup>ab</sup>
Totalprotein (g/100 mL)	3.51 $\pm$ 0.13	3.56 $\pm$ 0.20	3.52 $\pm$ 0.15
Kasein (g/100 mL)	2.56 $\pm$ 0.09	2.60 $\pm$ 0.15	2.57 $\pm$ 0.11
Kaseintal	72.83 $\pm$ 0.50	72.93 $\pm$ 0.69	73.11 $\pm$ 0.63
$\alpha_{s1}$ -kasein (g/L)	9.42 $\pm$ 1.24 <sup>a</sup>	9.45 $\pm$ 1.48 <sup>a</sup>	9.16 $\pm$ 0.80 <sup>b</sup>
$\alpha_{s2}$ -kasein (g/L)	3.62 $\pm$ 0.71 <sup>a</sup>	3.63 $\pm$ 0.72 <sup>ab</sup>	3.55 $\pm$ 0.93 <sup>b</sup>
$\beta$ -kasein (g/L)	16.14 $\pm$ 1.87 <sup>a</sup>	16.09 $\pm$ 2.93 <sup>ab</sup>	15.73 $\pm$ 1.85 <sup>b</sup>
$\kappa$ -kasein (g/L)	4.09 $\pm$ 1.24	4.55 $\pm$ 1.16	4.46 $\pm$ 0.93
$\alpha$ -lactalbumin (g/L)	1.04 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	1.21 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	1.30 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>
$\beta$ -LG (g/L)	4.24 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	4.29 $\pm$ 0.43 <sup>b</sup>	4.29 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>
Proteolys (mM)	1.14 $\pm$ 0.15	1.17 $\pm$ 0.18	1.13 $\pm$ 0.17
Koaguleringsstid (s)	116 $\pm$ 34	122 $\pm$ 51	119 $\pm$ 31
Gelstyrka (Pa)	343 $\pm$ 97	355 $\pm$ 142	349 $\pm$ 84

<sup>1</sup> <25e percentilen av provresultaten ( $\alpha$ -LA range: 0.89-1.15 g/L); <sup>2</sup> 25-75e percentilen av provresultaten ( $\alpha$ -LA range: 1.15-1.26 g/L); <sup>3</sup> >75e percentilen av provresultaten ( $\alpha$ -LA range: 1.26-1.41 g/L)

på att studien utförts på leverantörmjölksnivå. Andelen PMN av SCC (PMN%) ökade också med ökande SCC, och tankmjölk med SCC > 400,000 celler per ml innehöll i genomsnitt nära 35% PMN. PMNC uppvisade endast samband med kaseintalet, varvid högt PMNC medförde ett lägre kaseintal. Ett högt SCC i mjölken uppvisade däremot samband med ett lägre innehåll av fett, laktos och kasein, ett lägre kaseintal och mer proteolys. Hypotesen att PMNC skulle vara ett känsligare mått än SCC för förändringar i leverantörmjölks sammansättning bekräftades således inte i denna studie.

Den starka korrelationen mellan SCC och PMNC är troligen en del av förklaringen bakom detta. Vidare bör man beakta, att majoriteten av cellerna utgörs av makrofager även vid de högsta celltalen, och endast 35% utgörs av PMN. Även makrofagerna ökar i totalantal vid mastit, och innehåller liksom PMN ett batteri av proteaser som kan bidra till nedbrytningen av mjölks kasein. De samband som observerades mellan SCC och mjölks sammansättning uteblev således när effekterna av endast en mindre cellpopulation togs i beaktande.

Som en vidareutveckling av projektet och för att utnyttja det material som insamlats och analyserats studerades även potentialen hos  $\alpha$ -LA som en markör för förändringar i tankmjölks sammansättning. Väldigt lite är gjort med avseende på detta protein, och

inledningsvis studerades samband mella  $\alpha$ -LA och SCC respektive PMNC. Även om det inte förelåg signifikanta samband så var trenderna tydliga i materialet, dvs. minskade halter  $\alpha$ -LA sammanföll med högre SCC och PMNC.  $\alpha$ -LA uppvisade samband med laktos och  $\beta$ -LG, mjölk med låga halter  $\alpha$ -LA innehöll även låga halter laktos och  $\beta$ -LG, vilket var förväntat. Sambanden med flera individuella kaseiner ( $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$ ) är däremot svårare att förklara, dvs. mjölk med mindre  $\alpha$ -LA innehöll högre halter av värdefulla kaseiner. Eftersom mängden inte  $\alpha$ -LA uppvisade samband med mängden totalprotein respektive kasein, bör resultatet beaktas med viss försiktighet.

Sammanfattningsvis visar våra studier att varken PMN eller  $\alpha$ -LA utgör en känsligare markör än den nuvarande "gyllene standarden", SCC, för förändringar i mjölkens sammansättning och egenskaper i relation till mastit.

## PUBLIKATIONER

1. Wickström, E., Persson Waller, K., Östensson, K., Lindmark-Månsson, H., Sternesjö, Å. (2009) Relationships between somatic cell count, polymorphonuclear leukocyte count and milk quality parameters in bulk tank milk. *Journal of Dairy Research*, 76, 195-201.
2. Wickström, E., K. Persson Waller, H. Lindmark Månsson and Sternesjö, Å. (2009) Relationships between  $\alpha$ -lactalbumin and quality parameters in bulk milk. Manuskript till J Dairy Science.
3. Wickström, E. 2009. New Markers of Bulk Milk Quality in Relation to Mastitis. Studies on Polymorphonuclear Leukocytes and  $\alpha$ -Lactalbumin. Licentiate thesis, Faculty of Natural resources and Agricultural Sciences, SLU, Uppsala. ISSN 1101-54, ISBN 978-91-86197-49-0

## REFERENSER

- Auld, M.J. & Hubble, I.B. (1998) Effects of mastitis on raw milk and dairy products. *Australian Journal of Dairy Technology* 53, 28-36.
- Caffin, J.P., B. Poutrel, & P. Rainard. (1984) Physiological and pathological factors influencing bovine  $\alpha$ -lactalbumin and  $\beta$ -lactoglobulin concentrations in milk. *Journal of Dairy Science* 68, 1087-1094.
- E.C. (2004) Regulation no 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin. *Official Journal of the European Union* L226, 22-82.
- Hallén, E., T. Allmere, J. Näslund, A. Andrén & A. Lundén. (2007) Effect of genetic polymorphism of milk proteins on rheology of chymosin-induced milk gels. *International Dairy Journal* 17, 791-799.
- Hallén, E., A. Wedholm, A. Andrén and A. Lundén. 2008. Effect of  $\beta$ -casein,  $\kappa$ -casein and  $\beta$ -lactoglobulin genotypes on concentrations of milk proteoin variants. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 125, 119-129.
- Hogart, C.J., J.L.Fitzpatrick, A.M.Nolan, F.J. Young, A. Pitt & P.D. Eckersall. 2004. Differential protein composition of bovine whey: a comparison of whey from healthy animals and from those with clinical mastitis. *Proteomics* 4, 2094-2100.
- Hurley, M.J., L.B. Larsen, A.L. Kelly and P.L.H. Mc Sweeney. 2000. The milk acid proteinase cathepsin D: a review. *International Dairy Journal* 10, 673-681.
- International Dairy Federation (IDF) 2006 Milk-enumeration of somatic cells-part 1. Microscopic method (reference method). *IDF Standard 148-1*, International Dairy Federation, Brussels
- Kelly, A.L., D. Tiernan, C. O'Sullivan and P. Joyce. 2000. Correlation between bovine milk somatic cell count and polymorphonuclear leukocyte level for samples of bulk milk and milk from individual cows. *Journal of Dairy Science* 83, 300-304.

- Le Roux, Y. F. Laurent and F. Moussaoui. 2003. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. *Veterinary Research* 34, 629-645.
- O'Brien, B.O., C. Fitzpatrick, W.J. Meaney and P. Joyce. 2003. Relationship between somatic cell count and neutrophils in milk. *Bulletin of the International Dairy Federation* 381, *Mastitis Newsletter* 25, 13.
- Paape, M., J. Mehrzad, X. Zhao, J. Detilleux and C. Burvenich. 2002. Defence of the bovine mammary gland by polymorphonuclear leukocytes. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 7, 109-121.
- Pillai, S.R., E. Kunze, L.M. Sordillo and B.M. Jayarao. 2001. Application of differential inflammatory cell count as a tool to monitor udder health. *Journal of Dairy Science* 84, 1413-1420.
- Somers, J.M., B. O'Brien, W.J. Meaney and A.L.Kelly. 2003. Heterogeneity of proteolytic enzyme activities in milk samples of different somatic cell count. *Journal of Dairy Research* 70, 45-50.
- Sordillo, L.M., K. Shafer-Weaver and D. deRosa. 1997. Immunobiology of the mammary gland. *Journal of Dairy Science* 80, 1851-1865.
- Wiking, L., M.B. Frost, L.B. Larsen & J.H. Nielsen. (2002) Effects of storage conditions on lipolysis, proteolysis and sensory attributes in high quality raw milk. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 57, 190-194.
- Åkerstedt, M. 2008. Bovine acute phase proteins in milk. Haptoglobin and serum amyloid A as potential biokarkers for milk quality. Doctoral thesis no 2008:16. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences, SLU, Uppsala 2008. ISSN 1652-6880, ISBN 978-91-85913-49-7.

## **ÖVRIG RESULTATFÖRMEDLING TILL NÄRINGEN**

Resultat från projektet har kommunicerats vid följande tillfällen:

International Dairy Federation: World Dairy Summit, Mexiko City, 2008 (poster)

NordForsk Network: Conference on Dairy Structures-Health and Functionality, Wadahl, Norge, 2009 (föredrag)

Livsmedelsdagarna Tylösand, 2008

International Dairy Federation: World Dairy Summit, Berlin, 2009