

**AP1- Analyse til tankmælksdata**

Projekt: 105083 Sikker diagnostik i B-streptokokbesætninger

Ansvarlig	mavb
Oprettet	20-01-2025
Side	1 af 8

**Analyse af tankmælksdata – specifikation af analysestrategi på tankmælksprøver**

Nedenstående notat vedrører foreløbige resultater af analyser af tankmælksdata fra besætninger fundet smittet med *Streptococcus agalactiae* (B-streptokokker). Der er foretaget analyser af data fra Kvægdatabasen, som tager udgangspunkt i tilstedeværelse af B-streptokokker i tankmælk analyseret ved PCR metoden. Dertil kommer data fra statusskift fra "Fri" til "Smittet" eller omvendt. Derudover er der i projektet indsamlet tankmælksprøver ved hver afhentning i 2 perioder af ca. 1 måneds varighed fra 3 besætninger.

**Baggrund**

B-streptokokker er et smitsomt patogen som hovedsageligt forårsager subklinisk mastitis, nedgang i mælkeproduktion og forringelse af mælkekvaliteten. Derudover er B-streptokokker en zoonose. I langt de fleste tilfælde er infektionen vedvarende, dog med stor variation i udskillelsen af bakterien over tid, hvilket vanskeliggør overvågning af tilstedeværelse af bakterien i besætningerne. I Danmark er tilstedeværelse af B-streptokokker i tankmælk blevet overvåget siden 1954 med varierende interval mellem prøveudtagning. Fra 2012 overgik analysemetoden fra bakteriologisk dyrkning til PCR-metoden til detektion af B-streptokokker. I 2017 blev forekomsten af B-streptokokker overvåget ved 2 årlige tankmælksprøver. Skift af status fra fri til smittet, kan ske ved fund af B-streptokokker i tankmælk, ved indgang af dyr i besætningen som kommer fra en smittet besætning eller har været udstationeret sammen med dyr fra en smittet besætning. Siden medio 2021 er overvågningen udvidet til også at inkludere påvisning af B-streptokokker i individprøver, analyseret enten ved PCR-metoden typisk fra goldkopprøver, eller fra individprøver fra køer med subklinisk eller klinisk mastitis, analyseret ved bakteriologisk dyrkning.

**Formål**

Formålet med analysen er at undersøge hvordan den nuværende strategi for overvågning af B-streptokokker ser ud til at dække ind i forhold til at få fundet de besætninger som er inficeret med B-streptokokker. Analysen omhandler følgende:

- Undersøgelse af hvordan fordelingen er mellem de forskellige metoder hvorpå en besætning kan påvises at være smittet med B-streptokokker på.
- Undersøgelse af om der er overensstemmelse mellem tankmælksprøvernes resultat og resultatet af enkeltdyrsprøver.
- Undersøgelse af variationerne i Ct-værdierne over kort tid, i tankmælksprøver udtaget ved hver afhentning i 3 smittede besætninger. Resultaterne er sammenholdt med fund af B-streptokokker på enkeltdyr-niveau.

**Data**

Data for analysen er hentet fra Kvægdatabasen på alle besætninger i Danmark. Data består af resultater fra analyserne af forekomst af B-streptokokker fra tankmælksprøveovervågningen, fra fund af B-streptokokker på enten bakteriologiske dyrkninger eller PCR Ct-værdi af enkeltkirtelprøver eller data fra flytninger af dyr mellem besætninger.

Til den specifikke analyse af påvisningsmetoder og fordeling af disse, samt overensstemmelse mellem tankmælksprøvens resultat og resultat af enkeltdyrsprøver, er der anvendt data i en toårig periode fra juli 2021 og frem til juni 2023. Denne periode er valgt af hensyn til at evaluere på alle de nuværende

muligheder for påvisning. I perioden er der fokuseret på alle de besætninger der har skiftet status fra fri til smittet uanset hvor lang smitteperioden har været. For de besætninger der er fundet smittet i perioden er der efterfølgende undersøgt hvorvidt fund af B-streptokokker er sket ved hhv. halvårlig tankmælksprøve, ved enkeltdyrsprøve, ved flytning af dyr ind i besætningen fra smittede besætninger eller opholdssteder, ved sammenfald af dato for statusskift og påvisningsmetode.

Til analysen af variationerne i Ct-værdierne i tankmælksprøverne er der fundet 3 besætninger som har været smittet med B-streptokokker siden november 2010, november 2018 og november 2020 for hhv. besætning 1, 2 og 3. Alle tre besætninger udtager goldkopprøver. Der er i to perioder af ca. 1 måneds varighed udtaget en tankmælksprøve ved hver afhentning, som efterfølgende er analyseret ved PCR for tilstedeværelse af B-streptokokker. De hyppige tankmælksprøver er udtaget hhv. i juni og november/december 2023. Sideløbende er der for hver besætning foretaget analyse af goldkopprøver for fund af B-streptokokker.

## Resultater

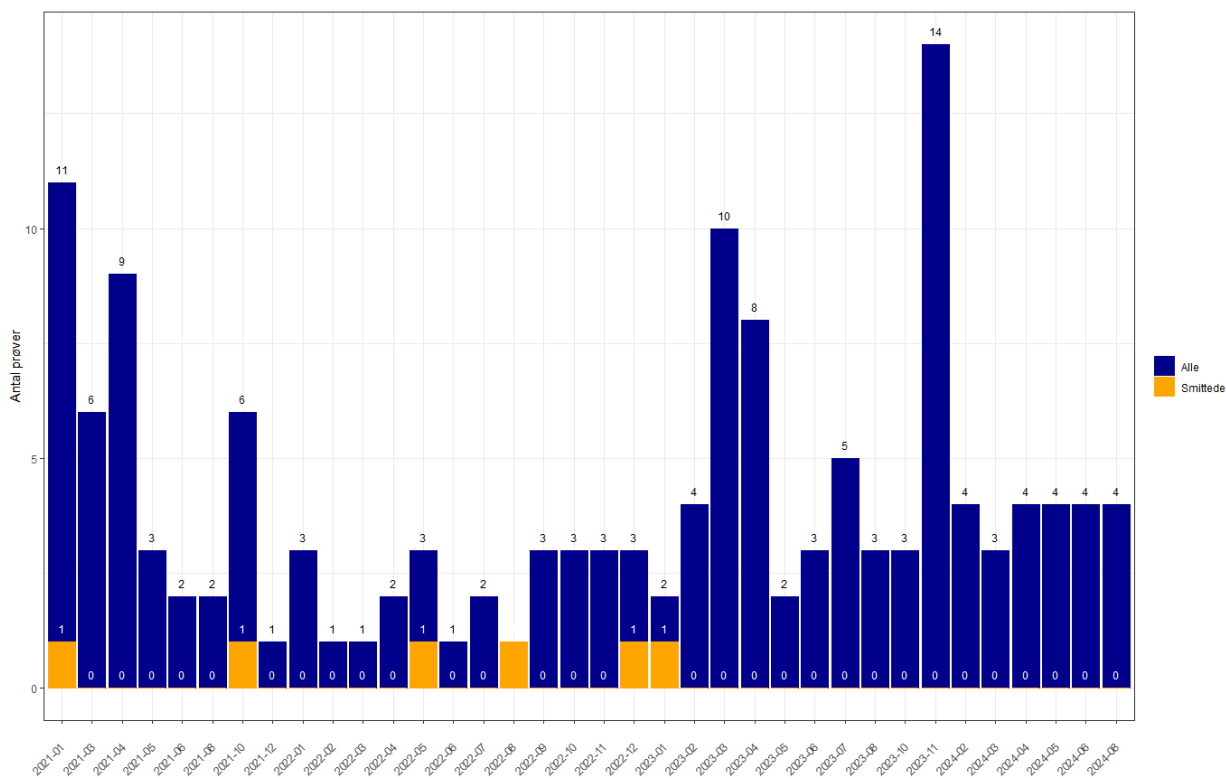
Undersøgelse af hvordan fordelingen er mellem de forskellige metoder en besætning kan påvises at være smittet med B-streptokokker på viste at en stor del af de besætninger som er fundet smittet i perioden er fundet via enkeltdyrsprøver. I alt blev 56 % af de smittede besætninger fundet ved enkeltdyrsprøver, mens 18 % af besætningerne blev fundet ved tankmælksprøver.

I de besætninger der blev fundet smittet ved enkeltdyrsprøver, var det kun i 11 % af tilfældene at der blev fundet B-streptokokker i den efterfølgende tankmælksprøve taget indenfor 3 måneder efter statusskiftet til smittet. I nogle af tilfældene vil der dog være tale om at den inficerede ko er gold på tidspunktet for prøveudtagningen. Men en forklaring kan også være at koncentrationen af B-streptokokker bliver fortyndet i tankmælken og dermed kan være svært at genfinde i en tankmælksprøve.

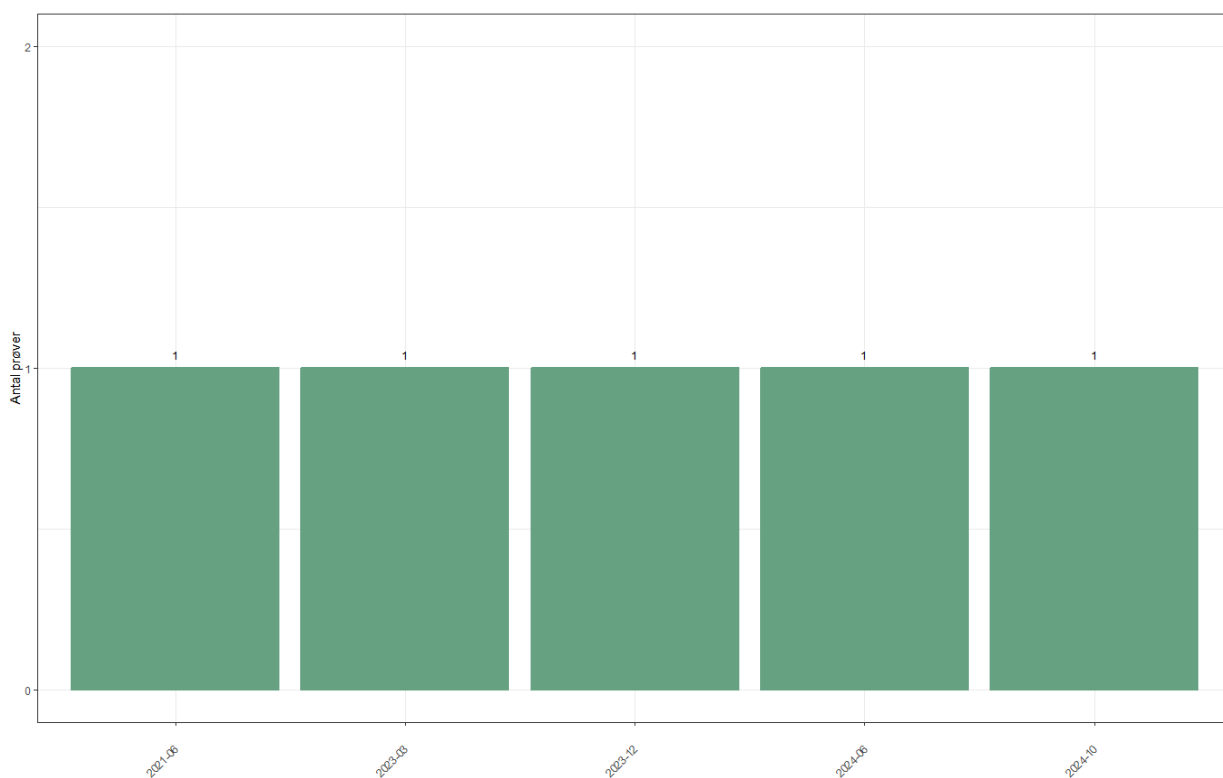
Resultaterne af de hyppige analyser Ct-værdierne for B-streptokokker i tankmælk på 3 besætninger er opgjort som casestudier for hver besætning. Nedenstående figur 1, 4 og 7 viser hhv. antallet af individprøver i alt (blå) og antallet af smittede individprøver (orange) i perioden siden 2021 og frem til september 2024, for hhv. besætning 1, 2 og 3. Figur 2, 5 og 8 viser antallet af positive dyrkninger for B-streptokokker for individprøver udtaget til dyrkning ved klinisk mastitis i samme periode. Figur 3, 6 og 9 viser Ct-værdierne for de tankmælksprøver der er udtaget i samme periode, herunder de to perioder hvor der er foretaget hyppige tankmælksprøver.

### *Besætning 1*

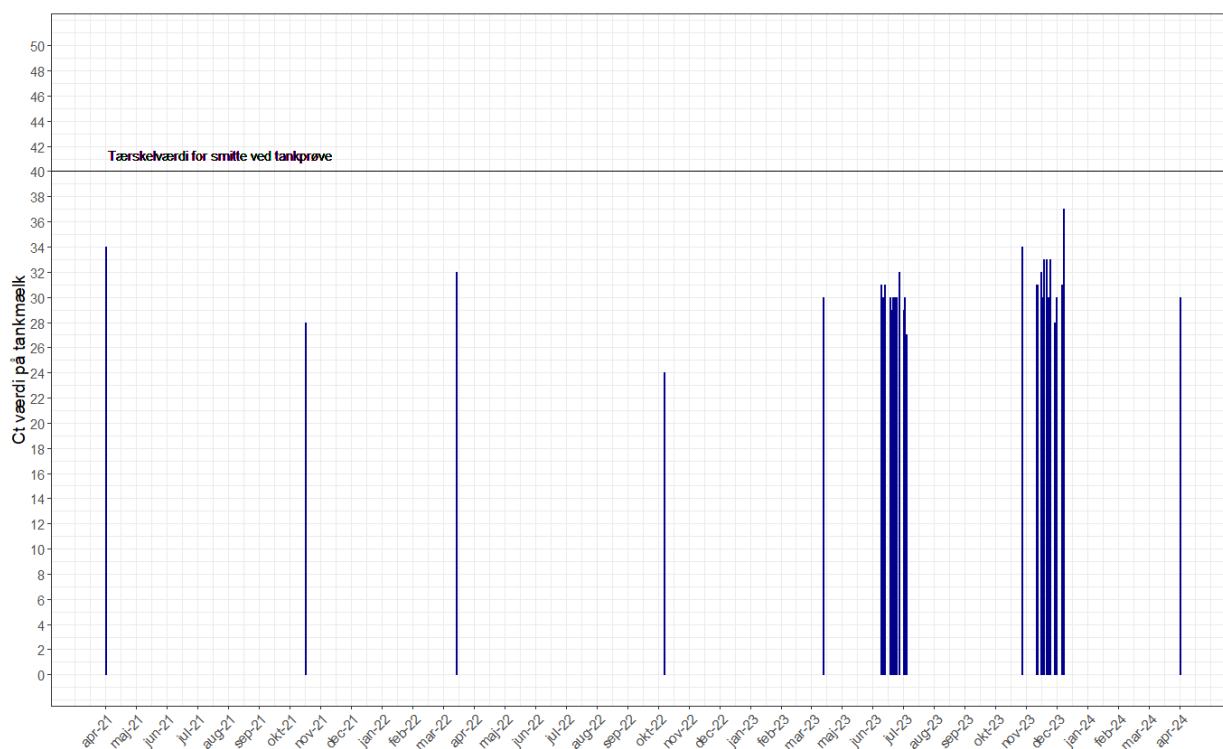
Besætning 1 har en besætningsstørrelse på 143 årskøer og leverer ca. 7.600 kg mælk hver anden dag. For besætningen er der på intet tidspunkt i den pågældende periode fundet en Ct-værdi på tankmælksprøven der kommer op på tærskelværdien for på Ct 40, som angiver at der ikke er fundet B-streptokokker i tankmælken. Der ses dog variationer i Ct-værdien fra hhv. 24 - 37 – også i perioden med de hyppige prøveudtagninger (Figur 3). I samme periode er der fundet flest individprøver smittet med B-streptokokker i starten af perioden. Siden primo 2023 er der ikke fundet én eneste smittet prøve på individniveau ved goldkopprøver (Figur 1). Men der er stadig Ct-værdier under 40 i samme periode for tankmælksprøverne. Det skyldes sandsynligvis at der er fundet 4 prøver som er positive for B-streptokokker ved dyrkning af individuelt udtagede prøver (Figur 2), i samme periode hvor der ingen positive goldkopprøver er. At dømme ud fra disse data for denne besætning ser det ud til at et enkelt positiv fund af B-streptokokker på enkeltdyrsniveau ser ud til at kunne være nok til at kunne genfinde det i tankmælksprøven på en besætning med ca. 150 køer.



Figur 1. Antal individprøver som er smittet med B-streptokokker, i forhold til alle prøver for besætning 1.



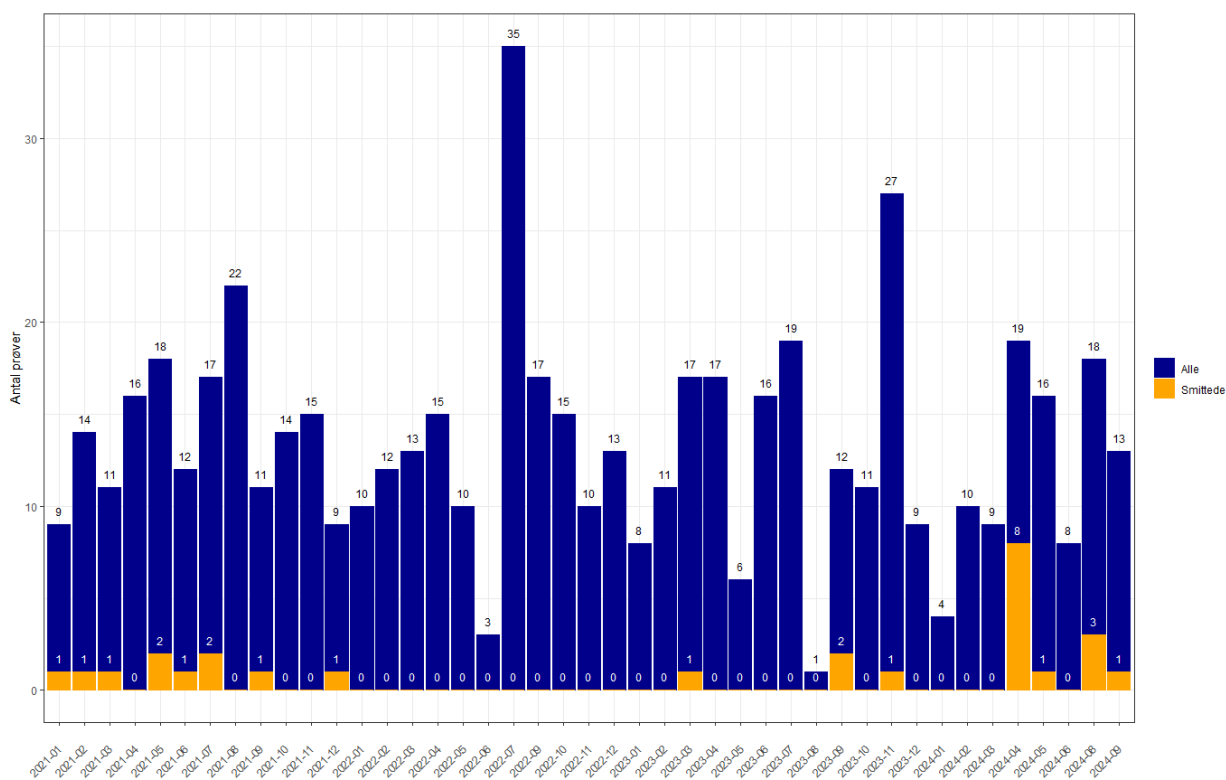
Figur 2. Antal dyrknings svar fra individuelt udtagede mælkeprøver, som er positiv for B-streptokokker pr. måned for besætning 1.



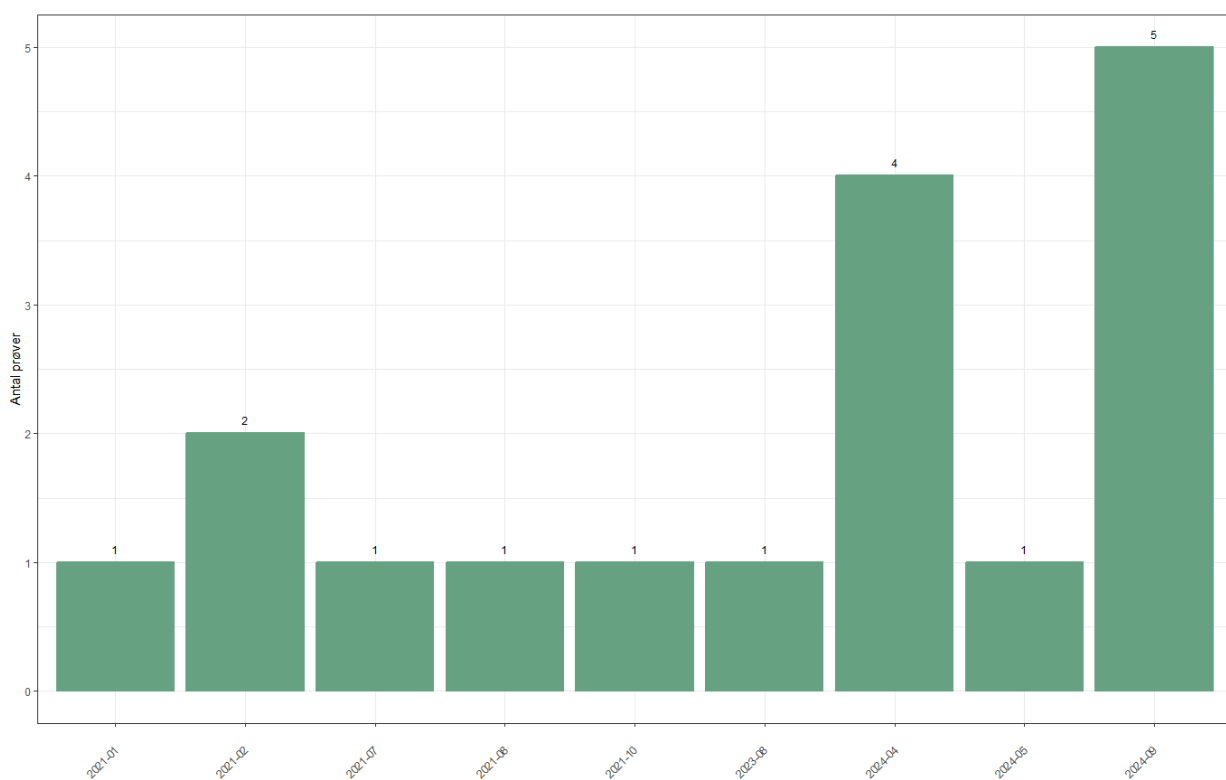
Figur 3. Ct-værdierne for de tankmælksprøver, herunder de to perioder hvor der er foretaget hyppige tankmælksprøver for besætning 1.

### Besætning 2

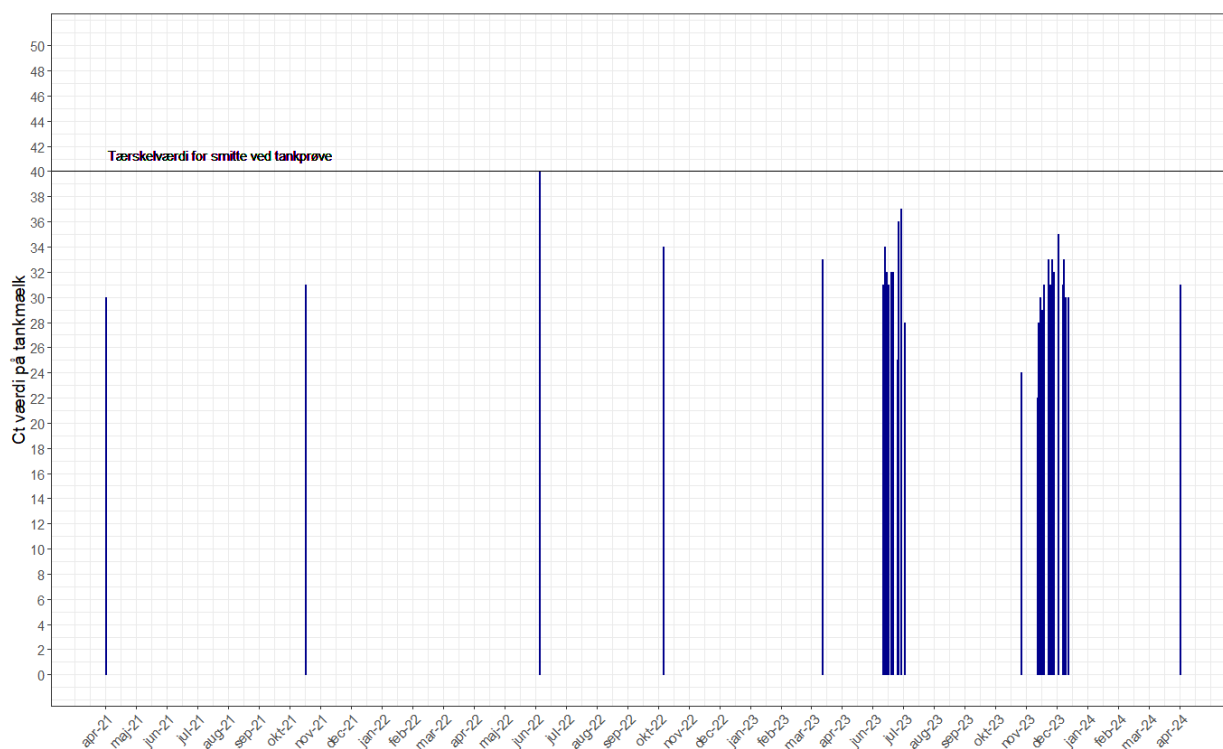
Besætning 2 har en besætningsstørrelse på 243 årskøer og leverer ca. 14.000 kg mælk hver anden dag. For besætningen er der på en enkelt gang i den pågældende periode fundet en Ct-værdi på tankmælksprøven der kommer op på tærskelværdien for på Ct 40, hvilket sker i medio 2022. I perioden varierer Ct-værdien fra hhv. 22 - 40 – også i perioden med de hyppige prøveudtagninger (Figur 6), hvor der er stor variation i Ct-værdien mellem afhentningsdage som ligger tæt op ad hinanden. I medio 2022, hvor tankmælksprøven er fundet fri af B-streptokokker, er der i samme periode heller ikke fundet positive individprøver.



Figur 4. Antal individprøver som er smittet med B-streptokokker, i forhold til alle prøver for besætning 2.



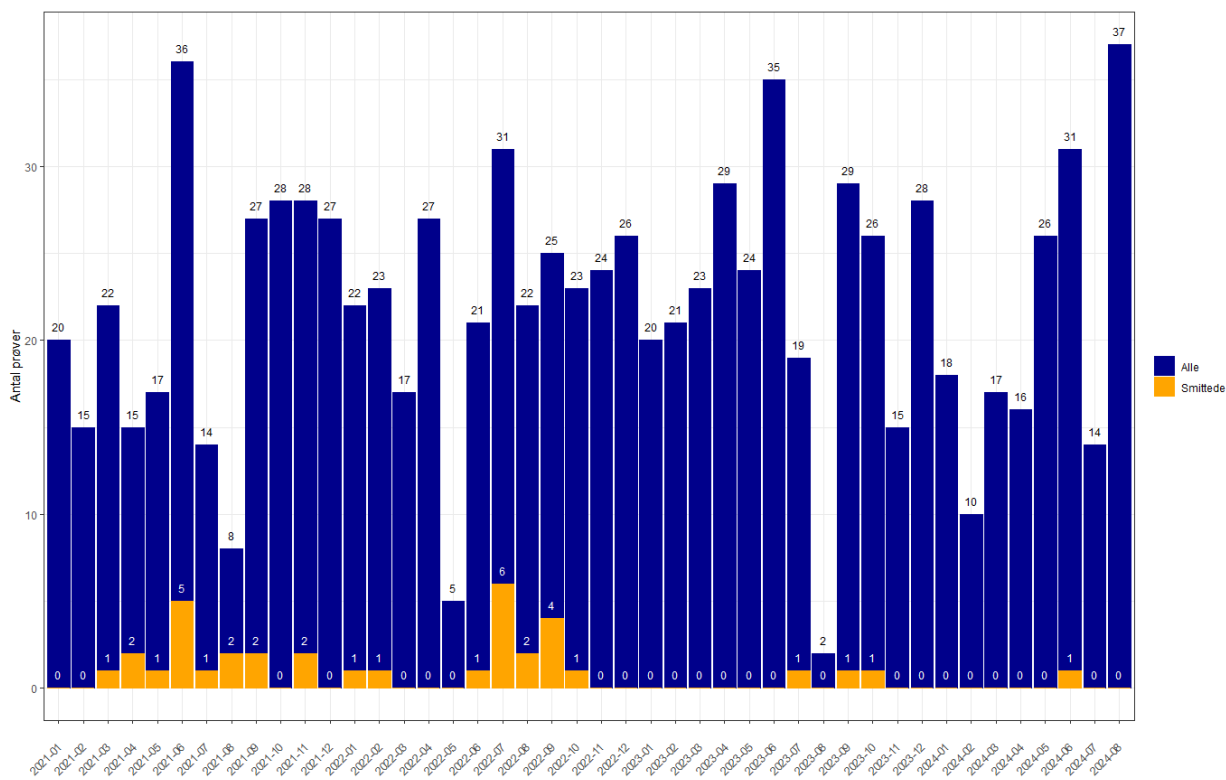
Figur 5. Antal dyrkningsvar fra individuelt udtagede mælkeprøver, som er positiv for B-streptokokker pr. måned for besætning 2.



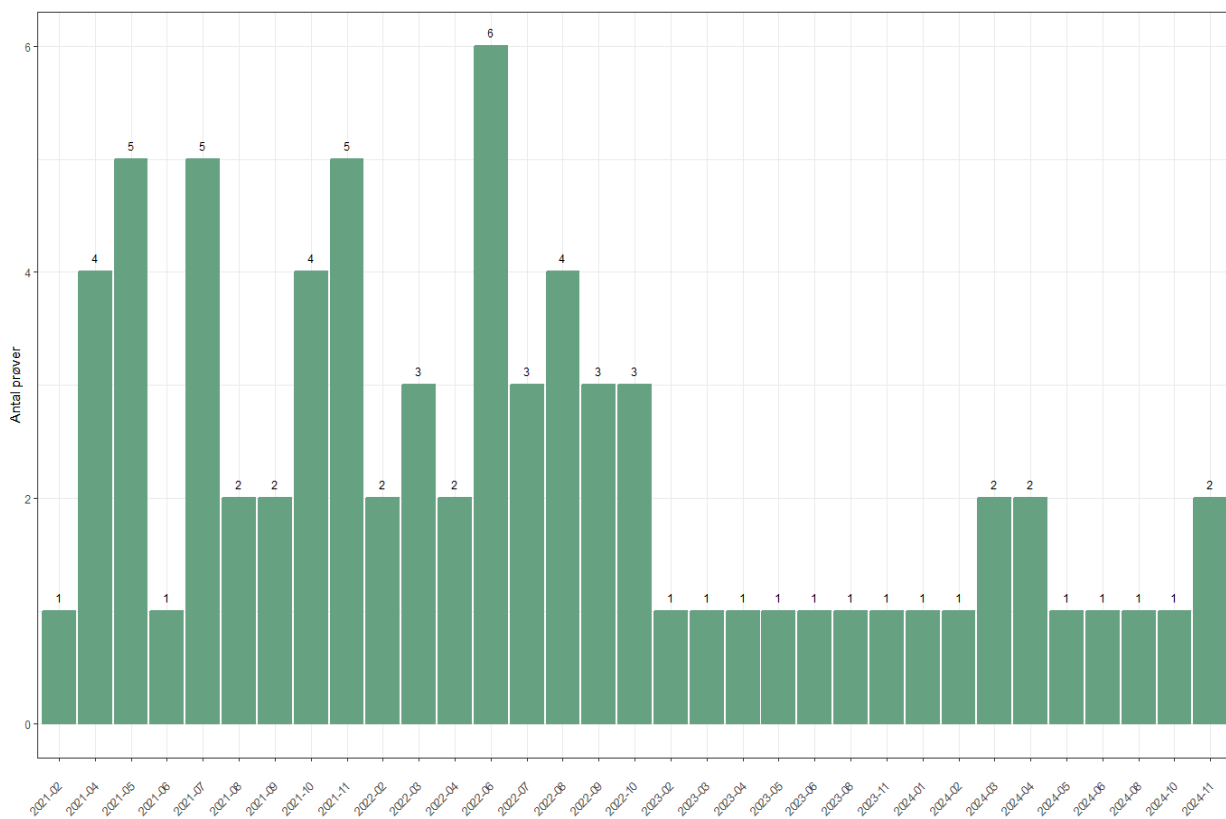
Figur 6. Ct-værdierne for de tankmælksprøver, herunder de to perioder hvor der er foretaget hyppige tankmælksprøver for besætning 2.

### Besætning 3

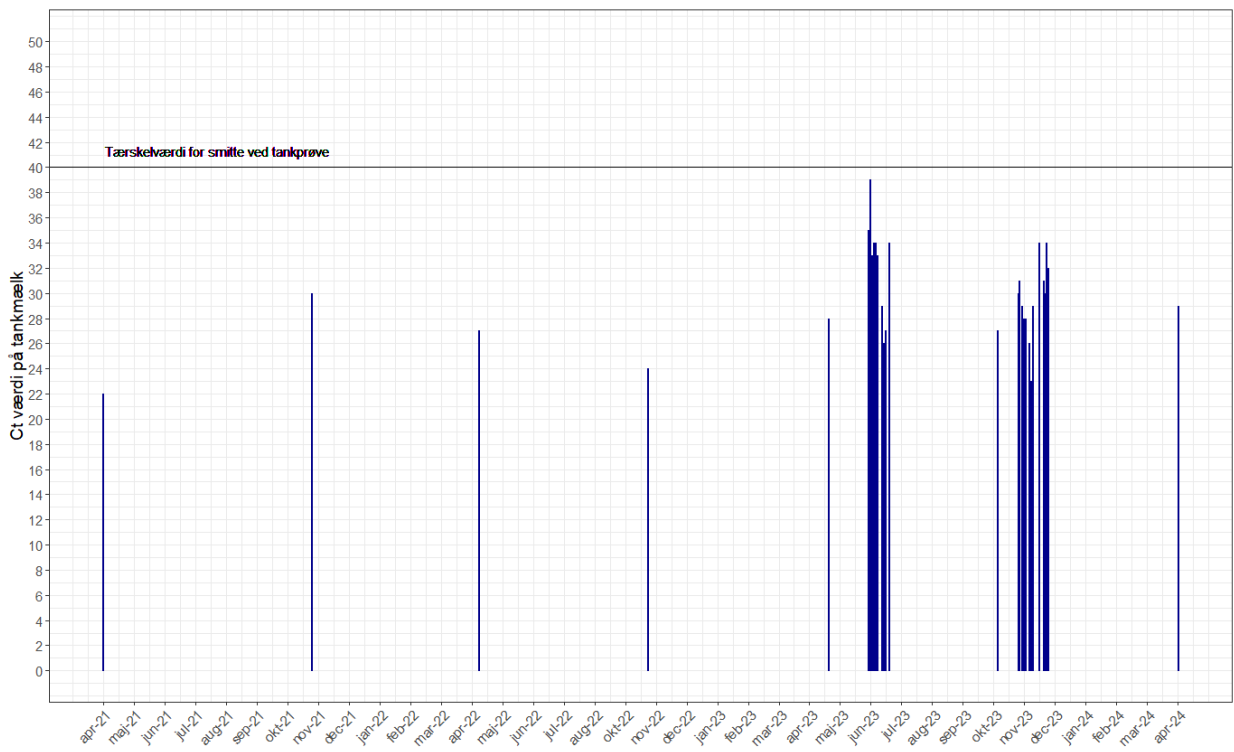
Besætning 3 har en besætningsstørrelse på ca. 300 køer som leverer ca. 20.000 kg mælk hver anden dag. Alle tankmælksprøver er under Ct-værdi 40 i hele perioden – med variation mellem 21 – 39 (Figur 9). I perioden bliver der færre positive individprøver både ved dyrkningssvar (Figur 8) og PCR-analyse (Figur 7). Til trods for at der findes få smittede køer i slutningen af perioden, så er tankmælksprøverne stadig positiv for B-streptokokker. Det ser således ud til at få smittede køer kan give udslag i positive tankmælksprøver for B-streptokokker.



Figur 7. Antal individprøver som er smittet med B-streptokokker, i forhold til alle prøver for besætning 3.



Figur 8. Antal dyrkningsvar fra individuelt udtagede mælkeprøver, som er positiv for B-streptokokker pr. måned for besætning 3.



Figur 9. Ct-værdierne for de tankmælksprøver, herunder de to perioder hvor der er foretaget hyppige tankmælksprøver for besætning 3.