

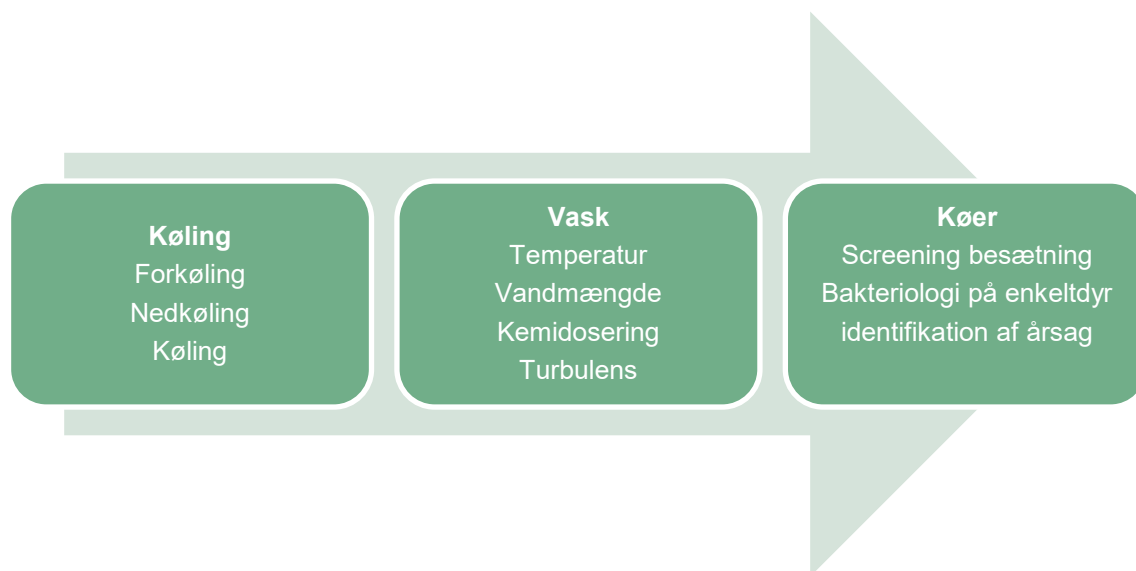
Vejledning til udpegning, udtagning, analyse og tolkning af kimtalsprøver på køer inficeret med smitsom mastitis bakterier	Ansvarlig	mifa
	Oprettet	16-12-2025
	Side	1
Projekt: 105083 Sikker diagnostik i B-streptokokbesætninger		

Introduktion - måling af kimal på ko-niveau

Måling af kimal på enkeltkøer er et værktøj til at identificere køer, der udskiller bakterier i mælken i et omfang, som potentielt kan påvirke tankmælkens samlede kimal. Hvor tankmælkens kimal normalt anvendes som en samlet indikator for mælkens hygiejniske kvalitet, giver prøvetagning på enkeltkøer mulighed for at spore kilderne til forhøjede kimal mere præcist. Der er meget lidt viden om udskillelse af bakterier fra køer som påvirker kimaltallet, men det er fortrinsvis *Strep. spp.* (Tassi et al., 2013; Mays et al., 2017; Gomes et al., 2024).

Kimtalsmålinger på individniveau er særligt relevant i situationer, hvor det ikke er muligt at forklare forhøjede kimal ud fra fejl på malkesystem, rengøring eller køling som illustreret i figur 1. vigtige elementer for identifikation af kimal er hygiejne i koens miljø og management rutiner som hygiejne i senge og brug af patteplejemidler før og efter malkning (Piepers et al., 2014). Ved at analysere mælk fra enkeltkøer – enten fra alle dyr eller udvalgte grupper som celletalskøer – kan man få indblik i variationen i bakterieudskillelse mellem køer og identificere dyr med vedvarende eller periodisk høj udskillelse. Dette er vist AP3 i "Sikker diagnostik i B-streptokokbesætninger" hvor tilhørende projektnotat beskriver problematikken.

Denne viden kan bruges som grundlag for målrettede tiltag, såsom behandling, sanering eller forbedring af yversundheden. Det er dog vigtigt at være opmærksom på, at bakterieudskillelsen kan være svingende over tid, og at resultaterne derfor bør tolkes med forsigtighed og i sammenhæng med andre sundheds- og kvalitetsdata fra besætningen.



Figur 1: Tidslinje for håndtering af kimalsproblemer

Metoder til måling af kimal

Ved måling af kimal hos enkeltkøer kan anvendes en kombination af mikrobiologiske og evt. molekylærbiologiske metoder til at bestemme både det samlede kimal og identiteten af de bakterier, der udskilles. Nedenfor er kort beskrevet de mest almindelige metoder som anvendes til analyse af kimal:

Standard kimtalsmåling (Total bakterietal ved 30°C)

Metode: Pladeudlægning af mælk på et medium efter standardiseret fortynding, efterfulgt af inkubation ved 30°C i 72 timer.

Formål: Bestemmer det samlede antal levende, aerobe bakterier i mælkeprøven.

Anvendelse: Bruges som screeningsmetode for at identificere køer med forhøjet bakterieudskillelse.

Kimtalsmålinger Flowcytometri

Metode: Flowcytometri er en automatisk, optisk metode til at tælle bakterier i mælk

Formål: At måle det totale bakterieindhold i mælk hurtigt og præcist og dermed **overvåge mælkens kvalitet** i realtid – på ko og tankniveau

Anvendelse: Bruges som screeningsmetode for at identificere køer med forhøjet bakterieudskillelse

Kvantitativ bakteriologisk dyrkning

Metode: Udsåning af mælk på selektive og ikke-selektive medier efterfulgt af artsidentifikation baseret på morfologi og biokemiske tests.

Formål: Identificerer og kvantificerer specifikke bakterier, fx *S. uberis*, *S. agalactiae*, *S. aureus* m.fl.

Anvendelse: Giver information om, hvilke bakterier der er til stede, og i hvilke mængder – relevant for vurdering af smitekilder og yversundhed.

PCR

Metode: Påvisning af bakterielt DNA i mælkeprøver ved hjælp af arts- eller gruppe-specifikke primers.

Formål: Hurtig og sensitiv identifikation af specifikke bakteriearter, herunder patogene mastitisbakterier.

Anvendelse: Anvendes, når hurtig og præcis artsbestemmelse er nødvendig, især ved lavt bakterietal eller blandingsinfektioner.

MALDI-TOF MS®

Metode: Identifikation af bakteriearter baseret på deres proteinprofil efter dyrkning.

Formål: Hurtig og præcis artsbestemmelse af isolerede bakterier.

Anvendelse: Supplerer bakteriologisk dyrkning og anvendes typisk på laboratorier med høj kapacitet.

Fordele og ulemper ved metoderne

Herunder er en opsummering af fordele og ulemper ved de mest anvendte analysemetoder til måling af kimtal og bakterieidentifikation hos enkeltkøer, med henblik på at støtte beslutningstagning i forhold til diagnostik, behandling og forebyggelse af yverinfektioner som giver kimtalsproblemer. Oversigten omfatter både traditionelle laboratoriemetoder og nyere, hurtige tests, og giver et overblik over faktorer som nøjagtighed, omkostninger og anvendelighed i praksis.

Standard kimtalsmålinger (Total bakterietal ved 30°C)

Fordele

Simpel og velkendt metode
Relativt billig og let at udføre
Egnet som screeningsværktøj

Ulemper

Giver ikke information om bakteriearter
Lang svartid (typisk tre dage)
Kan overse langsomt voksende eller krævende bakterier

Kvantitativ bakteriologisk dyrkning

Fordele

Identificerer specifikke bakterier
Kvantificering muligt (CFU/ml)
Relevant ift. yversundhed og smittevurdering

Ulemper

Tidskrævende
Ikke alle bakterier vokser på almindelige medier
Kræver korrekt prøvetagning og transport

PCR på ydelseskontrol

Fordele

Hurtig – resultater ofte på 1 dag
Høj følsomhed – påviser selv små mængder DNA
Nem at udtage automatisk

Ulemper

Forurennet ved udtagning på ydelseskontrol
Forurennet fra pattehud / yver ved udtagning
Påviser både levende og døde bakterier (giver falsk billede)

MALDI-TOF MS®

Fordele

Hurtig og præcis artsidentifikation
Velegnet til komplekse bakterieprofiler
Høj kapacitet og lav driftsomkostning pr. prøve

Ulemper

Kan kun anvendes efter dyrkning af bakterier
Kræver adgang til specialiseret laboratorieudstyr
Begrænset til bakterier, der findes i referencebiblioteket

Kimtalsmålinger Flowcytometri (Fossomatic)

Fordele

Automatisk tilgængelig via ydelseskontrol
Hurtigt svar
Lav pris og høj tilgængelighed

Ulemper

Måler somatiske celler ikke bakterier
Forurening af prøver ved automatisk udtagning
Kan ikke finde årsagen til kimtallet

Sammenfatning – hvornår bruges hvad?

For at opnå en effektiv og målrettet indsats i forhold til bakteriel overvågning og sygdomsforebyggelse i besætningen, anvendes følgende metoder tilpasset de enkelte formål:

- **Screening for højt kimtal** foretages ved hjælp af **standard kimtalsmålinger**, hvilket giver en indikation af det samlede bakterieniveau i mælken.
- **Identifikation af bakterietyper** sker gennem **kvantitativ dyrkning**, som muliggør vurdering af både bakterieforekomst og -mængde.
- **Speciesbestemmelse** udføres med **MALDI-TOF MS® efter dyrkning**, hvilket giver en præcis artsidentifikation af de isolerede bakterier.

- **Udvælgelse af prøvedyr** baseres på **celletalsmålinger via ydelseskontrol**, som hjælper med at identificere dyr med forhøjet celletal, der kan være indikator for infektion.

Udpegning af køer til undersøgelse

Herunder et forslag til en strategi for måling af kintal hos enkeltkøer i en malkekvægbesætning. Strategien er særligt relevant i situationer, hvor der observeres forhøjet tankkintal uden en umiddelbar og oplagt forklaring relateret til malkeudstyr eller køling. Formålet er, at identificere eventuelle individuelle køer, som bidrager uforholdsmæssigt til kintallet, og derved målrette indsatsen mod forbedret mælke kvalitet gennem systematisk prøvetagning, analyse og opfølgning.

Strategi for identifikation af køer med forhøjet kintal

Formål:

- At identificere enkeltkøer, som udskiller bakterier i mælken og påvirker tankens samlede kintal.
- At skabe grundlag for en målrettet forebyggende indsats (fx behandling, udsætning, yversundhedstiltag).

Indledning

- Vurder hygiejne i koens nærområde
- Foretag yverhygiejne score – identificer en status på hygiejneniveau ved køerne
- Analysér tankkintal og celletal over tid for at vurdere udviklingen og evt. mønstre.
- Vurder den mælkeprøver fra akut kliniske tilfælde, der er undersøgt ved mikrobiologi på et anerkendt laboratorium

Udvælgelse af køer til prøvetagning

- Start med målrettet prøveudtagning:
 - Celletalskøer (>400.000 celler/ml) udvalgt fra seneste ydelseskontrol.
 - Køer med klinisk mastitis eller tilbagevendende yverproblemer.
 - Hvis der findes en boks med aflastning af køer strøet med halm
- Dette suppleres med hygiejnescore af køerne

Udvælgelse af hotspots i miljøet til prøvetagning

- Start med målrettet prøveudtagning:
 - Omkring vandkar
 - Fra strøelsen i senge ved malkende køer

Udtagning af kintalsprøver på enkeltkøer

- Udtag enkeltkirtelprøver fra alle kirtler (prøverne blandes på laboratorium), udvælg evt. kirtler fra sensordata eller CMT-test
- Prøver skal udtaget sterilt.
- Køl eller frys prøver straks efter udtagning og send til laboratorie.

Fortolkning og opfølgning på analyseresultater

- Vurdér resultater i sammenhæng med celletal, koens historie og kliniske tegn.
- Fokusér på køer med vedvarende høj bakterieudskillelse – ikke enkeltmålinger.
- Tag stilling til:

- Behandling (hvis specifik bakterie og følsomhed kendes)
- Særmalkning eller udsætning
- Opfølgende prøver ved tvivl eller nyinfektioner

Langsigtet strategi

- Indfør rutine for prøvetagning ved høje tankkimal – information om forhøjet kimal alene løser ikke problemet
- Fokusér på forebyggelse via yversundhed: goldbehandling, hygiejne, korrekt malketeknik.
- Dyrkning af alle akut kliniske mastitistilfælde og iværksæt tiltag i samråd med besætningsdyrlægen.

Tolkning af analyseresultater

Et normalt kimal i mælk fra en sund malkeko ligger generelt under 5.000 kim CFU/mL. Men information om kimal er ikke tilstrækkelig til at finde årsagen til kimallet eller træffe en korrekt beslutning

Litteratur

R. Tassi, T.N. McNeilly, J.L. Fitzpatrick, M.C. Fontaine, D. Reddick, C. Ramage, M. Lutton, Y.H. Schukken, R.N. Zadoks

Strain-specific pathogenicity of putative host-adapted and nonadapted strains of *Streptococcus uberis* in dairy cattle. J. Dairy Sci., 96 (2013), pp. 5129-5145 <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6741>

S. Maye, J. Flynn, C. Stanton, G.F. Fitzgerald, P.M. Kelly

Bovine intra-mammary challenge with *Streptococcus dysgalactiae* spp. *dysgalactiae* to explore the effect on the response of complement activity J. Dairy Res., 84 (2017), pp. 293-299 <https://doi.org/10.1017/S0022029917000292>

Gomes, A.F.N.; de Castro, F.d.F.A.; Silva, M.R.; Lange, C.C.; Ribeiro, J.B.; Guimarães, A.d.S.; de Souza, G.N. Interference of *Streptococcus agalactiae* Blitz Therapy in *Staphylococcus aureus* Microbiological Diagnosis in Subclinical Bovine Mastitis. Vet. Sci. **2024**, *11*, 233. <https://doi.org/10.3390/vetsci11060233>

Piepers, S., Zrimšek, P., Passchyn, P., & De Vlieghe, S. (2014). Manageable risk factors associated with bacterial and coliform counts in unpasteurized bulk milk in Flemish dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3409–3419. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7203>