

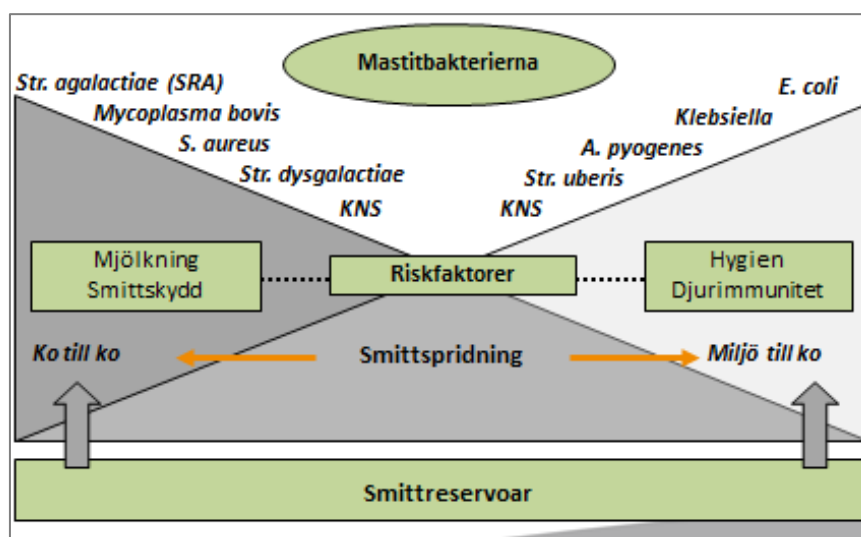
## PCR Mastitanalyser

### Vad är PCR?

PCR står för *Polymerase Chain Reaction* och syftar på att man med denna teknik i omgångar duplicerar en känd DNA sekvens unik för det man vill analysera i ett biologiskt prov. På så vis är det möjligt att identifiera mycket små mängder av såväl bakterier som virus och parasiter. *PCR Mastitanalyser* identifierar bakterie-DNA i provet och bakterierna i provet behöver därför inte vara levande för att upptäckas. Det går att avläsa testen redan efter 4-5 timmar eftersom ingen odling av bakterierna är nödvändig innan resultatet erhålls.

Prover för PCR behöver inte tas ut helt sterilt för att kunna analyseras men säkerheten i analysen ökar avsevärt ju mindre förorenat provet är. Eftersom bakterietillväxt som kan ske i provet gör resultatet svårtolkat skall helst provrör med konserveringsmedlet bronopol användas. Detta innebär också att analys kan ske på prover från en ordinarie provmjölkning, förutsatt att de nya större provkopporna med streckkod används. I ett prov som tagits icke-sterilt (t ex via provmjölkningen) bör förekomst av miljöbakterier tolkas med stor försiktighet.

### Olika bakterier sprids på olika sätt



I figuren återfinns typiska kobundna bakterier långt ut till vänster och typiska miljöbundna bakterier långt ut till höger. De kobundna bakterierna sprids oftast i nära anslutning till mjölkning från ko till ko. De miljöbundna sprids istället främst i tidsperioden mellan mjölkningarna från miljö till ko.

De kobundna bakterierna leder ofta till kroniska (långvariga) infektioner och ständigt förhöjt celltal hos drabbade kor. De miljöbundna infektionerna är oftast mer kortvariga och drabbar olika kor vid varje tillfälle. Smittrycket av de kobundna bakterierna kan minskas genom att slå ut kroniska smittbärare, men förebyggande åtgärder för att minska smittöverföring mellan kor är också nödvändigt eftersom det i praktiken är svårt att identifiera och slå ut alla smittbärare.

## Dessa bakterier ingår i analysen

Vid PCR Mastitanalys på provmjölkkningsprover analyseras mjölken för förekomst av följande bakterier:

| Namn                            | Smittspridning            | Förkortning |
|---------------------------------|---------------------------|-------------|
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | Ko till ko                | Sr. a.      |
| <i>Mycoplasma bovis</i>         | Ko till ko                | M. bov.     |
| <i>Staphylococcus aureus</i>    | Ko till ko                | S. a.       |
| <i>Streptococcus uberis</i>     | Ko till ko, miljö till ko | Sr. u.      |

Vid PCR Mastitanalys på serviceprover kan beställaren välja mellan samma analyser som på provmjölkkningsprover (PCR-4, se ovan) eller analys av 15 olika mikororganismer (PCR-16):

| Namn                                                    | Huvudsaklig smittspridning | Förkortning |
|---------------------------------------------------------|----------------------------|-------------|
| <i>Streptococcus agalactiae</i>                         | Ko till ko                 | Sr. a.      |
| <i>Mycoplasma bovis</i>                                 | Ko till ko                 | M. bov.     |
| <i>Staphylococcus aureus</i>                            | Ko till ko                 | S. a.       |
| <i>Streptococcus dysgalactiae</i>                       | Ko till ko                 | Sr. d.      |
| <i>Staphylococcal <math>\beta</math>-lactamase gene</i> | Egenskap hos stafylokocker | pc +        |
| <i>Corynebacterium bovis</i>                            | Ovanlig mastitframkallare  | C. bov      |
| <i>Streptococcus uberis</i>                             | Ko till ko, miljö till ko  | Sr. u.      |
| <i>Staphylococcus species</i>                           | Ko till ko, miljö till ko  | KNS         |
| <i>Enterococcus species</i>                             | Miljö till ko              | Ent. spp    |
| <i>Trueperella pyogenes</i>                             | Miljö till ko              | T. pyog.    |
| <i>Serratia marcescens</i>                              | Miljö till ko              | Ser. mar.   |
| <i>Klebsiella species</i>                               | Miljö till ko              | Kl. spp     |
| <i>Escherichia coli</i>                                 | Miljö till ko              | E. c        |
| <i>Mycoplasma species</i>                               | ?                          | M spp       |
| <i>Prototheca species</i>                               | ?                          | Alger       |
| Jästvamp                                                | Miljö till ko              | Jäst        |

## PCR på tankmjölk

PCR-analysen lämpar sig väldigt väl för att övervaka förekomsten av den smittsamma streptokocken *Strep agalactiae* i tankmjölk. Bakterien förekommer i ca 4% av Sveriges besättningar och kommer ofta in i en besättning via inköp av djur (inklusive kvigor), men kan också smitta genom användning av gemensam utrustning på till exempel utställningar. Ett årligt tankprov rekommenderas för alla besättningar och kvartalsvis prov rekommenderas för besättningar som någon gång köper in djur eller åker på utställningar. Läs mer om Säker livdjurshandel på Växa Sveriges hemsida om du är intresserad av regelbunden provtagning av tankmjölk.

För enstaka prov på tankmjölk används samma rutin som vid serviceprov på enskilda kor. **PCR-4** är lämpligt att välja för analys av tankmjölk.

## Provsvarsredovisning

PCR-tekniken skall främst utnyttjas för att identifiera förekomst av *kobundna mastitbakterier*. Resultaten gällande kobundna bakterier redovisas därför med förekomst, mängd samt grön, gul eller röd smiley.

*Miljöbundna mastitbakterier* kan lika gärna härröra från stallmiljön och bör därför i första hand ses som en markör för kornas renhet och stallets hygien. Resultaten anges som förekomst och mängd.

Resultatet presenteras i Juverhälsa på nätet

| Beskrivning av provsvar             | Symbol<br>Ko-Ko                                                                   | Symbol<br>Övriga |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| Bakterie ej påvisad                 |  | -                |
| Osäker analys, omprov rekommenderas |  | ?                |
| Bakterie påvisad, sparsam förekomst |  | ◆                |
| Bakterie påvisad, måttlig förekomst |  | ◆◆               |
| Bakterie påvisad, riklig förekomst  |  | ◆◆◆              |

## Resistenta bakterier

*PCR Mastitanalyser* innehåller även ett värde för *pc+*, vilket beskriver stafylokockers förmåga att bilda enzymet *β-laktamas* som bryter ner penicillin. Denna egenskap kan finnas både hos de ofarligare *koagulasnegativa stafylokockerna (KNS)* och hos *Staphylococcus aureus*. Det är ofta svårt att avgöra vilken av bakterietyperna som har egenskapen i ett enskilt prov. Kontakta därför din juverhälsoveterinär för att avgöra vad värdet betyder i din besättning.

## Hur kan man använda *PCR Mastitanalyser*?

Metoden är förstahandsval vid smittsanering av besättningar som drabbats av *Streptococcus agalactiae* eller *Mycoplasma bovis*. Särskilt välkommet är möjligheten att kunna övervaka gården med hjälp av tankmjölksprov efter det att alla smittbärare har avlägsnats eller behandlats framgångsrikt.

Provtagning av nykalvade kor, prov inför sinläggning liksom utvärdering av mastitbehandlingar är andra användningsområden där metoden kan vara värdefull. Vid akuta juverinflammationer eller odling av celltalskor skall PCR inte användas eftersom metoden bara upptäcker ett begränsat antal bakterier och man inte kan avgöra förekomst av resistens.

## Manuell provtagning

Vid provtagning som inte sker via provmjölkingsprov skall nedanstående rekommendationer följas. Till Eurofins måste du använda ett rör med streckkod, t ex ett promjölkingsrör eller provtagningsutrustning som tillhandahålls av Eurofins (<https://www.eurofins.se/bestaell-online-material/bestaell-mjoelk-och-mjoelkproduktion/formulaer-hf-kokontroll/>).

**Tankmjölksprov\***

- Tvätta händerna noga innan provtagning och ta på handskar
- Märk ett sterilt rör med bronopol med besättningsnummer och datum
- Tanken bör innehålla en hel mjölkning vid provtagningen
- Sätt på omröraren i tanken under minst 10 min, stäng därefter av omröraren
- Tappa ur 5-10 l mjölk från tappkranen i en ren hink och häll tillbaka i tanken
- Samla därefter upp lite mjölk från tappkranen i en engångsmugg eller i ett helt rent kärl
- Häll över mjölk i ett sterilt 10 ml mjölkrör med bronopol
- Fyll i remiss

\* Om mer än 50-100 kor mjölkats i tanken kan känsligheten vara för låg för att upptäcka enstaka smittade kor i gruppen

**Individprover\*\***

- Tvätta händerna noga innan provtagning och ta på handskar
- Märk ett sterilt rör med bronopol med individ-, besättningsnummer och datum
- Mjölka 3-4 strålar från varje spene på tillsammans minst 10-15 ml i kontrollkärl
- Tvätta spenspetsarna med en bomullstuss fuktad i 70 % alkohol. Ta en ny bomullstuss för varje juverfjärdedel, vänta ca en halv minut så att spriten avdunstar
- Mjölka en stråle från varje juverdel i en engångsmugg eller i ett helt rent kärl
- Häll över mjölk i ett sterilt 10 ml mjölkrör med bronopol
- Fyll i remiss

\*\*Orimligt, oväntat eller osäkert analysvar skall bedömas sammanvägt med resultatet från ett omprov

Har du frågor om *PCR Mastitanalys* kontakta

Veterinär Åsa Lundberg, Växa

010-471 06 47; E-post: asa.lundberg@vxa.se