



Effekten af afskylning af pattekopperne med Airwash-systemet på bakterieforekomst og yversundhed

*Automatic backflushing of teatcup liners
by the Airwash system*

*Lene Eriksen og Morten Dam Rasmussen
afd. for Forsøg med Kvæg og Får*

STATENS HUSDYRBRUGSFORSØG

**Forskningscenter Foulum, Postboks 39, 8830 Tjele
Tlf. 89 99 19 00. Fax 89 99 19 19**

**Forskningscenter Bygholm, Postboks 536, 8700 Horsens
Tlf. 75 60 22 11. Fax 75 62 48 80**

Statens Husdyrbrugsforsøg har til formål at gennemføre forskning samt indsamle og opbygge viden af betydning for erhvervsmæssigt husdyrbrug og jordbrugsteknik i Danmark. I forskningen skal der lægges vægt på ressourceudnyttelse, dyrevelfærd, internt og eksternt miljø, produkternes kvalitet og konkurrenceevne samt en hurtig og sikker formidling af resultaterne til brugerne.

Institutionen er opdelt i fem forskningsafdelinger samt et Centrallaboratorium, en Afdeling for Landbrugsdrift og et Sekretariat. Forskningsafdelingerne omfatter tre dyreartsorienterede afdelinger: Afd. for Forsøg med Kvæg og Får, Afd. for Forsøg med Svin og Afd. for Mindre Husdyr samt to tværdisciplinære afdelinger: Afd. for Dyrefysiologi og Biokemi samt Afd. for Jordbrugsteknik.

Husdyrforskningen finder fortrinsvis sted på Forskningscenter Foulum, mens den jordbrugstekniske forskning udføres på Forskningscenter Bygholm. Herudover har institutionen adgang til en række privat-/organisationsejede forsøgsstationer m.m.

Forskningsresultaterne publiceres i internationale videnskabelige tidsskrifter samt i publikationer udgivet af Statens Husdyrbrugsforsøg. Abonnement på Årsrapporter, Forskningsrapporter, Beretninger og Informationsblad kan tegnes ved direkte henvendelse til ovenstående adresse.

NATIONAL INSTITUTE OF ANIMAL SCIENCE

**Research Centre Foulum, P.O. Box 39, DK-8830 Tjele
Tel. +45 89 99 19 00. Fax +45 89 99 19 19**

**Research Centre Bygholm, P.O. Box 536, DK-8700 Horsens
Tel. +45 75 60 22 11. Fax +45 75 62 48 80**

The aim of the National Institute of Animal Science is to carry out research and accumulate knowledge of importance to animal husbandry and agricultural engineering. In the research great importance is attached to the utilization of resources, environment, animal welfare and to the quality and competitiveness of the agricultural products and a rapid and efficient dissemination of the results to the users.

The institute comprises five research departments: Dept. for Research in Cattle and Sheep, Dept. for Research in Pigs, Dept. for Small Farm Animals, Dept. for Animal Physiology and Biochemistry, and Dept. for Agricultural Engineering. Service departments include a Central Laboratory, a Department for Farm Management and Services, and a Secretariat.

The technical research takes place at Research Centre Bygholm. The research departments for animal sciences together with management and service departments are located at Research Centre Foulum.

Research results are published in international scientific journals and in publications from the National Institute of Animal Science. For suscription to reports and other publications please contact the above address directly.

Forskningsrapport nr. 25
fra Statens Husdyrbrugsforsøg

Report No. 25

from the National Institute of Animal Science, Denmark

Effekten af afskylning af pattekopperne
med Airwash-systemet på
bakterieforekomst og yversundhed

*Automatic backflushing of teatcup liners
by the Airwash system*

With English summary and subtitles

Lene Eriksen og Morten Dam Rasmussen

Afd. for Forsøg med Kvæg og Får

Forskningscenter Foulum 1994

Manuskriptet afleveret august 1994

Trykt i Frederiksberg Bogtrykkeri a.s 1994

Forord

Nærværende forskningsrapport omhandler afprøvning af et automatisk system (Airwash) til indvendig afskylning af pattekopperne mellem malkning af hver ko. Undersøgelserne er udført som et samarbejde mellem Afdelingen for Forsøg med Kvæg og Får, Danske Mejeriers Fællesorganisation og Dietrich Research & Industry bv, Gorssel, Holland. Firmaet har vederlagsfrit opstillet et Airwash-anlæg på Torstedlund og betalt de udtagne kirtelprøver og celletællinger. Stud. agro. Lene Eriksen har udført undersøgelserne under ophold

ved Afdelingen for Forsøg med Kvæg og Får i perioden februar til august 1993. Undersøgelserne indgår som en del af Lene Eriksens hovedopgave ved Institut for Husdyrbrug og Husdyrsundhed, Den Kgl. og Veterinære Landbohøjskole. Hovedopgaven er publiceret under titlen "Malkning og mastitis. Brydning af smitteveje for mastitis under malkning".

Foulum, oktober 1994
Morten Dam Rasmussen

Indholdsfortegnelse

	Side
Indholdsfortegnelse	3
Contents	4
Sammendrag	5
Summary	6
1 Indledning	7
2 Materiale og metoder	8
2.1 Forsøgsdyr og forsøgsprocedure	8
2.2 Registreringer	9
2.3 Statistiske metoder	11
3 Resultater	13
3.1 Skyllevandsmængde	13
3.2 Bakteriologisk undersøgelse af skyllevand	13
3.3 Kocelletal	15
3.4 Enkeltkirtelprøver	16
3.5 Arbejdsforbrug	22
3.6 Diskussion	22
4 Supplerende undersøgelser	25
4.1 Undersøgelse af skyllevand på Torstedlund	25
4.2 Undersøgelse af skyllevand på Shell-farmen	26
4.3 Test af skyllemetode	28
5 Konklusion	30
Litteratur	31

Contents

	Page
Contents in Danish	3
Contents	4
Summary in Danish	5
Summary	6
1 Introduction	7
2 Material and methods	8
2.1 Animals and experimental treatments	8
2.2 Registrations	9
2.3 Statistical methods	11
3 Results	13
3.1 The amount of flush water	13
3.2 Bacteriologic examinations of flush water	13
3.3 Cell count of individual cows	15
3.4 Quarter milk samples	16
3.5 Manual time spent on flushing	22
3.6 Discussion	22
4 Supplementary investigations	25
4.1 Control of flush water at Torstedlund	25
4.2 Control of flush water at Shell-farmen	26
4.3 Test of flush method	28
5 Conclusion	30
References	31

Sammendrag

Formålet med forsøget var at bestemme mængden af fjernede bakterier fra pattekopperne og indflydelsen heraf på yversundheden ved automatisk afskylning af pattekopperne med lunkent vand og trykluft mellem malkning af hver ko.

I forsøget indgik der i alt 283 SDM køer fordelt på to hold. Forsøgsperioden var 9 uger. Ved malkning af forsøgsgruppen anvendtes Airwash-systemet til afskylning af pattekopperne. Afskylning skete gennem ventiler indsat i de korte mælkeslanger og bestod af en kombination af lunkent vand og trykluft. Sekvensen var vand i 4 sekunder og trykluft i 2 sekunder, gentaget i 30-40 sekunder.

Airwash-anlægget fungerede teknisk set for dårligt i forsøgsperioden. Skyllmængden pr. pattekop var angivet til 75 ml, men anlægget skyllede kun med gennemsnitlig 33,4 ml ved de bakteriologiske undersøgelser. Desuden var der store variationer såvel mellem som indenfor malkesæt. Indføringsvandet var stærkt kontamineret sandsynligvis p.g.a. tilbageløb af mælk i indføringslangerne til pattegummiet. Antallet af bakterier i pattegummiet blev ved afskylningen reduceret med 50% for totalkim, 68% for koliforme bakterier og 61% for *Stafylococcus aureus*.

Afskylningen af pattekopperne mellem malkning af hver ko gav ikke nogen forbedring af yversundheden. Der var ingen tendens til færre inficerede og nyinficerede køer på airwashholdet, hverken med ko- eller miljøafhængige bakterier. Kocelletallet var lidt lavere på airwashholdet, men ved at sammenholde det med celletallet i forperioden var der ingen forskel på holdene. Brugen af Airwash-anlægget krævede ikke ekstra arbejdsforbrug under malkningen.

Anvendelsen af Airwash-systemet kan ikke anbefales på grundlag af denne undersøgelses resultater. Dette kan endvidere antages generelt at være gældende i besætninger med en lav infektionsfrekvens (prævalens) med koafhængige bakterier, eller hvor muligheden for smitteoverførsel med klud og hænder under malkningen ikke søges begrænset.

Efter ombytning af ventiler, indjustering og rengøring af Airwash-anlægget blev der foretaget supplerende undersøgelser. Airwash-anlægget fungerede dog stadig ikke optimalt. Den gennemsnitlige vandmængde var 74 ml pr. pattekop med store variationer mellem malkesæt. De nye ventiler i indføringslangerne holdt tilsyneladende tæt, men totalkim i indføringsvandet var forsat højt. Totalkim i pattekopperne blev reduceret med 68%, koliforme bakterier med 81% og *S. aureus* med 97%.

Reduktionen i totalkim ved afskylning af pattekopperne har ikke indfriet forventningerne, hvorimod reduktionerne i antallet af *S. aureus* bakterier i de supplerende undersøgelser er tilfredsstillende. Såfremt malkesættet i den enkelte besætning er en potentiel smittevej, må det antages, at afskylning af malkesættet ved hjælp af Airwash-systemet kan reducere smittespredning med malkesættet fra ko til ko til et minimum. Erfaringerne viser, at der ved installering og efter kort tids brug af Airwash-anlægget bør sikres at vandtryk, trykluft og skyllevandsmængder er tilstrækkelige. Skyllvandsmængden fra hver enkelt pattekop bør rutinemæssigt kontrolleres (om muligt gerne under malkningen), og ligeledes bør der indarbejdes en rutinemæssig indvendig rengøring af Airwash-anlægget.

Nøgleord: Malkeanlæg, afskylning, yversundhed.

Summary

Automatic back flushing of teat cup liners with water and air reduced the total bacteria count by 50%, coliforms by 68%, and *Staphylococcus aureus* by 61% without having any effect on udder health and cell count.

These are the main results of a 9 week experiment with 283 cows in two groups; a control and an experimental group. The teat cup liners of the experimental group were back flushed with the Airwash system between milking of each cow. The liners were flushed with a combination of compressed air and lukewarm water through small inlet valves placed in the short milk tube. The flushing sequence was water for 4 sec. and compressed air for 2 sec., repeated for 30-40 sec.

The Airwash system did not function technically well during the experiment. The amount of flush water was 33.4 ml per liner during the bacteriological tests contrary to an expected amount of 75 ml. The amount of flush water varied significantly between liner, cluster, and side of the parlour. During the experiment, milk entered through the inlet valves in the short milk tube and back into the leading-in tubes. Consequently, bacterial counts of the flush water increased from the beginning to the end of the experiment. The manual time spent on adjustment of liner position after detachment and activation of the Airwash system did not influence parlour throughput.

The results of our experiment do not support the

use of the Airwash system. This statement may be generalized to herds with a low prevalence of cow dependent bacteria or milking procedures that do not minimize the transfer of bacteria by the hand or by the towel.

Supplementary investigations were performed after insertion of new inlet valves, adjustment and cleaning of the Airwash system. Still, the Airwash system did not function technically optimal. The amount of flush water was 74 ml on an average with significant differences between clusters. The new inlet valves in the short milk tubes seemed to prevent retrograde flow, but water from the leading-in tubes was still contaminated. Total bacteria count was reduced by 68%, coliforms by 81%, and *S. aureus* by 97%.

The reduction in the total number of bacteria was not according to expectations whereas the reductions of *S. aureus* by back flushing during the supplementary investigations were satisfactory. Back flushing of the teat cup liners by the Airwash system is expected to reduce the transfer of contagious bacteria to a minimum and influence the udder health of herds where the milking unit is a potential source of bacteria transfer. The technical function of the Airwash system, including amount of flush water from single teat cups, ought to be checked regularly and preferably during milking. Our experience indicate that inside cleaning of the Airwash system should be done by routine.

Keywords: Machine milking, back flushing, udder health

1 Indledning

Malkesættet kan overføre bakterier fra ko til ko, hvilket kan påvirke yversundheden. Ved stigende besætningsstørrelser er der et øget ønske om større malkekapacitet og derfor en tendens til at automatisere hygiejneforanstaltninger (Hogan et al., 1984). For at minimere risikoen for bakteriespredning via malkesættet, har man tidligere forsøgt at afskylle malkesættet mellem malkning af hver ko. Pattekopperne blev behandlet med vanddamp, vand med forskellige temperaturer cirkulerede gennem malkesættet og pattekopperne blev dyppet i forskellige desinfektionsmidler. Disse metoder har dog enten været dyre at installere eller arbejdskrævende, hvorfor der ofte blev sjusket med udførelsen, og derfor udviklet systemer til automatisk afskylning med desinfektionsmidler og/eller vand gennem malkesættet (Ruffo, 1978; Smith, 1985).

Neave et al. (1969) fandt, at pasteurisering af malkesættet i forhold til en ellers god yverhygiejne reducerede antallet af bakterier på pattehuden og antallet af nyinfektioner med 25%. Ved automatisk afskylning med en jod-opløsning (25 ppm) og uden brug af pattedykning efter malkning er der fundet en reduktion i antallet af nyinfektioner med *S. aureus* og *C. bovis*. Der forekom dog en stigning i

nyinfektioner forårsaget af koagulase-negative stafylokokker og koliforme bakterier. Ruffo (1978) fandt tilsvarende resultater med dypning af malkesættet i en kloropløsning. Smith et al. (1985) fandt ingen effekt på antallet af nyinfektioner forårsaget af stafylokokker på trods af, at afskylningen reducerede antallet i pattekoppen med 98,5%.

Der må i Danmark ikke anvendes desinfektionsmidler til afskylning af malkesættet mellem malkning af hver ko. Med Airwash-systemet blev det angivet, at det var muligt med rent vand og trykluft at fjerne op til 95% af bakterierne i malkesættet (Rider, 1992). Såfremt malkesættet er en potentiel smittekilde i en given besætning, må det formodes, at afskylning vil kunne nedsætte incidensen af nyinfektioner med mastitis og derigennem celletallet.

Formålet med forsøget var at undersøge effekten af automatisk afskylning af pattekopperne med vand og trykluft uden tilsætning af desinfektionsmiddel på:

1. Mængden af fjernede bakterier fra pattekoppen
2. Antallet af nyinfektioner
3. Kocelletallet.

2 Materialer og metoder

2.1 Forsøgsdyr og forsøgsprocedure

Besætningen på Torstedlund blev valgt som forsøgsbesætning ud fra følgende kriterier: malkestald; mulighed for gruppeopdeling; relativt mange køer, i alt 283 SDM køer (laktationsydelse 6555 kg EKM); kirtelprøver forud for antibiotikabehandling havde vist forekomst af *S. aureus*. Sygdomsbehandling i besætningen havde ikke tidligere været systematisk registreret. Generelt blev yversundheden vurderet som rimeligt tilfredsstillende, men tankcelletallet havde været noget svingende omkring 300.000 celler/ml.

Forsøget blev gennemført i perioden fra den 1.4.93 til den 3.6.93. Perioden fra den 3.3.93 indtil forsøgets start blev benyttet som forperiode. Umiddelbart før forsøgets start indgik køer med ulige numre i en kontrolgruppe, og køer med lige numre i en forsøgsgruppe (tabel 1). Nykælvere blev indsat på holdene efter deres nummer.

Ved malkning af forsøgsgruppen anvendtes Airwash-systemet til afskylning af pattekopperne. Afskylningen bestod af en kombination af lunkent vand og trykluft. Sekvensen var vand i 4 sekunder og trykluft i 2 sekunder, gentaget i 30-40 sekunder. Vandmængden var dimensioneret til 75 ml pr. pattekop.

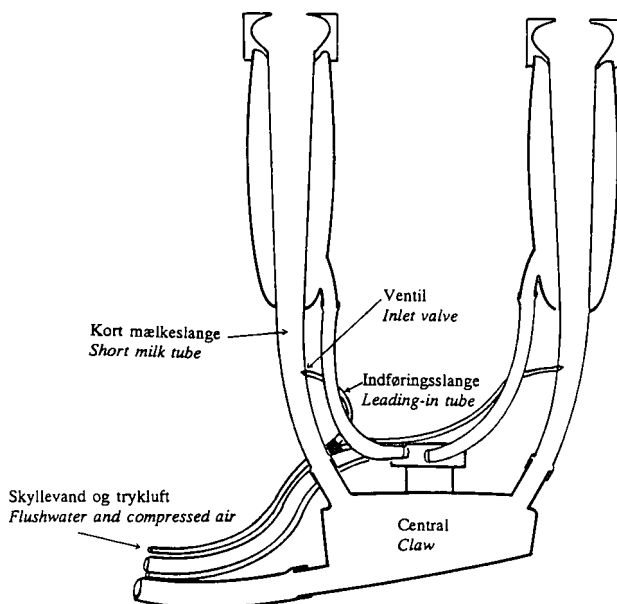
Vand og trykluft blev ført til malkesættet via en separat slange (lang indføringslange), se figur 1. Ved mælkecentralen var der en forgrening således, at der gik en slange ned til en studs indsat i hver af de korte mælkeslanger. En ventil i studsen lukkede for tilbageførelse af mælk i indføringsslangen. Ved hvert malkesæt sad der en kontrolboks til styring af luft- og vandmængden. Til kontrolboksen var der tilsluttet en vand- og en luftslange. En kompressor producerede overtrykket i luftslangen.

Besætning: Staldsystemet var en løsdriftsstald med dybstrøelse af savsmuld. Der var foderautomater til tilskudsfoder og reduceret foderbord med to køer pr. plads til grovfoderet. Køerne blev fodret med moderate mængder af roefoder plus helsæds- og græsensilage ad lib. Fra den 28.4 blev fodringen baseret på afgræsning suppleret med grovfoder på stald.

Malkeprocedure: Malkningen foregik i en sildebensmalkestald med 2*12 malkesæt (S.A. Christensen & Co.). Der var automatiske aftagere (Sacco 900) og lavtliggende mælkeledninger. Der blev skiftet pattegummi før forsøgets start, disse blev ikke udskiftet igen i løbet af forsøgsperioden. Køerne blev malket i rækkefølgen: Airwashhold efterfulgt af kontrolhold.

Tabel 1. Køernes fordeling på holdene (antal dyr pr. hold).
Number of cows per group in the different periods of the experiment.

	Kontrol (ulige numre) <i>Control (uneven numbers)</i>	Airwash (lige numre) <i>Airwash (even numbers)</i>
Køer, der har været med i hele perioden 3.3-3.6 <i>Pre- and experimental period 3.3-3.6</i>	89	95
Køer ved forsøgsstart 1.4 <i>At start 1.4</i>	110	122
Køer, der er kommet til i løbet af forsøgsperioden 1.4-3.6 <i>Cows calved during the experiment 1.4-3.6</i>	19	32
Køer i alt <i>Total</i>	129	154



Figur 1. Malkesæt påført indføringslanger til automatisk afskylning af pattekopperne, Airwash-systemet.

Cluster with leading-in tubes to automatic back flushing of the teat cup liners, the Airwash system.

Malkningens gennemførelse blev observeret inden forsøgets start. Til aftørring af patterne blev der benyttet en bomuldsklud pr. ko. I vandet til yverrengøring var der tilsat en jodopløsning. Kluden blev ikke vendt eller drejet (et hjørne pr. kirtel), og kun i få tilfælde blev der foretaget separat aftørring af pattespidsen. Kludene blev maskinvasket efter både morgen- og aftenmalkning. Efter aftørring var ca. en tredjedel af patterne stadig let snavsede. Formalkning blev gjort umiddelbart efter aftørring af patterne. Der blev ikke benyttet kontrolmål, og der var ingen særskilt form for desinfektion af hænderne mellem forberedelsen af de enkelte køer. Malkningen foregik rutinemæssigt således, at to køer blev forberedt ad gangen, hvorefter malkesættet blev sat på de foregående to køer. Der blev ikke foretaget pattedesinfektion efter malkning.

Afskylning af pattekopperne med Airwash-anlægget blev foretaget sidevis i malkegraven, mens køerne forlod malkestalden. Når en ny gruppe køer var kommet på plads var afskylningen afsluttet, og malkesættet klar til brug.

2.2 Registreringer

Måling af skyllevandsmængden: Skyllevandsmængden for samtlige pattekopper blev målt 2 gange ved samtidig at opsamle skyllevandet fra hver pattekop fra de enkelte malkesæt. Derefter blev vandmængden målt i et 100 ml måleglas.

Opsamling af skyllevand til bakteriologisk undersøgelse: Til undersøgelse af Airwash-anlæggets evne til at rengøre den indvendige overflade af pattegummiet blev skyllevandet opsamlet og undersøgt for bakterieindholdet. Der blev opsamlet skyllevand fra 2 skyl umiddelbart efter hinanden, for derved at få et mål for mængden af fjernede bakterier i første skyl. Et malkesæt blev yderligere skyllet en tredje gang.

Opsamlingen udførtes ved at holde sterile glas under pattekopperne ved den automatiske skylning efter en malkning. Prøver af indføringsvandet blev ca. hver 2. uge opsamlet ved at trække en indføringslange af ved ventilen indsat i den korte mælkeslange. Derudover blev der fra en vandhane taget en prøve til kontrol af vandkvaliteten før vandet blev ført ind i Airwash-anlægget.

Opsamlingsstrategien ses af tabel 2. Skylleprøverne blev af praktiske hensyn taget fra pattekopperne venstre og højre bag. I alt blev der udtaget 60 prøvesæt fra pattekopperne og 14 prøver af indføringsvandet.

Ved hjemkomsten blev skylleprøverne vejede, og der blev fremstillet en fortyndingsrække af hver enkelt prøve. Til fortynding blev anvendt 1% pepton vand. De færdige fortyndinger indeholdt 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} og 10^{-4} ml skyllevand. Herefter blev skylleprøverne (fortyndingerne) undersøgt for totalkim, koliforme bakterier og *Stafylococcus aureus*. Den anvendte procedure ses af tabel 3.

På Baird-Paker agar kan der ud over *S. aureus* vokse *Stafylococcus epidermis*, *Micrococci*, bacillus arter og gær. Ved optælling blev kun kolonier med tydelige tegn (se tabel 3) på *S. aureus* talt. For at minimere individuelle forskelle i bedømmelseskriterier af kolonier, har den samme person foretaget optælling af samtlige plader.

Ydelseskontrol: Registrering af ydelse og udtagning af mælkeprøver til direkte celletælling (Fossomatic) på ko-niveau blev foretaget med ca. tre ugers interval, i alt fem gange. Staldpersonalet stod for udtagning af prøverne. Celletællingen blev

foretaget på Steins laboratorium, Holstebro.

Enkeltkirtelprøver: Mælkeprøver fra enkeltkirtler blev udtaget af mælke kvalitetsrådgivere under morgenmalkningen med ca. tre ugers interval, i alt fem gange. Den bakteriologiske undersøgelse og indirekte celletalsbestemmelse ved California Mastitis Test (CMT) blev foretaget af Kvægbrugets laboratorium, Ladelund, efter standard procedure (Anon., 1992). Derudover blev der hver tirsdag i forsøgsperioden, såfremt der ikke blev taget prøver af samtlige køer, udtaget enkeltkirtelprøver af nykælvere fra den forløbne uge. I tilfælde af klinisk mastitis blev der taget prøver til bakteriologisk undersøgelse før en eventuel behandling. Mælkeprøver fra nykælvere og køer med klinisk mastitis blev udtaget af staldpersonalet og sendt til Kvægbrugets laboratorium.

Arbejdsforbrug: Tidsforbruget under malkningen fra den forreste låge åbnes (holdet går ud) til den bageste låge lukkes (nyt hold er kommet ind) i hver række blev registreret. I dette interval blev Airwash-anlægget aktiveret og afskyllingen foretaget. Derudover blev tidspunktet, når sidste maskine i rækken blev taget af, registreret.

Tabel 2. Opsamling af skyllevand til bakteriologisk undersøgelse.
Sampling of flushing water for bacteriological examination.

Antal malkninger <i>No. of milkings</i>	Malkesæt - Cluster			
	Side A		Side B	
	2	4	2	4
1	x x	x x	x x	
2	I I			y y
3	x x	x x	I I	
4		I I	x x	
5	x x	x x		y y
6				I I

- x Et prøvesæt bestående af en prøve fra hhv. 1. og 2. skyl.
Bacteriological samples from 1st and 2nd flush.
- y Et prøvesæt bestående af en prøve fra hhv. 1., 2. og 3. skyl.
Bacteriological samples from 1st, 2nd and 3rd flush.
- I Prøve af indføringsvand.
Bacteriological samples from the leading-in tubes.

koliforme bakterier og stafylokokker,

μ = Intercept,

M_i = Effekt af det i'te malkesæt (i=1, 2,3,4),

D_j = Effekt af den j'te udtagningsdag (j=1,2,3),

$P_{k(i)}$ = Effekt af den k'te pattekop indenfor malkesæt (k=1,2),

$\beta_1 V\text{ÆGT}_{ijkl}$ = Effekt af skyllemængde,

$(MD)_{ij}$ = Vekselvirkning mellem malkesæt og udtagningsdag,

$\beta_2 M_i$ = Vekselvirkning mellem malkesæt og skyllemængde,

$\beta_3 D_j$ = Vekselvirkning mellem udtagningsdag og skyllemængde,

$\beta_4 (MD)_{ij}$ = Vekselvirkning mellem malkesæt, udtagningsdag og skyllemængde,

$\beta_5 P_{k(i)}$ = Vekselvirkning mellem pattekop, malkesæt og skyllemængde,

$(DP)_{jk(i)}$ = Vekselvirkning mellem udtagningsdag, pattekop og malkesæt,

e_{ijkl} = Restvariation

Kocelletal er analyseret efter følgende model:

$$Y_{ij} = \mu + \text{HOLD}_i + \beta_1 \text{FCEL}_{ij} + \beta_2 \text{DEK}_{ij} + \beta_3 \text{LAK}_{ij} + e_{ij} \quad [4]$$

hvor:

Y_{ij} = Log10 til gennemsnittet af kocelletallet i forsøgsperioden,

μ = Intercept,

HOLD_i = Effekt af det i'te hold (i=kontrol, airwash),

$\beta_1 \text{FCEL}_{ij}$ = Log10 til gennemsnittet af kocelletallet i forperiode for den j'te ko på det i'te hold,

$\beta_2 \text{DEK}_{ij}$ = Antal dage efter kælvning for den j'te ko på det i'te hold,

$\beta_3 \text{LAK}_{ij}$ = Laktationsnummer for den j'te ko på det i'te hold,

e_{ij} = Restvariation

Til analyse af udviklingen i kocelletallet i forsøgsperioden er følgende model benyttet:

$$Y_{ij} = \mu + \text{HOLD}_i + \beta_1 \text{FCEL}_{ij} + \beta_2 \text{DEK}_{ij} + \beta_3 \text{LAK}_{ij} + \beta_4 \text{DAGE}_{ijk} +$$

$$\beta_5 \text{DAGE}_{ijk} + \text{KO}_{ij} + \beta_6 \text{DAGE}_{ijk} + e_{ijk} \quad [5]$$

hvor:

Y_{ij} = Log10 til kocelletallet i forsøgsperioden,

$\beta_4 \text{DAGE}_{ijk}$ = Effekt af k'te dage efter forsøgsstart for den j'te ko på det i'te hold (k=20,40,60),

$\beta_5 \text{DAGE}_{ijk}$ = Effekt af dage efter forsøgsstart indenfor hold,

KO_{ij} = Effekt af den j'te ko på det i'te hold,

$\beta_6 \text{DAGE}_{ijk}$ = Vekselvirkning mellem ko og dage efter forsøgsstart

Øvrige parametre er som beskrevet i model [4]. Effekten af hold blev testet mod effekten af ko. Effekten af dage(hold) blev testet mod dage*ko. Kocelletallet er kun analyseret for køer, hvorfra der er målinger fra samtlige prøveudtagningsdage.

Hypotesen, ingen forskel mellem kontrol- og airwashholdet mht. yverinfektioner blev testet i 2*2 tabeller vha. χ^2_{corr} (Yates). Metoden er benyttet i tabellerne 9-14. Nye subkliniske infektioner blev desuden analyseret efter følgende model:

$$\text{Logit}(p_i) = \mu + \hat{O}_{\text{hold}(i)} + \beta_1 \text{DEK}_{(i)} + \beta_2 \text{LAK}_{(i)} + \hat{U}_{\text{inf}(i)} + \hat{O}_{\text{hold*inf}(i)} \quad [6]$$

hvor:

$\text{Logit}(p_i)$ = Sandsynligheden for ny subklinisk infektion for den i'te ko,

μ = Intercept,

$\hat{O}_{\text{hold}(i)}$ = Effekt af hold (kontrol, Airwash),

$\beta_1 \text{DEK}_{(i)}$ = Effekt af dage efter kælvning,

$\beta_2 \text{LAK}_{(i)}$ = Effekt af laktationsnummer,

$\hat{U}_{\text{inf}(i)}$ = Effekt af infektionsstatus før forsøgets start (inficeret, ikke inficeret),

$\hat{O}_{\text{hold*inf}(i)}$ = Vekselvirkning mellem hold og infektionsstatus

Samtlige analyser er foretaget i SAS (SAS Users Guide, 1989) under anvendelse af følgende programmer: Model [1], PROC ANOVA; Model [2],[3],[4], og [5], PROC GLM; Model [6], PROC CATMOD. Der er anvendt følgende signifikansgrænser: * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001 og NS = P>0.10.

3 Resultater og diskussion

3.1 Skyllvandsmængde

Den gennemsnitlige mængde skyllvand pr. pattekop for hvert malkesæt varierede betydeligt (tabel 4). Der var klar forskel (model 1, afsnit 2.3) i vandmængden mellem siderne i malkestalden ($P<0.001$), mellem malkesættene indenfor siderne ($P<0.05$) og mellem pattekopperne indenfor malkesættene ($P<0.001$).

For de fire malkesæt, hvorfra der blev opsamlet skyllvand til måling af bakterieindholdet, var der vekselvirkning (model 2) mellem malkesættene, pattekopperne og opsamlingsdatoen ($P<0.001$). Endvidere var der en tydelig hovedvirkning af malkesæt ($P<0.001$), pattekopper indenfor samme malkesæt ($P<0.001$), (tabel 5), samt opsamlingsdatoer ($P<0.001$). Ved sammenligning mellem skyllmængderne pr. pattekop for malkesættene i tabel 5 med tilsvarende malkesæt i tabel 4 ses det, at skyllmængden har været lavere, når der er taget prøver til bakteriologisk undersøgelse. Hvad dette

nøjagtigt skyldes vides ikke, men skyllmængden afhænger både af luft- og vandtrykket i systemet. Hvordan dette varierer er ikke registreret.

3.2 Bakteriologisk undersøgelse af skyllvand

Afskylningen reducerede totalkim i pattekopperne med 50% ($P<0.001$), koliforme bakterier med 68% ($P<0.001$) og *S. aureus* med 61% ($P<0.001$), tabel 6. Reduktionen er beregnet som procent af første skyl. Ved at skylle en tredje gang blev den totale reduktion af totalkim 75%, koliforme bakterier 81% og for *S. aureus* 83%. At bakteriantallet reduceredes yderligere ved at skylle en tredje gang indikerer, at en større vandmængde pr. skyl sandsynligvis ville have sænket bakterieantallet yderligere. Ved modelreduktion af model 3 var kun vekselvirkningen mellem skyllvandsmængden og malkesæt signifikant. Der var ingen signifikant hovedvirkning af skyllvandsmængden. Spred-

Tabel 4. Gennemsnitlig mængde skyllvand pr. pattekop.
Amount of flush water per liner.

Malkesæt Cluster	Side A		Side B	
	Skyllvand, ml Flush water, ml	Spredning Std. dev.	Skyllvand, ml Flush water, ml	Spredning Std. dev.
1	45,0	7,5	89,8	41,7
2	41,4	8,8	72,8	23,1
3	46,9	23,2	79,1	27,5
4	30,1	12,6	79,5	16,2
5	44,1	4,8	82,0	14,3
6	54,3	10,3	80,6	24,3
7	52,5	12,3	92,3	36,1
8	49,9	7,1	94,0	11,4
9	44,3	3,5	81,6	17,3
10	58,3	17,9	75,3	7,1
11	44,6	4,2	83,1	6,7
12	46,1	8,3	78,9	8,8
Gennemsnit Average	46,5	12,8	82,4	21,9

Mindste signifikante forskel i mængden af skyllvand = 4.1 - Least significant difference = 4.1 ml

Tabel 5. Gennemsnitlig mængde skyllevand fra de benyttede malkesæt til opsamling af vand til bakterietælling.

Amount of flush water of clusters for bacteriological examination.

Malkesæt 1) Cluster no. ¹⁾	Antal obs. pr. pattekop <i>No of obs. per liner</i>	Pattekop: HB Liner: RH		Pattekop: VB Liner, LH		Gennemsnit Average	
		Skyllvand, ml Flush water, ml	Spredning Std. dev.	Skyllvand, ml Flush water, ml	Spredning Std. dev.	Skyllvand, ml Flush water, ml	Spredning Std. dev.
2A	18	27,5	3,2	29,6	3,3	28,6 ^x	3,4
4A	18	24,5 ^a	4,7	29,0 ^b	4,8	26,7 ^x	5,2
2B	12	36,7 ^a	5,2	42,7 ^b	9,2	37,7 ^y	8,9
4B	18	41,5 ^a	7,8	48,5 ^b	14,0	45,0 ^z	11,7

1) Malkesæt 2A er identisk med malkesæt 2 side A i tabel 4. Tilsvarende for de øvrige malkesæt.
Cluster 2A is identical to cluster 2 side A in table 4 and analogous.

ab Tal uden fælles bogstav angiver signifikante forskelle ($P < 0.01$) i skyllemængder indenfor malkesæt.
Means with different letters in the same column differ ($P < 0.01$).

xyz Tal uden fælles bogstav angiver signifikante forskelle ($P < 0.001$) i skyllemængder mellem malkesæt.
Means with different letters in the same column differ ($P < 0.001$).

ningen i antallet af koliforme bakterier har været stor, hvilket skyldes, at koliforme bakterier hovedsagelig stammer fra gødning og strøelse (Enevoldsen et al., 1987). Antal koliforme bakterier vil derfor afhænge af køernes tilsmudsgrad, aftørringen før malkningen og evt. forurening under opsamling.

Såfremt Airwash-anlægget ikke er i stand til at skylle hele den indvendige overflade af pattegummiet, vil den anvendte metode til tælling af bakterier ikke udtrykke den reelle mængde af fjernede bakterier. Idet der kan sidde bakterier på den ikke afskyllede del af pattegummiet, som hverken bliver medregnet ved første eller andet skyl. Resultatet kan derved være behæftet med fejl (se afsnit 4.3).

Totalkim i skyllevandet er ikke et korrekt udtryk for antallet af bakterier i pattekoppen, idet indføringsvandet var stærkt kontamineret. Der har været en kraftig stigende udvikling i totalkim i indføringsvandet i løbet af forsøgsperioden (tabel 7). Dette var sandsynligvis en følge af, at ventilerne i den korte mælkeslange var utætte, hvorfor der løb mælk tilbage i indførgsslangerne.

Totalkim i indføringsvandet var højere end antallet af kim i første skyl af pattekoppen. Grunden til, at der var flere kim i indføringsvandet end i første skyl kan være, at det ved opsamling af indføringsvandet var nødvendigt at trække en slange af. Der kan derved være frigivet noget smuds. Totalkim i opsamlingsvandet fra pattekoppen er derfor ikke blevet korrigeret for totalkim i ind-

føringsvandet. Ved en enkelt prøve blev der fundet koliforme bakterier, men der var ingen forekomst af *S. aureus* i indføringsvandet. Ved en kontrol blev det fundet, at vandet ikke var kontamineret før det blev ført ind i anlægget.

Ved test af forskelle mellem malkesættens evne til at reducere bakterieantallet i pattekoppen, blev der analyseret på logaritmen til differensen mellem første og andet skyl. I en del af prøverne var der flere bakterier i andet skyl end i første skyl. Differensen mellem skylle blev derfor negativ, den var dog lille (0-20 bakterier for den anvendte fortynding). Da det ikke er muligt at tage logaritmen til et negativt tal blev disse logaritmiske værdier sat til nul. Den negative forskel kan skyldes usikkerheden i den bakteriologiske undersøgelse. Desuden var ca. halvdelen af de negative differenser fra malkesæt 4A, der har haft den laveste skyllemængde.

Der var en betydelig forskel mellem malkesættens evne til at reducere totalkim ($P < 0.01$), tabel 6, malkesæt 4A gav den mindste reduktion. For malkesæt 2B og 4B, der i gennemsnit har haft den største skyllevandsmængde og den største spredning, var der en positiv sammenhæng mellem den reducerede mængde kim og skyllevandsmængden. Denne sammenhæng var ikke til stede for de øvrige malkesæt, hvor skyllevandsmængden var mindre. Selvom der var en signifikant effekt af udtagningsdagen ($P < 0.05$) tydede det ikke på en stigning i bakterieantallet efterhånden som patte-

gummiet ældes.

En del af differenserne i antallet af koliforme bakterier og *S. aureus* var negative. Med samme argumentation som for antallet af totalkim blev det vurderet, at det var mest korrekt at sætte værdierne til nul. Der var ingen forskel mellem malkesættenes evne til at reducere antallet af koliforme bakterier og *S. aureus*.

3.3 Kocelletal

Den anvendte model 4 har kun beskrevet en lille del af totalvariationen ($R^2 = 0.30$). Dette skyldes, at der var en stor spredning i kocelletallet mellem de enkelte køer og mellem gentagne målinger af samme ko. Kocelletallet steg med stigende laktationsnummer ($P < 0.001$), og med afstand fra kælv-

ning ($P < 0.01$). Der var ingen forskel i celletallet på holdene, og selvom celletallet har været svagt faldende i perioden (model 5), har dette været ens for begge hold (figur 2).

Den generelle forbedring af celletallet kan evt. forklares ved, at køerne har fået tilgang til motionsfold i starten af forsøgsperioden og senere kommet på egentlig afgrænsningsareal.

Ved analysen blev køerne yderligere opdelt i to grupper afhængig af kocelletallet (over/under 300.000 celler pr. ml) i forperioden. Kocelletallet blev derefter analyseret for køer med over 300.000 celler pr. ml. Heller ikke for denne gruppe af køer resulterede afskylning af malkesættet i et fald i celletallet i forhold til kontrolholdet.

Tabel 6. Antal bakterier i skyllevand (spredning) og den procentvise reduktion.
No. of bacteria in flush water (std. dev.) and percent reduction.

Skyl Flush	Malkesæt Cluster	Antal obs. No. of obs.	Mængde skylle- vand, ml Amount of flush water, ml	Totalkim SPC Log10	Koliforme Coliforms Log10	S.aureus S.aureus Log10
1.	2A	18	28,8 (3,5)	6,65 (0,50)	2,59 (0,72)	5,13 (0,78)
	4A	18	26,7 (5,2)	6,84 (0,45)	3,00 (1,14)	5,12 (0,63)
	2B	12	40,0 (9,5)	7,00 (0,82)	2,16 (1,29)	5,64 (0,63)
	4B	12	46,9 (12,2)	6,63 (0,61)	2,74 (1,52)	4,93 (0,71)
Gennemsnit af 1.skyl Average of 1st flush		60	34,0 (11,0)	6,77 (0,59)	2,64 (1,16)	5,18 (0,71)
2.	2A	18	28,4 (3,3)	6,38 (0,60)	1,85 (1,20)	4,70 (1,02)
	4A	18	26,8 (5,3)	6,65 (0,66)	2,46 (1,56)	4,72 (0,61)
	2B	12	35,4 (8,2)	6,52 (0,63)	1,85 (1,31)	5,17 (0,64)
	4B	12	45,5 (13,2)	6,27 (0,64)	2,38 (1,47)	4,53 (0,68)
Gennemsnit af 2.skyl Average of 2nd flush		60	32,7 (10,4)	6,47 (0,63)	2,14 (1,39)	4,77 (0,78)
3.	4B	12	42,6 (10,1)	6,02 (0,67)	2,02 (1,73)	4,16 (0,54)
Reduktion af bakterier, % - Percent reduction						
1.-2. skyl	2A	18	-	46 ^b	82	63
	4A	18	-	35 ^a	71	60
	2B	12	-	67 ^b	51	66
	4B	12	-	56 ^{ab}	56	60
Gennemsnit 1.-2.skyl Average of 1st-2nd flush		60	-	50	68	61
1.-3.	4B	12	-	75	81	83
2.-3.	4B	12	-	44	56 ^{**}	57

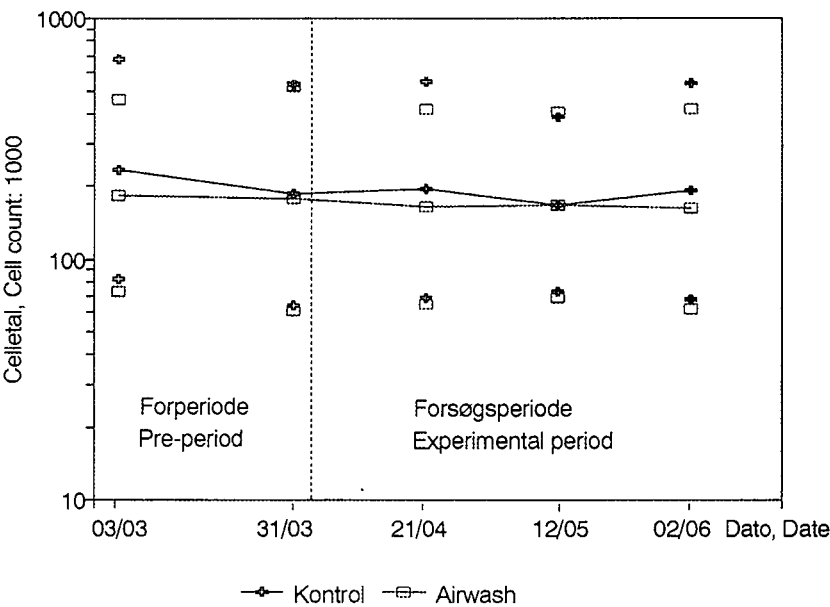
Samtlige reduktioner er testet med t-test og er signifikant forskellige ($P < 0.001$), hvor der ikke er andet angivet. ** Angiver $P < 0.01$. (T-test er regnet på korrigeret data, dvs. negative værdier sat til nul).

Percentwise reductions differed from zero ($P < 0.001$) with one exception ** ($P < 0.01$).

ab Tal uden fælles bogstav er signifikant forskellige ($P < 0.05$); (model 3).
Means with different letters differ ($P < 0.05$).

Tabel 7. Totalkim pr. ml i indføringsvand i pattegummiet og vand direkte fra vandhanen (geometrisk gennemsnit).
No. of bacteria per ml in water from the leading-in tubes and directly from the tap (geometric means).

Vandhane Tap		Indføringsvand Water from the leading-in tubes							
19.5.93		14.4.93		5.5.93		19.5.93		3.6.93	
Obs.	Kim SPC	Obs.	Kim SPC	Obs.	Kim SPC	Obs.	Kim SPC	Obs.	Kim SPC
2	1-2	2	60	2	3600	1	8800	8	700000



Figur 2. Kocelletallets udvikling angivet ved gennemsnit og spredning.
Cell count of individual cows, average and std. dev.

Airwashholdet havde en lidt højere ydelse (tabel 8), hvilket højst sandsynlig skyldes, at der på dette hold tilfældigvis var flere køer, der befandt sig i begyndelsen af laktationen.

3.4 Enkeltkirtelprøver

I forperioden var der flere inficerede kirtler og køer

på kontrolholdet end på airwashholdet ($P<0.05$, χ^2_{corr}), tabel 9. Denne forskel blev udlignet i forsøgsperioden, idet antallet af nyinficerede kirtler og køer var lavere på kontrolholdet i denne periode, og antallet af inficerede køer på airwashholdet steg.

Nyinficerede og rensede kirtler og køer i forperioden er kun beregnet ud fra den 30.3, da disse

Tabel 8. Ydelse og kocelletal for køer, der har været med i hele forløbet. (celletallet er geometrisk gennemsnit).
Milk yield, composition, and cell count (geom. mean) of the cows participating the pre- and experimental period.

	Antal køer <i>Cows, no.</i>	Mælk, kg <i>Milk, kg</i>	Fedt, % <i>Fat, %</i>	Protein, % <i>Protein, %</i>	Celletal, Celler/ml <i>Cell count</i>
Forperiode: - <i>Preperiod:</i>					
Kontrol - <i>Control</i>	89	20,6	4,70	3,33	208.000
Airwash - <i>Airwash</i>	95	21,2	4,79	3,38	180.000
Forsøgsperiode: - <i>Exp. period:</i>					
Kontrol - <i>Control</i>	89	21,1	3,97	3,36	184.000
Airwash - <i>Airwash</i>	95	21,8	4,00	3,36	164.000

Tabel 9. Procent inficerede, nyinficerede og rensede kirtler og køer på hhv. kontrol- og airwashholdet.
Prevalence, incidence and recovered quarters ad cows with subclinical mastitis, %.

	Forperiode <i>Preperiod</i>		Forsøgsperiode <i>Experimental period</i>	
	Kontrol <i>Control</i>	Airwash <i>Airwash</i>	Kontrol <i>Control</i>	Airwash <i>Airwash</i>
Kirtler: - <i>Quarters:</i>				
Inficeret - <i>Prevalence</i>	10.7 ^a	7.6 ^b	9.4	7.5
Nyinficeret - <i>Incidence</i>	6.1	4.4	2.8	3.0
Renset - <i>Recovered</i>	10.0	23.8	41.5	47.1
Køer: - <i>Cows:</i>				
Inficeret - <i>Prevalence</i>	24.6 ^c	17.7 ^d	24.3	22.0
Nyinficeret - <i>Incidence</i>	12.6	11.7	5.1	7.8
Renset - <i>Recovered</i>	12.5	31.3	29.2	35.6

ab Tal uden fælles bogstav er signifikant forskellige ($P < 0.05$).

Means with different letters in the same row differ $P < 0.05$.

cd Tal uden fælles bogstav er signifikant forskellige ($P < 0.001$).

Means with different letters in the same row differ $P < 0.001$.

parametre pr. definition kræver en forudgående måling. Nyinficerede køer og kirtler beregnes som % af dem der var fri ved foregående prøveudtagning, og rensede køer og kirtler beregnes som % af forudgående inficerede. Der var ingen statistisk forskel mellem holdene i forsøgsperioden. Procent rensede kirtler og køer har generelt været bedre på airwashholdet (NS).

Ved analysen blev kørerne yderligere opdelt i to grupper afhængig af, om de var inficerede umiddelbart før forsøgets start eller ej (tabel 10). Blandt køer, der ikke var inficerede før start, var der flere

inficerede kirtler og køer på airwashholdet i forsøgsperioden end på kontrolholdet ($P < 0.001$, χ^2_{corr}). Dette skyldes, at der både har været flere nyinfektioner og en dårligere helbredelsesprocent på airwashholdet (NS). Blandt køer, der var inficeret fra starten, har der derimod været flere inficerede på kontrolholdet ($P < 0.05$, χ^2_{corr}).

Ved vurdering af antallet af nyinfektioner (model 6) fandtes der ingen forskel mellem holdene. Der var en tendens ($P < 0.1$) til, at såfremt koen var inficeret på en kirtel var risikoen for infektion på en anden kirtel forøget. Der var en klar virkning

af laktationsnummer, idet at jo ældre koen var desto større var risikoen for infektion ($P<0.01$). Derudover var der forskel på datoerne ($P<0.01$), men ikke således, at der var færre nyinfektioner sidst i forsøgsperioden.

Forsøgsperioden kan have været for kort til at få en generel forbedring af yversundheden. Men såfremt malkesættet var en potentiel smittevej var det forventet, at afskylning af pattekopperne ville give en umiddelbar reduktion i antallet af nyinfektioner.

Bakteriefund i subkliniske infektioner

Bakterietyperne isoleret fra subklinisk inficerede kirtler kan opdeles i yverafhængige bakterier (*S. aureus*, koagulasenegative stafylokokker (CNS) og *Str. dysgalactiae*), miljøafhængige (*Str. uberis*, *Str. faecalis*, *Str. lactis* og koliforme bakterier) og andre bakterier (*Actinomyces pyogenes*). Der var ikke forskel i for- eller forsøgsperioden for infektioner med disse grupper, tabel 11. Som angivet i tabel 9 har der totalt været flere inficerede på

kontrolholdet i forperioden.

Af samtlige infektioner var 59% forårsaget af miljøbakterier og 41% havde yverbakterier som årsag. Der var derfor ikke noget udpræget problem med yverafhængige bakterier i besætningen. I forperioden har der været flere infektioner forårsaget af *S. aureus* på airwashholdet i forhold til kontrolholdet ($P<0.05$), tabel 11. Forskel i *S. aureus* infektioner findes ikke i forsøgsperioden. Den positive effekt på airwashholdet skal dog tillægges en bedre helbredelsestendens i forsøgsperioden i sammenligning med kontrolhold og ikke færre nyinfektioner med *S. aureus*. Desuden var der flere CNS-infektioner på airwashholdet end på kontrolholdet i forsøgsperioden ($P<0.01$). Dette var ikke tilfældet i forperioden. Forskellen i forsøgsperioden skyldtes, at der var procentvis færre infektioner på kontrolholdet. På airwashholdet var der ikke forskel i hhv. for- og forsøgsperiode.

Der var signifikant færre *Str. dysgalactiae* på airwashholdet ($P<0.01$). Dette var imidlertid tilfældet i både for- og forsøgsperiode, hvorfor det

Tabel 10. Procent inficerede, nyinficerede og rensede kirtler og køer på hhv. kontrol- og airwashholdet, afhængig af om koen var inficeret ved sidste kirtelprøve umiddelbart før forsøgets start.

Prevalence, incidence, and recovered quarters and cows with subclinical mastitis dependend on status at the beginning of the experiment.

	Inficeret før forsøgets start <i>Cows infected at the beginning</i>		Ikke inficeret før forsøgets start <i>Cows not infected at the beginning</i>	
	Kontrol <i>Control</i>	Airwash <i>Airwash</i>	Kontrol <i>Control</i>	Airwash <i>Airwash</i>
Kirtler: - <i>Quarters:</i>				
Antal - <i>No.</i>	130	98	295	377
Inficeret - <i>Prevalence</i>	25.1	19.7	1.6 ^a	3.8 ^b
Nyinficeret - <i>Incidence</i>	6.3	4.3	1.3	2.5
Renset - <i>Recovered</i>	38.5	40.7	66.7	46.7
Køer: - <i>Cows:</i>				
Antal - <i>No.</i>	33	25	77	97
Inficeret - <i>Prevalence</i>	62.9 ^a	52.7 ^b	4.8 ^c	13.0 ^d
Nyinficeret - <i>Incidence</i>	7.7	10.3	3.5	8.0
Renset - <i>Recovered</i>	24.7	32.7	57.1	36.0

ab Tal uden fælles bogstav er signifikant forskellige ($P<0.05$).

Means with different letters in the same row differ $P<0.05$.

cd Tal uden fælles bogstav er signifikant forskellige ($P<0.001$).

Means with different letters in the same row differ $P<0.001$.

Tabel 11. Bakterietyper isoleret fra subklinisk inficerede kirtler i hhv. for- og forsøgsperiode.
Bacteriological diagnose of quarter milk samples.

Bakterietyper Type of bacteria	Forperiode - Preperiod				Forsøgsperiode - Exp. period			
	Kontrol Control		Airwash Airwash		Kontrol Control		Airwash Airwash	
	Antal No.	%	Antal No.	%	Antal No.	%	Antal No.	%
Yverafhængig Cow dependent								
<i>S. aureus</i>	11	12,8 ^c	19	26,8 ^d	10	7,4	12	9,4
CNS	18	20,9	15	21,1	15	11,0 ^a	31	24,4 ^b
<i>Str.dysgalactiae</i>	15	17,4 ^c	3	4,2 ^d	19	14,0 ^a	3	2,4 ^b
Miljøafhængige Enviromental dependent								
<i>Str. uberis</i>	33	38,4	23	32,4	64	47,1	47	37,0
<i>Str. lactis + faecalis</i>	4	4,7	4	5,6	2	1,5	5	3,9
Coliforme	0	-	3	4,2	15	11,0	15	11,8
Andre Others								
<i>Act. pyogenes</i>	2	2,3	4	5,6	1	0,7	3	2,4
Negative	3	3,5	0	-	10	7,4	11	8,7
Antal inficerede No. infected	86	-	71	-	136	-	127	-
Antal ikke inficerede No. not infected	719		869		1310		1567	

ab Tal uden fælles bogstav indenfor hhv. for- og forsøgsperiode er signifikant forskellige ($P < 0.01$).

Means with different letters in the same row and within period differ $P < 0.01$.

cd Tal uden fælles bogstav indenfor hhv. for- og forsøgsperiode er signifikant forskellige ($P < 0.05$).

Means with different letters in the same row and within period differ $P < 0.05$.

ikke kan tillægges en positiv indflydelse af af-skylningen af malkesættet. Blandt de øvrige bakterietyper var der ingen signifikante forskelle mellem holdene.

Bakteriefund i nye subkliniske infektioner

Der var ingen forskel på holdene i nyinfektioner med hhv. yver- og miljøafhængige bakterier (tabel 12).

Blandt køer, der ikke var inficeret fra start har der i antallet af nyinfektioner været samme for-

deling mellem yver- og miljøbakterier, som i den samlede gruppe. Der er derfor intet der tyder på, at af-skylningen har haft en positiv indflydelse på nyinfektioner med yverafhængige bakterier. I starten af forsøgsperioden var der tilmed flere nyinfektioner på airwashholdet (figur 3 og 4). Sidst i forsøgsperioden var nyinfektionsfrekvensen ens på holdene. Det kan derfor ikke bekræftes, om kontaminering af indførvandsvandet har betydet en stigning af nyinfektioner.

Tabel 12. Procent nye subklinisk inficerede kirtler fordelt på yver- og miljøafhængige bakterier i forsøgsperioden.

Incidence of cow dependent and environmental bacteria during the experimental period dependent of subclinically status at the start of the experiment.

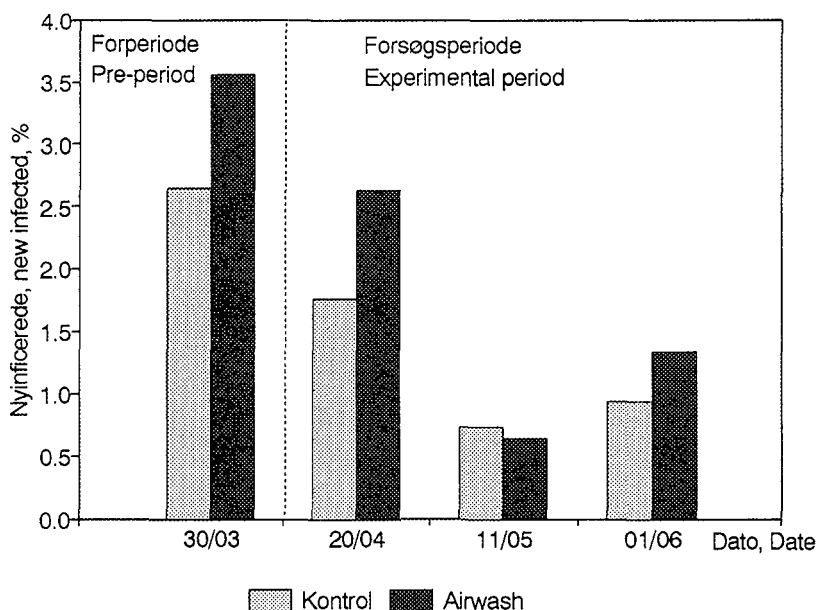
	Kontrol - Control		Airwash - Airwash	
	Total ¹⁾ - Total ¹⁾	Rene ²⁾ - Clean ²⁾	Total - Total	Rene - Clean
Yverafhængige <i>Cow dependent</i>	1,7	0,6	1,4	1,1
Miljøafhængige <i>Enviromental dependent</i>	1,5	0,7	1,6	1,4

1) Nye subkliniske infektioner blandt alle køer.

Incidence with subclinical mastitis of all cows.

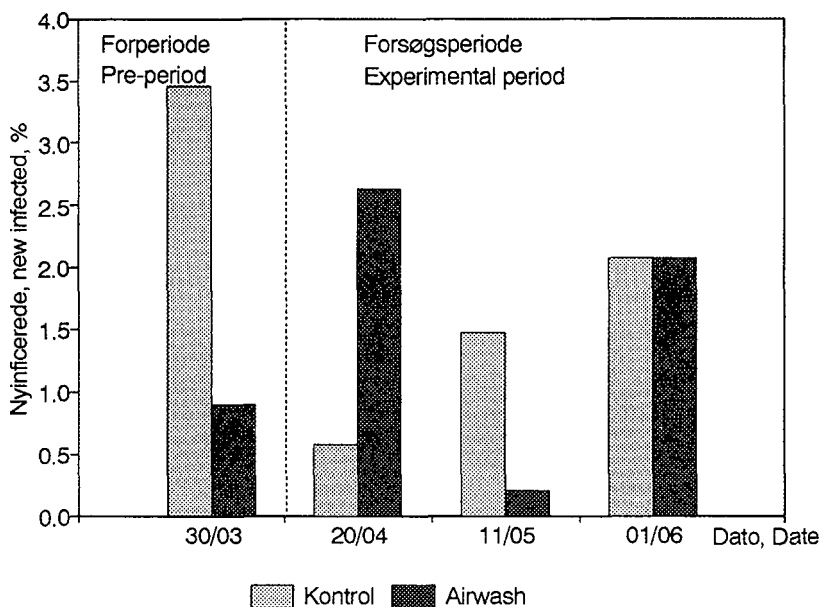
2) Nye subkliniske infektioner blandt køer, der ikke var inficeret umiddelbart før forsøgets start.

Incidence of cows not infected before the start of the experiment.



Figur 3. Procent nyinficerede kirtler med yverafhængige bakterier.

Incidence with subclinical mastitis, cow dependent bacteria, %



Figur 4. Procent nyinficerede kirtler med miljøafhængige bakterier.
Incidence with subclinical mastitis, environmental bacteria, %.

Tabel 13. Klinisk tilfælde i forsøgsperioden.
Clinically infected quarters during the experimental period.

	Kontrol - Control		Airwash - Airwash	
	Total Total	Nykælvere ¹⁾ Newly calved ¹⁾	Total Total	Nykælvere Newly calved
<i>S. aureus</i>	-	-	1	-
<i>Str. uberis</i>	-	-	1	1
Coliforme	1	1	2	1
<i>Act. pyogenes</i>	-	-	1	1
Ingen vækst	-	-	4	1
Negative				
Ingen prøve	-	-	3	2
No sample				
Antal klinisk tilfælde <i>No. of cases</i>	1 ^a	1	12 ^b	6
Antal køer <i>No. of cows</i>	128	17	153	24

ab Tal uden fælles bogstaver er signifikant forskellige ($P < 0.05$).

Numbers with different letters in the same row differ ($P < 0.05$).

1) En ko er betegnet som nykælver fra kælvningstidspunktet til en måned efter.

Cows within one month after calving.

Tabel 14. Tidsforbrug under malkning, min.
Time spent on milking in the parlour, min.

	Kontrol - <i>Control</i>	Airwash - <i>Airwash</i>
Malketid ¹⁾ - <i>Machine-on time</i> ¹⁾	9,92	11,38
Ventetid ²⁾ - <i>Idle time</i> ²⁾	1,93	0,73
Skift ³⁾ - <i>Change group</i> ³⁾	2,33	2,10

- 1) Tiden fra sidste ko er kommet ind til sidste maskine er taget af. Retning af malkesættet, så pattekopperne hænger lige ned, kan indgå i dette tidsrum.
Machine-on time from the last cow entering to detachment of the last machine. Adjustment of liners to a downward position could be done here.
- 2) Tiden fra sidste maskine er taget af og til første ko går ud. Retning af malkesættet, så pattekopperne hænger lige ned, kan indgå i dette tidsrum.
Time from detachment of the last machine to exit of the first cow. Adjustment of liners to a downward position could be done here.
- 3) Tiden fra første ko går ud til sidste ko er kommet ind på næste hold. Airwash-anlægget aktiveres i dette tidsrum.
Time from exit of first cow in one group to entry of the last cow in the following group. The Airwash system flush during this period.

Klinisk mastitis

Der har været signifikant flere kliniske tilfælde i forsøgsperioden på airwashholdet end på kontrolholdet ($P < 0.05$), tabel 13. Forskellen skyldtes, at der blandt såvel nykælvere (0-30 dage efter kælvning) som køer senere i laktationen blev konstateret flere kliniske tilfælde på airwashholdet end på kontrolholdet. Airwash-systemet har åbenbart ikke kunnet minimere frekvensen af klinisk mastitis for de to nævnte grupper af køer.

3.5 Arbejdsforbrug

Afskylning af malkesættet med Airwash-anlægget krævede ikke mere tid under malkningen (tabel 14), og arbejdsrutinen har været nem at indarbejde i den daglige arbejdsgang.

3.6 Diskussion

Airwash-systemet fungerede teknisk dårligt. Skyllemængden var angivet til 75 ml pr. pattekop, hvilket ikke blev opnået for skylleprøver til bakteriologiske undersøgelser. Både mellem malkesættene og indenfor disse var der store variationer i skyllemængden. Samtidig var indføringsvandet stærkt kontamineret, sandsynligvis p.g.a. tilbageløb af mælk i indføringsslangerne. Dette tyder på, at ventilerne i indføringsslangerne ikke har kunnet holde tæt under malkningen. Vandet, der blev ført ind i systemet, viste sig ved en kontrolmåling at være yderst rent. Derfor må kontamineringen af vandet nødvendigvis være opstået i selve Airwash-systemet.

Der bør derfor ved installering og efter kort tids brug af Airwash-anlægget sikres, at vandtryk, trykluft og skyllevandsmængder er tilstrækkelige. Skyllevandsmængden fra hver enkelt pattekop bør rutinemæssigt kontrolleres (om muligt under malkningen). Der bør ligeledes indarbejdes en rutinemæssig indvendig rengøring af Airwash anlægget, sålænge ventilen i indføringsslangen ikke holder fuldstændig tæt.

Den dårlige funktion af anlægget kan være årsagen til, at den forventede reduktion i bakterieantallet på 95% ikke blev opnået. I litteraturen er der ved forsøg med andre automatiske afskylnings-systemer ikke angivet driftssikkerhed. Manglende driftssikkerhed kan være en årsag til udebleven effekt på incidensen af nyinfektioner.

Airwash-systemet krævede ikke en øget arbejdsindsats under malkningen. Afskylningen blev aktiveret ved kun en knap. Risikoen for fejlbejning var derfor minimal, og systemet kan karakteriseres for brugervenlig. Som et led i effektiviseringen af malkeproceduren kan automatiske afskylningsystemer måske være en fordel.

Antallet af bakterier i pattekoppen blev ved brug af Airwash-systemet reduceret med 50% for total-kim, 68% for koliforme og 61% for *S. aureus*. Bushnell (1979) fandt ved afskylning med 4 liter vand (20°C) en reduktion på 77% for total-kim, 56% for koliforme og 36% for stafylokokker. Dette er noget mindre for koliforme bakterier og stafylokokker end med Airwash-systemet, der havde et betydeligt mindre vandforbrug.

I et andet skyllesystem med afskylning i fire faser er der ved brug af rent vand (20°C) fundet en reduktion på 80% for totalkim, 85% for koliforme bakterier og 60% for stafylokokker (Bushnell, 1979). Det er mere i overensstemmelse med de fundne resultater for Airwash-systemet. Dog var reduktionen for totalkim med Airwash ca. 30% lavere. Sidstnævnte kan skyldes, at det ikke var muligt at korrigere for totalkim i indførvandsvandet, da dette var højere end totalkim i første skyl. Neave (1971) konstaterede, at afskylning med koldt vand ikke forhindrede overførelse af bakterier med malkesættet. Pasteurisering med 85°C varmt vand i 5 sek. var derimod næsten fuldstændig effektiv til rengøring af malkesættet. Men det er vigtigt at bemærke, at malkesættet ved varmebehandling skal eksponeres for varme i en vis tid for at opnå en temperatureffekt.

Ved tilsætning af jod til skyllevandet er der fundet en næsten 100% effektivitet i rengøringen af malkesættet mellem malkning af hver ko (Bushnell, 1979; Hogan et al., 1984; Smith et al., 1985a). Effekten er forbundet med jods antiseptiske virkning på mikrofloraen. Shearer et al. (1985) sammenlignede tre forskellige procedurer til afskylning af malkesættet. Det blev konkluderet, at mængden af skyllevandet og turbulensen af vandet i pattekoppen sandsynligvis var vigtigere end brug af desinfektionsmidler for opnåelse af en god effekt af rengøringen. Det fremgår dog ikke, hvor stor en rolle enkeltfaktorerne, som vandmængde og turbulens, har haft. Det antyder imidlertid, at systemer, der udelukkende benytter vand kan opnå en bedre effektivitet end de her omtalte. Bushnell (1979) konkluderer dog ud fra forsøg i USA og England, at afskylning med rent vand stadig efterlader så mange bakterier i pattekoppen, at antallet af nyinfektioner ikke nedsættes. Dette kan desuden have været tilfældet med Airwash-anlægget. For en bedre vurdering af Airwash-anlæggets effektivitet burde vandets cirkulation i pattekoppen undersøges. Desuden burde det totale bakterieantal i pattekoppen bestemmes, hvorved der opnås et eksakt mål for rengøringens effektivitet (se afsnit 4.3).

Afskylning af pattekopperne med Airwash-systemet mellem malkning af hver ko gav ingen forbedring af yversundheden. Der var ingen tendens til færre nyinfektioner som følge af afskylningen, hverken med miljø- eller yverafhængige bakterier. Dette skal ses i forhold til, at der i forvejen var en lav prævalens af yverafhængige bakterier. Det er muligt, at malkesættet ikke har

været den potentielle smitekilde, og kontamineringen af pattespidsen derfor er opstået fra andre kilder. I besætningen burde der derimod rettes større opmærksomhed mod reduktion af smitteoverførelsen under forberedelsen af køerne. Malkekerens hænder blev ikke desinficeret mellem forberedelse af hver ko, og der blev formalket efter aftørring af yveret. Endvidere blev kluden ikke vendt, således at der opstod risiko for krydskontaminering imellem kirtlerne.

Afskylning af pattekopperne med Airwash-systemet gav endvidere ikke et fald i kocolletallet i forhold til kontrolholdet. Dette er i overensstemmelse med tidligere undersøgelser (Hogan et al. 1984; Smith et al. 1985a).

Hogan et al. (1984) fandt en væsentlig reduktion af bakterier i pattekoppen efter afskylning. Det medførte imidlertid ikke den forventede reduktion af bakterieantallet på pattespidsen. I denne undersøgelse blev det derfor konkluderet, at kontamineringen af pattespidsen efter malkning fremkom fra andre steder end malkesættet. Fox et al. (1991) anfører derimod en beskednen reduktion i overførelsen af *S. aureus* ved afskylning af malkesættet. Der var forekomst af *S. aureus* i 1% af prøverne fra pattehuden ved afskylning i forhold til 4,5% uden brug af afskylning.

I en New Zealandsk undersøgelse (Brooksbanks, 1965) blev det fundet, at afskylning af malkesættet med rent vand gav signifikant færre CMT-positive reaktioner i mælkeprøver fra enkeltkirtler. I denne undersøgelse blev der i forsøgsbesætningerne desuden benyttet pattedyp efter malkning, og patterne blev afvasket med sæbe indeholdende hexachlorophene. Denne fremgangsmåde benyttes ikke i kontrolbesætningerne, hvorfor det ikke er muligt at vurdere, hvorvidt afskylningen af malkesættet alene har haft en effekt. Davidson (1963) fandt, at afskylning af malkesættet med koldt vand reducerede incidensen af nyinfektioner med stafylokokker. Tilsvarende resultat er fundet af Ruffo (1978). Han angiver, at dypning af malkesættet i en kloropløsning mellem malkning af hver ko gav færre nyinfektioner forårsaget af *Str. agalactiae* og *S. aureus*. I denne undersøgelse skal det dog bemærkes, at såfremt en ko blev inficeret og ikke fundet ren indenfor tre uger blev den flyttet, så den blev malket til sidst. Dette har i sig selv en smitteforebyggende effekt.

Afskylning af malkesættet er undersøgt i en besætning uden infektioner med *Str. agalactiae* og med en lav prævalens af *S. aureus*. Afskylningen

havde ingen effekt på incidensen af nyinfektioner, bortset fra infektioner forårsaget af *C. bovis*, der blev reduceret signifikant (Smith et al., 1985). Tilsvarende resultater er fundet af Hogan et al. (1984). Dog var der færre nyinfektioner forårsaget af koagulase positive stafylokokker (formentlig *S. aureus*). Det kunne eventuelt tillægges en lav prævalens af stafylokokinfektioner på forsøgsholdet før forsøgsstart i forhold til kontrolholdet.

I et forsøg, hvori indgik adskillige konventionelle besætninger, blev antallet af nyinfektioner ikke reduceret signifikant ved at foretage en effektiv rengøring af malkesættet. Dette var i forhold til simple hygiejniske foranstaltninger, som indebar brugen af én klud pr. ko, gummihandsker og pattedyp. (Neave et al., 1969). Årsagen til at afskylningen ikke reducerede nyinfektionerne signifikant var den samtidige brug af pattedyp efter malkning. I undersøgelserne foretaget både af Hogan et al. (1984) og Smith et al. (1985) blev der før forsøgsperioden benyttet pattedypning efter malkning. Efter ophør af brug heraf forekom der en stigning i antallet af *C. bovis* infektioner på både forsøgs- og kontrolholdet. Dette er i overensstemmelse med resultater fundet af Waterman et al. (1983). *C. bovis* er en udpræget yverafhængig bakterie (Bramley & Dodd, 1984). Selvom afskylningen af malkesættet reducerede infektionerne med *C. bovis* på forsøgsholdet i forhold til kontrolholdet, var afskylning altså ikke tilstrækkelig til at kontrollere infektioner med *C. bovis* i samme omfang som pattedesinfektion efter malkning (Hogan et al., 1984; Smidt et al., 1985).

Det grundlæggende spørgsmål ved rengøring af malkesættet er hvorvidt det påvirker nyinfektionsfrekvensen. Spørgsmålet er uafhængigt af hvilke metode, der anvendes til rengøringen. På baggrund af de i litteraturen refererede undersøgelser samt det udførte forsøg er der intet der tyder på, at skyl-

leanlæg med fordel kan benyttes i besætninger med en lav prævalens af infektioner forårsaget af yverafhængige bakterier. Rengøring af malkesættet har vist at kunne reducere infektioner med *S. aureus* og *Str. agalactiae*. Derfor vil det sandsynligvis have en positiv indflydelse på nyinfektionsfrekvensen i besætninger, hvor infektionerne er forårsaget af yverafhængige smitstoffer. Dog skal smitteoverførelsen under forberedelsen søges begrænset. Smith (1985) angiver, at som forebyggelse mod udbrud af mastitis med yverafhængige organismer (*Str. agalactiae*, *S. aureus* og mycoplasma mastitis) kan investering og driftsomkostninger til skylleanlæg vise sig at være en økonomisk fordel. Men afskylning af malkesættet erstatter ikke brug af pattedypning efter malkning.

Før anskaffelse af et skyllesystem i en besætning er der således mange faktorer, som skal klarlægges. Først og fremmest skal det slås fast, hvorvidt malkesættet er en betydende smitebærer i den pågældende besætning. Er der mistanke om stor smitepres fra andre kilder, f.eks. hænder og klud, bør dette undersøges. Endvidere bør det overvejes, om eventuel pattedesinfektion efter malkning vil kunne reducere betydningen af smitteoverførelsen med malkesættet. I den afprøvede besætning bør koncentrationen rettes imod en reduktion af smitten under forberedelsen af kørerne.

Hvorvidt automatiske skyllesystemer baseret på afskylning med rent, uopvarmet vand kan opnå en tilstrækkelig kimreducerende effekt i pattekoppen til at påvirke nyinfektionsfrekvensen er stadig tvivlsomt. Der bør foretages yderligere undersøgelser i besætninger med en høj prævalens af mastitis forårsaget af yverafhængige bakterier. For at få et tilfredsstillende og entydigt resultat er det endvidere vigtigt, at andre ændringer af hygiejnen omkring malkning ikke afprøves i forsøgsperioden.

4 Supplerende undersøgelser

Efter forsøgsperioden var afsluttet blev der skiftet ventiler i indførringsslangerne, vandmængden blev justeret og Airwash-anlægget blev rengjort (firmaet var ansvarlig herfor). Efter montering af de nye ventiler blev der ikke konstateret tilbageløb af mælk i indførringsslangerne.

Formålet med de supplerende undersøgelser var påny at bestemme mængden af fjernet bakterier i pattekoppen, og undersøge variationen i mængden af skyllevand fra pattekopperne.

Metoden var den samme som i forsøgsperioden. For registrering af mængden af skyllevand blev der dog kun foretaget en måling pr. pattekop. Til bakteriologisk undersøgelse blev der opsamlet 12 prøver fra pattekopperne og to prøver af indførringsvandet.

I en anden praktisk besætning (Shell-Farm) var der opsat tilsvarende skylleanlæg som i forsøgsbesætningen (Torstedlund). Til registrering af en eventuel besætningsvariation blev der her udtaget otte skylleprøver fra pattekopperne og to fra indførringsvandet til bakteriologisk undersøgelse. Mængden af skyllevand fra samtlige pattekopper

blev ligeledes målt. Den benyttede metode var den samme som på Torstedlund.

4.1 Undersøgelser af skyllevand på Torstedlund Mængden af skyllevand

Der var stadig en stor variation i mængden af skyllevand pr. pattekop (tabel 15). Forskellen mellem laveste og højeste målte vandmængde var på 157 ml. Gennemsnitlig var mængden 91 ml pr. pattekop mod før 64 ml. Der var klar forskel i vandmængderne mellem siderne i malkestalden ($P < 0.001$), men ingen forskel mellem malkesættene indenfor siderne og mellem pattekopperne indenfor malkesættet. Skylleproceduren for observationsdagen tog ca. 30 sekunder. For side A i malkestalden bestod afskylningen af 6*trykluft og 5*vand og side B bestod af 3*trykluft og 2*gange vand. Ved sammenligning mellem skyllemængderne pr. malkesæt i tabel 16 med tilsvarende malkesæt i tabel 15, ses det, at vandmængden stadig var lavere under malkningen, hvor der tages prøver til bakteriologisk undersøgelse.

Tabel 15. Gennemsnitlig mængde skyllevand pr. pattekop.

Amount of flush water per liner at Torstedlund after cleaning and adjustment of the Airwash-system.

Malkesæt Cluster	Side A		Side B	
	Skyllevand, ml Flush water, ml	Spredning Std. dev.	Skyllevand, ml Flush water, ml	Spredning Std. dev.
1	64.5	6.2	124.5	25.3
2	78.5	4.9	102.5	34.9
3	65.0	11.1	78.5	46.1
4	76.3	7.4	122.5	37.3
5	52.0	12.0	85.5	31.7
6	62.8	7.6	119.8	61.0
7	62.5	8.4	117.5	33.8
8	68.8	10.3	98.3	61.0
9	67.5	5.4	145.3	36.9
10	54.2	1.9	135.5	27.7
11	70.8	15.3	122.0	45.9
12	64.5	8.7	137.8	16.8
Gennemsnit Average	65.6	10.8	115.8	40.6

Mindste signifikante forskel i vandmængde = 12.3
Least significant difference 12.3.

Tabel 16. Antal bakterier i skyllevand (Spredning) og den procentvise reduktion.
No. of bacteria in flush water (Std. dev.) and percent reduction. Samples were taken at Torstedlund after cleaning and adjustment of the Airwash-system.

Skyl Flush	Malkesæt Cluster	Antal obs. No. of obs.	Mængde skylle- vand, ml Amount of flush water, ml	Kimtal SPC Log10	Koliforme Coliforms Log10	S. aureus S. aureus Log10
1.	2A	4	71.5 (2.1)	6.52 (0.43)	0.62 (1.23)	4.52 (0.44)
	4A	4	73.1 (7.3)	6.59 (0.44)	2.61 (0.67)	4.89 (0.04)
	2B	2	68.0 (5.8)	6.66 (0.08)	2.60 (1.05)	5.31 (0.28)
	4B	2	85.0 (13.9)	6.29 (0.31)	2.23 (0.07)	4.60 (0.45)
Gennemsnit 1. skyl Average of 1st flush		12	73.7 (8.2)	6.53 (0.36)	1.88 (1.24)	4.79 (0.40)
2.	2A	4	73.8 (10.2)	5.84 (0.30)	0.45 (0.89)	2.80 (1.89)
	4A	4	68.1 (7.2)	6.28 (0.11)	1.31 (1.52)	2.75 (1.84)
	2B	2	103.9 (36.8)	6.05 (0.05)	2.50 (0.55)	4.37 (0.00)
	4B	2	57.7 (23.7)	5.95 (0.29)	0.94 (1.32)	3.87 (0.12)
Gennemsnit 2. skyl Average of 2nd flush		12	74.2 (21.0)	6.04 (0.27)	1.16 (1.25)	3.22 (1.54)
Reduktion af bakterier, % - Percent reduction						
1.-2. skyl	2A	4	-	79	32	98
	4A	4	-	51	95	99
	2B	2	-	75	21	89
	4B	2	-	54	95	81
Gennemsnit 1.-2. skyl Average of 1st-2nd flush		12	-	68***	81*	97**

Bakteriologisk undersøgelse af skyllevand

Afskylningen reducerede totalkim i pattekopperne med 68% ($P < 0.001$), koliforme bakterier med 81% ($P < 0.05$) og *S. aureus* med 97% ($P < 0.01$), tabel 16. Dette var en forbedring i forhold til forsøgsperioden, hvor reduktionen for totalkim var 50%, koliforme bakterier 68% og *S. aureus* 61%. Totalkim i indføringsvandet var forsat højere end antallet i prøverne fra pattekopperne. Antallet af totalkim pr. ml i indføringsvandet var 18000. Det høje antal kim skyldes formentlig, at rengøringen af Airwash-anlægget ikke har været effektiv nok. Der var ingen forekomst af koliforme bakterier og *S. aureus* i indføringsvandet.

4.2 Undersøgelser af skyllevand på Shell-Farm Mængden af skyllevand

Der var ingen statistisk forskel i mængden af skyllevand pr. pattekop mellem siderne i malkestalden, mellem malkesættene eller mellem pattekopperne indenfor malkesættet (tabel 17). Der fore-

kommer dog en variation mellem laveste og højeste målte skyllemængde på 124 ml. Gennemsnitlig var vandmængden på 43 ml pr. pattekop, hvilket er noget lavere end den dimensioneret mængde på 75 ml. Skylleproceduren for observationsdagen tog ca. 30 sekunder. Afskylningen bestod af 5* vand og 5* trykluft i begge sider af malkestalden. Lufttrykket virkede højere på Shell-Farm end på Torstedlund. Der foreligger dog ingen konkrete målinger.

Bakteriologisk undersøgelse af skyllevand

Afskylningen reducerede totalkim i pattekopperne med 80% ($P < 0.001$), og *S. aureus* med 97% ($P < 0.05$), tabel 18. Kun i to af de udtagende prøver, begge fra første skyl, var der fund af koliforme bakterier. De få antal prøver med koliforme bakterier skyldes formentlig en grundig patteaf tørring før malkning. Antallet af totalkim pr. ml i indføringsvandet var 89000. I en af prøverne var der forekomst af *S. aureus*. Dette tyder på, at det er nødvendigt med en form for periodevis rengøring af Airwash-anlægget.

Tabel 17. Gennemsnitlig mængde skyllevand pr. pattekop.
Amount of flush water per liner at Shell-Farm.

Malkesæt Cluster	Side A		Side B	
	Skyllevand, ml Flush water, ml	Spredning Std. dev.	Skyllevand, ml Flush water, ml	Spredning Std. dev.
1	46.8	13.5	37.0	9.2
2	45.8	10.4	43.3	4.4
3	65.3	49.6	27.5	9.3
4	39.3	15.1	54.5	20.4
5	42.3	16.2	49.0	16.8
6	42.8	9.0	56.5	9.5
7	38.3	10.6	22.3	1.9
8	40.8	7.1	39.5	6.1
Gennemsnit Average	45.1	20.1	41.2	15.3

Mindste signifikante forskel i vandmængden = 10,4 ml.
Least significant difference 10.4 ml.

Tabel 18. Antal bakterier i skyllevand (Spredning) og den procentvise reduktion.
No. of bacteria in flush water (Std. dev.) and percent reduction at Shell-Farm.

Skyl Flush	Malkesæt Cluster	Antal obs. No. of obs.	Mængde skyllevand, ml Amount of flush water, ml	Kimtal SPC Log10	S. aureus S. aureus Log10
1.	8A	4	51.9 (5.9)	5.91 (0.13)	2.72 (1.87)
	8B	4	39.0 (19.4)	6.39 (0.34)	3.99 (0.93)
Gennemsnit 1. skyl Average of 1st flush		8	45.4 (15.0)	6.15 (0.35)	3.36 (1.53)
2.	8A	4	41.2 (3.9)	5.28 (0.25)	1.37 (1.58)
	8B	4	28.9 (14.2)	5.61 (0.25)	2.44 (1.65)
Gennemsnit 2. skyl Average of 2nd flush		8	35.1 (11.6)	5.45 (0.29)	1.90 (1.60)
Reduktion af bakterier, % - Percent reduction					
1.-2. skyl	8A	4	-	77	96
	8B	4	-	83	97
Gennemsnit 1.-2. skyl Average of 1st-2nd flush		8	-	80***	97*

4.3 Test af skyllemetode

Den i undersøgelsen anvendte metode til bestemmelse af Airwash-systemets kimreducerende effekt i pattekoppen giver en fejlvurdering, såfremt hele den indvendige overflade af pattegummiet ikke afskylles. For at opnå en bedre vurdering af hvor mange kim der totalt var i pattekoppen før og efter afskylningen er metoden beskrevet af Smith et al. (1985) afprøvet. Der var dog visse ændringer, således at den kunne anvendes under de givne forudsætninger.

Materialer og metoder

Airwash-systemet opsat på Shell-Farm blev benyttet i denne undersøgelse. Opsætningen af Airwash-anlægget var i forhold til foregående undersøgelse ændret, således at der nu blev benyttet varmt vand til afskylning. Vandtemperaturen var før indføring i anlægget ca. 82°C. Når vandet kom ud af pattekoppen var temperaturen faldet til 48°C. Det antages, at vandtemperaturen ved afskylning var ca. 50°C.

Fosfatbuffer (PBS) 0,8 M pH 7,5 blev benyttet ved afskylning af den indvendige overflade af pattegummiet. Efter en malkning blev pattegummiet venstre bag lukket lige under, hvor vandet til automatisk afskylning af pattekoppen blev ført ind. Herefter blev der hældt ca. 25 ml PBS ned i pattegummiet. Pattegummikravens åbning blev lukket ved at sætte en steril prop i åbningen. Pattekoppen blev vendt 4-5 gange, hvorefter indholdet blev hældt tilbage i det sterile glas. Airwash-anlægget blev aktiveret, og skyllevandet blev opsamlet fra pattekoppen højre bag. Efter samme procedure som før afskylning blev mængden af tilbageværende bakterier i pattekoppen bestemt ved afskylning med PBS. I alt blev der udtaget prøver efter malkning af 12 køer. Prøverne blev udtaget fra 5 forskellige malkesæt. Prøve 12, udtaget fra malkesæt 6B, blev taget efter malkning af ko inficeret med *S. aureus*. Der var kliniske tegn på mastitis i mælken. Der blev endvidere taget prøver af indførvands vandet og af vandet fra varmtvandshenen før vandet føres ind i Airwash-anlægget.

Ved hjemkomsten blev samtlige prøver vejlet og den vejede mængde blev antaget som den mængde pattekoppen blev afskyllt med. Den videre procedure af den bakteriologiske undersøgelse var som tidligere beskrevet. Prøverne blev ikke undersøgt for koliforme bakterier, idet der i den foregående

undersøgelse kun var forekomst af koliforme bakterier i 2 ud af 16 prøver.

Resultater og diskussion

Afskylningen reducerede totalkim i pattekopperne med 77% og *S. aureus* med 48%, tabel 19. For totalkim er det i overensstemmelse med resultatet fundet i foregående undersøgelse på Shell-Farm. Reduktionen var her på 80%. Samtidig er antal fjernede bakterier på 5,61 (tabel 19) i rimelig overensstemmelse med antal af bakterier stammen fra pattekoppen på 5,63 (tabel 20).

For *S. aureus* er den her fundne reduktion på 48% langt under reduktionen på 97%, der blev fundet i foregående undersøgelse. Denne forskel kan være et resultat af, at metoden beskrevet af Smith et al. (1985) indebærer, at der måles på to forskellige pattekopper indenfor samme malkesæt. Metoden tager derved ikke højde for den betydelige variation der kan opstå såfremt kun den ene af kirtlerne er inficeret med patogene bakterier. Rester af mælk fra inficerede kirtler kan indeholde et betydeligt antal bakterier. I den her foretagende undersøgelse giver dette sig udtryk ved, at antal fjernede *S. aureus* ved manuel afskylning (3,24; tabel 19) er langt under mængden af *S. aureus* i skyllevandet ved automatisk afskylning (3,85; tabel 20). Prøven udtaget efter malkning af en ko inficeret med *S. aureus* bekræfter, at der kan forekomme en betydelig mængde af mastitispatogener i mælkesættet, som kan overføres til den efterfølgende ko, der skal malkes. Afskylning med Airwash-systemet vil reducere, men ikke eliminere overførelsen af mastitispatogener.

For anvendelse af metoden beskrevet af Smith et al. (1985) skal der udtages et betydeligt antal prøver for at udligne den tilfældige variation, der opstår som følge af forskelle i bakterieantallet i pattekoppen før afskylning. Metoden har dog den fordel, at hele den indvendige overflade af pattegummiet afskylles og der er mulighed for at benytte afskylningsvæsker, der favoriserer bakteriernes overlevelse.

Den gennemsnitlige mængde skyllevand for de afprøvede malkesæt var 49,6 ml. Ventilene i indførvangsslangen holdt stadig ikke tæt. Indførvangsvandet var forsat stærkt kontamineret. Prøver af både koldt- og varmtvandshane viste, at vandet, der blev ført ind i anlægget, var rent (i en prøve blev der fundet 1 kim pr. ml).

Tabel 19. Antal bakterier i pattekoppen før og efter afskylning.

No. of bacteria in rinse water before and after back flushing by the Airwash-system (Method described by Smith et al., 1985).

	Malkesæt Cluster	Antal obs. No. of obs.	Totalkim SPC Log10		Antal obs. No. of obs.	S. aureus S. aureus Log10	
Antal bakterier i pattekoppen <u>før</u> afskylning <i>No. of bacteria before flushing of left hind</i>	2A	2	5,45	(0,40)	1	3,26	(-)
	3A	3	5,81	(0,24)	2	3,62	(0,78)
	2B	3	5,64	(0,19)	3	3,44	(0,23)
	3B	2	5,93	(0,66)	1	3,44	(-)
	6B	1	5,80	(-)	1	4,24	(-)
Gennemsnit - Average		12	5,72	(0,33)	8	3,56	(0,44)
Antal bakterier i pattekoppen <u>efter</u> afskylning <i>No. of bacteria after flushing of right hind</i>	2A	3	5,27	(0,55)	2	2,85	(0,71)
	3A	3	5,35	(0,32)	3	3,88	(0,28)
	2B	3	4,76	(0,44)	3	2,92	(0,57)
	3B	2	5,02	(0,42)	2	2,95	(0,41)
	6B	1	4,81	(-)	1	4,11	(-)
Gennemsnit - Average		12	5,08	(0,44)	11	3,28	(0,65)
Antal fjernede bakterier ved afskylning - <i>No. of bacteria remove by flushing</i>							
Gennesnit - Average		12	5,61***		8	3,24 ^{NS}	
Reduktion af bakterier, % - <i>Percent reduction</i>							
Gennemsnit - Average		12	77		8	48	

Tabel 20. Antal bakterier i skyllevandet.

No. of bacteria in flush water (Std. dev.).

	Malkesæt Cluster	Mængde skylle- vand, ml Flush water, ml	Antal obs. No. of obs.	Totalkim SPC Log10	Antal obs. No. of obs.	S. aureus S. aureus Log10
Antal bakterier i indførgsvand <i>No. of bacteria in water from the leading-in tubes</i>		53,9 (12,1)	2	5,37 (0,01)	2	1,40 (1,98)
Antal bakterier i skyllevandet <i>No. of bacteria in flush water</i>	2A	57,3 (1,9)	3	5,69 (0,57)	1	2,74 (-)
	3A	45,5 (5,8)	3	5,85 (0,36)	3	4,29 (0,56)
	2B	50,4 (3,3)	3	5,81 (0,31)	3	3,73 (0,39)
	3B	52,0 (2,8)	2	6,04 (0,43)	2	3,40 (0,99)
	6B	31,8 (-)	1	5,75 (-)	1	4,87 (-)
Gennemsnit - Average		49,6 (7,8)	12	5,82 (0,36)	10	3,85 (0,76)
Antal bakterier stammende fra pattekoppen - <i>No. of bacteria from the liner</i>						
Gennemsnit - Average			12	5,63	10	3,85

Denne supplerende undersøgelse ændrer ikke ved resultatet fundet i de foregående undersøgelser. For at opnå en god vurdering af et afskylningssystems rengørende effekt bør det afprøves efter malkning

af køer inficeret med mastitispatogener. Ved udtagning af et betydeligt antal prøver giver metoden beskrevet af Smith et al. (1985) sandsynligvis det mest korrekte resultat.

5 Konklusion

Airwash-anlægget reducerede ikke bakterieantallet med 95% som forventet, og det var ikke i stand til at nedsætte nyinfektionsfrekvensen, hverken med miljø- eller yverafhængige bakterier. Der var heller ingen forbedring i kocolletallet. Den manglende positive effekt kan skyldes:

1. Airwash-anlægget fungerede ikke teknisk optimalt, hvilket kan have bevirket, at den forventede reduktion i bakterieantallet i pattekoppen ikke blev opnået.
2. Der var en lav prævalens af mastitis forårsaget af yverafhængige bakterier. Hygiejneforanstaltninger, som afskylning af malkesættet, under malkning har derfor en mindre betydning for nyinfektionsfrekvensen. Systemet blev altså ikke afprøvet i en besætning, hvor det kunne vise sin optimale effekt.
3. Smitteoverførelsen under forberedelsen var ikke søgt begrænset maksimalt, hvorfor det er uvist hvorvidt malkesættet var en betydende smitekilde.
4. Ud fra litteraturen konkluderes det, at afskylning med rent vand selv under gode forhold ikke er i stand til at reducere bakterieantallet i pattekoppen tilstrækkeligt til at påvirke nyinfektionsfrekvensen.

Airwash-anlægget bør yderligere afprøves under optimale tekniske forhold og i en besætning med en høj prævalens af mastitis forårsaget af yverafhængige smitstoffer. Det bør endvidere, i den pågældende besætning, med rimelighed kunne formodes, at bakteriespredning med malkesættet ligger til grund for de yversundhedsproblemer.

Litteraturliste

- Anon., 1992. Veterinærdirektoratets vejledning af 15. februar 1992 om mastitisbekæmpelse og laboratoriemæssige undersøgelser i forbindelse hermed. Veterinærdirektoratet, februar 1992.
- Bramley, A.J. & F.H. Dodd. 1984. Reviews of the progress of dairy science: Mastitis control - progress and prospects. *J. Dairy Res.* 51: 481-512.
- Brookbanks, E.O. 1965. A field experiment to evaluate a practical hygiene programme for the control of bovine mastitis. *New Zealand Veterinary Journal.* 13,6: 163-166.
- Bushnell, R.B. 1979. Backflushing: The next step in automation. *Dairy Herd Management.* 16,4: 66-72.
- Culture Media Merck, 1984. Handbook.
- Davidson, I. 1963. Experiments on controlling staphylococcal mastitis. *Res. Vet. Sci.* 4: 64-76.
- Enevoldsen, C., F.M. Andersen, T. Holmen, G.H. Sørensen, P.S. Madsen & N.E. Jensen. 1987. Skjult mastitis og bekæmpelse ved brug af handlingsprogrammer. In: *Studier i kvægproduktionsystemer.* Ed.: V. Østergaard og J. Hindhede. 628. Ber. Statens Husdyrbrugsforsøg. p. 108-133.
- Fox, L.K., M. Gershman, D.D. Hancock & C.T. Hutton. 1991. Fomites and reservoirs of staphylococcus aureus causing intramammary infections as determined by phage typing: The effect of milking time hygiene practices. *Cornell Vet.* 81: 183-193.
- Hogan, J.S., R.J. Harmon, B.E. Langlois, R.W. Hemken & W.L. Crist. 1984. Efficacy of an iodine backflush for preventing new intramammary infections. *J. Dairy Sci.* 67: 1850-1859.
- Neave, F.K. 1971. The control of mastitis by hygiene. In: *Control of bovine mastitis.* Ed.: F.H. Dodd & E.R. Jackson. NIRD, Shinfield, England. p. 55-73.
- Neave, F.K., F.H. Dodd, R.G. Kingwill & D.R. Westgarth. 1969. Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management. *J. Dairy Sci.* 52,5: 696-706.
- Rider, S. 1992. "Windwill" cluster washer beats mastitis in Holland. *Dairy Farmer*, June 1992. p. 22-23.
- Ruffo, G. 1978. Development of devices for cleaning teat cup clusters after each milking. *Proceedings of the international symposium on machine milking.* 17th Annu. Mgt. National Mastitis council, Inc. 17: 388-399.
- SAS Users guide, Version 6. 1989. 4th ed. SAS Inst., Cary, NC.
- Shearer, J.K., K.L. Smith, D.R. Bray & T.Q. Tran. 1985. (abstr.). Field observations on the procedures in florida dairies. *J. Dairy Sci.* Vol. 68 suppl. 1. p. 199.
- Smith, T.W. 1985. The appropriate role of automated backflushing in prevention of mastitis. 24th Annu. Mgt. National Mastitis Council, Inc. 24: 126-130.
- Smith, T.W., R.J. Eberhart, S.B. Spencer, E.M. Kesler, G.L. Hargrove, R.W. Wilson & C.W. Heald. 1985a. Effect of automatic backflushing on number of new intramammary infections, bacteria on teatcup liners, and milk iodine. *J. Dairy Sci.* 68: 424-432.
- Waterman, D.F., R.J. Harmon, R.W. Hemken & B.E. Langlois. 1983. Milking frequency as related to udder health and milk production. *J. Dairy Sci.* 66: 253-258.

