

Behandling af mastitis

Line Svennesen, Københavns Universitet
11. november 2021

Skovbjerg Dyrlægeteam (6 dyrlæger)

STØTTET AF

Mælkeafgiftsfonden

Line Svennesen

- DVM 2013
- Phd om diagnostik af smitsom mastitis
- Postdoc ved Københavns Universitet
- Projekt “Yversundhed i top” – arbejdsplan vedr. behandling af mastitis

Praksisnær forskning?!



UNIVERSITY OF COPENHAGEN
DEPARTMENT OF VETERINARY AND ANIMAL SCIENCES

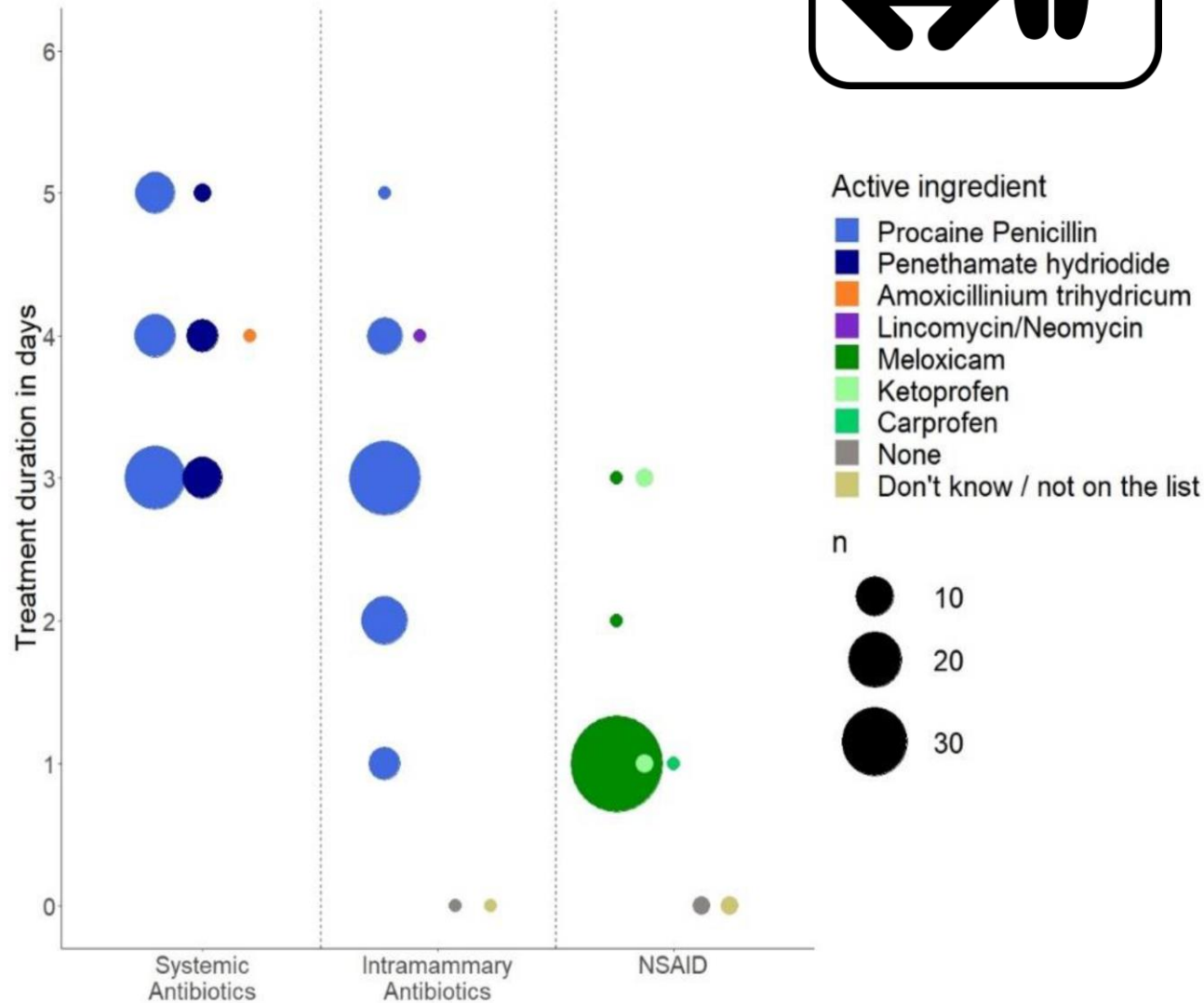


**Diagnosis of *Staphylococcus aureus* and
Streptococcus agalactiae mastitis**
Taking into account infection dynamics and teat skin as
a reservoir

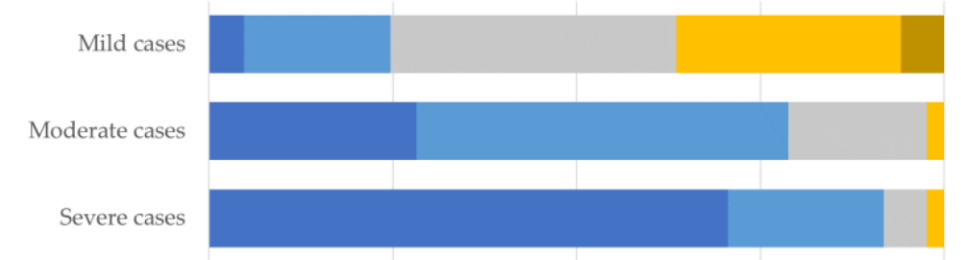
PhD Thesis 2018 • Line Svennesen



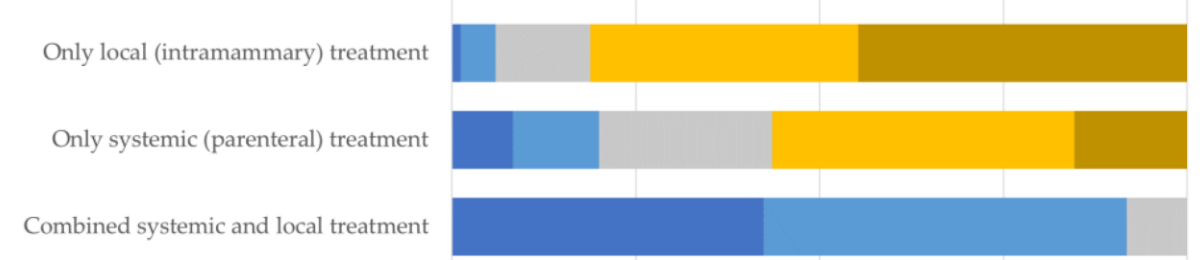
Opvarmning



How often would you initiate antibiotic treatment for mastitis, given the respective severity of clinical symptoms?



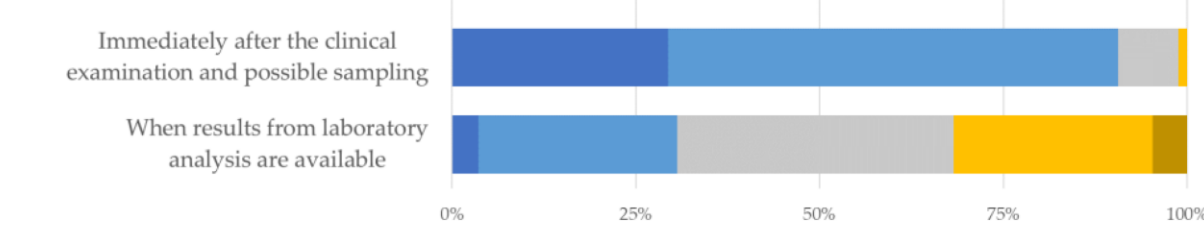
How would you administer antibiotics in cases of clinical mastitis?



How often do you use supportive treatment with NSAIDs in cases of clinical mastitis?



How often do you initiate treatment at these two time points?



Projekt: Yversundhed i top!

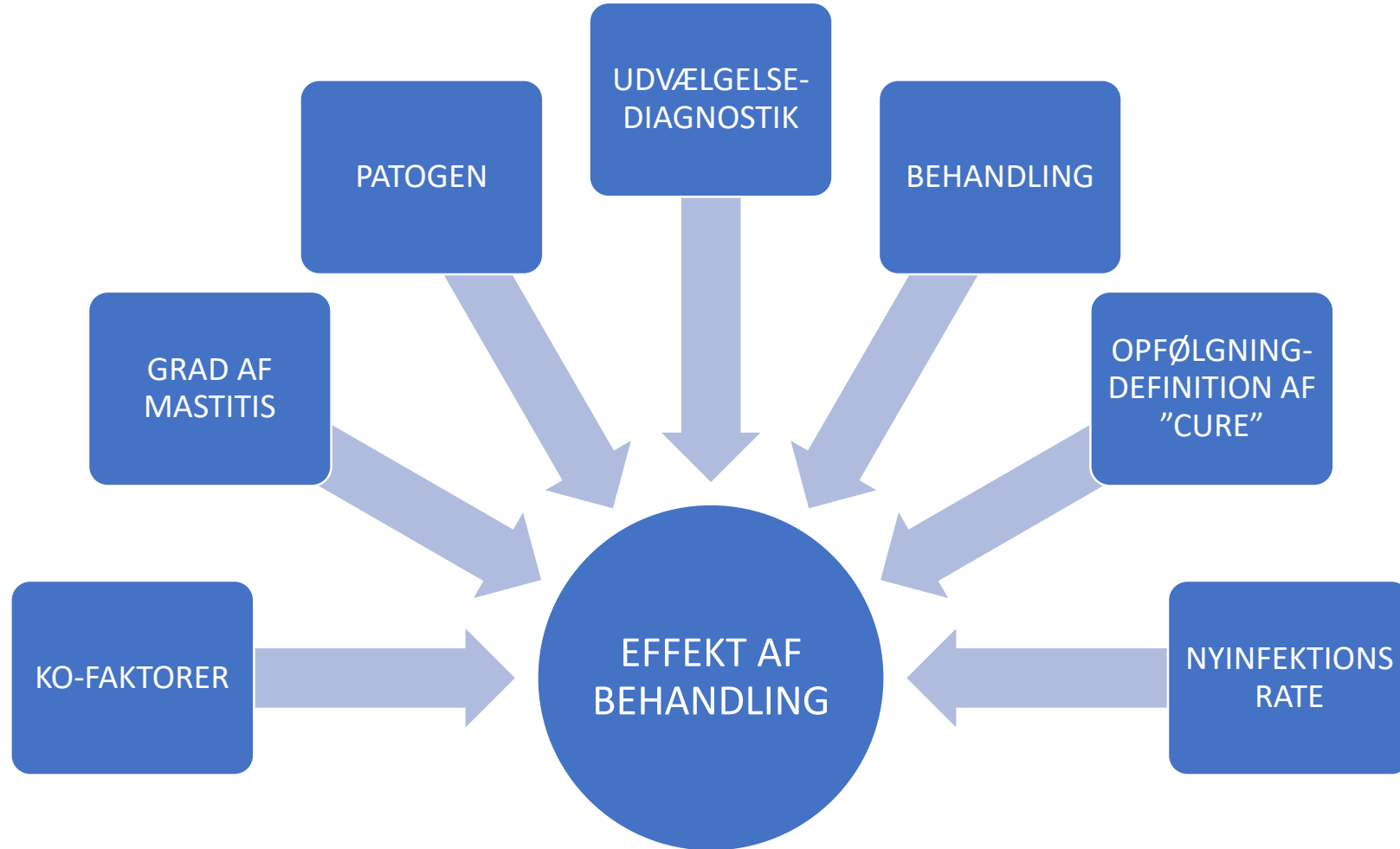
REDUCÉR BRUG AF ANTIBIOTIKA

Hvor skal vi sætte ind?

- Hovedfokus: **Strategi for behandling af klinisk mastitis**
 - De “rigtige” køer
 - Den “rigtige” behandling

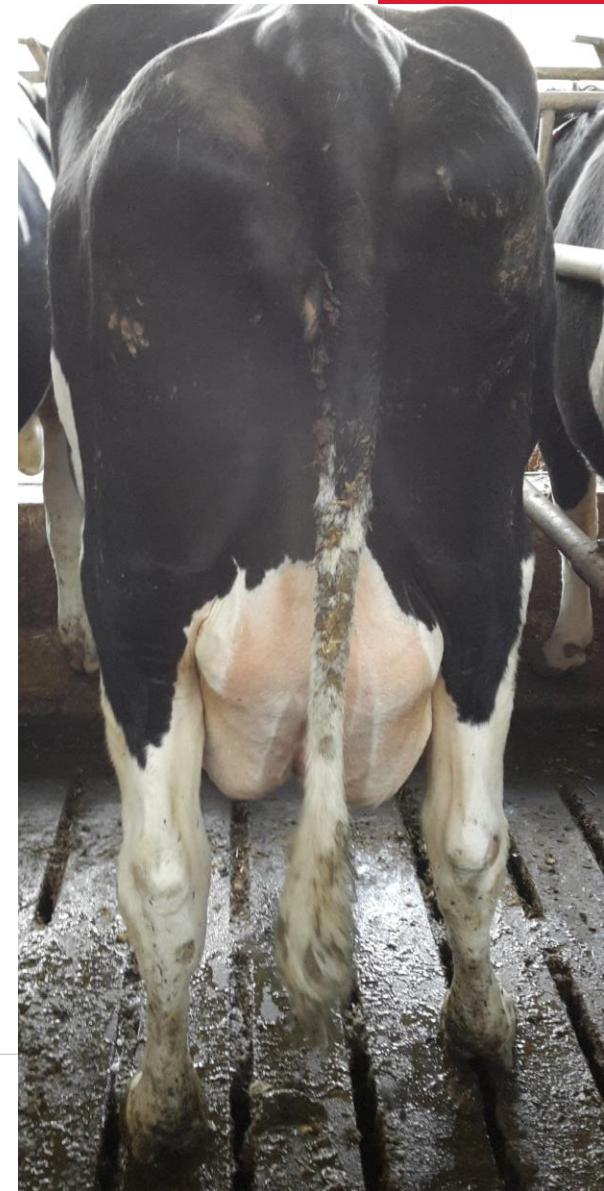
Effektiv behandling





Ko-faktorer

- Alder: yngre → højere cure
- DEK: tidlig laktation → højere cure
- Mastitis-historik: første tilfælde → højere cure
 - ≥ 3 tilfælde i laktation = uhelbredelig (Pinzón-Sánchez and Ruegg, 2011)
- Celletal: lavere SCC → højere cure
 - $\geq 3 \times \text{SCC} > 700.000$ = uhelbredelig (Østerås, 2006)



Grad af mastitis

- 1) **Mild:** ændringer i mælken udseende
- 2) **Moderat:** ændringer i mælken udseende + inflammationstegn

Ikke dårligere helbredelse ved at vente 24 timer med antibiotikose (Wagner et al., 2007; Vasquez, 2017, Bates et al., 2020)



Grad af mastitis

3) Svær: ændringer i mælkens udseende + generelle sygdomstegn (almen påvirkning fx. Feber)

- Risiko for bakteriæmi (32% for E.coli) – behandles parenteralt (Wenz et al., 2001)
- Bakteriæmi bekræftet i 1-8% af 70 tilfælde (Brennecke et al., 2020)
- 1/3 Gram negative, 1/3 ingen bakterier, 1/3 Strep. Uberis (Schmenger & Krömker, 2020)
- Højere cure rate ved svær grad af mastitis (self-cure?) (Oliveira et al., 2013) kort infektionstid?
- Ikke evidens for bredspektret behandling -i litteraturen



Diagnostik

- Diagnostik forud for behandling: Tid/Logistik!?
- On-farm culture/On-farm test: hurtig (12-14 timer) G+/G-/no-growth
 - Reduktion i behandlinger = 50 % (Lago et al. 2011)
 - Økonomi afhænger af besætningens patogener...
 - Er beslutningsstøtte!



Variierende sensitivitet og specificitet, pris, tid

Test	Ready in	Sensitivity/Specificity	Labour input	Costs
mastDecide	12-14 h, G+, G-, no growth	G+: 84, 94%	+	++
VetoRapid	24-48 h , Streps, Staphs, G-, no growth	G+: 91, 78%	++	++
Accumast	16-24h, Streps (Strep. spp., Enterococci), Staphs (S. aureus, NAS), G- (E. coli, Pseu., other), no gr.	Overall: 82, 90%	++	++
Speed Mam Color	48 h, Staphs, Streps, G-, no growth, 7d Myco, Antibiogram after 24 h	Overall: 92, 96%	+++	+++
Rapid Aerobic Count/ Rapid Coliform Count	12 h; G+; G-, no growth	G+: 93, 39%	++	++
Aerobic Count plate Coliform Count	24 h; G+; G-, no growth	G+: 85, 75%	++	++
Minnesota Easy Culture System Bi-/Tri- Plate	18-24 h, Staph, Streps, G-; no growth	G+: 60, 83% Overall: 98, 69%	++	++
Mastitis SSGN /C Quad plate	24 h; Staph., Streps, G-, no growth	Overall: 79, 79%	+++	++

Krömker 2020

Patogen

- *Staph. aureus* < alle andre
- Gram negativ eller no growth > Gram + : Self-cure? Anvendt antibiotikum?
- β -laktamase negativ > β -laktamase positiv
- Minor pathogens > Major pathogens
- Cure falder med stigende CFU (Ziesch et al. 2016)

Table 1: M. Ziesch and V. Krömker, 2016

Pathogen-related factor	Species/genus of pathogen cultured in pre-treatment sample		
		Significantly lower BC for cases caused by <i>S. aureus</i> than other pathogens	7, 13, 19
		Significantly higher BC for β -lactamase-negative <i>S. aureus</i> strains than for β -lactamase-positive <i>S. aureus</i> strains	11, 14, 20
		Significantly higher BC for <i>Sc. uberis</i> than <i>S. aureus</i> , <i>Sc. dysgalactiae</i> or multiple pathogens	12
		Significantly higher BC for CNS than <i>S. aureus</i>	22
		Significantly higher BC for minor pathogens than major pathogens	16, 17
		Significantly higher BC for coliform bacteria (especially <i>E. coli</i>) than environmental streptococci or mixed infections	23
		Higher BC for <i>E. coli</i> than for <i>Enterobacter cloacae</i> , lowest BC for <i>Klebsiella</i> spp. (without indication of significance)	24
		Significantly higher BC for cases no pathogen or gram-negative pathogens were cultured than cases caused by gram-positive or other pathogens	21
		Tendency for higher BC in culture-negative cases than in culture-positive cases	15



Behandling

Ikke noget svar på hvad der er den bedste AB behandling i systematisk review (Winder et al., 2019)

Gram-positive bacteria, β -lactamas-

- First choice Treatment with Penicillin G.*
- Second choice Only supportive therapy, no antibiotics.

Gram-positive bacteria, β -lactamas+

- First choice Only supportive therapy, no antibiotics.
- Second choice Treatment with a β -lactamase resistant antibiotic.*, **

Gram-negative bacteria (E. coli)

- First choice Only supportive therapy, no antibiotics.
- Second choice Treatment with an antibiotic effective against gram-negative bacteria.*

Nordic guidelines for mastitis treatment, 2011

NSAIDs

Positive effekter generelt! Som supplement til AB..

- Carprofen: positiv effekt på vommotilitet, hjerterytme, temperatur (Vangroenweghe et al., 2005)
- Flunixin: positiv effekt på temperatur, kliniske tegn (Anderson et al., 1986). Øger ædetid og rumenkontraktioner (Wagner et al., 2004)
- Ketoprofen: positiv effekt på cure rate for gram negative cases dagligt så længe der er symptomer (Shpigel et al., 1994) positiv effekt på temp, rumen, resp, ødem (Banting et al., 2008)
- Meloxicam: positiv effekt på bak. cure, repro, SCC og udsætning (McDougall et al., 2009 & 2016)



Behandling – IM eller IMM?

- IMM er bedre end IM for behandling af Streptococci (Erskine et al., 1996)
- Der er ikke forskel i “cure rate” mellem IMM og IM behandling af klinisk mastitis (Sandgren et al., 2008; Kalmus et al., 2014)
- IM øger ikke sandsynlighed for helbredelse i forhold til IMM (Krömker et al., 2017)
- Kun ved *Staph. aureus* mastitis er der en klar fordel ved systemisk behandling frem for lokal behandling (Taponen et al., 2003; Barkema et al., 2006)



Behandling - IMM

- Høj koncentration i mælk
- Hurtig effekt lokalt
- Lavere dosis end ved systemisk behandling
- Mindre risiko for at skabe resistens
- Undgår irritation ved IM administration
- Risiko for at tilføre bakterier via tube i pattekanal hvis ikke aseptisk administration
- Når ikke dybt i yvervæv og blodbane

Table 1: Where to target antimicrobial therapy in clinical mastitis due to different pathogens (Erskine 2003)

	Milk/ducts	Udder tissue	Cow
<i>Streptococcus agalactiae</i>	+++	---	---
Other streptococci	+++	+	---
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+++	---
Coagulase-negative staphylococci	+++	---	---
<i>Arcanobacterium pyogenes</i> (summer mastitis)	---	++	+++
Coliforms	+	--	+++

(Pyörälä, 2009)

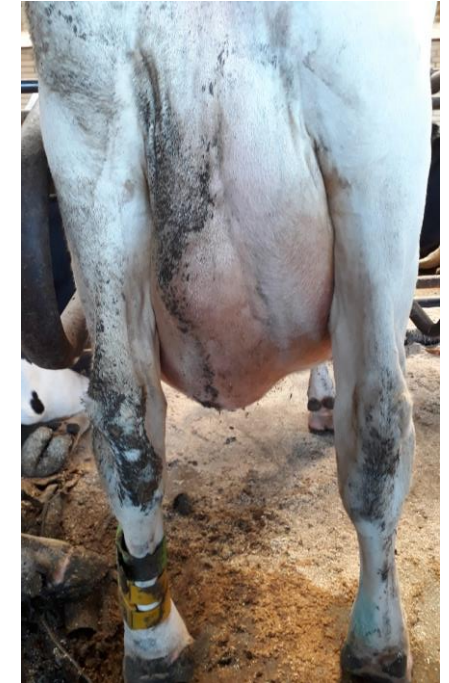
Behandling – længde

Table 2. Estimated probabilities of bacteriological cure by pathogen and duration of intramammary treatment used for treatment of clinical mastitis occurring in primiparous and multiparous cows

Etiology of clinical mastitis	Treatment duration (d)	Bacteriological cure (%)		Source
		Primiparous	Multiparous	
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0.05	0.00	Gillespie et al., 2002; Deluyker et al., 2005; Oliver et al., 2004b
	2	0.15	0.10	
	5	0.25	0.20	
	8	0.40	0.35	
Environmental streptococci	0	0.30	0.25	Morin et al., 1998; Deluyker et al., 2005; Hoe and Ruegg, 2005; McDougall et al., 2007
	2	0.60	0.55	
	5	0.70	0.65	
	8	0.80	0.75	
CNS	0	0.60	0.55	Oliver et al., 2004b; Hoe and Ruegg, 2005; McDougall et al., 2007; van den Borne et al., 2010
	2	0.75	0.70	
	5	0.80	0.75	
	8	0.85	0.80	
<i>Escherichia coli</i>	0	0.80	0.75	Wilson et al., 1999; McDougall et al., 2007; Bradley and Green, 2009; van den Borne et al., 2010; Suojala et al., 2010.
	2	0.90	0.85	
	5	0.90	0.85	
	8	0.90	0.85	
<i>Klebsiella</i> spp.	0	0.40	0.35	Smith et al., 1985; Pyörälä and Pyörälä, 1998; Roberson et al., 2004; Hoe and Ruegg, 2005
	2	0.50	0.45	
	5	0.50	0.45	
	8	0.50	0.45	
No growth	0	0.95	0.90	Roberson et al., 2004; Pinzón-Sánchez, 2010.
	2	0.95	0.90	
	5	0.95	0.90	
	8	0.95	0.90	

Helbredelse/Cure

- **Bakteriologisk helbredelse**
- Cytologisk helbredelse (SCC)
- Klinisk helbredelse
- Kombination af ovenstående



Nyinfektionsrate (NIR)

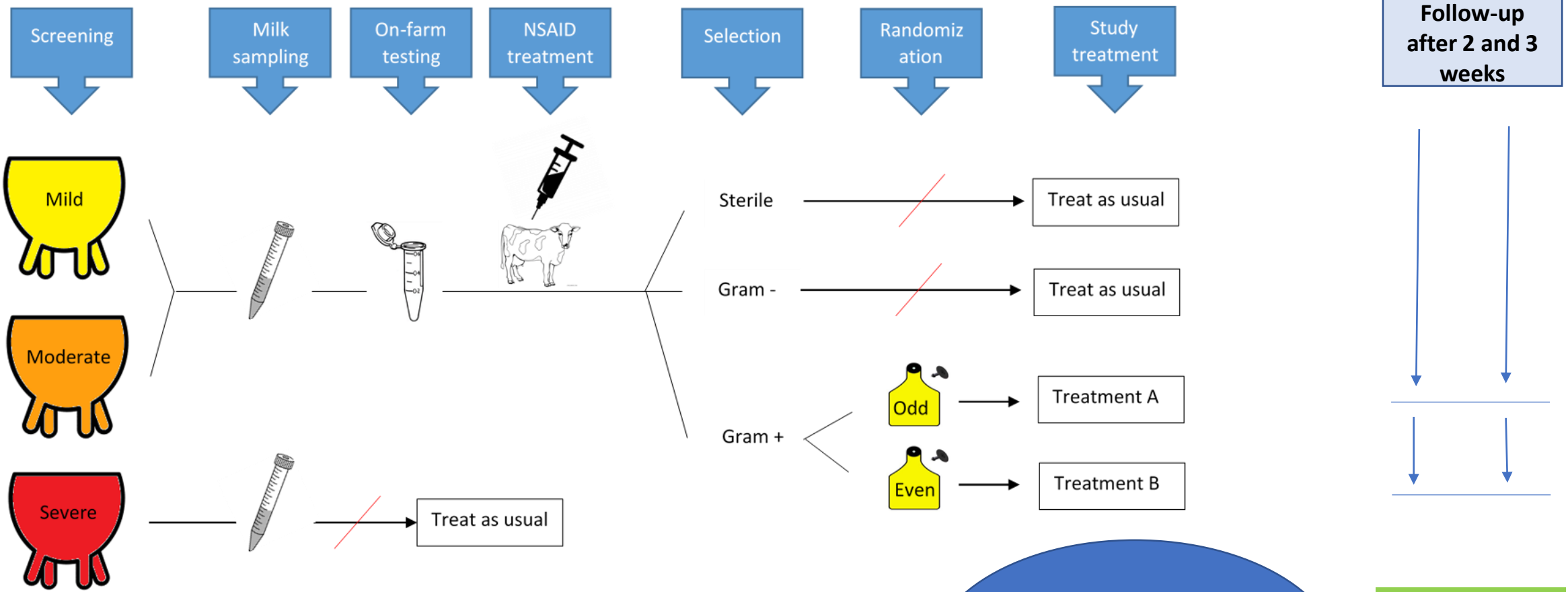
- Svært at skelne en mislykket behandling fra en ny infektion uden detaljeret viden om det involverede patogen
- 30% kliniske tilfælde gentages (laktation) med samme species ([Wente et al. 2020](#))
 - 11% med samme bakteriestamme
 - Forskel i patogen:
 - *Staph. aureus* persisterende
 - *Strep. uberis* mange tilfælde af nyinfektion med anden stamme

Afprøvning i danske besætninger

- Cases til behandling:
 - Udvælges baseret på kliniske tegn (mild-moderat) og af malkepersonale
 - On-farm test for at differentiere mellem G+ og G-, kun behandling af G+
 - Agens vurderes historisk på sterilt udtaget kirtelprøve
- Randomiseret behandling
 - Alle køer behandles med NSAID: ketoprofen (1 dag)
 - Lokal behandling: Penicillin procain IMM (3 dage)
 - Kombineret behandling: Penicillin procain IMM + penthamathydroiodid IM (3 dage)
- Opfølgning efter 2 og 3 uger
- Demonstrere at lokal behandling *ikke er værre end* parenteral + lokal behandling i forhold til helbredelse af mild og moderat klinisk mastitis med penicillin-præparater (Non-inferior studium)

Accept af margin på 15%
15 x reduceret mængde





12 besætninger




Bact. cure




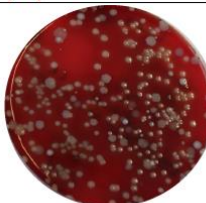
Nr.	Dato	Ko nr.	Kirtel	Mastitis grad	Prøve udtaget	OF test start	OF test slut	OF test resultat	Behandling*	Mastitis grad Dag 4
31				1 2 3				0 - +		0 1 2 3
32				1 2 3				0 - +		0 1 2 3
33				1 2 3						
34				1 2 3						
35				1 2 3						
36				1 2 3						
37				1 2 3						
38				1 2 3						
39				1 2 3						
40				1 2 3						

Graduering af mastitis

		Forandret mælk	Påvirket yver	Syg ko
		Klatter, flager, vandigt, og/eller misfarvet mælk	Hævet, rødt, varmt, hårdt, og/eller ømt yver	Feber > 39,5°C, almen påvirket, nedsat ædelyst og/eller nedsat ydelse
Grad				
1		✓		
Action: 1) mælkeprøve 2) on-farm test 3) smertestillende				
2		✓	✓	
Action: 1) mælkeprøve 2) on-farm test 3) smertestillende				
3		✓	✓	✓
Action: 1) mælkeprøve 2) behandl straks!				

Sådan tager vi en mælkeprøve

<p>Udstyr:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Handsker - Glas - Vat - alkohol 	
<p>1) Tag nye handsker på</p>	
<p>2) Desinficer pattespidsen:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➢ Put alkohol på et stykke vat ➢ Rengør pattespidsen indtil vattet er helt rent når du fjerner det fra pattespidsen 	

<p>3) Malk ud:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➢ Mindst 3 stråler på gulvet 	
<p>4) Tag mælkeprøven:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➢ Skru låget af og gem det i hånden uden at røre indersiden ➢ Tag mælkeprøven mens glasset vinkles i 45° og holdes 20 cm fra patten ➢ Opsaml 5 ml mælk 	
<p>VIGTIGT: sæt prøven i køleskab (5°C) indtil on-farm test</p>	
 <p>Godt arbejde 😊</p>	 <p>Forurening ☹️</p>

Vejledning til MastDecide On-farm test

 <p>1) Klargør mælkeprøve, pipette, HVID og GUL rør, tusch, stativ til prøver</p>	 <p>2) Tag rene handsker på</p>	 <p>5) Vend mælkeprøven et par gange og tag låget af uden at røre indersiden af låg eller glas</p>	 <p>6) Fyld pipetten (0,1 ml) uden at røre prøveglasset med pipetten</p>
 <p>7) Tilsæt mælk til det HVIDE rør uden at pipetten rører indersiden eller mediet</p>	 <p>8) Gentag med det GULE rør</p>	 <p>9) Vend rørene så væskerne blandes</p>	 <p>10) Sæt rørene i varmeskab i mindst 12 til 14 timer</p>
<p>11) Frys mælkeprøven</p>			

Aflæsning af On-farm test efter 12-14 timer

Test rør	Test medium 1 (hvidt låg)	Test medium 2 (gult låg)	Test resultat	Behandling	HUSK AT REGISTRERE RESULTATET!
	Pink	Pink	Ingen bakterier (0)	Ingen antibiotika 	
	Hvid	Pink	Gram negative bak (-)	Ingen antibiotika 	
	Hvid	Hvid	Gram positive bak (+)	Ulige øremærke → Behandles i kirtlen Lige øremærke → Behandles i kirtel og krop	

Foreløbige resultater

RÅ DATA!

Bakteriologisk cure

- ***Positiv feedback på OF-test!***
- ***Efterspørgsel på "systematik"***
- ***Kliniske registreringer giver overblik***

Reduktion i antal AB behandlinger helt ned til 1/3
-uden umiddelbar effekt på yversundhed
-analyse følger..

Hvad er baseline
for tid fra klinik til
behandling?



Resultater

No.	Date	Cow ID	Quarter	Mastitis grade	Sample	OF test start	OF test end	OF test result	Treatment*	Mastitis grade Day 4
111	24.11	5235 MAX	HF	① 2 3	7:10	12:56	5:31	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
112	24.11	4683 MAX	VF	① 2 3	8:50	12:59	5:31	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
113	24.11	4683 MAX	HF	① 2 3	8:51	13:00	5:32	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
114	24.11	4888 MAX	HF	① 2 3	8:00	13:05	5:32	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
115	24.11	2674 MAX	HF	① 2 3	8:10	13:07	5:33	0 ⊖ ⊕	Carepen Mamyzin	0 1 2 3
116	24.11		VF	① 2 3	8:11	13:08	5:33	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
117	24.11		VF	① 2 3	8:12	13:09	5:33	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
118	24.11		VF	① ② 3	20:46	23:13	13:20	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
119	25.11	4367 MAX	HF	① 2 3	8:20	13:14	5:36	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
120	25.11	4979 MAX	HB	① 2 3	8:00	13:16	5:36	0 ⊖ +	—	0 1 2 3

80% mild-moderat

35% G+

Knap 500 behandlinger

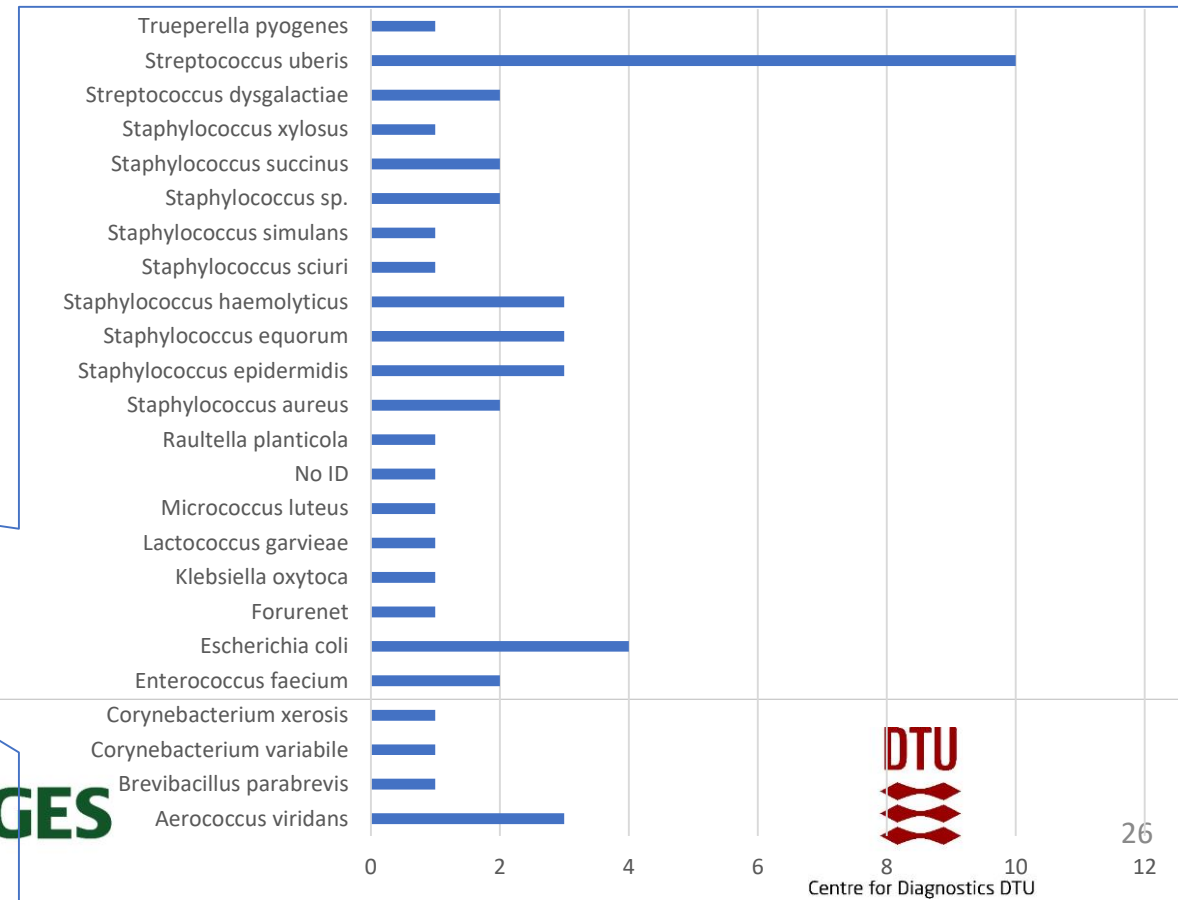
1800 registreringer

*Odd cow ID (1,3,5,7,9)= Carepen 3d, Even cow ID (0,2,4,6,8)= Carepen+Mamyzin 3d, ALL COWS= Dinalgen 1d
 The sample should be stored at 5°C BEFORE OF test

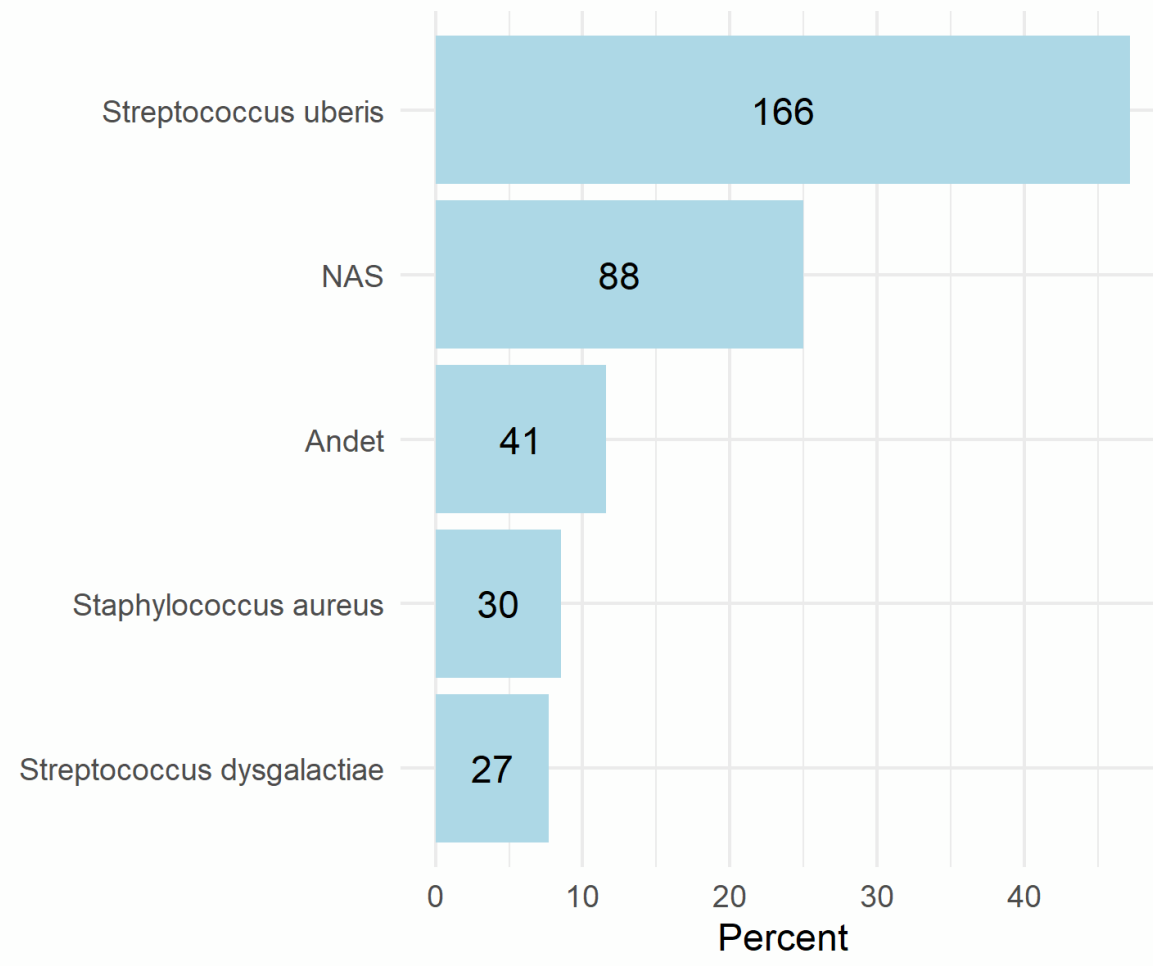
Kliniske yverbetændelser – Gram + på OF test

6 % forurenede prøver defineret ved mere end 2 species

Bakterie	Antal	Heraf renkultur
Forurening	31	-
Strep. uberis	165	130
NAS	135	59
Staph. aureus	52	33
Strep. dysgalactiae	40	26
E. coli	25	12
Strep. agalactiae	1	1
T. pyogenes	1	0
Andet	81	30
Dyrkningsnegativ 10ul	63	-
Heraf vækst på 100ul	28	-



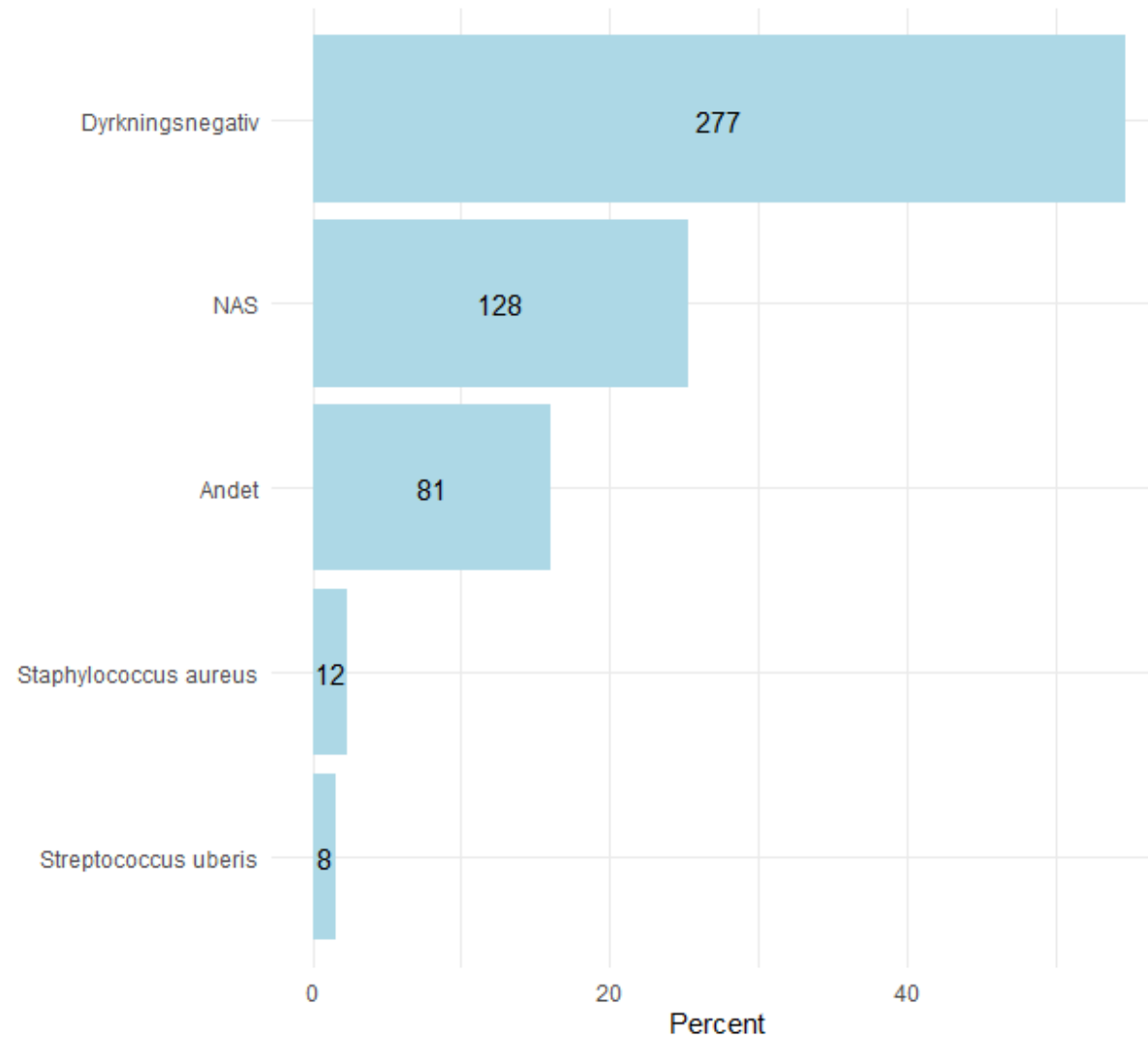
352 cases til cure-beregning



Fund i kliniske tilfælde der er vurderet
helbredelse på



Opfølgning på behandlinger



Opfølgningsprøver fra kurerede cases var ikke nødvendigvis sterile..

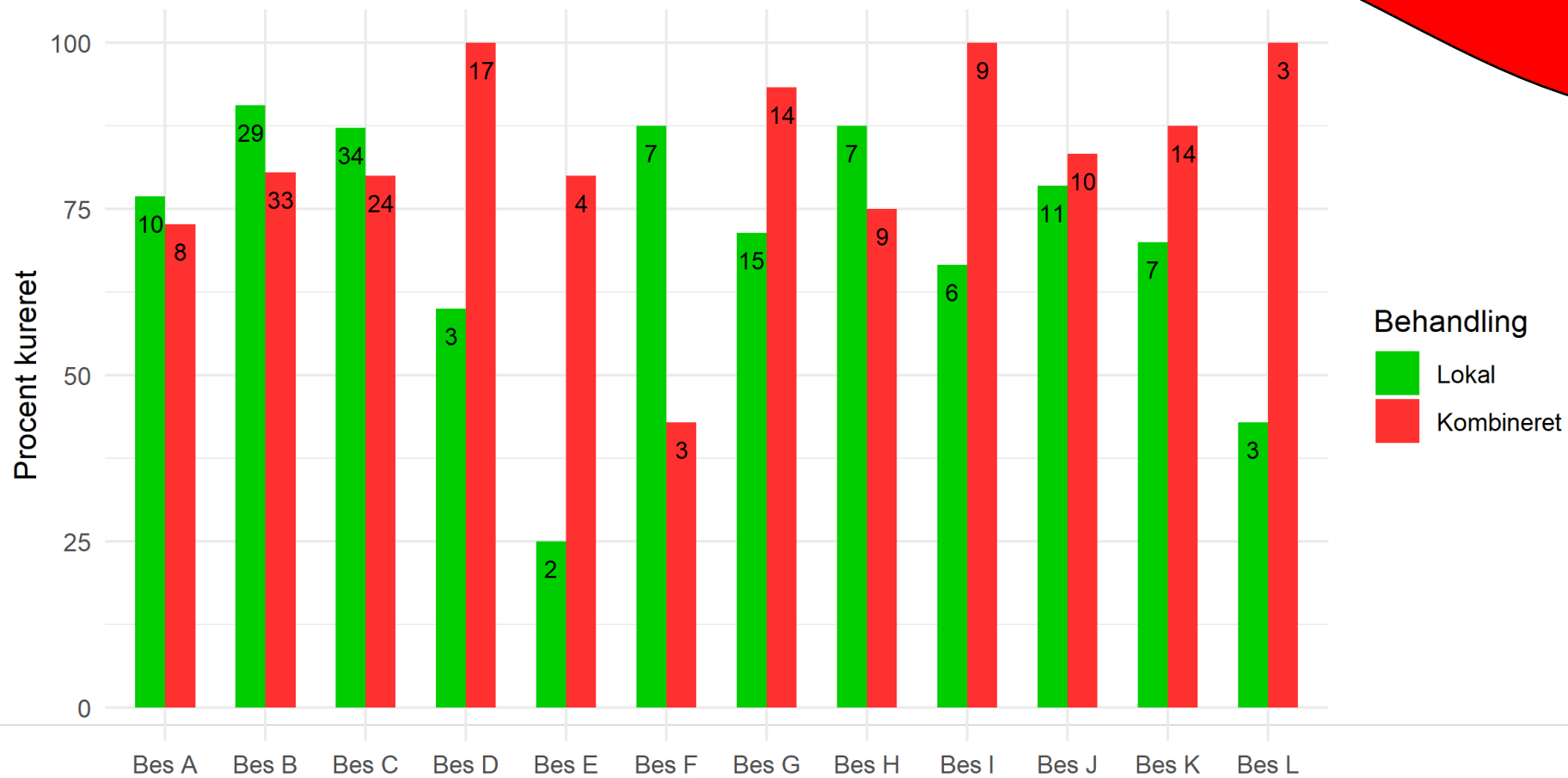
Helbredelse

- Overordnet cure rate (ej korrigeret for ko-faktorer, grad, patogen)

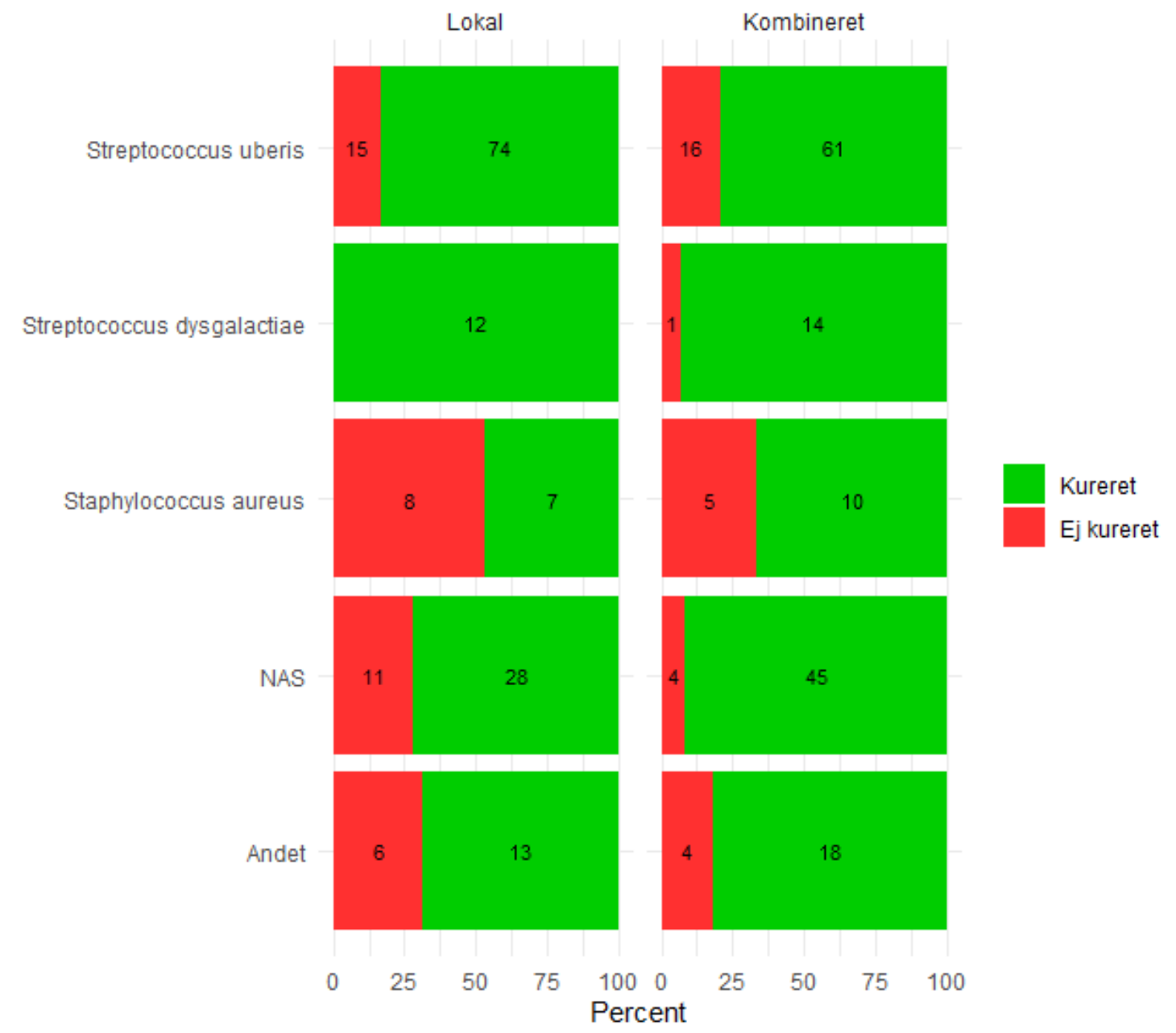
Behandling	Kureret (%)	Ej kureret (%)	Total
Lokal	134 (77)	40 (23)	174
Kombineret	148 (83)	30 (17)	178
Total	282 (80)	70 (20)	352

Helbredelse

Besætningsspecifikt



Helbredelse på bakterie -niveau



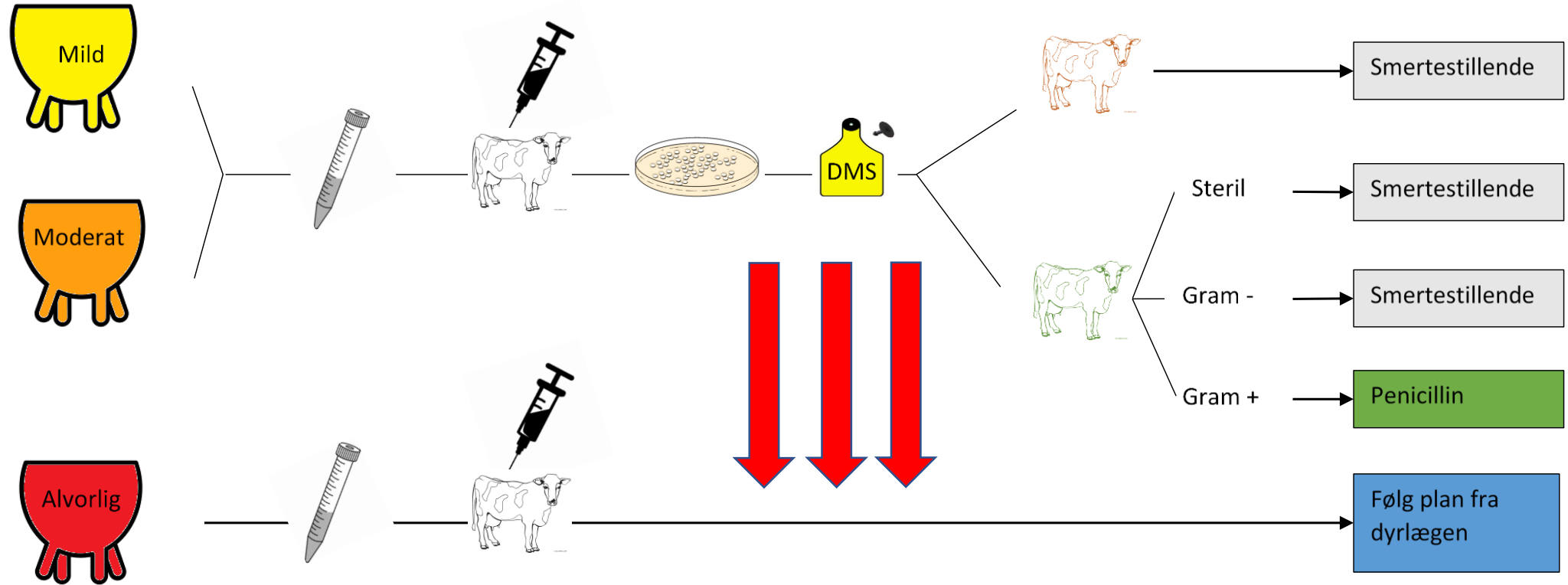
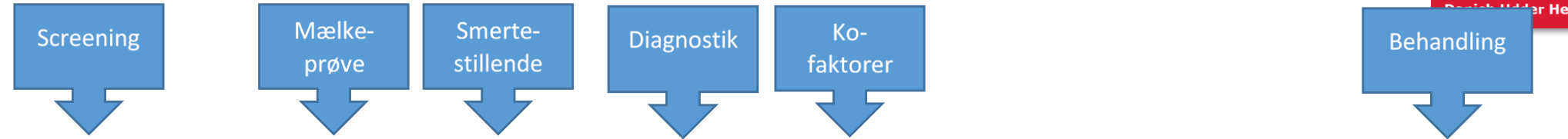
Behandling af *Streptococcus uberis* mastitis

Margin overstiger
ikke 15 %

Gennemsnitlig helbredelse for *Strep. Uberis* var 80-85 % uanset om vi anvendte injektion eller ej

Ko-faktorer, grad, SCC...

Forslag til opsætning



Besætningsforske

