

Yversundhed og behandling af mastitis

Line Svennesen, Københavns Universitet

Michael Farre, Seges Husdyrinnovation

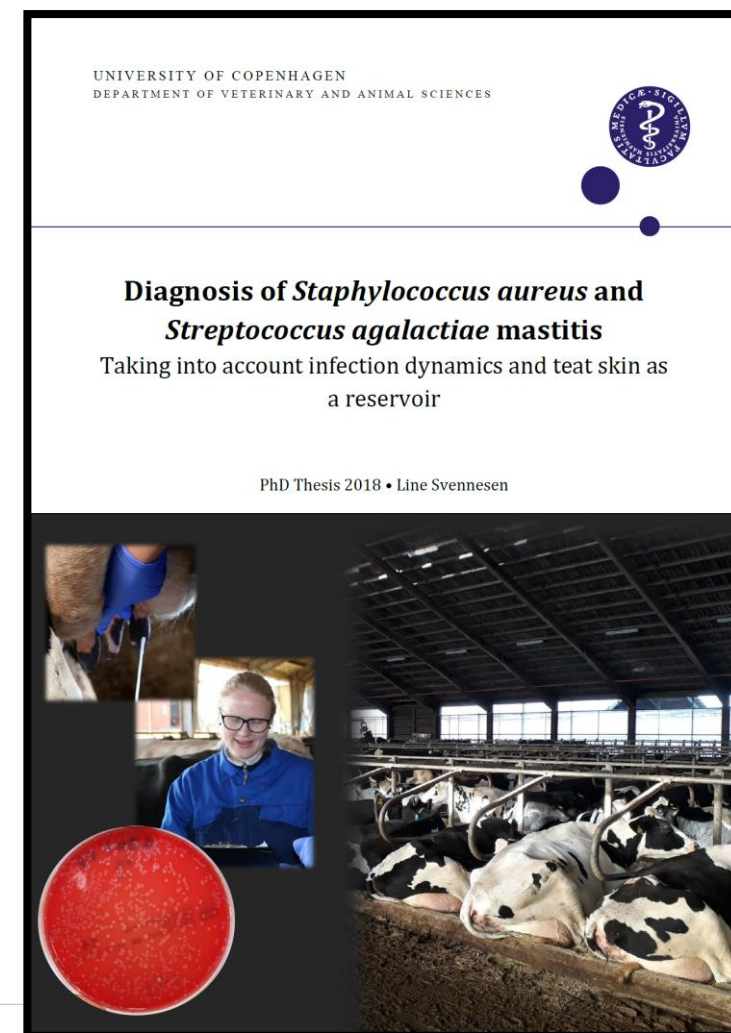
Dyrlægegruppen Vestjylland 23-2-2021 – kvæggruppen (6 dyrlæger).

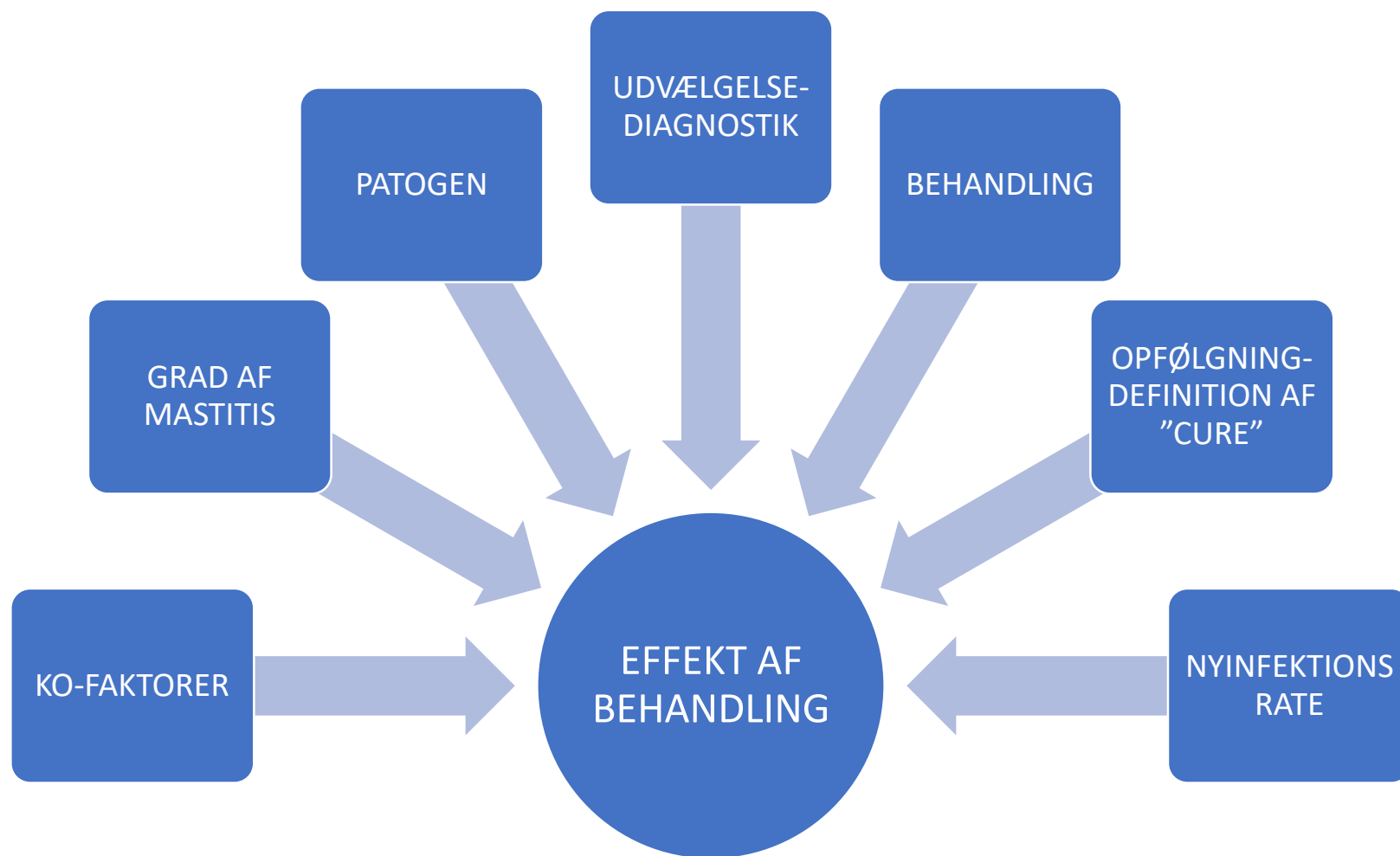
STØTTET AF

Mælkeafgiftsfonden

Præsentation - Line

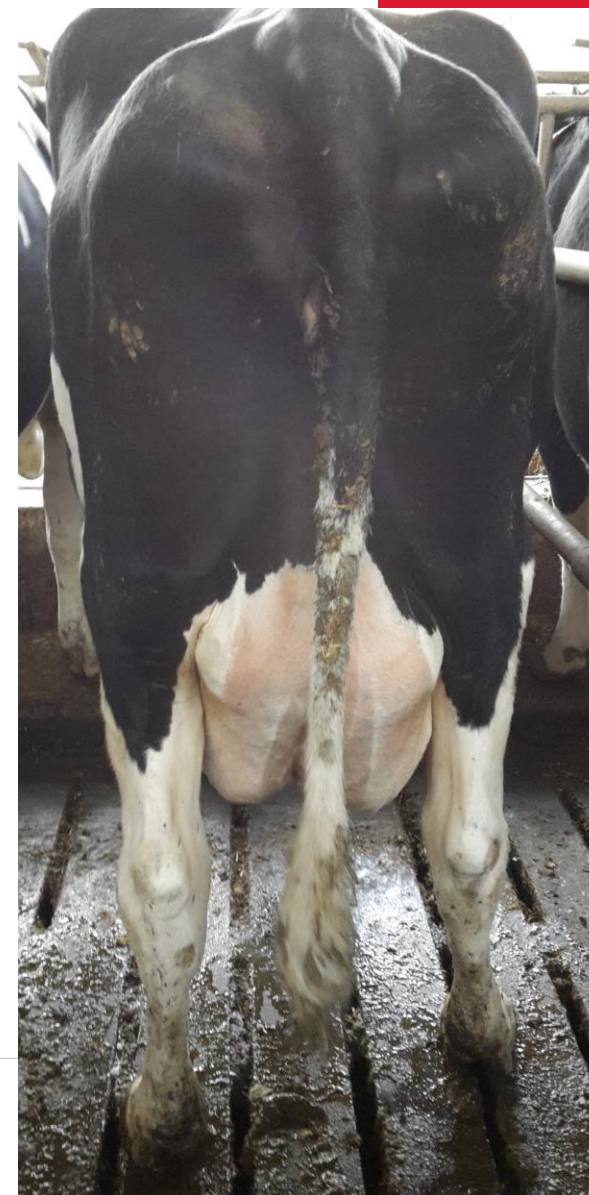
- Dyrlæge
- Phd om diagnostik af smitsom mastitis
- Post doc ved Københavns Universitet
- Projekt “Yversundhed i top” – arbejdsplan vedr. behandling af mastitis
- Strategi for behandling af klinisk mastitis





Ko-faktorer

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



Grad af mastitis

- 1) **Mild:** ændringer i mælken udseende
- 2) **Moderat:** ændringer i mælken udseende + inflammationstegn (fx. hævelse, varme, ømhed)

Ingen risiko ved at vente 24 timer med antibiose
(Wagner et al., 2007; Vasquez, 2017)

- 1) **Svær:** ændringer i mælken udseende + generelle sygdomstegn (almen påvirkning fx. Feber)

Risiko for bakteriæmi – behandles parenteralt (Wenz et al. 2011)

Højere cure rate ved svær grad af mastitis (self-cure?)
(Oliveira et al., 2013)



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

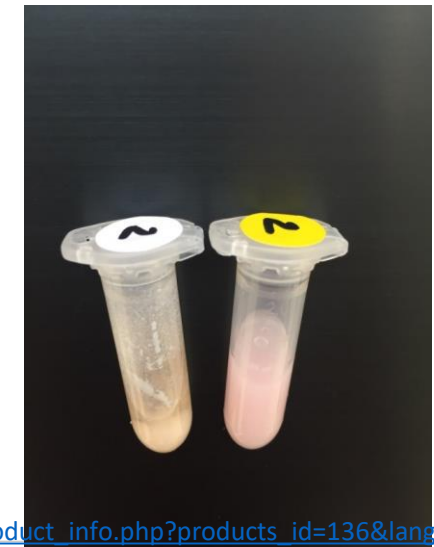
Pathogen-related factor	Species/genus of pathogen cultured in pre-treatment sample	Significantly lower BC for cases caused by <i>S. aureus</i> than other pathogens	7, 13, 19
		Significantly higher BC for β -lactamase-negative <i>S. aureus</i> strains than for β -lactamase-positive <i>S. aureus</i> strains	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

Diagnostik

- PCR: I princippet hurtigt svar, men ikke i praksis
- BU: 1-2 døgn, varierende kvalitet?
- On-farm culture: Kan i nogle tilfælde give et hurtigt og brugbart svar
- On-farm test: hurtig (12-14 timer) G+/G-/no-growth



Varierende sensitivitet og specificitet



https://www.quidee.de/product_info.php?products_id=136&language=en

Behandling

Nordic guidelines for mastitis treatment, 2011



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.*

Gram-negative bacteria (*Klebsiella spp.*)

First choice	Treatment with med Quinolones.*
Second choice	Treatment with Trimetoprim Sulfa.*

* Supportive treatment should be added.

** Only in case of severe animal welfare conditions

Treatment length

<i>S. aureus</i> *** and <i>Str. uberis</i>	5 days
Other gram-positive bacteria	4 - 5 days according to severity and herd.

*** If the clinical symptoms in the udder are considered better but not cured after 5 days, the treatment could be extended for another 1 - 2 days..

Klebsiella spp. 3 days

Other gram-negative bacteria 3 days

No growth Stop the antibiotic treatment

Remark: If the animal does not respond to the chosen treatment despite correct antibiotic and dose and protocol, the diagnosis should be confirmed at a certified mastitis laboratory as soon as possible.

Behandling - IMM

- Høj koncentration i mælk
- Hurtig effekt (i mælk)
- Lavere dosis end ved systemisk behandling
- Undgår irritation ved IM administration
- Risiko for at tilføre bakterier via tupe 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 – IM eller IMM?

- IMM er bedre end IM for behandling af Streptococci (Erskine et al., 1996)
- 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))
- 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)

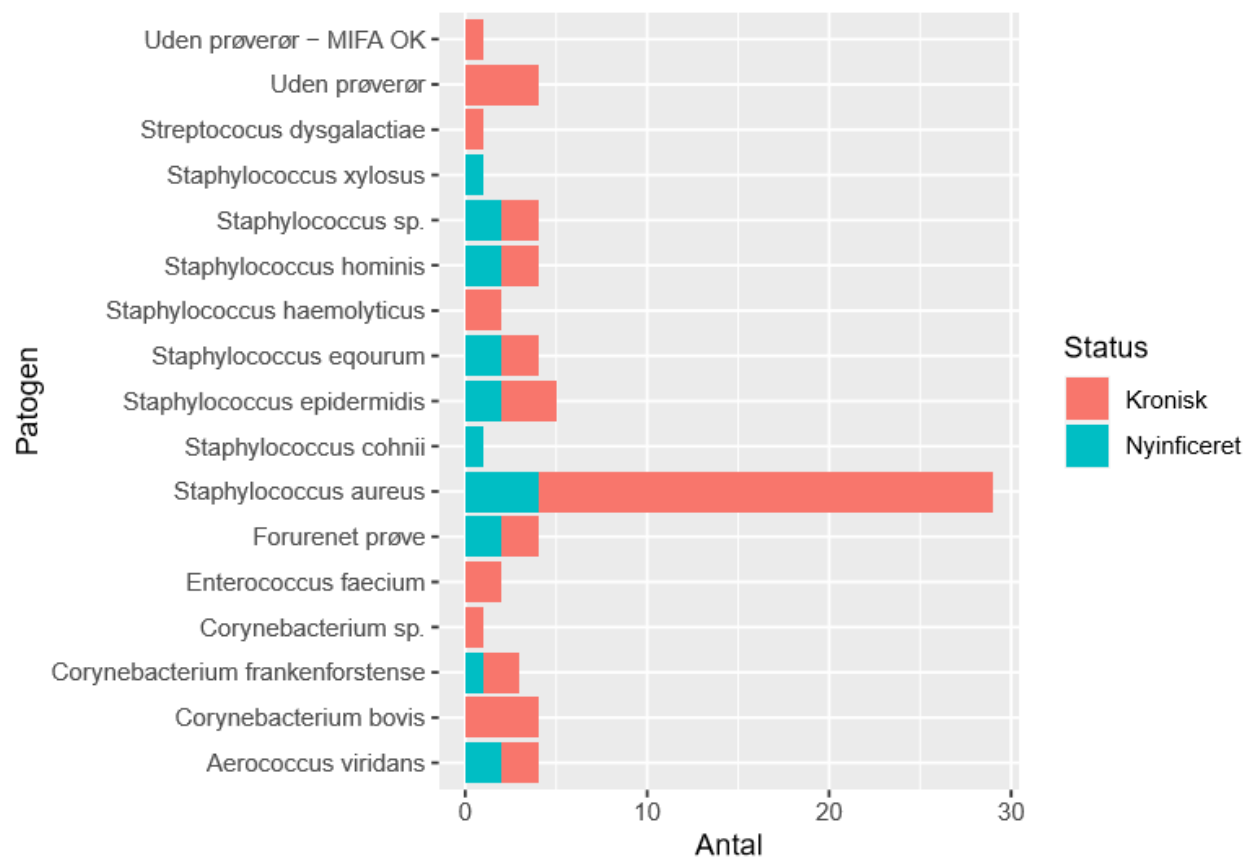
Behandling – længde

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	

Staf. aureus

Oversigt over patogener fundet i besætningen:



Definitionen på forurenede prøver er at der er fundet mere end to patogener (species) på samme plade.

Helbredelse/Cure

- **Bakteriologisk helbredelse**
- Cytologisk helbredelse
- Klinisk helbredelse
- SCC niveau tilbage til udgangspunkt
- Kombination af ovenstående

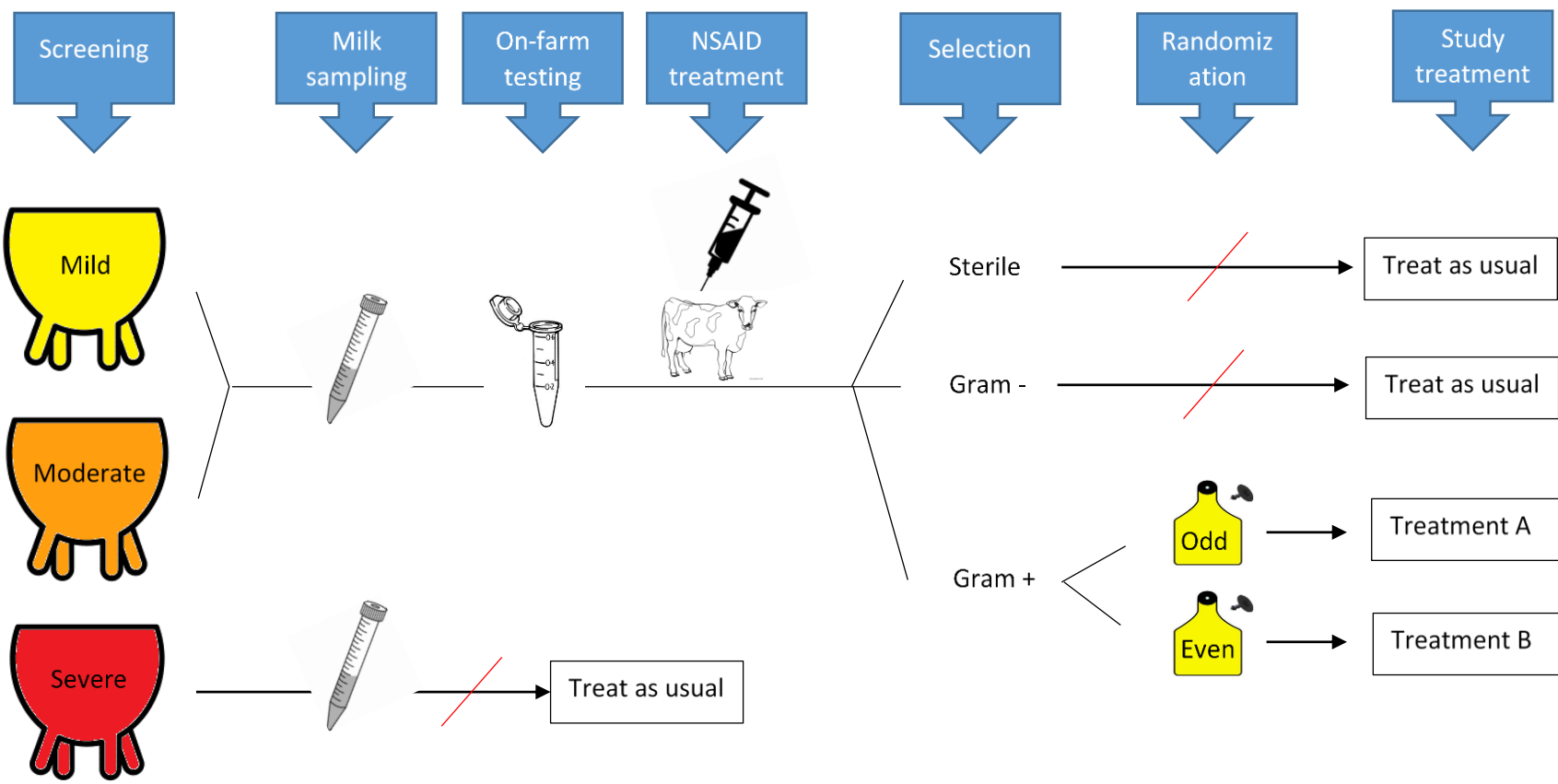


Nyinfektionsrate (NIR)

- Svært at skelne en mislykket behandling fra en ny infektion uden detaljeret viden om det involverede patogen

Studie/afprøvning i besætninger

- Demonstrere at lokal behandling *ikke er værre end* systemisk + lokal behandling i forhold til helbredelse af mild og moderat klinisk mastitis med penicillin-præparater (Non-inferior studium)
- 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+
- Randomiseret behandling (agens vurderes historisk på sterilt udtaget kirtelprøve)
 - IM+IMM (3d)+NSAID (1d)
 - IMM (3d)+NSAID (1d)
 - Penicillin procain (IMM) + penthamathydroiodid (IM) + ketoprofen



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				0 - +		0 1 2 3
34				1 2 3				0 - +		0 1 2 3
35				1 2 3				0 - +		0 1 2 3
36				1 2 3				0 - +		0 1 2 3
37				1 2 3				0 - +		0 1 2 3
38				1 2 3				0 - +		0 1 2 3
39				1 2 3				0 - +		0 1 2 3
40				1 2 3				0 - +		0 1 2 3

Sådan tager vi en mælkeprøve

Udstyr:

- Handsker
- Glas
- Vat
- alkohol



1) Tag nye handsker på



2) Desinficer pattespidsen:

- Put alkohol på et stykke vat
- Rengør pattespidsen indtil vattet er helt rent når du fjerner det fra pattespidsen



3) Malk ud:

- Mindst 3 stråler på gulvet



4) Tag mælkeprøven:

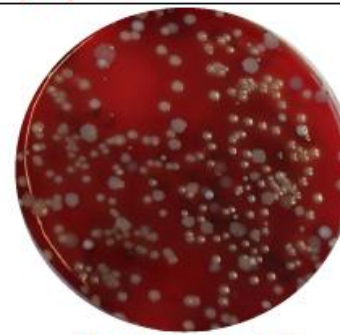
- Skru låget af og gem det i hånden uden at røre indersiden
- Tag mælkeprøven mens glasset vinkles i 45° og holdes 20 cm fra patten
- Opsaml 5 ml mælk



VIGTIGT: sæt prøven i køleskab (5°C) indtil on-farm test



Godt arbejde ☺

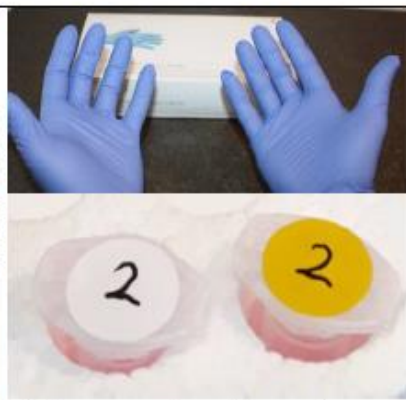


Forurening ☹

Vejledning til MastDecide On-farm test



1) Klargør mælkeprøve, pipette, HVID og GUL rør, tusch, stativ til prøver



2) Tag rene handsker på
3) Skriv nummer på rørene
4) Åbn rørene



5) Vend mælkeprøven et par gange og tag låget af uden at røre indersiden af låg eller glas



6) Fyld pipetten (0,1 ml) uden at røre prøveglasset med pipetten



7) Tilsæt mælk til det HVIDE rør uden at pipetten rører indersiden eller mediet



8) Gentag med det GULE rør



9) Vend rørene så væskerne blandes



10) Sæt rørene i varmeskab i mindst 12 til 14 timer
11) **Frys mælkeprøven**

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	

Studie/afprøvning i besætninger

1/3 kliniske viser G+ på OF test

Reduktion i behandlinger = 50 % (Lago et al. 2001)

IAB ifht. bakteriologisk cure ved behandling A og B – ikke data nok

Positiv feedback på OF-test!
Efterspørgsel på "systematik"

Towards Herd Specific Udder Health Consulting

Michael Farre phd studerende, Section for Animal Welfare and Disease Control Københavns Universitet

STØTTET AF

Mælkeafgiftsfonden

Dataindsamling

- Besætninger i randomisering – delt i tre regioner post nr. > 6000
 - > 100 køer
 - Konventionel
 - Ydelseskontrol 11 gange
 - Malkestald
 - Max. 10 % krydsninger

Objekt 1:

- Identificer de nuværende management strategier som er implementeret i danske malkekvægbesætninger. Her anvendes NMC 10. punkt plan som reference
- Denne aktivitet vil afdække hvilke besætningsspecifikke strategier som er implementeret i DK i forhold til yversundhed. Aktiviteten vil sammenligne besætninger med højt tankcelletal $> 200,000$ med besætninger som har et moderat tankcelletal < 200.000

Besætningsbesøg indsamling data

- Indsamling af op til 100 enkelt kirtelprøver nyinficeret / kronisk
- Spørgeskema perception / landmand og dyrlæge
- Spørgeskema management

Besætningsbesøg opfølgning

- Opfølgende besøg med input til forbedring ud fra spørgeskema, bakteriologi og DMS data

Objekt 2:

- Udarbejde en besætningsanalyse med formålet:
 - 1) afdække om kontrolstrategien og status på yver er identisk;
 - 2) vurderer effekten af den faktisk implementerede management strategi,
 - 3) vurderer (hvorfor) besætningen har en forhøjet tankcelletal

Hvad sker der på området yversundhed & mælke kvalitet

Mastitispakken – samlet justering af lovgivning

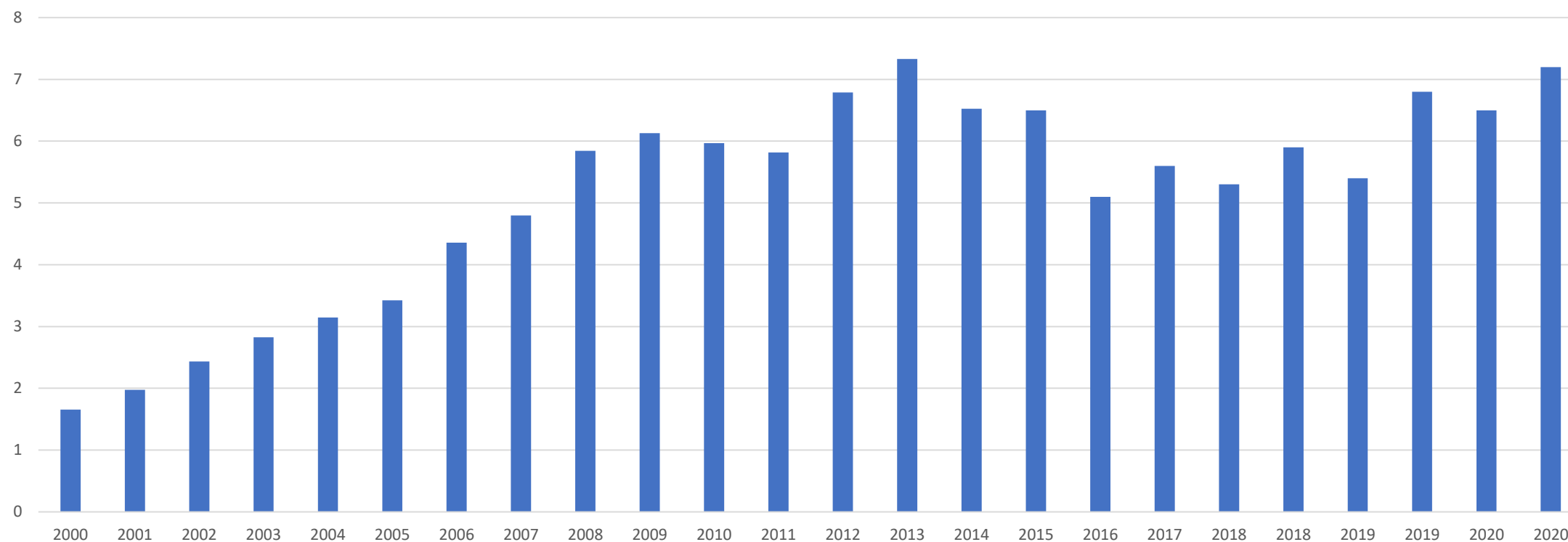
- Obligatorisk ringtest
- Justering af diagnostik goldning / laktationen
- Frivillig sanering b-streptokokker
- Anbefalinger til behandling
- Krav til indberetning af data

Hvad sker der på SEGES

- Opdateringer i DMS
 - Nye og revideret navne på eksisterende LK koder (1-4-2021)
 - Ny LK kode til registrering af NSAID ved yverbehandling
 - Ny Power BI på celletal og revision af eksisterende ”diagnostik og behandling”
 - Ny Power BI med fokus på vacciner
- Omorganisering af kvalitetsrådgiverne

Status på b-streptokokker

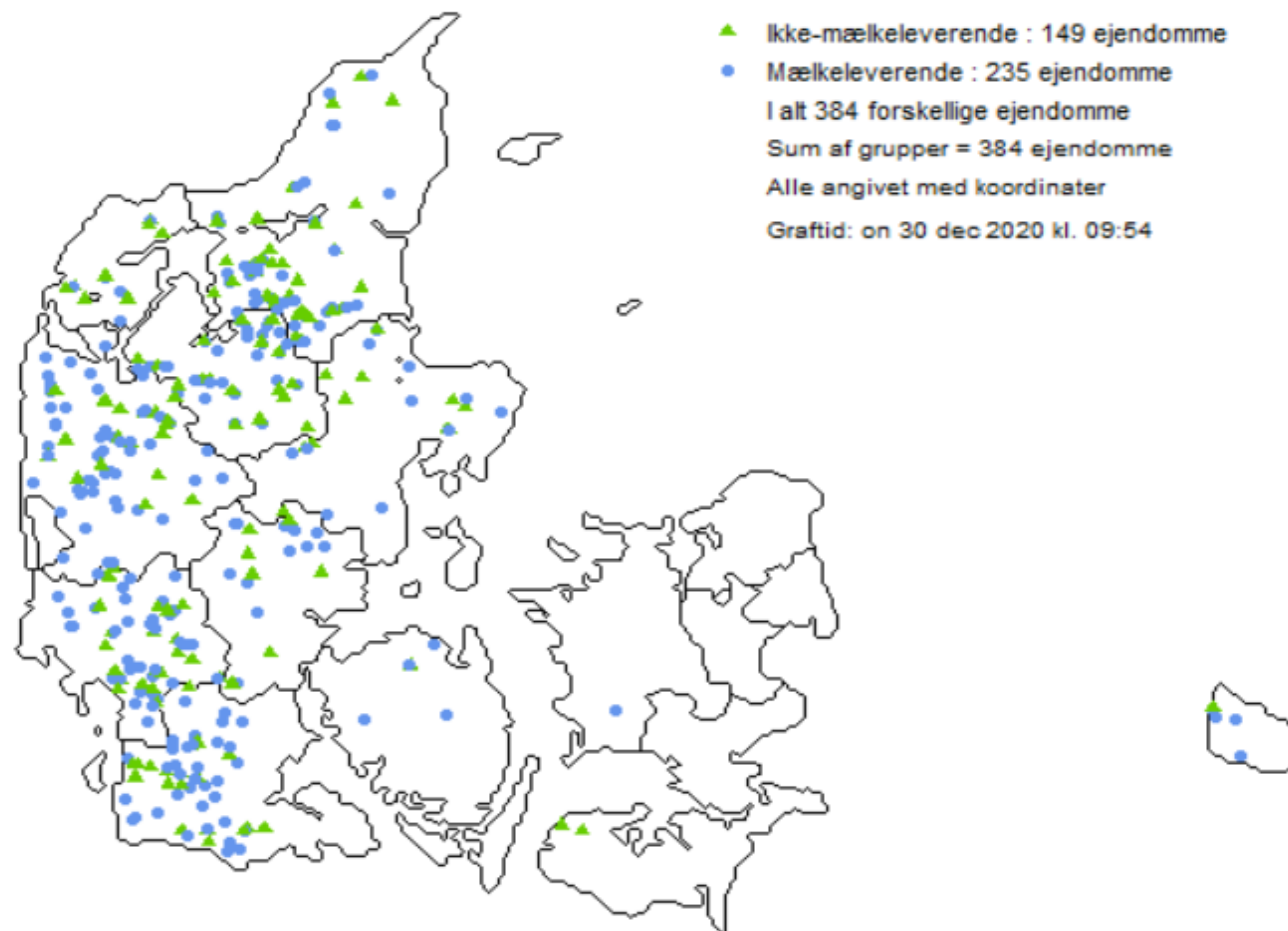
Strep. agalactia besætninger i Danmark 2000-2020



Udvikling i antal ejendomme i B-puljen siden 01-01-2012

Måned	Indgået i B-puljen		Udgået af B-puljen		I B-puljen ved slutning af måned			Antal mælkeleverandører*
	Antal ejendomme		Antal ejendomme		Ejendomme	Mælkeleverandører		
	I alt	heraf: var fri i mindst 3 år inden	I alt	heraf: har holdt sig fri i mindst 12 måneder efter	Antal i alt	Antal	Procent*	
2021 - 02 (indtil 17-02-2021)	9	8	8	-	391	-	-	-
2021 - 01	25	23	11	-	390	219	8,4%	2.597
2020 - 12	15	13	1	-	376	220	8,4%	2.623
2020 - 11	12	11	6	-	362	212	8,1%	2.626
2020 - 10	15	13	6	-	356	204	7,7%	2.641
2020 - 09	8	8	9	-	347	203	7,7%	2.652
2020 - 08	4	3	5	-	348	203	7,6%	2.665
2020 - 07	5	2	11	-	349	207	7,7%	2.671
2020 - 06	3	3	6	-	355	210	7,8%	2.684
2020 - 05	19	19	1	-	358	211	7,8%	2.691
2020 - 04	2	2	1	-	340	202	7,5%	2.704
2020 - 03	13	11	4	-	339	202	7,5%	2.707
2020 - 02	0	0	12	-	330	200	7,4%	2.714
2020 - 01	1	0	4	3	342	209	7,7%	2.725

Ejendomme med B-streptokokker

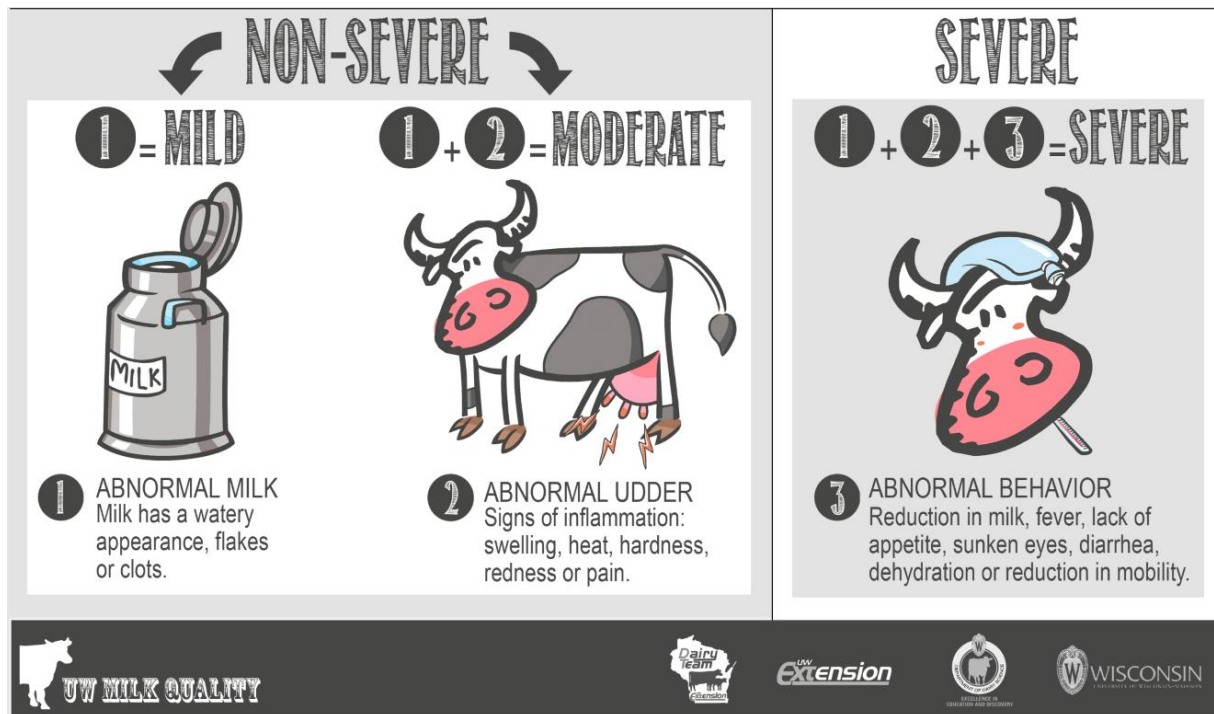


Min anbefaling ved (de fleste) besætningsbesøg

Incidensen af kliniske tilfælde på besætningsniveau

- Alle køer alle kirtler strippes ved hver malkning
- Alle tilfælde gradueres og registreres
- Alle tilfælde køres på on-farm test
- Dermed har vi et reelt billede af mastitis i besætningen

Mastitis management – min protokol

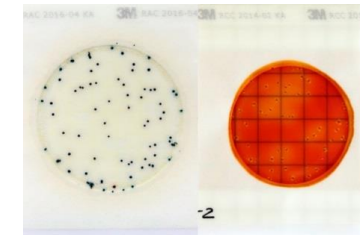


- Alle køer alle kirtler strippes ved hver malkning
- Kliniske gradueres 1-2-3
- On farm test MastDecide®
- To behandlinger;
 - Tubes / NSAID
 - NSAID
- Kronisk køer eller X dage fra goldning NSAID

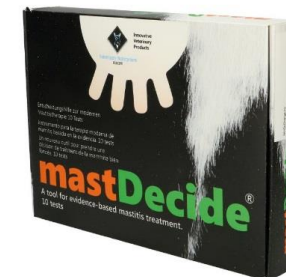
Hvilken on-farm test

- Mange produkter tilgængelige
- Procedure – forskellige former for dyrkninger
- Priser fra 30 -200 kroner
- Turn-around 14-48 timer

Rapid Petrifilm 3m



Minnesota Eays ® Culture System II



Kromker 2020

www.virbac.de; www.vetoquinol.de; www.Animart.com; www.vdl.umn.edu; www.mastdecide.de; www.3mdeutschland.de

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, Antibigram 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%	+++	++

On-farm diagnostisk test – et aktiv i NOGLE besætninger

- Overvejelser omkring test
 - Risiko for kontaminering
 - Lovgivning
 - Affald
 - Holdbarhed
 - Omkostning
 - Begrænsninger



Krav for at on-farm test er en succes som del af beslutningsstøtte

- Korrekt udtaget mælkeprøver
- Konsistens og ansvarlig håndtering
- Faciliteter som kan anvendes til formålet
- Basal forståelse for beslutningsstørre og kompetencer til at træffe beslutning som går imod testen
- Systematisk opfølgning på relevante akutte prøver i praksislab
- MIC undersøgelse efter behov

Management af sand

- Udskift sand i de bagerste 50 cm af sengene hver 6 mdr.
- Sand rives dagligt (frigiver fugt og forbedrer komfort)
- Brug tørre klude og jodbaserede produkter før / efter malkning (F. Böhm et al., 2017)
- Genbrugs sand kan anvendes – men større bakterie load på pattespidsen (Rowbotham & Ruegg., 2016)
- Vaccination med J5 har signifikant effekt (Wilson et al., 2007)

Håndtering af *E. coli* og *Klebsiella* spp. i sand

- Verificer diagnosen – mange bliver snydt!!
- Køer der overlever skal isoleres og slagtes – tænk malkeoverført = DC (Schukken et al., 2012)
- Resten af besætningen skal screenes for raske smittebærere
- Symptomatisk behandling er en dyrlægeopgave

Brug af PCR prøver i praksis

- Skal udtages sterilt - udfordringer med overslæb udtaget over malkeudstyret (Sievert and Cantin., 2014)
- Malkerækkefølge ved udtagning skal være kendt
- Pool-prøver, ja det er "billigt"
- Forskellige producenter – forskellige sensitivitet / specifitet

PCR som værktøj i praksis

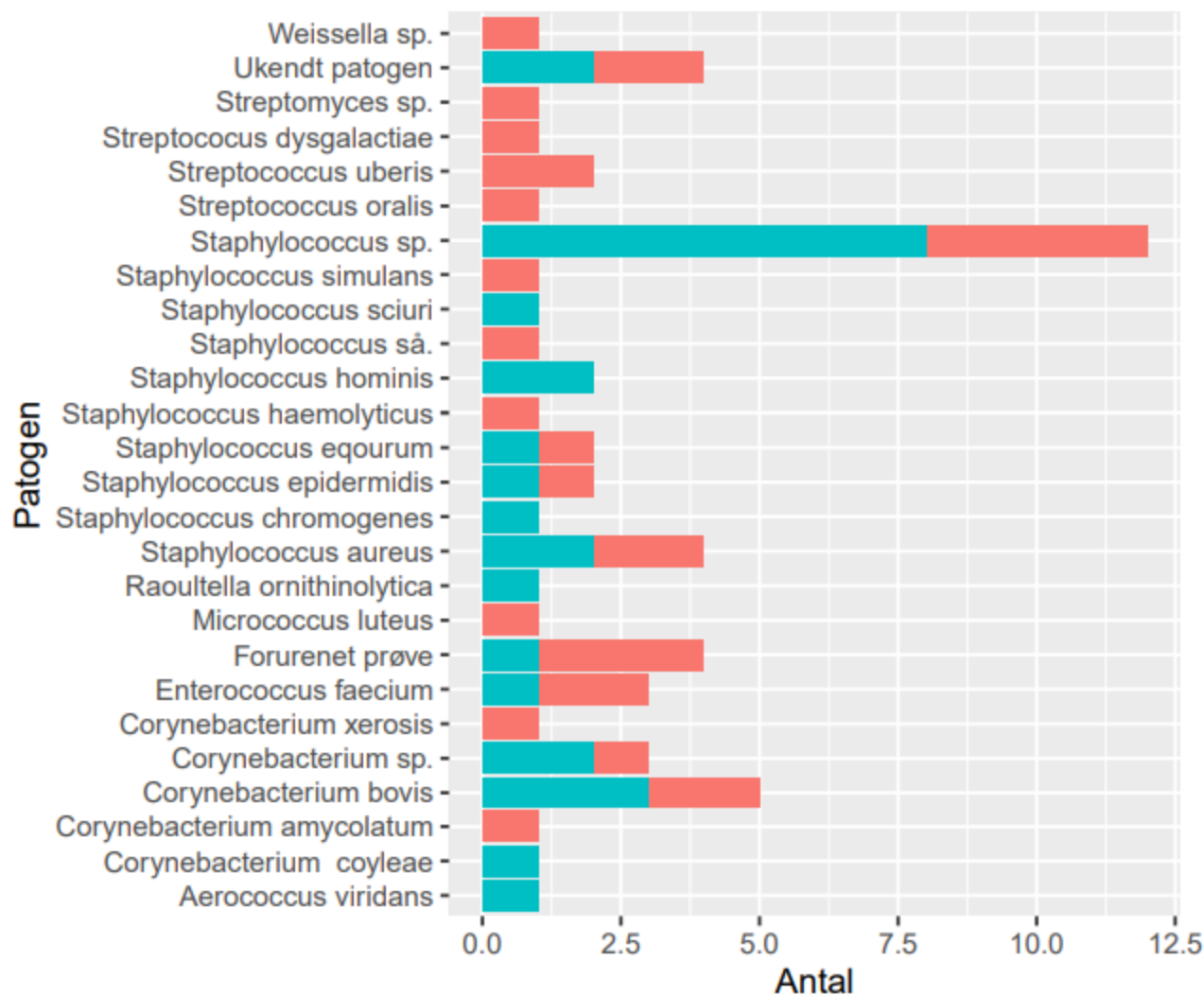
- Anbefaling til tolkning af *Staph. aureus* (Mahmmod et al., 2017)
 - Ko med Ct < 32 er meget sandsynligt inficeret med *Staph. aureus*
 - Ko med Ct > 37 meget sandsynlig fri for *Staph. aureus*
 - Ko med Ct 32-37 ukendt *Staph. aureus*

PCR c

Oversigt over patogener fundet i besætningen:

✓ Dyr NR.

✓	023
✓	024
✓	022
✓	023



Status

Kronisk
Nyinficeret

ALGER GÆR

*	30
*	30
*	31
*	36

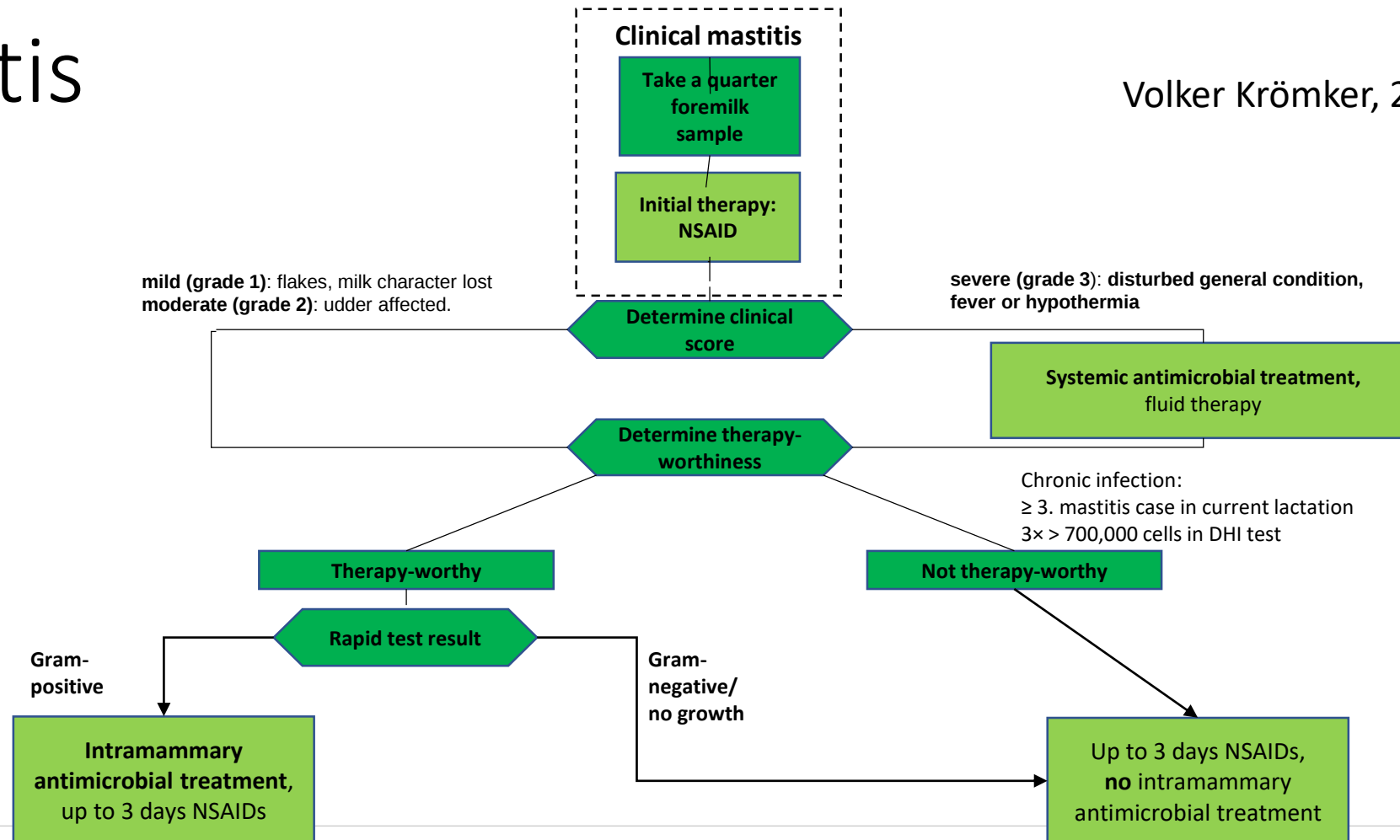
Definitionen på forurenede prøver er at der er fundet mere end to patogener (species) på samme plade.

Candida spp.



Decision tree for Treatment of Clinical Mastitis

Volker Krömker, 2020



Spørgsmål og muligvis et svar