

Nieuwe ontwikkelingen van een oude aandoening: mastitis onder de loep mastitis onder de loep

Deel 2 - Praktijkgevallen en conclusies

*New insights into an old problem: mastitis revisited
Part 2 - Case studies and conclusions*

¹Y.H. Schukken, ^{1,3}R.N. Zadoks, ²S. Piepers, ²S. De Vliegher

¹College of Veterinary Medicine,

Cornell University, Ithaca, NY, USA

²M-team en Onderzoekseenheid Mastitis en Melkkwaliteit, Vakgroep Voortplanting,
Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent,
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, België

³Moredun Research Institute, Pentlands Science Park, Bush Loan, Penicuik, United Kingdom

yschukken@cornell.edu

SAMENVATTING

Mastitis is een aandoening die al lange tijd bij melkvee van groot belang is. Toch zijn er in de loop der jaren veel veranderingen opgetreden in het inzicht in de epidemiologie en pathobiologie van deze aandoening. In dit artikel worden drie casestudies besproken, waarbij enkele recente ontwikkelingen in de aandoening naar voren komen. De casestudies zijn gebaseerd op gegevens afkomstig van melkveebedrijven in de VS waar gegevens van de mastitisuitbraken nauwkeurig verzameld werden. De resultaten uit zowel het literatuuroverzicht als de casestudies worden besproken en de belangrijkste conclusies worden geformuleerd.

ABSTRACT

Mastitis is an important disease of dairy cattle. The disease has been around for a long time. Still, in the last decades, major changes in the understanding of the epidemiology and pathobiology of the disease have occurred. In this paper, three case studies are discussed, in which a number of these major changes were used to improve the understanding of bovine mastitis in those herds. The results of both the literature review and the case studies are discussed and summarized in conclusions.

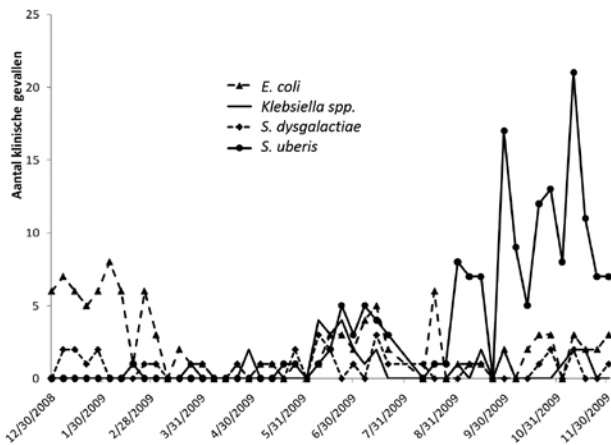
INLEIDING

Mastitis is op melkveebedrijven de meest voorkomende en zowel qua welzijn als qua economie de belangrijkste aandoening. De laatste tien jaar deden zich veel nieuwe ontwikkelingen voor in de kennis van deze belangrijke aandoening. Deze nieuwe inzichten werden samengevat in het eerste deel van deze tweeluik over mastitis (Schukken et al. 2013b). Veel van de nieuwe bevindingen zijn gedaan door nauwkeurige observaties op melkveebedrijven, zowel op bedrijven met mastitisproblemen als op bedrijven waar geen grote mastitisproblemen voorkomen. Veel wetenschappelijk onderzoek naar mastitis probeert te begrijpen en te voorspellen wat er in de natuurlijke omgeving plaatsvindt/ zal plaatsvinden. Vandaar dat nauwkeurige observaties op melkveebedrijven vaak

de basis zijn van het wetenschappelijk onderzoek naar mastitis en daarmee van nieuwe ontwikkelingen. In dit tweede deel van het tweeluik staan drie casestudies centraal.

Case 1: een *Streptococcus uberis*-uitbraak

Het betreft een melkveebedrijf in de staat New York met ongeveer 2.000 melkkoeien. Het bedrijf is in de loop der jaren gestadig uitgebreid en heeft verscheidene stallen met verschillende staltypes en beddingen. Dit varieert van rubbermatten met zaagsel tot diepstrooiselboxen met zand. Het celgetal ligt normaliter rond de 160.000 cellen per ml maar steeg op een gegeven moment naar 250.000 cellen per ml. Aangezien een premie wordt betaald als het



Figuur 1. Klinische mastitisgevallen op een melkveebedrijf door vier bacteriën die mastitis veroorzaken.

tankmelkcelgetal onder de 200.000 cellen per ml is, trok de eigenaar aan de bel.

De analyse van de celgetalgegevens gaf aan dat de stijging in het celgetal vooral te wijten was aan een klein aantal koeien met een heel erg hoog celgetal. Het stijgende celgetal kon verklaard worden door tien koeien die samen verantwoordelijk waren voor ongeveer 20% van het tankmelkcelgetal. Bij verdere analyse van de gegevens bleek ook dat het aantal klinische mastitisgevallen sterk was gestegen in de afgelopen maanden. Normaliter worden er ongeveer tien gevallen van klinische mastitis per week behandeld, doch in de laatste maanden was het aantal zeker verdubbeld. Op dit bedrijf wordt routinematig bacteriologisch onderzoek verricht van alle klinische mastitisgevallen. De gevallen van klinische mastitis veroorzaakt door de belangrijkste mastitispathogenen worden weergegeven in Figuur 1.

De koeien met een persisterend hoog celgetal werden bemonsterd en de melk werd gebruikt voor bacteriële diagnostiek. Het bleek dat veel van de hoogcelgetal koeien geïnfecteerd waren met *S. uberis*. Van de tien koeien met een hoog celgetal waren er zes geïnfecteerd met *S. uberis*, twee waren niet aantoonbaar geïnfecteerd, één was geïnfecteerd met *S. dysgalactiae* en één met *Klebsiella*.

Alle *S. uberis*-isolaten werden verder geanalyseerd met RAPD-stamtyperingstechnieken. De resultaten van de stamtypering van tien isolaten kunnen gevonden worden in het eerste deel van deze tweeluik (Schukken et al., 2013b). Er bleek sprake te zijn van een klonale uitbraak, waarbij de meeste gevallen van *S. uberis* van hetzelfde stamtype waren. Uit veldstudies en experimentele studies is bekend dat *S. uberis* persisterende infecties kan veroorzaken die kunnen leiden tot besmettelijke overdracht via de melkmachine en die vaak een extreem hoog celgetal geven (Zadoks et al. 2001a, 2003; Rambeaud, 2003).

Aan de eigenaar van het bedrijf werden adviezen gegeven die vooral gericht waren op het

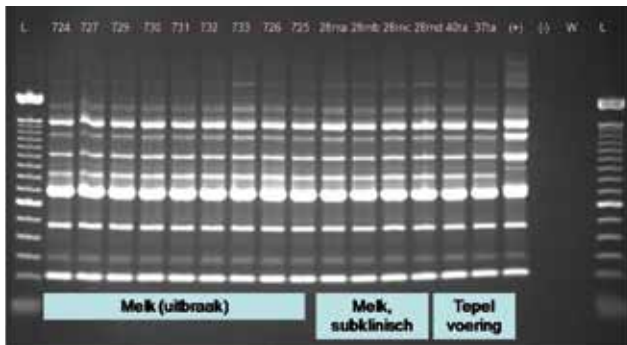
verminderen van een contagieuze transmissie van mastitispathogenen. Koeien waarvan bekend was dat ze met *S. uberis* geïnfecteerd waren, werden apart gehuisvest en als laatste gemolken. Bij jongere dieren werd geadviseerd een behandeling tijdens de lactatie te geven met antibiotica waarvoor de *S. uberis*-stam gevoelig is. Het advies werd gegeven om veel aandacht te besteden aan de hygiëne tijdens het melken, aan het tepeldippen na het melken en aan de handhygiëne van de melkers (handschoenen regelmatig desinfecteren). Door de eigenaar werden al deze adviezen opgevolgd en werd een training georganiseerd voor de melkers op het bedrijf. Na het doorvoeren van deze maatregelen verdween het probleem met *S. uberis* vrijwel volledig. Het celgetal daalde en het aantal klinische mastitisgevallen zakte terug naar het 'normale' aantal van tien per week. Dit voorbeeld laat zien hoe belangrijk het is om *S. uberis* niet automatisch als omgevingskiem te zien maar te analyseren of het probleem misschien het gevolg kan zijn van besmettelijke overdracht.

Case 2: een *Klebsiella*-uitbraak

Ook dit betreft een bedrijf in de staat New York in het noordoosten van de Verenigde Staten. Het is een melkveebedrijf met ongeveer 400 melkkoeien in een loopstal met rubbermatten en zaagsel in de boxen. De melkproductie op het bedrijf is ongeveer 11.500 kg per 305 dagen en het bedrijfscelgetal ligt rond de 250.000 cellen per ml. Meer informatie over deze uitbraak werd beschreven door Munoz et al. (2007).

Gedurende de zomer werd een uitbraak van klinische mastitis waargenomen gedurende een periode van ongeveer drie weken. Ongeveer twintig koeien kregen klinische mastitis en werden ernstig ziek. Het bacteriologisch onderzoek van de klinische mastitisgevallen toonde aan dat veel van de gevallen (18 van de 20) veroorzaakt werden door *Klebsiella* spp. Op basis van deze bevinding werden initiële adviezen aan de veehouder gegeven om verdere gevallen te voorkomen en werd verder onderzoek gedaan op het bedrijf. Het eerste advies bestond uit het verbeteren van de hygiëne in de boxen en het veranderen van de zaagselbron. Dit was gebaseerd op de veronderstelling dat *Klebsiella* bovenal een omgevingskiem is die afkomstig is uit zaagsel (NMC, 2011), al heeft meer recent onderzoek bij herhaling aangetoond dat gezonde koeien *Klebsiella* kunnen uitscheiden in de mest (Munoz et al., 2006, 2007; Verbist et al., 2011, Zadoks et al. 2011a).

In het kader van het verdere onderzoek werden monsters van de bedding en van het verse zaagsel verzameld. Koeien die in het recente verleden *Klebsiella*-mastitis hadden doorgemaakt, werden bemonsterd en er werden ook stalen genomen van de tepelvoeringen na het melken van deze koeien. De gevonden *Klebsiella*-isolaten werden vervolgens met behulp van RAPD getypeerd. De resultaten van de stamtypering worden weergegeven in Figuur 2. Uit



Figuur 2. Stamtypering van *Klebsiella*-stammen uit een klinische mastitisuitbraak. Bovenaan de figuur is het koenummer vermeld, of een L voor DNA-ladder, + en – voor positieve en negatieve controle en W voor een watercontrole. De eerste negen stammen komen van klinische mastitisgevallen, de volgende vier komen van een subklinische infectie. Er werden vier isolaten per melkstaal getest om te zien of er heterogeniteit was binnen de monsters. Dit zijn isolate a, b, c en d uit de melk (m) van koe 28. De laatste twee stammen werden uit tepelvoeringen gekweekt. (Aangepast naar Munoz et al., 2007).

de stamtypering bleek dat de gevallen van klinische mastitis grotendeels door dezelfde *Klebsiella*-stam werden veroorzaakt. Daarnaast bleek dat de isolaten die gevonden werden bij de koeien die persistent subklinisch geïnfecteerd bleven, ook van hetzelfde stamtype waren. Tenslotte kon dezelfde stam ook uit de tepelvoering gehaald worden nadat een koe die besmet was met *Klebsiella*, werd gemolken (Figuur 2).

De resultaten van de stamtypering veranderden het beeld van de mastitissituatie op het bedrijf volledig. In plaats van op de hygiëne van de koe en de omgeving te moeten concentreren, bleek dat deze uitbraak te wijten was aan de transmissie van koe naar koe. Het advies werd gegeven om de met *Klebsiella* geïnfecteerde koeien als laatste te melken voorafgaand aan de wascyclus van de melkmachine. Enkele van die koeien werden afgevoerd en er werd aangeraden om de tepelspray na het melken te vervangen door een tepeldip. Normaliter vindt de transmissie van koe naar koe plaats via de melkmachine doordat meerdere dieren blootgesteld worden aan de besmetting op de tepelvoeringen. Dit werd bijvoorbeeld aangetoond voor *S. uberis* (Zadoks et al., 2003). Vergelijkbaar onderzoek tijdens deze *Klebsiella*-uitbraak leverde echter nog een verrassing op. De overdracht vond in dit geval waarschijnlijk niet uitsluitend plaats via de melkmachine, maar ook via het strooisel in de ligboxen. De uitbraakstam werd gedurende een beperkt aantal melkingen aangetoond in de tepelvoeringen, en werd ook in grote aantallen gevonden in de boxen van de uitbraakgroep, waarschijnlijk door het uitliggen van melk van geïnfecteerde dieren (Munoz et al., 2007). In de analyse van schoon zaagsel is deze uitbraakstam nooit gevonden. In dit geval lijkt er dus sprake te zijn van besmettelijke transmissie via zowel de

tepelvoeringen als de omgeving. Het afvoeren van de “hoofdschuldige”, de koe die de *Klebsiella*-besmetting verspreidde, is waarschijnlijk een belangrijke factor geweest in het oplossen van dit probleem.

In de maanden na deze *Klebsiella*-uitbraak werden alle mastitisgevallen bemonsterd en de *Klebsiella*-isolaten werden verder geanalyseerd met behulp van stamtypering. Er werden geen isolaten van de kloon die de uitbraak had veroorzaakt, meer gevonden op het bedrijf.

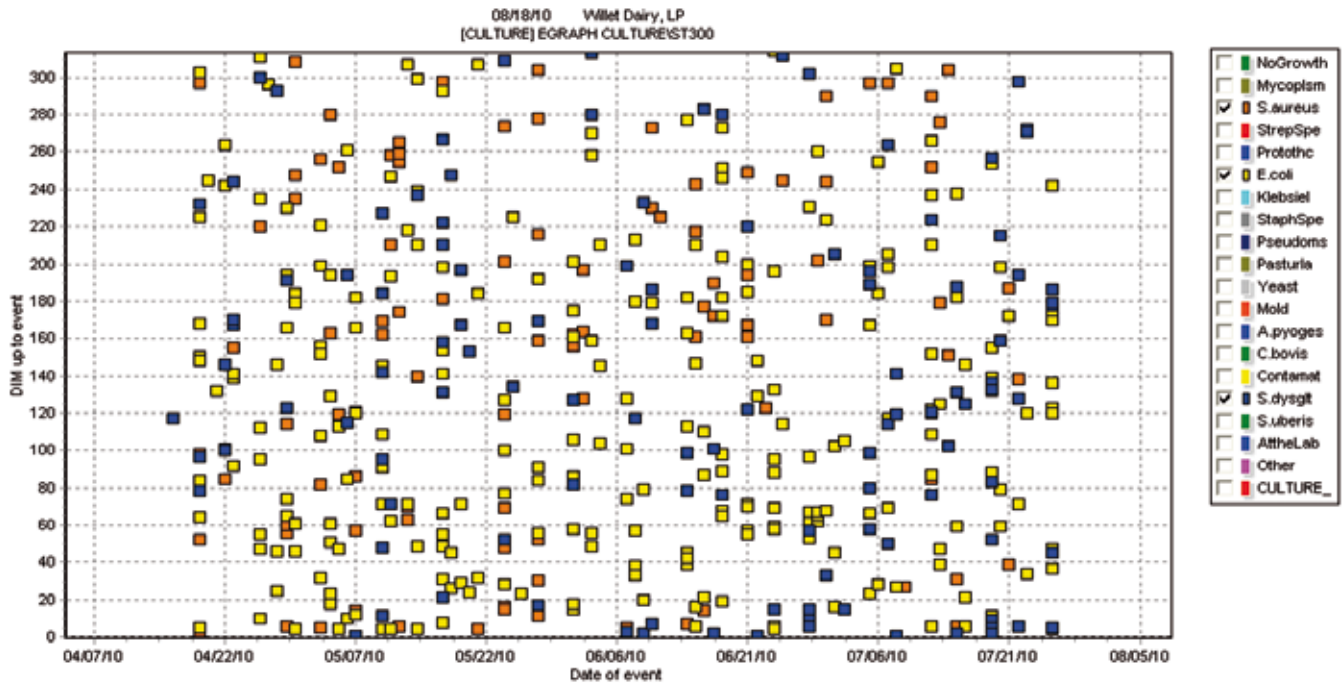
Case 3: *Staphylococcus aureus* op een bedrijf met een goede uiergezondheid

Het betreft een derde groot melkveebedrijf in de staat New York. Het tankmelkcelgetal op het bedrijf is ongeveer 200.000 cellen/ml melk. De meeste gevallen van klinische mastitis werden veroorzaakt door gramnegatieve kiemen, zoals *E. coli* en *Klebsiella* en grampositieve kiemen, zoals *S. uberis* en vooral *S. dysgalactiae*. In een relatief klein aantal gevallen werd *S. aureus* aangegeven als de oorzaak van de mastitisgevallen (Figuur 3).

Gedurende het gehele jaar werden ongeveer vijftig gevallen van mastitis veroorzaakt door *S. aureus*, gevonden. Hoewel deze kiem op veel bedrijven als besmettelijk wordt gedefinieerd, is dat zeker niet altijd het geval (Sommerhauser et al., 2003; Zadoks et al., 2000, 2011). De op dit bedrijf gevonden stammen van *S. aureus* werden getypeerd met behulp van de RAPD-analyse (Gurjar et al., 2012). De resultaten van deze analyse worden weergegeven in Figuur 4. Met deze diagnostische methode werd het duidelijk dat vrijwel elke intramammaire *S. aureus*-infectie veroorzaakt werd door een andere stam binnen deze bacteriesoort (10 stammen in 11 kiemen). Op dit bedrijf bleek deze kiem zich vooral te gedragen als een omgevingskiem en niet zozeer als een besmettelijke kiem. Op dit bedrijf is de aanpak van *S. aureus* daarmee niet gebaseerd op klassieke besmettelijke risicofactoren, zoals de verbetering van de hygiëne tijdens het melken of het afzonderen van geïnfecteerde dieren. In dit geval is het veel belangrijker om de infectieroutes van *S. aureus* op te sporen. Hierbij kan gedacht worden aan de bestrijding van vliegen, de vermindering van vogeldruk in het bedrijf en het gebruik van handschoenen tijdens het melken.

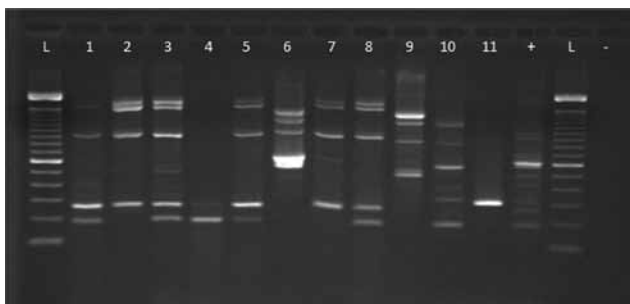
DISCUSSIE

Op basis van de beschikbare literatuur en de beschrijving van een aantal cases wordt een overzicht gegeven van de recentste ontwikkelingen op het gebied van mastitisonderzoek bij melkvee, met nadruk op het eigen onderzoek. De belangrijkste ontwikkelingen hebben vooral betrekking op het gebruik van de moleculaire diagnostiek, de moleculaire epidemiologie, de mathematische modellering en de pathobiologie van IMI. Deze ontwikkelingen hebben het gebied van IMI sterk verbeterd.



Figuur 3. Mastitisgevallen over een periode van vier maanden op een groot melkveebedrijf in de staat New York. De mastitisgevallen veroorzaakt door *E. coli* (geel), *S. aureus* (oranje) en *S. dysgalactiae* (blauw) worden weergegeven. Voor elke datum (horizontale as) worden de gediagnosticeerde mastitisgevallen getoond, inclusief de verwekker (kleur) en het lactatiestadium, de dagen na het afkalven waarin de mastitis werd ontdekt (verticale as).

Moleculaire technieken worden al in veel vakgebieden routinematig ingezet. Ook op het gebied van mastitisdiagnostiek bieden ze erg veel mogelijkheden. De primaire diagnostiek met behulp van real-time PCR lijkt veelbelovend en heeft als belangrijk voordeel dat de uitslag snel beschikbaar is (Koskinen et al., 2010). Een belangrijk nadeel is de hoge gevoeligheid van de methode, waardoor ook kiemen die geen rol van betekenis spelen in de infectie en de daaropvolgende uierontsteking toch worden geïdentificeerd. Op dit moment is de interpretatie van de resultaten van PCR-testen, vooral in het geval van niet-aseptisch verkregen melkmonsters, niet altijd duidelijk. Het is daarom belangrijk dat niet alleen de technische capaciteit van de methode maar ook de interpretatie



Figuur 4. Moleculaire stamtypering van *S. aureus*-stammen uit klinische mastitisgevallen op een groot melkveebedrijf. Voor elke verticale baan (1-11) is een *S. aureus*-kiem geïsoleerd uit een mastitisgeval, +: positieve controle, L:DNA-ladder, -: de negatieve controle.

van de resultaten wordt beoordeeld. Dit is des te meer van belang omdat recent is gebleken dat de microbiota van de uier uit zeer veel commensale, vaak anaerobe bacteriën bestaat, zelfs als het kwartiercelgetal lager is dan 10.000 cellen/ml (Oikonomou et al., 2012). Hetzelfde geldt voor de speenpunt, waar er een natuurlijke flora bestaat die niet geassocieerd is met IMI of mastitissymptomen (Braem et al., 2013).

Bovendien laat de moleculaire identificatie van bacteriële species toe de epidemiologie van de verschillende mastitiskiemen beter te begrijpen. Meer bepaald op het gebied van CNS heeft de accurate diagnostiek van de verschillende soorten veel nieuwe inzichten opgeleverd (De Vlieghe et al., 2012). Vooral het belang van CNS-infecties bij vaarzen werd goed in beeld gebracht (Piepers et al., 2007a, b). Er is wereldwijd een veel beter begrip van welke *Staphylococcus*-species er geassocieerd zijn met IMI. Het belangrijkste *Staphylococcus*-species die IMI veroorzaakt, is *S. chromogenes*. Dit species lijkt zich aangepast te hebben aan de uier. Verder onderzoek naar de relevantie van dit species met het oog op de melkqualiteit en de manier waarop de aanpassing aan de uier plaatsgevonden heeft, ligt voor de hand.

Zoals de casestudies laten zien, is stamtypering een zeer waardevolle aanvulling van de bestaande diagnostiek (Zadoks et al., 2000, 2003, 2011b). Met behulp van stamtypering kan de actuele transmissiedynamiek op een bedrijf worden beoordeeld. Het indelen van bacteriële species in besmettelijke en omgevingskiemen is wellicht soms niet nauwkeurig

genoeg. Op basis van de gevonden species wordt dan gemakkelijk een foute bedrijfsdiagnose gesteld. Aangezien de aanpak van bedrijven met een besmettelijk of omgevingstransmissiepatroon totaal verschillend is, kan stamtypering de kwaliteit van de diagnose verbeteren en het advies verder verfijnen (Van Loo et al., 2007). Met behulp van stamtypering kan een meer nauwkeurige en valide aanpak op een bedrijf worden geadviseerd.

De mathematische modellering van IMI heeft in de laatste tien jaar veel toegevoegd aan het begrip van infectiebiologie en infectiedynamiek (White et al., 2010). Persisterende coliforme infecties werden de laatste jaren in Europa en de VS in verschillende rundveepopulaties aangetoond (Dopfer et al., 1999, Dogan et al., 2006). De overlevingsmechanismen van de coliforme stammen die deze persisterende infecties veroorzaken, zijn nog niet volledig duidelijk doch het mathematisch model beschreven door White et al. (2010) schuift een zeer aannemelijke hypothese naar voor van een intracellulair reservoir van *E. coli*-bacteriën in de epitheelcellen van de uier. Verschillende andere onderzoekers hebben hier ook op gewezen (Dogan et al. 2006, Dopfer et al. 1999, Schukken et al. 2011a). De aanwezigheid van een dergelijk reservoir impliceert dat de behandeling van persisterende infecties waarschijnlijk veelal niet succesvol is. Een langdurige behandeling met geschikte antibiotica is vermoedelijk de enige optie voor een volledige bacteriële genezing (Schukken et al., 2011b, 2013a).

Persisterende *E. coli*-infecties gedurende de laatste weken van de dracht zijn een belangrijke risicofactor voor klinische mastitis na het afkalven. De relatie tussen IMI in de laatste weken van de dracht en klinische mastitis na het afkalven werd eerst beschreven op basis van veldstudies. Recent werd de waargenomen relatie ook aangetoond in een experimenteel onderzoek (Quesnell et al., 2012). De inductie van een experimentele infectie met *E. coli* tijdens de laatste weken van de dracht resulteerde in persisterende IMI en klinische mastitis na het afkalven. Met behulp van stamtypering kon worden aangetoond dat het in alle gevallen om dezelfde *E. coli*-stam ging. Gebaseerd op de bevindingen van het onderzoek van Quesnell et al. (2012), vindt er nu vervolgonderzoek plaats naar de regulering van de afweer in de laatste weken van de dracht. Deze veld- en experimentele bevindingen zijn erg nuttig om het belang van de droogstand en de preventie van nieuwe infecties tijdens de droogstand onder de aandacht te brengen van dierenartsen en veehouders. De bevindingen en het daarop gebaseerde vervolgonderzoek zijn ook waardevol voor het begrip van de immuniteit in de laatste weken van de dracht en zullen tot meer mogelijkheden leiden inzake de preventie en controle van IMI in deze belangrijke periode voor de drachtige koe.

Het modelleren van de overdracht van uierinfecties werd reeds in verschillende studies be-

schreven. De inschatting van de waarde van een antibioticumbehandeling van persisterende infecties is zeer waardevol en resulteert in een niet-lineaire relatie tussen de infectietransmissiecoëfficiënt en de populatie-effectiviteit van een antibioticumbehandeling (Barlow et al., 2009, 2013). De niet-lineaire relatie is ook intuïtief goed te begrijpen: op bedrijven met een hele hoge transmissie (sterke verspreiding) is het behandelen met antibiotica niet erg waardevol voor de populatie. Elke genezen infectie leidt tot een kwartier dat terug gevoelig is voor een nieuwe infectie. Bovendien is de kans op een nieuwe infectie op bedrijven met een hoge transmissie heel groot. Het netto-effect is dat de behandeling voor het bedrijf uiteindelijk niet erg effectief is. Het ligt voor de hand dat op bedrijven met een hoge infectieoverdracht eerst het management moet worden verbeterd en de kans op overdracht van infecties verlaagd moet worden voordat de behandeling met antibiotica effectief kan zijn.

Het belang van de aangeboren immuniteit is bij IMI heel groot, zeker in vergelijking met de verkregen antilichaamafhankelijke immuniteit. Uit recent onderzoek blijkt dat de initiële immuunrespons op een IMI kiemspecifiek is (Bannerman, 2009). Elke kiem heeft een specifieke interactie met het aangeboren immuunsysteem die leidt tot een specifieke respons. Bij *E. coli*-infecties is dat een snelle herkenning met behulp van de Toll-like receptor-4, en een snelle productie van pro-inflammatoire cytokinen (Schukken et al., 2011a). Bij *S. aureus*, en nog meer bij *S. uberis*, is deze initiële respons vertraagd en komt de ontstekingsreactie pas laat op gang (Gunther et al., 2011). In het geval van *S. aureus* wordt de immuunrespons actief geremd door nog onbekende signalen afkomstig van de kiem. In het geval van *S. uberis* is de immuunrespons vertraagd maar uiteindelijk vindt een zeer hoge productie plaats van pro-inflammatoire cytokinen. Deze cytokinen leiden tot een zeer hoge influx van cellen in de uier, waarbij zowel neutrofielen als lymfocyten een rol spelen (Tassi et al., 2013). Het is nog onduidelijk wat er aan de basis ligt van de vertraagde immuunrespons bij *S. uberis*-infecties.

CONCLUSIES

Gedurende de laatste tien jaar heeft het onderzoek naar mastitis veel inzicht gebracht in de pathobiologie en epidemiologie van uierinfecties. Dit onderzoek heeft niet alleen het begrip over IMI verbeterd maar heeft ook een belangrijke bijdrage geleverd tot de praktische aanpak van mastitis op melkveebedrijven. Kort samengevat situeren de belangrijkste bijdragen zich op het gebied van 1) het belang van persisterende infecties, ongeacht de species, als bijdrage tot besmettelijke infectiepatronen op melkveebedrijven. 2) preventie van IMI in de laatste weken van de dracht, en 3) het belang van CNS-infecties bij koeien en vaarzen.

Met behulp van moderne, op DNA gebaseerde, diagnostische technieken werd vastgesteld dat vrijwel alle bekende mastitispathogenen persisterende infecties kunnen veroorzaken. Dit heeft directe gevolgen voor de aanpak van mastitis op melkveebedrijven. Elke persisterende infectie heeft de mogelijkheid om via een aantal transmissieroutes een nieuwe infectie van een gevoelig kwartier te veroorzaken. Bij de aanwezigheid van persisterende infecties is het daarom belangrijk om het risico op infectieoverdracht op een melkveebedrijf in te schatten en waar nodig te verminderen. Aangezien de transmissie vooral, maar niet uitsluitend, tijdens het melken plaatsvindt, is het belangrijk om altijd de melkroutine en melktechniek op een bedrijf te beoordelen. Daarnaast is het belangrijk om geïnfecteerde dieren te identificeren en deze als laatste te melken, te beoordelen voor behandeling tijdens lactatie of bij de droogstand, of eventueel van het bedrijf te verwijderen. De relatie tussen de duur van IMI, het risico op infectietransmissie op een melkveebedrijf en de mogelijke transmissiepatronen in de melkveekoppel wordt aangegeven in Tabel 1. Bedrijven met een hoog transmissierisico en met persisterende IMI hebben vooral een contagieus transmissiepatroon. Bedrijven met een laag transmissierisico en transiënte IMI hebben vooral een omgevingspatroon (geen dier-naar-diertransmissie). Bedrijven met een laag transmissierisico en persistente IMI en bedrijven met een hoog transmissierisico en transiënte IMI kunnen een omgevingspatroon laten zien, maar lopen een grote kans op contagieuze uitbraken. Dit wordt aangegeven door de pijl die in de richting van het contagieuze transmissiepatroon wijst.

Stammen binnen bacteriële species laten een verschillende aanpassing aan de omgeving van de uier zien (van den Borne et al., 2010, Zadoks et al., 2011b), waardoor de infectieduur en dus het transmissiepatroon in melkveekoppels stamspecifiek en niet zo zeer speciespecifiek zijn. Zoals in de casestudies werd aangetoond, zijn er gramnegatieve bacteriën die een

besmettelijk patroon laten zien in een melkveekoppel (Munoz et al., 2007, Schukken et al., 2012), terwijl er *S. aureus*-stammen zijn die een omgevingspatroon vertonen. Over het algemeen brengen species zoals *S. aureus* een hoog percentage persisterende infecties teweeg, terwijl gramnegatieve species een hoger percentage transiënte infecties veroorzaken. Dit verschil is echter meer een kwestie van gradatie dan een speciesspecifieke eigenschap. Uiteraard zijn de risicofactoren op een melkveebedrijf ook van groot belang voor de waargenomen transmissiepatronen.

Om subklinische en klinische mastitis in de eerste weken van lactatie te verminderen, is het inzake management essentieel om de koeien in droogstand en vooral de koeien in de laatste weken van de dracht als een afzonderlijke groep te benaderen. Deze groep heeft naast speciale voedingsbehoeften ook behoefte aan een optimaal management en vooral aan een hele hoge graad van hygiëne. Een specifieke huisvesting die er vooral op gericht is om een goede hygiëne te bewaren, is voor deze groep van groot belang.

Het is belangrijk om een onderscheid te maken tussen IMI bij vaarzen en IMI bij koeien, zeker als het infecties met CNS betreft. Bij vaarzen hebben CNS-infecties rond het afkalven geen grote impact op de uiergezondheid (DeVliegher et al., 2003). Deze infecties lijken zelfs een voorspeller te zijn van een hogere melkproductie (Piepers et al., 2013). Bij koeien met CNS-infecties, en vooral met persisterende CNS-infecties, is het celgetal langdurig verhoogd. Op goed geleide melkveebedrijven met een laag tankmelkcelgetal kunnen deze CNS-infecties de belangrijkste bron zijn van een suboptimaal en verhoogd tankmelkcelgetal (Schukken et al., 2009). Een gerichte aanpak van deze CNS-infecties is noodzakelijk om een voldoende hoge melkwaliteit te bewerkstelligen.

PRAKTISCHE CONSEQUENTIES

Om een uiergezondheidsprobleem op een bedrijf aan te pakken is het van belang om de data op een

Tabel 1. Het infectiepatroon in de melkveekoppel wordt weergegeven als functie van de duur van de intramammaire infectie en het risico op infectieoverdracht op het melkveebedrijf.

Duur intramammaire infectie	Risico op infectietransmissie op het melkvee bedrijf	
	Laag	Hoog
Persistent > 3 weken		Besmettelijk
Transiënt < 3 weken	Omgevings ¹	

¹Infectiepatroon in de melkveekoppel: omgevingspatroon houdt in dat elke intramammaire infectie een aparte bacteriële stam aantoot; besmettelijk patroon houdt in dat één bacteriële stam meerdere of alle infecties veroorzaakt. Bedrijven met een laag transmissierisico met persistente IMI en bedrijven met een hoog transmissierisico met transiënte IMI kunnen een omgevingspatroon laten zien, maar lopen een grote kans op contagieuze uitbraken. Dit is aangegeven door een pijl die in de richting van het contagieuze transmissiepatroon wijst.

bedrijf te beoordelen. Op die manier krijgt men een idee van het aantal persisterende infecties en de gemiddelde duur van een infectie. Dit kan gebeuren door naar de celgetalpatronen te kijken en het aantal herhalingsgevallen van klinische mastitis te beoordelen. Daarnaast is het belangrijk om een goede risicoanalyse op het bedrijf uit te voeren en te beoordelen of er een verhoogd risico is op primaire infectie of infectieoverdracht in de melkstal tijdens behandelingen of in de ligboxenstal. Als derde component is het belangrijk om het infectieprofiel van het bedrijf te beoordelen, bij voorkeur in samenhang met een stamtypering van de mastitis veroorzakende bacteriën. Alleen met een combinatie van deze drie componenten: data-analyse, risico-inschatting en de beoordeling van het infectieprofiel is het mogelijk om de epidemiologische triade van koe, omgeving en pathogeen te karakteriseren en het beste advies voor het melkveebedrijf te formuleren.

DANKBETUIGING

De auteurs betuigen dank aan de Franqui-Stichting voor het verlenen van de Franquileerstoel aan YHS. De auteurs willen ook hun collega's en onderzoekspartners bedanken voor de hulp en enthousiaste bijdragen tot het uiergezondheidsonderzoek van de afgelopen jaren.

LITERATUUR

- Bannerman D.D. (2009). Pathogen-dependent induction of cytokines and other soluble inflammatory mediators during intramammary infection of dairy cows. *Journal of Animal Science* 87, 10-25.
- Barlow J.W., White L.J., Zadoks R.N., Schukken Y.H. (2009). A mathematical model demonstrating indirect and overall effects of lactation therapy targeting subclinical mastitis in dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* 90, 31-42.
- Barlow J.W., Zadoks R.N., Schukken Y.H. (2013). Effect of lactation therapy on *Staphylococcus aureus* transmission dynamics in two commercial dairy herds. *BMC Veterinary Research* 9, 28.
- Braem G., De Vlieghe S., Verbist B., Piessens V., Van Coillie E., De Vuyst L., Leroy F. (2013). Unraveling the microbiota of teat apices of clinically healthy lactating dairy cows, with special emphasis on coagulase-negative staphylococci. *Journal of Dairy Science* 96, 1499-1510.
- De Vlieghe S., Laevens H., Devriese L.A., Opsomer G., Leroy J. L. M., Barkema H. W., de Kruif A. (2003). Prepartum teat apex colonization with *Staphylococcus chromogenes* in dairy heifers is associated with low somatic cell count in early lactation. *Veterinary Microbiology* 92, 245-252.
- De Vlieghe S., Fox L.K., Piepers S., McDougall S., Barkema H.W. (2012). Invited review: Mastitis in dairy heifers: nature of the disease, potential impact, prevention, and control. *Journal of Dairy Science* 95, 1025-1040.
- Dogan B., Klaessig S., Rishniw M., Almeida R., Oliver S.P., Simpson K.W., Schukken Y.H. (2006). Adherent and invasive *Escherichia coli* are associated with persistent bovine mastitis. *Veterinary Microbiology* 116, 270-282.
- Döpfer D., Barkema H.W., Lam T.J., Schukken Y.H., Gaastra W. (1999). Recurrent clinical mastitis caused by *Escherichia coli* in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 82, 80-85.
- Günther J., Esch K., Poschadel N., Petzl W., Zerbe H., Mitterhuemer S., Blum H., Seyfert H.M. (2011). Comparative kinetics of *Escherichia coli*- and *Staphylococcus aureus*-specific activation of key immune pathways in mammary epithelial cells demonstrates that *S. aureus* elicits a delayed response dominated by interleukin-6 (IL-6) but not by IL-1A or tumor necrosis factor alpha. *Infection and Immunity* 79, 695-707.
- Gurjar A., Gioia G., Schukken Y., Welcome F., Zadoks R., Moroni P. (2012). Molecular diagnostics applied to mastitis problems on dairy farms. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 28, 565-576.
- Koskinen M.T., Wellenberg G.J., Sampimon O.C., Holopainen J., Rothkamp A., Salmikivi L., van Haeringen W.A., Lam T.J., Pyörälä S. (2010). Field comparison of real-time polymerase chain reaction and bacterial culture for identification of bovine mastitis bacteria. *Journal of Dairy Science* 93, 5707-5715.
- Loo, van H., Vlieghe de, S., Piepers, S., Passchyn, P., Kruif de, A., Opsomer, G. (2007). Mastitis bij melkvee veroorzaakt door coliformen, met nadruk op *Klebsiella* spp.. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 76, 272-282.
- Munoz M.A., Ahlström C., Rauch B.J., Zadoks R.N. (2006). Fecal shedding of *Klebsiella pneumoniae* by dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89, 3425-3430.
- Munoz M.A., Welcome F.L., Schukken Y.H., Zadoks R.N. (2007). Molecular epidemiology of two *Klebsiella pneumoniae* mastitis outbreaks on a dairy farm in New York State. *Journal of Clinical Microbiology* 45, 3964-3971.
- NMC - A global organization for mastitis control and milk quality. (2011). Recommended mastitis control program. www.nmconline.org/docs/NMCchecklistInt.pdf
- Oikonomou G., Machado V.S., Santisteban C., Schukken Y.H., Bicalho R.C. (2012). Microbial diversity of bovine mastitic milk as described by pyrosequencing of metagenomic 16s rDNA. *PLoS One*. 7:e47671.
- Piepers, S., Opsomer, G., Supre, K., Kruif de, A., Vlieghe de, S. (2007a). Het belang van mastitis bij melkveevaarzen. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 78, 3-11.
- Piepers, S., Opsomer, G., Supre, K., Kruif de, A., Devlieghe, S. (2007b). De epidemiologie en aanpak van mastitis bij melkveevaarzen. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 78, 11-19.
- Piepers S., Schukken Y.H., Passchyn P., De Vlieghe S. (2013). The effect of intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in early lactating heifers on milk yield throughout first lactation revisited. *Journal of Dairy Science* 96, 5095-5105.
- Quesnell R.R., Klaessig S., Watts J.L., Schukken Y.H. (2012). Bovine intramammary *Escherichia coli* challenge infections in late gestation demonstrate a dominant anti-inflammatory immunological response. *Journal of Dairy Science* 95, 117-126.
- Rambeaud M., Almeida R.A., Pighetti G.M., Oliver S.P. (2003). Dynamics of leukocytes and cytokines during experimentally induced *Streptococcus uberis* mastitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 96, 193-205.
- Schukken Y. H., Gonzalez R. N., Tikofsky L. L., Schulte H. F., Santisteban C. G., Welcome F. L., Bennett G. J., Zurakowski M. J., Zadoks R. N. (2009). CNS mastitis:

- Nothing to worry about? *Veterinary Microbiology* 134, 9-14.
- Schukken Y.H., Günther J., Fitzpatrick J., Fontaine M.C., Goetze L., Holst O., Leigh J., Petzl W., Schuberth H.J., Sipka A., Smith D.G., Quesnell R., Watts J., Yancey R., Zerbe H., Gurjar A., Zadoks R.N., Seyfert H.M., members of the Pfizer mastitis research consortium. (2011). Host-response patterns of intramammary infections in dairy cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 144, 270-289.
- Schukken Y.H., Bennett G.J., Zurakowski M.J., Sharkey H.L., Rauch B.J., Thomas M.J., Ceglowski B., Saltman R.L., Belomestnykh N., Zadoks R.N. (2011). Randomized clinical trial to evaluate the efficacy of a 5-day ceftiofur hydrochloride intramammary treatment on nonsevere Gram-negative clinical mastitis. *Journal of Dairy Science* 94, 6203-6215.
- Schukken Y.H., Chuff M., Moroni P., Gurjar A., Santisteban C., Welcome F., Zadoks R.N. (2012). The "other" Gram-negative bacteria in mastitis: *Klebsiella*, *serratia*, and more. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 28, 239-256.
- Schukken Y.H., Zurakowski M.J., Rauch B.J., Gross B., Tikofsky L.L., Welcome F.L. (2013a). Noninferiority trial comparing a first-generation cephalosporin with a third-generation cephalosporin in the treatment of nonsevere clinical mastitis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* Aug 16. doi:pii: S0022-0302(13)00564-X. 10.3168/jds.2013-6713. [Epub ahead of print]
- Schukken Y.H., Piepers S., Zadoks R.N., De Vliegher S. (2013b). Nieuwe ontwikkelingen van een oude aandoening: mastitis onder de loep: deel 1 – literatuur overzicht. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. In press.
- Sommerhäuser J., Kloppert B., Wolter W., Zschöck M., Sobiraj A., Failing K. (2013). The epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections from subclinical mastitis in dairy cows during a control programme. *Veterinary Microbiology* 96, 91-102.
- Tassi R., McNeilly T.N., Fitzpatrick J.L., Fontaine M.C., Reddick D., Ramage C., Lutton M., Schukken Y.H., Zadoks R.N. (2013). Strain specific pathogenicity of putative host-adapted and non-adapted strains of *Streptococcus uberis* in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 96, 5129-5145.
- VandenBorne B.H., Nielen M., van Schaik G., Melchior M.B., Lam T.J., Zadoks R.N. (2010). Host adaptation of bovine *Staphylococcus aureus* seems associated with bacteriological cure after lactational antimicrobial treatment. *Journal of Dairy Science* 93, 2550-2558.
- Verbist B., Piessens V., Van Nuffel A., De Vuyst L., Heyndrickx M., Herman L., Van Coillie E., De Vliegher S. (2011). Sources other than unused sawdust can introduce *Klebsiella pneumoniae* into dairy herds. *Journal of Dairy Science* 94, 2832-2839.
- White L.J., Schukken Y.H., Dogan B., Green L., Döpfer D., Chappell M.J., Medley G.F. (2010). Modelling the dynamics of intramammary *E. coli* infections in dairy cows: understanding mechanisms that distinguish transient from persistent infections. *Veterinary Research* 41, 13-28.
- Zadoks R., van Leeuwen W., Barkema H., Sampimon O., Verbrugh H., Schukken Y.H., van Belkum A. (2000). Application of pulsed-field gel electrophoresis and binary typing as tools in veterinary clinical microbiology and molecular epidemiologic analysis of bovine and human *Staphylococcus aureus* isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 38, 1931-1939.
- Zadoks R.N., Allore H.G., Barkema H.W., Sampimon O.C., Gröhn Y.T., Schukken Y.H. (2001). Analysis of an outbreak of *Streptococcus uberis* mastitis. *Journal of Dairy Science* 84, 590-599.
- Zadoks R.N., Gillespie B.E., Barkema H.W., Sampimon O.C., Oliver S.P., Schukken Y.H. (2003). Clinical, epidemiological and molecular characteristics of *Streptococcus uberis* infections in dairy herds. *Epidemiology and Infection* 130, 335-349.
- Zadoks R.N., Griffiths H.M., Munoz M.A., Ahlstrom C., Bennett G.J., Thomas E., Schukken Y.H. (2011). Sources of *Klebsiella* and *Raoultella* species on dairy farms: be careful where you walk. *Journal of Dairy Science* 94, 1045-1051.
- Zadoks R.N., Middleton J.R., McDougall S., Katholm J., Schukken Y.H. (2011). Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 16, 357-372.