

UNIVERSITEIT GENT
FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2013 – 2014

**LITERATUURSTUDIE OVER
DE BEHANDELING VAN KLINISCHE
UIERONTSTEKING BIJ MELKVEE**

Door

Yves PEETERS

Promotoren: Dr. Sofie Piepers

Prof. dr. Sarne De Vlieghe

Literatuurstudie in het kader

van de Masterproef

©2014 Yves Peeters

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.

Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.

UNIVERSITEIT GENT
FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2013 – 2014

**LITERATUURSTUDIE OVER
DE BEHANDELING VAN KLINISCHE
UIERONTSTEKING BIJ MELKVEE**

Door

Yves PEETERS

Promotoren: Dr. Sofie Piepers

Prof. dr. Sarne De Vliegheer

Literatuurstudie in het kader

van de Masterproef

©2014 Yves Peeters

WOORD VOORAF

Ik ben blij dat ik de kans heb gekregen om een literatuurstudie te mogen maken over klinische uierontsteking bij melkvee. De melkveesector is een sector die mij erg interesseert en de mastitisproblematiek is daar erg actueel. Bij het tot stand komen van deze literatuurstudie heb ik steun gekregen van enkele mensen en die zou ik hierbij graag bedanken.

In de eerste plaats zou ik graag mijn hoofdpromotor dr. Sofie Piepers en mijn copromotor Prof. dr. Sarne De Vlieghe willen bedanken voor de goede begeleiding en de behulpzame adviezen. Ook mijn ouders en mijn vriendin zou ik willen bedanken voor de steun en het geduld bij het maken van deze literatuurstudie.

INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING	1
INLEIDING	2
LITERATUURSTUDIE	3
1 SITUERING	3
2 KIEMEN	3
2.1 GRAM POSITIEF – GRAM NEGATIEF.....	3
2.2 MAJOR PATHOGEEN – MINOR PATHOGEEN.....	4
2.3 KOEGEBONDEN – OMGEVINGSGEBONDEN	5
2.4 LOKAAL – SYSTEMISCH	6
3 ANTIMICROBIËLE MIDDELEN	7
3.1 BACTERICIED VERSUS BACTERIOSTATISCH	7
3.2 ANTIBACTERIEEL SPECTRUM.....	8
3.3 TIJDSAFHANKELIJK VERSUS CONCENTRATIEAFHANKELIJK.....	9
4 FACTOREN DIE GENEZING BEINVLOEDEN	10
4.1 BACTERIEFACTOREN	10
4.1.1 Antibioticaresistentie.....	10
4.1.2 Soort mastitisverwekker	11
4.2 KOEGERELATEERDE FACTOREN.....	12
4.2.1 Immunitetsstatus.....	12
4.2.2 Andere	13
4.3 MANAGEMENTGERELATEERDE FACTOREN.....	13
4.4 BEHANDELINGSGERELATEERDE FACTOREN	15
4.4.1 Keuze van het antibioticum	15
4.4.2 Behandelingsduur.....	17
4.4.3 Toedieningswijze van het antibioticum	18
4.4.4 Ontstekingsremmers.....	18
4.4.5 Lactoferrine	19
4.4.6 Homeopathie	20
4.4.7 Iatrogene superinfecties	20
BESPREKING	21
REFERENTIELIJST	24

SAMENVATTING

Uierontsteking of mastitis is een veel voorkomend probleem op melkveebedrijven en zorgt voor belangrijke economische verliezen binnen de zuivelindustrie. Mastitis wordt vooral veroorzaakt door bacteriën, maar kan ook teweeggebracht worden door virussen en gisten. Verschillende factoren kunnen het succes van een behandeling van een klinische mastitis beïnvloeden. Bij de bacteriën heeft antibioticaresistentie een belangrijke invloed, maar ook het bacteriespecies dat de infectie veroorzaakt. Er is namelijk een groot verschil in virulentie tussen de verschillende species. Vooral een mastitis veroorzaakt door *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella spp.* of *Mycoplasma spp.* valt moeilijk te behandelen. Bij de koe zelf is primair haar immuniteitsstatus van belang. Hier kunnen de negatieve energiebalans in het begin van de lactatie en vitamines en sporenelementen zoals vitamine E en selenium een invloed uitoefenen. Andere koefactoren die een invloed hebben op de genezing zijn celgetal, voorgeschiedenis van het uierkwartier, ouderdom van de infectie en daarmee samenhangend chronische weefselveranderingen in het geïnfekteerde uierkwartier. Een slechte hygiëne van de omgeving van de koeien kan voor veel herinfecties zorgen. Bij de behandeling heeft de keuze van het antibioticum, de behandelingsduur en de toedieningsweg een invloed op de genezingskans. Het gebruik van ontstekingsremmers als ondersteuning van een antibioticumtherapie bij de behandeling van mastitis heeft een gunstig effect op de genezingskans. Lactoferrine kan als ondersteuning van een antibioticumtherapie ook een gunstig effect hebben. Een alternatief voor antibioticumgebruik bij de therapie van klinische mastitis zou homeopathie kunnen zijn, maar over het effect van deze producten op het verloop van een klinische uierontsteking en het potentiële mechanisme is nog te weinig wetenschappelijke informatie beschikbaar.

INLEIDING

Mastitis is een ontsteking van de melkklier, bij de koe dus de uier (McDougall et al., 2009; Watts, 1988; Gruet et al., 2001). Deze ontsteking wordt veelal teweeggebracht door bacteriën (Watts, 1988), maar kan ook veroorzaakt worden door virussen en gisten (Roberson, 2012). De rol van virussen in klinische mastitis is nog onduidelijk. Dikwijls kunnen er virussen in de melk van een uierkwartier met mastitis gevonden worden, maar dit wil nog niet zeggen dat deze virussen ook echt de oorzaak van de uierontsteking zijn (Wellenberg et al., 2002). Mastitis kan zich op twee manieren uiten: subklinisch of klinisch. Bij een subklinische mastitis is er enkel een verhoogd celgetal en zijn er geen andere klinische symptomen of macroscopische afwijkingen van de melk. Terwijl klinische mastitis een ontsteking van de uier is waarbij er lokale en/of systemische symptomen zichtbaar zijn en de melk een abnormaal uitzicht kan hebben (De Vlieghe et al., 2012; McDougall et al., 2009; Gruet et al., 2001). Mogelijke lokale symptomen van klinische mastitis zijn een gezwollen, warm uierkwartier en pijn bij palpatie. Eventuele systemische symptomen zijn koorts, anorexie en lethargie (Gruet et al., 2001)

Klinische mastitis is nog vaak een ziekte waar de genezingsresultaten pover zijn. Zo waren bij vaarzen die in de transitieperiode klinische mastitis ontwikkelden maar 40% van de kwartieren na 28 dagen bacterieel genezen en nog in productie (Waage et al., 2000). In een andere studie werd er bij melkkoeien maar een genezingspercentage van 60% gevonden bij een *Staphylococcus aureus*-mastitis en een genezingspercentage van 73% bij een milde Gram-negatieve mastitis (Schukken et al., 2011; Swinkels et al., 2013a). Daarom worden in deze literatuurstudie de factoren die invloed hebben op de genezingskans bij een klinische mastitis op een rij gezet.

LITERATUURSTUDIE

1 SITUERING

Klinische mastitis zorgt voor economische verliezen en komt vaak voor bij melkkoeien (Schukken et al., 2013). De incidentie van klinische mastitis in Nederland in 2009 bedroeg 30,3 gevallen per 100 koeien at risk per jaar (Jansen et al., 2009). In Vlaanderen komen er per 50 melkgevende koeien jaarlijks 22 klinische mastitisgevallen voor (M-team Ugent, 2013). De economische verliezen zijn te wijten aan de behandelingen, de hogere werklust, het respecteren van de wachttijden (Huijps et al., 2008) en last but not least zeker ook aan de gedaalde melkproductie bij de koeien. Shim et al., (2004) vonden een daling van 5 à 6% van de melkproductie. Hortet en Seegers (1998) spreken van 300kg tot 400 kg melk die per lactatie verloren gaat. De economische verliezen van een klinische mastitis op een gemiddeld Nederlands melkveebedrijf varieerden in 2007 tussen de €164 en de €235 afhankelijk van het stadium in de lactatie, met een gemiddelde van €210 (Huijps et al., 2008).

2 KIEMEN

2.1 GRAM POSITIEF – GRAM NEGATIEF

Bacteriën worden het vaakst ingedeeld volgens de kleurreactie die zij ondergaan bij een Gram-kleuring. Zo verkrijgt men een groep Gram-positieve bacteriën die blauw kleuren en een groep Gram-negatieve bacteriën die rood kleuren (Quinn et al., 2007). Deze kleurreactie wordt teweeggebracht door de samenstelling van de celwand van de bacteriën. De celwand bij Gram-positieve kiemen bestaat uit een uniforme dikke laag met peptidoglycanen en lipo-teichoinezuren. Bij Gram-negatieve kiemen bestaat deze uit een laag peptidoglycaan met daarboven een buitenste membraan die proteïnes en lipopolysacchariden bevat. Bij celdeling en cellysis kunnen lipopolysaccharide-moleculen vrijkomen bij Gram-negatieve bacteriën en dan functioneren als endotoxines (Quinn et al., 2007). De samenstelling van de celwand heeft een invloed op de natuurlijke gevoeligheid voor bepaalde antibiotica. Zo heeft men antibiotica die voornamelijk actief zijn tegen Gram-negatieve kiemen, sommige voornamelijk tegen Gram-positieve kiemen en andere zijn zowel werkzaam tegen Gram-positieve als Gram-negatieve bacteriën. Men spreekt respectievelijk van antibiotica met een Gram-negatief spectrum, een Gram-positief spectrum en een breed spectrum (Quinn et al., 2007). *Mycoplasma spp.* is een speciaal genus. Mycoplasmen bezitten in tegenstelling tot andere bacteriën geen celwand en zijn dus niet in te delen in Gram-positief of Gram-negatief. Er wordt verondersteld dat *Mycoplasma* evolutionair verwant is aan de Gram-positieve bacteriën en die doorheen de tijd hun celwand verloren hebben (Razin en Hayflick, 2010; Fox, 2012).

Tabel 1: Onderverdeling bacteriën in Gram-positief en Gram-negatief

Gram-positief	Gram-negatief
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Coagulase-negatieve staphylococci	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Klebsiella</i> spp.
<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Citrobacter</i> spp.
<i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Serratia</i> spp.
<i>Trueperella pyogenes</i>	<i>Proteus</i> spp.
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella enterica</i>
<i>Nocardia</i> spp.	<i>Pasteurella multocida</i>
	<i>Leptospira interrogans</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Brucella abortus</i>
	<i>Mycoplasma</i> spp.

(Watts, 1988)

2.2 MAJOR PATHOGEEN – MINOR PATHOGEEN

De bacteriën die mastitis veroorzaken worden soms ook ingedeeld in major en minor pathogene kiemen. Hierbij verstaat men onder major pathogene kiemen, kiemen die over het algemeen een klinische mastitis veroorzaken of een erg hoge stijging van het celgetal. De minor pathogene kiemen zijn kiemen die meer een subklinische infectie van de uier teweegbrengen waarbij het celgetal vaak slechts matig is verhoogd en slechts in uitzonderlijke gevallen klinische mastitis veroorzaken (White et al., 2001).

Tabel 2: Onderverdeling bacteriën in major en minor pathogeen

Major pathogene kiemen	Minor pathogene kiemen
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Corynebacterium bovis</i>
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Coagulase-negatieve staphylococci
<i>Streptococcus uberis</i>	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	
<i>Escherichia coli</i>	

(De Vlieghe et al., 2012; White et al., 2001)

2.3 KOEGEBONDEN – OMGEVINGSGEBONDEN

Wanneer men de bacteriën opdeelt naargelang zij overgedragen worden dan krijgt men een groep koegebonden en een groep omgevingsgebonden kiemen. De koegebonden kiemen vormen een reservoir in de uiers van de koeien en worden enkel van koe tot koe overgedragen tijdens het melken, terwijl de omgevingsgebonden kiemen in de omgeving van de melkkoeien aanwezig zijn. De koe kan zich hierbij niet enkel bij het melken infecteren, maar ook tussen de melkbeurten in (Gruet et al., 2001). Bij sommige bacteriën is deze indeling niet eenduidig te maken (Schukken et al., 2013). Deze indeling is van belang bij de aanpak van mastitis op een melkveebedrijf. Bij koegebonden kiemen worden de geïnfecteerde koeien best afgeschermd van de rest van de populatie, eventueel behandeld of afgevoerd. Aanpassen van de melktechniek beperkt de verdere verspreiding van bacteriën van geïnfecteerde naar niet-geïnfecteerde koeien (Schukken et al., 2013). Bij omgevingsgebonden kiemen heeft het minder zin om geïnfecteerde koeien af te scheiden, maar dient de afweer van de koeien op punt te worden gesteld en de hygiëne in de omgeving te worden geoptimaliseerd (Schukken et al., 2013).

Tabel 3: Onderverdeling koegebonden en omgevingsgebonden bacteriën

Koegebonden bacteriën	Omgevingsgebonden bacteriën
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Serratia</i> spp.
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella</i> spp.
Coagulase-negatieve staphylococci	<i>Proteus</i> spp.
<i>Corynebacterium bovis</i>	<i>Enterobacter</i> spp.
<i>Mycoplasma</i> spp.	<i>Pseudomonaceae</i>
	<i>Streptococcus uberis</i>
	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
	<i>Enterococcus faecalis</i>

(Gruet et al., 2001; Quinn et al., 2007)

2.4 LOKAAL – SYSTEMISCH

Als men de bacteriën indeelt naargelang de plaats waar zij in het lichaam aanwezig zijn. Kan een onderscheid worden gemaakt tussen bacteriën die enkel lokaal in de uier aanwezig zijn of bacteriën die meer een systemische infectie veroorzaken.

Escherichia coli zorgt samen met de andere coliforme bacteriën (o.a. *Klebsiella* spp., *Serratia* spp.) voor een lokale infectie in de uier via het tepelkanaal. Bij dergelijke infecties worden er vaak endotoxines vrijgesteld die in de bloedbaan kunnen terechtkomen en op die manier een endotoxemie kunnen induceren. Dit zorgt voor systemische effecten bij de koe (Quinn et al., 2007). In sommige gevallen van ernstige acute mastitis veroorzaakt door coliforme bacteriën wordt zelfs een bacteriëmie waargenomen (Roberson, 2012; Suojala et al., 2013). Roberson (2012) spreekt van een bacteriëmie bij 40% van de gevallen van ernstige acute mastitis.

Staphylococcus aureus, coagulase-negatieve staphylococci, *Corynebacterium bovis* en streptococci zorgen enkel voor een lokale infectie van de uier via het tepelkanaal. De coagulase-negatieve staphylococci, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* en *C. bovis* tasten enkel het oppervlakkige epitheel aan en bevinden zich dus voornamelijk in de melkafvoerkanalen, terwijl *S. aureus* en *Strep. uberis* meer het diepere uierparenchym gaan binnendringen en daar abscessen kunnen veroorzaken (Erskine et al., 2003). Voor de bacteriën die oppervlakkig blijven is het dus voldoende om enkel voldoende hoge concentraties aan antibiotica in de melk te verkrijgen. Voldoende hoge concentraties aan antibiotica in de melk kunnen zowel via een intramammaire toediening als een systemische toediening worden bereikt. Maar voor degene die in het diepere parenchym gaan is vaak

een systemische toediening vereist (Erskine et al., 2003). Coagulase-negatieve staphylococci en *C. bovis* behoren echter wel tot de normale huid- en tepelflora bij runderen (Quinn et al., 2007).

Mycoplasma bovis is een uitzonderlijke bacterie. Ze kan zowel via het tepelkanaal als vanuit andere plaatsen op het lichaam (zoals het neusslijmvlies, het slijmvlies van de genitaaltractus, ...) hematogeen de uier infecteren. Meestal is er ook een systemische infectie met de bacterie (Quinn et al., 2007). Zo toonden Bennett en Jasper (1977) na een experimentele intramammaire inoculatie van *Mycoplasma bovis* na enkele dagen de kiem aan in het bloed en in uierkwartieren die niet geïnoculeerd waren. Zij veronderstelden dat de bacteriën via het bloed naar de andere uierkwartieren spreidden.

3 ANTIMICROBIËLE MIDDELEN

Wanneer men een antibioticum kiest voor de behandeling van een klinische mastitis, dan moet men rekening houden met de aard van de bacterie, de locatie van de bacterie in de uier, de immunoreactie van de koe tegen de bacterie en de farmacokinetische en farmacodynamische karakteristieken van het antibioticum (Quinn et al., 2007). Het ideale antibioticum heeft volgende kenmerken:

- Lage MIC (minimale inhibitorische concentratie) voor de bacterie;
- Hoge resorptie en distributie naar de uier na parenterale toediening;
- Accumulatie in de melk;
- Lage plasmaproteïne-binding;
- Lange halfwaardetijd.

3.1 BACTERICID VERSUS BACTERIOSTATISCH

Antibiotica kunnen ten eerste naargelang hun effect op de bacterie ingedeeld worden in twee groepen: de bactericide en de bacteriostatische antibiotica. De bactericide antibiotica gaan de bacteriën effectief afdoden, daar waar de bacteriostatische enkel de groei van de bacteriën belemmeren. Bij de bacteriostatische antibiotica wordt nog op het immuunsysteem van de koe om de bacteriën te vernietigen gerekend (Craven, 1987; Quinn et al., 2007; Kietzmann en Bäumer, 2008). Wanneer men een bacteriostatisch antibioticum in een zeer hoge dosis toedient, dan kan deze wel een bactericide werking krijgen (Quinn et al., 2007). Een speciaal geval zijn de sulfonamiden en trimethoprim. Apart aanwenden van deze twee moleculen resulteren in een bacteriostatische werking. Het samen toedienen van beide moleculen resulteert in een synergistische werking en een eerder bactericide invloed (Bäumer, 2012).

Tabel 4: Onderverdeling bactericide en bacteriostatische antibiotica

BACTERICIDE ANTIBIOTICA	BACTERIOSTATISCHE ANTIBIOTICA
β -lactam antibiotica (penicillines-cefalosporines)	Nitrofuranen
Vancomycine	Tetracyclines
Polymyxines	Chlooramfenicol
Colistine	Florfenicol
Aminoglycosiden	Lincosamiden
Lincosamiden	Macroliden
(Fluoro)quinolones	Novobiocine
Novobiocine	Rifampicine
Nitro-imidazoles	Sulfonamiden
Sulfonamiden met trimethoprim	Trimethoprim

(Quinn et al., 2007; Bäumer, 2012)

3.2 ANTIBACTERIEEL SPECTRUM

Antibiotica kunnen anderzijds ook ingedeeld worden naargelang de groep bacteriën waartegen zij werkzaam zijn. Wanneer een antibioticum vooral werkzaam is tegen Gram-positieve bacteriën dan heeft het antibioticum een Gram-positief spectrum. Wanneer het vooral werkzaam is tegen Gram-negatieve bacteriën heeft het antibioticum een Gram-negatief spectrum en wanneer het zowel tegen Gram-positieve als Gram-negatieve bacteriën werkzaam is heeft het antibioticum een breed spectrum.

Tabel 5: Overzicht van de antibiotica met Gram-positief, Gram-negatief en breedspectrum

GRAM-POSITIEF SPECTRUM	GRAM-NEGATIEF SPECTRUM	BREED SPECTRUM
Penicilline	Aminoglycosiden	Aminopenicillines
1 ^e en 2 ^e generatie cefalosporines	Colistine	3 ^e en 4 ^e generatie cefalosporines
Macroliden		Sulfonamiden
Lincosamiden		Trimethoprim
		Tetracyclines
		Fluoroquinolones

(Bäumer, 2012)

3.3 TIJDSAFHANKELIJK VERSUS CONCENTRATIEAFHANKELIJK

Antimicrobiële middelen kunnen ingedeeld worden naargelang hun postantibiotisch effect. Wanneer een antibioticum nog een antibacteriële werking heeft als de concentratie ervan onder de MIC-waarde (Minimum inhibitorische concentratie, dit is de laagste concentratie van een antibioticum waarbij de groei van de bacterie *in vitro* wordt geremd) is gedaald dan spreekt men van een postantibiotisch effect (Bäumer, 2012). Wanneer een antibioticum een uitgesproken postantibiotisch effect heeft, dan spreekt men van een concentratieafhankelijk antibioticum. De maximale piekconcentratie die bij de therapie in de weefsels wordt behaald is hierbij belangrijker dan de duur boven de MIC-waarde. Bij een tijdsafhankelijk antibioticum is het echter belangrijk om een lange tijd concentraties in de weefsels te bekomen die hoger zijn dan de MIC-waarde aangezien deze antibiotica een beperkt postantibiotisch effect hebben (Bäumer, 2012). Een gevolg hiervan is dat de tijd tussen toedieningen bij tijdsafhankelijke antibiotica korter is dan bij concentratieafhankelijke antibiotica (Bäumer, 2012).

Tabel 6: Overzicht van de tijdsafhankelijke en concentratieafhankelijke antibiotica

TIJDSAFHANKELIJK	CONCENTRATIEAFHANKELIJK
β-lactam antibiotica	Fluoroquinolonen
Sulfonamiden	Aminoglycosiden
Trimethoprim	
Tetracyclines	
Macroliden	
Lincosamiden	

(Bäumer, 2012)

4 FACTOREN DIE GENEZING BEINVLOEDEN

Allereerst dient er gedefinieerd te worden wat er onder genezing verstaan wordt. Zo kan men twee soorten genezing onderscheiden: klinische genezing en bacteriologische genezing. Bij klinische genezing vertoont de koe geen symptomen meer: de uier is terug slap en heeft een normale temperatuur, de melk heeft een normaal uitzicht en er zijn geen systemische symptomen. Bij bacteriologische genezing echter vertoont de melk geen groei van pathogene bacteriën bij een bacteriologisch onderzoek (Sérieys et al., 2005; Erskine et al., 2003). Het is niet omdat er een klinische genezing is dat er ook een bacteriologische genezing is.

4.1 BACTERIEFACTOREN

4.1.1 Antibioticaresistentie

Antibioticaresistentie is een hot item waar in de toekomst steeds meer rekening zal moeten mee gehouden worden. Bij klinische mastitis kan men niet altijd wachten op het resultaat van een antibiogram. Maar men kan wel de behandeling baseren op de gevoeligheid van bacterie-isolaten van vorige gevallen van mastitis op het bedrijf. Men moet dan bij elk geval van klinische en subklinische mastitis wel een melkstaal nemen voor bacteriologisch onderzoek en een antibiogram laten aanleggen (Barkema et al., 2006). *In vitro* gevoeligheid is echter niet hetzelfde al *in vivo* gevoeligheid. Zo kunnen sommige antibiotica de immuniteit van de uier verminderen en is het mogelijk dat een antibioticum onevenredig diffundeert in het geïnfecteerde weefsel (Constable en Morin, 2003). Owens et al. (1997) toonden aan dat een *in vitro* gevoeligheid van een *Staphylococcus aureus* isolaat een indicatie kan geven voor de *in vivo* gevoeligheid van een infectie die minder dan 2 weken aanwezig is, maar niet voor een chronische infectie van meer dan 4 weken. Barkema et al. (2006) merkte ook op dat wanneer een *S. aureus* stam resistent is tegen penicilline, ook andere antibiotica die niet tot de

β -lactamgroep behoren een mindere efficiëntie vertonen. Infecties met deze stammen zijn dus ook moeilijker te genezen. Het is dus nuttig om te weten wat de gevoeligheid is van de bacteriën die op een melkveebedrijf circuleren. Zo kan er op basis van verschillende antibiogrammen een bedrijfsprofiel opgemaakt worden van de gevoeligheid van koegebonden kiemen zoals *S. aureus* waar men bij de behandeling van een volgend geval van mastitis rekening mee kan houden. Voor omgevingsgebonden kiemen heeft dit minder zin omdat het vaak om andere bacteriestammen gaat en het resistentiepatroon vaak van stam tot stam varieert (Constable en Morin, 2003).

4.1.2 Soort mastitisverwekker

Een uierinfectie met *Staphylococcus aureus* is een infectie die in de praktijk moeilijk te genezen is (Bradley en Green, 2009). Er wordt maar in 30 tot 60% van de gevallen klinische genezing bekomen en zelden een volledige bacteriologische genezing tijdens de lactatie. Bij een droogstandsbehandeling met antibiotica wordt ook slechts in 25 tot 75% van de gevallen bacteriologische genezing verkregen (Quinn et al., 2007). Dit komt door virulentiefactoren die de kiem bevat. Zo wordt *S. aureus* moeilijk gefagocyteerd door een kapsel rondom de bacterie en kan ze bovendien overleven in neutrofiele granulocyten door de productie van catalase dat de bacterie beschermt tegen de oxidatieve stoffen gevormd door de neutrofiele granulocyt (Mullarky et al., 2000; Quinn et al., 2007). *S. aureus* kan zich schuilhouden in kleine microabcessen en in de epitheelcellen van de melkklier zelf, beschermd tegen de afweer van de koe en tegen de antibiotica die worden toegediend. *Staphylococcus aureus* kan ook toxines vormen die de afweer van de uier ondermijnen (Erskine et al., 2003; Gruet et al., 2001; Quinn et al., 2007). Veel *S. aureus*-stammen vormen β -lactamase en zijn zo resistent tegen verschillende β -lactam-antibiotica (Bengtsson et al., 2009; Capurro et al., 2010). In 2009 vonden Bengtsson et al. bij 7,2% van *Staphylococcus aureus*-stammen die mastitis veroorzaakten het enzyme β -lactamase terug. Capurro et al. (2010) vonden het bij 9% van de *S. aureus*-stammen terug. Bij *S. aureus* is er ook een virulentieverschil tussen de verschillende stammen. Smith et al. (2005) beschreven dat stammen die wereldwijd een uierinfectie veroorzaken meestal tot dezelfde stammen behoren, het clonal complex 97. Er wordt aangenomen dat deze stammen over meer virulentiefactoren beschikken dan andere stammen. Op die manier zijn ze meer aan de gastheer en de uier aangepast en kunnen ze zo sneller spreiden en zijn ze minder gevoelig voor ingestelde behandelingen.

De resultaten van een antibioticumbehandeling bij klinische mastitis door *Mycoplasma* spp. zijn teleurstellend. Dit komt doordat de bacteriespecies ten eerste geen celwand bevat, waardoor zij een natuurlijke resistentie bezitten ten opzichte van β -lactam antibiotica (Fox, 2012). De bacterie kan zich schuilhouden in lymfocyten en erythrocyten en zich zo afschermen voor antibiotica en het immuunsysteem van de gastheer net zoals *Staphylococcus aureus*. Daarenboven kan de bacterie ook haar oppervlakteproteïnen wijzigen en immunomodulerende stoffen uitscheiden zodat het immuunsysteem van de gastheer moeite heeft om de infectie onder controle te krijgen (Razin en Haylflick, 2010; Fox, 2012).

Een uierinfectie met *Klebsiella* spp. zorgt meestal voor een klinische mastitis met een sterke immunologische reactie en erge klinische symptomen, maar kan soms ook subklinische mastitis veroorzaken. Ook mastitis veroorzaakt door *Klebsiella* spp. is moeilijk te behandelen (Schukken et al., 2012).

Tussen verschillende bacteriesoorten kan er ook een interactie zijn. Zo zou een infectie van coagulase-negatieve staphylococci in een uierkwartier er voor zorgen dat dit uierkwartier minder gemakkelijk geïnfecteerd geraakt met andere koegebonden major pathogene kiemen (Quinn et al., 2007). Reyher et al. (2012) vonden echter net het tegenovergestelde: zij stelden vast dat een infectie met coagulase-negatieve staphylococci een risicofactor was voor een infectie met *Staphylococcus aureus*. Een infectie met *Corynebacterium bovis* zou de uier kunnen beschermen tegen een infectie met *S. aureus*, maar er wordt geen bescherming gezien tegen streptokokken (Quinn et al., 2007).

4.2 KOEGERELATEERDE FACTOREN

4.2.1 Immunitetsstatus

Het immuunsysteem is natuurlijk van uiterst belang bij het bestrijden van een uierinfectie. Het is niet enkel van belang wanneer men behandelt met bacteriostatische antibiotica, maar ook bij een behandeling met bactericide antibiotica. Deze antibiotica zijn ook minder effectief als het immuunsysteem van de koe gecompromitteerd is (Craven, 1987).

De negatieve energiebalans die bij melkkoeien in het begin van de lactatie vaak voorkomt kan de immuniteit van de koe beïnvloeden. Deze negatieve energiebalans kan leiden tot verhoogde hoeveelheden β -hydroxyboterzuur en onverzadigde vetzuren in het lichaam. Deze zorgen voor een verminderde leukocytenactiviteit (Heinrichs et al., 2009; Huszenicza et al., 2004). Huszenicza et al. (2004) beschreven dat wanneer koeien de eerste 3 dagen van de lactatie een verhoogde β -hydroxyboterzuur-bloedspiegel hebben zij de volgende 4 weken gepredisposeerd zijn voor mastitis veroorzaakt door Gram-negatieve kiemen.

Verschillende vitamines en sporenelementen hebben ook een invloed op de immuniteit van de koe. Zo zagen Smith et al. (1984) bij supplementatie van zowel vitamine E als selenium een verhoogde activiteit van de fagocytotische cellen. Ceballos-Marquez et al. (2010) vonden dat selenium supplementatie bij vaarzen een gunstig effect had op de activiteit van glutathione-peroxidase in het bloed. Wanneer men vitamine E en selenium supplementeert aan koeien in de droogstand, dan kan men in de volgende lactatie het aantal klinische gevallen van mastitis doen dalen, maar ook de periode van klinische symptomen kan men zo verkorten: er trad dus een snellere klinische genezing op (Smith et al., 1984). Ook Spears en Weiss (2008) beschrijven minder erge symptomen bij een *E. coli*-mastitis bij koeien die meer selenium toegediend kregen. Koeien die deficiënt zijn aan selenium krijgen een hoger aantal bacteriën in de melk bij een *Staphylococcus aureus*-mastitis, maar de ergheid en de duur van de symptomen worden bij een *S. aureus*-mastitis niet beïnvloed door selenium

(Spears en Weiss, 2008). Zeker varzen die gevoed worden met silagevoeder kunnen een tekort hebben aan vitamine E en selenium (Heinrichs et al., 2009). Koper zou als co-enzyme van superoxide-dismutase de symptomen van een klinische mastitis verminderen, vooral wanneer die mastitis veroorzaakt wordt door *Escherichia coli* (Heinrichs et al., 2009; Scaletti et al., 2003).

4.2.2 Andere

Een hogere pariteit geeft een lagere kans op genezing bij *Staphylococcus aureus* (Taponen et al., 2003b, Sol et al., 1997; Osteras et al., 1999). Oudere koeien zijn ook gevoeliger voor een infectie in de uier en deze infectie uit zich bij oudere koeien ook sneller klinisch (Barkema et al., 1998; Zadoks et al., 2001). Wanneer de koeien een hoger celgetal hebben of wanneer er meer kolonievormende eenheden in een melkstaal worden gevonden, dan is de kans op bacteriologische genezing lager (Osteras et al., 1999; Dingwell et al., 2003; Bradley en Green, 2009; Swinkels et al., 2013a). Een uierkwartier dat voorheen al een uierontsteking heeft ondergaan, zal ook moeilijker genezen dan een uierkwartier met een nieuwe infectie met *S. uberis* (Zadoks et al., 2001). Het is ook zo dat wanneer een uierkwartier voorheen al geïnfecteerd was met *S. uberis* of *S. aureus*, het uierkwartier een hogere kans heeft om opnieuw geïnfecteerd te geraken met desbetreffende kiemen (Zadoks et al., 2001). Een uierkwartier dat chronische weefselveranderingen heeft ondergaan heeft een kleinere kans op bacteriële genezing na een droogstandsbehandeling met antibiotica en een hogere kans op een nieuwe klinische mastitis in het begin van de volgende lactatie (Gundelach et al., 2011).

4.3 MANAGEMENTGERELATEERDE FACTOREN

De kans op genezing hangt ook af van hoe snel men de behandeling start, en dus ook van hoe snel men de diagnose kan stellen. Wanneer men pas de diagnose van mastitis kan stellen als men vlokken in de melk ziet, heeft men minder kans op genezing dan wanneer men een wijziging ziet in de elektrische geleidbaarheid van de melk die gemeten kan worden door de melkmachine (Milner et al., 1997; Hillerton en Semmens, 1999). Wanneer de diagnose snel werd gesteld en dus de behandeling ook sneller werd gestart was het somatisch celgetal minder sterk gestegen en de melkproductie minder sterk gedaald. Uiteindelijk vonden Milner et al. (1997) dat zowel de klinische als de bacteriologische genezing beter was bij de detectie van mastitis via elektrische geleidbaarheid, en dus de vroege methode dan bij de traditionele detectiemethode via de vlokken in de melk. Van den Borne et al. (2011) spreken zelfs van koeien met een verhoogd celgetal te behandelen voor zij een klinische mastitis ontwikkelen, aangezien zij een hoge kans hebben om een klinische mastitis te gaan ontwikkelen.

Wanneer meerdere melkstalen voorheen positief waren voor *S. aureus*, dus wanneer de infectie al enige tijd aanwezig is, dan is de kans op genezing kleiner (Dingwell et al., 2003; Erskine et al., 2003). Door de chronische ontsteking is er een dan een sterke fibrosering van het uierparenchym opgetreden (Erskine et al., 2003). Wanneer er een recente infectie was (minder dan 2 weken aanwezig) met *S. aureus*, dan bekwamen Owens et al. (1997) een bacteriële genezing van 70%. Wanneer de infectie

eerder chronisch was (meer dan 4 weken aanwezig), dan behaalden zij maar bij 35% van de gevallen een bacteriële genezing.

Tabel 7: Effect van vroege en conventionele behandeling op de melkproductie en op het somatisch celgetal in de aangetaste uierkwartieren.

Kiem en type behandeling	Gemiddelde dagelijkse melkproductie (kg)			Gemiddelde SCC ¹ (x10 ³ /ml)		
	Voor infectie	Bij behandeling	14d na behandeling	Voor infectie	Bij behandeling	14d na behandeling
<i>Streptococcus uberis</i>						
Vroeg ²	21,9	16,2	21,8	48	2072	198
Conventioneel ³	20,4	14,6	19,5	55	>11 964 ⁴	392
<i>Staphylococcus aureus</i>						
Vroeg	16,4	15,0	16,2	88	2059	125
Conventioneel	15,8	14,4	15,1	83	4278	238

¹ SCC: somatisch celgetal

² Vroeg: behandeling bij verhoogde geleidbaarheid in de melk

³ Conventioneel: behandeling bij klinische symptomen van mastitis: abnormaal uitzicht melk of harde, warme uier

⁴ 4 kwartieren hadden een SCC hoger dan 20 000 000/ml en waren onmogelijk juist te bepalen

(Milner et al., 1997)

De koeien goed uitmelken heeft een positief effect op de genezingskans. Wanneer men een uierkwartier met een acute katarrhale mastitis om de twee uren volledig uitmelkt zou dit volgens Craven (1987) even effectief zijn als een antibioticumbehandeling samen met tweemaal daags melken. Frequent tussendoor leegmelken van het aangetaste uierkwartier is echter zeer arbeidsintensief en dus op een modern melkveebedrijf vaak praktisch moeilijk uitvoerbaar (Suojala et al., 2013).

Hygiëne heeft ook een invloed op mastitis bij melkkoeien, zeker op mastitis veroorzaakt door omgevingsgebonden kiemen. Wanneer de hygiënische toestand van de omgeving van de koeien ten wenssen overlaat, dan hebben zij meer kans op een mastitis (Barkema et al., 1999). In dergelijke toestanden kan het dus zijn dat het bij een koe met verschillende episodes van klinische mastitis niet

steeds om dezelfde kiem gaat die niet volledig verdwenen is, maar dat het telkens om een nieuwe infectie uit de omgeving gaat.

4.4 BEHANDELINGSGERELATEERDE FACTOREN

Wanneer men een klinische mastitis gaat behandelen moet men enkele dingen in beschouwing nemen. Zo dient een antibioticum te worden gebruikt met een doeltreffend spectrum en waarmee voldoende hoge concentraties in de geïnfecteerde uier kunnen worden bekomen. Er dient ook voldoende lang te worden behandeld (Constable en Morin, 2003).

4.4.1 Keuze van het antibioticum

De keuze van het antibioticum heeft een grote invloed op de genezing. De keuze is afhankelijk van de bacterie die aan de basis van de mastitis ligt. Daarbij moet men ook een antibioticum gebruiken dat hoge concentraties bekomt in de uier, zeker bij een systemische behandeling van een mastitis veroorzaakt door Gram-positieve bacteriën moet men dit in acht nemen. Bij een mastitis veroorzaakt door Gram-negatieve bacteriën is er vaak sprake van een bacteriemie en is het belangrijk om langdurig hoge spiegels antibiotica in het bloed te behouden (Roberson, 2001; Suojala et al., 2013). Om in de uier te geraken moet men bij een parenterale toediening via diffusie doorheen de bloed-uierbarrière geraken. Hiervoor heeft men behoefte aan antibiotica die niet geïoniseerd, lipofiel, niet gebonden aan proteïnen in het bloed en klein zijn (Kietzmann en Bäumer, 2008). Zwakke zuren zoals benzylpenicilline en cefquinome hebben in het bloed een hogere ionisatiegraad en zijn dus minder geschikt dan zwakke basen zoals de macroliden en penethamaat hydroiodide (dat een pro-drug is van benzylpenicilline) die een veel lagere ionisatiegraad hebben en bovendien hoge concentraties in de uier blijven aanhouden via het "ion-trapping" effect. Deze zure antibiotica zijn echter wel geschikt voor een systemische behandeling van een Gram-negatieve mastitis, aangezien zij door hun zuur karakter lange tijd in het bloed blijven. Amfotere stoffen zoals fluoroquinolones vertonen ook een grote passage doorheen de bloed-uierbarrière (Kietzmann en Bäumer, 2008). Daarbij komt dat macroliden, fluoroquinolones en penethamaat hydroiodide door hun lipofiliteit vlot door de epithelia kunnen diffunderen (Sérieys et al., 2005). Hierdoor kan men hoge spiegels in de uier bekomen na een systemische behandeling (Sérieys et al., 2005). Overigens kunnen penethamaat hydroiodide en macroliden intracellulair gaan. Zo kunnen ze eventuele bacteriën die intracellulair kunnen gaan (zoals bijvoorbeeld *Staphylococcus aureus*) ook daar afdoden (Maurin en Raoult, 1997; Almeida et al. 2007; Krasniqi et al., 2012). Sulfonamiden, penicillines, aminoglycosiden en eerste generatie cefalosporines geraken echter onvoldoende in het uierweefsel na systemische toediening (Erskine et al., 2003). Maar bij een inflammatoire reactie van de uier is er een betere doorbloeding van de uier, dus een betere aanvoer van het antibioticum. Samen met een verhoogde permeabiliteit van de bloed-uierbarrière kan het geneesmiddel dan wel gemakkelijker in het uierweefsel doordringen (Kietzmann en Bäumer, 2008). Bij chronische mastitiden daarentegen is er vaak verlittekening met bindweefselwoekering die de bacterie van het geneesmiddel kan afscheiden, zowel via parenterale als lokale toediening. Bij een chronische mastitis is een behandeling dus minder aangewezen en kan men er beter over denken om het dier op te ruimen (Kietzmann en Bäumer, 2008).

Bij een lokale intramammaire toediening van een antibioticum moet de werkzame stof verder de uier binnendringen om niet met de volgende melkbeurt terug verwijderd te worden en om aldaar de bacteriën aan te vallen. Hierdoor moeten de lipofiele membranen gepasseerd worden (Kietzmann en Bäumer, 2008). Voor preparaten die tijdens de lactatie gebruikt worden is het belangrijk dat de antibiotica snel worden vrijgesteld uit de formulatie en snel in de weefsels diffunderen, want anders wordt het grootste deel van de medicatie bij de volgende melkbeurt met de melk verwijderd. Bij droogzetpreparaten is het daarentegen wenselijk dat de actieve stoffen traag en gelijkmatig worden vrijgezet over een langere periode. Een proteïnebinding van het antibiotica in het uiersecret en in het uierweefsel kan hiervoor zorgen (Kietzmann en Bäumer, 2008).

De formulatie van het antibioticum heeft ook een invloed op de werking ervan. Wanneer een antibioticum als vrije vorm voorkomt dan vertoont het na toediening een hoge piekconcentratie, maar daarna ook een snelle daling in concentratie. Wanneer de actieve stof echter als een ester of als een zuur wordt toegediend dan wordt in het lichaam de actieve vorm van het antibioticum geleidelijk aan afgegeven en wordt er geen hoge piekconcentratie gezien maar een lang stabiele weliswaar lagere concentratie. Een vrije vorm heeft dus een korte werking, waar een ester of een zuur een langdurige werking vertoont (Kietzmann en Bäumer, 2008).

Melk kan echter ook een invloed hebben op de werking van de antibiotica. Zo vonden Fang en Pyörälä (1996) dat de werking van tetracyclines, sulfadoxine-trimethoprim en gentamicine in melk afnam. De combinatie sulfadoxine-trimethoprim en gentamicine waren echter wel actiever in mastitismelk dan in gewone melk. Calcium interfereert normaal met de werking van fluoroquinolones, maar de activiteit van fluoroquinolones in melk is niet significant lager (Suojala et al., 2013; Fang en Pyörälä, 1996).

Sommige antibiotica kunnen synergistisch werken wanneer zij samen worden toegediend voor de behandeling van klinische mastitis. Zo beschreven Barkema et al. (2006) een synergistische werking tussen penicilline en neomycine voor de behandeling van *Staphylococcus aureus* mastitis. Deze synergistische werking werd meer gezien bij β -lactamase-positieve stammen dan bij β -lactamase-negatieve stammen. Taponen et al. (2003a) vonden echter geen significant verschil tussen een intramammaire behandeling met penicilline samen met neomycine en een intramammaire behandeling met enkel penicilline voor penicilline-gevoelige Gram-positieve bacteriën. Ganière en Denuault (2009) toonden een synergistische werking aan tussen het 1^{ste} generatie cefalosporine cefalexine en het aminoglycoside kanamycine voor *S. aureus*, *Streptococcus uberis* en *Escherichia coli*.

Bij de behandeling van *Escherichia coli* moet toch even een opmerking gemaakt worden. Meer en meer wordt luidop de vraag gesteld of er een antibioticumbehandeling nodig is voor een *E. coli*-mastitis (Roberson, 2012). Bij een *E. coli*-mastitis wordt de meeste schade teweeggebracht door de endotoxines die worden vrijgesteld door de bacterie, dus niet door de bacterie zelf. Men zou dan ook verwachten dat men voor de behandeling van de mastitis de effecten van de endotoxines vooral moet gaan inperken. Langs de andere kant is het zo dat wanneer het aantal bacteriën vermindert ook de hoeveelheid endotoxines zal dalen (Suojala et al., 2013). Zo werd er geen verschil gezien in de

genezingskans wanneer men milde tot matige gevallen van *E. coli*-mastitis behandelde met cefapirine of amoxicilline of wanneer men deze niet behandelde (Roberson, 2012). Ook Craven (1987) beschrijft bij infecties met coliformen een hoog percentage dieren die uit zichzelf, dus zonder antibioticumbehandeling, een bacteriologische genezing teweegbrengt. Suojala et al. (2013) beschrijven echter wel een snellere bacteriële genezing bij een systemische behandeling met enrofloxacin in vergelijking met geen behandeling. Schukken et al. (2011) vonden zelfs een significant hoger bacteriële en klinische genezing wanneer koeien met een milde Gram-negatieve klinische uierontsteking met ceftiofur behandeld werden in vergelijking met geen behandeling. Let wel: ernstige gevallen van *E. coli*-mastitis vergen zeker en vast een therapie, het beste gebruikt men hier zowel een systemische als een lokale intramammaire antibioticatherapie om een eventuele endotoxemie of bacteriëmie mee te behandelen (Roberson, 2012). Erskine et al. (2003) stelden voor om bij een ernstige klinische mastitis met systemische symptomen naast een systemische breed-spectrum antibioticatherapie en shocktherapie intramammair een antibioticum te gebruiken met een Gram-positief spectrum, onafhankelijk van de resultaten van het bacteriologisch onderzoek. Dit om een Gram-positieve infectie in de uier te verhinderen.

4.4.2 Behandelingsduur

Langere behandelingen verhogen de kans op volledige genezing. Een klinische mastitis veroorzaakt door *Staphylococcus aureus* die 48u langer behandeld wordt dan een behandeling van 36u heeft 2,3 keer meer kans op bacteriologische genezing indien de *S. aureus*-stam β -lactamase negatief is (Sol et al., 2000). Bij een langere behandeling van β -lactamase positieve *S. aureus* stammen zagen Sol et al. (2000) geen stijging van het genezingspercentage. Pyörälä en Pyörälä (1998) zagen bij een behandeling van 5 dagen van *S. aureus*-mastitis 42% genezing terwijl er bij eenzelfde behandeling van 3 tot 4 dagen maar 29% genezing werd gezien. Het verschil in percentage genezing was echter niet significant. Oliver et al. (2004) zagen ook een gunstig effect van een langere therapie bij de behandeling van mastitis veroorzaakt door *Streptococcus uberis*. De koeien die zij behandelden hadden meer kans op bacteriële genezing wanneer zij 5 dagen werden behandeld in plaats van 2 dagen en nog meer kans als zij 8 dagen behandeld werden. Milne et al. (2005) bevestigden het gunstig effect van een langere behandeling op *Streptococcus uberis*. Swinkels et al. (2013b) zagen een vermindering van 8% op uierkwartierniveau en van 9% op koeniveau van het aantal recidieven na een langere behandelingsduur van klinische mastitis veroorzaakt door omgevingskiemen.

Nadelen van een langere behandelingsduur zijn echter de kostprijs van de antibiotica, melkverlies door antibioticaresiduen en een hogere kans op een iatrogene infectie door herhaalde intramammaire behandeling via het tepelkanaal. Zo is er een stijgende infectiekans voor *Escherichia coli* en *Klebsiella spp* bij een stijgende intramammaire behandelingsduur met antibiotica (Barkema et al., 2006).

In tegenstelling tot voorgaande auteurs raden Swinkels et al. (2013a) een langere behandeling van *S. aureus*-mastitis af. Zij vonden geen significant verschil in bacteriële genezing vergeleken met een standaardbehandeling van 1,5 dagen. Het percentage klinische genezing lag echter wel hoger bij de langere behandeling dan bij de standaardbehandeling.

4.4.3 Toedieningswijze van het antibioticum

De toedieningswijze heeft ook een impact op de genezingskansen, maar hier is echter nog geen eenduidige mening over. Zo zou het zijn dat een systemische behandeling meer succes heeft dan enkel een lokale intramammaire behandeling met een antibioticum volgens Barkema et al. (2006). Zeker bij een acute klinische mastitis zou een systemische behandeling meer succes hebben dan een intramammaire omdat door de inflammatie sommige afvoerkanalen van melkklier kunnen dicht zitten. Bijgevolg kan het antibioticum moeilijker in de uier verspreiden (Quinn et al., 2007). Bij zulke gevallen zijn dikwijls ook endotoxinen en soms zelfs bacteriën terug te vinden in de bloedstroom die men enkel via de systemische weg met antibiotica kan bereiken (Roberson, 2012). Zo bevestigden ook Erskine et al. (2002) dat wanneer koeien met ernstige acute mastitis intramusculair werden behandeld met ceftiofur, zij minder kans hadden om te sterven of om opgeruimd te worden. Bij een systemische behandeling behandelt men meerdere kwartieren tegelijk. Dus wanneer er bij een klinische mastitis in een uierkwartier de andere uierkwartieren subklinisch geïnfecteerd zijn, dan worden deze bij een systemische behandeling mee behandeld op voorwaarde dat er met producten wordt gewerkt die een goede distributie naar de uier kennen (Sérieys et al., 2005). Sérieys et al. (2005) vonden ook dat de bacteriologische genezing bij systemische behandeling 8,4% hoger lag dan bij de intramammaire behandeling van klinische mastitis. Dit verschil was wel niet significant en bij de systemische behandeling werden andere antibiotica gebruikt dan bij de intramammaire behandeling. Bij de systemische behandeling met penethamaat daalde het celgetal bij relatief meer koeien onder de 250 000 cellen/ml dan bij de intramammaire behandeling met ampicilline/cloxacilline (Sérieys et al., 2005). Hillerton en Kliem (2002) zagen echter bij een experimentele infectie van de uier met *Streptococcus uberis* een beter klinisch resultaat met een agressieve intramammaire behandeling dan met een parenterale behandeling. Bij een intramammaire toediening van een antibioticum kan men lokaal in de uier hogere concentraties verkrijgen. Zo kan men met een kleinere dosis een langere activiteit verkrijgen (Gruet et al., 2001). Gruet et al. (2001) en Steeneveld et al. (2011) beschrijven een betere genezingskans wanneer men zowel intramammair als parenteraal een antibioticum toedient. Ook Hillerton en Kliem (2002) zien een hoger percentage klinisch genezen koeien na 3 dagen intramammair plus parenteraal behandelen in vergelijking met enkel intramammair of enkel parenteraal behandelen.

4.4.4 Ontstekingsremmers

Bij de behandeling van mastitis kan men samen met het antibioticum een non-steroïdale ontstekingsremmer (NSAID) gebruiken. Niet alle auteurs zien een positieve bijdrage van een NSAID op de genezingskans. Ontstekingsremmers zijn echter wel gewenst bij de therapie van klinische mastitis zodat de koe zich comfortabeler voelt (Erskine et al., 2003; Suojala et al., 2013). Mcdougall et al. (2009) zagen dat wanneer zij bij koeien met een milde klinische mastitis naast het antibioticum ook de ontstekingsremmer meloxicam intramusculair toedienden, de koeien na de behandeling een lager somatisch celgetal hadden en dat er minder koeien werden opgeruimd. Corticosteroïden kunnen ook voor een sterke anti-inflammatoire reactie zorgen. Sipka et al. (2013) vonden een significant betere

genezing van een klinische mastitis na een experimentele toediening van *E. coli* wanneer zij zowel cefapirine als prednisolone toedienden.

4.4.5 Lactoferrine

Lactoferrine is een natuurlijke molecule die door de koe in de uier kan worden aangemaakt (Kai et al., 2002; Lacasse et al., 2008). Lactoferrine bindt vrij ijzer zodat dit niet meer beschikbaar is voor bacteriën om te groeien. Het oefent zo dus een bacteriostatische activiteit uit, maar het heeft ook een bactericide activiteit doordat het bindt aan bacteriële componenten zoals lipopolysaccharide, porines in de celmembraan en aan DNA waardoor het metabolisme van de bacterie stil valt. (Komine et al., 2006; Lacasse et al., 2008). Lactoferrine heeft daarenboven ook nog een anti-inflammatoire en immunomodulerende werking. Lactoferrine doet de fagocytotische en afdodende activiteit van neutrofiele granulocyten toenemen, maar zorgt er ook voor dat lipopolysaccharide-moleculen van bacteriën niet aan neutrofiele granulocyten kunnen binden waardoor er geen massale uitstoot is van zuurstofradicalen en er minder collaterale schade is aan het uierweefsel (Lacasse et al., 2008). Omwille van deze eigenschappen zou het interessant kunnen zijn om bovine lactoferrine toe te dienen in de behandeling van mastitis. Kai et al. (2002) behandelden droogstaande koeien met een stafylokokkenmastitis (het specifieke species werd niet gedefinieerd in de publicatie) met lactoferrine en zagen een sterkere daling van het aantal infecties ten opzichte van de koeien die enkel antibiotica toegediend kregen. In de uierkwartieren behandeld met lactoferrine steeg echter wel het celgetal, dit werd echter ook waargenomen bij gezonde uierkwartieren die lactoferrine toegediend kregen (Kai et al., 2002). Komine et al. (2006) behandelden ook koeien met een *Staphylococcus aureus*-mastitis in de droogstand en vonden vergelijkbare klinische genezingspercentages van slechts 50 tot 55% wanneer zij behandeld werden met antibiotica of met lactoferrine. Ook Diarra et al. (2002) vonden een lage inhibitorische activiteit tegen *S. aureus* van lactoferrine op zich. Komine et al. (2006) vonden wel een veel hoger klinische genezingspercentage (ongeveer 81%) wanneer de *S. aureus*-mastitis met zowel antibiotica als lactoferrine werd behandeld. Daarbij komt dat ook het somatisch celgetal 7 dagen na het afkalven bij een combinatiebehandeling ongeveer 5x lager was dan bij een behandeling met antibiotica of lactoferrine. Ook Diarra et al. (2002) merkten op dat lactoferrine de MIC-waarde van penicilline voor *S. aureus*-stammen 2 tot 4 maal verlaagde. Lactoferrine verhoogde ook het postantibiotisch effect van penicilline op deze stammen. Wanneer lactoferrine samen met penicilline werd toegediend aan een penicilline-resistente *S. aureus*-stam, dan konden vergelijkbare effecten op de morfologie van de bacteriën gevonden worden als penicilline op penicilline-gevoelige *S. aureus*-stammen (Diarra et al., 2002). Petitclerc et al. (2007) vonden een significant lager aantal bacteriën in de melk 2 dagen na de laatste behandeling met penicilline en lactoferrine van een experimenteel geïnduceerde klinische uierontsteking met een penicilline-resistente *S. aureus*-stam in vergelijking met enkel penicilline of lactoferrine. Ook de bacteriële genezing voor deze resistente kiemen na de combinatietherapie was met 45,5% meer dan het viervoud van de bacteriële genezing na een behandeling met enkel penicilline, waar slechts 9,1% bacterieel genezen werd verklaard (Petitclerc et al., 2007). Lactoferrine inhibeert de productie van β -lactamase bij *S. aureus* en zorgt zo dat deze bacteriën terug gevoelig worden voor β -lactam antibiotica (Diarra et al., 2003). Blijkbaar is lactoferrine

op zich dus niet echt geschikt voor de behandeling van klinische mastitis, maar in combinatie met antibiotica kan het wel een meerwaarde bieden op basis van de aangehaalde literatuur.

4.4.6 Homeopathie

Een alternatief voor de klassieke antimicrobiële middelen bij de behandeling van klinische mastitis is het gebruik van homeopathische geneesmiddelen. In het Verenigd Koninkrijk en in Duitsland wordt al bijna de helft van de klinische mastitiden behandeld met homeopathische middelen (Werner et al., 2010). De werkzaamheid van een homeopathische behandeling wordt echter vaak in twijfel getrokken (Hektoen et al., 2004). Werner et al. (2010) merkten op dat koeien met een milde tot matige mastitis behandeld met een homeopathisch middel wel een beter klinische genezing vertoonden ten opzichte van de negatieve controle, maar de beste klinische genezing werd echter gezien bij de koeien die behandeld werden met antibiotica. De bacteriële genezing bij de koeien behandeld met het homeopathisch middel was echter niet hoger dan de negatieve controle. Hektoen et al. (2004) vonden ook geen significant verschil in klinische genezing tussen koeien met mastitis die homeopathisch behandeld werden en die met een placebo behandeld werden, maar zij vonden echter ook geen significant verschil tussen de koeien behandeld met antibiotica en de homeopathisch behandelde koeien. Zij vonden bij de met antibiotica behandelde groep koeien wel significant minder koeien die niet reageerden op de behandeling (10%) dan bij de homeopathisch behandelde groep (33,3%).

4.4.7 Iatrogene superinfecties

Intramammair toedienen van antibiotica dient zo steriel mogelijk te worden gedaan. Bij een niet-steriele toedieningswijze kunnen immers andere bacteriën mee in de uier worden geïnoculeerd. Bacteriën zoals *Nocardia* spp., *Pseudomonas aeruginosa* en gisten als *Candida* spp. kunnen zo een superinfectie bovenop de primaire infectie veroorzaken met vaak ergere symptomen als gevolg omdat deze bacteriën vaak multiresistent zijn en gisten niet gevoelig zijn aan antibiotica (Erskine et al., 2003).

BESPREKING

Mastitis is nog steeds economisch een belangrijke ziekte in de melkveehouderij. In veel gevallen zijn de hedendaagse behandelingen nog ondermaats. De factoren die invloed hebben op de genezingskans zijn onder te verdelen in 3 categorieën: bacteriegerelateerde factoren, gastheergerelateerde factoren en behandelingsgerelateerde factoren.

De bacteriegerelateerde factoren die invloed hebben op de genezing van klinische mastitis tonen het toenemend belang van een bacteriologisch onderzoek aan. De mastitisverwekker die aan de basis ligt van de ontsteking heeft ten eerste al een implicatie op de behandeling. Een Gram-negatieve bacterie vereist namelijk een antibioticum met ten minste een Gram-negatief spectrum en een Gram-positieve bacterie vraagt een antibioticum met ten minste een Gram-positief spectrum. Daarbij komt dat sommige bacteriespecies zoals *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella spp.* en *Mycoplasma spp.* een lage kans hebben op genezing. Wanneer deze kiemen aan de basis van de uierontsteking liggen is het soms zelfs beter om de koe onmiddellijk op te ruimen dan nog in een behandeling te investeren. Het is natuurlijk zo dat een bacteriologisch onderzoek van de melk enige tijd vraagt en dat er vaak in afwachting van de resultaten al een behandeling is ingesteld. De wachttijden van de geneesmiddelen maken daardoor een onmiddellijke opruiming vaak onmogelijk. De soort mastitisverwekker bepaalt ook mee of er enkel lokaal dan wel bij voorkeur ook systemisch dient te worden behandeld. Coliforme bacteriën hebben een systemische invloed op het lichaam van de koe en moeten dus best ook systemisch behandeld worden met een zuur antibioticum. De bacterie is vaak al uit de uier verdwenen wanneer de behandeling wordt ingezet, maar men moet de koe ondersteunen voor een eventuele bacteriemie die kan optreden. Ook *Mycoplasma spp.* kunnen een systemische invloed hebben. Andere bacteriën zoals *Staphylococcus aureus*, streptokokken en coagulase-negatieve stafylokokken zorgen enkel voor een lokale infectie in de uier. Hierbij kan een lokale behandeling eventueel voldoen. *Staphylococcus aureus* geeft echter vaak ook chronische uierinfecties waarbij zij de neiging hebben om zich in te kapselen in het uierweefsel en zijn dan via lokale therapie moeilijk te bereiken. Hierbij kan een parenterale behandeling met macroliden of penethamaat, die een goede distributie naar de uier hebben, meer succes hebben. De soort mastitisverwekker heeft ook een invloed op de aanpak ter preventie van nieuwe mastitisgevallen. Wanneer de uier van een koe geïnfecteerd is met een koegebonden kiem zoals *Staphylococcus aureus*, dan is het belangrijk om deze koe apart te houden van de andere koeien en aandacht te besteden aan de hygiëne bij het melken zodat de infectie niet overgedragen wordt naar andere koeien. Bij een mastitis veroorzaakt door een omgevingsgebonden kiem zoals *Streptococcus uberis* is dit van minder belang, maar kan het erg nuttig zijn om de omgeving van de koeien kritisch te beoordelen en te kijken waar de koeien zich in de omgeving kunnen infecteren. Een ander voordeel van een bacteriologisch onderzoek is dat er nadien een antibiogram kan opgesteld worden. Door de toenemende problematiek van antibioticaresistentie wordt daarom een bacteriologisch onderzoek met antibiogram wel belangrijker. Merk wel op dat *in vivo* en *in vitro* gevoeligheid van een bacterie niet altijd overeenkomen. Zeker bij een chronische infectie waar het geïnfecteerde weefsel al chronische veranderingen heeft ondergaan kan het zijn dat de behandeling niet aanslaat ongeacht de bacterie *in vitro* volledig gevoelig was aan het antibioticum.

De immuniteitsstatus van de koe heeft ook een invloed op de genezingskansen van klinische mastitis. Het is belangrijk om dit op peil te houden. Zowel de negatieve energiebalans in de transitieperiode van droogstand naar lactatie als de gehalten aan vitamines en sporenelementen hebben bij melkkoeien een invloed op de immuniteit. Een rantsoen dat zowel in de droogstand als in het begin van de lactatie op punt staat is belangrijk om de negatieve energiebalans zowel in sterkte als in tijd te beperken. Het rantsoen kan zo dus bijdragen aan een goede uiergezondheid op het melkveebedrijf. Vitamine E en selenium zijn sterk betrokken bij de immuniteit van de koe en eventuele tekorten kunnen dus gevolgen hebben op de genezing van een klinische mastitis. Andere koegerelateerde factoren die invloed hebben op de genezingskans bij een klinische mastitis zijn: ouderdom van de koe, het celgetal van de koe, de voorgeschiedenis van de koe en de ouderdom van de ontsteking. Dit heeft een impact op de beslissing of er bij een koe met klinische mastitis nog geïnvesteerd moet worden of dat de koe beter opgeruimd wordt. Wanneer bijvoorbeeld een oude koe die voorheen al episodes van klinische mastitis heeft doorstaan, een hoog celgetal heeft en nu op meerdere uierkwartieren een klinische mastitis vertoont, dan kan er misschien beter geopteerd worden om deze koe op te ruimen in plaats van nog in een behandeling te investeren aangezien de slagingskans van een behandeling erg geslonken is. Een jonge vaars daarentegen die een eerste mastitis doormaakt in een uierkwartier heeft veel meer kans op genezing. De tijd dat de infectie in de uier al bezig is en eventuele chronische veranderingen in de uier hebben ook een impact op de genezing. Wanneer er al enige veranderingen in de uier hebben plaatsgevonden onder invloed van de ontsteking, dan is de kans op genezing kleiner. Daarbij kan het een voordeel zijn om de mastitis in een vroeg stadium op te merken. Hierbij wordt het belang van aandachtig voorstralen bij het melken onderstreept. Zo heeft men meer kans om een mastitis vroeg op te merken. Een hulpmiddel bij de vroege detectie van mastitis kan de geleidbaarheid van de melk zijn. Een mastitis kan bij een verhoogde geleidbaarheid vroeger gedetecteerd worden en dus zo in een vroeger stadium behandeld worden.

Bij de behandeling van een klinische mastitis moet men eerst een keuze maken tussen een lokale en/of een systemische behandeling. Zeker bij een mastitis veroorzaakt door coliformen is een systemische behandeling op zijn plaats, omdat hier endotoxines in de bloedbaan vrijkomen. Ook bij een acute erge ontsteking is een systemische behandeling te verkiezen omdat bij deze de tepelkanalen toe gezwollen kunnen zijn waardoor onvoldoende penetratie in de uier wordt bereikt. Bij andere mastitiden is er geen eenduidige mening over hoe men moet behandelen. Sommige halen een beter resultaat bij een systemische behandeling, anderen bij een lokale intramammaire therapie. Bij een intramammaire therapie moet vanzelfsprekend zo aseptisch mogelijk gewerkt worden om iatrogene superinfecties te voorkomen. Goed ontsmetten van de speentop met alcohol is dus een must. Deze kunnen ergere symptomen veroorzaken dan de primaire infectie. Nadat men beslist heeft langs welke weg men gaat behandelen kan men een antibioticum gebruiken. Hierbij is het belangrijk dat men een antibioticum kiest waar de bacterie die de mastitis veroorzaakt in het werkingsspectrum ligt en dat het antibioticum via de toegepaste weg een voldoende hoge concentratie op de plaats van de infectie bekommt. Hiervoor is een kennis van de farmacokinetische eigenschappen van de antibiotica van essentieel belang. Wanneer men rekening houdt met een synergistische werking tussen verschillende antibiotica, dan kan dit een meerwaarde bieden aan de therapie. Zo kan penicilline met

neomycine gecombineerd worden of kanamycine met cefalexine. Beide combinaties zijn in België commercieel verkrijgbaar en zijn dus gemakkelijk toe te passen. Bij de behandeling van een *Escherichia coli*-mastitis is er in de literatuur meer en meer beweging naar een therapie zonder antibiotica aangezien een *E. coli*-mastitis een sterke zelfgenezingsgraad vertoont en de voornaamste symptomen bij de koe veroorzaakt worden door de endotoxines die worden vrijgesteld. Het is natuurlijk zo dat wanneer er minder bacteriën zijn er ook minder endotoxines vrijkomen. Maar in de huidige tijden van antibioticaresistentie en verantwoord antibioticumgebruik kan men wel overwegen om bij een milde *E. coli*-mastitis een therapie zonder antibiotica in te stellen. Het is echter zo dat wanneer een veehouder of een dierenarts een mastitis vaststelt dat hij niet weet of de uier nu met een Gram-negatieve of een Gram-positieve bacterie geïnfecteerd is. Dit is moeilijk te bepalen op basis van de symptomen en er is vaak een bacteriologisch onderzoek voor nodig. Het is dus moeilijk om puur op basis van de symptomen te bepalen of de mastitis een behandeling vergt of niet. Bij de therapie van een klinische mastitis is het belangrijk om lang genoeg te behandelen. Bij een langere therapie wordt er in de literatuur een hogere kans op genezing gezien. Het is belangrijk dat men hieromtrent goed communiceert met de veehouder. Veel veehouders zijn immers geneigd om slechts te behandelen tot de klinische symptomen verdwenen zijn. Additioneel in de behandeling kunnen ontstekingsremmers worden toegediend. Dit kan gedaan worden om de genezing te bevorderen aangezien hier gunstige resultaten gezien worden in de literatuur. Maar ook voor het dierenwelzijn kan er geopteerd worden om ontstekingsremmers te gebruiken. Corticosteroïden zouden de therapie kunnen helpen doordat de penetratie in de uier wordt begunstigd door het afnemen van de zwelling. Corticosteroïden gebruiken bij een infectie is echter wel een risico gezien de sterke immunosuppressieve werking van deze geneesmiddelen. De literatuur heeft aangetoond dat lactoferrine in de therapie van klinische mastitis goede resultaten kan teweegbrengen wanneer zij samen met een antibioticum worden toegediend. Zeker bij de behandeling van *Staphylococcus aureus*-mastitis kan lactoferrine een grote rol spelen. De therapieën die hedendaags worden toegepast bekomen maar povere resultaten bij een mastitis veroorzaakt door *Staphylococcus aureus*. In de literatuur spreekt men van veel hogere genezingskansen bij een dergelijke mastitis wanneer zij behandeld wordt met een antibioticum gecombineerd met lactoferrine. In België is lactoferrine voorlopig echter niet commercieel beschikbaar, maar deze stof kan misschien in de toekomst wel een gunstige rol gaan spelen bij de behandeling van mastitis. Een alternatief voor een antibioticumtherapie bij een klinische mastitis zou eventueel een homeopathische behandeling kunnen zijn. Hierbij worden echter onvoldoende resultaten bekomen en is niet te prefereren.

REFERENTIELIJST

- Almeida R.A., Patel D., Friton G.M., Oliver S.P. (2007). Intracellular killing of mastitis pathogens by penethamate hydriodide following internalization into mammary epithelial cells. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 30, 151-156.
- Barkema H.W., Schukken Y.H., Lam T.J.G.M., Beiboer M.L., Benedictus G., Brand A. (1999). Management Practices Associated with the Incidence Rate of Clinical Mastitis. *Journal of Dairy Science* 82, 1643-1654.
- Barkema H.W., Schukken Y.H., Lam T.J.G.M., Beiboer M.L., Wilmink H., Benedictus G., Brand A. (1998). Incidence of Clinical Mastitis in Dairy Herds Grouped in Three Categories by Bulk Milk Somatic Cell Counts. *Journal of Dairy Science* 81, 411-419.
- Barkema H.W., Schukken Y.H., Zadoks R.N. (2006). Invited Review: The Role of Cow, Pathogen, and Treatment Regimen in the Therapeutic Success of Bovine *Staphylococcus aureus* Mastitis. *Journal of Dairy Science* 89, 1877-1895.
- Bäumer W. (2012). Zur Pharmakologie zugelassener Antibiotika in der Rinderpraxis. *Tierärztliche Praxis ausgabe Großtiere Nutztiere* 40, 326-333.
- Bengtsson B., Unnerstad H.E., Ekman T., Artursson K., Nilsson-Öst M., Waller K.P. (2009). Antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows. *Veterinary Microbiology* 136, 142-149.
- Bennett R.H., Jasper D.E. (1977). Bovine *Mycoplasma* mastitis from intramammary inoculation of small numbers of *Mycoplasma bovis*. I. Microbiology and Pathology. *Veterinary Microbiology* 2, 341-355.
- Bradley A.J., Green M.J. (2009). Factors affecting cure when treating bovine clinical mastitis with cephalosporin-based intramammary preparations. *Journal of Dairy Science* 92, 1941-1953.
- Capurro A., Aspán A., Artursson K., Waller K.P. (2010). Genotypic variation among *Staphylococcus aureus* isolates from cases of clinical mastitis in Swedish dairy cows. *The Veterinary Journal* 185, 188-192.
- Ceballos-Marquez A., Barkema H.W., Stryhn H., Wichtel J.J., Neumann J., Mella A., Kruze J., Espindola M.S., Wittwer F. (2010). The effect of selenium supplementation before calving on early-lactation udder health in pastured dairy heifers. *Journal of Dairy Science* 93, 4602-4612.
- Craven N. (1987). Efficacy and financial value of antibiotic treatment of bovine clinical mastitis during lactation – A review. *British Veterinary Journal* 143, 410-422.
- Constable P.D., Morin D.E. (2003). Treatment of clinical mastitis using antimicrobial susceptibility profiles for treatment decisions. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 19, 139-155.

- De Vliegher 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.
- Diarra M.S., Petitclerc D., Deschênes E., Lessard N., Grondin G., Talbot B.G., Lacasse P. (2003). Lactoferrin against *Staphylococcus aureus* Mastitis Lactoferrin alone or in combination with penicillin G on bovine polymorphonuclear function and mammary epithelial cells colonisation by *Staphylococcus aureus*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 95, 33-42.
- Diarra M.S., Petitclerc D., Lacasse P. (2002). Effect of Lactoferrin in Combination with Penicillin on the Morphology and the Physiology of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Mastitis. *Journal of Dairy Science* 85, 1141-1149.
- Dingwell R.T., Leslie K.E., Duffield T.F., Schukken Y.H., DesCoteaux L., Keefe G.P., Kelton D.F., Lissemore K.D., Shewfelt W., Dick P., Bagg R. (2003). Efficacy of Intramammary Tilmicosin and Risk Factors for Cure of *Staphylococcus aureus* Infection in the Dry Period. *Journal of Dairy Science* 86, 159-168.
- Erskine R.J., Wagner S., DeGraves F.J. (2003). Mastitis therapy and pharmacology. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 19, 109-138.
- Fang W., Pyörälä S. (1996). Mastitis-Causing *Escherichia coli*: Serum Sensitivity and Susceptibility to Selected antibacterials in Milk. *Journal of Dairy Science* 79, 76-82.
- Fox L.K. (2012). *Mycoplasma* Mastitis Causes, Transmission, and Control. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 28, 225-237.
- Ganière J.P., Denuault L. (2009). Synergistic interactions between cefalexin and kanamycin in Mueller-Hinton broth medium and in milk. *Journal of Applied Microbiology* 107, 117-125.
- Gruet P., Maincent P., Berthelot X., Kaltsatos V. (2001). Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. *Advanced Drug Delivery Reviews* 50, 245-259.
- Gundelach Y., Kalscheuer E., Hamann H., Hoedemaker M. (2011). Risk factors associated with bacteriological cure, new infection, and incidence of clinical mastitis after dry cow therapy with three different antibiotics. *Journal of Veterinary Science* 12, 227-233.
- Heinrichs A.J., Costello S.S., Jones C.M. (2009). Control of heifer mastitis by nutrition. *Veterinary Microbiology* 134, 172-176.
- Hektoen L., Larsen S., Odegaard S.A., Loken T. (2004). Comparison of Homeopathy, Placebo and Antibiotic Treatment of Clinical Mastitis in Dairy Cows – Methodological Issues and Results from a Randomized-clinical Trial. *Journal of Veterinary Medicine Series A – Physiology Pathology Clinical Medicine* 51, 439-446.
- Hillerton J.E., Kliem K.E. (2002). Effective Treatment of *Streptococcus uberis* Clinical Mastitis to Minimize the Use of Antibiotics. *Journal of Dairy Science* 85, 1009-1014.

- Hillerton J.E., Semmens J.E. (1999). Comparison of Treatment of Mastitis by Oxytocin or Antibiotics following Detection According to Changes in Milk Electrical Conductivity Prior to Visible Signs. *Journal of Dairy Science* 82, 93-98.
- Hortet P., Seegers H. (1998). Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine* 37, 1-20.
- Huijps K., Lam T.J.G.M., Hogeveen H. (2008). Costs of mastitis: facts and perception. *Journal of Dairy Research* 75, 113-120.
- Huszenicza G., Jánosi S., Gáspárdy A., Kulcsár M. (2004). Endocrine aspects in pathogenesis of mastitis in postpartum dairy cows. *Animal Reproduction Science* 82-83, 389-400.
- Jansen J., Van den Borne B.H.P., Renes R.J., Van Schaik G., Lam T.J.G.M., Leeuwis C. (2009). Explaining mastitis incidence in Dutch dairy farming: The influence of farmers' attitudes and behaviour. *Preventive Veterinary Medicine* 92, 210-223.
- Kai K., Komine Y., Komine K., Asai K., Kuroishi T., Kozutsumi T., Itagaki M., Ohta M., Kumagai K. (2002). Effects of Bovine Lactoferrin by the Intramammary Infusion in Cows with Staphylococcal Mastitis during the Early Non-Lactating Period. *Journal of Veterinary Medical Science* 64, 873-878.
- Kietzmann M., Bäumer W. (2008). Pharmakodynamische und pharmakokinetische Grundlagen der Mastitistherapie. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* 3, 411-416.
- Komine Y., Komine K., Kai K., Itagaki M., Kuroishi T., Aso H., Obara Y., Kumagai K. (2006). Effect of Combination Therapy with Lactoferrin and Antibiotics against Staphylococcal Mastitis on Drying Cows. *Journal of Veterinary Medical Science* 68, 205-211.
- Krasniqi S., Matzneller P., Kinzig M., Sörgel F., Hüttner S., Lackner E., Müller M., Zieitlinger M. (2012). Blood, Tissue, and Intracellular Concentrations of Erythromycin and Its Metabolite Anhydroerythromycin during and after Therapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 56, 1059-1064.
- Lacasse P., Lauzon K., Diarra M.S., Petitclerc D. (2008). Utilization of lactoferrin to fight antibiotic-resistant mammary gland pathogens. *Journal of Animal Science* 86, 66-71.
- Maurin M., Raoult D. (1997). Intracellular organisms. *International Journal of Antimicrobial Agents* 9, 61-70.
- McDougall S., Bryan M.A., Tiddy R.M. (2009). Effect of treatment with the nonsteroidal anti-inflammatory meloxicam on milk production, somatic cell count, probability of re-treatment, and culling of dairy cows with mild clinical mastitis. *Journal of Dairy Science* 92, 4421-4431.
- Milne M.H., Biggs A.M., Barrett D.C., Young F.J., Doherty S., Innocent G.T., Fitzpatrick J.L. (2005). Treatment of persistent intramammary infections with *Streptococcus uberis* in dairy cows. *The Veterinary Record* 157, 245-250.

- Milner P., Page K.L., Hillerton J.E. (1997). The Effects of Early Antibiotic Treatment Following Diagnosis of Mastitis Detected by a Change in the Electrical Conductivity of Milk. *Journal of Dairy Science* 80, 859-863.
- Mullarky I.K., Frieze C.S.N., Park Y.H., Sordillo L.M. (2001). *Staphylococcus aureus agr* Genotypes with Enterotoxin Production Capabilities Can Resist Neutrophil Bactericidal Activity. *Infection and Immunity* 69, 45-51.
- M-team Ugent (2013). Klinische mastitis op Vlaamse melkveebedrijven. M-news, September 2013.
- Oliver S.P., Almeida R.A., Gillespie B.E., Headrick S.J., Dowlen H.H., Johnson D.L., Lamar K.C., Chester S.T., Moseley W.M. (2004). Extended Ceftiofur Therapy for Treatment of Experimentally-Induced *Streptococcus uberis* Mastitis in Lactating Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science* 87, 3322-3329.
- Osteras O., Edge V.L., Martin S.W. (1999). Determinants of Success or Failure in the Elimination of Major Mastitis Pathogens in Selective Dry Cow Therapy. *Journal of Dairy Science* 82, 1221-1231.
- Owens W.E., Ray C.H., Watts J.L., Yancey R.J. (1997). Comparison of Success of Antibiotic Therapy During Lactation and Results of Antimicrobial Susceptibility Tests for Bovine Mastitis. *Journal of Dairy Science* 80, 313-317.
- Petitclerc D., Lauzon K., Cochu A., Ster C., Diarra M.S., Lacasse P. (2007). Efficacy of a Lactoferrin-Penicillin Combination to Treat β -Lactam-Resistant *Staphylococcus aureus* Mastitis. *Journal of Dairy Science* 90, 2778-2787.
- Pyörälä S.H.K., Pyörälä E.O. (1998). Efficacy of parenteral administration of three antimicrobial agents in treatment of clinical mastitis in lactating cows: 487 cases (1989-1995). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 212, 407-412.
- Quinn P.J., Markey B.K., Carter M.E., Donnelly W.J., Leonard F.C. (2007). *Veterinary microbiology and microbial disease*. 2nd edition. Blackwell Publishing, Oxford, p. 465-475.
- Razin S., Hayflick L. (2010). Highlights of mycoplasma research – An historical perspective. *Biologicals* 38, 183-190.
- Reyher K.K., Dohoo I.R., Scholl D.T., Keefe G.P. (2012). Evaluation of minor pathogen intramammary infection, susceptibility parameters, and somatic cell counts on the development of new intramammary infections with major mastitis pathogens. *Journal of Dairy Science* 95, 3766-3780.
- Roberson J.R. (2012). Treatment of Clinical Mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 28, 271-288.
- Scaletti R.W., Trammell D.S., Smith B.A., Harmon R.J. (2003). Role of Dietary Copper in Enhancing Resistance to *Escherichia coli* Mastitis. *Journal of Dairy Science* 86, 1240-1249.

- 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. (2012). The “Other” Gram-Negative Bacteria in Mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 28, 239-256.
- Schukken Y.H., Piepers S., Zadoks R.N., De Vliegher S. (2013). Nieuwe ontwikkelingen van een oude aandoening: mastitis onder de loep Deel 1 – literatuuroverzicht. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 82, 243-256.
- Sérieys F., Raguet Y., Goby L., Schmidt H., Friton G. (2005). Comparative Efficacy of Local and Systemic Antibiotic Treatment in Lactating Cows with Clinical Mastitis. *Journal of Dairy Science* 88, 93-99.
- Shim E.H., Shanks R.D., Morin D.E. (2004). Milk Loss and Treatment Costs Associated with Two Treatment Protocols for Clinical Mastitis in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 87, 2702-2708.
- Sipka A., Gurjar A., Klaessig S., Duhamel G.E., Skidmore A., Swinkels J., Cox P., Schukken Y. (2013). Prednisolone and cefapirin act synergistically in resolving experimental *Escherichia coli* mastitis. *Journal of Dairy Science* 96, 4406-4418.
- Smith E.M., Green L.E., Medley G.F., Bird H.E., Fox L.K., Schukken Y.H., Kruze J.V., Bradley A.J., Zadoks R.N., Dowson C.G. (2005). Multilocus Sequence Typing of Intercontinental Bovine *Staphylococcus aureus* Isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 43, 4737-4743.
- Smith K.L., Harrison J.H., Hancock D.D., Todhunter D.A., Conrad H.R. (1984). Effect of Vitamin E and Selenium Supplementation on Incidence of Clinical Mastitis and Duration of Clinical Symptoms. *Journal of Dairy Science* 67, 1293-1300.
- Sol J., Sampimon O.C., Barkema H.W., Schukken Y.H. (2000). Factors Associated with Cure after Therapy of Clinical Mastitis Caused by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science* 83, 278-284.
- Sol J., Sampimon O.C., Snoep J.J., Schukken Y.H. (1997). Factors Associated with Bacteriological Cure During Lactation After Therapy for Subclinical Mastitis Caused by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science* 80, 2803-2808.
- Spears J.W., Weiss W.P. (2008). Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The veterinary journal* 176, 70-76.
- Steenefeld W., Van Werven T., Barkema H.W., Hogeveen H. (2011). Cow-specific treatment of clinical mastitis: An economic approach. *Journal of Dairy Science* 94, 174-188.
- Suojala L., Kaartinen L., Pyörälä S. (2013). Treatment for bovine *Escherichia coli* mastitis – an evidence-based approach. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 36, 521-531.

- Swinkels J.M., Cox P., Schukken Y.H., Lam T.J.G.M. (2013a). Efficacy of extended cefquinome treatment of clinical *Staphylococcus aureus* mastitis. *Journal of Dairy Science* 96, 4983-4992.
- Swinkels J.M., Lam T.J.G.M., Green M.J., Bradley A.J. (2013b). Effect of extended cefquinome treatment on clinical persistence or recurrence of environmental clinical mastitis. *The Veterinary Journal* 197, 682-687.
- Taponen S., Dredge K., Hendriksson B., Pyyhtiä A.-M., Suojala L., Junni R., Heinonen K., Pyörälä S. (2003a). Efficacy of intramammary treatment with procain penicillin G vs. procain penicillin G plus neomycin in bovine clinical mastitis caused by penicillin-susceptible, gram-positive bacteria – a double blind field study. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 26, 193-198.
- Taponen S., Jantunen A., Pyörälä E., Pyörälä S. (2003b). Efficacy of Targeted 5-day Combined Parenteral and Intramammary Treatment of Clinical Mastitis Caused by Penicillin-Susceptible or Penicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Acta Veterinaria Scandinavica* 44, 53-62.
- Van den Borne B.H.P., Vernooij J.C.M., Lupindu A.M., Van Schaik G., Frankena K., Lam T.J.G.M., Nielen M. (2011). Relationship between somatic cell count status and subsequent clinical mastitis in Dutch dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine* 102, 265-273.
- Waage S., Skei H.R., Rise J., Rogdo T., Sviland S., Odegaard S.A. (2000). Outcome of Clinical Mastitis in Dairy Heifers Assessed by Reexamination of Cases One Month After Treatment. *Journal of Dairy Science* 83, 70-76.
- Watts J.L. (1988). Etiological Agents of Bovine Mastitis. *Veterinary Microbiology* 16, 41-66.
- Wellenberg G.J., Van der Poel W.H.M., Van Oirschot J.T. (2002). Viral infections and bovine mastitis: a review. *Veterinary Microbiology* 88, 27-45.
- Werner C., Sobiraj A., Sundrum A. (2010). Efficacy of homeopathic and antibiotic treatment strategies in cases of mild and moderate bovine clinical mastitis. *Journal of Dairy Research* 77, 460-467.
- White L.J., Schukken Y.H., Lam T.J.G.M., Medley G.F., Chappell M.J. (2001). A multispecies model for the transmission and control of mastitis in dairy cows. *Epidemiology and Infection* 127, 567-576.
- Zadoks R.N., Allore H.G., Barkema H.W., Sampimon O.C., Wellenberg G.J., Gröhn Y.T., Schukken Y.H. (2001). Cow- and Quarter-Level Risk Factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* Mastitis. *Journal of Dairy Science* 84, 2649-2663.