

## Mastitis bij melkvee veroorzaakt door coliformen, met nadruk op *Klebsiella* spp.

<sup>1</sup>H. Van Loo, <sup>1</sup>S. De Vliegheer, <sup>1</sup>S. Piepers, <sup>2</sup>P. Passchyn, <sup>1</sup>A. de Kruif, <sup>1</sup>G. Opsomer

<sup>1</sup>Vakgroep Voortplanting, Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

<sup>2</sup>DAP Torvet, Bruggestraat 163a, B-8820 Torhout

Hans.VanLoo@UGent.be

### SAMENVATTING

Coliforme bacteriën zijn vaak verantwoordelijk voor acute tot zelfs hyperacute mastitiden bij melkvee. Tegenwoordig wordt echter meer en meer melding gemaakt van coliforme uierontstekingen met een persisterend karakter. Vaak worden *Klebsiella* spp. aangewezen als verwekkers van deze chronische intramammaire infecties.

Aangezien coliformen in het algemeen massaal aanwezig zijn in de omgeving van de koe, is het in het kader van de preventie van coliforme mastitiden van primordiaal belang een propere en goed geventileerde omgeving voor de dieren te creëren. Op die manier wordt de infectiedruk ter hoogte van het slotgat tot een minimum beperkt. Hierbij kan vermeld worden dat het voorkomen van *Klebsiella* spp. vaak geassocieerd wordt met de aanwezigheid van gecontamineerd zaagsel in de ligboxen.

Daarenboven is het vanuit preventief oogpunt belangrijk dat de dieren voldoende weerstand kunnen bieden aan allerhande infecties, inclusief uierontstekingen. Het voederen van een uitgebalanceerd rantsoen, aangepast aan de leeftijd, het lactatiestadium en de individuele productie is een cruciale stap in het streven naar een optimale afweer.

### INLEIDING

Mastitis is en blijft wereldwijd één van de meest complexe en duurste ziekten bij melkvee die vaak grote economische verliezen veroorzaakt (Harmon, 1994; Bradley 2002). Behandelingskosten, het opruimen van besmette koeien en bijgevolg een verhoogd vervangingspercentage, sterfte en een gedaalde melkproductie veroorzaken immers nog steeds aanzienlijke verliezen (Smith *et al.*, 1985; Smith en Hogan, 2001; Bradley, 2002).

Uierontstekingen worden bijna steeds veroorzaakt door bacteriën die op basis van hun respectievelijk persisterend of transiënt opportunistisch karakter klassiek worden ingedeeld in twee groepen: 1. koegebonden pathogenen en 2. omgevingspathogenen (Blowey en Edmondson, 1995). De koegebonden, infectieuze mastitisveroorzakers kunnen efficiënt worden bestreden door een rigoureuze toepassing van het bekende vijfpuntenplan (Neave *et al.*, 1969). Mastitiden veroorzaakt door omgevingskiemen zijn echter vaak moeilijker te voorkomen, aangezien de verwekkers permanent en massaal in de omgeving van de koeien aanwezig zijn (Zdanowicz, 2002). Omgevingskiemen zijn opportunistische indringers die eigenlijk niet zijn aangepast om lang te overleven in de gastheer (Bradley, 2002). Een rechtstreekse overdracht van deze kiemen afkomstig van de uier van geïnfecteerde koeien naar niet-geïnfecteerde koeien en/of kwartieren is daarom eerder zeldzaam (Hogan en Smith, 2003). Ze veroorzaken vooral intramammaire infecties

(IMI's) door vanuit de omgeving rechtstreeks het tepelkanaal binnen te dringen (Dunn, 1994; Hogan en Smith, 2003). Echter, met de introductie van moleculaire diagnostische technieken in het mastitisonderzoek is gebleken dat de traditionele tweedeling van de mastitispathogenen in de koegebonden en omgevingsgebonden kiemen in de praktijk wel bruikbaar blijft, maar wetenschappelijk gezien voorbijgaat aan belangrijke stamverschillen. Zo werd aangetoond dat sommige *Staphylococcus aureus*-stammen zich gedragen als omgevingspathogenen en omgekeerd, dat bepaalde *Streptococcus uberis*-stammen zich gedragen als besmettelijke bacteriën (Zadoks *et al.*, 2001). Zodoende werd afgestapt van de opsplitsing koegebonden versus omgevingsgebonden en werd overgegaan naar een glijdende schaal die rekening houdt met deze nuances (Zadoks en Schukken, 2006).

Uit de analyse van melkstalen van klinische uierontstekingen op Vlaamse melkveebedrijven blijkt dat gram-negatieve mastitisbacteriën en vooral dan coliformen in ongeveer 20% van de gevallen werden geïsoleerd als verwekkers (Dierengezondheidszorg DGZ Vlaanderen, 2004). Tot de belangrijkste mastitis verwekkende coliformen behoren *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Serratia* spp. en *Enterobacter* spp. (Todhunter *et al.*, 1991; Hogan en Smith, 2003; Bannerman *et al.*, 2004). Daarenboven wordt ook meer en meer melding gemaakt van chronische coliforme uierontstekingen. Vaak zijn het *Klebsiella* spp. die als verwekkers van deze chronische IMI's geïdentificeerd worden (Opsomer *et al.*, 2001).

In dit overzichtsartikel wordt de literatuur over coliformen samengevat met de nadruk op de preventie en de bestrijding. Daarnaast wordt specifiek gefocust op *Klebsiella* spp. als veroorzakers van klinische en subklinische mastitiden.

## ETIOLOGIE

De coliforme bacterie *Klebsiella* werd genoemd naar de Duitse bacterioloog Edwin Klebs (1834-1913). Het genus *Klebsiella* bevat gramnegatieve, niet-beweeglijke, roodkleurige bacteriën die tot de familie van de Enterobacteriaceae behoren (Podschun en Ullmann, 1998). Het zijn korte (0,3-1,0 µm diameter en 0,6-3,0 µm lengte) staafjes die slijmerige kolonies vormen. Ze onderscheiden zich van de andere Enterobacteriaceae door de aanwezigheid van een polysaccharide kapsel en doordat ze niet beweeglijk zijn (Krieg en Holt, 1984).

Bij de mens is *K. pneumoniae* een bekende veroorzaker van pneumonie maar ook van urineweginfecties, sepsis en abscessen. Leverabscessen en endofthalmitis tengevolge van een *K. pneumoniae*-infectie worden vooral in Azië maar ook in de Verenigde Staten gemeld als opkomende infectieuze aandoeningen (Lederman en Crum, 2005; Yeh *et al.*, 2006). De zoönotische overdracht van *Klebsiella* spp. werd tot op heden nog niet beschreven (Zadoks en Munoz, 2007).

*Klebsiella* spp. werden geïsoleerd uit veulens, voornamelijk uit pneumoniehaarden, en uit gevallen van metritis bij merries. Bij zeugen kan de kiem eveneens metritis veroorzaken maar ze werd ook met acute en chronische mastitis geassocieerd (Buxton en Fraser, 1977; Boden, 2001). *Klebsiella* spp. werden ook reeds als verwekker van atrofische rhinitis bij biggen en als oorzaak van ademhalingsstoornissen bij pluimvee genoemd (Buxton en Fraser, 1977).

Bij het rund kunnen *Klebsiella* spp. osteomyelitis veroorzaken en spelen ze mogelijk een rol in het ontstaan van pulmonaire letsels (Boden, 2001). Daarnaast werden ook *Klebsiella*-infecties van het urinaire stelsel beschreven (Yeruham *et al.*, 2006). Seimiya *et al.* (1993) stelden bovendien een geval van meningitis veroorzaakt door *Klebsiella oxytoca* vast bij een neonataal kalf. Wat hun voorkomen bij gevallen van bovine mastitis betreft, gaat het bijna steeds om *Klebsiella pneumoniae* en *Klebsiella oxytoca*, hoewel *Klebsiella ozaenae* ook reeds werd teruggevonden (Todhunter *et al.*, 1991).

## DIAGNOSE

Gramnegatieve bacteriën kunnen worden onderscheiden van grampositieve kiemen op basis van de morfologie van hun kolonies na de groei op een commerciële bloed agar-plaat en aan de hand van een gramkleuring. Gramnegatieve kiemen vormen meestal kolonies van 2 tot 5 mm groot en hebben een gele tot grijze kleur. Daarenboven hebben de kolonies vaak een vochtig en slijmerig aspect.

Coliformen kunnen gedifferentieerd worden van andere gramnegatieve bacteriën op basis van hun MacConkey-agarreactie. Een MacConkey-agar bevat het fermenteer-

bare suiker lactose. Bacteriën die lactose kunnen fermenteren, produceren zure metabolieten, waardoor zowel het medium als de kolonies roze kleuren. Als bacteriën geen lactose kunnen fermenteren, binden ze aan het peptone aanwezig in het medium met de vorming van alkalische metabolieten, waardoor zowel de kolonies als het medium een lichtgele kleur aannemen. Coliformen zijn typische lactosefermenteerders en kunnen daardoor gemakkelijk onderscheiden worden van de andere niet-lactose fermenterende gramnegatieven, zoals *Pseudomonas* spp.

*Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., en *Enterobacter* spp. kunnen verder geïdentificeerd worden met behulp van een commerciële kit (BD BBL™ Enterotube™ II, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Duitsland) waarbij verschillende biochemische reacties simultaan worden getest. Daarenboven hebben kolonies van *E. coli* en *Enterobacter* spp. een typisch fecale geur na de groei op een agarplaat (NMC, 1999).

## VOORKOMEN

Coliforme bacteriën veroorzaken frequent mastitis bij melkkoeien (Bradley en Green, 2001a). Recente meldingen suggereren dat coliformen, en dan voornamelijk *E. coli*, de meest voorkomende oorzaak zijn van klinische mastitis op goed geleide melkveebedrijven met een laag tankmelkcelgetal (< 150.000 cellen/ml) (Bradley, 2002).

Uit het Rapport Monitoring Dierengezondheid Rundvee/Kleine Herkauwers 2004 (Dierengezondheidszorg DGZ Vlaanderen, 2004) blijkt dat gramnegatieve mastitisbacteriën en vooral dan coliformen in ongeveer 20% van de melkstalen van klinische uierontstekingen worden geïsoleerd. Het aantal *Klebsiella* spp. dat geïsoleerd wordt uit klinische mastitiden is met 0,7% eerder laag in Vlaanderen. Uit de cijfers van DGZ voor wat betreft kiemen geïsoleerd uit attentiekoeien met een verhoogd celgetal, blijkt dat gramnegatieven bij chronische uierinfecties relatief gezien veel minder vaak voorkomen dan bij acute uierontstekingen en slechts 5% van de gevallen uitmaken.

In Nederland werd in 2004 21,4% van de klinische uierontstekingen veroorzaakt door *E. coli* terwijl in 2,4% van de stalen *Klebsiella* spp. werden gevonden. Iets meer dan 2% van de subklinische mastitiden werd veroorzaakt door *E. coli* (Sampimon, 2004). Over subklinische *Klebsiella*-mastitiden zijn in Nederland geen cijfers beschikbaar.

In vergelijking met *E. coli*-infecties komen *Klebsiella*-uierontstekingen over het algemeen minder vaak en meer verspreid in de lactatie voor (Vecht *et al.*, 1987; Todhunter *et al.*, 1991; Wilson *et al.*, 1997).

## KLINISCH BEELD

### Klinische coliforme mastitis

Acute coliforme mastitiden worden gekenmerkt door een rood, warm en gezwollen uierkwartier. De melk van het aangetaste kwartier is meestal erg waterig tot geelrood gekleurd en bevat dikwijls etterige vlokken. Geïnfecteerde dieren vertonen snel een slechte algemene toestand gekenmerkt door anorexie, hoge koorts (meer dan

VERNIEUWD

# Nu direct te gebruiken oplossing!



## ProteqFlu™-Te READY TO USE

Hét enige influenza-tetanus vectorvaccin met betrouwbare werkzaamheid tegen, de door de O.I.E. meest recent aanbevolen, heterologe South Africa/04/03 stam\*

\* Goehring L.S.: Vektorimpfstoffe gegen Pferdeinfluenza. Veterinärspiegel 4, (2005): 192-196



**ProteqFlu™** Suspensie - **Samenstelling** per dosis: Influenza A/equi-2/Kentucky/94 [H3N8] recombinant kanariepokkenvirus (vCP1529) en Influenza A/equi-2/Newmarket/2/93 [H3N8] recombinant kanariepokkenvirus (vCP1533), beide  $\geq 5.2 \log_{10}$  FAID<sub>50</sub>. **Doel diersoort:** Paarden. **Indicaties:** Actieve immunisatie tegen paardeninfluenza ter vermindering van klinische symptomen en van virusexcretie na infectie bij paarden van 4 maanden of ouder. **Dosering en toedieningsweg:** Eén dosis (1 ml) door middel van een intramusculaire injectie, bij voorkeur ter hoogte van de nek, volgens het volgende schema: Basisvaccinatie: de 1e injectie vanaf een leeftijd van 5-6 maanden, de 2de injectie 4-6 weken later. Herhalingsvaccinaties: 5 maanden na de basisvaccinatie en daarna jaarlijkse boosterinjecties. Bij verhoogd risico op infectie of onvoldoende opname van colostrum een extra eerste injectie op de leeftijd van 4 maanden, gevolgd door het volledige vaccinatieprogramma. **Contra-indicaties:** Geen. **Bijwerkingen:** voorbijgaande zwelling, in uitzonderlijke gevallen pijn, lokale hyperthermie, apathie, verminderde eetlust en overgevoelheidsreactie. Een lichte stijging van de temperatuur (max.  $+1.5^\circ\text{C}$ ) kan voorkomen. **Wachtijd:** Nul dagen. EU/2/03/037/005 (Reg. NL 10103) - Op recept verkrijgbaar **diergeneesmiddel (UDD)**. **ProteqFlu™-Te** Suspensie - **Samenstelling** per dosis: Influenza A/equi-2/Kentucky/94 [H3N8] recombinant kanariepokkenvirus (vCP1529) en Influenza A/equi-2/Newmarket/2/93 [H3N8] recombinant kanariepokkenvirus (vCP1533), beide  $\geq 5.2 \log_{10}$  FAID<sub>50</sub>; Clostridium tetani toxoid  $\geq 30$  IU. **Doel diersoort:** Paarden. **Indicaties:** Actieve immunisatie tegen paardeninfluenza ter vermindering van klinische symptomen en van virusexcretie na infectie en tegen tetanus ter preventie van sterfte bij paarden van 4 maanden of ouder. **Dosering en toedieningsweg:** Eén dosis (1 ml) door middel van een intramusculaire injectie, bij voorkeur ter hoogte van de nek, volgens het volgende schema: Basisvaccinatie: de 1e injectie vanaf een leeftijd van 5-6 maanden, de 2de injectie 4-6 weken later. Herhalingsvaccinaties: 5 maanden na de basisvaccinatie en daarna jaarlijkse boosterinjecties. Bij verhoogd risico op infectie of onvoldoende opname van colostrum een extra eerste injectie op de leeftijd van 4 maanden, gevolgd door het volledige vaccinatieprogramma. **Contra-indicaties:** Geen. **Bijwerkingen:** voorbijgaande zwelling, in uitzonderlijke gevallen pijn, lokale hyperthermie, apathie, verminderde eetlust en overgevoelheidsreactie. Een lichte stijging van de temperatuur (max.  $+1.5^\circ\text{C}$ ) kan voorkomen. **Wachtijd:** Nul dagen. EU/2/03/038/005 (Reg. NL 10104) - Op recept verkrijgbaar **diergeneesmiddel (UDD)**; voor België MERIAL BELGIUM S.A./N.V., Bd Sylvain Dupuislaan 243, B-1070 Brussel, Tel: + 32-(0) 2 529 49 00; voor Nederland MERIAL B.V., Kleermakerstraat 10, 1991 JL Velselbroek, Tel: + 31-235.20.10.80. **ProteqFlu™** is een geregistreerd handelsmerk van Merial. © 2006 Merial. Alle rechten voorbehouden. MattArt 13064/11/06



40,0°C), tachycardie, diarree en vaak ook hypersalivatie (Dunn, 1994; Burvenich *et al.*, 2003). Het geïnfecteerde kwartier vertoont uitgebreide weefselschade en een gedaalde melksecretie, maar ook in de niet-aangetaste kwartieren is de melkproductie gedurende verschillende dagen gedaald (Burvenich *et al.*, 2003).

Ook *Klebsiella*-mastitiden gaan vaak gepaard met deze ernstige ziektesymptomen en met een sterke daling van de melkproductie (Newman, 1975; Vecht *et al.*, 1987; Dunn, 1994). Klinische *Klebsiella*-mastitiden veroorzaken bovendien grotere economische schade dan *E. coli* omdat het productieverlies groter is (Grohn *et al.*, 2004; Grohn *et al.*, 2005) en omdat er bovendien een grotere kans op sterfte is (Erskine *et al.*, 2002). De melkklieren van koeien gestorven aan *Klebsiella*-mastitis vertonen een massieve inflammatie en een uitgebreide weefselnecrose (Bannerman *et al.*, 2004). In de meeste gevallen duren deze acute symptomen niet langer dan 4 tot 9 dagen en vaak verdwijnen de infecties zonder antibioticabehandeling (Erskine *et al.*, 1991).

### Chronische coliforme mastitis

Tegenwoordig wordt ook meer en meer aandacht besteed aan chronische recurrenente uierinfecties waaruit coliformen worden geïsoleerd. Zo toonden Döpfer *et al.* (2000) aan dat bepaalde *E. coli*-stammen in het uierweefsel kunnen persisteren. Geschat wordt dat ongeveer 5 tot 24% van de acute *E. coli*-mastitiden overgaat in een chronische infectie (Döpfer *et al.*, 1999; Bradley en Green, 2001c). *Escherichia coli*-infecties die persisteren in het uierepitheel kunnen na de vrijstelling uit geïnfecteerde cellen voor heropflakkingen van klinische uierontstekingen zorgen (Hogan *et al.*, 1989; Lam *et al.*, 1996). Volgens een onderzoek uitgevoerd door Döpfer *et al.* (1999) kunnen deze chronisch geïnfecteerde koeien dan net als bij *Staphylococcus aureus*- en *Streptococcus agalactiae*-infecties andere gezonde koeien infecteren via het melkstel door de uitscheiding van kiemen in de melk. Ook *Klebsiella*-kiemen kunnen chronische mastitiden veroorzaken (Opsomer *et al.*, 2001). Dit werd door Vecht *et al.* (1987) aangetoond door het feit dat *K. pneumoniae*, alhoewel slechts in geringe aantallen, kon worden geïsoleerd uit melk en secreet van klinisch gezonde koeien en dit zowel tijdens de lactatie als tijdens de droogstand. Tevens blijken *Klebsiella*-infecties in vergelijking met *E. coli*-infecties significant langer te persisteren (Todhunter *et al.*, 1991). Concluderend kan dan ook gesteld worden dat *Klebsiella*-infecties nog vaker dan *E. coli* aanleiding geven tot een chronische uierontsteking die vaak wordt gekenmerkt door het uitscheiden van hoge aantallen kiemen (Opsomer *et al.*, 2001). Dit werd bevestigd door Bannerman *et al.* (2004) die aantoonde dat het genezingspercentage bij koeien die de infectie overleefden, bij *Klebsiella*-infecties 34 à 37% bedroeg tegenover 71 à 81% bij *E. coli*-infecties. De oorzaken van het chronisch worden van coliforme mastitiden zijn waarschijnlijk zowel bij de kiem als bij de koe te zoeken. Zo toonden Bradley en Green (2001c) aan dat *E. coli*-stammen die recurrenente klinische mastitiden veroorzaken, specifieke adhesiefactoren bezitten. Daarnaast zijn deze stammen in staat om binnen te dringen in uierepitheelcellen en er ook gedurende langere tijd te overleven

(Dogan *et al.*, 2006). Ook de variatie in bepaalde koefactoren, zoals de recruteringsnelheid van leukocyten in het geval van een klinische mastitis en het tijdstip van infectie tijdens de lactatie, spelen waarschijnlijk een rol in het al dan niet chronisch worden van mastitiden (Bradley en Green, 2001c). Het feit dat *Klebsiella* nog vaker dan *E. coli* persisterende infecties veroorzaakt, kan waarschijnlijk verklaard worden door de vorming van een kapsel door *Klebsiella*-kiemen. Dit kapsel blokkeert de binding van complement en fungeert als een schild tegen de antistoffen-gemedieerde opsonisatie (Cortes *et al.*, 2002; Hogan en Smith, 2003).

Chronisch geïnfecteerde koeien scheiden bovendien heel vaak massa's *Klebsiella*-kiemen uit in de melk, hetgeen betekent dat de besmetting van gezonde dieren ook via de melkmachine mogelijk is (Jackson en Bramley, 1983; Vecht *et al.*, 1987). Deze uitscheiding in de melk kan bij een chronische *Klebsiella*-infectie bovendien zo uitgesproken zijn dat dit kan leiden tot een verhoogd coligetal in de tankmelk (Opsomer *et al.*, 2001).

### Stijgend coligetal

Een verhoging van het kiem- en coligetal wordt meestal veroorzaakt door de bezoedeling van het melkmateriaal en de melkrecipiënten. De melk verlaat de uier immers kiemarm (meestal minder dan 10.000 kiemen/ml), zodat de oorsprong van een te hoog kiemgetal zelden bij de koeien moet worden gezocht (de Kruijff, 1999). Gezien echter de bovengrens van het coligetal veel lager ligt (50 coliformen/ml melk) dan die van het kiemgetal (50x10<sup>3</sup> kiemen/ml melk), kan een verhoging van alleen het coligetal in sommige gevallen dan ook eerder aan de koeien zelf worden toegeschreven (Opsomer *et al.*, 2001). Aangezien bekend is dat een verhoging van het coligetal in de tankmelk tot boven de norm mogelijk is door de aanwezigheid van één koe die in één kwartier besmet is met *Klebsiella*-bacteriën, is bacteriologisch onderzoek van alle koeien met een verhoogd celgetal in sommige gevallen noodzakelijk (Opsomer *et al.*, 2001).

## EPIDEMIOLOGIE EN RISICOFACTOREN

### Bedrijfsfactoren

Op bedrijfsniveau zijn de belangrijkste risicofactoren voor het ontstaan van een IMI veroorzaakt door coliformen deze die de mogelijkheid tot tepelcontaminatie met bacteriën vergroten (Bennett, 1982). Tepelcontaminatie is veelal een gevolg van onaangepaste (te kleine of te grote) ligboxen, omdat dit vaak aanleiding geeft tot fecale bevuilding van de uier (Britten, 1994; Leonard en O'Connell, 1997). Daarnaast scheppen huisvestingsomstandigheden met een ontoereikende ventilatie en slechte drainage een vochtig milieu dat de bacteriële groei bevordert (Smith en Hogan, 1993). Andere risicofactoren zijn overbevolking, het onvoldoende verwijderen van mest, het te weinig vervangen van het beddingmateriaal, een onvoldoende gewinning van het jongvee aan de ligboxen zodat ze op de roosters gaan liggen, en het huisvesten van hoogdrachtige koeien in een bevulde afkalffox (Schukken *et al.*, 1990; Schukken *et al.* 1991; Bartlett *et al.*, 1992;

Smith en Hogan, 1993; Britten, 1994; Hill, 1994; Les-courret *et al.*, 1995; Faye *et al.*, 1997; Tadich *et al.*, 1998). Ook van belang is een gebrek aan hygiëne tijdens het melkproces, zoals het nat voorbehandelen (verhoogde kans op "impacts" bij het afslijpen van de tepelhouder, zie verder), vuile uiers, ... (Schukken *et al.*, 1991).

Van groot belang in de verspreiding van omgevingskiemen zijn de besmetting van het beddingmateriaal en de blootstelling eraan van de tepel. Het aantal bacteriën in het beddingmateriaal schommelt naargelang het gebruikte materiaal, de contaminatie, de vochtigheid en de temperatuur (NMC, 1997). Ook de bewaring van het beddingmateriaal alvorens het in de ligboxen terecht komt, blijkt een grote rol te spelen. Organische materialen en vooral dan houtproducten, zoals zaagsel en houtkrullen, bevatten vaak hoge concentraties van coliforme bacteriën (Newman en Kowalski, 1973; Rendos *et al.*, 1975; Knittel *et al.*, 1977). Vooral *Klebsiella* spp. blijken daarin in hoge aantallen te kunnen voorkomen (NMC, 1996; Blowey en Edmondson, 2000) en vooral dan in houtproducten waarin schors is verwerkt (Newman en Kowalski, 1973). Bij het verslepen van de omgehakte bomen komt de schors immers in contact met aarde waarin zich *Klebsiella*-kiemen bevinden. Hoge concentraties kiemen in het beddingmateriaal veroorzaken via rechtstreeks contact een hoge besmettingsgraad van de tepelhuid (Hogan en Smith, 1997; Hogan *et al.*, 1999; Zdanowicz *et al.*, 2004). Zo toonden Zdanowicz *et al.* (2004) aan dat de tepelhuid van koeien gehuisvest op zaagsel twee keer meer coliformen en zes keer meer *Klebsiella*-kiemen vertoonde dan deze van koeien die op zand werden gehouden. De overdracht van coliformen van de bedding naar de tepelhuid is waarschijnlijk geassocieerd met de grootte van de deeltjes van het beddingmateriaal en de mogelijkheid tot adhesie aan de tepelhuid. Kleine deeltjes, zoals fijngemalen zaagsel, hebben samen immers een groter oppervlak dat mogelijk gekoloniseerd kan worden. Ze blijven daarenboven sneller en beter aan de tepelhuid kleven zodat de kiemen meer kans krijgen om de tepel te koloniseren en zo het tepelkanaal te infecteren (Hogan *et al.*, 1990; Hogan en Smith, 1997). Daarnaast is de bacteriële groei in harde houtsoorten, zoals eikenhout, groter dan in dennen- of cederhout of andere zachtere houtsoorten. Waarschijnlijk is dit het gevolg van het feit dat de zachte houtsoorten meer hars, vetten, terpenen en bepaalde fenolen bevatten die de bacteriële groei inhiberen (Reneau *et al.*, 2002).

Gedurende de zomer en de herfst komen IMI's veroorzaakt door coliformen veel frequenter voor dan tijdens de rest van het jaar (Todhunter *et al.*, 1991). Deze bevinding is waarschijnlijk geassocieerd met de stijging van de temperatuur en vochtigheidsgraad met een bevordering van de bacteriële groei tot gevolg (Hogan *et al.*, 1990; NMC, 1997).

## Koefactoren

Ook individuele koefactoren spelen een belangrijke rol bij het al dan niet ontstaan van mastitiden veroorzaakt door omgevingspathogenen (Menzies en Mackie, 2001). Koeien met een slecht sluitend slotgat waarbij tussen twee melkbeurten door melk lekt, hebben een grotere kans op IMI's met omgevingskiemen (Van de Geer *et al.*, 1988; Schukken *et al.*, 1991). Heel vlot melkende dieren met een productie van meer dan 5,2 kg melk gedurende

de eerste twee melkminuten hebben significant meer kans op infectie (Grindal en Hillerton, 1991; Slettbakk *et al.*, 1995). Daarenboven is het risico op infectie groter wanneer de koeien onvolledig worden leeggemolken (Bartlett *et al.*, 1992). Een vlakke tepeltop of de aanwezigheid van tepelletsels, meestal traumatisch, zouden eveneens de kans op mastitis veroorzaken door omgevingskiemen verhogen (Van de Geer *et al.*, 1988; Elbers *et al.*, 1998). Slettbakk *et al.* (1995) toonden bovendien aan dat dieren met laaghangende tepels meer contact met omgevingsmateriaal hebben en dus vatbaarder zijn voor besmetting. Bijkomend werd aangetoond dat de asymmetrie van de uier en te grote speendiameters geassocieerd zijn met het optreden van uierontstekingen door omgevingskiemen. Dit fenomeen kan waarschijnlijk toegeschreven worden aan de verhoogde kans op het afglijden van de tepelvoeringen waardoor de introductie van kiemen tengevolge van zogenaamde 'impacts' gemakkelijk wordt. Impacts zijn inslagen die optreden bij onregelmatige vacuümvariaties tengevolge van het inlaten van lucht in de speenbeker. Dit komt vooral voor bij het onzorgvuldig aansluiten of afnemen van het melkstel, het afvallen van het melkstel (vaak tengevolge van het nat voorbehandelen) en het luchtzuigen van een tepelhouder, vaak te wijten aan het gebruik van versleten of onaangepaste tepelvoeringen of door slechte tepelplaatsing. Dit alles kan tot gevolg hebben dat melkdeeltjes bacteriën met een hoge snelheid meevoeren tot tegen de tepelopening en zelfs tot in het tepelkanaal.

Omstandigheden of ziekten, zoals kreupelheid, hypocalcemie of downer cow syndroom zorgen ervoor dat de koeien moeilijk of niet kunnen opstaan. Dit leidt tot een verhoogd contact met omgevingskiemen en vergroot de kans op infectie van de uier (Radostits *et al.*, 1994). Ook van dieren die een tekort hebben aan selenium of vitamine E is bekend dat ze gevoeliger zijn voor omgevingsmastitis door een verlaagde weerstand (Smith *et al.*, 1985; Erskine *et al.*, 1989). Andere tekorten van bijvoorbeeld vitamine A,  $\beta$ -caroteen, zink of koper, kunnen eveneens het aanslaan van uierinfecties met omgevingskiemen bevorderen (Hogan *et al.*, 1996). Daarnaast stelden Schukken *et al.* (1990) vast dat het gebruik van suikerbietenpulp als krachtvoerbron de kans op IMI's met omgevingskiemen verhoogt. De verklaring hiervoor is waarschijnlijk dat de mineralenstatus in suikerbietenpulp niet optimaal is.

## Uierfactoren

Mastitis veroorzaakt door coliformen wordt meestal vastgesteld tijdens de vroege lactatie (eerste 100 dagen) of tijdens de eerste dagen van de droogstand (Smith *et al.*, 1985). De infectie zelf ontstaat echter in meer dan 50% van de gevallen tijdens de droogstand (Bradley en Green, 2001b; Bradley *et al.*, 2002). Vooral tijdens de eerste 2 en de laatste 2 weken van de droogstand komen IMI's met gramnegatieve kiemen voor (Todhunter, 1991). Deze infecties komen echter vaak pas tot expressie rond de partus en in de vroege lactatie. Gramnegatieve bacteriën hebben voor hun vermenigvuldiging immers behoefte aan ijzer, maar tijdens de droogstand bevat de geïnvolueerde uier hoge concentraties lactoferrine en lage concentraties citraat (Todhunter *et al.*, 1990a). Lactoferrine

is een ijzerbindend eiwit dat tot aan de colostrogenese in hoge concentraties voorkomt in de uier zodat tijdens de droogstand de kiemgroei geremd wordt (Hogan en Smith, 2003). Zijn immunomodulatorische eigenschap voor leukocyten (Smith en Oliver, 1981) en zijn synergisme met IgG1 tegen *E. coli* en *Klebsiella* spp. (Oliver en Bushe, 1987) geven lactoferrine ook een afweer verhogende eigenschap. Daarnaast zijn er in het secreet van de droogstaande uier antistoffen aanwezig die de bacteriële groei remmen net zoals de antimicrobiële componenten lactoperoxidase-thiocyanaat-hydrogenperoxide, lysozyme en complementcomponenten (Todhunter *et al.*, 1990a). Bovendien stijgt tijdens de droogstand de leukocytenconcentratie in de uier (McDonald en Anderson, 1981). Het droogstaande uiermilieu, waarin de vet- en caseïnegehalten zijn gedaald, laat tegelijkertijd ook een beter functioneren van de leukocyten toe (Sordillo en Nickerson, 1988). Deze mechanismen zijn van groot belang voor de afweer tegen *E. coli*, maar konden tot op heden nog niet bevestigd worden voor *Klebsiella* spp. Zo toonden Todhunter *et al.* (1990a; 1990b) aan dat *K. pneumoniae*-kiemen zich toch kunnen vermenigvuldigen in secreet van droogstaande koeien, zelfs in aanwezigheid van normale hoeveelheden lactoferrine.

## BEHANDELING

Aangezien de respons op antibioticabehandeling over het algemeen slecht is en er momenteel geen antibiotica-preparaten op de markt zijn voor de behandeling van *Klebsiella*-mastitis (Zadoks en Munoz, 2007), hoort de nadruk vooral op de preventie te liggen.

Koeien met een erge acute klinische *Klebsiella*-mastitis kunnen een bacteremie doormaken (Wenz *et al.*, 2001) en in zulke gevallen wordt wel een systemische antibioticatherapie aangeraden om de kans op overleven te verhogen. Een dergelijke systemische behandeling zorgt meestal wel voor een herstel van de koe, maar niet van de uier. Klinisch herstel van de uier treedt vaak wel op, maar het geïnfecteerde kwartier wordt zelden kiemvrij (Erskine *et al.*, 2002). Wanneer het om een zeer waardevol dier gaat, kan eventueel toch overwogen worden om systemisch en intramammair te behandelen. Uit resistentiepatronen blijkt dat *Klebsiella* spp. *in vitro* nog het meest gevoelig zijn voor neomycine, furazolidone, cefalotine, colistine (polymyxin B), sulfa-trimethoprim, gentamycine en ceftiofur (Davidson *et al.*, 1982; Vecht *et al.*, 1987; Erskine *et al.*, 2001). In de humane geneeskunde is één van de grote problemen in de behandeling van *Klebsiella*-infecties de multipole antibioticaresistentie en resistentie tegen breed-spectrumbeta-lactamantibiotica. Deze resistentie tegen breed-spectrumbeta-lactamantibiotica werd echter nog niet gerapporteerd voor boviene *Klebsiella* spp. (Zadoks en Munoz, 2007).

De behandeling van een subklinisch met *Klebsiella* spp. geïnfecteerd dier is enkel zinvol als het een erg waardevol dier betreft gezien de genezingskans erg laag is. In een dergelijk geval wordt een antibioticum gekozen op basis van het antibiogram en wordt langdurig (> 5 dagen) zowel lokaal als systemisch behandeld.

## PREVENTIE

De preventie van IMI's veroorzaakt door omgevingskiemen is niet eenvoudig en is gebaseerd op de kennis van de hierboven vermelde risicofactoren. Het veelvuldig contact met besmettingsbronnen, zoals water, feces en organisch beddingmateriaal die deze pathogene omgevingskiemen in groten getale bevatten, is in de huidige huisvestingssystemen van melkvee immers niet te vermijden (Zdanowicz *et al.*, 2004). Het minimaliseren van de blootstelling van de tepeltop aan pathogene kiemen en het maximaliseren van de weerstand van de koe tegen infecties dragen sterk bij tot het verminderen van het aantal IMI's veroorzaakt door omgevingskiemen (Smith *et al.*, 1985).

Aangezien koeien tot 65% van hun tijd al liggend doorbrengen, is het duidelijk dat de reductie van het aantal pathogenen op de stalbodem en vooral dan ter hoogte van de ligplaatsen, een grote bijdrage zal leveren tot het voorkomen van nieuwe IMI's veroorzaakt door omgevingspathogenen (Manninen *et al.*, 2002; Tucker *et al.*, 2003). Lage microbiële concentraties in het beddingmateriaal zorgen voor een verminderde blootstelling aan omgevingsbacteriën en aldus voor een lagere incidentie van infecties (Hogan *et al.*, 1999). Om de blootstelling aan omgevingskiemen te reduceren, is een goede huisvesting van groot belang. Vooral een stal met voldoende ruimte per koe om te bewegen en te rusten en een optimale ventilatie zijn samen met het efficiënt en regelmatig verwijderen van mest noodzakelijk om de infectiedruk te verkleinen (Hogan en Smith, 1987). Voldoende ligboxen die aangepast zijn aan de grootte van de koeien vormen eveneens een zeer belangrijk aandachtspunt. Hierbij wordt aanbevolen 10% meer ligplaatsen te voorzien dan het aantal aanwezige koeien.

Inerte beddingmaterialen, zoals zand, zijn waarschijnlijk de beste materialen om mastitis veroorzaakt door omgevingskiemen te voorkomen. Het gebruik van zand wordt echter bemoeilijkt door praktische problemen zodat veelal toch stro of zaagsel gebruikt wordt (Hogan en Smith, 1992). De toevoeging van 1 kilogram gebluste kalk aan het verse zaagsel in een ligbox vermindert het aantal *Klebsiella*-bacteriën. Deze verlaging in kiemaantal is echter alleen de eerste dag na toevoeging significant. De volgende dagen stijgt het aantal bacteriën heel snel opnieuw en wordt al vlug even hoog als in onbehandeld zaagsel (Hogan en Smith, 1997). Acidogene conditioners zouden wel effectiever blijken te zijn voor het verminderen van de bacteriële groei in zaagsel, hoewel dit bacteriostatisch effect eveneens van korte duur is (2-tal dagen) (Hogan *et al.*, 1999). Volgens Munoz *et al.* (2006) moet niet alleen aandacht worden besteed aan het beddingmateriaal, want zelfs in optimaal beddingmateriaal, zoals zand, kunnen relatief grote aantallen *Klebsiella*-kolonies worden aangetroffen. Dit wordt veroorzaakt doordat sommige koeien (op positieve bedrijven tot meer dan 80% van de koeien; Zadoks en Munoz, 2007) drager zijn van *K. pneumoniae* in hun spijsverteringsstelsel. Door het grote aantal dragers is het verwijderen ervan geen haalbare maatregel in de preventie en beteugeling van *Klebsiella* (Zadoks en Munoz, 2007). Vooral in de zomer zorgt fecale uitscheiding voor een snelle verspreiding van de kiem (Munoz *et al.*, 2006). Deze uitscheiding

is echter niet permanent zodat koeien die positief getest werden, bij een volgende test een negatief resultaat kunnen geven (Munoz en Zadoks, 2007). Ook zijn de stammen gevonden bij 2 opeenvolgende onderzoeken, vaak verschillend. Daarom wordt aan een orofecale transmissiecyclus gedacht waarbij fecaal uitgescheiden kiemen worden opgenomen, de zure lebmaag-pH overleven en zo voor een nieuwe excretie kunnen zorgen. (Zadoks en Munoz, 2007). Welke beddingmaterialen er ook gebruikt worden, het is vooral van belang dat de ligboxen tenminste éénmaal per dag gereinigd worden en voorzien worden van nieuw beddingmateriaal (Dodd *et al.*, 1984). Bovendien moet erop gelet worden dat nieuw aangekocht beddingmateriaal van goede kwaliteit is en eventueel vooraf bacteriologisch wordt onderzocht. Tevens dient er op gelet te worden dat het beddingmateriaal op een droge manier wordt bewaard teneinde een uitgebreide bacteriële groei zoveel mogelijk te vermijden.

Het gebruik van dipmiddelen vóór het melken (pre-dipping) kan het aantal nieuwe coliforme infecties gedurende de lactatie reduceren (Pankey, 1989). Hoewel het melkproces zelf niet als de grootste risicofactor voor coliforme mastitis kan beschouwd worden, kan een goede standaardhygiëne in de melkput toch de incidentie ervan reduceren (Eberhart, 1984). Bovendien kunnen koeien met chronische coliforme mastitiden wel een kiemoverdracht tijdens het melken veroorzaken, zodat geïnfecteerde koeien apart of als laatste gemolken moeten worden. Nadat deze besmette dieren gemolken zijn, moet het melkstel goed gereinigd en ontsmet worden (Zadoks en Munoz, 2007), bij voorkeur door het onder te dompelen in of te spoelen met heet ( $> 75^{\circ}\text{C}$ ) water. Na het melken is het bovendien aangeraden om ervoor te zorgen dat de dieren tenminste een half uur blijven rechtstaan om zo het slotgat de tijd te gunnen zich opnieuw te sluiten (Radostits *et al.*, 1994).

Bij het droogzetten van de koeien is het van belang zo hygiënisch mogelijk te werken. Er moet immers vermeden worden dat opportunistische kiemen samen met het antibioticum accidenteel worden ingebracht (Menzies en Mackie, 2001). Daarnaast is het droogzetten met breed-spectrumantibiotica ook waardevol bij de preventie van coliforme mastitiden. Er werd aangetoond dat een droogstandtherapie met een antibioticum met een gramnegatief spectrum de incidentie van het aantal klinische coliforme mastitiden in de vroege lactatie met meer dan 50% reduceert in vergelijking met een droogstandtherapie zonder gramnegatief spectrum (Bradley en Green, 2001c). Daarbij kan het nuttig zijn om bij het droogzetten de spenen af te sluiten met een interne teat sealer, zodat het slotgat gedurende de hele droogstand tot het moment van de eerste melkbeurt wordt afgesloten en er geen nieuwe kiemen kunnen binnentreden. Vooral bij koeien waarbij de duur van de droogstand langer is dan de werking van het antibioticum is dit van belang. Ook een externe teat sealer kan overwogen worden maar de beperkte aanhechtingsduur maakt het gebruik ervan een stuk minder praktisch.

Rond het kalven moet uiterste zorg worden besteed aan een goede en hygiënische afkalfstal. Ook de oorzaken van het regelmatig neerliggen, zoals kreupelheid, hypocalcemie en dystokie, moeten structureel worden aangepakt (Menzies en Mackie, 2001; Mee 2004).

Aangezien selenium- en vitamine E-tekorten de immuniteit aantasten, is het van belang dat de dieren hiermee voldoende worden gesupplementeerd. Alhoewel het nog niet volledig duidelijk is wat de specifieke rol van vitamine E- en selenium-tekorten is bij het ontstaan van *Klebsiella*-problemen, werd wel aangetoond dat de dieren op sommige probleembedrijven met *Klebsiella*-mastitis, te kampen hadden met te lage vitamine E- en seleniumbloedspiegels (Zadoks en Munoz, 2007). Volgens het NRC (2001) is de vitamine E-behoefte bij lacterende koeien 545 IE (1 IE = 1 mg  $\alpha$ -tocoferylacetaat) per dag. Voor droogstaande koeien wordt de behoefte op 1000 IE per dag gesteld, wat naar het einde van de droogstand toe mag verhoogd worden tot 1200 IE. Wat selenium betreft, wordt de behoefte voor droogstaande koeien op 5 mg selenium per dier per dag gesteld. Voor melkgevendende dieren is de behoefte 0,3 mg selenium per kilogram droge stof. Op moderne hoogproductieve melkveebedrijven dienen de koeien daarom gedurende de hele droogstand met droogstandmineralen gesupplementeerd te worden. Deze zijn immers rijk aan magnesium, vitamine E, vitamine A en selenium (Opsomer *et al.*, 2004). Ook andere ziekten, zoals boviene virale diarree, waarvan bekend is dat ze de weerstand kunnen verminderen, kunnen de gevoeligheid voor mastitis verhogen en dienen dus terdege bestreden te worden (Radostits *et al.*, 1994).

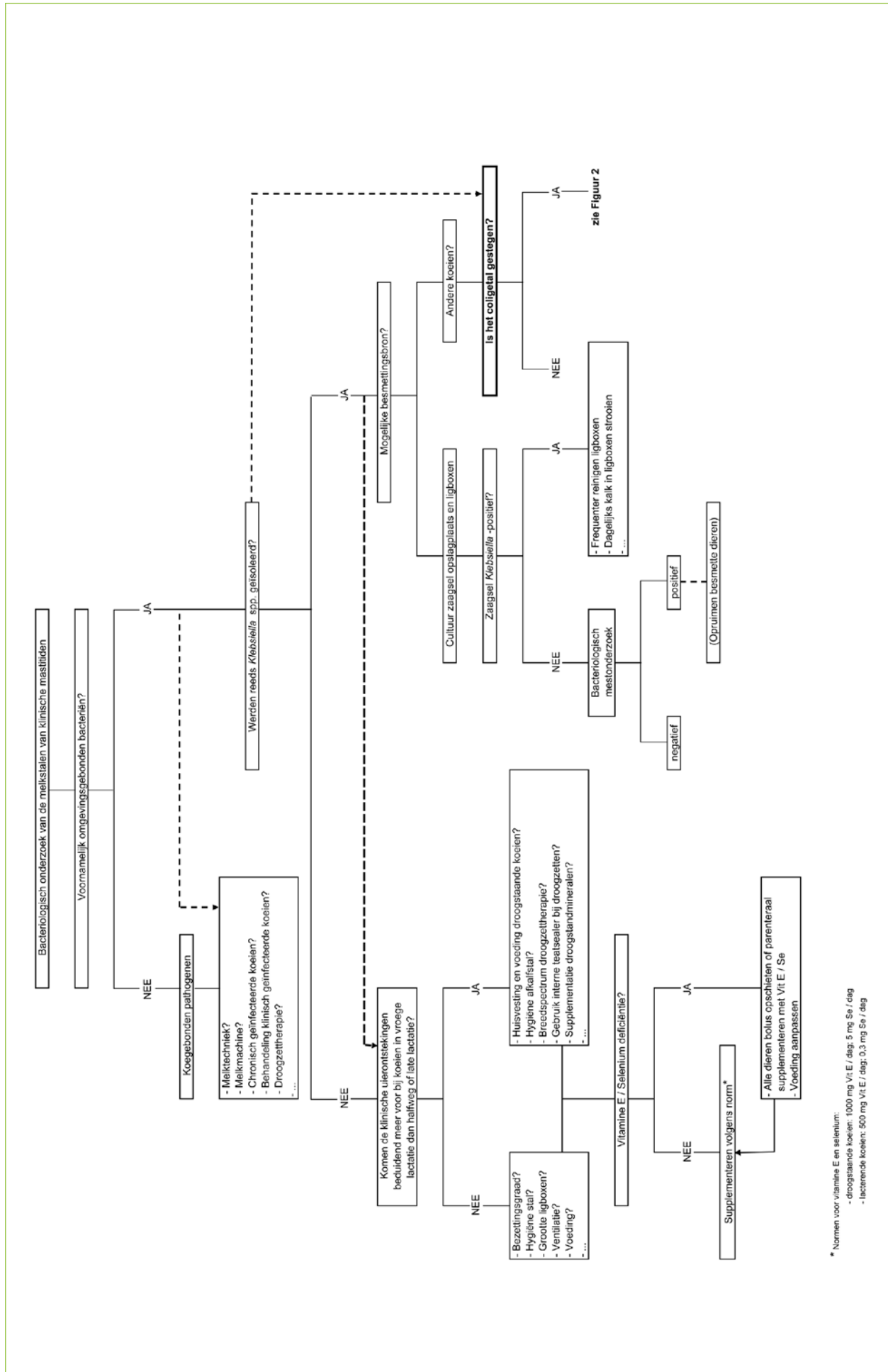
Voor de preventie van mastitis veroorzaakt door omgevingskiemen in het algemeen werd door het NMC in 2001 het eerdere vijfpuntenplan, dat vooral efficiënt blijkt in de bestrijding van koegebonden mastitisveroorzakers, aangevuld tot een tienpuntenplan dat ook in 2006 alweer werd aangepast (NMC, 2006):

1. Regelmatige controle van de melkmachine
2. Behandeling van klinische mastitiden
3. Dippen na het melken
4. Droogstandtherapie met antibiotica in alle kwartieren
5. Opruimen van chronisch aangetaste dieren
6. Handhaven van een hygiënische en comfortabele omgeving
7. Bepalen van de objectieven wat betreft uiergezondheid
8. Goede administratie
9. Regelmatige monitoring van de uiergezondheid
10. Evaluatie van de ingestelde bestrijdingsprogramma's

#### STRATEGISCHE AANPAK VAN EEN *KLEBSIELLA*-PROBLEMBEDRIJF

Indien een bedrijf te maken heeft met een uitbraak van klinische mastitisgevallen veroorzaakt door coliformen of door *Klebsiella* spp. in het bijzonder, dan moet geprobeerd worden de verschillende (risico)factoren aan te pakken om het probleem onder controle te krijgen. In Figuur 1 wordt kort samengevat hoe men het beste te werk gaat.

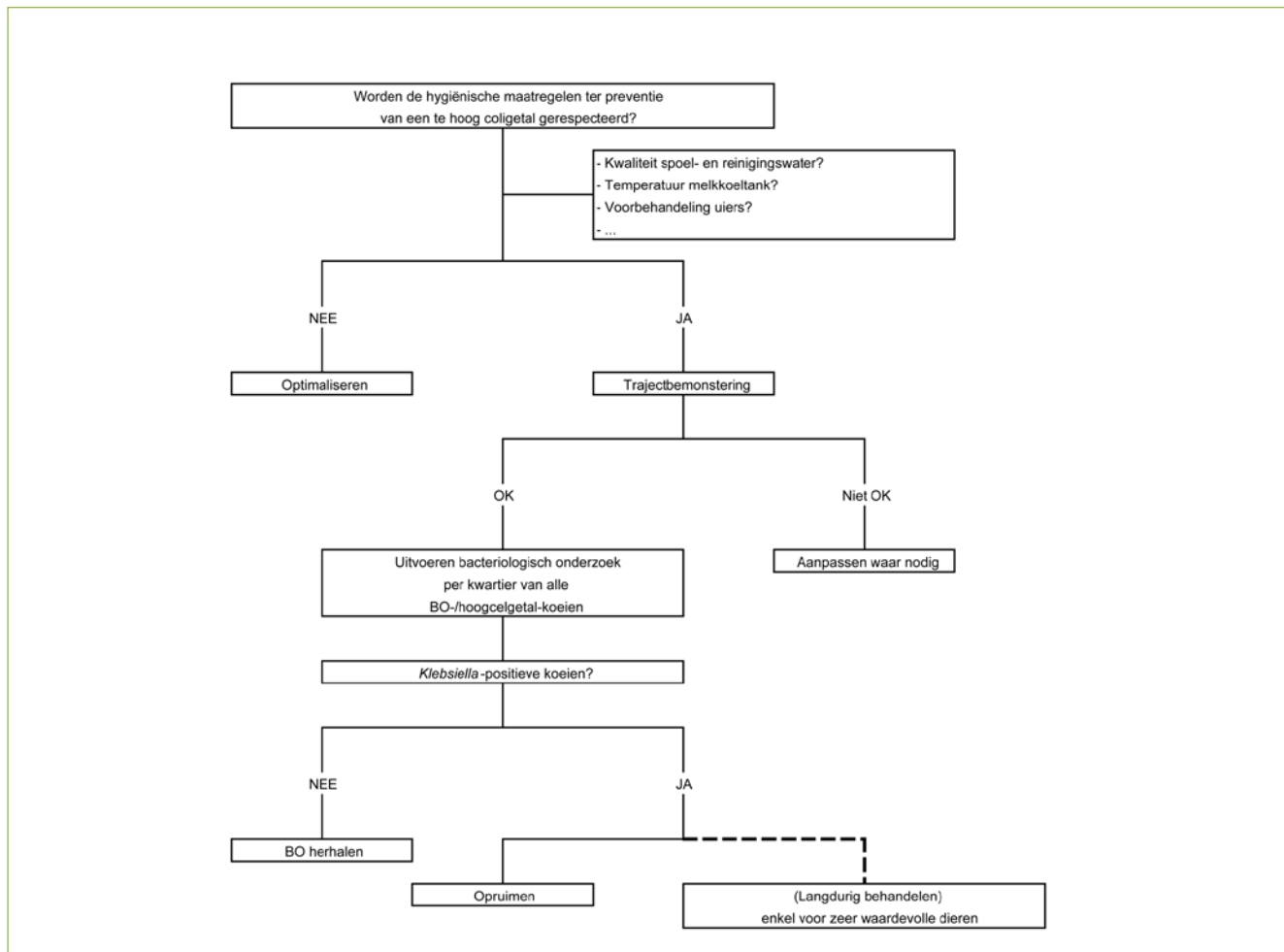
Heeft een bedrijf echter te kampen met een verhoogd coligetal, dan dient de focus anders te liggen (Figuur 2).



\* Normen voor vitamine E en selenium:  
 - droogstaande koeien: 1000 mg Vit E / dag; 5 mg Se / dag  
 - lacterende koeien: 500 mg Vit E / dag; 0,3 mg Se / dag

Figuur 1. Strategische aanpak van een bedrijf met een uitbraak van klinische mastitis.





**Figuur 2. Strategische aanpak van een bedrijf met coligetalproblemen.**

## CONCLUSIE

Hoewel bepaalde individuele koefactoren invloed hebben op het al dan niet ontstaan van coliforme mastitis, zijn er verschillende huisvestings- en managementfactoren die kunnen aangepast en verbeterd worden om de incidentie van IMI's met coliformen op het melkveebedrijf te reduceren. In het kader van *Klebsiella* moet vooral aandacht besteed worden aan de kwaliteit van het beddingmateriaal. Vooral organische beddingmaterialen en dan voornamelijk harde houtproducten bevatten grote aantallen omgevingskiemen vaak met *Klebsiella* spp. als koplopers. Het spreekt voor zich dat grote aantallen kiemen in het beddingmateriaal voor een hoge contaminatie van de tepelhuid zorgen en de kans op mastitis veroorzaakt door omgevingskiemen verhogen. Het doel is aldus een omgeving te creëren die zowel droog en proper als comfortabel voor de koe is. Een adequate ventilatie en de routinematige verwijdering van mest zijn twee kritische punten om dit doel te kunnen bereiken. Daarnaast moet een goed droogstandsmanagement gevolgd door een hygiënisch afkalproces worden nagestreefd. Bovendien moeten de dieren toegang hebben tot een uitgebalanceerd rantsoen, aangepast aan de leeftijd, het lactatiestadium en de individuele productie om zo tot een optimale afweer te komen.

## LITERATUUR

- Bannerman D.D., Paape M.J., Hare W.R., Hope J.C. (2004). Characterization of the bovine innate immune response to intramammary infection with *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Dairy Science* 87, 2420-2432.
- Bartlett P.C., Miller G.Y., Lance S.E., Heider L.E. (1992). Managerial determinants of intramammary coliform and environmental streptococci infections in Ohio dairy herds. *Journal of Dairy Science* 75, 1241-1252.
- Bennett R.H. (1982). Teat dip as a component of coliform mastitis control. *Dairy and Food Sanitation* 2, 110-114.
- Blowey R.W., Edmondson P.W. (1995). Mastitis control in dairy herds. Farming Press, Ipswich, England.
- Blowey R., Edmondson P. (2000). The environment and mastitis. *In Practice* 22 (7), 382-394.
- Boden E. *Klebsiella* in Black's Veterinary Dictionary, 20<sup>th</sup> edition, A & C Black, London, 2001, p.290.
- Bradley A.J., Green M.J. (2001a). Adaptation of *Escherichia coli* to the bovine mammary gland. *Journal of Clinical Microbiology* 39, 1845-1849.
- Bradley A.J., Green M.J. (2001b). A study of the incidence and significance of gram positive infections acquired during the dry period under UK field conditions. *Proceedings 40<sup>th</sup> Annual Meeting National Mastitis Council*.
- Bradley A.J., Green M.J. (2001c). An investigation of the impact of intramammary antibiotic dry cow therapy on clinical coliform mastitis. *Journal of Dairy Science* 84, 1632-1639.

- Bradley A.J. (2002). Bovine mastitis: An evolving disease. *The Veterinary Journal* 164, 116-128.
- Bradley A.J., Green M.J., Huxley J.N. (2002). Making better use of milk samples: Monitoring and investigating herd mastitis. *Cattle Practice* 10, 105-112.
- Britten A.M. (1994). Dairy free stall bedding systems and udder health. In: Dairy Systems for the 21<sup>st</sup> century. R. Bucklin (editor). Proceedings of the third international dairy housing conference held in Orlando, Florida, pp 165-173.
- Burvenich C., Van Merris V., Mehrzad J., Diez-Fraile A., Duchateau L. (2003). Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Veterinary Research* 34, 521-564.
- Buxton A., Fraser G. Arizona (1977). *Proteus, Klebsiella* and *Shigella* in Animal Microbiology, vol. 1, Blackwell Scientific Publications, Oxford, p. 117-120.
- Cortes G., Alvarez D., Saus C., Alberti S. (2002). Role of lung epithelial cells in defense against *Klebsiella pneumoniae* pneumonia. *Infection and Immunity* 70, 1075-1080.
- Davidson J.N., Babish J.G., Dunny G.M. (1982). Bovine mastitis: antimicrobial resistance patterns. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2, 153-155.
- de Kruif A. (1999). De uiergezondheid. In: *Bedrijfsdiergeneeskunde Rund*. Cursusnota's Faculteit Diergeneeskunde, pp. 54-88.
- Dierengezondheidszorg Vlaanderen (2004). Rapport Monitoring Dierengezondheid Rundvee/Kleine Herkauwers 2004. [www.dierengezondheidszorg.be/ondersteuning/praktijk\\_advies\\_publicaties\\_runderen/rapport\\_r\\_kh\\_2004.pdf](http://www.dierengezondheidszorg.be/ondersteuning/praktijk_advies_publicaties_runderen/rapport_r_kh_2004.pdf)
- Dodd F.H., Higgs T.M., Bramley A.J. (1984). Cubicle management and coliform mastitis. *The Veterinary Record* 114, 522-523.
- Dogan B., Klaessig S., Rishniw M., Almeida R.A., Oliver S.P., Simpson K., 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.G.M., Schukken Y.H., Gaastra W. (1999). Recurrent clinical mastitis caused by *Escherichia coli* in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 82, 50-85.
- Döpfer D., Almeida R.A., Lam T.J.G.M., Nederbragt H., Oliver S.P., Gaastra W. (2000). Adhesion and invasion of *Escherichia coli* from single and recurrent clinical cases of bovine mastitis in vitro. *Veterinary Microbiology* 74, 331-343.
- Dunn C. (1994). Acute coliform mastitis in a dairy cow. *Canadian Veterinary Journal* 35, 301-302.
- Eberhart R.J. (1984). Coliform mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 6, 287-300.
- Elbers A.R.W., Miltenburg J.D., De Lange D., Crauwels A.P.P., Barkema H.W., Schukken Y.H. (1998). Risk factors for clinical mastitis in a random sample of dairy herds from the southern part of The Netherlands. *Journal of Dairy Science* 81, 420-426.
- Erskine R.J., Eberhart R.J., Grasso P.J., Scholz R.W. (1989). Induction of *Escherichia coli* mastitis in cows fed selenium-deficient or selenium-supplemented diets. *American Journal of Veterinary Research* 50, 2093-2100.
- Erskine R.J., Tyler J.W., Riddell M.G., Wilson R.C. (1991). Theory, use, and realities of efficacy and food safety of antimicrobial treatment of acute coliform mastitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 6, 980-983.
- Erskine R.J., Walker R.D., Bolin C.A., Bartlett P.C., White D.G. (2001). Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period. *Journal of Dairy Science* 85, 1111-1118.
- Erskine R.J., Bartlett P.C., VanLente J.L., Phipps C.R. (2002). Efficacy of systemic ceftiofur as a therapy for severe clinical mastitis in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 85, 2571-2575.
- Faye B., Lescourret F., Dorr N., Tillard E., MacDermott B., McDermott J. (1997). Interrelationships between herd management practices and udder health status using canonical correspondence analysis. *Preventive Veterinary Medicine* 32, 117-192.
- Grindal R.J., Hillerton J.E. (1991). Influence of milk flow rate on new intramammary infaction in dairy cows. *Journal of Dairy Research* 58, 263-269.
- Grohn Y.T., Wilson D.J., Gonzalez R.N., Hertl J.A., Schulte H., Bennett G., Schukken Y.H. (2004). Effect of pathogen-specific clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87, 3358-3374.
- Grohn Y.T., Gonzalez R.N., Wilson D.J., Hertl J.A., Bennett G., Schulte H., Schukken Y.H. (2005). Effect of pathogen-specific clinical mastitis on herd life in two New York State dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* 71, 105-125.
- Harmon R.J. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of Dairy Science* 77, 2103-2112.
- Hill A.W. (1994). *Escherichia coli* mastitis. In: *Escherichia coli* in domestic animals and humans. Gyles C.L. (editor). Wallingford, Oxon: CAB International, pp 117-133.
- Hogan J.S., Smith K.L. (1987). A practical look at environmental mastitis. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 9, F341-F346.
- Hogan J.S., Smith K.L., Hoblet K.H., Schoenberger P.S., Todhunter D.A., Hueston W.D., Pritshard D.E., Bowman G.L., Heider K.E., Brockett B.L., Conrad H.R. (1989). Field survey of clinical mastitis in low somatic cell count herds. *Journal of Dairy Science* 72, 1547-1556.
- Hogan J.S., Smith K.L., Todhunter D.A., Schoenberger P.S. (1990). Bacterial counts associated with recycled newspaper bedding. *Journal of Dairy Science* 73, 1756-1761.
- Hogan J.S., Smith K.L. (1992). Creating a quality environment: Bedding. Thirty-first Annual Meeting of the National Mastitis Council. Arlington, Virginia, pp 201-203.
- Hogan J.S., Weiss W.P., Smith K.L. (1996). Nutrition and mammary host defences against disease in dairy cattle. In: *Progress in Dairy Science*. Phillips C.J.C. (Editor). Wallingford, Oxon: CAB International, pp 45-57.
- Hogan J.S., Smith K.L. (1997). Bacteria counts in sawdust bedding. *Journal of Dairy Science* 80, 1600-1605.
- Hogan J.S., Bogacz V.L., Thompson L.M., Romig S., Schoenberger P.S., Weiss W.P., Smith K.L. (1999). Bacterial counts associated with sawdust and recycled manure bedding treated with commercial conditioners. *Journal of Dairy Science* 82, 1690-1695.
- Hogan J.S., Smith K.L. (2003). Coliform mastitis: Review Article. *Veterinary Research* 34, 507-519.
- Jackson E., Bramley A.J. (1983). Coliform Mastitis. *The Veterinary Record supplement: In Practice* 5, 135.
- Knittel M.D., Seidler R.J., Eby C., Cabe L.M. (1977). Colonization of the botanical environment by *Klebsiella* isolates of pathogenic origin. *Applied and Environmental Microbiology* 34, 557-563.
- Krieg N.R., Holt J.G. (1984). *Klebsiella*. In: Orskov F. (Editor). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 1 Williams and Wilkins Co., Baltimore, MD.
- Lam T.J.G.M., Lipman L.J.A., Schukken Y.H., Gaastra W., Brand A. (1996). Epidemiological characteristics of bovine clinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* studied by DNA fingerprinting. *American Journal of Veterinary Research* 57, 38-42.

- Lederman E.R., Crum N.F. (2005). Pyogenic liver abscess with a focus on *Klebsiella pneumoniae* as a primary pathogen: an emerging disease with unique clinical characteristics. *American Journal of Gastroenterology* 100, 322-331.
- Leonard F.C., O'Connell J.M. (1997). Cubicle housing conditions and cow comfort. *Irish Veterinary Journal* 50, 675-682.
- Lescourret F., Coulon J.B., Faye B. (1995). Predictive model of mastitis occurrence in the dairy cow. *Journal of Dairy Science* 78, 2167-2177.
- Manninen E., dePassill A.M., Rushen J., Norring M., Saloniemi H. (2002). Preferences of dairy cows kept in unheated buildings for different kind of flooring. *Applied animal behaviour science* 75, 281-292.
- McDonald J.S., Anderson A.J. (1981). Experimental intramammary infection of the dairy cow with *Escherichia coli* during the nonlactating period. *American Journal of Veterinary Research* 42, 229-231.
- Mee J.F. (2004). Managing the dairy cow at calving time. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice. Managing the transition cow to optimize health and productivity* 20, 521-546.
- Menzies F.D., Mackie D.P. (2001). Bovine toxic mastitis: risk factors and control measures. *Irish Veterinary Journal* 54, 30-37.
- 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., Zadoks R.N. (2007). Short Communication: patterns of fecal shedding of *Klebsiella* by dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90, 1220-1224.
- Neave F.K., Dodd F.H., Kingwill R.G., Westgarth D.R. (1969). Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management. *Journal of Dairy Science* 52, 696-707.
- Newman L.E. en Kowalski J.J. (1973). Fresh sawdust bedding – a possible source of *Klebsiella* organisms. *American Journal of Veterinary Research* 34, 979.
- Newman L.E. (1975). *Klebsiella* mastitis as a herd problem. NMC, Madison, WI.
- NMC (1996). Current concepts of bovine mastitis. National Mastitis Council, Madison, WI.
- NMC (1997). A practical look at environmental mastitis. National Mastitis Council, US.
- NMC (1999). Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. National Mastitis Council, US.
- NMC (2001). Recommended mastitis control program. [www.nmconline.org/docs/NMCchecklist.INT.pdf](http://www.nmconline.org/docs/NMCchecklist.INT.pdf).
- NRC (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7<sup>th</sup> rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Oliver S.P., Bushe T. (1987). Growth inhibition of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* during involution of the bovine mammary gland: relation to secretion composition. *American Journal of Veterinary Research* 48, 1669-1673.
- Opsomer G., De Vlieghe S., Laureyns J., Hoflack G., Beeckman D., de Kruif A. (2001). Verhoogd coligetal in de tankmelk door *Klebsiella oxytoca* mastitis. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 70, 50-53.
- Opsomer G., De Vlieghe S., de Kruif A. (2004). Droogstand en transitieperiode van hoogproductieve melkkoeien: wat met de voeding? *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 73, 373-383.
- Pankey J.W. (1989). Hygiene at milking time in the prevention of bovine mastitis. *The British Veterinary Journal* 145, 401-409.
- Podschun R., Ullmann U. (1998). *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology Reviews* 11 (4), 589-603.
- Radostits O.M., Blood D.C., Gay C.C. (editors). *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. 8<sup>th</sup> edition, London: Baillière Tindall, 1994, p 1763.
- Rapport Monitoring Dierengezondheid Rundvee / Kleine Herkauwers 2004, Dierengezondheidszorg Vlaanderen, 10-12.
- Rendos J.J., Eberhart R.J., Kesler E.M. (1975). Microbial populations of teat ends of dairy cows and bedding materials. *Journal of Dairy Science* 58, 1492.
- Reneau J.K., Bey R.F., Farnsworth R.J. (2002). Bedding management and udder health. *The American Association of Bovine Practitioners Proceedings – vol. 35*.
- Sampimon O. (2004). Oral Presentation: Milk Quality in The Netherlands.
- Schukken Y.H., Grommers F.J., Van de Geer D., Erb H.M., Brand A. (1990). Risk factors for clinical mastitis in herds with a low bulk milk somatic cell count. 1. Data and risk factors for all cases. *Journal of Dairy Science* 73, 3463-3471.
- Schukken Y.H., Grommers F.J., Van de Geer D., Erb H.M., Brand A. (1991). Risk factors for clinical mastitis in herds with a low bulk milk somatic cell count. 2. Risk factors for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science* 74, 826-832.
- Seimiya Y., Ohshima K., Itoh H., Murakami R., Haritani M. (1993). A case of neonatal calf with meningitis associated with *Klebsiella oxytoca* infection. *Journal of Veterinary Medical Science* 55, 141-143.
- Slettbakk T., Jørstad A., Farver T.B., Holmes J.C. (1995). Impact of milking characteristics and morphology of udder and teats on clinical mastitis in first- and second-lactation Norwegian cattle. *Preventive Veterinary Medicine* 24, 235-244.
- Smith K.L., Oliver S.P. (1981). Lactoferrin: a component of non-specific defense of the involuting bovine mammary gland. In: *The Ruminant Immune System*. Butler J.E. (Editor). Plenum Press, New York, p 535.
- Smith K.L., Todhunter D.A., Schoenberger P.S. (1985). Environmental mastitis: causes, prevalence, prevention. *Journal of Dairy Science* 68, 1531-1553.
- Smith K.L., Hogan J.S. (1993). Environmental mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 9, 489-498.
- Smith K.L., Hogan J.S. (2001). The world of mastitis. Proceedings 2<sup>nd</sup> International Symposium on Mastitis and Milk Quality. Vancouver, British Columbia, Canada, pp. 1-12.
- Sordillo L.M., Nickerson S.C. (1988). Morphometric changes in the bovine mammary gland during involution and lactogenesis. *American Journal of Veterinary Research* 49, 1112.
- Tadich N.A., Carey A., Porter R., Ridley J., Green M.J., Green L.E. (1998). Case control study of risk factors for toxic mastitis in 26 dairy herds. *The Veterinary Record* 143, 362-365.
- Todhunter D.A., Smith K.L., Hogan J.S. (1990a). Growth of gram-negative bacteria in dry cow secretion. *Journal of Dairy Science* 73, 363-372.
- Todhunter D.A., Smith K.L., Hogan J.S. (1990b). Intramammary challenge of the bovine mammary gland with coliform bacteria during early involution. *Journal of Dairy Science* 73, 1217-1224.
- Todhunter D.A., Smith K.L., Hogan J.S., Schoenberger P.S. (1991). Gram-negative bacterial infections of the mammary gland in cows. *American Journal of Veterinary Research* 52, 184-188.
- Tucker C.B., Weary D.M., Fraser D. (2003). Effects of three types of freestall surfaces on preferences and stall usage by dairy cows. *Journal of Dairy Science* 86, 521-529.
- Van De Geer D.V.D., Schukken Y.H., Grommers F.J., Brand A. (1988). A matched case-control study on clinical masti-

- tis in Holstein-Friesian dairy cows. *Proceedings of the Sixth International Congress on Animal Hygiene*, Skara, Sweden, pp 60-64.
- Vecht U., Meijers K.C.H.M., Wisselink H.J. (1987). *Klebsiella pneumoniae* mastitis als bedrijfsprobleem. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 112 (11), 653-659.
- Wenz J.R., Barrington G.M., Garry F.B., McSweeney K.D., Dinsmore R.P., Goodell G., Callan R.J. (2001). Bacteremia associated with naturally occurring acute coliform mastitis in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 219, 976-981.
- Wilson D.J., Gonzalez R.N., Das H.H. (1997). Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: prevalence and effects on somatic cell count. *Journal of Dairy Science* 80, 2592-2598.
- Yeh K.M., Chang F.Y., Fung C.P., Lin J.C., Siu L.K. (2006). mag A is not a specific virulence gene for *Klebsiella pneumoniae* strains causing liver abscess but is part of the capsular polysaccharide gene cluster of *K. pneumoniae* serotype K1. *Journal of Medical Microbiology* 55, 803-804.
- Yeruham I., Elad D., Avidar Y., Goshen T. (2006). A herd level analysis of urinary tract infection in dairy cattle. *The Veterinary Journal* 71, 172-176.
- 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., Schukken Y.H. (2006). Use of molecular epidemiology in veterinary practice. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice* 22, 229-261.
- Zadoks R.N., Munoz M.A. (2007). The emergence of *Klebsiella* as a major mastitis organism. *NMC Annual Meeting Proceedings*. San Antonio, Texas, pp. 100-111.
- Zdanowicz M. (2002). Sand and sawdust bedding affect populations of Coliforms, *Klebsiella* spp. and *Streptococcus* spp. on teat ends of dairy cows housed in freestalls. *A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Science in The Faculty of Graduate Studies. The University of British Columbia*.
- Zdanowicz M., Shelford J.A., Tucker C.B., Weary D.M., von Keyserlingk M.A.G. (2004). Bacterial populations on teat ends of dairy cows housed in free stalls and bedded with either sand or sawdust. *Journal of Dairy Science* 87, 1694-1707.