

VERHOOGD COLIGETAL IN DE TANKMELK DOOR *KLEBSIELLA OXYTOCA* MASTITIS

Elevated number of coliform bacteria in the bulk milk
due to chronic *Klebsiella oxytoca* mastitis

G. Opsomer, S. De Vliegher, J. Laureyns, G. Hoflack, D. Beeckman, A. de Kruif

Vakgroep Voortplanting, Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, België
geert.opsomer@rug.ac.be

SAMENVATTING

In dit artikel wordt een bijzonder geval van een verhoogd coligetal in de tankmelk van een hoogproductief melkveebedrijf beschreven. Het betrof een zeer goed geleid bedrijf waar een plotselinge stijging van het coligetal was opgetreden. Na een grondig onderzoek bleek één koe te lijden aan een chronische *Klebsiella oxytoca* mastitis in één uierkwartier. Deze koe bleek de oorzaak van het probleem te zijn. Blijkbaar kunnen bij een chronische mastitis veroorzaakt door een *Klebsiella*-infectie zoveel kiemen vanuit het aangetaste kwartier in de melk uitgescheiden worden, dat dit kan leiden tot een verhoogd coligetal in de tankmelk.

ABSTRACT

This case report describes a special case of a bulk milk quality problem in a well managed, high yielding dairy herd. The number of coliform bacteria per ml milk was too high. The problem was caused by a chronic *Klebsiella oxytoca*-infection in one udder quarter of one cow. Apparently, chronic udder infections caused by Gram-negative bacteria may give rise to profuse shedding of bacteria, causing problems with bulk milk quality.

Keywords: Dairy cow - Milk quality - Mastitis - *Klebsiella*

CASUÏSTIEK

In maart 2000 werd door een bedrijfsleider van een hoogproductief melkveebedrijf (gemiddelde 305 dagen productie: 10.200 kg melk), tijdens een maandelijks bedrijfsbezoek in het kader van de bedrijfsbegeleiding, geklaagd over een te hoog coligetal van de tankmelk. Het betrof een bedrijf met een 50-tal Red-Holstein koeien met een zeer goed management. Er was een stijging van het coligetal waargenomen tijdens de halfmaandelijks controle voor de melkkwaliteit, wat uiteindelijk had geleid tot het overschrijden van de grens van 50 coliformen per ml melk waardoor de melkveehouder werd geschorst als AA-melkvee-

rancier. Een overzicht van de halfmaandelijks coligetalbepalingen in die periode wordt in figuur 1 weergegeven.

In de periode maart-mei werd een uitgebreid en grondig onderzoek verricht, teneinde de oorzaak van het probleem te achterhalen. De algemene hygiëne op het bedrijf, en meer in het bijzonder in de melkput en bij de koeien, werd bekeken. Met de veehouder werd de melktechniek (wijze van voorbehandelen, reinigen van uier en tepels alvorens het melkstel werd aangehangen) doorgenomen. De melkmachine werd uitgetest, de reiniging en desinfectie van de melkinstallatie en de koeltank werden gecontroleerd en alle rubberen onderdelen van de melkinstallatie (tepel-

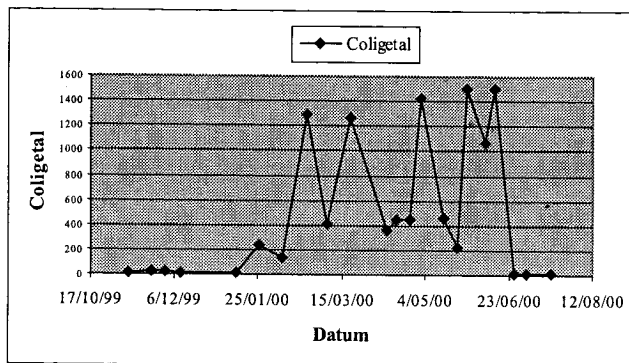


Fig. 1. Het verloop van het coliget in de tankmelk.

voeringen, melkslangen, dichtingen) werden geïnspecteerd en waar nodig vervangen. In de periode waarin het probleem zich voordeed, werd tweemaal met één maand tussentijd een zogenaamde trajectbemonstering uitgevoerd. Hierbij werden tijdens het melken op verschillende plaatsen van het traject (de verschillende melkstellen, de persleidingen, de aftapventielen, het restwater van de persleidingen) stalen genomen en werd het aantal coliformen bepaald. Ook het water waarmee de melkmachine werd gereinigd en gespoeld, werd gecontroleerd op coliformen. Alhoewel met geen enkele van deze onderzoeken de oorzaak van het probleem kon worden opgespoord, werden toch een extra desinfectie en een spoeling van de melkleidingen uitgevoerd door een daartoe gespecialiseerd bedrijf.

In dezelfde periode werden enkele attentiekoeien met een te hoog celgetal bemonsterd voor bacteriologisch onderzoek, teneinde de oorzaak van dit verhoogde celgetal te achterhalen. Bij één van deze koeien werd uit het rechter voorkwartier een *Klebsiella oxytoca* geïsoleerd. Het ging om een oudmelkte, hoogproductieve koe die op 4 april 1999 voor de tweede keer had gekalfd. Een overzicht van de productie- en celgetalgegevens van de betreffende koe wordt in figuur 2 weergegeven.

Volgens de veehouder had deze koe eind oktober een klinische uierontsteking in het betreffende kwartier gehad. Aangezien het een milde uierontsteking was die niet gepaard ging met ernstige algemene symptomen, had de veehouder het betreffende kwartier veelvuldig leeggemolken en gedurende 5 melkbeurten behandeld met een Lincocin® uierinjector. Tijdens het eerstvolgende bedrijfsbegeleidingsbezoek (november 1999) werd van het betreffende kwartier een melkmonster genomen waaruit bleek dat het ging om een *Klebsiella*-infectie. Na de behandeling was de uierontsteking veel verbeterd, doch de

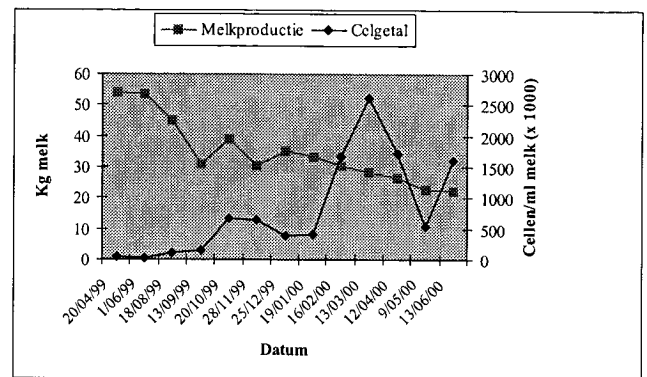


Fig. 2. Melkproductie- en celgetalgegevens van de betreffende koe gedurende de lopende lactatie

veehouder merkte op dat er zich bij het voorbehandelen nog vaak vlokken in de melk bevonden. In juni 2000 werd daarom nogmaals een bacteriologisch onderzoek van het betreffende kwartier uitgevoerd en tevens werd het aantal coliformen per ml melk bepaald. Opnieuw werd een *Klebsiella* uit het kwartier geïsoleerd, terwijl het aantal aanwezige coliformen de maximale detectielimiet overschreed (>1500 coliformen per ml melk). Vervolgens werd 3 keer het coliget in de tankmelk bepaald, en dit met of zonder de melk van de aangetaste koe. Telkens wanneer er zich geen melk van de betreffende koe in de melktank bevond, zakte het coliget onder de vereiste norm (coliget < 10). Wanneer er zich echter wél melk van deze koe in de tank bevond, was er een sterke stijging van het coliget merkbaar en dit zelfs boven de detectielimiet van 1500 kiemen per ml melk.

Wegens het chronische karakter van de infectie, het niet-slagen van de therapie, de slechte prognose en het aanhoudende gevaar voor nieuwe infecties met bijhorend gevaar voor een stijging van het cel- en coliget, werd de veehouder het advies gegeven de koe op te ruimen. Dit gebeurde eind juni 2000. Sindsdien hebben er zich op het bedrijf geen abnormale stijgingen van het coliget meer voorgedaan.

DISCUSSIE

Teneinde het melkverbruik in België te stimuleren, is in het begin der vijftiger jaren de AA-melk in het leven geroepen. Dit typisch Belgisch fenomeen moest er toe bijdragen de melk een beter imago te bezorgen via een strengere productiecontrole. Tweemaal per maand wordt in de melk geleverd door een AA-melkproducent, onder andere het coliget bepaald. Hier toe wordt het aantal coliforme bacteriën per ml melk geteld na kweken op een selectieve voedingsbodem.

De beoordeling gebeurt op basis van het geometrisch gemiddelde van de resultaten van de laatste twee maanden. Dit geometrisch gemiddelde mag hoogstens 50 bedragen. Bij het overschrijden van deze norm volgt een schorsing tengevolge van onvoldoende kwaliteitsresultaten, die wordt toegepast in de maand volgend op de bekendmaking van de maandelijkse kwaliteitsuitslag. Deze coligetálnorm is een grote struikelsteen voor AA-melkleveranciers. Zo was in 1998 65% van de schorsingen als AA-melkleverancier te wijten aan het overschrijden van de coligetálnorm (Anonymus, 1999).

De lactose-positieve coliforme bacteriën die worden geteld ter bepaling van het coligetál behoren tot verschillende geslachten (*Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*), alle gramnegatieve, staafvormige bacteriën. Vele van deze coliforme bacteriën komen voor in het darmkanaal van mens en dier. Vandaar dat het coligetál een maat is voor de besmetting van melk met mest of sterk vervuild water. Sommige soorten coliformen leven vooral op organisch materiaal en zijn aldus eerder terug te vinden in bedorven of vervuilde voedingsresten. Besmetting van tankmelk met coliformen is dus enerzijds mogelijk via bezoedeling met mestdeeltjes (bijvoorbeeld bij een onzorgvuldige voorbehandeling en melktechniek) en anderzijds via achtergebleven melkresten in de melkinstallatie (vooral in gedeelten van de installatie die systematisch onvoldoende gereinigd worden, of in verstorven rubberdeeltjes). Om besmetting van de melk met coliformen te voorkomen, dient dus vooral aandacht te worden besteed aan hygiënische maatregelen.

Uit het bovenstaande komt reeds duidelijk naar voren dat een te hoog kiem- en coligetál vrijwel altijd worden veroorzaakt door bezoedeling van het materiaal en de recipiënten. De melk verlaat de uier immers kiemarm (meestal minder dan 10.000 kiemen/ml), zodat de oorsprong van een te hoog aantal kiemen in de tankmelk vrijwel nooit bij de koeien moet worden gezocht (de Kruif, 1999). Aangezien de bovengrens van het coligetál echter veel lager ligt (50 coliformen/ml melk) dan die van het kiemgetál (40.10³ kiemen/ml melk), kan een verhoging van het coligetál dan ook eerder worden toegeschreven aan de koeien zelf.

Klebsiella-uierontstekingen komen over het algemeen minder vaak en meer verspreid in de lactatie voor dan *E. coli*-infecties (Vecht *et al.*, 1987; Todhunter *et al.*, 1991; Wilson *et al.*, 1997). Todhunter *et al.* (1991) toonden daarenboven aan dat *Klebsiella*-infecties tijdens de lactatie vooral waargenomen wor-

den na 90 dagen post partum. Tevens vermeldden deze auteurs dat *Klebsiella*-infecties die optreden tijdens de lactatie significant langer persisteren dan de meer gebruikelijke *E. coli*-infecties (124 vs. 24 dagen; $P < 0,005$), waaruit kan worden besloten dat dergelijke infecties vaker aanleiding geven tot een chronische uierontsteking. Bovendien werd aangetoond dat klinische mastitiden veroorzaakt door Gramnegatieven meer voorkomen op bedrijven met een laag celgetál (Barkema *et al.*, 1998).

Opmerkelijk in het hier beschreven geval is de chronische, hoge uitscheiding van *Klebsiella*-kiemen, die dan ook aanleiding gaf tot een overschrijding van de norm voor het coligetál in de tankmelk. Rekening houdend met de sterke verdunning (± 30 liter melk uit het aangetaste kwartier in een tank met 3.500 liter) moet de uitscheiding van Gramnegatieven uit dat ene kwartier zeer groot zijn geweest ($> 15.10^4$ kiemen per ml melk). Een dergelijke chronische, massale uitscheiding van kiemen bij een Gramnegatieve mastitis is zeldzaam. Het is immers bekend dat, bij acute *E. coli*-mastitiden, de uitscheiding van het aantal kiemen eerder gering en van korte duur is, waardoor het zelfs moeilijk is een klinische diagnose van een *E. coli*-mastitis bacteriologisch te laten bevestigen. Bij vele van dergelijke infecties worden er immers minder dan 100 kolonievormende eenheden/ml melk uitgescheiden, wat de detectiegrens is wanneer, zoals bij routineonderzoek, 0,01 ml melk op een bloedagarplaat wordt geënt (Smith en Hogan, 1993). Recent werd echter wel aangetoond dat ongeveer 5% van de acute *E. coli*-mastitiden overgaat in een chronische infectie (Döpfer *et al.*, 1999). In welke mate er bij deze persisterende infecties kiemen worden uitgescheiden, werd echter niet medegedeeld.

Als bron van een *Klebsiella*-uierinfectie wordt vaak verwezen naar het materiaal dat als bedding wordt gebruikt in de stal. Zo staat zaagmeel bekend als een belangrijke bron van *Klebsiella* spp., en dit vooral in de zomer (Vecht *et al.*, 1987; Hogan *et al.*, 1989). Volgens Hogan *et al.* (1989) kan er zelfs een lineair verband worden aangetoond tussen het aantal klinische mastitiden op een bedrijf en het aantal *Klebsiella* spp. dat in de bedding wordt teruggevonden. Behandelen van het zaagsel met kalk, of het gebruik van gehakseld stro, of stalmatten verminderde significant het aantal Gramnegatieve bacteriën en derhalve ook het aantal klinische mastitiden (Vecht *et al.*, 1987; Hogan en Smith, 1997). *Klebsiella pneumoniae* is de meest voorkomende *Klebsiella* soort in infecties van mens en dier. De normale habitat van de in dit ge-

val aangetroffen soort *K. oxytoca* verschilt niet duidelijk van deze van *K. pneumoniae*, voor zover bekend.

Op basis van het hier beschreven onderzoek kan worden gesteld 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 is besmet met *Klebsiella* bacteriën. Wanneer men in de praktijk wordt geconfronteerd met een bedrijf met een verhoogd coligetal, dan is ook bacteriologisch onderzoek van alle koeien met een te hoog celgetal noodzakelijk.

DANKBETUIGING

Dank gaat uit naar Marc De Vrieze en Ir. R. Bossuyt van de Vereniging voor de Melkwaliteit (Lier) voor hun medewerking bij het onderzoek van dit probleem en voor het ter beschikking stellen van de noodzakelijke gegevens.

LITERATUUR

- Anonymus (1999). Coli-achtige bacteriën en melkwaliteit. Interne nota Vereniging voor de Melkwaliteit Lier.
- 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.
- de Kruijf A. (1999). De uiergezondheid. In: Bedrijfsdiergeneeskunde rund. Cursusnota's Faculteit Diergeneeskunde, pp. 54-88.
- 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, 80-85.
- Hogan J.S., Smith K.L., Hoblet K.H., Todhunter D.A., Schoenberger P.S., Hueston W.D., Pritchard D.E., Bowman G.L., Heider L.E., Brockett B.L., Conrad H.R. (1989). Bacterial counts in bedding materials used on nine commercial dairies. *Journal of Dairy Science* 72, 250-258.
- Hogan J.S., Smith K.L. (1997). Bacteria counts in sawdust bedding. *Journal of Dairy Science* 80, 1600-1605.
- Smith K.L., Hogan J.S. (1993). Environmental mastitis. *The Veterinary Clinics of North America (Food animal practice: Update on bovine mastitis)* 9, 489-498.
- 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.
- Vecht U., Meijers K.C.H.M., Wisselink H.J. (1987). *Klebsiella pneumoniae* mastitis als bedrijfsprobleem. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 112, 653-659.
- 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.