

Behandling af klinisk mastitis og lidt om subklinisk mastitis og diagnostik

BoviCura, Års, 10. Maj 2022

12 dyrlæger

Line Svennesen

Postdoc

Københavns Universitet

KØBENHAVNS UNIVERSITET



STØTTET AF

Mælkeafgiftsfonden

Mine forudsætninger..

- DVM 2013
- Phd om diagnostik af smitsom mastitis
- Postdoc ved Københavns Universitet
- **Projekt "Yversundhed i top" – arbejds pakke vedr. behandling af mastitis**

Praksisnær
forskning?!



STØTTET AF

Mælkeafgiftsfonden

UNIVERSITY OF COPENHAGEN
DEPARTMENT OF VETERINARY AND ANIMAL SCIENCES

**Diagnosis of *Staphylococcus aureus* and
Streptococcus agalactiae mastitis**
Taking into account infection dynamics and teat skin as
a reservoir

PhD Thesis 2018 • Line Svennesen



Plan for nu..

Projekt vedr. behandling i DK

- Hvorfor...
- Hvordan...
- Hvad...
- Implementering i besætninger?

Hvis der er tid

- Subklinisk mastitis og diagnostik af aureus og agalactiae



Opvarmning

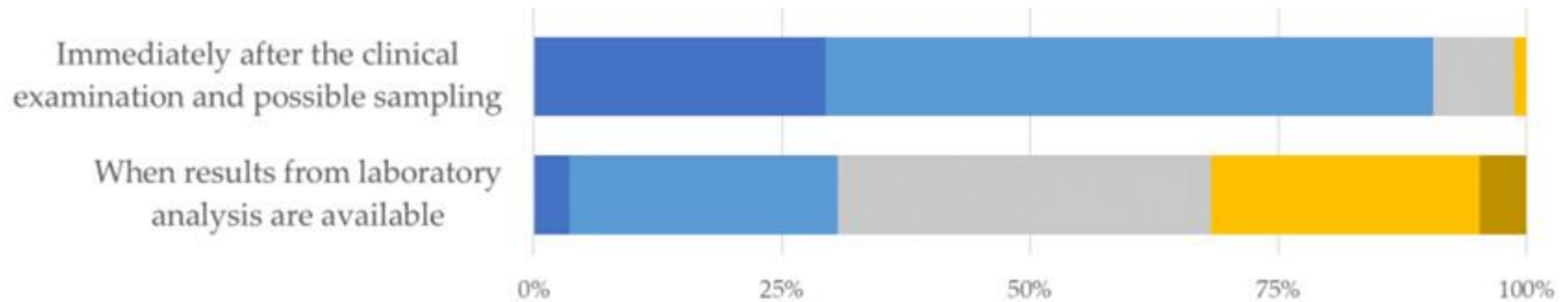


Spørgeskemaundersøgelse



Hvornår starter du behandling:

Straks
Venter på mælkeprøvesvar

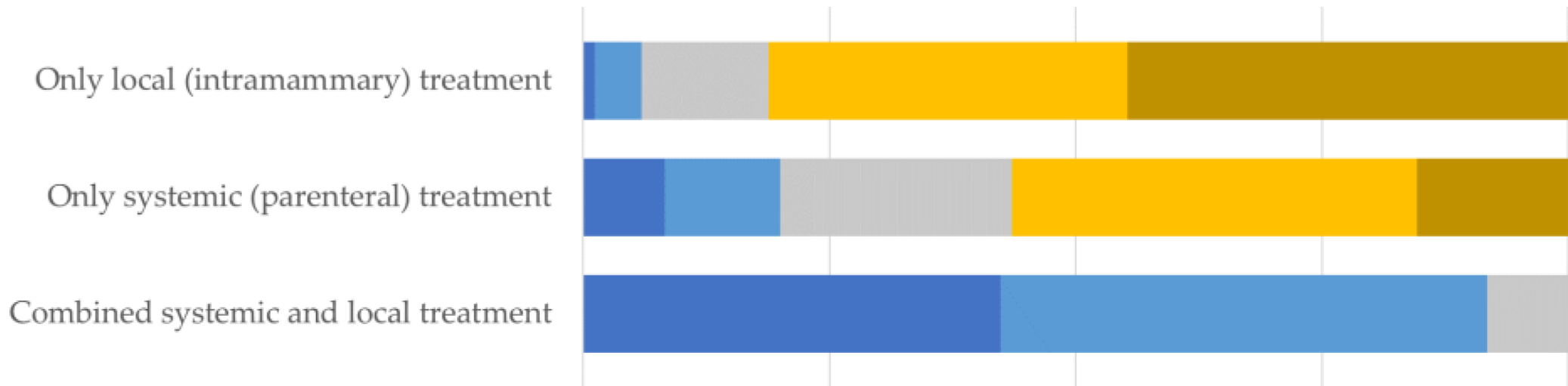


Spørgeskemaundersøgelse



**Hvis du behandler en
yverbetændelse er det så:**

**I kirtlen
I kroppen
Begge dele**



Projekt: Yversundhed i top!



Mælkeafgiftsfonden

REDUCÉR BRUG AF ANTIBIOTIKA

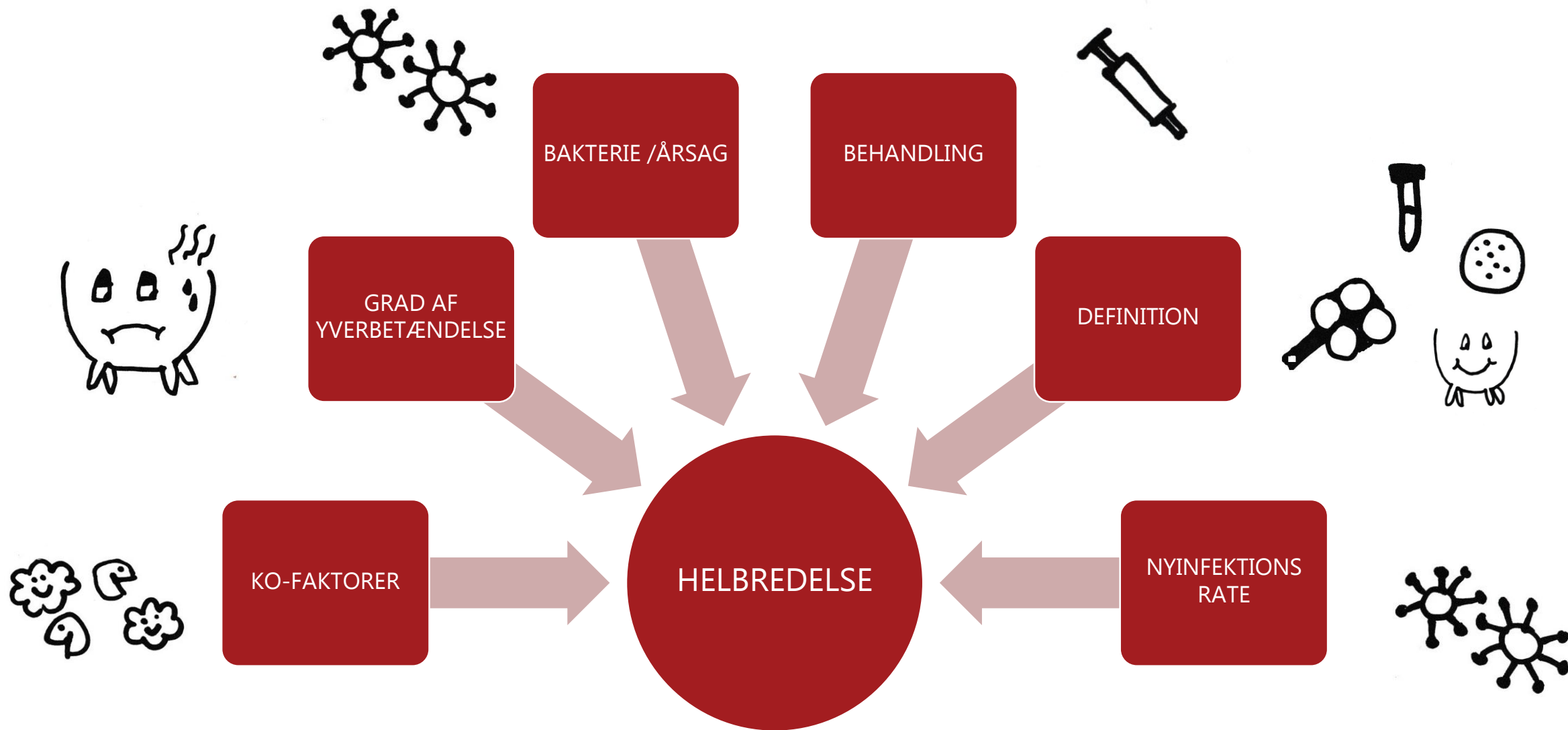
Laktationsbehandlinger
Parenteralt?

On-farm test
kan halvere
antal af
behandlinger?

- Hovedfokus: **Strategi for behandling af klinisk mastitis**
 - De "rigtige" køer
 - Den "rigtige" behandling

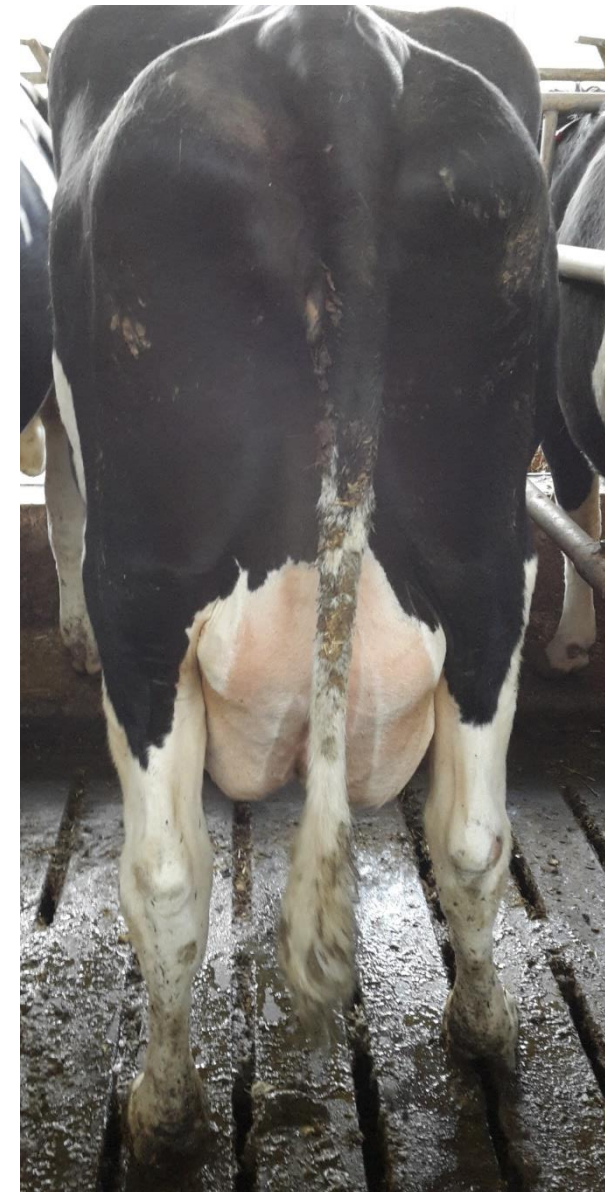
Effektiv behandling

Hvilke køer er de "Rigtige køer" ?



Ko faktorer

- Alder: yngre → bedre helbredelse
- DEK: tidlig laktation → bedre helbredelse
- Historik: første tilfælde → bedre helbredelse
 - ≥ 3 . tilfælde i laktation = uheldelig (Pinzón-Sánchez and Ruegg, 2011)
- Celletal: lavere SCC → bedre helbredelse
 - $\geq 3 \times \text{SCC} > 700.000$ = uheldelig (Østerås, 2006)
- Ydelse, energibalance mm.



Grad af mastitis

- 1) **Mild:** ændringer i mælkens udseende
- 2) **Moderat:** ændringer i mælkens udseende + inflammationstegn

Ikke dårligere helbredelse ved at vente 24 timer med antibiotikose (Wagner et al., 2007; Vasquez, 2017, Bates et al., 2020)



Grad af mastitis

3) Svær: ændringer i mælkens udseende + generelle sygdomstegn (almen påvirkning fx. Feber)

- Risiko for bakteræmi – behandles parenteralt (Wenz et al., 2011)
- Bakteriæmi bekræftet i 1-8% af tilfælde (Brennecke et al., 2020) – måske højere?
- 1/3 Gram negative, 1/3 ingen bakterier, 1/3 Strep. Uberis (Schmenger & Krömker, 2020)
- Højere cure rate ved svær grad af mastitis (self-cure?) (Oliveira et al., 2013) kort infektionstid!!



Årsag - Patogen

- *Staph. aureus* < alle andre
- Gram negativ eller no growth > Gram + : **Self-cure? Anvendt antibiotikum?**
- β -laktamase negativ > β -laktamase positiv
- Minor pathogens > Major pathogens

Table 1: *M. Ziesch
and V. Krömker, 2016*

Pathogen-related factor	Species/genus of pathogen cultured in pre-treatment sample		
		Significantly lower BC for cases caused by <i>S. aureus</i> than other pathogens	7, 13, 19
		Significantly higher BC for β -lactamase-negative <i>S. aureus</i> strains than for β -lactamase-positive <i>S. aureus</i> strains	11, 14, 20
		Significantly higher BC for <i>Sc. uberis</i> than <i>S. aureus</i> , <i>Sc. dysgalactiae</i> or multiple pathogens	12
		Significantly higher BC for CNS than <i>S. aureus</i>	22
		Significantly higher BC for minor pathogens than major pathogens	16, 17
		Significantly higher BC for coliform bacteria (especially <i>E. coli</i>) than environmental streptococci or mixed infections	23
		Higher BC for <i>E. coli</i> than for <i>Enterobacter cloacae</i> , lowest BC for <i>Klebsiella</i> spp. (without indication of significance)	24
		Significantly higher BC for cases no pathogen or gram-negative pathogens were cultured than cases caused by gram-positive or other pathogens	21
		Tendency for higher BC in culture-negative cases than in culture-positive cases	15

Cfu - koncentration

Shedding	No BC; no. (%)	BC; no. (%)	Total; no.
1-10 cfu/0.01 ml	13 (15.3)	72 (84.7)	85
11-50 cfu/0.01 ml	21 (21.0)	79 (79.0)	100
>50 cfu/0.01 ml	116 (28.6)	290 (71.4)	406

- Ziesch & Krömker 2016 - Factors influencing bacteriological cure after antibiotic therapy of clinical mastitis (bredspektret)
- Signifikant forskel på 1-10 cfu/10ul og > 50 cfu/10ul (OR=2,5)

Diagnostik

- Diagnostik forud for behandling: Tid/Logistik!?
- On-farm culture/On-farm test: hurtig (12-14 timer) G+/G-/no-growth
 - Reduktion i behandlinger = 50 % (Lago et al. 2011)
 - Økonomi afhænger af besætningens patogener...
 - Er beslutningsstøtte!



Variierende sensitivitet og specificitet, pris, tid

Test	Ready in	Sensitivity/Specificity	Labour input	Costs
mastDecide	12-14 h, G+, G-, no growth	G+: 84, 94%	+	++
VetoRapid	24-48 h , Streps, Staphs, G-, no growth	G+: 91, 78%	++	++
Accumast	16-24h, Streps (Strep. spp., Enterococci), Staphs (S. aureus, NAS), G- (E. coli, Pseu., other), no gr.	Overall: 82, 90%	++	++
Speed Mam Color	48 h, Staphs, Streps, G-, no growth, 7d Myco, Antibioqram after 24 h	Overall: 92, 96%	+++	+++
Rapid Aerobic Count/ Rapid Coliform Count	12 h; G+; G-, no growth	G+: 93, 39%	++	++
Aerobic Count plate Coliform Count	24 h; G+; G-, no growth	G+: 85, 75%	++	++
Minnesota Easy Culture System Bi-/Tri-Plate	18-24 h, Staph, Streps, G-; no growth	G+: 60, 83% Overall: 98, 69%	++	++
Mastitis SSGN /C Quad plate	24 h; Staph., Streps, G-, no growth	Overall: 79, 79%	+++	++
FluimediX Point of Cow BACT Gr+/- mastitis test	12-16 h, G+, G-, no growth	G+: 92, 87 %	++	++

 Krömker
2022

Diagnostik – on-farm test success

- Rene mælkeprøver!
- Egnede faciliteter – hygiejne! - overvej bortskaffelse af affald mm
- Systematik og konistens
- Perioder med sideløbende BU + MIC
- Forståelse for værktøjets begrænsninger
- Mod til også at træffe beslutninger der går imod testen?

Behandling

Ikke noget svar på hvad der er den bedste AB behandling i systematisk review (Winder et al., 2019)

Gram-positive bacteria, β -lactamas-

First choice	Treatment with Penicillin G.*
Second choice	Only supportive therapy, no antibiotics.

Gram-positive bacteria, β -lactamas+

First choice	Only supportive therapy, no antibiotics.
Second choice	Treatment with a β -lactamase resistant antibiotic.*, **

Gram-negative bacteria (E. coli)

First choice	Only supportive therapy, no antibiotics.
Second choice	Treatment with an antibiotic effective against gram-negative bacteria.*

Nordic guidelines for mastitis treatment, 2011

Behandling – administrationsvej penicillin

- Der er ikke forskel i “cure rate” mellem IMM og IM behandling af klinisk mastitis (Kalmus et al., 2014)
- Tillæg af IM øger ikke cure rate i forhold til IMM alene for mild-moderat klinisk mastitis (Krömker et al., 2017, review, forskellige præp.)
- *Staph. aureus* har muligvis bedre cure ved systemisk behandling frem for lokal behandling alene (Barkema et al., 2006, review, forskellige præp.)
- *Staph. aureus* signifikant højere cure ved kombi fremfor parenteral alene (Taponen et al., 2003)

Behandling – IMM fordele og ulemper

- Høj koncentration i mælk
- Hurtig effekt lokalt
- **Lavere dosis end ved systemisk behandling**
- **Ikke øget risiko for resistens som ved parenteral behandling**
- Undgår irritation ved IM administration
- Risiko for at tilføre bakterier via tube i pattekanal hvis ikke aseptisk administration
- Når ikke dybt i yvervæv og blodbane

	Mælk	Yver-væv	Ko/blod
Streptokokker	+++	+	
Staph. aureus	+	+++	
CNS	+++		
E.coli/Klebsiella	+		+++

Behandling – Behandlingslængde

Table 2. Estimated probabilities of bacteriological cure by pathogen and duration of intramammary treatment used for treatment of clinical mastitis occurring in primiparous and multiparous cows

Etiology of clinical mastitis	Treatment duration (d)	Bacteriological cure (%)		Source
		Primiparous	Multiparous	
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0.05	0.00	Gillespie et al., 2002; Deluyker et al., 2005; Oliver et al., 2004b
	2	0.15	0.10	
	5	0.25	0.20	
	8	0.40	0.25	
Environmental streptococci	0	0.30	0.25	Morin et al., 1998; Deluyker et al., 2005; Hoe and Ruegg, 2005; McDougall et al., 2007
	2	0.60	0.55	
	5	0.70	0.65	
	8	0.80	0.75	
CNS	0	0.60	0.55	Oliver et al., 2004b; Hoe and Ruegg, 2005; McDougall et al., 2007; van den Borne et al., 2010
	2	0.75	0.70	
	5	0.80	0.75	
	8	0.85	0.80	
<i>Escherichia coli</i>	0	0.80	0.75	Wilson et al., 1999; McDougall et al., 2007; Bradley and Green, 2009; van den Borne et al., 2010; Suojala et al., 2010.
	2	0.90	0.85	
	5	0.90	0.85	
	8	0.90	0.85	
<i>Klebsiella</i> spp.	0	0.40	0.35	Smith et al., 1985; Pyörälä and Pyörälä, 1998; Roberson et al., 2004; Hoe and Ruegg, 2005
	2	0.50	0.45	
	5	0.50	0.45	
	8	0.50	0.45	
No growth	0	0.95	0.90	Roberson et al., 2004; Pinzón-Sánchez, 2010.
	2	0.95	0.90	
	5	0.95	0.90	
	8	0.95	0.90	

MILD AND MODERATE CLINICAL MASTITIS IN EARLY LACTATION

NSAIDs

Positive effekter generelt! Som supplement til AB..

- Carprofen: positiv effekt på vommotilitet, hjerterytme, temperatur (Vangroenweghe et al., 2005)
- Flunixin: positiv effekt på temperatur, kliniske tegn (Anderson et al., 1986). Øger ædetid og rumenkontraktioner (Wagner et al., 2004)
- Ketoprofen: positiv effekt på cure rate for gram negative cases dagligt så længe der er symptomer (Shpigel et al., 1994) positiv effekt på temp, rumen, resp, ødem (Banting et al., 2008)
- Meloxicam: positiv effekt på bak. cure, repro, SCC og udsætning (McDougall et al., 2009 & 2016)

Ketoprofen 3 dage vs AB 3 dage

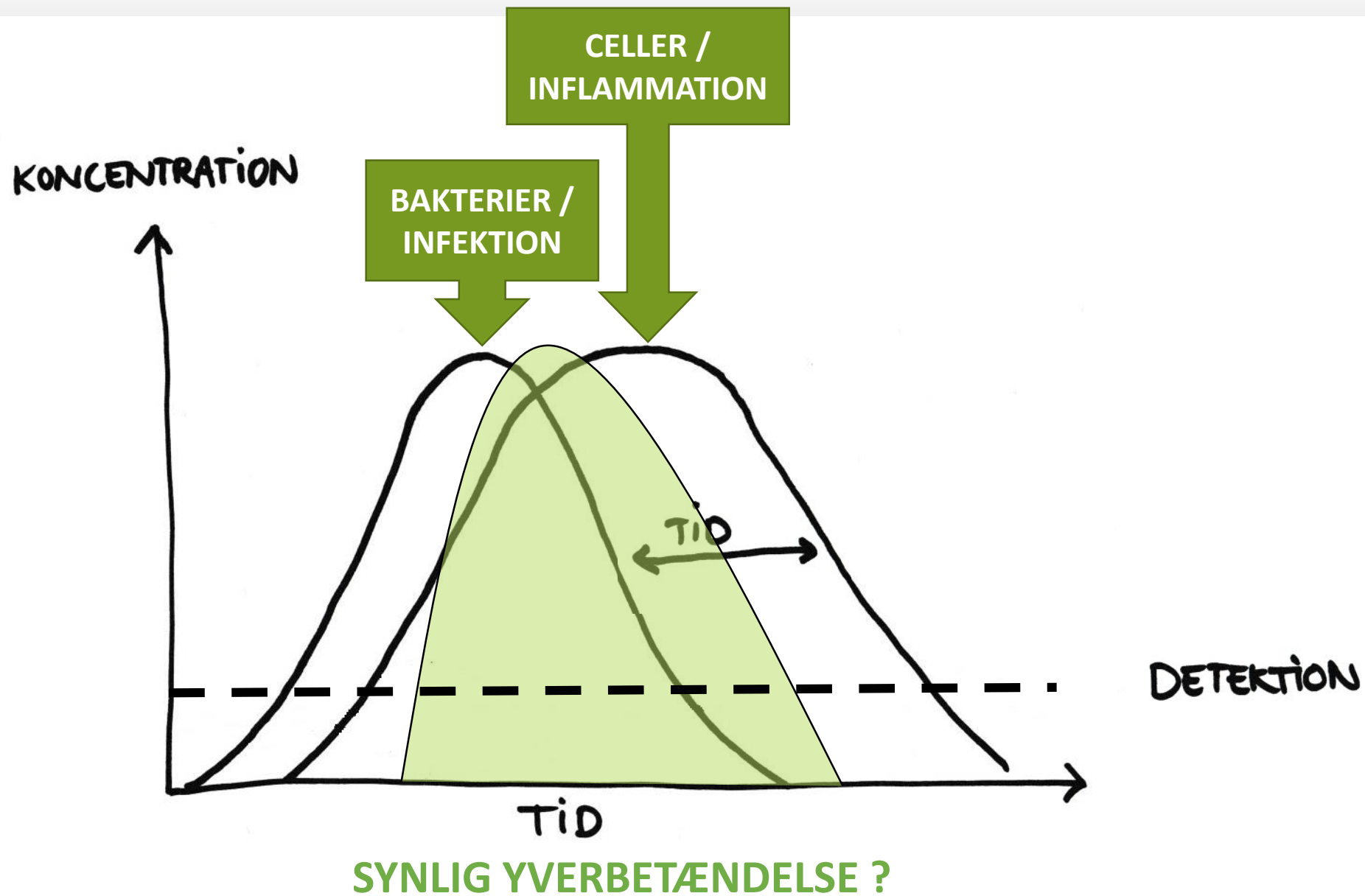
- Krömker et al., 2021
- Kronisk inficerede køer (3x kontrol >400.000 celler/ml eller 2 x behandling)
- Knap 300 køer

- Bakteriologisk helbredelse:
 - 48% med antibiotika (penicillin eller cefalosporin)
 - 40% med Ketoprofen
- Klinisk helbredelse: 50% vs 51%
- Tilbagevendende case ved 60 dage: 58% vs. 50%

Definition af helbredelse/cure

- **Bakteriologisk helbredelse**
- Cytologisk helbredelse (SCC)
- Klinisk helbredelse
- Kombination af ovenstående





Nyinfektionsrate - NIR

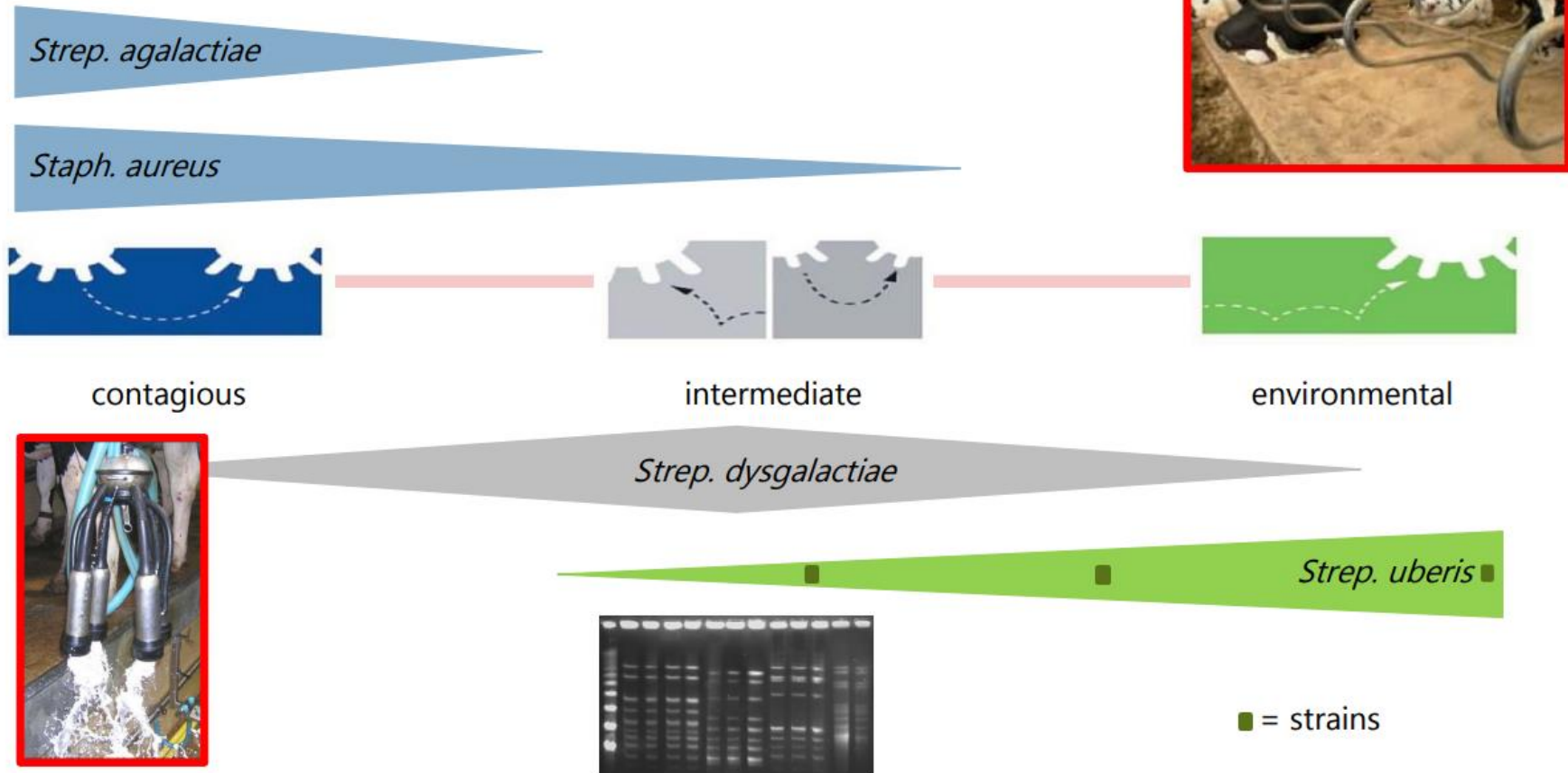
- Svært at skelne en mislykket behandling fra en ny infektion uden detaljeret viden om det involverede patogen (fx RAPD)
- 1/3 kliniske tilfælde vender tilbage med samme species i samme laktation (Wente et al. 2020)
 - 11% med samme bakteriestamme
 - 14% med samme species men ikke samme stamme
- Forskel i patogen:
 - *Staph. aureus* persisterende
 - *Strep. uberis* mange tilfælde af nyinfektion med anden stamme!

Lidt ekstra om uberis...

- Uberis kan opføre sig smitsomt – oftest miljø-associeret men ikke kun i halm
- Varmestress øger udskillelse! (Hamel et al., 2021)

Slide: Volker Krömker, DDDs årsmøde 2021

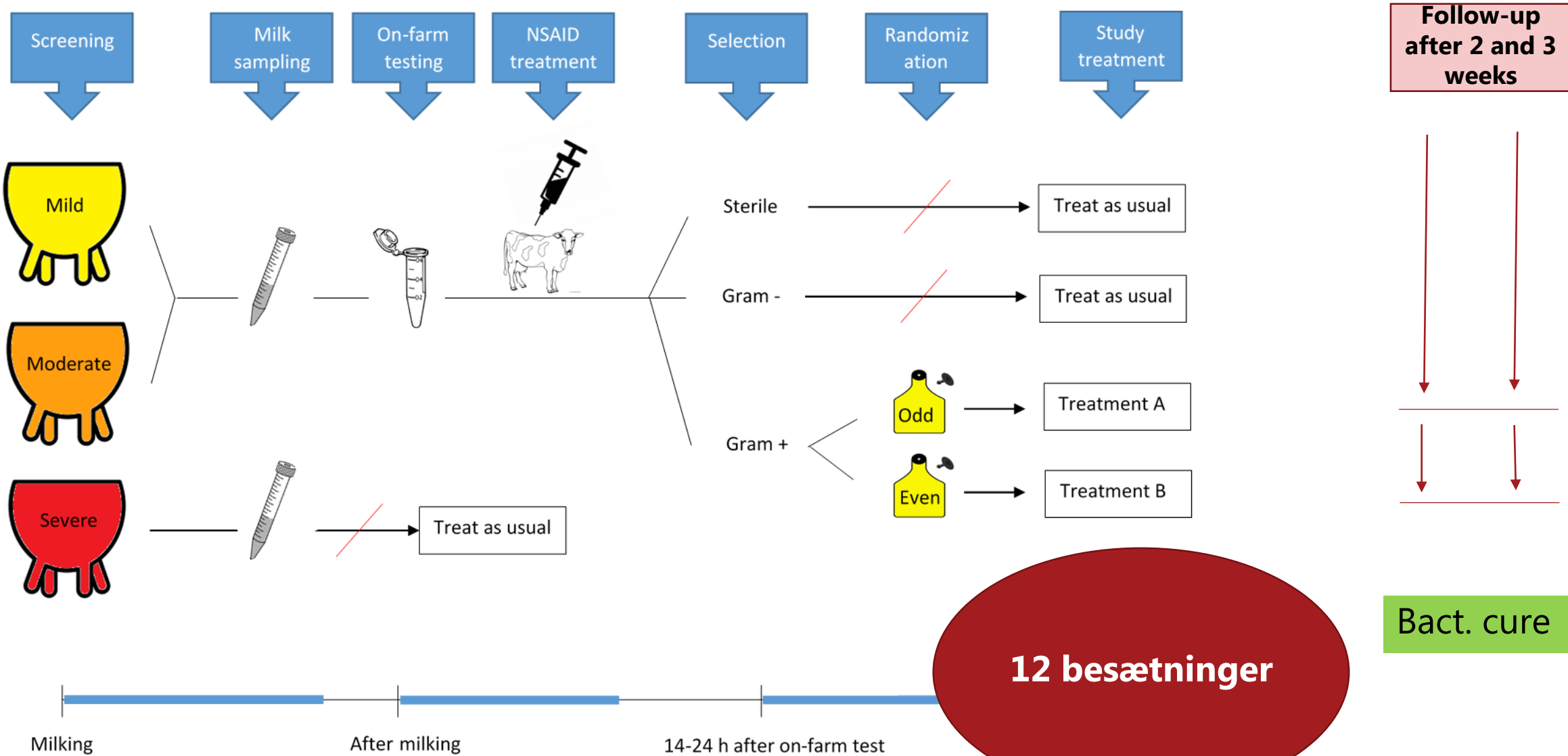
Pathogen categorization



Afprøvning i danske besætninger







Accept af margin på 15%
15 x reduceret mængde

- Cases til behandling:
 - Udvalges baseret på kliniske tegn (mild-moderat) og af markepersonale
 - On-farm test for at differentiere mellem G+ og G-, kun behandling af G+
 - Agens vurderes historisk på sterilt udtaget kirtelprøve
- **Behandling**
 - Kombineret behandling: Penicillin procain IMM + penthamathydroiodid IM (3 dage)
 - Lokal behandling: Penicillin procain IMM (3 dage)
 - Alle køer behandles med NSAID: ketoprofen (1 dag)
- Opfølgning efter 2 og 3 uger
- **Demonstrere at lokal behandling *ikke er værre end* parenteral + lokal behandling i forhold til helbredelse af mild og moderat klinisk mastitis med penicillin-præparater (Non-inferior studium)**








Nr.	Dato	Ko nr.	Kirtel	Mastitis grad	Prøve udtaget	OF test start	OF test slut	OF test resultat	Behandling*	Mastitis grad Dag 4
31				1 2 3				0 - +		0 1 2 3
32				1 2 3				0 - +		0 1 2 3
33				1 2 3						3
34				1 2 3						3
35				1 2 3						3
36				1 2 3						3
37				1 2 3						3
38				1 2 3						3
39				1 2 3						3
40				1 2 3						3

Graduering af mastitis

	Forandret mælk	Påvirket yver	Syg ko
			
	Klatter, flager, vandigt, og/eller misfarvet mælk	Hævet, rødt, varmt, hårdt, og/eller ømt yver	Fever > 39,5°C, almen påvirket, nedsat ædelyst og/eller nedsat ydelse
Grad			
1 	✓		
	Action: 1) mælkeprøve 2) on-farm test 3) smertestillende		
2 	✓	✓	
	Action: 1) mælkeprøve 2) on-farm test 3) smertestillende		
3 	✓	✓	✓
	Action: 1) mælkeprøve 2) behandl straks!		

Sådan tager vi en mælkeprøve

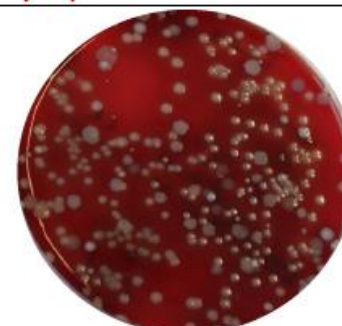
<p>Udstyr:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Handsker - Glas - Vat - alkohol 	
<p>1) Tag nye handsker på</p>	
<p>2) Desinficer pattespidsen:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Put alkohol på et stykke vat ➤ Rengør pattespidsen indtil vattet er helt rent når du fjerner det fra pattespidsen 	

<p>3) Malk ud:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Mindst 3 stråler på gulvet 	
<p>4) Tag mælkeprøven:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Skru låget af og gem det i hånden uden at røre indersiden ➤ Tag mælkeprøven mens glasset vinkles i 45° og holdes 20 cm fra patten ➤ Opsaml 5 ml mælk 	

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



Godt arbejde ☺

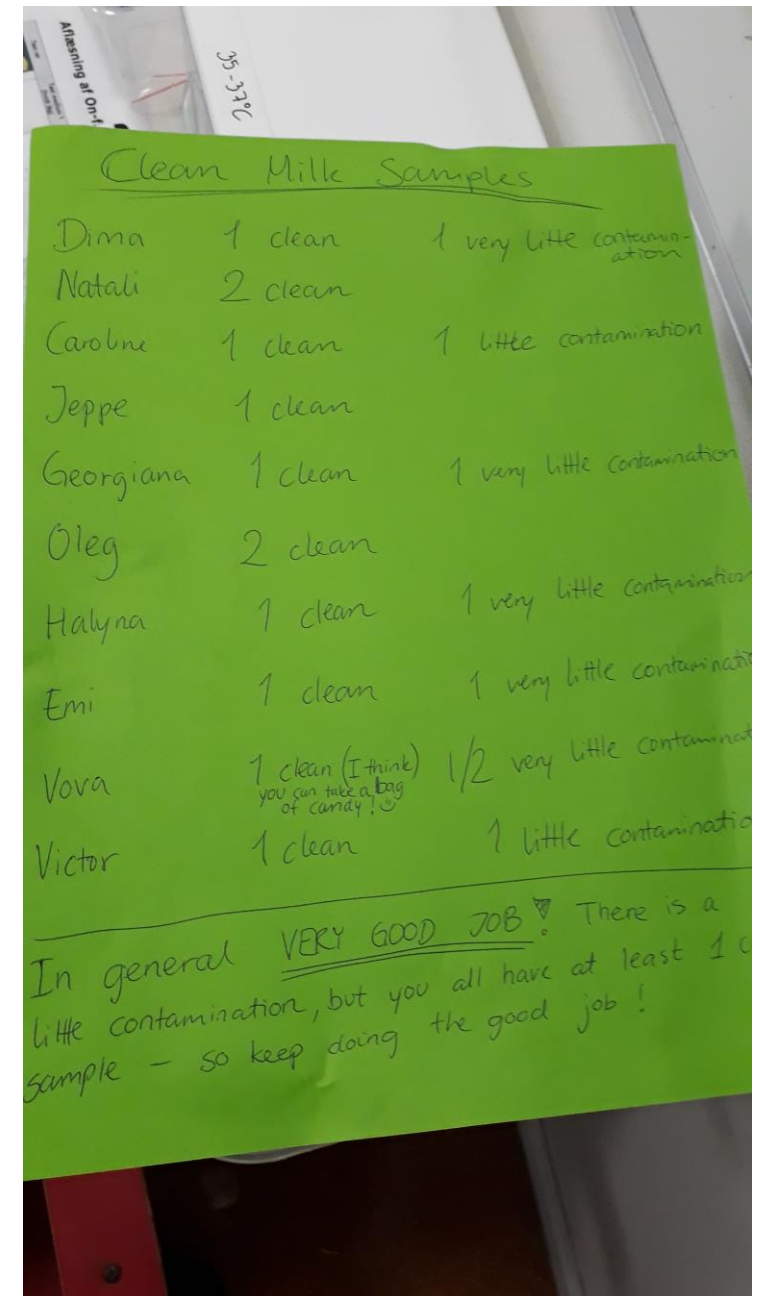


Forurening ☹






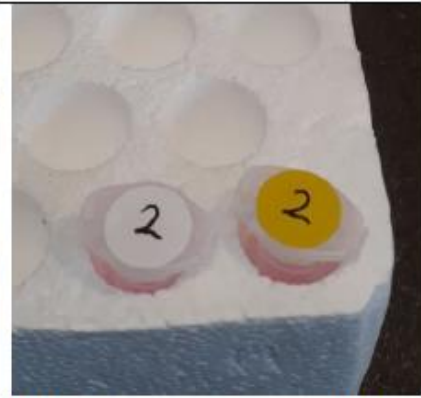


Harald nyborg:
28 kr incl. moms

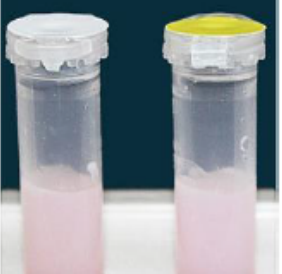




Process:	Take milk sample	
Stuff:	New tube	
Equipment:	New gloves, cotton and alcohol	
WHAT	HOW	WHY
Pull on new gloves	1. Pull on new gloves on both hands	1. Make sure we do not put bacteria from hands into the milk sample
Disinfect the teat end	1. Use a cotton pad with the size of an egg 2. Put alcohol on the cotton without making it completely wet 3. Clean the teat end and repeat until the cotton is clean when you remove it	1. Enough cotton to hold on and eventually use both sides 2. Gets the best cleaning and dry teat end 3. Make sure no bacteria from teat end get into the milk sample
Pre-milk	1. Milk out 3 streams on floor	1. Make sure no bacteria from the teat canal get into the milk sample
Collect the milk	1. Take off the cap and keep in inside the hand in which you will hold the tube 2. Hold the tube in a 45 degree angle with a 20 cm distance to the teat 3. Milk 5 ml milk into the tube and keep the tube in a 45 degree angle 4. Put on the cap without touching the inside of the cap	1. Make sure no bacteria from the gloves or udder get into the cap 2. Make sure we get no dirt from the udder into the sample and tube 3. Keep the minimum risk of getting dirt from the udder into the sample 4. Make sure we do not get bacteria from our hands into the sample



Vejledning til MastDecide On-farm test

	 		
1) Klargør mælkeprøve, pipette, HVID og GUL rør, tusch, stativ til prøver	2) Tag rene handsker på 3) Skriv nummer på rørene 4) Åbn rørene	5) Vend mælkeprøven et par gange og tag låget af uden at røre indersiden af låg eller glas	6) Fyld pipetten (0,1 ml) uden at røre prøveglaset med pipetten
			
7) Tilsæt mælk til det HVIDE rør uden at pipetten rører indersiden eller mediet	8) Gentag med det GULE rør	9) Vend rørene så væskerne blandes	10) Sæt rørene i varmeskab i mindst 12 til 14 timer 11) Frys mælkeprøven

Aflæsning af On-farm test efter 12-14 timer

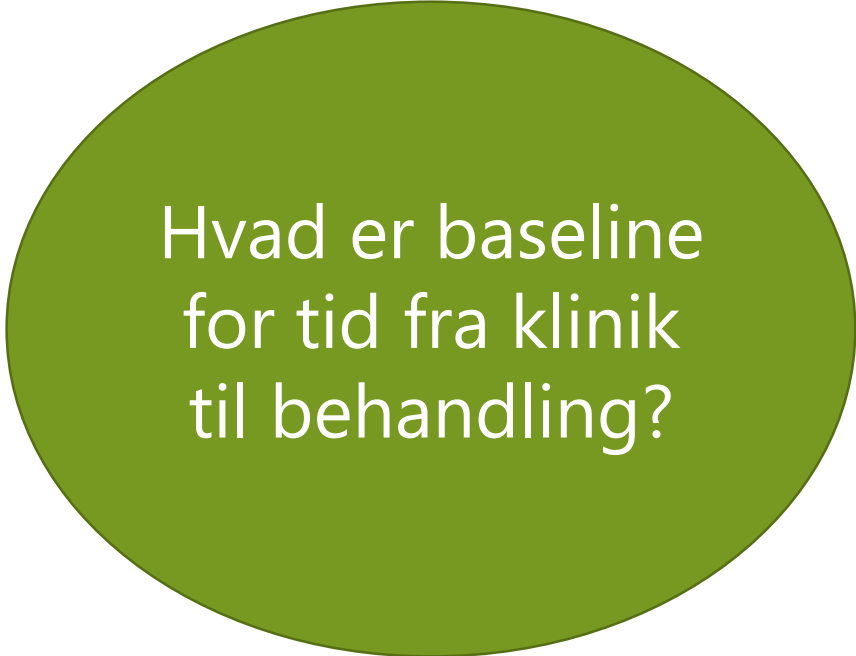
Test rør	Test medium 1 (hvidt låg)	Test medium 2 (gult låg)	Test resultat	Behandling	HUSK AT REGISTRERE RESULTATET!
	Pink	Pink	Ingen bakterier (0)	Ingen antibiotika 	
	Hvid	Pink	Gram negative bak (-)	Ingen antibiotika 	
	Hvid	Hvid	Gram positive bak (+)	Ulige øremærke → Behandles i kirtlen Lige øremærke → Behandles i kirtel og krop	

Foreløbige resultater

Bakteriologisk cure

- ***Positiv feedback på OF-test!***
- ***Efterspørgsel på "systematik"***
- ***Kliniske registreringer giver overblik***

Reduktion i antal AB behandlinger helt ned til 1/3
-uden umiddelbar effekt på yversundhed
-analyse følger..



Hvad er baseline
for tid fra klinik
til behandling?

Resultater

No.	Date	Cow ID	Quarter	Mastitis grade	Sample	OF test start	OF test end	OF test result	Treatment*	Mastitis grade Day 4
111	24.11	5235 MAX	HF	① 2 3	7:10	12:56	5:31	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
112	24.11	4683 MAX	VF	① 2 3	8:50	12:59	5:31	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
113	24.11	4683 MAX	HF	① 2 3	8:51	13:00	5:32	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
114	24.11	4888 MAX	HF	① 2 3	8:00	13:05	5:32	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
115	24.11	2674 MAX	HF	① 2 3	8:10	13:07	5:33	0 ⊖ ⊕	Carepen Mamyzin	0 1 2 3
116	24.11		VF	① 2 3	8:11	13:08	5:33	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
117	24.11		VF	① 2 3	8:12	13:09	5:33	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
118	24.11		VF	① ② 3	20:46	23:13	13:20	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
119	25.11	4367 MAX	HF	① 2 3	8:20	13:14	5:36	0 ⊖ +	—	0 1 2 3
120	25.11	4979 MAX	HB	① 2 3	8:00	13:16	5:36	0 ⊖ +	—	0 1 2 3

80% mild-moderat

35% G+

Knap 500 behandlinger

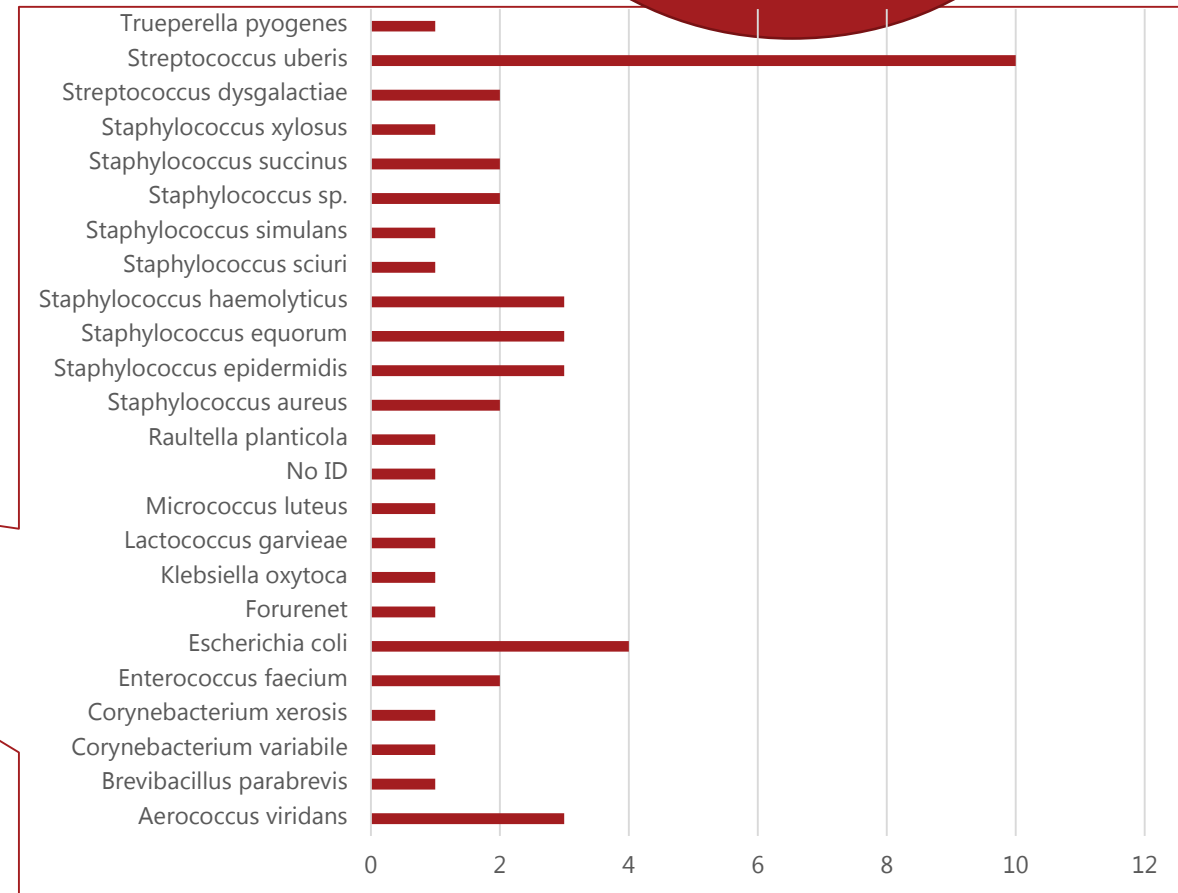
1800 registreringer

*Odd cow ID (1,3,5,7,9)= Carepen 3d, Even cow ID (0,2,4,6,8)= Carepen+Mamyzin 3d, ALL COWS= Dinalgen 1d
 The sample should be stored at 5°C BEFORE OF test

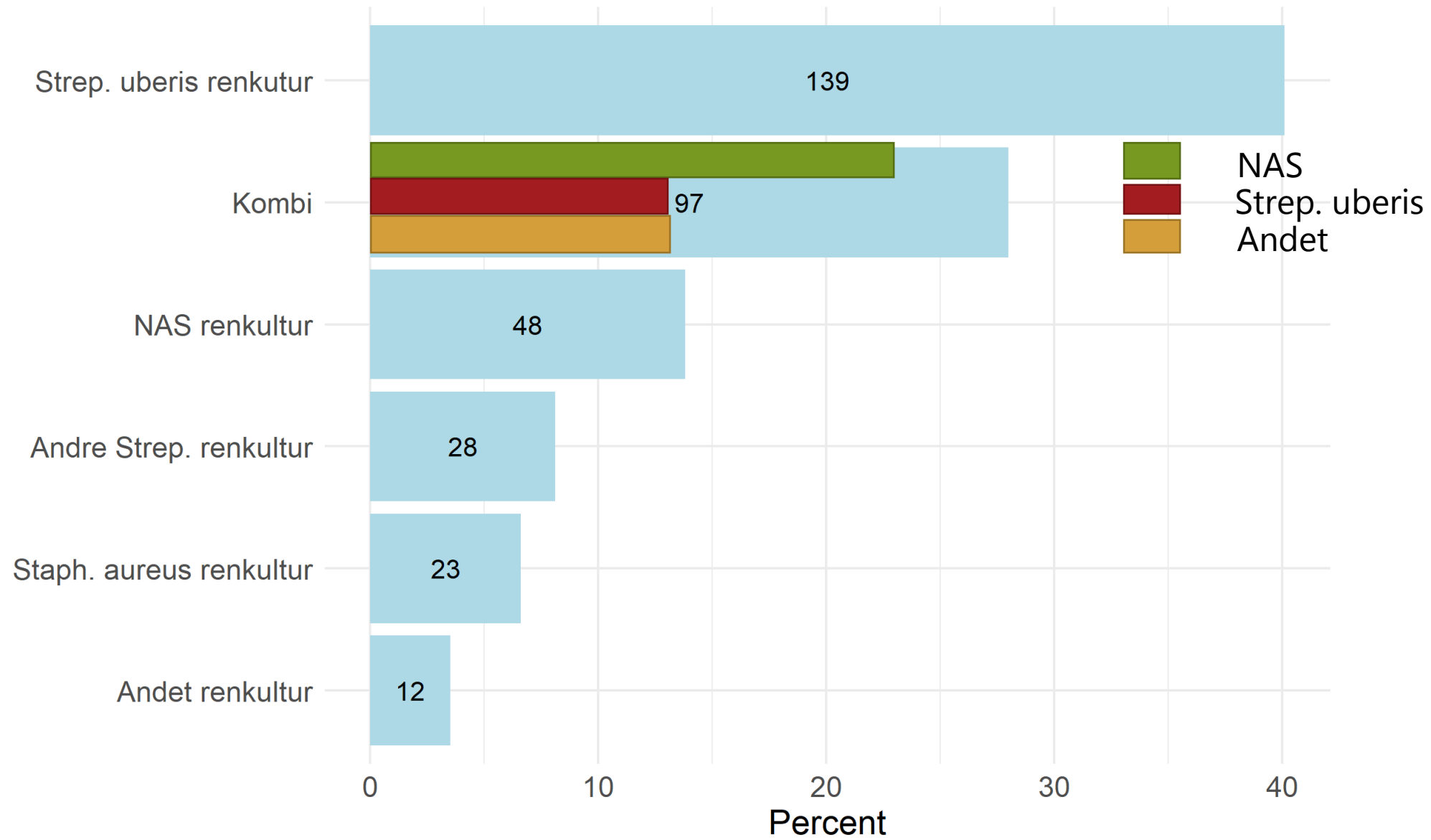
Kliniske yverbetændelser – Gram + på OF test

Bakterie	Antal	Heraf renkultur
Forurening	31	-
Strep. uberis	165	130
NAS	135	59
Staph. aureus	52	33
Strep. dysgalactiae	40	26
E. coli	25	12
Strep. agalactiae	1	1
T. pyogenes	1	0
Andet	81	30
Dyrkningsnegativ 10ul	63	-
Heraf vækst på 100ul	28	-

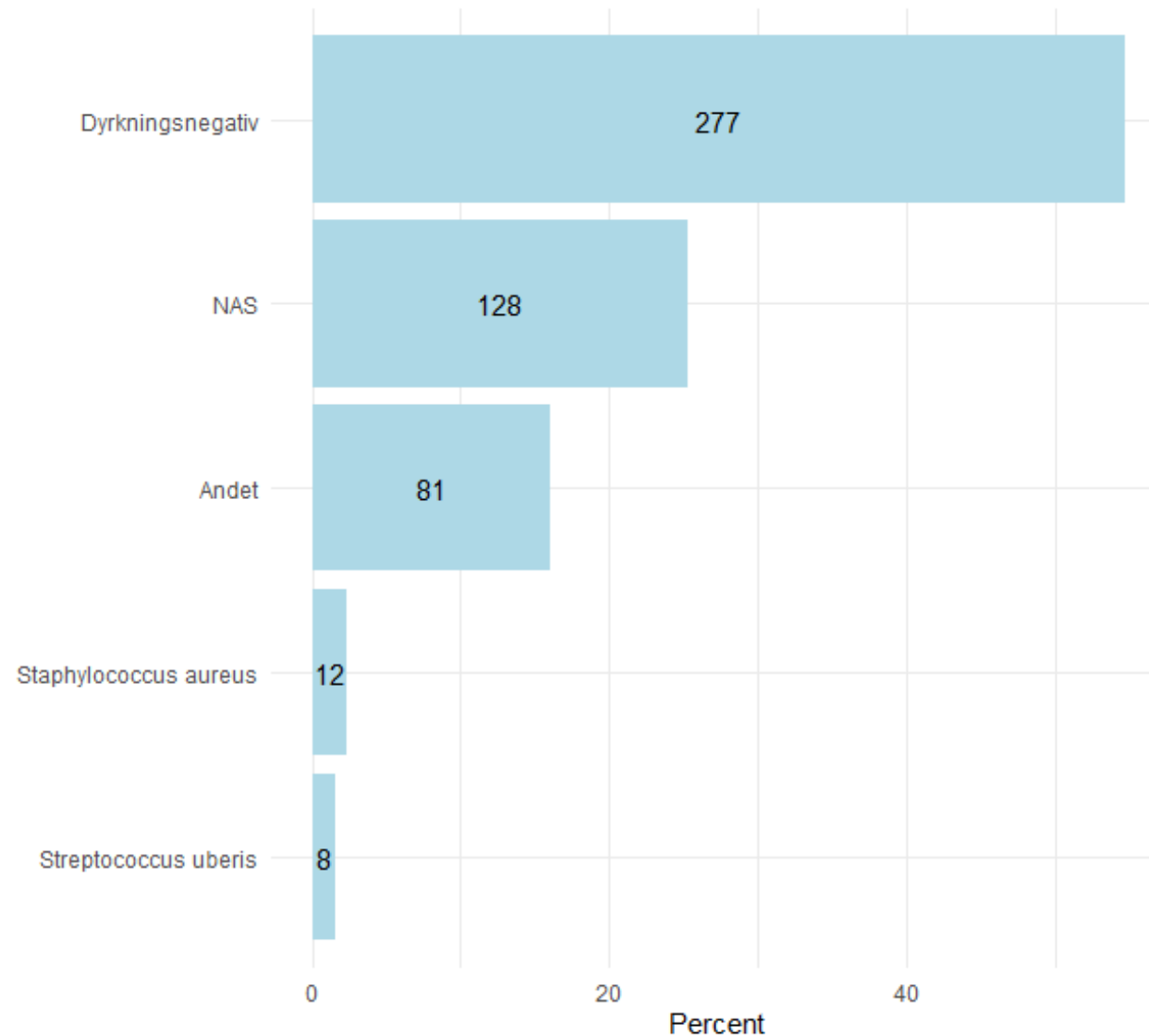
6 % forurenede prøver defineret ved mere end 2 species



347 cases til cure-beregning



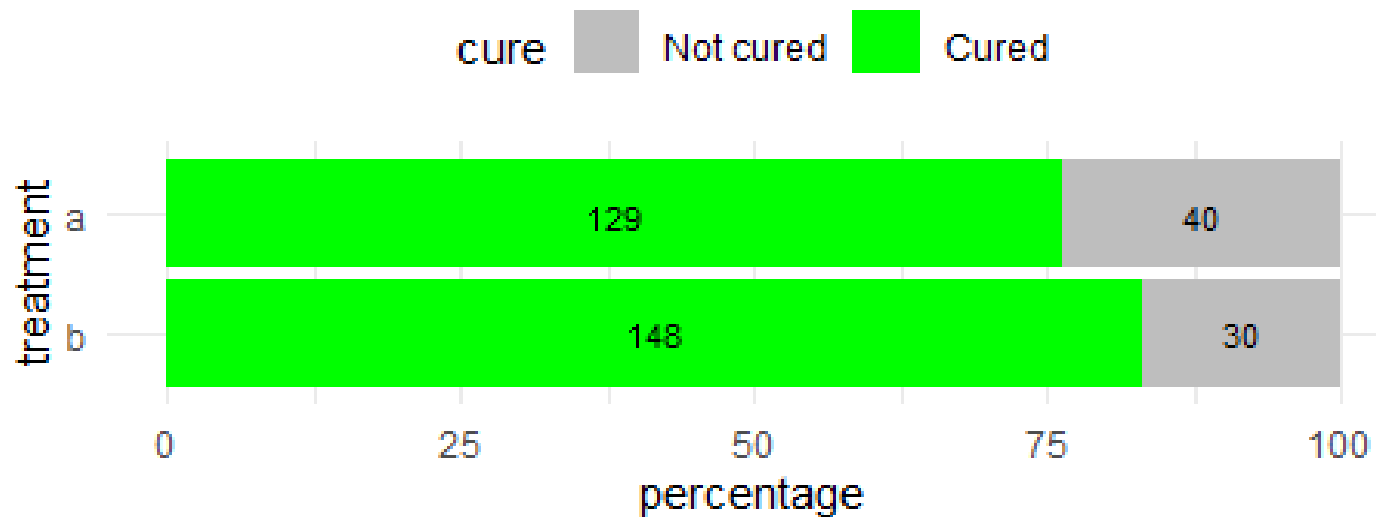
Bakteriologisk helbredelse - Opfølgning på behandlinger



**Opfølgingsprøver
fra kurerede cases
var ikke
nødvendigvis
sterile..**

Helbredelse - 3 dages lokal eller kombinations-behandling?

a= Lokal
b= Kombineret



Gennemsnitlig helbredelse:

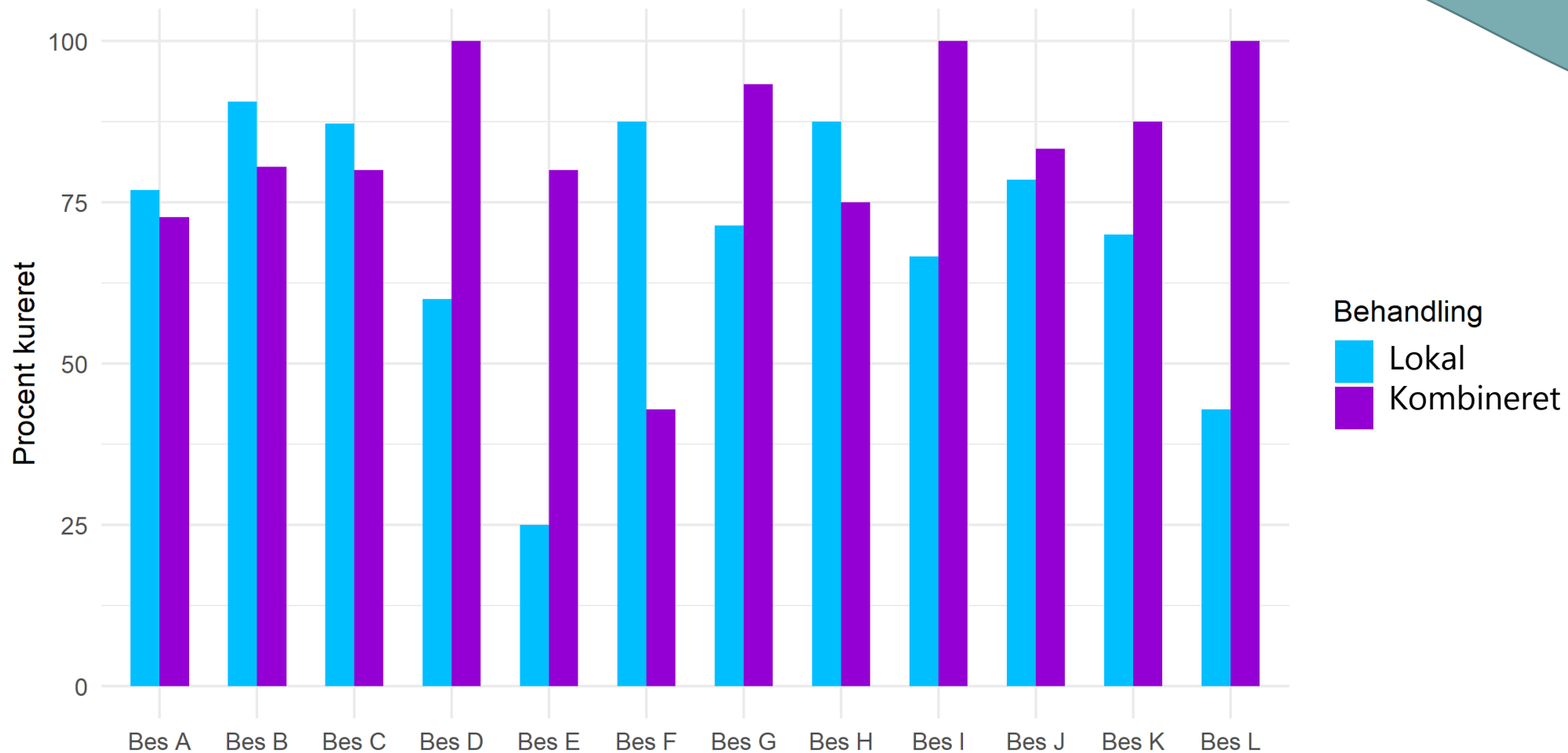
Lokal = 76% [69.2-82.5]

Kombineret = 83% [76.8-88.3]

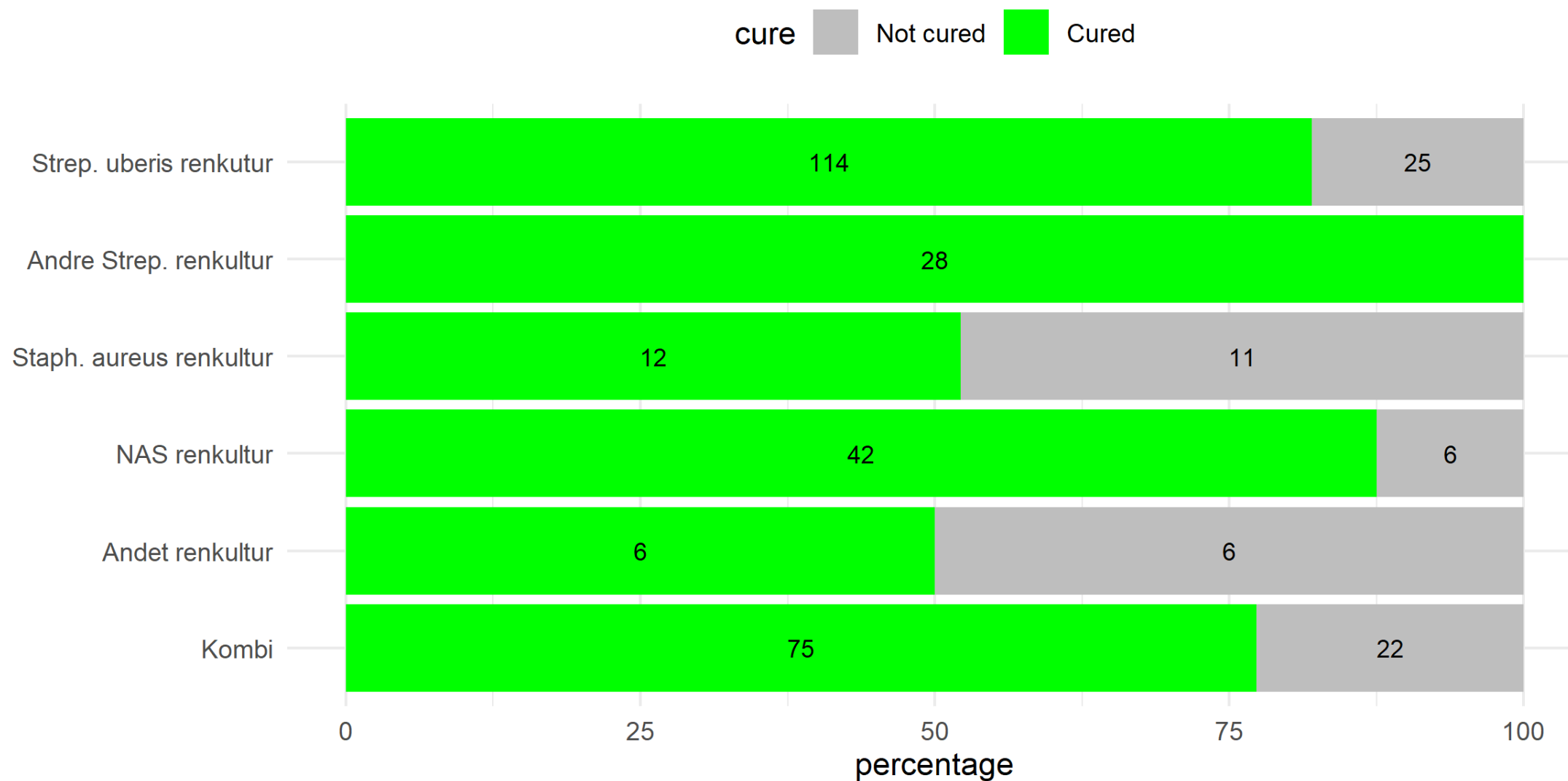
Margin ligger på
15 %

Kan vi gøre det samme i alle besætninger?

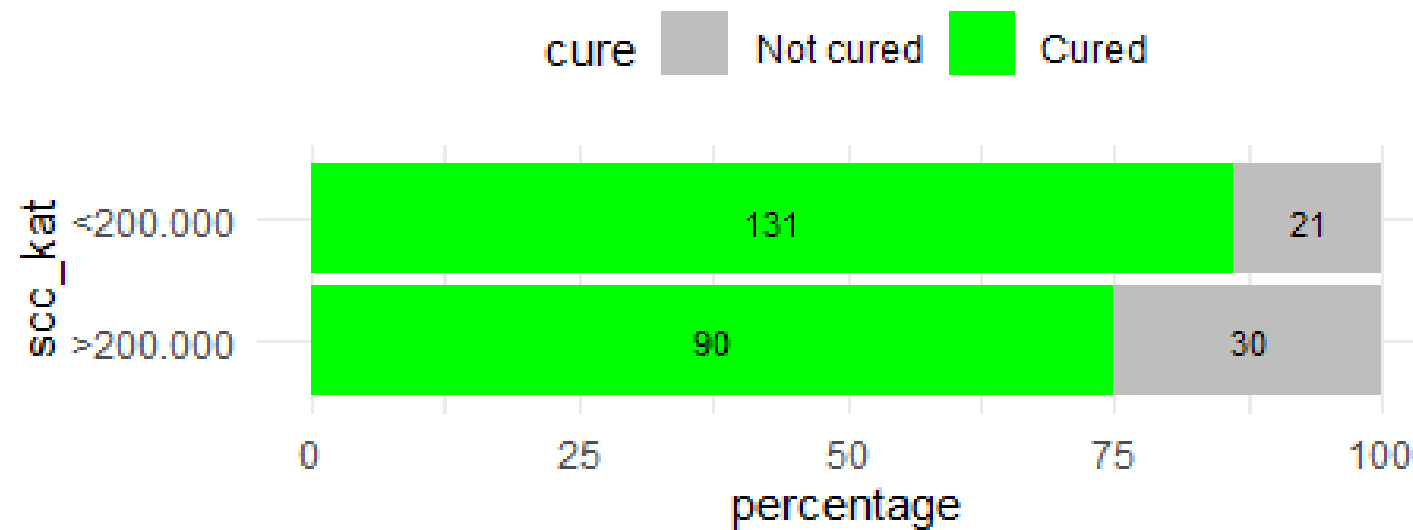
Besætnings specifikt



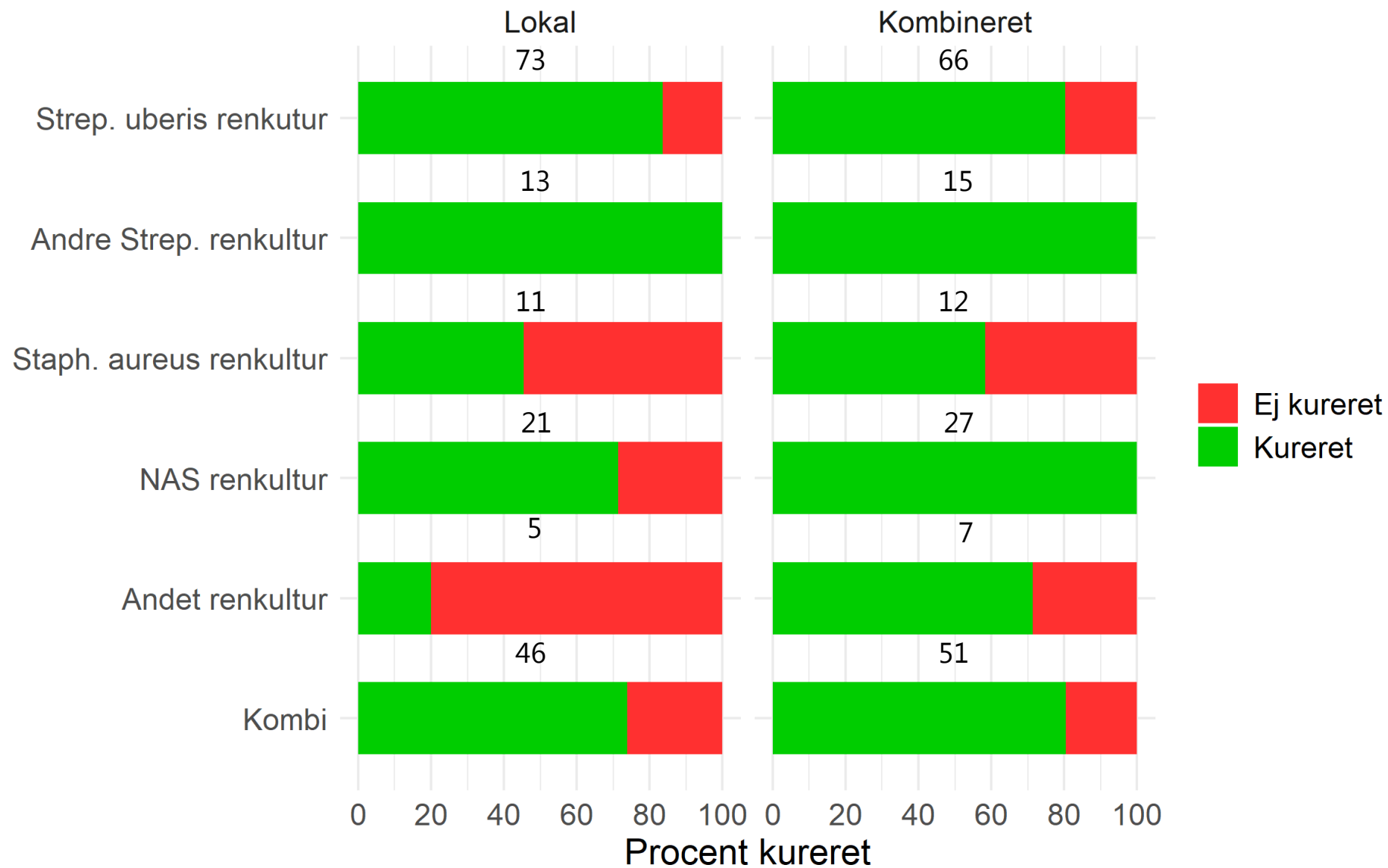
Patogen afgør helbredelses-rate!



SCC ved ydelseskontrol før klinik (5-50 dage!?) har betydning for helbredelse



Men skal det være lokal eller kombi behandling?



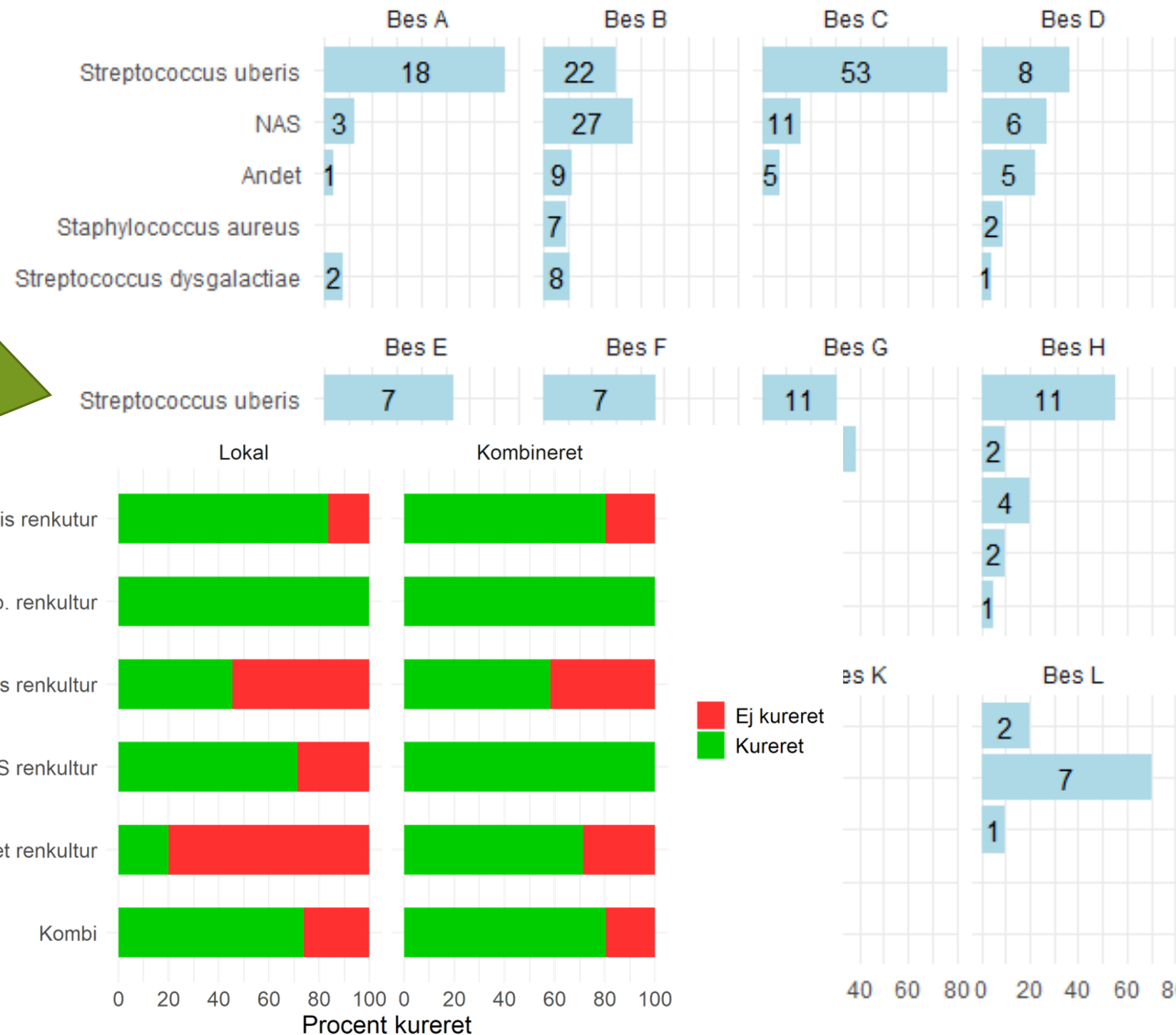
Take-home



Besætningsforskelle – ligger i bakteriologien?

Brug bakteriologien!

Streptokokker kan lige så godt behandles med tuber



Behandling af *Streptococcus uberis* mastitis

Margin
overstiger ikke
15 %

**Gennemsnitlig helbredelse for
Strep. Uberis var 80 % uanset om
vi anvendte injektion eller ej**

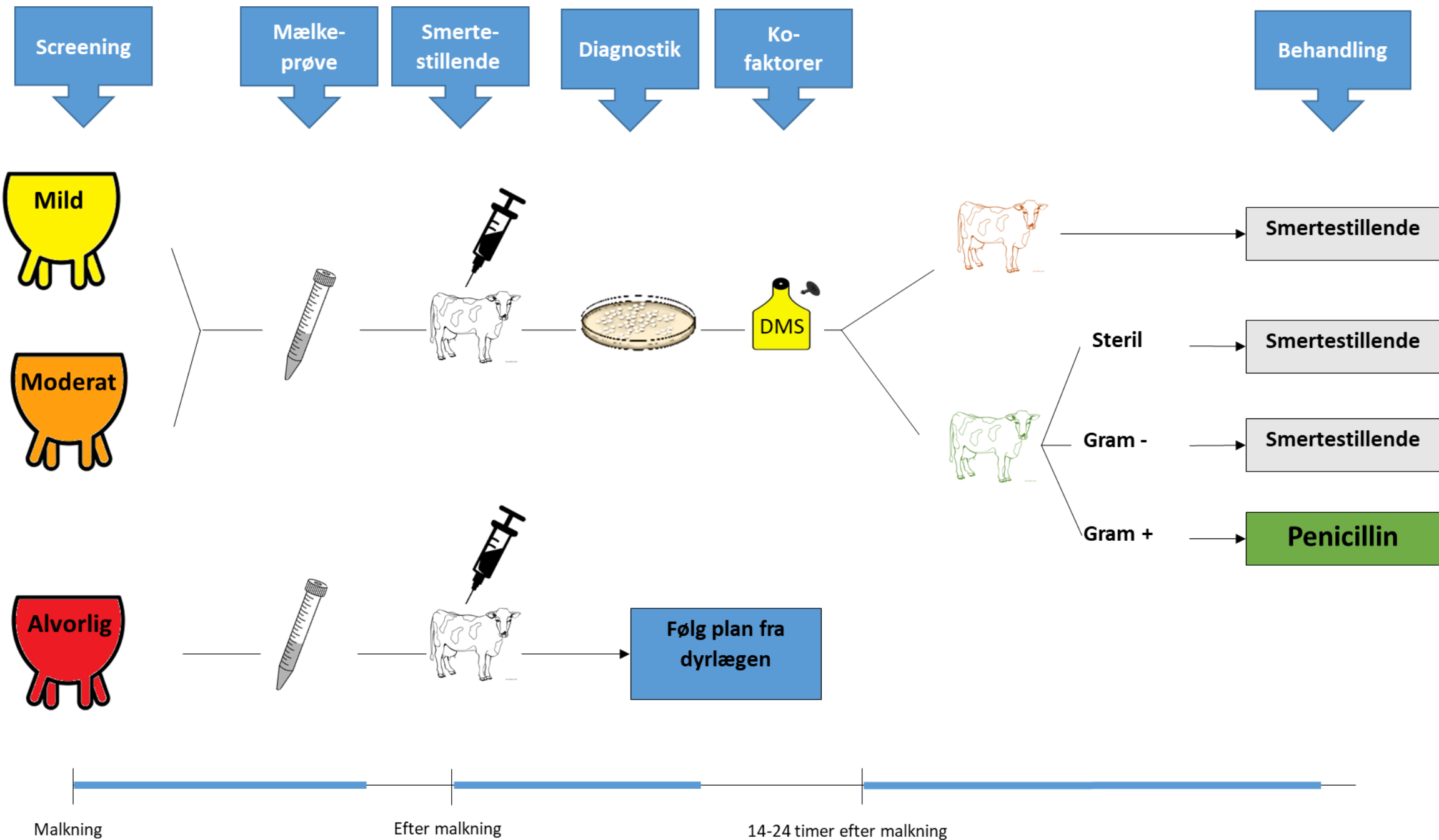
Strep. uberis helbredelse:

Lokal = 83% [74.1-90.1]

Kombineret = 80% [70.9-88.3]

Så de cases vi får bedst effekt af behandling er...

- Kliniske yverbetændelser
- Forårsaget af Streptokokker og i nogen grad NAS
- For køer der ikke er kronisk inflammerede (gælder muligvis ikke uberis)

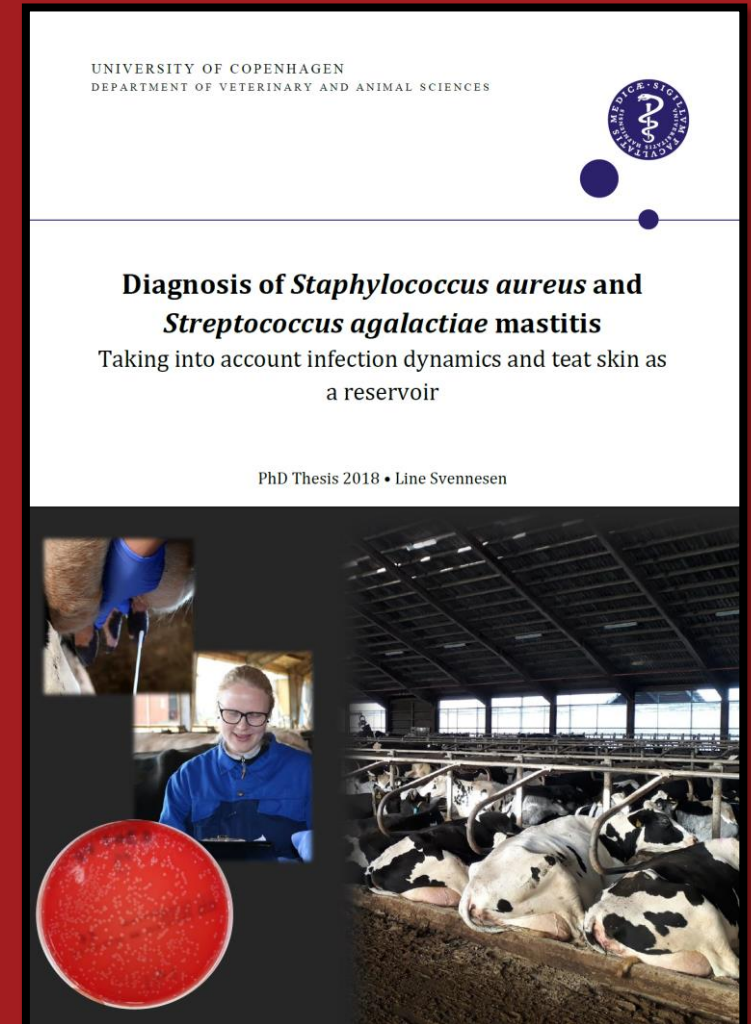


Succes-kriterier

- Mælkeprøver skal være sterilt udtaget
- Konsistens / frekvens
- Faciliteter som kan anvendes til formålet
- BU og SCC er vigtige faktorer
- Lokal behandling til Streptokokker
- Systematisk opfølgning på relevante prøver i praksislab
- Opfølgning på cases (helbredelse)

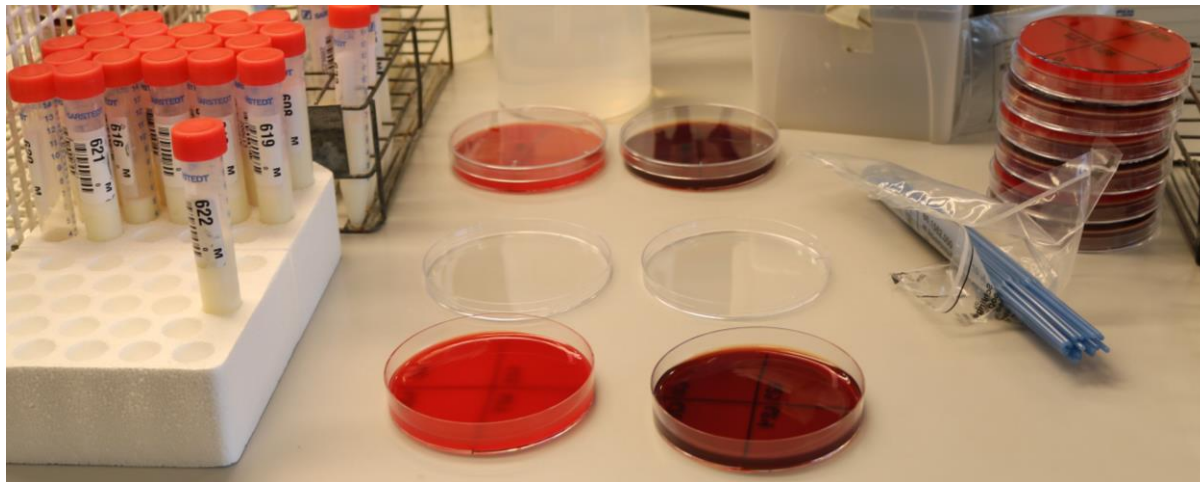


UDSKILLELSE OG DIAGNOSTIK AF STAPH. AUREUS OG B-STREP



UDSKILLELSE OG DIAGNOSTIK

- 35 positive kirtler (*Staph.aureus* eller B-strep)
- 1 prøve pr. dag i 21 dage
- Kirtelprøve undersøgt med:
 - PCR - Eurofins/Steins
 - Bakteriologi – som dyrlægen ville gøre det
 - Celletal - Eurofins/Steins



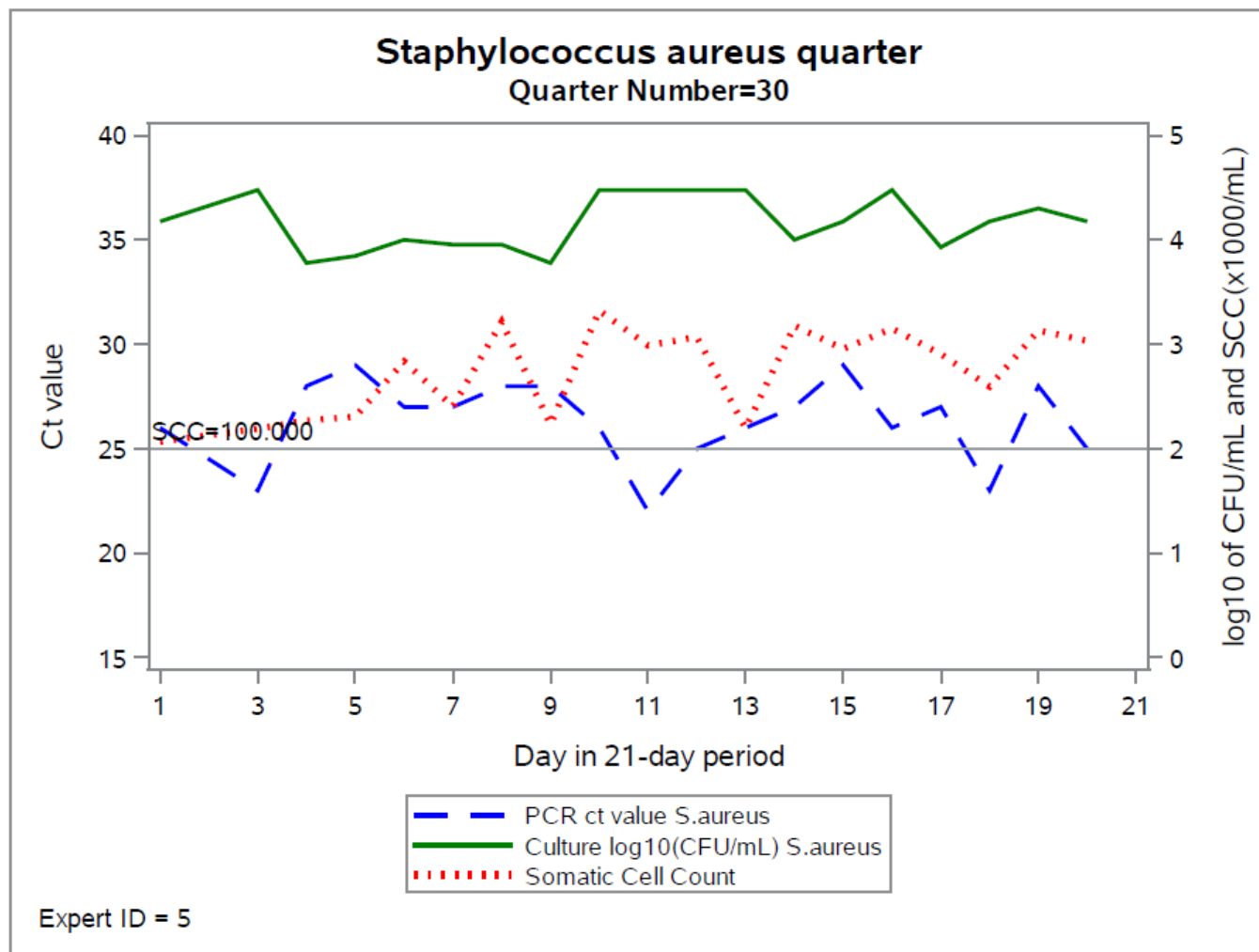
Hvordan fandt vi positive cases?

- SCC > 200.000
- Screenet i ko-prøver med PCR
- Cut-off 40 for B-strep
- Cut-off 37 for aureus

Table 4.3: Selection of quarters to be investigated in the 21-day study showing the proportion of *Staphylococcus aureus*- and *Streptococcus agalactiae*-positive cows and quarters based on a single polymerase chain reaction (PCR) test using cut-offs of $Ct \leq 37$ and $Ct < 40$ for *Staph. aureus* and *Strep. agalactiae*, respectively

Herd	Pathogen	PCR Ct value in bulk tank milk	Cows tested by composite milk samples	Cows positive in composite milk samples (% of total cows tested)	Quarters positive at screening (% of cows × 4 quarters)
Herd 1	<i>Staph. aureus</i>	36	112	9 (8.0)	9 (25.0)
	<i>Strep. agalactiae</i>	17		5 (4.5)	9 (45.0)
Herd 2	<i>Staph. aureus</i>	32	487	14 (2.9)	15 (26.8)
	<i>Strep. agalactiae</i>	29		6 (1.2)	7 (29.2)
Total			589	34	40

Kirtel-profiler for 40 kirtler



Ekspert analyse



- 30 eksperter ved EMRW 2017 I KBH
- Gruppere og klassificere kirtel-profiler

- Max 4 grupper per patogen
- Prøv at:
 - ✓ **Karakteriser**
 - ✓ **Forklar biologi**
 - ✓ **Giv en "label"**

Label: **Diagnosis – max 5 words**

Streptococcus agalactiae
Pile number # 1

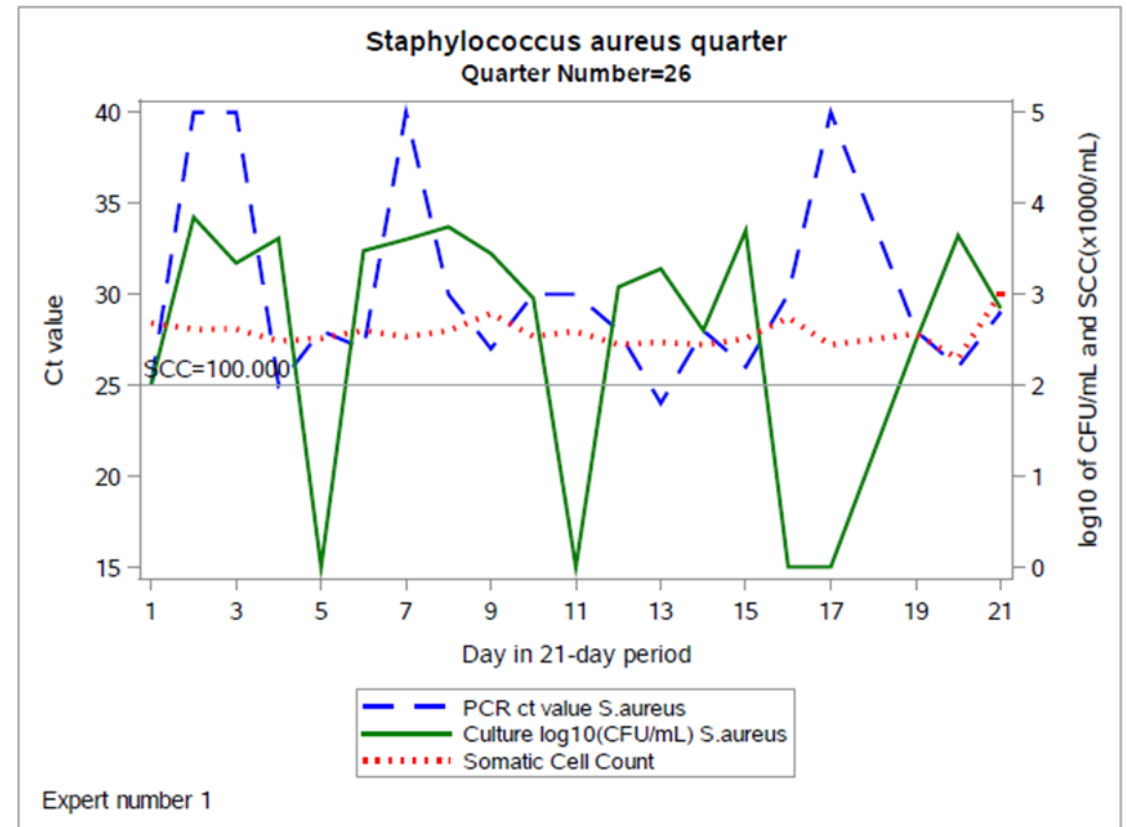
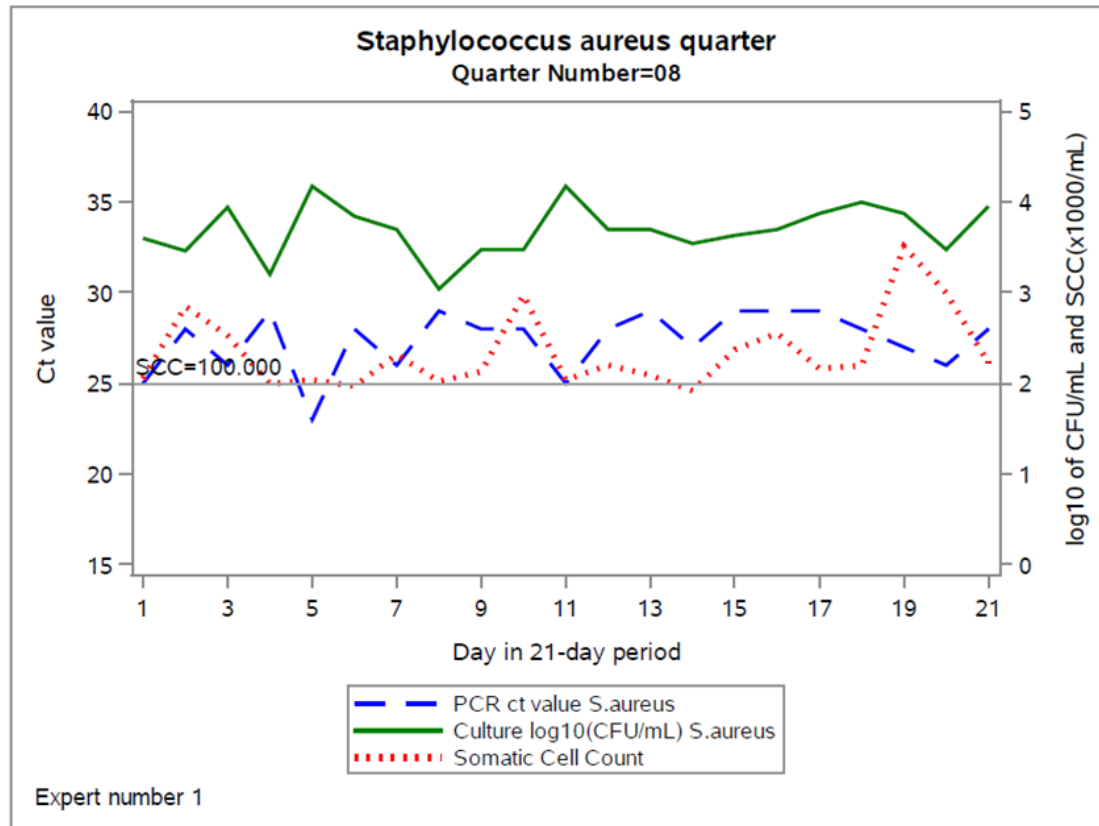
Description: **Try to characterize the patterns in this pile/envelope**

Biology: **Your spontaneous perception of the biology behind these patterns**

Expert ID = 5

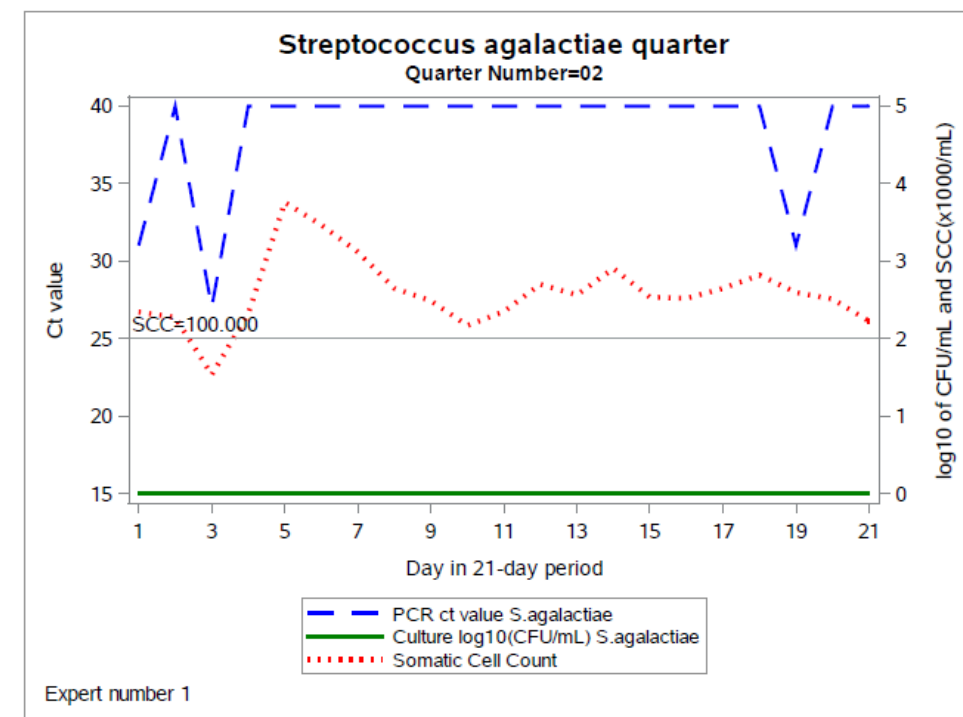
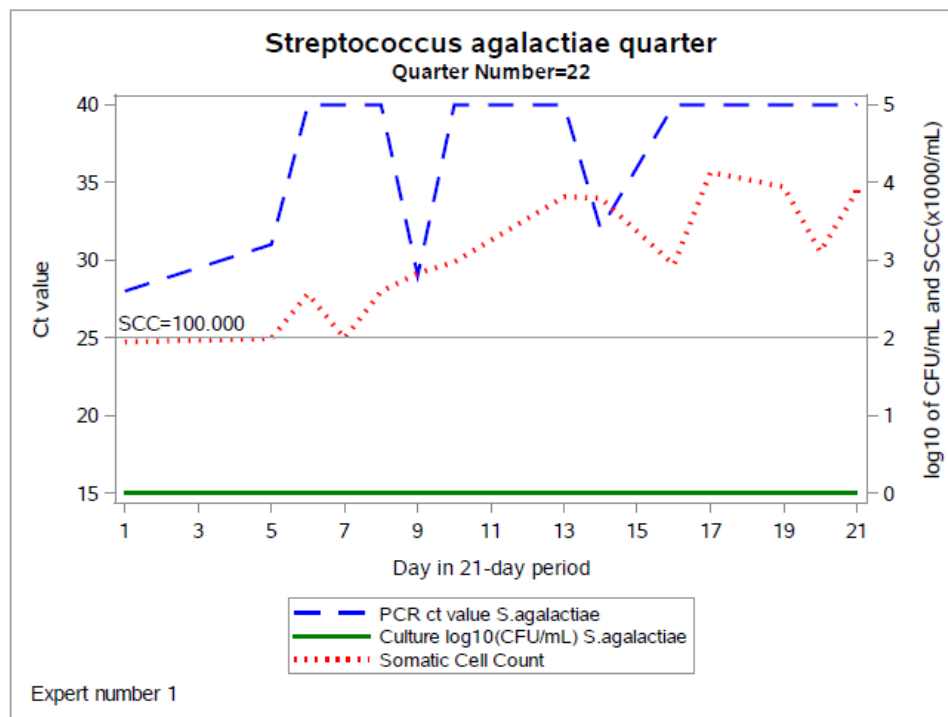
Results

- Mainly consistent patterns (diagnosed as persistent infections)
- *Staph. aureus* persistent and dynamic infections



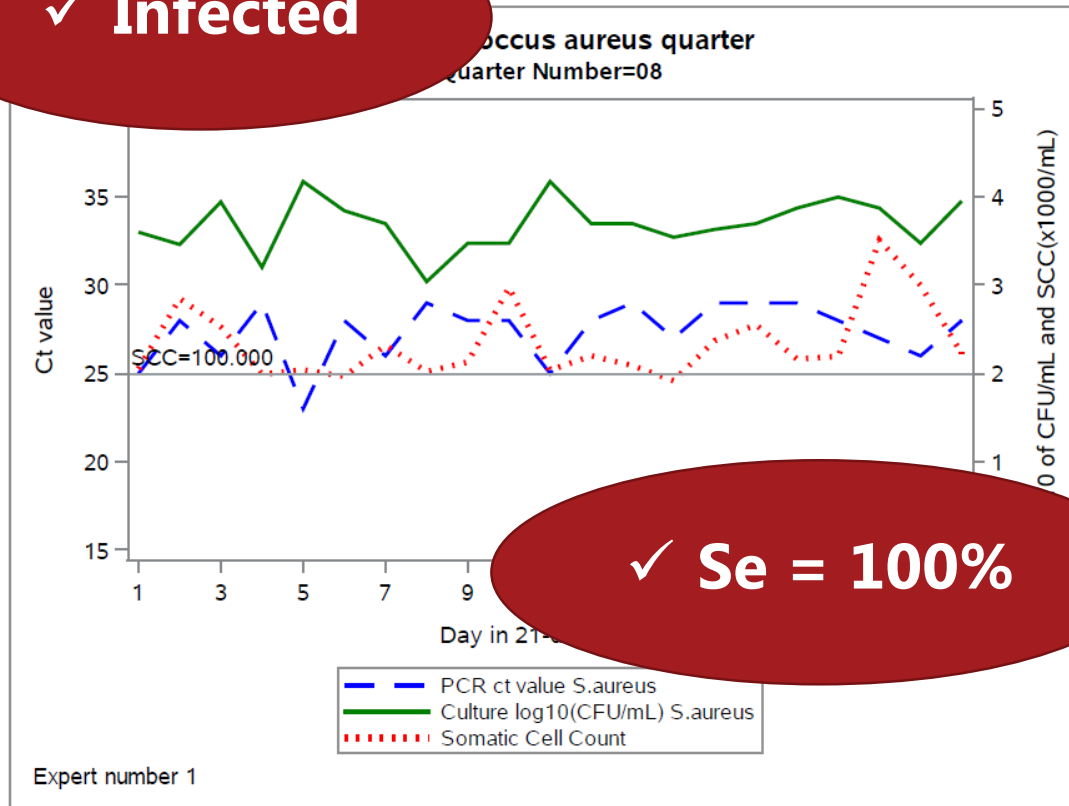
Results and interpretation

- *Strep. agalactiae* disagreement in diagnoses
 - Mastitis terminology is inconsistently used, or test results are interpreted differently
- Healthy quarters despite positive at initial screening using PCR
 - Single positive PCR can result in falsely diagnosed quarters



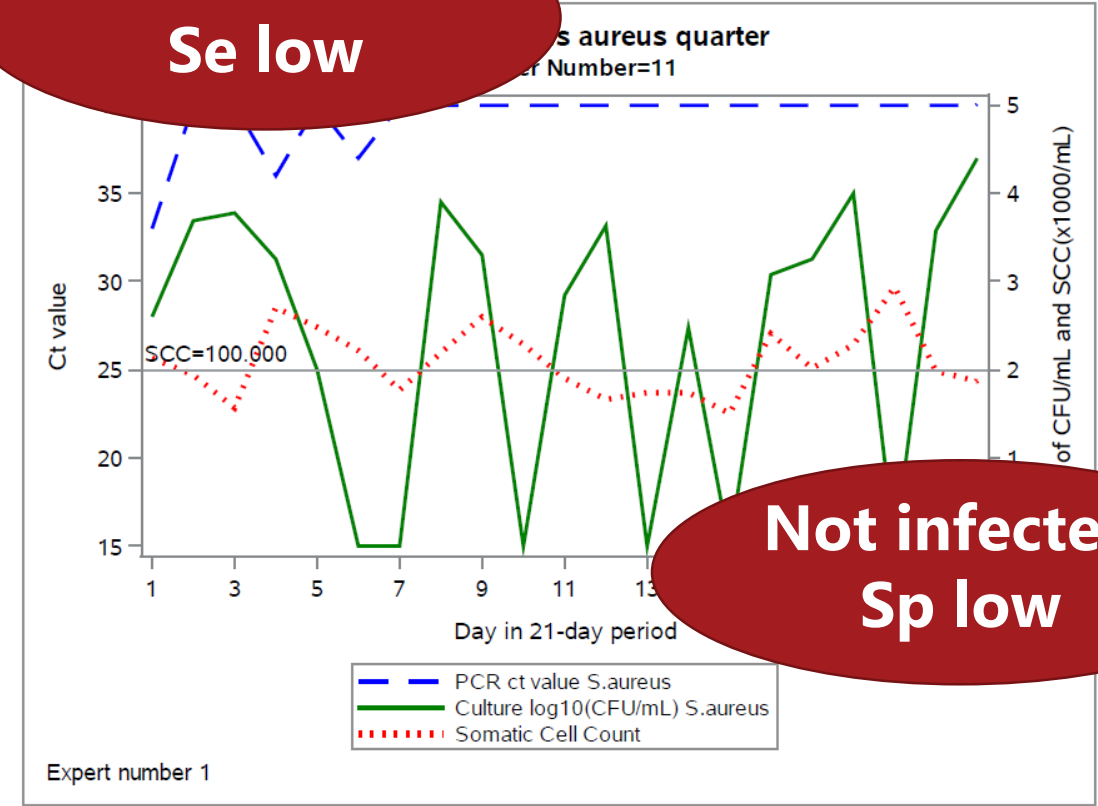
What is the value of one test result?

✓ Infected



Always concluded "Infected"

Infected:
Se low



Mainly coded "**Dynamic infected**", but also "Healthy", "Healthy w. false positives", "Transient" and "Persistent with false negatives"

Samlet konklusion fra phd

- Fund af bakterier på pattehud og association med fund i mælk
- *S. aureus* (dyrkning) på pattehud associeret med IMI
- *S. agalactiae* (PCR) på pattehud associeret med IMI
- Test performance baseret på sammenligning af BC og PCR ved hjælp af "expert-analyse" -> kategorisering af udskillelsmønstre
- Primært konsistente infektioner. *Staph. aureus* kan være dynamisk, *Strep. agalactiae* kan være svær at kategorisere
- Test performance baseret på sammenligning af BC og PCR ved tilfældige fund hos køer med SCC > 200.000 celler/ml
- Generelt høj Se for PCR og høj Sp for dyrkning

Forslag til tolkning af Staph. aureus resultater

Prøvetype	Test	Resultat	Fortolkning
Aseptisk kirtelprøve indsamlet efter desinfektion	Dyrkning	Positiv ¹	Infektion er sandsynlig, med en risiko for falsk-positiv på 25% s.f.a. f.eks. overførsel fra pattehud
		Negativ ²	Infektion kan være tilstede med 50% risiko for falsk-negative. Test med PCR eller udtag en ny prøve efter 3 dage. Kombinér information med celletal
	PCR	Positiv ³	Infektion en sandsynlig med en risiko for falsk-positiv på <4%
		Negativ ³	Infektion kan være tilstede, idet prøven kan være negativ s.f.a. variabel bakterieudskillelse. Risikoen er lav (<20%); kombinér information med celletal
Kirtel- eller samleprøve indsamlet uden desinfektion	Dyrkning	Positiv ¹	Infektion kan være tilstede, men risikoen for falsk-positive er højere end ved dyrkning af en aseptisk indsamlet kirtelprøve efter desinfektion, dvs. >25%; kombinér information med celletal
		Negativ ²	Infektion kan være tilstede med en risiko for falsk-negative som ved aseptisk indsamlede prøver (50%); ved mistanke: gentag testen med PCR og kombinér information med celletal
	PCR	Positiv ³	Infektion kan være tilstede, men risikoen for en falskpositiv prøve er højere end for aseptisk indsamlede prøver (~10-40%)
		Negativ ³	Infektion kan stadig være tilstede, da prøve kan være negativ s.f.a. variabel bakterieudskillelse, men risikoen er lav (<20%); kombinér information med celletal

Forslag til tolkning af Strep. agalactiae resultater

Prøvetype	Test	Resultat	Fortolkning
Aseptisk kirtelprøve indsamlet efter desinfektion	Dyrkning	Positiv ¹	Infektion med høj sandsynlighed tilstede; risiko for falsk-positiv er 1%
		Negativ ²	Infektion kan være tilstede med 60% risiko for falsk-negativ prøve; test ny prøve efter 3 dage og kombinér information med celletal
	PCR	Positiv ³	Infektion med høj sandsynlighed tilstede; risiko for falsk-positiv <3%
		Negativ ³	Infektion kan være tilstede; prøven kan være negativ s.f.a. variabel bakterieudskillelse, men risikoen er lav (12%); kombinér med celletal
Kirtel- eller samleprøve indsamlet uden desinfektion	Dyrkning	Positiv ¹	Infektion er med høj sandsynlighed tilstede som ved aseptiske prøver (1% falsk-positive), da dyrkning oftest ikke kan påvise bakterier på patte huden
		Negativ ²	Infektion kan være tilstede; risiko for falsk-negative som ved aseptiske prøver; gentag test med på ny prøve efter 3 dage, gerne fra kirtelprøve og kombinér information med celletal
	PCR	Positiv ³	Infektion tilstede med høj sandsynlighed, men risiko for falsk-positiv er ca. 3%
		Negativ ³	Infektion kan være tilstede; prøve kan være negativ s.f.a. variabel bakterieudskillelse, men risikoen er lav (12%); kombinér med information om celletal

Behandling af subklinisk mastitis

Ingen behandling i laktation - Lav chance for helbredelse/høj risiko for re-infektion!

- Kun smitsomme patogener kan måske give mening at behandle
- OBS diagnostik!
- Goldbehandling?!
- NSAID!?



Spørgsmål?