

ACHTERGRONDINFORMATIE

Pyrogenium Compositum REG NL H 120298



Vergunninghouder:
SaluVet GmbH
Lokale vertegenwoordiger:
SaluVet B.V.
Houtlaan 1
8455 JL Katwijk

SaluVet 

INHOUD

Productomschrijving	Pag. 3
Onderzoek en ervaring	Pag. 4
Referenties	Pag. 5
SPC Pyrogenium Compositum toelating 2020 REG NL H.	
Bijlage 1: Samenvatting van de productkenmerken	Pag. 6
Bijlage 2: Etikettering en bijsluiter	Pag. 11
Research Comparison of a non-antibiotic treatment with an antibiotic treatment of chronic mastitis	Pag. 24
Praktijkwaarneming: Mycoplasma arthritis bij vleeskalveren, diagnostiek en behandelopties	Pag. 29



PRODUCTOMSCHRIJVING

ACHTERGROND

Pyrogenium compositum bevat een aantal immuunstimulerende componenten.

LACHESIS D8

Lachesis is een gif, verkregen uit de gifklieren van de Lachesis mutus (Bosmeesterslang). Het gif bestaat met name uit lytische enzymen.

Bij gebrek aan beschikbare antibiotica werd het gif aan het begin van de vorige eeuw, in zeer verdunde vorm, al gebruikt voor de parenterale behandeling van wondinfecties.

Het heeft pro-coagulante, proteolytische en hemolytische eigenschappen.

Tegenwoordig wordt het o.a. toegepast in een sterke (homeopathische) verdunning, bij lokale of gegeneraliseerde ontstekingen en septische processen met koorts.

Lachesis D8 stimuleert de proliferatie van lymfocyten en stimuleert de fagocytose-activiteit van leukocyten (neutrofiële granulocyten, monoccyten) in vitro en in vivo.

PYROGENIUM D15

De grondstof voor Pyrogenium is een extract uit geautolyseerd rundvlees. Dit extract wordt in verdunde vorm al van oudsher ingezet bij septische ontstekingen met koorts.

Pyrogenium leidt tot een toename in de activiteit van de leukocyten en macrofagen.

Pyrogenium wordt veelal gebruikt in combinatie met Lachesis.

ARGENTUM METALLICUM D30

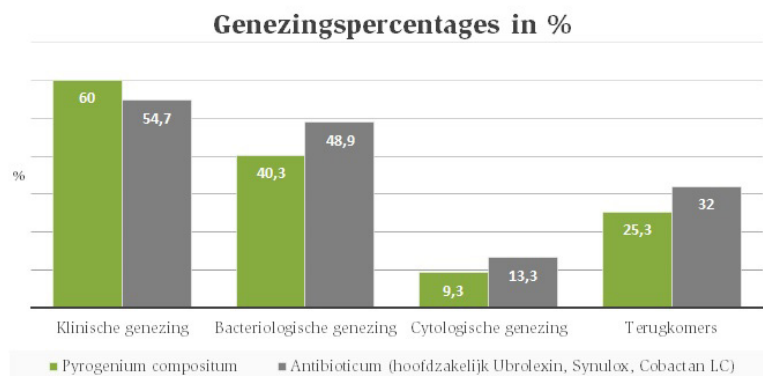
Deze sterk verdunde vorm van metallisch zilver geeft o.a. een stabiliserende functie aan het product (conservering).

ONDERZOEK EN ERVARING

ONDERZOEK

Een in 2019 gepubliceerde studie door Krömker et al. toonde aan dat behandeling van milde vormen van klinische mastitis met Pyrogenium net zo effectief is als intramammaire antibioticabehandeling. In deze wetenschappelijke studie onderzocht Krömker hoe effectief milde en matige klinische mastitis kan worden behandeld zonder antibiotica. Voor dit doel werden koeien met niet-ernstige klinische uierontstekingen met een verleden van chronische mastitis ofwel subcutaan behandeld met Pyrogenium compositum-injectie of intramammair met een antibioticum.

De testgroep ontving 10 ml Pyrogenium compositum inject s.c. tweemaal daags gedurende de eerste 3 dagen en daarna nogmaals eenmaal per dag gedurende nog eens 4 dagen. Dat komt overeen met 100 ml in 7 dagen. Pyrogenium heeft een wachttijd van 0 dagen voor vlees en melk.



Bij de antibiotica-groep gebeurde de toediening intramammair volgens etiket. Ubrolexin, Synulox en Cobactan LC werden voornamelijk gebruikt. De behandelingsduur was ongeveer 4,5 dagen, afhankelijk van het gebruikte antibioticum. De gemiddelde wachttijd was 5 dagen. De studie liet geen statistisch significante verschillen tussen de twee groepen zien. De studie, die is uitgevoerd in overeenstemming met de huidige wetenschappelijke eisen, bewijst dat een behandeling met Pyrogenium compositum injectie even effectief is als een standaard antibioticabehandeling bij milde en matige uierontsteking in de context van chronische mastitis. Pyrogenium compositum injecteren kan dus een alternatief zijn voor antibioticabehandeling in dit soort gevallen van mastitis en bijdragen aan het verminderen van antibiotica. Pyrogenium is niet alleen effectief bij mastitis, maar kan ook bij mycoplasma gerelateerde artritis een belangrijke rol spelen. Kissels et al., 2016 toonden dit in een door dierenartsen uitgevoerde praktijkstudie aan. Op basis van de klinische symptomen – o.a. temperatuur, mobiliteit en pijn in het gewricht, kreupelheid en algehele conditie en voeropname – werd een duidelijke verbetering opgemerkt op dag 28. Dit effect was, met uitzondering van de algehele conditie, significant voor alle criteria ($P < 0,001$), waarbij er geen verschil werd vastgesteld met antibioticabehandeling.

ERVARING

Pyrogenium moet subcutaan worden geïnjecteerd in hals, achterhand of melkspiegel. Bij onderhuidse injectie wordt de vloeistof geleidelijk opgenomen. Intramusculaire injectie is niet toegelaten. De effectiviteit van Pyrogenium is het hoogst na 5 dagen dagelijks behandelen, eventueel gevolgd door nog enkele dagen om de dag behandelen. De ervaring leert dat menig veehouder, tegen het gebruiksadvies in, slechts enkele dagen en dus te kort behandelt.

Pyrogenium is vooral effectief bij acute ontstekingsprocessen. Indien Pyrogenium wordt toegepast op koeien die reeds vaker dan 3-4 keer zonder succes zijn behandeld met antibiotica, is de effectiviteit van Pyrogenium beduidend minder.

REFERENTIES

Arndt, G. 1992. In vitro Versuche zur Wirkung verschiedener homöopathischer Dilutionen von Lachesis und Echinacea auf Lymphozyten aus dem peripheren Blut von Kaninchen. Dissertation: Bonn, Universität.

Damico, D., Minardi Nascimento, J., Lomonte, B., Ponce-Soto, L.A., Joazeiro, P.P., Camillo Novello, J., Marangoni, S., en Collares-Buzato, C.B. 2007. Cytotoxicity of Lachesis muta muta snake (bushmaster) venom and its purified basic phospholipase A2 (LmTX-I) in cultured cells. *Toxicon*, 49: 678–692.

Dorenkamp, B. 1991. Lachesis compositum ad. us. vet. zur Behandlung von Puerperalerkrankungen. *Biol. Tiermedizin* 8:36-41.

Enbergs, H. en Arndt, G. 1993. Zur Wirkung von Lachesis in verschiedenen homöopathischen Potenzen auf Lymphozytenkulturen aus dem Blut von Kaninchen. *Biol. Tiermedizin* 4:112-121.

Enbergs, H. en Gondek, K. 1996. Wirkung von Lachesis in verschiedenen homöopathischen Dilutionen sowie als Kombinationspräparat auf die Phagozytose-Aktivität der Leukozyten des Kaninchenblutes. *Biol. Tiermedizin*, 3:92-105.

Kühn, T. 2000. Paramunisierung neugeborener Kälber mit einem nicht mikrobiellen Inducer. *Grosstierpraxis* 1 (4), 30-37.

Krömker V. Wente, N, Zhang, Y., Bolte, J., Renner, R., Schmenger A., Titze, I., Wallis, J., Mayer, P., Klocke, D., 2019. Comparison of a non-antibiotic treatment with an antibiotic treatment of chronic mastitis. *Milk Science International*, 72 (6): 34-38.

Moss, V.A., Roberts, J.A., en Simpson, K. 1982. The action of "low potency" homoeopathic remedies on the movement of guinea-pig macrophages and human leucocytes. *The British homoeopathic journal*, 71, 48. Schlecht, S. 2004. Auswirkungen einer prophylaktischen Verabreichung der Präparate Carduus compositum®.

Coenzyme compositum®, Lachesis compositum® und Traumeel QP® auf die Eutergesundheit von Milchkühen. Dissertation: Ludwig-Maximilians-Universität, München.

Vermeulen, F. (ed.). 2009. De Materia Medica van Boericke en Phatak. Haarlem Emryss B.V. publishers. Weiß, C. 1993. Zur Phagozytosefähigkeit von Leukozyten aus dem Vollblut von Kaninchen nach In-vivo-Applikation verschiedener homöopathischer Dilutionen von Lachesis. Dissertation: oec. Troph, Bonn.

BIJLAGE I

SAMENVATTING VAN DE PRODUCTKENMERKEN

1. NAAM VAN HET HOMEOPATHISCH DIERGENEESMIDDEL

PYROGENIUM COMPOSITUM

Injectievloeistof voor rund, paard, varken, schaap, geit

2. KWALITATIEVE EN KWANTITATIEVE SAMENSTELLING

Actieve bestanddelen:

10 gram (gelijk aan 10,2 ml injectievloeistof) bevat:

Argentum Metallicum Dil D30	3,30 g
Lachesis mutus Dil.D8	3,30 g
Pyrogenium-Nosode Dil D15	3,30 g

(HAB, Vs 44)

Hulpstoffen:

Hulpstof met bekend effect: Ethanol 20 % (v/v)

Zie rubriek 6.1 voor de volledige lijst van hulpstoffen.

3. FARMACEUTISCHE VORM

Oplossing voor subcutane injectie. Kleurloze, heldere oplossing

4. KLINISCHE GEGEVENS

4.1 Doeldiersoort(en)

Rund, paard, varken, schaap, geit

4.2 Indicaties voor gebruik met specificatie van de doeldiersoort(en)

Rund:

De indicaties zijn afgeleid van veterinaire-homeopathische geneesmiddelbeelden. Daartoe behoren: Ziekten met koorts, verminderd algemeen welbevinden door plaatselijke ontstekingen, zoals uierontsteking, baarmoederontsteking, tussenklauwontsteking, luchtweginfecties.

Paard, varken, schaap en geit:

Homeopathisch geneesmiddel voor diergeneeskundig gebruik zonder goedgekeurde therapeutische indicaties toegepast volgens de principes van de homeopathische geneeswijze.

4.3 Contra-indicaties

Geen bekend

4.4 Speciale waarschuwingen voor elke doeldiersoort waarvoor het diergeneesmiddel bestemd is

Speciale voorzorgsmaatregelen voor gebruik bij dieren:

Subcutane injecties mogen alleen worden uitgevoerd door dierenartsen of andere personen die de injectietechniek goed beheersen.

Door het ethanolgehalte (20 % m /m) kan bij subcutane injectie een tijdelijke zwelling op de injectieplaats ontstaan.

4.5 Speciale voorzorgsmaatregelen bij gebruik

Speciale voorzorgsmaatregelen voor gebruik bij dieren

De oorzaken van de klachten moeten zo veel mogelijk worden opgehelderd voordat de behandeling begint. Het gebruik van dit product mag geen andere door een dierenarts voorgeschreven medicijnen en maatregelen vervangen.

Bij aanhoudende, onduidelijke, periodiek optredende of nieuwe klachten, in het bijzonder bij:

- Aanzienlijk vergrote lymfeklieren
- Massieve en aanhoudende etterende ontstekingen
- Hoge koorts en meer dan 3 dagen aanhoudende koorts
- Sterke tekenen van infectie zoals roodheid, warmte, zwelling, pijn en disfunctie
- Ernstige verslechtering van de algehele conditie

moet u een dierenarts raadplegen, omdat het een medische aandoening kan betreffen waarbij een medische diagnose noodzakelijk is en antibiotica of chirurgische behandeling nodig kan zijn.

Bij de volgende ziekten moet dit homeopathisch diergeneesmiddel alleen gebruikt worden voor ondersteunende behandeling:

- Deficiëntie door verminderde absorptie van essentiële voedingsstoffen, zoals vitaminen, mineralen en sporenelementen
- Ziekten die chirurgische behandeling vereisen, zoals abscessen, pyometra en interdigitaal flegmoon.

Speciale voorzorgsmaatregelen, te nemen door de persoon die het homeopathisch diergeneesmiddel aan de dieren toedient

Dit product bevat 20 volume % alcohol. Zwangere vrouwen dienen voorzichtigheid te betrachten bij toediening van dit product.

4.6 Bijwerkingen (frequentie en ernst)

Experimenteel onderzoek bij kalveren heeft aangetoond dat een tijdelijke lichte zwelling op de injectieplaats kan optreden na injectie van dit homeopathisch diergeneesmiddel, die gepaard kan gaan met roodheid. Tijdens de injectie, en kort daarna kan voorbijgaande, lichte pijn optreden.

Opmerking : Bij behandeling met homeopathische diergeneesmiddelen kunnen bestaande klachten en symptomen eerst tijdelijk erger worden (beginverergering). Indien dit niet verdwijnt dient u de behandeling te staken en uw dierenarts te raadplegen.

Indien u bijwerkingen vaststelt, zelfs wanneer die niet in deze bijsluiter worden vermeld, of u vermoedt dat het diergeneesmiddel niet werkzaam is, wordt u verzocht uw dierenarts hiervan in kennis te stellen.

4.7 Gebruik tijdens dracht, lactatie of leg

Bij gebruik tijdens dracht en lactatie advies van een dierenarts inwinnen. De veiligheid is niet bewezen tijdens de dracht en lactatie. Dit product bevat 20 volume % alcohol.

4.8 Interactie(s) met andere geneesmiddelen en andere vormen van interactie

Geen, voor zover bekend.

4.9 Dosering en toedieningsweg

Voor subcutane injectie.

Dosering:

Overeenkomstig de doeldiersoort en in afhankelijkheid van lichaamsgewicht bedraagt de enkelvoudige dosis:

Rund	10 ml
Kalf	5 ml
Paard	10 ml
Varken, schaap, geit, veulen	5 ml
Big, (geiten)lam	1 ml

De enkelvoudige dosis aan het begin van de behandeling eenmaal daags, vervolgens bij optredende verbetering met tussenpozen van enkele dagen toepassen.

Opeenvolgende injecties moeten op afzonderlijke injectieplaatsen worden uitgevoerd.

De toediening van dit homeopathisch diergeneesmiddel mag niet langer duren dan tot de volledige genezing van het dier.

4.10 Overdosering (symptomen, procedures in noodgevallen, antidota)

Geen informatie beschikbaar. Dit product bevat 20 volume % alcohol.

4.11 Wachtijd(en)

Rund, geit, schaap, paard

Melk: 0 dagen

Rund, varken, schaap, geit, paard

Vlees en slachtafval: 0 dagen

5. FARMACOLOGISCHE EIGENSCHAPPEN

Homeopathisch geneesmiddel voor diergeneeskundig gebruik toegepast volgens de principes van de homeopathische geneeswijze.

6. FARMACEUTISCHE GEGEVENS

6.1 Lijst van hulpstoffen

Isotonische natriumchloride oplossing (0,9 g/100 ml)

Ethanol, 20% (m/m) ter conservering

6.2 Belangrijke onverenigbaarheden

Geen bekend.

6.3 Houdbaarheidstermijn

Houdbaarheid van het diergeneesmiddel in de verkoopverpakking: 3 jaar

Houdbaarheid na aanprikken van de flacon: 12 weken

6.4 Speciale voorzorgsmaatregelen bij bewaren

Dit homeopathisch diergeneesmiddel vereist geen speciale voorzorgsmaatregelen bij bewaren.

6.5 Aard en samenstelling van de primaire verpakking

Glazen flacon (bruin) voor injectie 100 ml, Glassoort I, met bromobutyl rubberen stop (krimp) en aluminium/PP dop.

Verpakkingsgrootten:

Omdoos met 1 x 100 ml fles

Omdoos met 4 x 100 ml fles

Omdoos met 6 x 100 ml fles

Omdoos met 10 x 100 ml fles

Omdoos met 20 x 100 ml fles

Het kan voorkomen dat niet alle verpakkingsgrootten in de handel worden gebracht.

6.6 Speciale voorzorgsmaatregelen voor het verwijderen van niet-gebruikte diergeneesmiddelen of afvalmateriaal voortkomend uit het gebruik van het diergeneesmiddel

Ongebruikte diergeneesmiddelen of restanten hiervan dienen in overeenstemming met de lokale vereisten te worden verwijderd.

7. NAAM VAN DE HOUDER VAN DE VERGUNNING VOOR HET IN DE HANDEL BRENGEN

SaluVet GmbH
Stahlstraße 5
88339 Bad Waldsee
Duitsland

8. NUMMER VAN DE VERGUNNING VOOR HET IN DE HANDEL BRENGEN

REG NL H 120298

9. DATUM EERSTE VERGUNNINGVERLENING

VERBODSMAATREGELEN TEN AANZIEN VAN DE VERKOOP, DE LEVERING EN/OF HET GEBRUIK / KANALISATIE

UDA

BIJLAGE II
ETIKETTERING EN BIJSLUITER

A. ETIKETERING

GEGEVENS DIE OP DE BUITENVERPAKKING MOETEN WORDEN VERMELD

Vouwdozen

1. BENAMING VAN HET HOMEOPATHISCH DIERGENEESMIDDEL

PYROGENIUM COMPOSITUM

Injectievloeistof voor rund, paard, varken, schaap, geit

2. GEHALTE AAN ACTIEVE BESTANDDELEN

10 gram (gelijk aan 10,2 ml injectievloeistof) bevat:

Argentum Metallicum Dil D30	3,30 g
Lachesis mutus Dil.D8	3,30 g
Pyrogenium-Nosode Dil D15 (HAB, Vs 44)	3,30 g

3. FARMACEUTISCHE VORM

Oplossing voor injectie

4. VERPAKKINGSGROOTTE

100 ml
4 x 100 ml
6 x 100 ml
10 x 100 ml
20 x 100 ml

5. DOELDIERSOORT(EN) WAARVOOR HET DIERGENEESMIDDEL BESTEMD IS

Rund, paard, varken, schaap, geit

6. INDICATIE(S)

Rund:

De indicaties zijn afgeleid van veterinaire-homeopathische geneesmiddelbeelden. Daartoe behoren: Ziekten met koorts, verminderd algemeen welbevinden door plaatselijke ontstekingen, zoals uierontsteking, baarmoederontsteking, tussenklauwontsteking, luchtweginfecties.

Paard, varken, schaap en geit:

Homeopathisch geneesmiddel voor diergeneeskundig gebruik zonder goedgekeurde therapeutische indicaties toegepast volgens de principes van de homeopathische geneeswijze.

7. WIJZE VAN GEBRUIK EN TOEDIENINGSWEG(EN)

Voor subcutane injectie.
Lees voor toepassing de gebruiksaanwijzing

8. WACHTTIJD

Rund, geit, schaap, paard	Melk: 0 dagen
Rund, varken, schaap, geit, paard	Vlees en slachtafval: 0 dagen

9. SPECIALE WAARSCHUWING(EN)

Dit product bevat 20 volume % alcohol. Zwangere vrouwen dienen voorzichtigheid te betrachten bij toediening van dit product.

10. UITERSTE GEBRUIKSDATUM

EXP {maand/jaar}

Tot uiterlijk 12 weken na aanbreken gebruiken

Geopend op

11. SPECIALE VOORZORGSMATREGELEN BIJ BEWAREN

12. SPECIALE VOORZORGSMATREGELEN VOOR HET VERWIJDEREN VAN NIET GEBRUIKTE DIERGENEESMIDDELEN OF AFVALMATERIAAL VOORTKOMEND UIT HET GEBRUIK VAN HET DIERGENEESMIDDEL

Ongebruikte diergeneesmiddelen of restanten hiervan dienen in overeenstemming met de lokale vereisten te worden verwijderd.

13. VERMELDING “UITSLUITEND VOOR DIERGENEESKUNDIG GEBRUIK” EN VOORWAARDEN OF BEPERKINGEN TEN AANZIEN VAN DE LEVERING EN HET GEBRUIK, INDIEN VAN TOEPASSING

Uitsluitend voor diergeneeskundig gebruik
UDA

14. VERMELDING “BUITEN HET ZICHT EN BEREIK VAN KINDEREN BEWAREN”

Buiten het zicht en bereik van kinderen bewaren.

15. NAAM EN ADRES VAN DE HOUDER VAN DE VERGUNNING VOOR HET IN DE HANDEL BRENGEN

SaluVet GmbH
Stahlstraße 5
88339 Bad Waldsee
Duitsland

Lokale vertegenwoordiger
SaluVet BV
Houtlaan 1
8455 JL Katlijk
Tel. +31 85 070 7340
info@saluвет.nl

16. NUMMER VAN DE VERGUNNING VOOR HET IN DE HANDEL BRENGEN

REG NL H 120298

17. PARTIJNUMMER FABRIKANT

<Partij> <Chargenr.> <Lot.> {nummer}

GEGEVENS DIE OP DE PRIMAIRE VERPAKKING MOETEN WORDEN VERMELD

Label injectieflacon

1. BENAMING VAN HET HOMEOPATHISCH DIERGENEESMIDDEL

PYROGENIUM COMPOSITUM

Injectievloeistof voor rund, paard, varken, schaap, geit

2. GEHALTE AAN ACTIEVE BESTANDDELEN

10 gram (gelijk aan 10,2 ml injectievloeistof) bevat:

Argentum Metallicum Dil D30	3,30 g
Lachesis mutus Dil.D8	3,30 g
Pyrogenium-Nosode Dil D15 (HAB, Vs 44)	3,30 g

3. FARMACEUTISCHE VORM

Oplossing voor injectie

4. VERPAKKINGSGROOTTE

100 ml

4 x 100 ml

6 x 100 ml

10 x 100 ml

20 x 100 ml

5. DOELDIERSOORT(EN) WAARVOOR HET DIERGENEESMIDDEL BESTEMD IS

Rund, paard, varken, schaap, geit

6. INDICATIE(S)

Rund:

De indicaties zijn afgeleid van veterinaire-homeopathische geneesmiddelbeelden. Daartoe behoren: Ziekten met koorts, verminderd algemeen welbevinden door plaatselijke ontstekingen, zoals uierontsteking, baarmoederontsteking, tussenklauwontsteking, luchtweginfecties

Paard, varken, schaap en geit:

Homeopathisch geneesmiddel voor diergeneeskundig gebruik zonder goedgekeurde therapeutische indicaties toegepast volgens de principes van de homeopathische geneeswijze.

7. WIJZE VAN GEBRUIK EN TOEDIENINGSWEG(EN)

Voor subcutane injectie.
Lees voor toepassing de gebruiksaanwijzing

8. WACHTTIJD

Rund, geit, schaap, paard	Melk: 0 dagen
Rund, varken, schaap, geit, paard	Vlees en slachtafval: 0 dagen

9. SPECIALE WAARSCHUWING(EN)

Dit product bevat 20 volume % alcohol. Zwangere vrouwen dienen voorzichtigheid te betrachten bij toediening van dit product.

10. UITERSTE GEBRUIKSDATUM

EXP {maand/jaar}

Tot uiterlijk 12 weken na aanbreken gebruiken

Geopend op

11. SPECIALE VOORZORGSMAATREGELEN BIJ BEWAREN

12. SPECIALE VOORZORGSMAATREGELEN VOOR HET VERWIJDEREN VAN NIET GEBRUIKTE DIERGENEESMIDDELEN OF AFVALMATERIAAL VOORTKOMEND UIT HET GEBRUIK VAN HET DIERGENEESMIDDEL

Ongebruikte diergeneesmiddelen of restanten hiervan dienen in overeenstemming met de lokale vereisten te worden verwijderd.

13. VERMELDING “UITSLUITEND VOOR DIERGENEESKUNDIG GEBRUIK” EN VOORWAARDEN OF BEPERKINGEN TEN AANZIEN VAN DE LEVERING EN HET GEBRUIK, INDIEN VAN TOEPASSING

Uitsluitend voor diergeneeskundig gebruik
UDA

14. VERMELDING “BUITEN HET ZICHT EN BEREIK VAN KINDEREN BEWAREN”

Buiten het zicht en bereik van kinderen bewaren.

15. NAAM EN ADRES VAN DE HOUDER VAN DE VERGUNNING VOOR HET IN DE HANDEL BRENGEN

SaluVet GmbH
Stahlstraße 5
88339 Bad Waldsee
Duitsland

16. NUMMER VAN DE VERGUNNING VOOR HET IN DE HANDEL BRENGEN

REG NL H 120298

17. PARTIJNUMMER FABRIKANT

<Partij> <Chargenr.> <Lot.> {nummer}

B. BIJSLUITER

BIJSLUITER
PYROGENIUM COMPOSITUM
Injectievloeistof voor rund, paard, varken, schaap en geit

**1. NAAM EN ADRES VAN DE HOUDER VAN DE VERGUNNING VOOR HET IN DE
HANDEL BRENGEN EN DE FABRIKANT VERANTWOORDELIJK VOOR
VRIJGIFTE, INDIEN VERSCHILLEND**

SaluVet GmbH
Stahlstraße 5
88339 Bad Waldsee
Duitsland

2. BENAMING VAN HET HOMEOPATHISCH DIERGENEESMIDDEL

PYROGENIUM COMPOSITUM
Injectievloeistof voor rund, paard, varken, schaap, geit

3. GEHALTE AAN ACTIEVE EN OVERIGE BESTANDDELEN

10 gram (gelijk aan 10,2 ml injectievloeistof) bevat:

Actieve bestanddelen:

Argentum Metallicum Dil D30	3,30 g
Lachesis mutus Dil.D8	3,30 g
Pyrogenium-Nosode Dil D15 (HAB, Vs 44)	3,30 g

Hulpstof met bekend effect: Ethanol, 20% (m/m)
Isotonische natriumchloride oplossing (0,09 g/10 ml)

4. INDICATIE(S)

Rund:

De indicaties zijn afgeleid van veterinaire-homeopathische geneesmiddelbeelden. Daartoe behoren:
Ziekten met koorts, verminderd algemeen welbevinden door plaatselijke ontstekingen, zoals
uierontsteking, baarmoederontsteking, tussenklauwontsteking, luchtweginfecties

Paard, varken, schaap en geit:

Homeopathisch geneesmiddel voor diergeneeskundig gebruik zonder goedgekeurde therapeutische
indicaties toegepast volgens de principes van de homeopathische geneeswijze.

5. CONTRA-INDICATIE(S)

Geen bekend

6. BIJWERKINGEN

Experimenteel onderzoek bij kalveren heeft aangetoond dat een tijdelijke lichte zwelling op de injectieplaats kan optreden na injectie van dit homeopathisch diergeneesmiddel, die gepaard kan gaan met roodheid. Tijdens de injectie, en kort daarna kan voorbijgaande, lichte pijn optreden.

Opmerking : Bij behandeling met homeopathische diergeneesmiddelen kunnen bestaande klachten en symptomen eerst tijdelijk erger worden (beginverergering). Indien dit niet verdwijnt dient u de behandeling te staken en uw dierenarts te raadplegen.

Indien u bijwerkingen vaststelt, zelfs wanneer die niet in deze bijsluiters worden vermeld, of u vermoedt dat het diergeneesmiddel niet werkzaam is, wordt u verzocht uw dierenarts hiervan in kennis te stellen.

7. DOELDIERSOORT(EN) WAARVOOR HET DIERGENEESMIDDEL BESTEMD IS

Rund, paard, varken, schaap, geit

8. DOSERING VOOR ELKE DOELDIERSOORT, WIJZE VAN GEBRUIK EN TOEDIENINGSWEG(EN)

Voor subcutane injectie.

Dosering:

Overeenkomstig de doeldiersoort en in afhankelijkheid van lichaamsgewicht bedraagt de enkelvoudige dosis:

Rund	10 ml
Kalf	5 ml
Paard	10 ml
Varken, schaap, geit, veulens	5 ml
Big, (geiten)lam	1 ml

De enkelvoudige dosis aan het begin van de behandeling eenmaal daags, vervolgens bij optredende verbetering met tussenpozen van enkele dagen toepassen.

Opeenvolgende injecties moeten op afzonderlijke injectieplaatsen worden uitgevoerd.

De toediening van dit homeopathisch diergeneesmiddel mag niet langer dan tot volledige genezing van het dier.

9. AANWIJZINGEN VOOR EEN JUISTE TOEDIENING

Zie onder Dosering

Win bij onduidelijkheden professioneel advies in.

Bij aanhoudende klachten of als het verwachte effect niet optreedt, neem contact op met uw dierenarts.

10. WACHTTIJD

Rund, schaap, geit, paard

Melk: 0 dagen

Rund, varken, schaap, geit, paard

Vlees en slachtafval: 0 dagen

11. SPECIALE VOORZORGSMAATREGELEN BIJ BEWAREN

Buiten het zicht en bereik van kinderen bewaren.

Dit diergeneesmiddel vereist geen bijzondere bewaarvoorschriften.

Niet te gebruiken na de uiterste gebruiksdatum vermeld op het etiket.

Houdbaarheid na aanprikken van de flacon: 12 weken

12. SPECIALE WAARSCHUWING(EN)

Speciale voorzorgsmaatregelen voor gebruik bij dieren

Subcutane injecties mogen alleen worden uitgevoerd door dierenartsen of andere personen die de injectietechniek goed beheersen.

Door het ethanolgehalte (20 % m/m) kan bij subcutane injectie een tijdelijke zwelling op de injectieplaats ontstaan.

De oorzaken van de klachten moeten zo veel mogelijk worden opgehelderd voordat de behandeling begint. Het gebruik van dit product mag geen andere door een dierenarts voorgeschreven medicijnen en maatregelen vervangen.

Bij aanhoudende, onduidelijke, periodiek optredende of nieuwe klachten, in het bijzonder bij:

- Aanzienlijk vergrote lymfeklieren
- Massieve en aanhoudende etterende ontstekingen
- Hoge koorts en meer dan 3 dagen aanhoudende koorts
- Sterke tekenen van infectie zoals roodheid, warmte, zwelling, pijn en disfunctie
- Ernstige verslechtering van de algehele conditie

moet u een dierenarts raadplegen, omdat het een medische aandoening kan betreffen waarbij een medische diagnose noodzakelijk is en antibiotica of chirurgische behandeling nodig kan zijn.

Bij de volgende ziekten moet dit homeopathisch diergeneesmiddel alleen gebruikt worden voor ondersteunende behandeling :

- Deficiëntie door verminderde absorptie van essentiële voedingsstoffen , zoals vitamines, mineralen en sporenelementen
- Ziekten die chirurgische behandeling vereisen, zoals abscessen, pyometra en interdigitaal flegmoon.

Speciale voorzorgsmaatregelen, te nemen door de persoon die het homeopathisch diergeneesmiddel aan de dieren toedient

Dit product bevat 20 volume % alcohol. Zwangere vrouwen dienen voorzichtigheid te betrachten bij toediening van dit product.

Dracht en lactatie

Bij gebruik tijdens dracht en lactatie advies van een dierenarts inwinnen. De veiligheid is niet bewezen tijdens de dracht en lactatie. Dit product bevat 20 volume % alcohol.

Interactie(s) met andere geneesmiddelen en andere vormen van interactie

Geen bekend.

Overdosering (symptomen, procedures in noodgevallen, antidota)

Geen informatie beschikbaar.

Belangrijke onverenigbaarheden

Geen bekend.

13. SPECIALE VOORZORGSMAATREGELEN VOOR HET VERWIJDEREN VAN NIET-GEBRUIKTE DIERGENEESMIDDELEN OF AFVALMATERIAAL VOORTKOMEND UIT HET GEBRUIK VAN HET DIERGENEESMIDDEL

Ongebruikte diergeneesmiddelen of restanten hiervan dienen in overeenstemming met de lokale vereisten te worden verwijderd.

14. DE DATUM WAAROP DE BIJSLUITER VOOR HET LAATST IS HERZIEN

<DD/MM/YYYY>

15. OVERIGE INFORMATIE

REG NL H 120298

KANALISATIE

UDA

Verpakkingsgrootten:

Omdoos met 1 x 100 ml fles

Omdoos met 4 x 100 ml fles

Omdoos met 6 x 100 ml fles

Omdoos met 10 x 100 ml fles

Omdoos met 20 x 100 ml fles

Het kan voorkomen dat niet alle verpakkingsgrootten in de handel worden gebracht.

Comparison of a non-antibiotic treatment with an antibiotic treatment of chronic mastitis

V. Krömker¹, N. Wente¹, Y. Zhang¹, J. Bolte¹, R. Renner¹, A. Schmenger¹, I. Titze¹, J. Wallis¹, P. Mayer², D. Klocke¹

¹ University of Applied Sciences and Arts Hannover, Faculty II, Department Bioprocess Engineering, Microbiology, Heisterbergallee 10A, D-30453 Hannover, Germany

² SaluVet GmbH, Research and Development, Stahlstraße 5, 88339 Bad Waldsee, Germany

Date submitted: 18/04/2019

Date accepted: 31/05/2019

Volume/Page(s): 34-38

Abstract

A non-blinded, positively controlled trial was conducted to evaluate the efficacy of an alternative, non-antibiotic therapy with Pyrogenium® to reduce ineffective antibiotic usage in the treatment of non-severe clinical mastitis (CM) in cows with longer lasting udder diseases. The solely treatment with Pyrogenium® (6 times, at a 12 hourly interval and then 4 times in a 24-hour interval) were compared with the reference treatment of solely local antibiotic therapy. The matched field study was conducted on five free-stall dairy farms located in Northern Germany. Cases of mild-to-moderate CM in cows with longer lasting high somatic cell counts in preceding dairy herd improvement test days and with previous CM cases in current lactation (chronic mastitis) were randomly allocated to one of the two treatment groups. A foremilk sample of the affected quarter was taken before treatment and again approximately 7 days, 14 days and 21 days after the end of therapy for cyto-bacteriological examination. Primary outcome was clinical cure (CC). Bacteriological cure (BC), quarter somatic cell count cure (CYC) and CM recurrence within 60 days after the end of treatment were chosen as secondary outcomes although low probabilities of bacteriological cure and quarter somatic cell count cure for selected cows were expected. The study resulted in the following findings: the pathogens mostly cultured from pretreatment samples were *Staphylococcus aureus*, followed by *Streptococcus uberis*. There were no significant differences between the test treatment (EG) in comparison with the reference treatment (CG) regarding all outcome variables (e.g. CC: EG 60.0%, CG 54.7%). Having regard to the selection criteria of cows in this study, the findings indicated that sole treatment with Pyrogenium® in non-severe CM cases may constitute an alternative therapy to reduce antibiotics.

Keywords: recurrent mastitis, clinical cure, bacteriological cure, non-severe clinical mastitis, alternative mastitis therapy

Introduction

Mastitis is still the most costly disease on dairy farms [1] and therefore, the efficacy of mastitis control is important for dairy farmers. According to recent studies [2, 3], up to half of all clinical mastitis cases (51%) have precedent cases, which means that a substantial percentage of all mastitis cases are recurrences. On cow level, in 6% to 40% cases more than one mastitis occurs in one lactation [4, 5]. Chronic mastitis,

which have a low probability of bacteriological cure, are responsible for a considerable use of antibiotics, high milk losses and form a large part of the clinical mastitis cases [6]. In order to ensure responsible handling of antibiotics, antimicrobial treatment should be avoided if the likelihood of bacteriological cure appears very low [7]. Due to the importance of recurrent mastitis as an important trigger for unsuccessful antimicrobial treatment, unnecessary use of antibiotics can be prevented by removing animals with incurable mastitis from the herd [8] or by providing non-antibiotic treatment.

Animal welfare is an increasingly concern of society. Thus, the slaughter of pregnant animals was discussed in the European Union and was also restricted in Germany in 2017 (Tiererzeugnisse-Handels-Verbotsgesetz (TierErzHaVerbG), § 4). In the last third of pregnancy, mammals may only be delivered for slaughter if slaughter has been prescribed or ordered in accordance with regulations on epizootic diseases or if it is necessary in individual cases in accordance with veterinary indications and there are no predominant reasons for animal welfare to prevent a delivery for slaughter. This complicates the removal of chronically ill animals from the herd for farmers. The chances of bacteriological cure of an individual animal with chronic mastitis are low, however by reaching a clinical cure, the affected cow at least could be used for milk production until calving.

Therefore the objective of the treatment of chronic mastitis is to reach clinical cure. For this these cows will be treated with antibiotics. But the objective of antibiotic treatment is the bacteriological cure, which cannot be achieved by cows with chronic mastitis. To prevent a useless application of antibiotics and thereby minimize treatment costs, development of antibiotic resistances, withdrawal periods and therefore milk losses, an effective alternative treatment is needed. An opportunity could be an authorised combination of homeopathic remedies treatment without antibiotics. Currently the Pyrogenium Compositum Inject product (in the following text: Pyrogenium®; SaluVet GmbH, Bad Waldsee) often is used in mastitis cases. With regard to the current debate on antibiotic resistances, homeopathic remedies should be examined as an effective alternative.

The objective of this trial is therefore to investigate the effect of non-antibiotic treatment in cows with chronic mastitis, based on historic milk recording monthly cow somatic cell count data and mastitis history, with regard to the clinical cure and recurrent cases.

Material and Methods

Study design:

Cows with chronic infections, based on historic milk recording monthly cow somatic cell count data and mastitis history, were enrolled to the study (day 0). The affected quarter of cows with clinical mastitis that met the inclusion criteria was aseptically sampled by a herdsman who had been trained in sample collection. Samples for bacteriology were collected from each affected udder quarter. Subsequently the quarter was treated with one of two treatment regimens. Based on a randomisation list, randomisation and allocation of the animals to a treatment group was carried out and stratified by lactation number group (1st lactation, >1st lactation). Cows of control treatment group (CG) received treatment with antibiotic intramammary tubes as usual on the farm. The resistance situation of the mastitis isolates obtained to the antibiotic active substances used was tested with the Kirby-Bauer method. In 96.6% of all cases, the mastitis pathogens were sensitive to the selected active substances. Animals of examination treatment group (EG) were treated with Pyrogenium® 10 ml subcutaneously 6 times, at a 12 hourly interval and in the following 4 times at a 24 hourly interval. The withdrawal period is determined by the used antibiotic drug in each farm. The withdrawal period of Pyrogenium® is zero days for meat and for milk. Every milking time during the treatment period plus day 7 (+/-2 days) after enrolment, cow and udder were clinically evaluated by a trained herdsman. Post treatment quarter samples for bacteriology and somatic cell counting (SCC) were taken at 7 (+/-2 days), 14 (+/-2 days) and 21 (+/-2 days) days post enrolment. Also in the case of a recurrent mastitis in the same quarter, a milk sample was taken for the bacteriology. Effectiveness of treatment was defined as a clinical cure. A clinical cure was defined as no clots in the milk and no systemic sickness symptoms by clinical evaluation at day 7 after treatment ending. The bacteriological cure, the cytological cure and recurrent cases of the same quarter within a period of 60 days post enrolment were also examined. A bacteriological cure was defined as the absence of a pathogen that was identified just before treatment in both post treatment samples (day 14 (+/-2 days) and day 21 (+/-2 days)). A maximum of 2 pathogens per sample was allowed for the determination of bacteriological cure. A sample in which more than 2 pathogens were identified was considered as a contaminated sample. A cytological cure was given when a quarter sample had a low SCC (<200.000 cells/ml) at 14 and 21 days after treatment.

Although it was not a "formal" requirement, the study was conducted according to Good Clinical Practices (GCP). This trial was non-blinded, randomised and positively controlled with two treatment groups. It was not possible to blind either the study personnel or the farmers/herdsmen to product administration by virtue of the differences in treatment regime. The personnel at the laboratory culturing for mastitis pathogens was unaware of the treatment given to the quarter being sampled.

Herds:

The field trial was performed from July 2017 until October 2018 on five commercial dairy free-stall farms (155-932 German Holstein cows; average milk yield 10,432-11,642 kg (fat and protein corrected milk, ECM; bulk milk somatic cell count (BMSCC) \leq 200,000 cells/mL) in Northern Germany, which have the ability to demonstrate likely compliance with the study protocol. In all farms, the cows were kept in free-stall barns and fed with total mixed rations depending on their milk yield and were milked twice a day in herringbone or side-by-side parlours. The farms must be undertaking monthly milk recording and individual cow somatic cell count testing and must have been recording the percentage of

new infections, based on cow SCC for at least 12 months. For each participating farm the monthly milk production, BMSCC, milking routine, details of the milking machine (i.e. configuration, size, make, recent service history etc.), mastitis treatment practices, clinical mastitis cases (date, quarter, etc.) and historical data on percentage of new infections based on cow somatic cell count (CSCC) were documented.

Inclusion of cows:

Clinical mastitis was defined as a quarter with any change of milk aspect and was identified by the trained herdsman. Training and an assessment of sampling ability of herdsmen had been undertaken prior to commencing the study. Clinical evaluation consisted of a classification of severity of disease as Grade 0: normal, Grade 1: mild, only clots in the milk, Grade 2: moderate, symptoms of grade 1 and heat, pain and/or swelling of the udder, rectal temperature $<39.5^{\circ}\text{C}$ and Grade 3: severe, symptoms of grade 2 and symptoms of depression, anorexia, very swollen udder, rectal temperature $>39.5^{\circ}\text{C}$ or $<38.6^{\circ}\text{C}$. Following identification of clinical mastitis, each animal was assessed for suitability for enrollment in the study. All animals of all parities were eligible for recruitment to the study that had a clinical mastitis case in not more than one quarter, had have three consecutive high CSCC (>400.000 cells/ml) in the three months or at least two mastitis cases per quarter in the current lactation directly before the occurrence of the clinical mastitis, had have four functional quarters free from significant udder, teat and teat orifice lesions before the mastitis case and have been enrolled on a monthly recording of milk yield and SCC. Animals having systemic sickness symptoms (fever, dehydration, anorexia, depressed), clinical evaluated in Grade 3 mastitis, were excluded from the study as well as animals that already have been enrolled before. Animal parity, quarter affected, most recent milk recording milk yield, historic milk recording monthly somatic cell count data, and relevant clinical data were collected. Data either were recorded at cow-side contemporaneously onto data capture forms or retrieved onto data forms from on farm software at the time of treatment.

Laboratory Methods:

All milk samples were collected aseptically and were stored below 8°C until analysis. Ly20, containing boric acid as preserving agent, was used in test tubes [9]. The samples were sent to the microbiological laboratory at the University of Applied Sciences and Arts Hannover (Germany). Microbiological examinations were performed in accordance with the guidelines of the German Veterinary Association [9], which are based on National Mastitis Council recommendations [10]; $10\ \mu\text{l}$ of each milk sample was plated on a quadrant of an aesculin blood agar plate (Oxoid, Germany) and incubated at least for 48 hrs at 37°C under aerobic conditions. By the assessment of Gram staining, morphology of the colonies and cells, hemolysis patterns, aesculin hydrolysis and activity of catalase (3% H_2O_2 ; Merck, Germany), an initial evaluation of the grown colonies was performed. Subsequently, several biochemical tests were performed to determine the growing microorganisms. The clumping factor test (DiaMondiaL Staph Plus Kit, Sekisui Virotech, Germany) instead of the coagulase test was used to differentiate presumptive *Staphylococcus (S.) aureus* from coagulase-negative staphylococci (CNS). Different aesculin-negative streptococci were distinguished by the serological tests for Lancefield Group B (*Streptococcus (Sc.) agalactiae*), C (*Sc. dysgalactiae*) and G (DiaMondiaL Streptococcal Extraction Kit Sekisui Virotech, Germany). To differentiate between *Sc. uberis* and *Enterococcus* spp., the modified Rambach agar according to Watts, Salmon, and Yancey (1993) was used [11]. Gram-positive, beta-haemolytic and catalase-negative irregular rods with a V- or Y-shaped configuration were identified as *Trueperella (T.) pyogenes*. Coryneform bacte-

Table 2: Cure rates for the examination and control group

	Examination group		Control group		p-value
	amount	percentage	amount	percentage	
Clinical cure	45/75	60.0%	41/75	54.7%	0.509
Bacteriological cure	25/62	40.3%	22/45	48.9%	0.378
Cytological cure	7/75	9.3%	10/75	13.3%	0.440
Recurrent cases of clinical mastitis	19/75	25.3%	24/75	32.0%	0.367

ria form small colonies on aesculin blood agar. They are gram-positive and catalase-positive. Both *T. pyogenes* and coryneform bacteria are asporogen. *Bacillus* spp. form large colonies on aesculin blood agar. *Bacillus* spp. are gram-positive, catalase-positive rods and can form endospores. Coliform bacteria are gram-negative and cytochrome oxidase-negative (Bactident oxidase, Merck, Germany) rod-shaped bacteria, which can metabolize glucose fermentatively (OF basal medium with addition of D (+)-glucose monohydrate, Merck, Germany). On Chromocult Coliform Agar (Merck, Germany), *Escherichia* (*E.*) *coli* forms blue colonies under aerobic incubation at 37°C for 24 hrs, and other coliforms form pink-red colonies. *Klebsiella* spp. are immobile during the performance of the OF test. Pseudomonads were identified as gram-negative, catalase-positive and cytochrome oxidase-positive rod-shaped bacteria that break down glucose oxidatively. Yeasts, moulds and *Prototheca* spp. were differentiated microscopically after subculturing on YGC agar (Merck, Germany). Environment-associated, mastitis-causing microorganisms (*Sc. uberis*, *E. coli*, CNS, *Klebsiella* spp., coliform bacteria, yeasts, *Pseudomonas* spp. and *Prototheca* spp.) were recorded as a microbiologically positive result if ≥ 5 cfu/0.01 ml were cultured to reduce bias due to contamination. If two pathogens were cultured, the case was included in the study and both microorganisms were documented. A milk sample was considered as contaminated when more than two pathogens were identified, except in cases where also *S. aureus*, *Sc. agalactiae*, *Sc. dysgalactiae* and *T. pyogenes* were cultured. Then, only the growth of these pathogens was recorded, and the cases were classified as contaminated if the samples contained more than two of these pathogens. The Somascope Smart (Delta Instruments, The Netherlands) was used to determine the quarter SCC by flow cytometry.

Statistics:

The objective of this trial is to investigate the effect of non-antibiotic treatment in cows with chronic infections, based on cow somatic cell

Table 1: Amount and distribution of mastitis-causing pathogens in 150 mastitis milk samples from cases of clinical mastitis (microbiological culture)

Bacteriological outcome	Number of samples	Percentage (%)
<i>S. aureus</i>	35	23%
no growth	31	21%
<i>Sc. uberis</i>	22	15%
other	20	13%
contaminated	12	8%
mix	12	8%
<i>E. coli</i> /coliforms	9	6%
<i>Sc. dysgalactiae</i>	7	5%
NAS	2	1%

count and mastitis history, with regard to the clinical cure. The tested hypothesis was that the CG (standard therapy) resulted in a higher clinical cure rate (95%) than the EG (Pyrogenium®) (80%). If differences in clinical cure rate between treatment groups are assumed to be 15 % (80 vs. 95 %), and the power to be 0.80, a total of 60 animals will be needed per treatment group. Assuming that approximately 10-15% of cows drop out of the trial post, approximately 75 cows were required per treatment group, in total 150 cows with clinical mastitis.

The data were collected in Microsoft Access and Microsoft Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, USA). SPSS (SPSS 25.0, IBM Corp., Armonk, USA) was used for the statistical calculations. Normally distributed metric data were statistically analysed using the Student's t-test in order to test the homogeneity of data of the two treatment groups. The nominal, i.e., clinical grade, data were compared in terms of proportions with a χ^2 -test (Chi-Square Test). A value of $p < 0.05$ was considered as significant.

Although the affected quarter was the unit of observation for the target variables, only one quarter per cow was included and therefore cow and quarter analysis were identical. Clinical cure (CC), bacteriological cure (BC), and cytological cure (CYC) were evaluated with the help of a mixed model logistic regression analysis wherein parity, days in milk (DIM; ≤ 100 , 101–200, ≥ 201), grade of mastitis (mild/moderate), treatment and pathogen type (streptococci, staphylococci, coliforms, mixed, no growth, and other) were included as fixed effects. The treatment was the main variable of interest in the study. Categorisation of cytological cure was based on the cut-off value of 200,000 cells/mL as mentioned earlier. The full model can be given by:

$$\text{Logit}(BC, CC, CYC, \text{recurrent cases of clinical mastitis}) = \text{Lactation} + \text{DIM} + \text{mastitis severity} + \text{pathogen-group} + \text{treatment} + \text{pathogen-group} \times \text{treatment} + \text{herd (random)} + e$$

Akaike information criterion was used to determine the model quality. The random farm effect was kept as a design variable even though it was not significant in the models.

Results

In total, 150 clinical mastitis cases were included in the evaluation, 75 cases of which belonged to the EG and 75 cases to the CG. Six cases were not considered in the evaluation and were disregarded due to false treatment (too short treatment) or missing control samples, which would distort the evaluation. The two test groups were comparable in terms of days in milk ($p=0.121$), number of lactations ($p=0.426$) and distribution of mastitis severity ($p=0.200$). The microbiological results of the mastitis samples are shown in Table 1. *S. aureus* was the most frequent pathogen (23%), followed by *Sc. uberis* (15%) and Coliforms (6%). In 96 % of all cases, the pathogens treated with antibiotics in CG were sensitive to the active substances used. On average 4.5 days were

treated and the waiting time for milk was on average 5 days. Cefalexin and Kanamycin, Amoxicillin/Clavulanic acid and Cefquinome were used in particular. In 21% of all cases, no pathogen was found. More than one pathogen (mixed infections) could be isolated in 8% of all cases. The bacterial spectrum varied significantly between the two groups due to the uneven distribution of contaminants (more in CG) and staphylococci (more in EG) ($p=0.004$, data not shown). Therefore, we added an interaction term which allowed us to test the pathogen-group specific effect of EG versus CG. Table 2 shows the cure rates allocated to the examination and control group. The bacteriological cure did not differ much between the groups (EG: 40.3%, CG: 48.9%). The difference was not significant neither was the cure rate of the cytological cure (EG: 9.3%, CG: 13.3%), the percentage of recurrent cases per group (EG: 25.3%, CG: 32.0%) nor the clinical cure at day 7 (EG: 60.0%, CG: 54.7%). Using the generalised linear mixed models, no significant differences for cure rates could be established. The null hypothesis mentioned at the beginning of the paper had to be accepted.

Discussion

The main aim of this study was to evaluate the efficacy of a non-antibiotic intramammary treatment with Pyrogenium® (EG) in comparison with a reference therapy with antibiotics (CG) of non-severe CM in cows with longer lasting udder diseases, with special regard to the clinical cure and recurrent cases.

The study was done on five high-yielding dairy farms in Northern Germany and applied to cows with clinical mastitis. Cows were enrolled and then randomly assigned to the control or to the examination group. In a positively controlled trial, the effect of self-cure cannot be determined. The test design was chosen because the farmers involved did not accept a non-treatment of mastitis cows. Nevertheless, the effect of self-cure should be determined in further experimental projects. All in all, a standard local antibiotic treatment was not able to reach significantly higher cure rates (clinical, bacteriological, cytological) or lower numbers of recurrent mastitis cases compared to the treatment with Pyrogenium® treatment in cows with chronic infections, based on historic milk recording monthly cow somatic cell count data and mastitis history. Regarding clinical cure as one primary outcome, descriptive results showed small differences in cure rates ranging from 54.7% for the reference treatment (CG) to 60.0% for the non-antibiotic treatment. This is in accordance with previous investigations, which reported a probability of clinical cure of approximately 60% for clinical mastitis cases treated with antibiotics, respecting different definitions of clinical cure [12, 13, 14]. Sample size was calculated to give the study sufficient power and to show a difference between test and reference therapy if there was a real difference of at least 15% according to Schukken et al. 2013 [12]. The non-antibiotic treatment showed a numerically almost identical clinical cure rate and no significant differences to the reference treatment.

The other primary outcome variable was the recurrent mastitis rate (R60). The probability of achieving a clinical mastitis recurrence within 60 days after the end of treatment was similar for CG (32.0%) and EG (25.3%). Statistical analysis showed no significant differences between these two treatments. Thus, Pyrogenium® treatment could significantly reduce the use of antibiotics, without influencing the number of recurrent cases of clinical mastitis. Ziesch et al. 2017 found in a similar study in cows with mild to moderate mastitis and a longer lasting high somatic cell count no significant differences due to bacteriological cure and recurrent mastitis between standard antibiotic treatment and a sole therapy with Masti Veyxym® [14].

A study by Mansion-de Vries et al. 2016 could also show a significant reduction in the mean doses of local antibiotics in the examination group, with there being no negative effects on cure rates. The cure rates shown in their study were equal in both the examination and control group [15]. Moreover, 54.5% of their documented milk samples showed no growth or growth of a Gram-negative pathogen, unlike those in our present study (27%). One dominant pathogen on the farms, namely *S. aureus*, particularly affected the cure rates for both the examination and control group. Cases of mastitis caused by *S. aureus* are accompanied with low bacteriological cure rates [6]. The main interests of the farmers are disappearance of clinical signs, a low recurrence rate and a short time of discarding milk [16]. With respect to the primary outcomes, Pyrogenium® seems to show similar results in comparison with the reference group treated with antibiotics. Furthermore, advantageous properties of Pyrogenium® are the zero day withdrawal period for milk and meat, which decreases time of discarding milk, and that it contains no antibiotics, resulting in a reduced risk of residues and improved safety. Another interesting outcome variable for farmers assessing a successful treatment is the course of the cow somatic cell count, because it is used as a measure of milk quality. In this study, cows with persistent high somatic cell counts were chosen and a low probability of bacteriological cure was expected and confirmed.

Conclusion

This concept of non-antibiotic mastitis treatment could show no negative effects on cure rates compared with local antibiotic therapy in the treatment of non-severe clinical mastitis (CM) in cows with longer lasting udder diseases. Having regard to the selection criteria of cows in this study, the findings indicate that sole treatment with Pyrogenium® in non-severe CM cases may constitute an alternative therapy to reduce antibiotics.

Acknowledgements

All persons involved in this study declare no conflict of interests. We wish to thank SaluVet GmbH and Steinbeis Research Centre Milk Science for financially supporting this study. Furthermore, we would like to thank the farms for providing their cows and enabling the study to be carried out.

References

- Halasa T, Nielsen M, De Roos AP, Van Hoorne R, De Jong G, Lam TJ, Van Werven T, Hogeveen H. Production loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairy cows estimated with a test-day model. *J Dairy Sci* 2009; 92: 599–606. 10.3168/jds.2008-1564
- Picker JC. Aspects of recurrent mastitis. Master thesis 2012, University Göttingen.
- Zoche-Golob V, Spilke J. Herd-specific estimation of milk yield reduction due to recurrent clinical mastitis. *Berl Münch Tierarztl Wochenschr* 2013; 126 (7–8): 269–276.
- Wolfová M, Stípková M, Wolf J. Incidence and economics of clinical mastitis in five Holstein herds in the Czech Republic. *Prev Vet Med* 2006; 77: 48–64.
- Bar D, Grohn YT, Bennett G, Gonzalez RN, Hertl JA, Schulte HF, Tauer LW, Welcome FL, Schukken YH. Effect of repeated episodes of generic clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *J Dairy Sci* 2007; 90: 4643–4653.
- Linder M, Paduch J-H, Grieger AS, Mansion-de Vries E, Knorr N,

- Zinke C, Teich K, Krömker V. Heilungsraten chronischer subklinischer *Staphylococcus aureus*-Mastitiden nach antibiotischer Therapie bei laktierenden Milchkühen. Berl Münch Tierarztl Wochenschr 2013; 126 (7–8), 291–296.
7. Barkema HW, De Vliegher S, Piepers S, Zadoks RN. Herd level approach to high bulk milk somatic cell count problems in dairy cattle. Vet Q 2013; 33(2): 82–93.
 8. Krömker V, Friedrich J. Empfehlungen zum diagnostischen Aufwand im Rahmen der Mastitisbekämpfung auf Bestandsebene. Prakt Tierarzt 2011; 92: 516–524.
 9. GVA [German Veterinary Association]. Guidelines for aseptic milk sampling and guidelines to isolate and identify mastitis pathogens, 2009; 2nd ed. Germany: Gießen.
 10. NMC (National Mastitis Council). Laboratory handbook on bovine mastitis, 1999, Revised ed. Madison WI, USA: NMC.
 11. Watts JL, Salmon SA, Yancey RJJ. Use of modified Rambach agar to differentiate *Streptococcus uberis* from other mastitis streptococci. J Dairy Sci 1993; 76: 1740–1743.
 12. Schukken YH, Zurakowski MJ, Rauch BJ, Gross B, Tikofsky LL, Welcome FL. Noninferiority trial comparing a first-generation cephalosporin with a third-generation cephalosporin in the treatment of nonsevere clinical mastitis in dairy cows. J Dairy Sci 2013; 96: 6763–6774.
 13. Swinkels JM, Krömker V, Lam TJGM. Efficacy of standard vs. extended intramammary cefquinome treatment of clinical mastitis in cows with persistent high somatic cell counts. J Dairy Res 2014; 81:424–433.
 14. Ziesch M, Wente N, Zhang Y, Zaremba W, Engl S, Krömker V. Noninferiority trial investigating the efficacy of a nonantibiotic intramammary therapy in the treatment of mild-to-moderate clinical mastitis in dairy cows with longer lasting udder diseases. J Vet Pharmacol Ther 2018; 41(1):11-21. doi: 10.1111/jvp.12415.
 15. Mansion-de Vries EM, Lücking J, Wente N, Zinke C, Hoedemaker M, Krömker V. Comparison of an evidence-based and a conventional mastitis therapy concept with regard to cure rates and antibiotic usage. Milk Sci Int 2016; 69: 27-32
 16. Ruegg, PL. The application of evidence based veterinary medicine to mastitis therapy. Santiago, Chile: World Buiatrics Congress, 2010.

Praktijkwaarneming: mycoplasma arthritis bij vleeskalveren, diagnostiek en behandelopties

KISSELS, W.P.M.L.¹, BOMERS, R.B.M.², MEERKERK, A.T.³, TIMMER, C.⁴, VERHOEVEN, G.⁵ EN HOLZHAUER, M.⁶

Inleiding

Artritis bij vleeskalveren is een geregeld voorkomende aandoening op vijf tot tien weken na opleg, vaak in aansluiting op eerder doorge maakte luchtwegproblemen. De aandoening is lastig te genezen met bestaande therapie (antibioticum per injectie gedurende drie tot vijf dagen plus één of twee maal NSAID per injectie afhankelijk van het product) en indien genezing optreedt, vraagt dat lange tijd (één tot twee maanden, persoonlijke mededeling participerende dierenartsen). Artritis treedt bij kalveren voornamelijk op aan het carpale gewricht en aan de achterpoten in het ischio-femorale en femoro-tibiaal en tarsale gewricht (persoonlijke mededeling participerende dierenartsen). Artritis is ook in het buitenland erkend als een erg pijnlijke en bedrijfseconomisch schadelijke aandoening en in het verleden werden veel dieren om reden van dierenwelzijn en slechte reactie op ingestelde therapie geëuthanaseerd (1).

Onderzoek in Canada liet zien dat tot 47 procent van de kalveren met pneumonie een arthritis hadden en dat alle kalveren met arthritis een (resistant-)pneumonie hadden (1). In Nederland wordt overigens het secundair voorkomen van arthritis als gevolg van een pneumonie door de deelnemende practici geschat op 5 tot 10 procent. Er kan incidenteel in een koppel sprake zijn van een toename van het aantal gevallen van enkele individuele dieren naar enkele tientallen.

Genezing van arthritis vraagt meestal langere tijd (maanden), waarbij het soms noodzakelijk is het aangetaste gewricht te ondersteunen middels een immobiliserend verband. Dit is uiteraard niet mogelijk indien het femorotibiaal gewricht is aangetast. Omdat de dieren vaak ernstig belastingskreupel zijn, wordt de voeropname belemmerd en gaan de voedingstoestand en conditie achteruit. Hierdoor komt ook het dierenwelzijn in het geding. Regelmatig is dit reden om alsnog over te gaan op euthanasie.

De belangrijkste oorzaak van de arthritis bij vleeskalveren is een mycoplasma-infectie, waarbij na typering bijna altijd *Mycoplasma bovis* wordt aangetoond (GD, eigen onderzoek 2013). *M. bovis* is een van de belangrijke luchtwegpathogenen van met name vleeskalveren, maar kan ook otitis, orchitis en arthritis bij kalveren geven en pneumonie, mastitis en arthritis bij melkkoeien (6; monitoring GD). In Europa is mycoplasma verantwoordelijk voor meer dan een kwart van alle longontstekingen bij kalveren (7). Vanwege de afwezigheid van een

1 **ECOstyle**, Appelscha. Corresponderend auteur: w.kissels@ecostyle.nl.

2 **D.A.P. Vaassen**, Vaassen.

3 **Vallei en Wetering dierenartsen**, Renswoude.

4 **D.A.P. V.U.G.**, Voorhuizen.

5 **Dierenartsen Animal Care**, Putten.

6 **Gezondheidsdienst voor Dieren**, Deventer.

celwand is het aantal antibiotica dat hiertegen ingezet kan worden beperkt, bovendien neemt de resistentie tegen veel eerste keus middelen als tetracycline, tilmicosin en spectinomycin toe en zijn geen effectieve vaccins beschikbaar (7,6,9).

Kalveren worden vaak besmet op het vleeskalverbedrijf aangevoerd (5). De initiële infectie heeft dan al plaatsgevonden op het melkveebedrijf van oorsprong. *M. bovis* is een natuurlijke bewoner van de bovenste luchtwegen van gezonde runderen. Besmette melk kan een bron van infectie zijn voor kalveren (3). Verdere verspreiding op het bedrijf van aankomst kan vervolgens optreden door aerosoltransmissie. *M. bovis* kan de bovenste luchtwegen koloniseren zonder voor problemen te zorgen. Problemen ontstaan door gewijzigde omstandigheden van de gastheer of aanwezigheid van andere pathogenen waarna verspreiding naar diepere luchtwegen plaatsvindt (5).

In lijn met de Richtlijn Reductie Antibioticagebruik (KNMvD, 2013), streeft de kalversector naar een reductie van het totale antibioticagebruik. Om als alternatief acceptabel te zijn bij een pijnlijke aandoening als de gebruikelijke behandeling van artritis, dient de behandeling vergelijkbaar of beter effect te hebben en bij voorkeur vergelijkbaar qua behandelwijze. Daarnaast dienen de toegepaste middelen geregistreerd en gekanaliseerd te zijn.

In dit manuscript worden de resultaten gepresenteerd van uitkomsten van de verschillende diagnostische laboratoriumtechnieken van GD voor mycoplasma en een vergelijkend onderzoek naar het effect van een bestaande protocolaire behandeling (antibiotica gecombineerd met een NSAID) met een alternatieve behandeling (homeopathisch diergeneesmiddel met een uitwendige lotion) bij een bacteriologisch bevestigde mycoplasma artritis.

Materiaal en methode

In de periode november 2014 tot maart 2015 zijn in samenwerking met de GD en vier getrainde praktici uit vier verschillende praktijken een protocol en een onderzoeksopzet samengesteld en uitgevoerd. Er werd gewerkt met een standaard beoordelingsformulier (figuur 1). Met de uitvoerende praktici werden in een gezamenlijke training vooraf de te hantieren begrippen en bijbehorende criteria afgestemd.

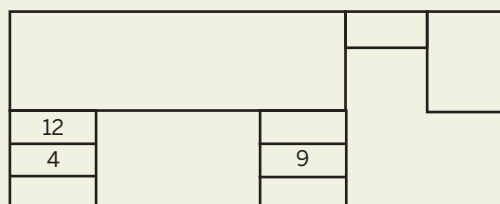
Kalveren met artritis werden verkregen middels de reguliere consultatieve praktijkvoering en bedrijfsbegeleiding. Inclusie in de patiëntengroep vond plaats op basis van acute artritis in het

Beoordeling Artritis Kalvr: datum:				
kreupelheid	niet kreupel 0	belast kreupel 1	ontlast 2	belast niet 3
aspect gewricht	normaal 0	licht gezwollen 1	sterk gezwollen 2	zeer gezwollen 3
temp. gewricht	normaal 0	iets warmer 1	warmer 2	warm 3
pijnlijkheid	niet pijnlijk 0	bij diepe palpatie 1	bij lichte palpatie 2	zeer pijnlijk 3
bewegelijkheid	normaal 0	minder 1	stijf 2	volledig stijf 3
conditie	normaal 0	vermagerd 1	sterk vermagerd 2	cachectisch 3
voeropname	normaal 0	met moeite 1	moet geholpen 2	niet 3
totaal = ...				

Figuur 1: Standaardbeoordelingsformulier voor beoordeling van individuele kalveren met artritis, gebruikt in het onderzoek naar het effect van twee verschillend toegepaste behandlungsstrategieën (December 2014 tot april 2015). Het totaal is de optelling van de subtotaal per kolom.

carpaal, ischio-femoro, femoro-tibiaal, of tarsaal-gewricht, verdacht van een mogelijke mycoplasma-infectie op basis van klinische verschijnselen (dolor, calor en rubor) en een historie van een luchtweginfectie. Alle zieke dieren zijn protocolair klinisch onderzocht door de begeleidende dierenarts. Op vier momenten (D0, 7, 14 en 28) zijn de criteria aspect, temperatuur, beweeglijkheid en pijnlijkheid van het gewricht, kreupelheid, algehele conditie en voedselopname gescoord. Onder 'hersteld' werd in dit onderzoek verstaan herstel op basis van klinisch onderzoek door de begeleidend dierenarts dan wel score '0' per onderzoeksparameter (figuur 1).

Van de overblijvende dieren werden per groep de gemiddelde scores per bovengenoemd criterium vergeleken. Op D0 werden voor bevestiging van de waarschijnlijkheidsdiagnose mycoplasma artritis, op aseptische wijze een punctaat (1-3 ml) en een serummonster



Figuur 2: Schematische verdeling van aangetaste gewrichten met aangetoonde mycoplasma-infectie, waarvan zestien in de achterpoten (12x femoro-tarsaal en 4x tarsaal) en negen in de voorpoten (9x carpaal) (n=25, nov. 2014-maart 2015).

Kalf	behandeling TN/PP	GD-uitslagen			scores			
		Elisa	Myc. kweek	M. bovis PCR	D1	D7	D14	D28
1*	PP	2+	N		13	14	13	6
2	TN	4+	P	P	10	9	4	1
3	PP	2+	P	P	8	6	2	1
4*	TN	1+	N	N	8	6	2	1
5*	PP	0			6	6	5	2
6	PP	0	P	P	8	4	hersteld	
7	TN	0	P	P	9	10	6	3
8	TN	1+	P	P	17	15	11	hersteld
9	TN	2+	P		7	7	5	1
10	PP	1+	P	P	6	7	8	6
11***	PP	0	P	P	15	17	0	hersteld
12*	PP	0	N	N	12			
13	PP	0	P	P	12	11	10	4
14*	PP	4+	N	N	9	13	14	8
15	TN	1+	N	P	12	10	9	5
16	TN	0	N	P	3	4	2	0
17	TN	5+	P	N	7	8	1	1
18**	PP	4+	P	P	9	dood		
19***	PP	0	P	P	10	10	10	8
20	PP	1+	P	P	15	15	8	5
21	TN	1+	P	P	12	12	14	5
22	PP	0	P	P	13	11	9	5
23	PP	4+	P	P	11	9	8	1
24	TN	0	P	P	11	11	9	10
25	PP	0	P	P	11	11	12	12
26	PP	0	P		7	6	9	6
27	TN	0	P		9	6	8	8
28	TN	0	P	P	7	3	5	6
29*	PP	2+	N	N	11	11	8	0
30**	TN	0	P	P	9	11	dood	
31	TN	5+		P	11	5	4	6
32*	TN	0	N	N	9	3	3	0

Tabel 1: Overzicht van alle kalveren meegenomen in het onderzoek naar het effect van de behandeling van door mycoplasma veroorzaakte artritis en de uitslagen van puncties (PCR en kweek) de *M. bovis* ELISA en het effect behandeling (PP = Pyrogenium, Promotion; TN = tylosine, NSAID; N= niets aangetoond, P= aangetoond). De met * gemarkeerde kalveren werden niet meegenomen in de beoordeling van het effect met als reden: *niets aangetoond, **dood of ***geïmmobiliseerd

genomen. Dit monster werd direct gekoeld opgestuurd naar GD voor respectievelijk kweek mycoplasma (PPLO-selective agar), PCR *M. bovis* (inhouse test GD) en antistoftiter *M. bovis* (Bio-X, Diagnostics, Jemelle, België). Voor de serologie werd de uitslag 0, + of ++ als niet aangetoond en \geq +++ als aangetoond beschouwd. De specificiteit van de test was bij de gebruikte ++ uitslag 99,6 procent (8). Dieren werden niet meegenomen in het onderzoek indien door veehouders reeds een behandeling voor deze artritis was ingezet.

Als inclusiecriteria voor verdacht van mycoplasma artritis werden bij de inzending genomen: zwelling en kreupelheid van carpaal, knie of tarsaalgewricht, aansluitend op of

gelijktijdig met luchtweginfectie en een punctaat dat veelal troebel en visceus en snel stollend was. Behalve een volledige dataset van klinische gegevens was het aantonen van mycoplasma in gewrichtsvloeistof door middel van kweek of PCR voorwaarde voor definitieve inclusie.

Bij de behandeling werd gebruik gemaakt van geregistreerde en toegelaten diergeneesmiddelen, een verzorgingsproduct en advies aanpassing huisvesting (op stro of rubbermat). De keus van het antibioticum was gebaseerd op het formularium vleeskalveren. Dieren met artritis werden op basis van een even of oneven oornummer ingedeeld in een behandelingsgroep (PP) (Pyrogenium compositum (5 ml, s.c.) en tegelijkertijd

werd de huid van het gewricht vochtig gemaakt door sprayen met de lotion Promotion; beiden volgens voorschrift gedurende vijf dagen) en een controlegroep (TN) (tylosine (200 mg/kg, i.m.; volgens voorschrift gedurende vijf dagen) en een NSAID (meloxicam 20 mg/ml, s.c., een maal bij aanvang, of tolfenamzuur 40 mg/ml, s.c., twee maal bij aanvang en na 48 uur). De behandelingen op dagen D2 tot D5 werden uitgevoerd door de veehouder.

De data werd statistisch getoetst, rekening houdend met herhaalde waarnemingen, met behulp van de mixed ANOVA toets in SPSS (versie 2.0, IBM).

Resultaten

Van 32 dieren, afkomstig van 24 bedrijven, werden monsters en een gegevensset ontvangen. Deze werd gecontroleerd op volledigheid en inclusiecriteria, waarna 21 dieren overbleven. Van één dier gingen monsters verloren en uitgesloten zijn tien dieren die overleden, geëuthanaseerd of geïmmobiliseerd waren, inclusief een dier waarbij gelijktijdige behandeling met antibioticum tegen longontsteking nodig was. Dit wordt weergegeven in tabel 1.

Van de aangetaste gewrichten kwamen er negentien voor in de achterpoten (13x femoro-tarsaal en 6x tarsaal) en dertien in de voorpoten (13x carpaal). Bij gewrichten met bevestigde mycoplasma-infectie waren dit respectievelijk zestien (12 en 4) en negen (9) gevallen (zie figuur 2). Het punctaat van de aangetaste gewrichten was veelal troebel, visceus en snel stollend.

Op 32 serummonsters werd ELISA uitgevoerd, hiervan werden 26 negatief (score <+++) en 6 positief (score ≥+++) beoordeeld. Van 31 punctaten werd een kweek op mycoplasma ingezet, waarvan 22 maal aangetoond. Op 29 gewrichtsmonsters werd een PCR uitgevoerd, hiervan werd 21 keer *M. bovis* aangetoond, 6 keer niet aangetoond en 2 zonder resultaat. Van achttien punctaten waren zowel de kweek als PCR positief. In zeven gevallen was wel sprake van een arthritis, maar werd geen mycoplasma aangetoond. In één geval was hierbij verlies van het gewrichtsmonster de oorzaak. Slechts in één geval was er sprake van een hoge ELISA-uitslag. De uitkomsten van de scores op de eerder genoemde uitkomstparameters zijn weergegeven in tabel 1.

Op D28 was er een significante verbetering voor alle afzonderlijke criteria ($P < 0,001$), behalve voor conditie, waarbij geen verschil werd aangetoond tussen D28 en D0. Voor de beoordelingscriteria aspect, beweeglijkheid, temperatuur en pijnlijkheid van gewricht, kreupelheid en conditie was

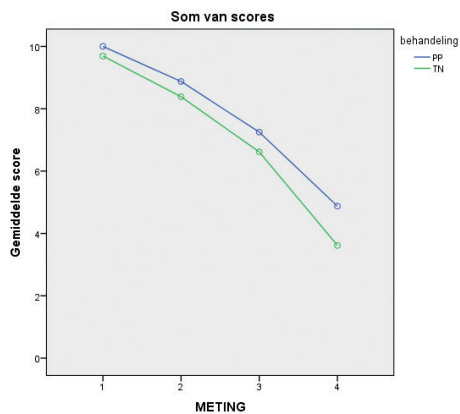
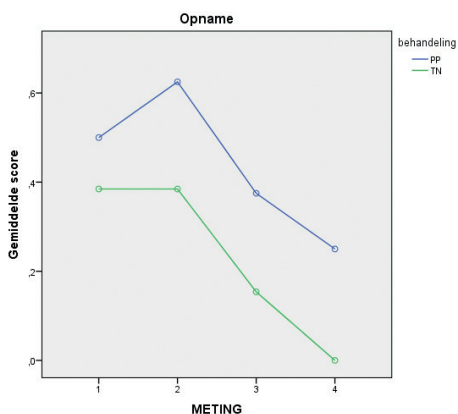
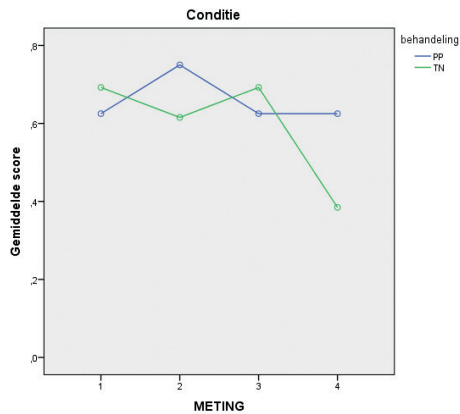
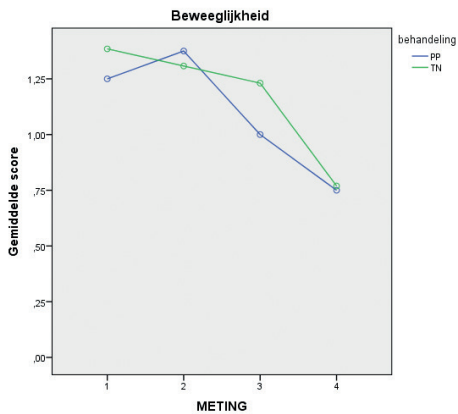
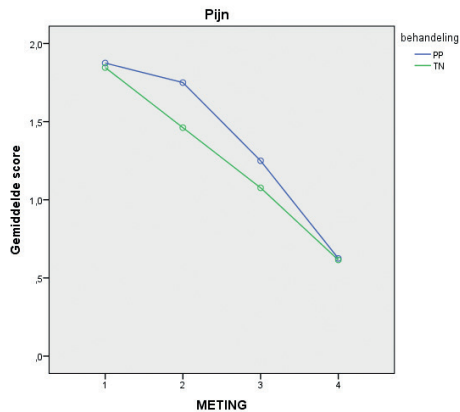
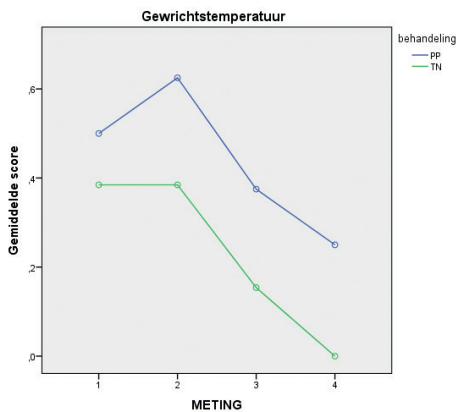
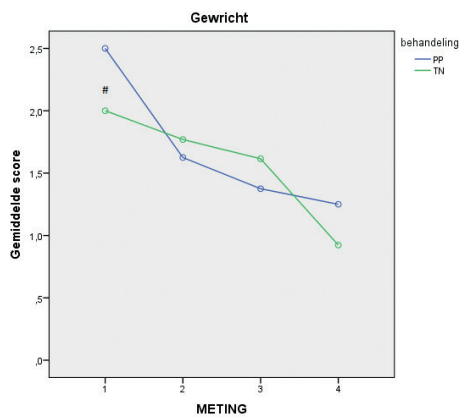
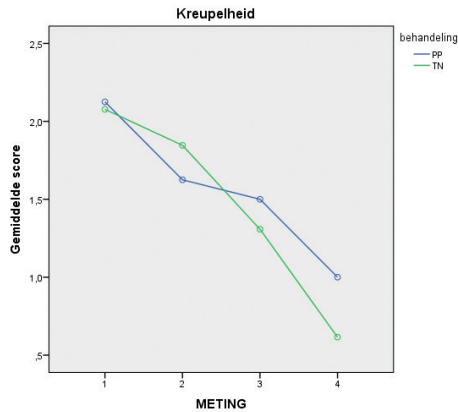
er nagenoeg geen verschil tussen beide groepen op D28 ($p > 0,6$). Ook voor de som der criteria, die het totaalbeeld van de gezondheid en welzijnstatus weergeeft, was er op D28 een significante verbetering ($P < 0,005$), waarbij geen verschil werd aangetoond tussen beide behandelgroepen, zoals weergegeven in figuur 3a-h.

Discussie

In dit verkennende onderzoek, waarbij op 24 bedrijven vleeskalveren met een aangetoonde mycoplasma arthritis volgens een alternatieve benadering met *Pyrogenium compositum* gecombineerd met Promotion zijn behandeld of met een therapie van antibiotica ondersteund met een NSAID, werd op D28 na de start van de behandeling in beide groepen een significante verbetering gezien. Bovendien kon in dit onderzoek geen significant verschil worden aangetoond tussen de traditionele behandeling met antibiotica en de alternatieve behandeling zonder antibiotica. Uit de resultaten kwam ook naar voren dat in een periode van 28 dagen sprake was van voortschrijdend herstel, maar dat voor veel patiënten nog geen plateau in het herstel is bereikt. Het langer vervolgen na 28 dagen lijkt bij een volgende studie nuttig. Het was al bekend dat herstel van deze aandoening lang duurt en dat restloos herstel maar in een beperkt aantal gevallen optreedt (practici schatten dit op slechts 10 procent). Veelal wordt wel functioneel of klinisch herstel verkregen (door praktici geschat op 60 tot 75 procent van de gevallen) (voor de individuele criteria zou dit overeen komen met een beoordeling van 0 of 1 uit figuur 1).

Bij de opzet van dit praktijkonderzoek werd bewust gekozen voor gebruik van een positieve controle. Alleen een behandelgroep met *Pyrogenium* en negatieve controle zou geen optie zijn vanwege het aantasten van dierenwelzijn bij een controlegroep zonder behandeling en een bestaande geaccepteerde handelwijze.

Gezien mycoplasma arthritis in de praktijk slecht reageert op de ingestelde antibacteriële therapie, en dit mogelijk komt door bijvoorbeeld antimicrobiële resistentie, zou alternatieve therapie op basis van deze resultaten de voorkeur verdienen boven een therapie op basis van antibiotica. De incidentie van mycoplasma gerelateerde arthritis is bij vleeskalveren aan de achterpoten hoger dan aan de voorpoten. Bij fokkalveren komt deze vorm van arthritis veel minder voor. Bij melkkoeien mist een duidelijk voorafgaande fase met (broncho-)pneumonie en wordt de aandoening voornamelijk aan de kogel van de voorpoten gezien (Holzhauer, persoonlijke communicatie).



Het verschil in optreden aan de poten wordt mogelijk veroorzaakt door verschillen in belasting en/of zijn het gevolg van verschil in huisvesting tussen vleeskalveren en melkkoeien. MLVA-typering (Multiple Loci VNTR Analysis is een werkwijze toegepast voor de genetische analyse van bepaalde micro-organismen, zoals pathogene bacteriën, die gebruikmaakt van het polymorfisme van gekoppelde herhaalde DNA-sequenties) van de verschillende *M. bovis*-isolaten heeft overigens aangetoond dat er geen verschil is tussen die gevonden bij melkkoeien en die bij de vleeskalveren (Holzhauer et al. artikel in voorbereiding). Bij het aantonen van mycoplasma in de gewrichtsvloeistof werd zowel selectieve kweek op mycoplasma (PPLO-agar) als een selectieve PCR op *M. bovis* toegepast. In twee punctaten werd de *M. bovis* aangetoond met PCR terwijl mycoplasma met de kweek niet werd aangetoond. In één enkel geval was dit andersom (kweek aangetoond, PCR niet aangetoond). In dit onderzoek leek er weinig tot geen correlatie te zijn tussen de ELISA-uitslagen en kweek of PCR. Eventuele positieve ELISA-uitslagen gingen zowel gepaard met een positieve kweek en/of PCR, maar ook met een negatief resultaat. Positieve kweek en/of PCR gingen in meerderheid niet gepaard met een positieve ELISA. Een klinische diagnose mycoplasma arthritis dient dus in het (per-)acute stadium met gewrichtsvloeistof bij voorkeur bevestigd te worden en bovendien dienen dan zowel selectieve kweek als PCR te worden toegepast. De lage uitslagen op basis van antilichamen kunnen samenhangen met het immunosuppressieve

Figures 3 a-h. Grafische weergaven naar beoordelingscriterium en de som der criteria van gemiddelde scores per behandeling (stippel = PP, doorgetrokken = TN). Voor alle criteria geldt hoe lager de score (0-3) hoe gunstiger dit is voor het dier (n=21, december 2014-maart 2015). Op D28 was er een significante verbetering voor alle afzonderlijke criteria ($P < 0,001$), behalve voor conditie, waarbij geen verschil werd aangetoond tussen D28 en D0. Voor de beoordelingscriteria aspect, beweeglijkheid, temperatuur en pijnlijkheid van gewricht, kreupelheid en conditie was er nagenoeg geen verschil tussen beide groepen op D28 ($p > 0,6$). Ook voor de som der criteria, die het totaalbeeld van de gezondheid en welzijnstatus weergeeft, was er op D28 een significante verbetering ($P < 0,005$), waarbij geen verschil werd aangetoond tussen beide behandelgroepen.

effect van een mycoplasma-infectie. *M. bovis* stimuleert enerzijds het immuunsysteem, maar remt anderzijds de proliferatie van immuuncellen (met name lymfocyten) terwijl daarbij de capaciteit tot gamma interferon- en cytokinenproductie overeind blijft. Mycoplasma wordt intracellulair terug gevonden in diverse witte bloedcellen (B-cellen, diverse T-cellen en dendritische cellen) en ook erythrocyten. De invasie van circulerende immuuncellen en erythrocyten kan een belangrijke rol spelen in de pathogenese van de ziekte door hulp aan het vervoer van *M. bovis* van de longen naar andere sites (10). Een andere reden voor lage afweerstoffenproductie zou kunnen worden veroorzaakt door de lokalisatie van de aandoening (gesloten gewricht). Bij een aantal gevallen kon mycoplasma niet als oorzaak worden aangewezen voor de aanwezige arthritis. Als andere oorzaken voor arthritis bij vleeskalveren kan gedacht worden aan andere pathogenen als gevolg van sepsis door *Salmonella*, *Pasteurella*, *Escherichia coli* en *Trueperella pyogenes*, maar worden zelden gevonden. Bij het onderzoek is algemene kweek achterwege gelaten. De reden hiervoor is dat onder andere in eerder onderzoek door de GD steeds mycoplasma als enige kiem werd gevonden en het aantonen van mycoplasma en daarna de reactie op de ingestelde therapie, het doel van deze pilotstudie was. Ook kan een rol spelen dat de PCR specifiek is voor *M. bovis*. Er zou dus een andere subspecies van mycoplasma een rol gespeeld kunnen hebben. Dit laatste zou in deze studie drie keer het geval kunnen zijn. Ten slotte: in deze pilotstudie naar de etiologie en het effect van behandeling van door mycoplasma veroorzaakte arthritis is een vergelijkbaar effect aangetoond voor beide therapieën. Bij een eventuele herhaling van deze studie zouden grotere aantallen patiënten en een langer vervolg dan 28 dagen tot grotere waarde van de resultaten leiden. Overwogen kan worden algemene kweek van het punctaat op te nemen, om eventuele mycoplasmanegatieve monsters alsnog te kunnen duiden en de *M. bovis* ELISA-test achterwege te laten.

Dankbetuiging

De samenvattingen (Nederlands en Engels) en de literatuurlijst staan op de TvD-website. De auteurs bedanken alle deelnemende veehouders voor hun welwillende medewerking. ●