

Har kinoloner någon effekt vid behandling av akut klinisk mastit orsakad av *Escherichia coli*?

Bakgrund

Mastit orsakad av Escherichia coli

Mastit (juverinflammation) är en av de vanligaste och mest förlustbringande sjukdomarna hos mjölkkon. Mastit orsakas främst av bakterier som invaderar juvret via spenkanalen.

Escherichia (E.) coli är en vanlig bakterie som finns överallt i kons miljö eftersom den finns i kons träck. Den är en relativt vanlig orsak till mastit i Sverige [1, 2] och ger främst problem med akuta kliniska mastiter. Det vill säga mastiter med ett hastigt förlopp och med synliga symtom. Symtomen kan vara ganska kraftiga med hög feber, påverkat allmäntillstånd och förändrad mjölk. Dödsfall förekommer i de mest allvarliga fallen [3]. Kor som överlever en sådan mastit behöver ofta en lång återhämningsperiod och många gånger är den drabbade juverdelen förstörd så att kon slutligen blir trespent. Ofta har dessa kor också en nedsatt mjölkproduktion under en längre tid. Kolimastit orsakar därmed såväl kraftigt lidande för kon som ökad arbetsbelastning för djurägaren samt ökade kostnader i form av veterinärvård, nedsatt mjölkproduktion och ökad utslagning. Dessutom bidrar kolimastiter till, en inte obetydlig, antibiotikaanvändning.

Behandling av kolimastit

Traditionellt behandlas akut klinisk kolimastit i Sverige med bredspektrumantibiotika ofta i kombination med antiinflammatorisk och smärtstillande medicinering (så kallad NSAID) samt täta urmjölkningar, ibland i kombination med oxytocin. Beroende på symtom kan kon också ges vätskeersättning i blodet eller med sond i förmagarna. Sveriges veterinärmedicinska sällskaps riktlinjer för antibiotikaanvändning (SVS 2011) till mjölkkor rekommenderar som förstahandsval vid behandling av akut klinisk kolimastit endast understödjande behandling, det vill säga de ovan beskrivna behandlingsalternativen utom antibiotika. Endast vid höggradig mastit i nära anslutning till kalvning, då kons immunförsvar förväntas vara nedsatt, rekommenderas antibiotika och då kinoloner. Kinoloner är semisyntetiska antibiotika som förstör bakteriernas DNA. En vanlig kinolon i nötp Praxis är enrofloxacin som i två olika preparat finns registrerat i Sverige för användning vid kolimastit hos nöt (Fass vet 2013).

Kinoloner

Kinoloner är ett av tre antibiotika som Världshälsoorganisationen (WHO) listat som kritiskt viktiga för människa (WHO 2007). Det finns all anledning att begränsa användning av kinoloner till de tillfällen där det är absolut nödvändigt och där de förväntas göra stor nytta. Om kinoloner är livräddande vid kolimastit så skulle det vara ett sådant tillfälle. I januari 2013 kom en ny föreskrift som kraftigt begränsar användningen av kinoloner till djur (SJVFS 2012:32). I korthet innebär föreskriften att resistensundersökningar ska visa att bakterien som orsakat sjukdomen är känslig för kinoloner och att en insatt behandling förväntas ge god effekt. Tidigare undersökningar av *E. coli* som orsakar mastit hos svenska mjölkkor har visat att samtliga isolat är känsliga för kinoloner [2, 4]. Ur den aspekten bör därför kinoloner kunna

användas vid behandling av kolimastit. Dessutom når kinoloner juvret snabbt efter intramuskulär eller intravenös giva och ger höga koncentrationer i mjölk [5]. Kinoloner är rent farmakokinetiskt ett bra val vid mastitbehandlingar. Men den stora frågan är om kinoloner har någon klinisk effekt vid behandling av kolimastit. Om detta tvistar de lärde och det finns motstridiga resultat från olika studier. En dansk studie hävdar att kinoloner har effekt vid höggradig klinisk mastit, men inte vid lindrigare fall och inte heller vid de allra allvarligaste fallen [6]. I en nyligen publicerad finsk fältstudie där hälften av korna behandlades med enrofloxacin och NSAID och den andra hälften bara med NSAID, sågs inga skillnader mellan grupperna förutom en något mindre bakterieväxt i enrofloxacin-gruppen [7]. En del experimentella studier har visat en positiv effekt av enrofloxacin på mjölkproduktionen [5, 8].

Dubbelblindad klinisk prövning

Vid utvärdering av läkemedel bör helst studien vara en så kallad dubbelblindad klinisk prövning för att få högsta möjligt bevisvärde. Det innebär att en grupp behandlas med aktiv substans och den andra med placebo, men förpackade i likadana avkodade förpackningar där varken djurägare, veterinär eller projektledare vet vad som finns i förpackningarna. Ingen av de nämnda tidigare publicerade studierna om behandling av kolimastit med kinoloner är en dubbelblindad klinisk prövning. I väldigt få studier ingår dessutom en långtidsuppföljning.

Syfte

Syftet med denna studie var att med hjälp av en dubbelblindad klinisk prövning i fält utvärdera behandlingseffekten, på kort och på lång sikt, av kinolonen enrofloxacin vid akut klinisk mastit orsakad av *E. coli*.

Material och metoder

Korna

I studien ingick 117 mjölkkor i ordinarie kopraxis. Korna hade akut klinisk mastit misstänkt orsakad av *E. coli*. Korna besöktes av en veterinär tillhörande något av de 25 veterinärcentrum som ingick i den kliniska prövningen. Vid besöket, dag 0, utförde veterinären en klinisk undersökning av kon och fyllde i eventuella fynd i protokoll dag 0. Symtom som registrerades var bland annat temperatur, allmäntillstånd, juverkonsistens, mjölkens utseende och uppskattad mjölkproduktion. Försöket har godkänts av en djurförsöksetisk nämnd och den kliniska prövningen har godkänts av Läkemedelsverket. Studien pågick mellan 2008 och 2012.

Provtagning

Mjölken undersöktes av veterinären med California Mastitis Test (CMT) som ger ett indirekt mått på mjölkens celltal. CMT-poängen (1-5) noterades i protokollet. Tre mjölkprov togs från affekterad/-e juverhalva/-or. Ett mjölkprov bakterieodlades på den lokala stationen för att kunna ge djurägaren en snabb återkoppling till dagen därpå. Två mjölkprover skickades till Mastitlaboratoriet, SVA där det ena undersöktes för bakteriologi medan det andra som innehöll konserveringsmedlet bronopol, analyserades med avseende på celltal.

Behandling

Veterinären lämnade kvar testsubstans för tre dagars behandling. Varken djurägaren eller veterinären kunde se innehållet i de identiska bruna glasflaskorna. Hälften av flaskorna innehöll enrofloxacin ekvivalent med Baytril® vet. Hälften av flaskorna innehöll placebo i form av koksalt. Enrofloxacinet hade ometiketterats och placebon hade tillverkats av Apotekets produktionsbolag i Umeå (APU) som är ett laboratorium som uppfyller GLP (good laboratory practice). Dessutom gjorde APU en kodlista för flaskorna där det framgick vilket flasknummer som var enrofloxacin och vilket som var placebo. Flaskorna och kodlistan skickades till apoteket vid Malmö universitetssjukhus som ansvarade för alla utskick till veterinärerna. Samtliga kor behandlades med NSAID i form av Metacam® vet. Samtliga kor skulle också mjölkas ur med två extra urmjölkningar per dag under de två inledande behandlingsdagarna. Behandlande veterinär avgjorde, beroende på kons symtom, om ytterligare behandlingar krävdes, som oxytocin, kalk och vätska. Dessa behandlingar noterades i protokollet. Det var också tillåtet att dubbelbehandla korna med bensylpenicillin, eftersom diagnosen kolimastit inte med säkerhet kan ställas enbart på kliniska symtom i fält. Djurägaren utförde behandling med testsubstansen enligt dosen 17 ml intramuskulärt, en gång om dagen i tre dagar (dos för Baytril® vet enligt Fass vet). Djurägaren kunde när som helst välja att sätta in annan behandling om kon blev alltför dålig. Kon utgick då ur försöket.

Uppföljning på kort sikt

Dagen efter avslutad behandling undersökte djurägare kon och noterade symtom och CMT-resultat på Protokoll dag 3. Dag 22 och dag 28 gjorde djurägaren enligt ovan och fyllde i Protokoll dag 22 och Protokoll dag 28 samt tog mjölkprov som skickades till SVA för bakteriologi och celltalsanalys. Samtliga protokoll skickades till projektledaren på SVA. Utgångna och avlidna kor noterades av djurägare och fältveterinär och rapporterades till projektledaren på SVA.

Bakteriologi

Mjölksproven odlades på Mastitlaboratoriet, SVA enligt ackrediterade metoder. *E. coli*-isolat gick vidare till antibiotikalaboratoriet, SVA för resistensundersökning. Dessutom skickades 52 av koliproverna till Danmark för bakteriologisk analys med PCR-metodik.

Långtidsuppföljning

Uppgifter om utgångsdatum och provmjölkningssuppgifter (celltal och mjölkavkastning) från provmjölkningen före behandling och sex månader efter hämtades från Kodatabasen hos Svensk Mjölk.

Statistisk bearbetning

Uppföljning skulle enligt instruktion göras dag 3, dag 22 och dag 28. De två senare uppföljningarna gjordes inte på alla kor och inte heller på angivet datum. Uppföljning dag 22 och 28 slogs därför ihop. Det uppföljningstillfälle som hade flest parametrar (CMT, odling, avvikande mjölk samt mjölkavkastning) registrerade valdes som uppföljning. För de kor som

hade lika många parametrar registrerade vid båda tillfällena valdes det uppföljningstillfälle som låg närmast 25 dagar efter mastitfallet.

Skillnader mellan behandlingsgrupperna vid uppföljning dag 3 och dag 22-28 testades med logistisk regression för binära variabler och linjär regression för kontinuerliga variabler.

Behandling (enrofloxacin vs. placebo) och grad av växt (riklig vs. lindrig/måttlig växt) vid odling dag 0 inkluderades som förklarande variabler i alla modeller.

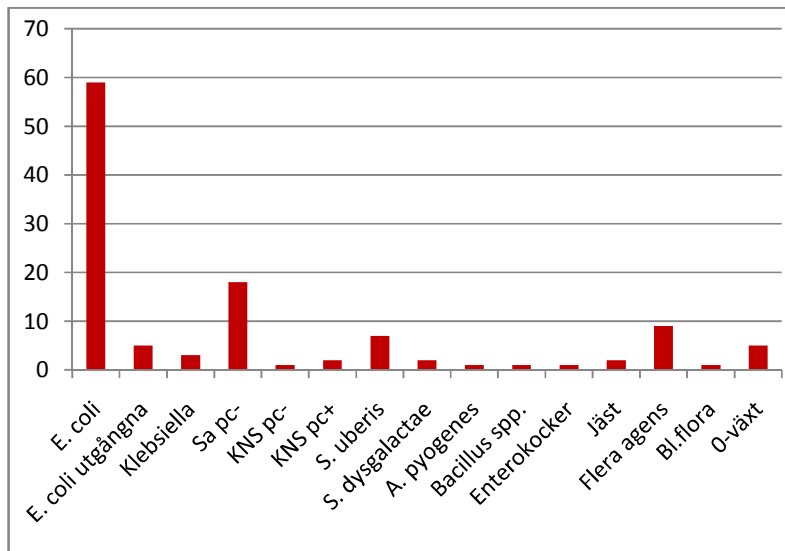
Skillnaden i överlevnad 7 respektive 180 dagar utvärderades med överlevnadsanalys (Cox proportional hazards model). Antalet dagar från att kon behandlades till dess att hon slaktades/avlivades eller såldes beräknades. Kor som var kvar i besättningen vid uppföljningsperiodens slut (7 respektive 180 dagar) räknades som right-censored. Kor som slaktades/avlivades inom 7 respektive 180 dagar definierades som failure. Typ av behandling, grad av växt vid odling dag 0, laktationsdag vid mastitfallet samt om kon fått behandling med bensylpenicillin (ja/nej), annat läkemedel (ja/nej) eller vätska (ja/nej) togs med som förklarande variabler i modellerna.

Skillnad i celltal och mjölkavkastning vid provmjölkningen före samt de sex efterföljande provmjölkningarna efter mastiten jämfördes mellan gruppen som fått enrofloxacin och gruppen som fått placebo. För de kor som var sinlagda eller nykalvade vid provmjölkningen före mastitfallet och därför saknade celltalsuppgifter användes uppgifter från den sista provmjölkningen före sinläggning. Skillnaden analyserades med linjär regresson, en modell för varje provmjölkningstillfälle, och beroende variabel var logaritmerat celltal respektive mjölkavkastning. Behandling, grad av växt vid odling dag 0, ras (SRB, SH eller övriga raser) och laktationsvecka vid sjukdomstillfället inkluderades som förklarande variabler. I alla modeller för uppföljning dag 3 och dag 22-28 samt långtidsuppföljning av överlevnad, celltal och mjölkavkastning testades även interaktionen mellan behandling och grad av växt.

Skillnader i Ct-värde för *E. coli* vid PCR-analysen testades mellan kor som dog inom de närmaste dagarna och de som överlevde samt mellan kor som hade lindrig, måttlig eller riklig växt av *E. coli* vid odlingen från dag 0. Skillnaderna testades med Kruskal-Wallis equality-of-populations rank test.

Resultat

Totalt inleddes behandling på 117 kor. Av dessa hade 57 kor *E. coli* i renkultur och stannade därmed kvar i försöket. Nio av dessa kor dog inom de första dagarna. En ko utgick då det inte var möjligt att få fram kodnumret på behandlingen. Övriga 60 kor utgick på grund av annan växt, främst *Staphylococcus aureus* (18 st) eller på grund av att djurägaren ville avbryta försöket (5 st). Tre av korna med annan växt än *E. coli* avled inom de första dagarna efter behandling. Samtliga 56 kor med *E. coli* hade måttlig (4 st) till höggradig (52 st) akut klinisk mastit. Se Figur 1 för odlingsresultat hos samtliga kor.



Figur 1. Antal kor med respektive odlingsresultat.

34 kor (60,7 %) behandlades med enrofloxacin och 22 (39,3 %) fick placebo. Förutom testsubstans och NSAID behandlades 7 kor med bensylpenicillin (Penovet® vet), 13 kor fick kalk och 26 kor fick vätska. Vid akutbesöket hade nästan alla korna CMT ≥ 3 , påverkat allmäntillstånd och nedsatt mjölmängd.

Medianen för laktationsdag vid mastitfallet var 116 dagar (min 3, max 409). Andelen kor som dog inom de första dagarna skilde inte mellan behandlingsgrupperna (17,6 % av korna som fick enrofloxacin och 13,6 % av korna som fick placebo, $p=0,5$). Av de nio kor som dog hade sex (67 %) pares jämfört med 14 (30 %) av de 47 som överlevde vilket var en statistiskt säkerställt högre andel ($p=0,044$, 1-sidigt Fisher's exact test). Tabell 1 visar antal kor med lindrig, måttlig eller riklig växt av koli fördelat på om de behandlades med enrofloxacin eller placebo. Tabell 1 visar också växt av koli hos de kor som dog de närmaste dagarna efter mastitfallet.

Tabell 1. Antal kor (antal som dog) med lindrig, måttlig eller riklig växt av koli, fördelat på antal kor som behandlades med enrofloxacin eller placebo.

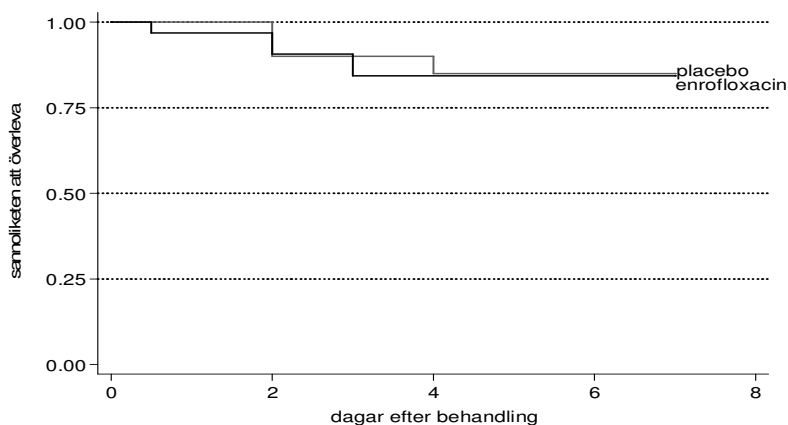
	Lindrig	Måttlig	Riklig	Totalt
Enrofloxacin	8 (0)	7 (1)	19 (5)	34
Placebo	3 (0)	3 (0)	16 (3)	22
Totalt	11 (0)	10 (1)	35 (8)	56

Två kor saknade helt uppföljning dag 22 och dag 28 medan 20 kor hade alla uppgifter registrerade vid båda tillfällena. Efter sammanslagning av de två uppföljningstillfällena var den genomsnittliga uppföljningsdagen 28,1 dagar (SD 6,4). Det var ingen statistiskt säkerställd skillnad av symtom dag 0, dag 3 eller dag 22-28 mellan de kor som behandlades med enrofloxacin respektive placebo.

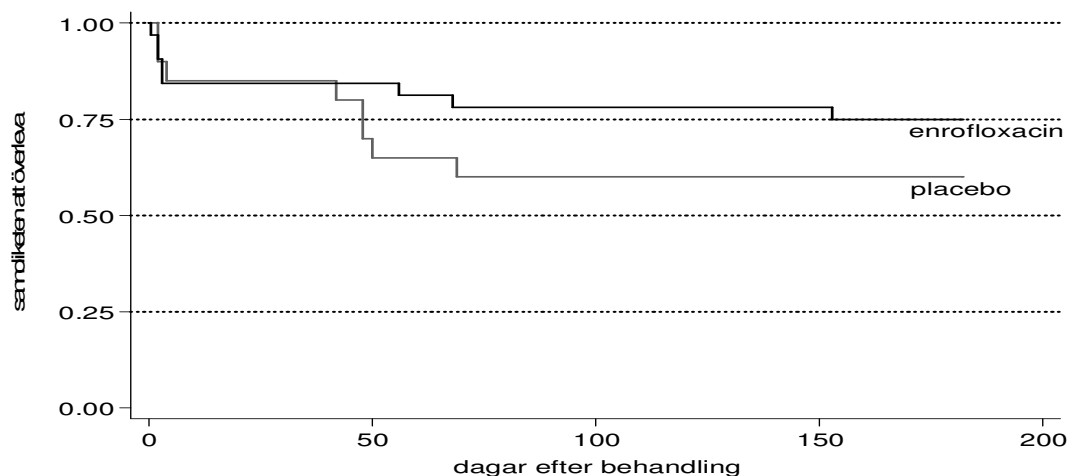
Avkastningen var signifikant lägre både dag 3 och dag 22-28 om odlingen dag 0 visat riklig växt av *E.coli*. I övrig påverkade inte grad av växt symtom eller celltal vid uppföljningen dag

3 och dag 22-28. Interaktionen mellan behandling och grad av växt var inte statistiskt säkerställd för någon variabel vid uppföljning dag 3 eller dag 22-28.

Överlevnadskurvor 0-7 respektive 0-180 dagar visas i figur 2 och 3. Skillnaden i överlevnad 0-7 respektive 0-180 dagar var inte statistiskt säkerställd mellan gruppen som behandlades med enrofloxacin och gruppen som behandlades med placebo ($p=0,63$ respektive $p=0,52$, modellerna redovisas inte på grund av platsbrist). Sannolikheten att överleva 0-180 dagar var högre om odlingen dag 0 visat lindrig/måttlig växt jämfört med riklig växt. Interaktionen mellan behandling och grad av växt var inte signifikant.



Figur 2. Sannolikheten att överleva (ej slakt eller självdöd/avlivad) inom sju dagar efter fall av klinisk mastit orsakad av *E. coli* och behandlad antingen med enrofloxacin eller placebo.

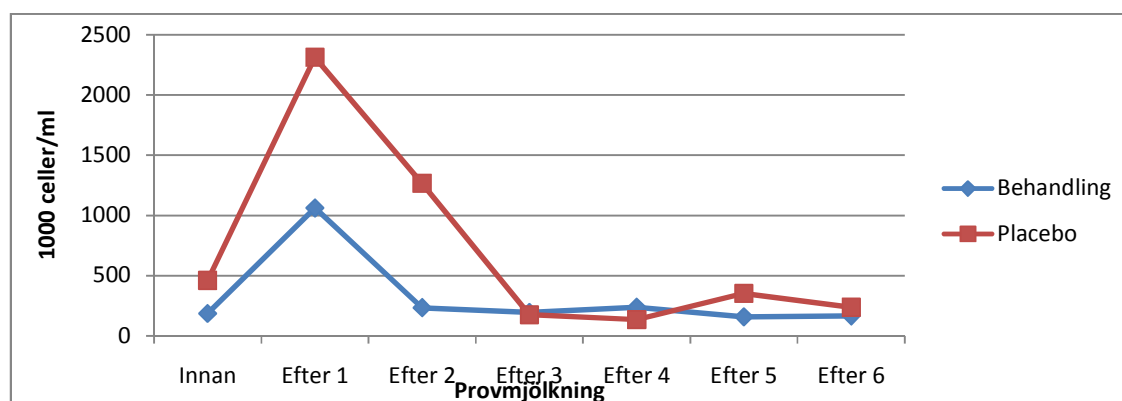


Figur 3. Sannolikheten att överleva (ej slakt eller självdöd/avlivad) under 180 dagar efter fall av klinisk mastit orsakad av *E. coli* och behandlad antingen med enrofloxacin eller placebo.

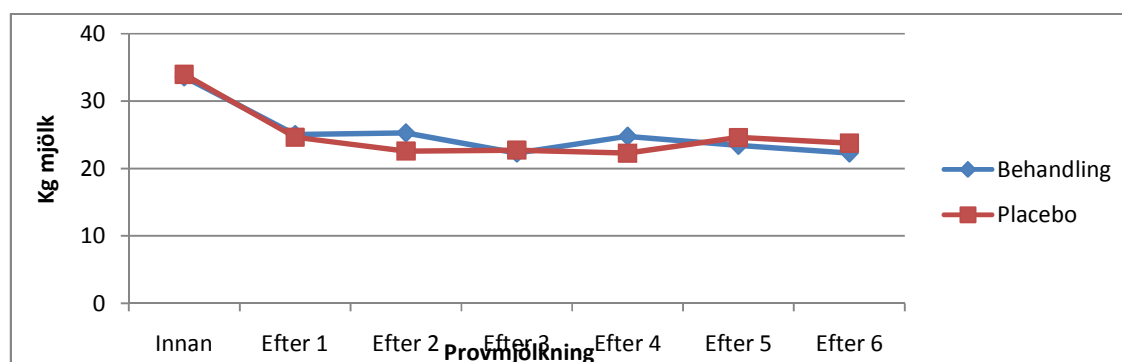
I figur 4 och 5 visas medelvärdet för celltal respektive mjölkavkastning för gruppen som behandlades med enrofloxacin respektive placebo. Gruppen som behandlades med enrofloxacin hade ett statistiskt säkerställt lägre celltal vid femte provmjölkningen ($p=0,02$) (modellen redovisas inte på grund av platsbrist) efter mastitfallet. Den skillnad som kan ses

vid provmjölkning 2 och 3 i figuren beror på en högre andel kor med riklig växt i placebogruppen. Grad av växt påverkade inte celltalet men däremot var interaktionen mellan behandling och växt vid andra provmjölkningen efter mastitfallet signifikant. Celltalet i gruppen som fick placebo och hade riklig växt var statistiskt säkerställt högre än i de andra grupperna.

Det var ingen skillnad i mjölkavkastning mellan grupperna. Kor med riklig växt vid odlingen dag 0 hade däremot lägre mjölkavkastningen vid femte och sjätte provmjölkningen jämfört med kor med lindrig/måttlig växt.



Figur 4. Medelvärde för celltal vid provmjölkningen innan samt de sex efterföljande provmjölkningarna efter behandling för kor som behandlats med enrofloxacin eller placebo vid mastit orsakad av *E. coli*.



Figur 5. Medelvärde för mjölkavkastning vid provmjölkningen innan samt de sex efterföljande provmjölkningarna efter behandling, för kor som behandlats med enrofloxacin eller placebo vid mastit orsakad av *E. coli*.

PCR

Totalt utfördes PCR på mjölkprov från 52 kor. Ct-medelvärdet var statistiskt säkerställt lägre vid måttlig och riklig växt jämfört med lindrig växt och lägre vid riklig växt jämfört med måttlig, däremot var det ingen skillnad mellan de kor som dog de första dagarna och de som överlevde. I tabell 2 visas medelvärde, standardavvikelse samt min- och maxvärde för Ct-värden uppdelat på kor som hade lindrig, måttlig eller riklig växt av *E. coli* vid odling samt uppdelat på överlevnad de första dagarna efter mastitfallet.

Tabell 2. Medelvärde för Ct från PCR-analys, uppdelat på grad av växt av koli respektive överlevnad de första dagarna efter mastitfall.

		Antal	Medel	SD	Min	Max	p-värde
Växt vid odling	Riklig växt	31	21,5	5,6	15,2	37,3	0,001
	Måttlig växt	10	25,2	4,1	22,3	35,6	
	Lindrig växt	11	27,4	3,3	23,4	33,5	
Överlevnad	Överlevde	45	23,8	5,1	15,6	37,3	0,12
	Dog	7	21,4	7,8	15,2	37,1	

Antibiotikaresistens

Samtliga isolat av *E. coli* var känsliga för enrofloxacin.

Diskussion

Resultaten i denna studie tyder inte på att behandling med enrofloxacin är livräddande vid kolimastit, särskilt inte i det akuta skedet. Detta är i linje med en finsk fältstudie där hälften av korna fick enrofloxacin i kombination med NSAID (ketoprofen) och den andra hälften fick enbart NSAID [7]. I vår studie var det ingen skillnad i korttidsöverlevnad mellan kor som fick enrofloxacin eller kor som fick placebo. Numerärt var det till och med fler kor som fick enrofloxacin av de kor som dog inom en vecka efter behandling. Den totala överlevnaden upp till 180 dagar skiljde sig inte heller åt statistiskt även om det fanns en tendens till bättre långtidsöverlevnad i den grupp som fick enrofloxacin. Bakterieväxten påverkade inte överlevnaden i vår studie. Detta skiljer sig från en tidigare dansk studie som visade att kor med riklig växt överlevde i mindre utsträckning än kor med lindrig och måttlig växt av *E. coli* [9]. Orsaken till denna skillnad är inte helt klarlagd. Kor som dog i vår studie hade i större utsträckning pares än de som överlevde.

Ser man till kliniska symtom, celltal (CMT) och bakteriologisk växt fanns det en tendens till att antibiotikabehandlade kor återhämtar sig något snabbare, men det fanns ingen signifikant skillnad mellan grupperna på kort sikt. I en finsk experimentell studie där enrofloxacin jämfördes med laktoferrin sågs också en tendens till snabbare bakteriologisk återhämtning hos kor som behandlats med enrofloxacin [10]. I en annan experimentell studie sågs också en hämning av bakteriologisk växt i mjölk hos de kor som behandlats med enrofloxacin jämfört med dem som inte behandlats alls [11]. På lång sikt hade gruppen som fick enrofloxacin ett signifikant lägre celltal.

Det var ingen skillnad i mjölkavkastning mellan kor behandlade med enrofloxacin eller placebo, varken på kort eller på lång sikt. Detta stämmer överens med en finsk studie där inga skillnader i mjölkproduktion sågs vid dag 21 [7]. Resultatet skiljer sig dock åt från två experimentella studier med enbart korttidsuppföljning [5, 8]. Vad vi vet finns inga studier med långtidseffekter på mjölkavkastning vid kolimastit behandlad med enrofloxacin.

Ct-värdet för PCR-analysen följde som väntat odlingsresultaten där ett lågt Ct-värde var signifikant korrelerat med riklig växt. Dock sågs ingen skillnad i Ct-värde mellan kor som dog inom en vecka eller kor som överlevde första veckan.

Samtliga isolat av *E. coli* var som väntat känsliga för kinoloner. Detta har även visats i tidigare studier på kolibakterier vid klinisk och subklinisk mastit i Sverige [1, 2].

Vidare kan det vara värt att notera att diagnosen kolimastit var svår att ställa kliniskt för de medverkande veterinärerna i försöket. Nästan hälften av misstänkta kolimastiter i denna studie hade sålunda växt av annan bakterie än *E. coli*.

Slutsatser

I denna studie sågs ingen livräddande effekt av allvarligt sjuka kor med kolimastit då de behandlades med enrofloxacin. Eftersom kinoloner är ett kritiskt viktigt antibiotika för människor bör de användas mycket måttfullt till djur. Till djur bör kinoloner därför bara användas för att häva ett allvarligt sjukdomstillstånd och där man tror att kinolonen kommer att ha en avgörande effekt för djurets tillfrisknande. Resultaten i denna studie visar visserligen på några positiva effekter av behandling med kinolonen enrofloxacin såsom lägre celltal och en tendens till snabbare återhämtning. Enligt oss är detta dock inte tillräckliga skäl för att behandla akut klinisk mastit orsakad av *Escherichia coli* med kinolon. Ytterligare stöd för detta ställningstagande återfinns dessutom i några nordiska publikationer som utvärderat behandling av kolimastit med antibiotika [7, 12].

Publikationer

Ylva Persson, Marie Jansson Mörk, Jörgen Katholm och Håkan Landin. Effekten av kinoloner vid juverinflammation utlöst av koliforma bakterier. Veterinärkongressen 2012, Uppsala 8-9 nov. s. 187-188.

Ylva Persson, Marie Jansson Mörk, Jörgen Katholm and Håkan Landin. How effective is enrofloxacin against acute clinical mastitis caused by *Escherichia coli*? CRU Symposium on Lactation Research in Mammals and Humans, Uppsala 4-5 dec 2012

Ylva Persson, Håkan Landin, Jörgen Katholm and Marie Jansson Mörk. Efficacy of enrofloxacin for treatment of acute clinical mastitis caused by *Escherichia coli*? Abstract submitted to NKvet symposium: Mastitis - new knowledge on diagnostics and control on modern dairy farms 13-14th may 2013, Iceland.

Fortlöpande information i tidningen Husdjur samt Svensk Mjölks övriga kanaler som KossaNova, Kärnfullt och webb.

Övrig resultatförmedling till näringen (föredrag)

Ylva Persson: Aktuellt om kolistudien, agens och resistens vid subkliniska mastit. Veterinärkongressen. Uppsala. 11-12 nov 2011.

Ylva Persson. Har kinoloner effekt vid kolimastit? Bayermöte. Skövde. Feb 2012.

Ylva Persson och Håkan Landin: Antibiotikabehandling av mastiter, Svenska Djurhälsovårdens kurs i antibiotikaanvändning för veterinärer. Flera tillfällen i hela Sverige, 2011-2012

Ylva Persson: Effekten av kinoloner vid juverinflammation utlöst av koliforma bakterier. Hälsopaket Mjölks-seminarium Uppsala augusti 2012

Ylva Persson: Snårig väg till lyckad dubbelblind klinisk prövning på ko, SLU-seminarium 2012.

Håkan Landin: Effekten av kinoloner vid juverinflammation utlöst av koliforma bakterier. Veterinärkongressen 2012

Ylva Persson: How effective is enrofloxacin against acute clinical mastitis caused by *E. coli*? Lactation research in mammals and humans: the mammary gland in health and disease. Uppsala 4-5 dec. 2012

Referenser

1. Ericsson Unnerstad H, Lindberg A, Persson Waller K, Ekman T, Artursson K, Nilsson-Ost M, Bengtsson B: **Microbial aetiology of acute clinical mastitis and agent-specific risk factors.** *Vet Microbiol* 2009, **137**(1-2):90-97.
2. Persson Y, Nyman AK, Gronlund-Andersson U: **Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden.** *Acta Vet Scand* 2011, **53**:36.
3. Burvenich C, Van Merris V, Mehrzad J, Diez-Fraile A, Duchateau L: **Severity of E. coli mastitis is mainly determined by cow factors.** *Vet Res* 2003, **34**(5):521-564.
4. Bengtsson B, Unnerstad HE, Ekman T, Artursson K, Nilsson-Ost M, Waller KP: **Antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows.** *Vet Microbiol* 2009, **136**(1-2):142-149.
5. Rantala M, Kaartinen L, Valimaki E, Stryman M, Hiekkaranta M, Niemi A, Saari L, Pyorala S: **Efficacy and pharmacokinetics of enrofloxacin and flunixin meglumine for treatment of cows with experimentally induced Escherichia coli mastitis.** *J Vet Pharmacol Ther* 2002, **25**(4):251-258.
6. Katholm J: **Treatment of coliform mastitis in bovine practice - can antibiotics be avoided?** In: *11th ICPD: 2003: Acta vet. scand.* ; 2003: 183-184.
7. Suojala L, Simojoki H, Mustonen K, Kaartinen L, Pyorala S: **Efficacy of enrofloxacin in the treatment of naturally occurring acute clinical Escherichia coli mastitis.** *J Dairy Sci* 2010, **93**(5):1960-1969.
8. Hoeben BD, Monfardini E, Burvenich C, Hamann J: **Treatment of acute Escherichia coli mastitis in cows with enrofloxacin: effect on clinical signs and chemiluminescence of circulating neutrophils.** *J Dairy Res* 2000, **67**(4):485-502.
9. Katholm J, Jepsen OR, Agger N: **Peracute coliform mastitis. Experiences from 70 cases in 2 general practices.** In: *Pathogenesis of Mastitis: 1989; Austria; 1989.*
10. Kutila T, Suojala L, Lehtolainen T, Saloniemä H, Kaartinen L, Tahti M, Seppälä K, Pyorala S: **The efficacy of bovine lactoferrin in the treatment of cows with experimentally induced Escherichia coli mastitis.** *J Vet Pharmacol Ther* 2004, **27**(4):197-202.
11. Dosogne H, Meyer E, Sturk A, van Loon J, Massart-Leen AM, Burvenich C: **Effect of enrofloxacin treatment on plasma endotoxin during bovine Escherichia coli mastitis.** *Inflamm Res* 2002, **51**(4):201-205.
12. Pyorala SH, Pyorala EO: **Efficacy of parenteral administration of three antimicrobial agents in treatment of clinical mastitis in lactating cows: 487 cases (1989-1995).** *J Am Vet Med Assoc* 1998, **212**(3):407-412.