



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Bacheloroppgave 2021

NMBU Veterinærhøgskolen
Ingrid Hunter Holmøy

Klinisk mastitt - en systematisk litteraturstudie om bruken og effekten av penicillinbehandling

Clinical mastitis – A systematic review of the use
and effect (cure-rate) of penicillin

Langnes Hanne, Max Line, Tronsmoen Heidi og
Aashammer Josefine Ambrosia

Bachelor Dyrepleie
Institutt for produksjonsdyrmedisin (PRODMED)

Innhold

Forord	7
Sammendrag	8
Definisjoner	9
Innledning.....	11
Melkekua.....	11
Laktasjonsfysiologi	11
Mastitt.....	12
Klinisk mastitt	12
Subklinisk mastitt.....	12
Agens.....	13
Kuas immunforsvar	14
Patogenese	15
Kliniske tegn	16
SCC	16
NAGase	17
Mild, moderat og alvorlig klinisk mastitt.....	17
Prevalens av mastitt i verden og Norge.....	18
Risikofaktorer.....	18
Konsekvenser av klinisk mastitt.....	19
Antibiotikabehandling	20
Antibiotikaresistens	21
Litteraturstudie	22
Formål	22

Materiale og metoder	22
Databasene	22
Retningslinjer for litteratursøk	23
Søkeord, søkestrategier og treff	24
Inklusjons- og eksklusjonskriteriene	26
Screening av artikler.....	28
Resultater.....	28
Seleksjon	28
Vurdering av eksterne faktorer.....	32
Publikasjonskanaler.....	32
Om forfatterne	33
Vurdering av artiklenes innhold.....	33
Kommer hensikten frem i artiklene?	33
Studiedesign	35
Klassifisering ved inklusjon	35
Mastittgrad	36
Behandling	37
Blinding.....	39
Randomisering	39
Studieutvalg.....	39
Konfunderende faktorer	40
Statistisk signifikans tilknyttet cure-rate	43
Cure-rate.....	44

Sammenfatning av bakteriologisk og klinisk cure-rate	45
Agensspesifikk cure-rate	47
Sammenfatning av agensspesifikk cure-rate	48
Presentasjon.....	49
Artiklenes referanser	50
Diskusjon.....	53
Kriterier for metaanalyse.....	53
Vurdering av eksterne faktorer.....	53
Vurdering av utfall	53
Dokumentasjonsmangler	55
Intern validitet	55
Studiedesign, randomisering og blinding.....	56
Studiepopulasjon og studieutvalg.....	57
Frafall	58
Klassifisering av mastittgrad	58
Følsomhetstesting	59
Tid i laktasjon.....	60
Kombinasjonskurer	61
Statistisk signifikans tilknyttet cure-rate	62
Begrensinger ved egen litteraturstudie	64
Ekstern validitet.....	64
Publiseringsdato	64
Land.....	65

Driftsforhold.....	65
Kuraser	66
Resultater i praksis	67
Konklusjon	68
Summary	69
Referanser.....	70

Forord

Denne oppgaven inngår i et treårig bachelorstudie i dyrepleie ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet. Oppgaven tilsvare 15 studiepoeng og omhandler penicillinbehandling mot mastitt hos melkekyr. Bakgrunnen for bacheloroppgaven var et valg blant flere mulige bacheloroppgaver i juni 2020, hvor denne oppgaven var av størst interesse. Vi har i løpet av studiet hatt noen forelesningstimer om melkekyr og mastitt, samt litt erfaring med melkekyr fra intern praksis.

Denne bacheloroppgaven er en systematisk litteraturstudie som undersøker cure-rate av penicillinbehandling hos melkekyr med klinisk mastitt. Dette har blitt gjort ved å sette fokus på artikler hvor resultatene er mest mulig relevant for norske melkekyr og typen penicillin som blir anvendt i Norge.

Vi ønsker å takke veileder Ingrid Hunter Holmøy førsteamanuensis ved Institutt for Produksjonsdyrmedisin. Hun har stilt til rådighet både skriftlig og muntlig via zoom. Du har vært til stor hjelp for oss og oppgaven vår. Vi vil også takke bibliotekarene på Adamstuen (senere i Ås) for god hjelp med referanseveiledning.

Hanne Langnes, Heidi Tronsmoen, Josefine Ambrosia Aashammer og Line Max,
Ås, 12. April 2021

Sammendrag

Tittel: Klinisk mastitt – en systematisk litteraturstudie om effekten av penicillinbehandling

Forfattere: Langnes Hanne, Max Line, Tronsmoen Heidi og Aashammer Josefine Ambrosia

Veileder: Holmøy, Ingrid Hunter, Institutt for produksjonsdyrmedisin (PRODMED)

I denne systematiske litteraturstudien har vi undersøkt cure-rate for naturlig forekommende klinisk mastitt forårsaket av gram-positive bakterier hos lakterende melkekyr behandlet med penicillin G. Vi har også beskrevet andre momenter i forbindelse med mastitt og melkekyr og behandling av denne tilstanden. Vi har gått gjennom fem klinisk kontrollerte studier og en kasusrapport. Her har vi sett på både bakteriologisk og klinisk cure-rate. Tre av studiene har benyttet følsomhetstesting, mens de tre andre kun har identifisert patogen. I de inkluderte studiene er gjennomsnittlig bakteriologisk cure-rate 53.1 % og gjennomsnittlig klinisk cure-rate 74.4 %. For studiene som benyttet følsomhetstesting er gjennomsnittlig bakteriologisk cure-rate 59.8 %, mens for studiene som ikke benyttet følsomhetstesting er gjennomsnittet 44.2 %. Bakteriologisk cure-rate er lavere enn klinisk cure-rate i alle studiene som har oppgitt data for dette. Utfra disse resultatene kan vi si at penicillin G er en ganske god behandling for mastitt forårsaket av penicillinsensitive bakterier, men at vi bør overvåke utviklingen av anitbiotikaresistens framover.

Definisjoner

Agens	En substans som fører til en biologisk, kjemisk eller fysisk forandring (Tønjum, 2019)
Avdrått	Avkastningen av melkeproduksjonen (Vangen, 2020)
Avsining	Avslutte kuas laktasjon
Båsdrift	Kyr er oppstallet på bås og melkes på rørmelkeanlegg
Celletal/SCC	Antall celler pr milliliter melk/Somatic Cell Count (Heringstad et al., 2018)
Cure-rate	Antall/andel syke dyr som blir friske/kurert
DHS	Dihydrostreptomycin. Aminoglykosidantibiotika
Intramammær/I.M.M.	Inne i jurvevet
Intramuskulær/I.M.	Inne i muskelvevet
KNS	Koagulase negative stafylokokker
Laktasjon	Dannelse av melk i melkekjertlene (Opplysningskontoret for Meieriprodukter, u.å.). En laktasjonsperiode er et tidsintervall (standard: 305 dager) hvor kua produserer melk
Løsdrift	Kyr er frittgående innendørs, og melkes av bonde (melkegrav eller «karusell») eller melkerobot.
Mastitt	Betennelse i juret. Kan være subklinisk og klinisk
Melkekyr	Kyr som produserer melk til konsum
Multipare	Født flere enn ett avkom (Berge, 1954)
Nullhypotese	Hypotese som sier at det ikke er forskjell/endring/effekt mellom to faktorer
Parenteral	Utenom eller ved siden av tarm (Øye, 2019). Parenteral brukes om tilførsel av medikament, væske og/eller ernæring ved infusjon eller injeksjon (Øye, 2019)
PCR	Polymerasekjedereaksjon. Kopierer opp DNA for å kunne identifisere bakterier og virus (Fossen S. & Dissen, 2020)
P-verdi	Sannsynligheten for at resultatene tilfeldige. Nullhypotesen forkastes om p-verdi blir under en verdi satt på forhånd (Braut, 2019)

Rørmelkeanlegg	Et melkeanlegg som benytter melkemaskin; en elektrisk drevet maskin som suger ut melk fra jurene til dyret og fører den videre i rør/slanger til en tank (Bratberg, 2020)
Sine-/tørrperiode	Et tidsintervall der kua ikke er i laktasjon
Virulensfaktor	Et agens' mekanismer for å overleve

Innledning

Melkekoa

Norsk rødt fe (NRF) er den mest utbredte melkekurasen i Norge. I 2019 var det 342 046 NRF melkekyr og kviger registrert i Kukontrollen. (Tine Rådgivning, 2020b). Kua blir anvendt som melke- og kjøttku, ved at kua går til slakt for kjøttkonsum etter å ha vært melkeku. For at kua skal begynne å laktere må hun først få en kalv, og den vanligste metoden for å få kua drektig er ved inseminering. 85% av norske melkekyr blir inseminert når det er ønskelig med drektighet, og kua må vise tegn på brunst (Refsdal, 2014). Gjennomsnittsalder ved første inseminasjon er 16 måneder. Det blir brukt i gjennomsnitt omtrent 1,7 insemineringer per påbegynte ku/kvige (Geno SA, 2020b). En NRF-kvige får som regel sin første kalv ved toårsalderen (Gillund, 2018). Hun går drektig i 9 måneder og laktasjonsperioden varer fra kalving til avsining ved omtrent to måneder før neste kalving. Melkeproduksjonen når sitt høyeste punkt noen uker etter kalving og avtar deretter frem til kua blir sinet av (Jenssen, 2012). Flestparten av NRF er drektige igjen 80-85 dager etter kalving (Gillund, 2018). I snitt varer en laktasjonsperiode i 305 dager (Tine Rådgivning, 2014a).

En norsk gjennomsnittsbesetning er på 28,8 årskyr og 63% av melken til konsum produseres i fjøs med løsdrift (Tine Rådgivning, 2020b). Siden 22. April 2004 har det vært forbudt å bygge nye bås-fjøs, og innen 1. januar 2034 skal alle båsdriftsfjøs avvikles (Edvardsen, 2018).

Laktasjonsfysiologi

Juret består av fire separate kjertler som igjen består av små melkeganger, en kjertelcisterne, spenecisterne og speneåpning. De små melkegangene er kledd med epitelceller som produserer melken under og etter drektighet ved hjelp av hormonet prolaktin. Hormonet oxytocin fører til at disse cellene kontraherer slik at melken kommer til kjertelcisternen. Prolaktinnivået synker etter fødsel, men ved melking øker utskillelsen kortvarig av prolaktiner og oxytocin, som bidrar til å opprettholde laktasjonen. Speneåpningen består av en ringmuskel som åpner seg ved hjelp av en refleks som blir utløst ved stimulering.

Stimuleringen kan være i form av massasje av spenene, suging, eller at kua ser eller lukter kalven.

En rekke andre hormoner er også involvert i laktering og bidrar til å regulere blant annet protein- og kalsiumnivå i melken (National Research Council (US) Committee on Technological Options to Improve the Nutritional Attributes of Animal Products, 1988).

Mastitt

Mastitt, eller jurkjertelbetennelse, er en inflammasjon i én eller flere av melkekjertlene hos hunndyr (Østerås & Sølvørød, 2009). Mastitt blir kategorisert som enten subklinisk eller klinisk. Inflammasjonen kan skyldes et traume (ikke infeksjøs mastitt) eller en agensinfeksjon (infeksjøs mastitt). Det er mange faktorer som har innvirkning ved utviklingen av mastitt.

I helsekortordningen til Helsetjenesten for Storfe brukes koder for å skille mellom ulike typer mastitt, slik at det er mulig å overvåke utvikling i forekomst over tid. Hver ku har et eget helsekort (Animalia, 2019). Helsekortkoder for mastitt er vist i Tabell 1.

Tabell 1. Helsekortkoder for mastitt

Helsekortkode	Sykdom
303	Mastitt, klinisk, alvorlig/moderat
304	Mastitt, klinisk, mild
305	Mastitt, subklinisk

Klinisk mastitt

Ved en klinisk infeksjon har kua makroskopiske endringer i juret, melken og/eller får feber (Harmon, 1994). Klinisk mastitt kan deles inn i mild, moderat og alvorlig etter symptombilde. Tall fra Helsekortordningen viser at de fleste innrapporterte mastitt-tilfeller er kliniske mastitter (Østerås, 2016).

Subklinisk mastitt

En subklinisk infeksjon har ingen makroskopiske endringer i juret eller i melken. Ved testing er det dog mulig å påvise en økning i SCC, og endring i kvalitet på melken. Melken får høyere pH, mineralsammensetningen er endret (økning av natrium og klorid, nedgang av

kalium) og proteinsammensetning endres (mer immunoglobuliner) (Batavani et al., 2007). I noen tilfeller kan patogene agens påvises. En konsekvens av subklinisk mastitt kan være at melkeproduksjonen går ned, og er dermed ikke økonomisk ønskelig (Harmon, 1994).

Agens

Mastitt kan oppstå som følge av traume, men er oftest forårsaket av infeksjon. Det er et vidt spenn av agens som er funnet å kunne gi mastitt. Vanligst er bakterielle infeksjoner, mens infeksjoner forårsaket av *Mycoplasma*, alger og sopp er mer sjeldne (Bradley, 2002).

Det finnes over 200 mikroorganismer som kan gi opphav til mastitt, hvorav mer enn 150 er bakterielle (Ashraf & Imran, 2020). Både gram-positive og gram-negative bakterier kan forårsake mastitt. Agensene deles tradisjonelt sett inn i tre kategorier – smittsomme agens, miljøagens og opportunistiske agens. De smittsomme agensene lever på infiserte jur og smitter via melking (Ashraf & Imran, 2020). Miljøagens finnes i fjøset og smitter som regel også etter melking. Et opportunistisk agens forårsaker ikke sykdom om immunforsvaret er som normalt. Skulle det oppstå svekkelse i immunforsvaret, som for eksempel et sår, kan derimot disse opportunistiske agensene bidra til infeksiøs mastitt (Myrvang, 2019).

Ved bakteriell mastitt er det fem arter av bakterier som står for de aller fleste tilfellene i Norge: *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* og *Streptococcus agalactiae* (Østerås & Sølverød, 2009).

Agens blir også kategorisert som «major» eller «minor». Major agens fører til størst endring i melkens sammensetning, størst økning i SCC og har størst økonomisk betydning. Minor agens fører kun til moderat inflammasjon og fører i mindre grad til klinisk mastitt.

Escherichia coli er en gram-negativ major agens (Tine Rådgivning, 2018) som forekommer naturlig i fordøyelseskanalen. Bakteriearten består av flere bakteriestammer. Bakterien blir utskilt i kuas avføring, og er et miljøagens. *E. coli* utskiller toksiner som fører til i mange tilfeller alvorlig mastitt (Stanford, 2019).

Streptococcus uberis er en gram-positiv bakterie. Det er en miljøbakterie, og finnes blant annet i kuas avføring. I sjeldne tilfeller kan *S. uberis* smitte direkte mellom kyr, avhengig av bakteriestammens virulensfaktorer (Tine Rådgivning, 2018).

Staphylococcus aureus er et gram-positiv major agens. Bakteriens virulensfaktorer gjør den vanskelig for immunforsvaret å håndtere ved å danne biofilm, produsere toksiner og

enzymmer som ødelegger immuncellene (Gopal & Divya, 2017). *S. aureus* er en smittsom opportunistisk mastittbakterie.

Streptococcus dysgalactiae er en gram-positiv bakterie, og er årsaken til 10-20% av alvorlige, kliniske mastitter (Tine Rådgivning, 2018). Det er en smittsom bakterie, med virulensfaktorer som påvirker immunforsvaret (binder immunoglobuliner) og skader jurepitelet (Calvinho et al., 1998).

Streptococcus agalactiae kan forårsake både klinisk og subklinisk mastitt. Det er en smittsom, gram-positiv bakterie med infiserte jur som smittereservoar (Tine Rådgivning, 2018). Den kan også overleve i miljøet (Cobo-Ángel et al., 2018). Bakteriens virulensfaktorer er blant annet biofilmdannelse og pili, som gjør det mulig for bakterien å feste seg til kuas epitellag (Yang et al., 2013).

Koagulase-negative stafylokokker, KNS, er en undergruppe med gram-positive stafylokokkbakterier. De blir klassifisert som minor agens og gir sjeldent klinisk mastitt (Sølverød L. & Smistad, u.å.). Denne bakteriegruppen holder normalt til på slimhinner, hud- og hårlag, inkludert spenehud og spenekanal (Whist & Sølverød, 2017).

Kuas immunforsvar

Immunforsvaret deles inn i det medfødte og det ervervede immunforsvaret, hvor begge er med på å bekjempe en infeksjon.

Huden på juret og spenen er del av første barrieren som utgjør en del av kua sitt medfødte immunforsvar mot mastitt. Ringmuskulaturen i speneåpningen er en fysisk barriere som forhindrer at melk lekker ut og at agens kommer inn (Ezzat Alnakip et al., 2014). Huden på utsiden av juret består av fettsyrer som hindrer bakterievekst, og epitelvevet på innsiden av juret produserer keratin, en blanding av fettsyrer og proteiner, som hindrer migrering (Ezzat Alnakip et al., 2014). Om huden til juret blir tørr og sprukken kan dette bidra til grobunn for bakterier. Derfor er det viktig å sørge for at huden på juret er myk og smidig for å ivareta kua sitt forsvar mot mastitt (Whist & Sølverød, 2017).

Den indre, medfødte immunresponsen sine oppgaver er å gjenkjenne agens og kunne gi en proinflammatorisk respons. Det består av blant annet nøytrofile granulocytter og makrofager, som ufarliggjør patogener via fagocytose og medierer den ervervede immunresponsen.

Det ervervede immunforsvaret består av lymfocytter, som deles inn i B- og T-celler. Disse blir mediert av det medfødte immunresponsen ved presentasjon av antigen på andre immunceller, og gjør det mulig for lymfocytene formere seg (T-celler) eller modne (B-celler). T-cellene produserer cytokiner, signalstoffer, som gjør at enda flere T-celler formerer seg. B-cellene produserer immunoglobuliner. Lymfocytene ufarliggjør patogener ved å enten virke cytotoxisk (T-celler) eller ved fagocytose (B-celler). Det er en tregere respons, men mer effektiv da lymfocytene fungerer spesifikt på patogenets antigen (Jeffries & Rodgers, 2016).

I eller nær epitelvevet i et friskt jur finnes immunceller som makrofager, nøytrofile granulocytter og lymfocytter. Disse gjør at juret effektivt kan sette i gang en immunrespons, som både vil starte forsvaret mot patogener med en gang, og starte rekruttering av flere lymfocytter, immunoglobuliner og nøytrofile granulocytter via blodet (Rainard et al., 2018).

Selve melken har også komponenter som beskytter mot mastitt. Et eksempel er laktoferrin - et ionbindende glykoprotein som har antibakteriell effekt ved at det konkurrerer med bakterier om tilgangen på jern eller binder seg til bakteriens overflate. Ved mastitt blir det økt laktoferrinkonsentrasjon i melken (Ezzat Alnakip et al., 2014).

Patogenese

Agens kommer inn i juret via speneåpningen (eller ved brudd på hudbarrieren), og beveger seg derfra videre opp spenekanalen inn i kjertelen, melkegangene og jurvevet (Harmon, 1994). Her begynner agenset å multiplisere seg, som fører til økt produksjon av bakterielle toksiner og enzymer som stimulerer kua sitt immunforsvar og setter i gang en betennelsesreaksjon. De bakterielle toksinene skader det melkeproduserende epitellaget (Harmon, 1994).

Om immuncellene og andre faktorer som er med på å beskytte mot infeksjon i juret ikke klarer å kvitte seg med patogenet, blir immunceller rekruttert fra blodet – i hovedsak lymfocytter og nøytrofile granulocytter (Pal et al., 2019). De nøytrofile granulocytene fagocytterer bakterier. I tillegg fagocytterer de fett og protein, som påvirker melkens nærings sammensetning (Harmon, 1994).

Immunresponsen varierer etter hvilken type bakterie det er. Gram-negative bakterier gir en raskere, mer aggressiv immunrespons enn gram-positive bakterier. Dette er fordi gram-

positive bakterier ikke alltid blir fanget opp av reseptorer som finnes på blant annet makrofager (Ashraf & Imran, 2020).

Det er kun når infeksjonen ikke blir bekjempet av kuas eget immunforsvar at det blir et patofysiologisk problem og kan bli klassifisert som mastitt (Pal et al., 2019).

Kliniske tegn

En inflammasjon vil føre til de fem kardinaltegnene: rødme, hevelse, varme, smerte og tap av funksjon (Punchard et al., 2004). Disse tegnene observeres også hos kua ved en mastitt. Juret blir hovent, får en rødme og det er varmt, hardt og smertefullt for kua ved palpering. Skadene på jurepitelet fører til mindre produksjon av melk, og endringen i melkens konsistens gir tap av funksjon. Melken endrer utseende, og man kan observere flak, klumper, fargeendring (gul til brunrød), blod og/eller at den blir mer vandig (Pal et al., 2019)

Systematiske tegn på mastitt er feber som skyldes immunresponsen og atferdsendring. Kua kan bli mer irritabel, få nedsatt matlyst og endring i liggemønster.

SCC

Somatic cell count/celletall (SCC) er den vanligste biomarkøren i melk for mastitt. Økning i SCC skyldes som regel kuas respons på infeksjonen, som fører til økning i leukocytter. I et friskt jur består SCC av 25% leukocytter, mens i et infisert jur er 95% av SCC leukocytter. Resten av SCC består av lymfocytter, makrofager og nøytrofile granulocytter. SCC er med andre ord en indirekte markør og blir hyppig brukt for å diagnostisere mastitt. Det argumenteres for at lav SCC kan også være et problem og føre til økt mottakelighet for mastitt (Rainard et al., 2018). De fleste studier indikerer at fysiologiske og miljøfaktorer kan påvirke SCC, og at man derfor ikke bør sette diagnosen mastitt basert kun på SCC (Harmon, 1994).

SCC hos friske kyr i Norge ligger normalt på 10 000-50 000 celler/ml. Hos ei ku med klinisk mastitt kan SCC være over 1 million celler/ml. Det finnes dog ikke en fastslått grenseverdi for SCC for å stille diagnosen klinisk mastitt (Heringstad et al., 2018). Det er internasjonal aksept at celletall over 200 000 er høyt, og Tine bruker derfor dette som grense for infeksjonsnivå (Tine Rådgivning, 2020a).

I Norge blir celletall målt ved å sende inn prøver til Kukontrollen annenhver eller hver måned (Kirsanova, 2018), og noen melkeroboter har teknologien til å kunne måle celletall ved hver melking for hver enkelt ku (KORE, 2015).

NAGase

N-acetyl-Beta-D-glukosaminidase er en annen biomarkør for mastitt i melk. NAGase er et lysozym, en type enzym som er en del av det medfødte immunforsvaret. Det finnes naturlig i melk, serum og andre kroppsvæsker. NAGase i melk øker ved mastitt, og skyldes lekkasje fra skadet melkeproduserende epitelceller (Kankofer et al., 2010).

Studier viser at dette er en metode for oppdagelse av subklinisk og klinisk mastitt med høy nøyaktighet, med en sensitivitet og spesifisitet på henholdsvis 85% og 99%. (Hovinen et al., 2016).

Mild, moderat og alvorlig klinisk mastitt

Klinisk mastitt kan deles inn i 3 grupperinger – mild, moderat og alvorlig mastitt. Alvorlighetsgraden blir definert på grunnlag av kliniske tegn, celletall og bakteriologiske funn. Det er flere ulike måter å klassifisere mastitt, og etter ulike kriterier.

Tabell 2 viser en måte å klassifisere grad av bakteriell mastitt.

Tabell 2. Gradering av klinisk mastitt etter fem parametere. Tabellen er hentet fra (Scott et al., 2011)

	Mild	Moderat	Alvorlig
Ku	Normal	Normal	Unormal
Jur	Normal	Unormal	Unormal
Melk	Unormal	Unormal	Unormal
SCC	Forhøyet	Forhøyet	Forhøyet
Bakterier	Funn	Funn	Funn

Prevalens av mastitt i verden og Norge

Mastitt er en av de mest betydelige sykdommene hos storfe på verdensbasis (Scott et al., 2011). Grunnet lite epidemiologisk data er det ikke sikkert hvilke agens som har høyst prevalens i verden, men det antas at *S. aureus*, koagulase-negative *staphylococci* og *E.coli* er vanligst forekommende (Ashraf & Imran, 2020).

Tall fra Tines kukontroll i 2019 (Tine Rådgivning, 2020b) viser at litt over 1/3 av alle behandlinger gjort av veterinær i fjøs skyldes mastittproblematikk. Det utgjør et antall på totalt 25 188 kyr behandlet for mastitt i 2019. Andelen er høyest i båsfjøs. Trenden er likevel nedgående med en reduksjon av kyr behandlet med klinisk mastitt på 5,4% siden 2018.

Ifølge Kukontrollen 2019 (Tine Rådgivning, 2020b) var *S. aureus*, *S. dysgalactiae* og koliforme bakterier de tre agensene med største prosentvise andel i speneprøver hos kyr med klinisk mastitt. Disse tre bakteriene har vært agensene med størst utbredelse i Norge de siste ti årene (Tabell 14 i Tine Rådgivning, 2020).

Risikofaktorer

Det er flere faktorer som sammen er med på å utgjøre om ei ku har større risiko for å få mastitt eller ikke; som gener, utseende på juret, hygiene og kuas immunforsvar.

De genetiske faktorene har lav arvegrad og de miljømessige faktorene har større effekt på om kua utvikler mastitt eller ikke (Litwińczuk et al., 2015). Genetisk forsvar mot mastitt er dog en del av avlsmålene hos NRF, med vektlegging på 13,4% (Geno SA, 2020a). Et seleksjonsforsøk har blitt gjort av Geno hvor det har blitt delt inn i høylinje (høy melkeavdrått) og frisklinje (mot mastitt). Forsøket viser at etter fem generasjoner skilles linjene med 10 prosentpoeng mot klinisk mastitt (Nævdal, 2015). Studier viser at kuraser med høy melkeavdrått har høyere mottakelighet for mastitt og høyere SCC (Litwińczuk et al., 2015). Et jur med ulikt utviklede kjertler har høyere mottakelighet for mastitt. Det samme gjelder om spenene er lange, noe som øker risiko for traume, eller om spenene er for korte. Om spenekanalen er for vid, holdes speneåpningen oppe lenger og blir en inngangsport for agens (Litwińczuk et al., 2015).

Alder på kua og stadiet i laktasjonen er en annen risikofaktor. Alder og tidligere mastitter kan påvirke permeabiliteten i jurets epitellev. Rett etter fødsel, tidlig i laktasjonsperioden og ved andre sykdommer påvirkes immunforsvaret ved at det oksidative stresset øker. Spesielt multipare kyr er utsatt (Litwińczuk et al., 2015).

Bondens hygiene har stor påvirkning, spesielt ved håndmelking. Det er derfor viktig med god håndhygiene og nøye vasking av jur mellom melkinger, slik at man unngår at bonden blir et smitteledd mellom kyrne. Bonden må også se til at fjøset, spesielt liggeplassene, er tørre og rene.

Sineperioden er på kort sikt et økonomisk tap for bonden ettersom kua ikke produserer melk, men er viktig for jurhelsen. Det er i denne perioden jurvevet regenereres. Om sineperioden blir for kort er det større sannsynlighet for høyt celletall i påfølgende laktasjon (Litwińczuk et al., 2015).

Konsekvenser av klinisk mastitt

Klinisk mastitt er en stor utfordring i melkeproduksjon, og store ressurser kreves for å behandle og forebygge sykdommen (Bradley, 2002). Klinisk mastitt har ikke bare konsekvenser for bonden sin økonomi, men også for dyrenes velferd.

Klinisk mastitt er smertefullt og bør derfor behandles raskt. Penicillin alene kan være med på å fjerne opphavet til mastitten, men av dyrevelferdsmessige grunner vil det være en fordel å også tenke på analgesi (for eksempel NSAIDs). Siden kyr er byttedyr vil de forsøke å skjule tegn på smerte. Dette kan bidra til at det blir vanskeligere å se om det har det vondt og føre til at kua derfor ikke får analgesien den har behov for. I ekstreme tilfeller av klinisk mastitt er det lett å se at det er smertefullt. Det impliserer at lettere tilfeller også er vondt. Studier har avdekket at ved moderate tilfeller av klinisk mastitt har kyrne høyere puls- og pustefrekvens, hvilket er tegn på smerte. Ved både milde og moderate tilfeller står kyrne med bredere beinstilling for å unngå å komme i kontakt med juret (Petersson-Wolfe et al., 2018). I ekstreme tilfeller vil det bli indurasjon av jurvevet, noe som fører til redusert melkeproduksjon. Ei ku som ikke produserer nok melk, blir med høy sannsynlighet utrangert.

Kyr med klinisk mastitt blir fortsatt melket, men melkes ikke for konsum. Melken blir ikke solgt videre, og blir et økonomisk tap for bonden. Grunnen til at det ikke kan melkes på tanken, er fordi mastitt endrer melkens kvalitet ved at laktose- og fettinnholdet synker, og proteininnholdet endres. Totalt er proteinnivå relativt likt, men proteintypene endres. Kaseininnholdet, som er et melkeprotein av høy ernæringsmessig kvalitet, synker drastisk. Proteiner som øker i omfang stammer fra immunresponsen og inneholder derfor blant annet immunoglobuliner (Harmon, 1994). Mineralsammensetningen endres ettersom det blir økt natrium- og kloridkonsentrasjon, og kalsiumkonsentrasjonen minker.

Melk med antibiotikarester skal heller ikke selges til konsumenter. Det kan føre til allergiske reaksjoner og/eller økt antibiotikaresistens (Ashraf & Imran, 2020). Melk fra antibiotikabehandlede kyr skal ikke gå i tanken som blir hentet av meieriene, men feil kan skje. I 2015 ble omtrent 500 000 liter med melk kassert grunnet medisinerester (Nørstebø, 2015). Tilbakeholdelsestider varierer fra preparat til preparat – for Carepen er det 6 døgn og for Mastipen er det 84 timer.

Kyr med subklinisk mastitt kan melkes på tanken, sammen med melken fra de klinisk friske kyrne. Tankmelken som sendes inn til Tine blir sortert inn i klasser på bakgrunn av prøver på blant annet celletallet. Melken grupperes som elitemelk, 1.klasse, 2. klasse eller 3.klasse. Elitemelk har lavere eller lik 230 000 tankcelletall, og gir et pristillegg på 0,30 kr/liter. 3. klasse melk har høyere enn 350 000 tankcelletall, og gir et pristrekk på 1 kr/liter. Om det har vært over 400 000 SCC tankcelletall i løpet av fire hentinger, stopper Tine å hente melken (Tine Rådgivning, 2014b).

Antibiotikabehandling

Moderne antibiotikabruk startet i 1928, da Sir Alexander Fleming oppdaget penicillinens egenskaper. Penicillin er en type betalaktam-antibiotika som forstyrrer dannelsen av celleveggen til grampositive bakterier (Otterholt, 2020). Dette revolusjonerte human- og dyremedisin. Noen grampositive bakterier har dog utviklet seg til å tåle β -laktam-antibiotikum, hvor det enten har oppstått en spontan mutasjon eller ved at bakteriene har overført genet videre.

Penicillin kan utvinnes naturlig som et ekstrakt fra en type sopp (*Penicillium notatum*) eller fremstilles syntetisk i et laboratorium. Penicillin deles inn i grupper etter den molekylære strukturen. De ulike typene av penicillin blir brukt til ulike formål, men alle har effekt mot gram-positive bakterier. Penicillin G (benzylpenicillin) har den molekylære strukturen til det opprinnelige penicillinet fra soppekstraktet. Penicillin G må bli administrert parenteralt ettersom det blir brutt ned av magesyre (Britannica The Editors of Encyclopaedia, 2020).

Bruk av antibiotika i husdyrproduksjon for å behandle gram-positive infeksjoner begynte internasjonalt i 1935, og har siden da blitt hyppig brukt, også som forebyggende tiltak. (Kirchhelle, 2018).

I Norge er to av tre av de hyppigst forekommende agens ved en mastittinfeksjon gram-positive bakterier (*S. aureus* og *S. dysgalactiae*), og derfor i utgangspunktet følsomme for

penicillin. På markedet i dag er det flere penicillinpreparat som er indikert for mastitt hos kyr, for eksempel Mastipen og Carepen. Preparatene er reseptbelagt, og skives ut av veterinær ved sykdomstilfeller. Begge preparatene er intramammære, og kom på det norske markedet for omtrent 15 år siden.

Flesteparten av mastittbehandlinger er på lakterende melkekyr. Selektiv sintidsterapi er antibiotikabehandling i kuas sineperiode etter påvist smittsom mastittbakterie.

Kukontrollens rapport fra 2019 viser at 5628 kyr ble behandlet med selektiv sintidsterapi (Tine Rådgivning, 2020b). Utenfor Norden har sintidsterapi i større grad blitt brukt som profylaktisk tiltak mot mastitt, uavhengig av infeksjonsstatus (Winder et al., 2019).

Antibiotikaresistens

En bakterieart som tidligere har vært sensitiv for en type antibiotika kan utvikle resistens. Dette skyldes mutasjoner i genmaterialet. Penicillinresistente gram-positive bakterier ble for første gang oppdaget i 1941; en strain av *Staphylococcus aureus* med betalaktamase-produksjon. På bakgrunn av dette ble methicillin skapt, en type penicillin som ikke blir påvirket av betalaktamase. Den første methicillin-resistente bakterien ble oppdaget i 1961. Methicillin-resistent *Staphylococcus aureus* (MRSA) er en fryktet bakterie da den er smittsom og vanskelig å behandle (Landecker, 2016). Epidemiologiske studier viser at det er en direkte sammenheng mellom antibiotikabruk og utvikling av resistens, og på bakgrunn av dette må antibiotikabruk ligge på minimumsnivå (Tine Rådgivning, 2020b).

“Livestock-associated methicillin-resistant” *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) er antibiotikaresistente bakterier som forekommer hos produksjonsdyr, og ble for første gang sett i 1972 (Anjum et al., 2019). Bakterien er zoonotisk hvilket vil si at den kan smitte mellom samme art, andre dyrearter og mennesker, og er derfor en trussel mot folkehelsen på verdensbasis. I Kina, verdens mest befolkede land, har MRSA en høy insidens på 47.6% (Gopal & Divya, 2017). MRSA ble for første gang påvist i en speneprøve i Norge i 2016 (Waalder, 2016).

Forekomsten av penicillinresistente *Staphylococcus aureus* ved mastitt er fortsatt ekstremt lavt i Norge. (Tine Rådgivning, 2020b). I 2019 ble 1492 enkeltspeneprøver fra kyr med kliniske symptomer analysert på TINE Mastittlaboratoriet. 31.7% var positiv for *S. aureus*, og 3.3% av disse var penicillin resistente.

Andre bakteriearter kan også utvikle penicillinresistens. KNS-isolater ble artsbestemt i 2019 fra både klinisk og subkliniske mastitter, og 37,1% av KNS-isolatene var *Staphylococcus epidermis*. Av disse testet 46,6% positivt for penicillinresistens.

Litteraturstudie

Litteraturstudier er sekundærforskning hvor produktet av primær forskning, artikler, blir anvendt. En litteraturstudie kan enten finne artiklene gjennom strategisk søk hos databaser, eller ved å manuelt søke gjennom aktuelle tidsskrifter. Målet i en systematisk litteraturstudie er å identifisere, vurdere og fremstille studier innenfor et emne ved å plukke ut relevant informasjon (Petticrew M. & Roberts, 2006).

Det systematiske søket i databaser involverer en detaljert plan og søkestrategi, slik at søket skal kunne reproduseres. En studie kan gi statistisk signifikans uten at det nødvendigvis har klinisk signifikans (Uman, 2011). To studier som studerer samme effekt, kan få motstridende resultater. En litteraturstudie er evidensbasert, og sammenligner flere studier i et forsøk på å forene resultatene (Petticrew M. & Roberts, 2006). Det kalles for metaanalyse, og gjør at konklusjonen får en høyere grad av sikkerhet (Svartdal, 2017).

Formål

Formålet med denne bacheloroppgaven er å belyse momenter omkring penicillinbehandling av klinisk mastitt hos melkekyr, og gjøre en systematisk litteraturgjennomgang av cure-rate for melkekyr affisert med klinisk mastitt forårsaket av gram-positive bakterier når behandlet med penicillin G.

Materiale og metoder

Databasene

I utgangspunktet ble en rekke databaser vurdert til den systematiske litteraturstudien. Dette inkluderer CAB Abstracts, Google Scholar, Oria, Pubmed, Scopus og Web of Science.

PubMed og CAB Abstracts ble valgt ettersom innholdet i disse databasene passet til fagområdet. PubMed er styrt av «National Center for Biotechnology Information» på «the U.S. National Library of Medicine» Databasen ble gjort tilgjengelig online for allmennheten i 1996 og er den største innen medisin (National Center for Biotechnology Information, u.å.).

CAB Abstracts' database inneholder vitenskapelige artikler innen jordbruk, skogbruk, human helse og ernæring, dyrehelse og konservering av naturressurser. Databasen er drevet av CAB International, som er en mellomstatlig, ideell organisasjon etablert av en FN-avtale mellom 50 medlemsland (CABI, u.å.).

I begge databasene (PubMed og CAB Abstracts) er det mulig å utføre avanserte litteratursøk med bruk av selekterte søkeord. Det blir søkt etter disse søkeordene i tittel, abstrakt, nøkkelord og/eller fulltekst for mengder av vitenskapelig litteratur. I disse avanserte søkene kan en styre hvilke termer treffene skal inneholde og hvilke som ikke skal forekomme i treffene. For å sikre at kun en av et utvalg termer skal være inkludert i treffene, skiller en disse med «OR». Skal en sikre seg at to eller flere termer må opptre i samme treff skiller disse med «AND». Hvis en er ute etter treff hvor en bestemt term er ekskludert benyttes «NOT» i forkant av søkeordet. Videre er det mulig å anvende filtre i søket for å filtrere ut publikasjoner som ikke er relevante. Dette inkluderer filtre som årstall, språk og type studie.

Retningslinjer for litteratursøk

De overordnede retningslinjene for litteratursøket er gjengitt i Tabell 3. Tidsavgrensningen ble definert slik at den omfattet tiden fra år 1970 til og med 2019. Det var først i 1940 at Ernst Boris Chain og Sir Howard Florey beviste at penicillin kunne benyttes til å behandle bakterielle infeksjoner (Britannica The Editors of Encyclopaedia, 2020). Det ble valgt å definere 1970 som starten av tidsbegrensningen for dette litteratursøket. 1970 var en naturlig begrensning, da dette var tiden der det moderne husdyrholdet vi kjenner i dag ble utviklet. Penicillin ble dessuten ikke markedsført stort tidligere enn dette. Tidsbegrensningen omfatter dermed cirka 50 år. Det er først i den senere tid at man har fått mer kunnskap om hvordan agens kan bli resistente mot antibiotika, om hvilke faktorer som virker inn på utvikling av resistens og hva slags tiltak som kan bli benyttet til å forebygge det. Official Journal of the European Union publiserte i 2015 retningslinjer for forsiktig bruk av antibiotika innen veterinærmedisin. De skriver her hvordan omfattende bruk av antibiotika både innen human- og veterinærmedisin i de nyligere år har akselerert framveksten og spredningen av

resistente mikroorganismer. Mangelfull utvikling av nye effektive antibiotika har bidratt til å ytterligere forverre situasjonen som følger av dette. Årlig bidrar dette til tusenvis av dødsfall på verdensbasis grunnet medikamentresistente infeksjoner, samt enorme kostnader (1,5 milliard euro årlig i EU alene per 2015) og tap av produktivitet (European Commission, 2015).

Artikler som er av nyere dato vil derfor være mer relevante for dagens bønder, samt dyrehelsepersonell. Det er fremdeles en reell risiko for at det er studier som ikke er anvendbare med tanke på moderne husdyrhold og som fremdeles blir inkludert med den definerte tidsbegrensningen. Spørsmålet om tidsbegrensningen burde ha blitt ytterligere innsnevret blir drøftet senere i denne litteraturstudien. Videre ble det besluttet å definere år 2019 som slutten av tidsbegrensningen ettersom arbeidet med litteratursøket begynte i år 2020. Hadde 2020 blitt benyttet risikerer vi at nye artikler kommer til senere på året. Søket blir da ikke reproduserbart for ettertiden.

Tabell 3. Retningslinjer for litteratursøket

Kriterier og begrensninger	Beskrivelse
Databaser	PubMed, CAB Abstracts
Tidsbegrensning	1970-2019
Språkbegrensning	Norsk, svensk, dansk, engelsk
Søkeord	Søkeord og kombinasjoner er vist i Tabell 4 og 5
Inklusjonskriterier	Lakterende melkekyr, fagfellevurdert, klinisk mastitt, penicillin G, prokain penicillin G, registrert utfall
Eksklusjonskriterier	Kombinasjonskurer, in vitro, eksperimentelt induisert mastitt, survey

Søkeord, søkestrategier og treff

PICO er et verktøy for å strukturere og klargjøre problemstillingen i studier. Videre kan det også bli benyttet som et hjelpemiddel i søket etter studier som kan bidra til å besvare problemstillingen. De fire bokstavene i PICO står for «patient/population/problem», «intervention», «comparison» og «outcome» (Folkehelseinstituttet, 2016). Disse fire punktene ble benyttet i litteraturstudien som et hjelpemiddel for å systematisk kartlegge de aktuelle søkeordene og synonymene oppgitt i Tabell 4.

Tabell 4. Aktuelle søkeord og synonymer

Population/ patient/ problem	bovine – cow* - cattle – dairy cow – mastitis – intramammary infection
Intervention	treatment* - antibiotic* - penicillin
Comparison	placebo – “no intervention” – alternative treatment
Outcome	Survival – death* - SCC – cure-rate – cure

Det er fare for at en går glipp av relevante studier hvis det innledende søket blir snevret inn for mye. Derfor ble det gjort en seleksjon av søkeord og synonymer som dekket mye. Et annet tiltak for å ivareta relevante studier var å ikke aktivt ekskludere bestemte termer i dette søket. For å unngå at studier som tar for seg både klinisk og subklinisk mastitt blir utelatt i søket har det blitt valgt å ikke ekskludere subklinisk mastitt som søkeord. Slike studier kan fremdeles inneholde relevante elementer og dermed bidra til å nå målet til litteratursøket. Studier som fokuserer utelukkende på subklinisk mastitt ble ekskludert under senere screening. Søkestrategiene som ble benyttet i det innledende litteratursøket er gjengitt i Tabell 5. Det ble initialt forsøkt å benytte søk med norske søkeord, noe som resulterte i null treff hos begge databaser. Norske søkeord og søkestrategier har derfor blitt fjernet fra tabeller.

Tabell 5. Utvalgte søkeord/synonymer

	Søkestrategier
1	bovine OR cow OR cattle
2	mastitis OR intramammary infection
3	treatment AND penicillin

Søket som ble benyttet i denne litteraturstudien er beskrevet i Tabell 6. Det ble originalt utviklet to ytterligere søk som senere ble fjernet. Disse to søkene ble ekskludert da det viste seg at det ikke bidro til mer enn tre artikler som var unike til de i det inkluderte søket. De tre unike artiklene falt utenfor tidsbegrensningene.

Tabell 6. Søk i PubMed og CAB Abstracts

Søk	Strategi	Søkeord	Antall treff i PubMed	Antall treff i CAB Abstracts
1	1 og 2 og 3	(cow OR cattle OR bovine) AND (mastitis OR intramammary infection) AND penicillin AND treatment	545	1227

Inklusjons- og eksklusjonskriteriene

Det har blitt valgt å ekskludere studier som tar for seg kombinasjonskurer, det vil si også de kombinasjonskurene som blant annet benytter en av de aktuelle penicillinvariantene. Ved et innledende søk ble det funnet at en betydelig andel kombinasjonskurer som involverte bruk annen antibiotika i tillegg. De tidligere nevnte retningslinjene om forsiktig antibiotika-bruk publisert av Official Journal of the European Union i 2015 oppfordrer til at antibiotika bare bør benyttes i situasjoner hvor det er nødvendig ettersom enhver eksponering til antibiotika øker forekomsten av antibiotika-resistens. Det blir også oppfordret at det da skal bli benyttet som en målrettet behandling (basert på klinisk diagnose og om mulig basert på mikrobiologiske følsomhetstester) og med bruk av antibiotika med et så smalt spekter som mulig (European Commission, 2015). Kombinasjonen av flere typer antibiotika strider imot disse anbefalingene ved at behandlingen blir mindre målrettet og fører til en mer bredspektret behandling.

En annen grunn til at kombinasjonskurer ble ekskludert er at det blir vanskelig å avdekke hvor stor effekt hver enkelt komponent av behandlingen har på cure-rate. Det er kjent at kombinasjon av medikamenter kan bidra til en synergisk effekt, slik at medikamentene forsterker virkningen av hverandre (potensering). Et mulig eksempel på synergi ifølge McDougall et al., (2007) er hvordan man oppnår et bredere aktivitetsspekter på penicilliner som blir kombinert med aminoglykosider. På en annen side kan kombinasjonen av medikamenter også bidra til en antagonistisk effekt slik at de svekker virkningen av hverandre (Øye I. & Børs, 2019). Resultatet vil da ikke reflektere summen av virkningene til medikamentene hver for seg. Dette gjør det vanskeligere å fastslå med sikkerhet hvor stor

effekt penicillinen utgjør. I sum kan de andre medikamentene, eller behandlingsmetodene bli konfunderende faktor.

Det har blitt valgt å sette «lakterende melkekyr», heller enn bare «melkekyr», som inklusjonskriterie for å ekskludere kyr som blir behandlet profylaktisk i sintiden. Dette er først og fremst på grunn av at melkekyr i Norge ikke blir behandlet med penicillin rutinemessig i sintiden, men bare når diagnose er satt av veterinær (Animalia, 2017). Ettersom vi ønsker å finne studier som er anvendbar i forhold til norske retningslinjer for bruk av penicillin hos melkekyr har det altså blitt valgt å ekskludere såkalt sintidsterapi, da det internasjonalt ikke er uvanlig at sintidsterapi benyttes profylaktisk og således medfører unødig bruk av antibiotika. Som tidligere nevnt er det oppfordret til at enhver antibiotikabehandling bør bare bli benyttet i situasjoner hvor det er nødvendig og som en målrettet behandling (European Commission, 2015).

Etter innledende søk har det også blitt valgt å ekskludere studier som tar for seg eksperimentell/indusert mastitt. Med dette menes mastitt som er indusert ved infusjon/injeksjon av et bestemt agens i juret. Dette er fordi vi ønsket at denne litteraturstudien skulle fokusere på naturlig forekommende mastitt, og slik forebygge seleksjonsbias. Mulig seleksjonsbias kan oppstå ved seleksjonen av hvilke dyr som blir infisert. Innledende søk avdekket at studier med indusert mastitt sjelden skiller mellom klinisk og subklinisk mastitt, dermed er det ikke mulig å vite om de behandlede kyrne har klinisk mastitt. Av disse nevnte artiklene er det en andel som bare skiller mellom «mastitt» og «ikke-mastitt», eller om kyr er suksessfullt infisert og ikke. Noen av studiene på indusert mastitt beskriver ikke symptomer eller relevante verdier (som SCC) hos de infiserte kyrne. De av artiklene som oppgir slik informasjon går oftest ikke i stor nok detalj slik at en sikker klassifisering av mastitten kan bli gjort i etterkant.

Studier som benytter penicillin for behandling av mastittagens in vitro (på skål) ble også ekskludert. Slike studier tar ikke hensyn til farmakokinetikk og vil sannsynligvis ikke gi et nøyaktig estimat for cure-rate i praksis. Milne et al. (2005) referer til hvordan det er dårlig korrelasjon mellom in vitro følsomhetstester tilknyttet antibiotika og resultatene av in vivo behandling av mastitt hos kyr. Forfatterne oppgir at dette skyldes manglende farmakokinetiske data på kompatibiliteten av medikamentene med melk, medikamentkonsentrasjon i det infiserte området og medikamentenes interaksjoner med endogene inhibitorer.

Screening av artikler

Duplikater mellom søk i PubMed og tilsvarende søk i CAB Abstracts ble manuelt fjernet. Det ble også funnet flere duplikater innad i hvert enkelt søk i CAB Abstracts og PubMed. Disse duplikatene ble også fjernet manuelt. Etter utelukking av artikler som ikke falt innenfor språk- og tidsbegrensning, eller ikke hadde oppgitt publiseringsdato og/eller språk, ble titler og abstrakt vurdert for resterende utvalg. Tittel og abstrakt ble vurdert samtidig slik man forebygget utelukkelsen av studier som manglet indikasjon på bruk av penicillin i tittel, men oppgav penicillinbruk hos andre behandlingsgrupper i abstrakt. Etter screening av tittel og abstrakt ble de gjenværende artiklene vurdert under lesing av fulltekst.

Denne litteraturstudien hadde opprinnelig ikke begrenset seg til å gjelde spesifikke varianter av penicillin og de oppgitte penicillinene i inklusjonskriteriene ble innført etter gjennomgang av abstrakt og før fulltekstlesing. Penicillinene som ble satt som inklusjonskriterie var et resultat av kommunikasjon med Birgit Ranheim, førsteamanuensis ved Veterinærhøgskolens institutt for produksjonsdyrmedisin (PRODMED) (Ranheim, 2020). Hun bidro med innsikt i hvilke varianter som er benyttet til behandling av mastitt hos kyr i Norge per dags dato. I Norge blir det vanligvis brukt penicillin G (benzylpenicillin), så vi har derfor valgt å bare inkludert artikler som benytter penicillin G som behandling av mastitt. Hensikten ved dette er å sammenligne behandlingsmetoden(e) som blir brukt i Norge.

Resultater

Seleksjon

Søket i PubMed gav 545 artikler, mens søket i CAB Abstracts resulterte i 1227 artikler. Flere andre søkestrategier og søkeord ble forsøkt, men det viste seg at disse ikke bidro til flere unike treff. Figur 1 viser seleksjonsprosessen. 209 duplikater ble detektert, enten av EndNote eller manuelt. Disse ble fjernet. Det fantes både duplikater innad i hver database, samt artikler som lå i begge databaser. Videre ble 443 utelukket da de ikke falt innenfor tidsavgrensningen og 313 utelukket fordi de ikke møtte språkkriteriene. Disse artiklene ble ikke screenet på hverken tittel eller abstrakt.

Gjenstående artikler (n=807) ble screenet på tittel og abstrakt. Til sammen ble 730 artikler ekskludert på grunnlag av alle eksklusjonskriteriene. Det vanligste

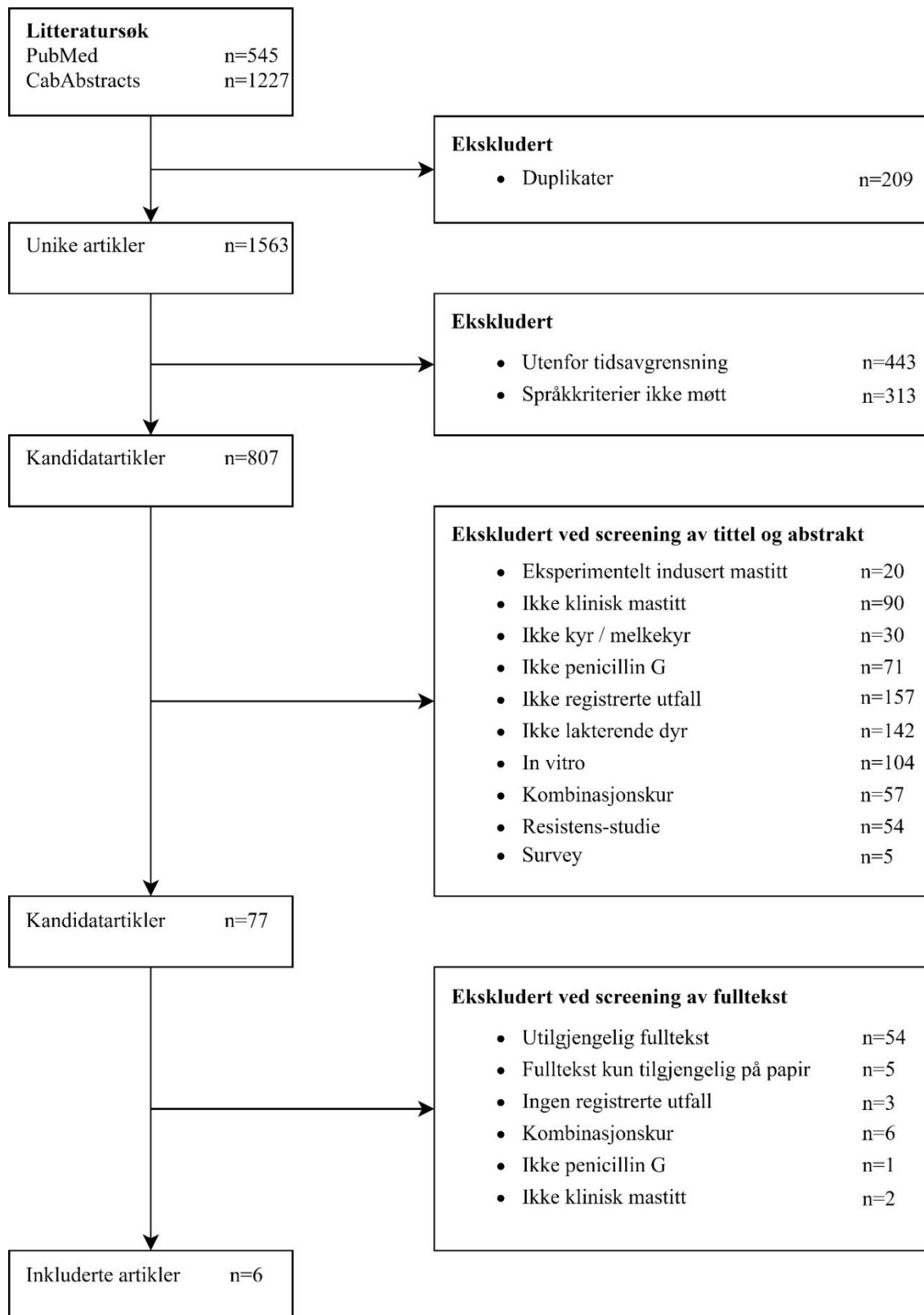
eksklusjonsgrunnlaget var 'ikke registrert utfall', under dette falt alle artikler som beskriver mastitt, men ikke behandling og/eller resultat av behandling. Artikler som undersøkte antibiotikamengder i melk etter mastittbehandling finnes også i denne gruppen. Etter 'ikke registrert utfall' var 'ikke lakterende kyr' det mest brukte eksklusjonskriteriet. Disse artiklene omhandler i stor grad sintidsterapi, noe som ikke er relevant for formålet til denne litteraturstudien. De fleste artiklene under 'ikke klinisk mastitt' handler om subklinisk mastitt. Under 'ikke kyr/melkekyr' finnes både artikler om kjøttfe og om andre arter, som geit, sau og bøffel.

Mange av de ekskluderte artiklene møtte flere av eksklusjonskriteriene, i disse tilfellene har de blitt klassifisert under det første eksklusjonskriteriet som ble funnet, så langt det har latt seg gjøre. Det er for eksempel mange av artiklene under 'ikke registrert utfallsvariabel' som omhandler antibiotikaresistens.

77 artikler stod igjen etter tittel og abstrakt var screenet. I denne delen av prosessen viste det seg at svært mange artikler var utilgjengelige med NMBU sine tilganger og abonnementer. Disse ble forsøkt funnet andre steder, men dette var kun mulig for et fåtall av artiklene. 54 artikler ble derfor ekskludert på grunnlag av dette. Ytterligere 5 artikler ble ekskludert fordi de kun var å finne på papir. Under normale omstendigheter hadde disse blitt inkludert, men dagens koronasituasjon gjorde det utfordrende.

18 artikler ble deretter gjennomlest. Av disse omhandlet seks kombinasjonskurer, tre hadde ikke et tilfredsstillende registrert utfall, to tok ikke for seg klinisk mastitt og i en studie ble det benyttet en annen penicillintype enn penicillin G. Dermed ble seks artikler inkludert i videre undersøkelser. Disse seks artiklene, med forfattere, utgivelsesår, land og hvor de er publisert finnes det en oversikt over i Tabell 7.

Figur 1. Flytskjema over arbeidsprosessen



Fem av seks inkluderte artikler var klinisk kontrollerte studier og alle artiklene er publisert i fagfelleverderte tidsskrifter.

Tabell 7. Oversikt over inkluderte artikler

Forfattere	Tittel	Årstall	Land	Tidsskrift
Kalmus P, Simojoki H, Orro T, Taponen S, Mustonen K, Holopainen J, Pyörälä S	Efficacy of 5- day parenteral versus intramammary benzylpenicillin for treatment of clinical mastitis caused by gram-positive bacteria susceptible to penicillin in vitro	2014	Estland	Journal of Dairy Science
McDougall S, Arthur DG, Bryan MA, Vermunt JJ, Weir AM	Clinical and bacteriological response to treatment of clinical mastitis with one of three intramammary antibiotics	2007	New Zealand	New Zealand Veterinary Journal
Taponen S, Dredge K, Henriksson B, Pyyhtiä AM, Suojala L, Junni R, Heinonen K, Pyörälä S	Efficacy of intramammary treatment with procaine penicillin G vs. procaine penicillin G plus neomycin in bovine clinical mastitis caused by penicillin-susceptible, gram-positive bacteria- a double blind field study	2003a	Finland	Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics
Taponen S, Jantunen A, Pyörälä E, Pyörälä S.	Efficacy of targeted 5-day combined parenteral and intramammary treatment of clinical mastitis caused by penicillin-susceptible or penicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	2003b	Finland	Acta Veterinaria Scandinavica
Watts JL, Nickerson SC, Pankey JW	A case study of <i>Streptococcus</i> group G infection in a dairy herd	1984	USA	Veterinary Microbiology
Zhen YH, Jin LJ, Li XY, Guo J, Li Z, Zhang BJ, Fang R, Xu YP	Efficacy of specific egg yolk immunoglobulin (IgY) to bovine mastitis caused by <i>Staphylococcus aureus</i>	2009	Kina	Veterinary Microbiology

Vurdering av eksterne faktorer

Publikasjonskanaler

Norsk publiseringsindikator (NPI) har fire kriterier for godkjenning av publiseringskanaler (NPI, 2004).

1. Tidsskriftet (samt periodika og nettsteder) skal være identifiserbare med gyldig ISSN.
2. De skal ha en vitenskapelig redaksjon (eller tilsvarende) som skal primært bestå av forskere som er ansatt ved forskningsinstitusjoner/enheter som utfører forskning.
3. Det er et krav om å ha rutiner for ekstern fagfelleevaluering.
4. De skal også ha en nasjonal eller internasjonal forfatterkrets (maksimalt 2/3 av forfatterne kan tilhøre samme institusjon). Informasjonen om norsk publiseringsindikator er hentet på nettsiden til NPI (NPI, u.å)

Både Watt et al., (1984) og Zhen et al., (2009) har publisert sine artikler i «Veterinary Microbiology». «Veterinary Microbiology» er et fagfellevurdert tidsskrift og har nasjonal eller internasjonal forfatterkrets. De har derimot ikke en registret vitenskapelig redaksjon og er heller ikke identifiserbare med gyldig ISSN. Norsk publiseringsindikator (NPI) oppgir fagfelt til å være veterinærmedisin. NPI vurderer status på tidsskriftet per i dag. Artikkene vi bruker i vår oppgave er fra 1984 og 2009 – det er derfor vanskelig å si om kvaliteten på tidsskriftet så langt tilbake i tid. Tidsskriftet møter våre kriterier om å være fagfellevurdert og er derfor «bra nok» for vår litteraturstudie.

Tidsskriftet «New Zealand Veterinary Journal» har publisert McDougall et al., (2007) skårer helt likt som «Veterinary Microbiology» og har samme norske publiseringsindikator. Det samme gjør tidsskriftet «Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics» som har publisert Taponen et al., (2003a), men dette tidsskriftet har et annet NPI fagfelt (farmasi, farmakologi og toksikologi). Taponen et al., (2003b) er publisert i «Acta Veterinaria Scandinavica (AVS)». Dette tidsskriftet møter tre av fire kriterier. Tidsskriftet har ikke bekreftet ISSN. NPI fagfeltet er veterinærmedisin.

«Journal of Dairy Science» er tidsskriftet som har publisert Kalmus et al., (2014). Tidsskriftet møter alle kriterier for publiseringskanaler, med andre ord har tidsskriftet vitenskapelig redaksjon, internasjonal forfatterkrets, bekreftet ISSN og ikke minst er det fagfellevurdert. NPI fagfeltet er biologi.

Om forfatterne

I denne delen kommer det til å skrives om forfattere. Forfatter er ingen beskyttet tittel, så i denne sammenheng er det ment som de som har skrevet artikkelen. Disse kan være forskere, veterinærer, ect. - men skrives her som forfattere for enkelhetens skyld.

Ingen av forfatterne er anonyme, og det er viktig å undersøke om de har faglig tyngde og god bakgrunnskunnskap innenfor fagfeltet de skriver om. Alle artikler som finnes på nettet kan i teorien skrives av hvem som helst og publiseres "over en lav sko". Informasjonen fra disse artiklene kan være unøyaktige og gi feil svar på en problemstilling. Av og til er ikke artikkelen kvalitetssikret og godkjent av fagekspert.

Alle artiklene som er tatt med i denne litteraturstudien er fagfellevurdert ("peer-reviewed"/"refereed"). På denne måten kan vi være mer sikre på kvaliteten til artikkelen. For å kunne si at en artikkel er fagfellevurdert må den gjennomgå visse kriterier/prosesser. Den vitenskapelige artikkelen skal både leses, vurdere og godkjennes av andre forskere innen samme fagfelt. Dette skal skje før artikkelen publiseres for å kunne si at den er fagfellevurdert.

Vurdering av artiklenes innhold

Kommer hensikten frem i artiklene?

En god artikkel skal informere om veldokumentert forskning og eller fakta. Noen forfattere kan ha hensikt i å selge uten tilstrekkelig faggrunnlag. Dette er typiske kilder som er ensidige og ofte mangler saklighet. Her blir det kun vurdert sakligheten i artiklene og ikke vurderingen av statistikk. Det vil være et eget kapittel om randomisering og blinding.

I artikkelen Watts et al., (1984) beskriver forfatterne flere sider av temaet når dem nevner vevskade som følge av *Streptococcus* gruppe G; «markert vevsskade ble tilskrevet organismen i noen studier» og «mens bare minimale skader ble observert i andre studier». Det utviser troverdighet ved å vise ulike sider av temaet. Angående hensikten med studien skriver Watts et al., (1984): "Denne casestudien beskriver utbruddet og håndteringen av *Streptococcus* gruppe G mastitt i en melkebesetning inkludert prevalens, somatisk celle teller (SCC), melkeproduksjon, antibiotikabehandling og jurpatologi.". Her kommer det tydelig frem hva du kan finne informasjon om i studien.

Artikkelen Kalmus et al., (2014) utfører IMM behandling og det kommer frem i artikkelen både fordeler og ulemper med IMM- og parenteral (IM) behandling. Artikkelen

fremstår som saklig og nøytral når de beskriver deres resultater på de ulike behandlingsformene mot deres cure-rate. Hensikten er også tydelig beskrevet på slutten av introduksjonsdelen i artikkelen: “Målet med studien var å sammenligne utfall av parenteral og IMM-behandling med benzylpenicillin i klinisk mastitt forårsaket av gram-positiv bakterier som er utsatt for penicillin in vitro.”

Zhen et al., (2009) sitt formål med studien blir tydelige forklart i artikkelen: “Målet med denne studien var å evaluere effekten av den spesifikke IgY mot *S. aureus* for å utvikle en alternativ terapi for *S. aureus* mastitt.” Hensikten med studien kommer godt fram.

Taponen et al., (2003a) undersøker effekten av intramammær behandling med Prokain penicillin G og en kombinasjon av prokain penicillin G med neomycin. Hensikten er tydelig formulert. “Målet med denne feltstudien var å sammenligne effekten av intramammære behandlinger med penicillin G alene med den av kombinasjonsbehandlinger med penicillin G og neomycin i bovin klinisk mastitt forårsaket av penicillinfølsom, grampositiv bakterie.”

Taponen et al., (2003b) beskriver godt sammenligningen med ren parenteral behandling og den kombinerte parentale- og intramammære behandling av mastitt forårsaket av *S. aureus*. Hensikten med studiet kommer tydelig frem i artikkelen: “Målet med denne studien var å bestemme effekten av en 5-dagers målrettet kombinasjonsbehandling på klinisk *S. aureus* mastitt forårsaket av β -laktamase negative eller positive isolater. Det beskrives god in vitro sensitivitetstesting av bakterieisolatet. Artikkelen konkluderer med at det er en signifikant forskjell i kurhastigheter mellom mastitt på grunn av penicillinmottakelig og penicillinresistent *S. aureus*.”

McDougall et al., (2007) sammenligner tre behandlinger av intramammære antibiotikapreparater. Hensikten med studien kommer tydelig frem artikkelen: “This positive-control, prospective, blinded, randomised intervention study was undertaken to define the incidence of clinical mastitis across an entire lactation in multiple herds, and to define the proportions of clinical treatment failure and bacteriological cure of clinical mastitis cases following one of three intramammary treatments of cefuroxime, a combination of procaine penicillin and DHS, or of procaine penicillin alone.”. De konkluderte med at prokain penicillin G - kombinasjonskur ikke var bedre enn prokain penicillin G alene.

Dette viser at alle artiklene som er tatt med i denne litteraturstudien informerer om allerede vitende kunnskap (på den tiden studiet ble utført) etterfulgt av troverdige referanser. De har alle relativt tydelige formål/hensikt som blir godt beskrevet. Artiklene belyser flere sider av temaet og fremstår som nøytral og saklige. Konklusjonen i artiklene er begrunnet og baserer på forsøkene som er gjort.

Studiedesign

Fem av seks studier var klinisk kontrollerte studier, mens den siste studien var en kasusrapport, Watts et al., (1984). Evidenshierarkiet forteller oss at en klinisk kontrollert studie bør kunne produsere resultater som er mer representative for referansepopulasjonen enn en kasusrapport. Det er likevel andre faktorer enn kun studiedesign som vil kunne påvirke studiens kvalitet.

Klassifisering ved inklusjon

Vi har ønsket å finne ut om penicillin G er en god standardbehandling av klinisk mastitt hos melkekyr. Det er derfor viktig å se på hvordan de ulike studiene har definert klinisk mastitt og hva slags diagnostiske kriterier de har brukt for å inkludere kyr i studiene. Kliniske tegn og diagnostiske metoder er oppsummert i Tabell 8 og 9.

Både Kalmus et al., (2014), Taponen et al., (2003a) og Taponen et al., (2003b) definerer mild, moderat og alvorlig klinisk mastitt, mens hverken McDougall et al., (2007) eller Watts et al., (1984) definerer mastittens alvorlighetsgrad. Watts et al., (1984) har ikke definitivt spesifisert at alle kyrne i studien har klinisk mastitt, her er kun celletall brukt for å definere mastitt. Zhen et al., (2009) definerer kun moderat og alvorlig mastitt.

Kalmus et al., (2014), Taponen et al., (2003a), Taponen et al., (2003b) og Zhen et al., (2009) har dessuten brukt NAGase-aktivitet for å påvise mastitt. Samtlige studier har dessuten dyrket melk på agarplate for å påvise korrekt patogen. Kalmus et al., (2014) har også benyttet PCR. Watts et al., (1984), Taponen et al., (2003a), Taponen et al., (2003b) og Zhen et al., (2009) har registrerte kyrnes celletall (SCC) gjennom studien.

De forskjellige artiklene omhandler ulike agens. Vi ser likevel at streptokokker og stafylokokker er gjengangere, og forskjellige arter underordnet stafylokokker og/eller streptokokker blir funnet i henholdsvis fire og fem av de inkluderte studiene. Disse er stort sett major agens, som gjerne fører til klinisk mastitt. Noen av artene er miljøbakterier, mens andre er opportunistiske. Enkelte av artene er også smittsomme.

For å unngå å behandle med noe et agens er resistent mot har Kalmus et al., (2014) og Taponen et al., (2003a) og Taponen et al., (2003b) følsomhetstestet agens de fant under dyrking. Studiene som ikke har valgt å følsomhetsteste kan ha behandlet kyr som har vært infisert med en resistent bakterie.

Mastittgrad

De fleste av artiklene har klassifisert den kliniske mastitten som enten mild, moderat eller alvorlig. De har brukt forskjellige kriterier for klassifisering. Zhen et al., (2009) har kun valgt å kategorisere den kliniske mastitten etter utseende på melken, mens Taponen et al., (2003a) og Taponen et al., (2003b) har kategorisert etter kuas temperatur, jur og melk. Kalmus et al., (2014) klassifiserer blant annet kroppstemperatur over 39.2°C som alvorlig mastitt, men i Taponen et al., (2003a) og Taponen et al., (2003b) er 39.0-40.5°C moderat mastitt. I McDougall et al., (2007) var det bøndene eller avløsere som avgjorde om kyrne hadde klinisk mastitt etter tegn i melken eller forandringer på juret. Hverken McDougall et al., (2007) eller Watts et al., (1984) har gruppert kyrne etter mild, moderat og alvorlig mastitt.

Tabell 8. Oversikt over kriterier/metode for diagnostisering av klinisk mastitt med hensyn til inklusjon av kyr i studiene og vurdering av cure

Referanse	Bakteriell	Følsomhetstest for penicillin	Klinisk	Annet
Kalmus et al., 2014	Dyrkning av melk på agarplate, kromogen nitrocefim-test, PCR	Ja	Melk, temperatur, jur, atferd	NAGase
McDougall et al., 2007	Dyrkning av melk på agarplate	Nei	Melk og/eller jur	
Taponen et al., 2003a	Dyrkning av melk på agarplate	Ja	Melk, temperatur, jur, atferd	SCC, NAGase
Taponen et al., 2003b	Dyrkning av melk på agarplate	Ja	Melk, temperatur, jur, atferd	SCC, NAGase
Watts et al., 1984	Dyrkning av melk på agarplate	Nei	-	SCC
Zhen et al., 2009	Dyrkning av melk på agarplate	Nei	Melk, jur	SCC, NAGase

Tabell 9. Oversikt over agensprofil hos inkluderte artikler

Referanse	Agens
Kalmus et al., 2014	<i>Staphylococcus aureus</i> , KNS, <i>Streptococcus uberis</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Streptococcus dysgalactiae</i> , <i>Corynebacterium bovis</i> , <i>Trueperella pyogenes/Peptoniphulus indolicus</i>
McDougall et al., 2007	<i>Streptococcus uberis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus dysgalactiae</i> , KNS og andre
Taponen et al., 2003a	<i>Staphylococcus aureus</i> , KNS, <i>Streptococcus dysgalactie</i> , <i>Streptococcus uberis</i>
Taponen et al., 2003b	<i>Staphylococcus aureus</i>
Watts et al., 1984	<i>Streptococcus</i> gruppe G, <i>Streptococcus agalactiae</i>
Zhen et al., 2009	<i>Staphylococcus aureus</i>

Behandling

Samtlige artikler har en behandlingsgruppe som kun får penicillin G. Det er cure-rate i disse gruppene vi kommer til å fokusere mest på. De andre behandlingsgruppene er likevel ikke helt uten relevans, og vil i noen grad bli diskutert senere i oppgaven.

Tabell 10 gir en oversikt over virkestoff, dosering, administrasjonsrute og behandlingens lengde i de inkluderte studiene. Carepen må administreres i melkekjertelen (I.M.M.), mens Penovet «kan gis i.m., s.c., intraperitonealt, intrasynovialt og intrauterint.» (Felleskatalogen, 2020). Ethacilin skal kun injiseres subkuttant eller intramuskulært på kyr (Fass djurläkemedel, 2020). Flere har valgt å administrere Penovet/Ethacilin intramuskulært (Kalmus et al., (2014) og Taponen et al., (2003a)), mens de i Taponen et al. (2003b) kun har oppgitt parenteral administrasjonsrute, som har flere betydninger. McDougall et al., (2007), Watts et al., (1984) og Zhen et al., (2009) har alle administrert penicillin G og eventuelle andre behandlinger intramammært.

Watts et al., (1984) og McDougall et al., (2007) har brukt kortest behandling, med tre doser gitt med 12 timers mellomrom. Zhen har valgt den lengste behandlingen ved å gi 12 doser penicillin hver tolvte time. Ellers har alle studiene gitt en dose hvert døgn i fire eller fem dager. Taponen et al., (2003a) har også gitt en ekstra dose systemisk penicillin (de har

både gitt Penovet og Carepen eller Penovet, Carepen og Neomast) første dag.

Tabell 10. Behandlingsgrupper i de inkluderte artiklene for behandling av naturlig forekommende klinisk mastitt hos melkekyr

Referanse	Preparat- navn	Virkestoff (dosering)	Admin.- rute	Behandlings- intervall
Kalmus et al., 2014	Penovet	Prokain penicillin G (20 mg/kg)	I.M.	5 doser q24t
	Carepen	Prokain penicillin G (600 mg)	I.M.M.	5 doser q24t
McDougall et al., 2007	Penalone	Prokain penicillin G (1 g)	I.M.M.	3 doser q12t
	Spectrazol	Cefuroxime (0.25 g)	I.M.M.	3 doser q12t
	Streptopen	Prokain penicillin G (1 g) + DHS (0.5 g)	I.M.M.	3 doser q12t
Taponen et al., 2003a	Penovet	Prokain penicillin G (20 mg/kg)	I.M.	1 dose på dag 1
	Carepen	Prokain penicillin G (600 000 IU)	I.M.M.	4 doser q24t ¹
	Penovet	Prokain penicillin G (20 mg/kg)	I.M.	1 dose på dag 1
	Carepen +Neomast	Prokain penicillin G (500 000 IU) + neomycin (300 mg)	I.M.M.	4 doser q24t ¹
Taponen et al., 2003b	Ethacilin/ Penovet	Prokain penicillin G (20 mg/kg)	Parenteral	5 doser q24t
	Ethacilin/ Penovet	Prokain penicillin G (20 mg/kg)	Parenteral	5 doser q24t
	Vonapen	Prokain penicillin G (500 mg) + neomycin (300 mg)	I.M.M.	4 doser q24t
	Synulox	Amoxycillin (7 mg/kg) + klavulansyre (1.75 mg/kg)	Parenteral	5 doser q24t
	Synulox Lactating Cow	Amoxycillin (200 mg) + klavulansyre (50 mg) + prednisolon (10 mg)	I.M.M.	4 doser q24t
	Spiramycin	Spiramycin (10 mg/kg)	Parenteral ²	5 doser q24t
Watts et al., 1984	Aquamast	Prokain penicillin G	I.M.M.	3 doser q12t
Zhen et al., 2009	-	Penicillin (1000 mg)	I.M.M.	12 doser q12t
	-	Immunoglobulin (IgY) (200 mg)	I.M.M.	12 doser q12t
	-	Ingen behandling (kontrollgruppe)	-	-

¹ Inkluderer dag 1, ² første dose ble gitt I.V. av veterinæren og resten I.M. av bonden

Blinding

En studie er blindet hvis de som er involvert ikke vet hvilken behandlingsgruppe hver studieenhet er i. Dette gjøres for at alle involverte skal ha en lik innstilling til behandlinger gitt i studien. Hvis enten den som gir behandling eller den som vurderer effekt og analyserer data, ikke har kunnskap om hvilken behandling kua før, er studien enkelt blindet. Hvis ingen av dem vet, er studien dobbelt blindet. Dobbelt blinding er å foretrekke.

Kun én av studiene; Taponen et al., (2003a) har valgt dobbelt blinding, mens én annen studie har benyttet enkel blinding (McDougall et al., (2007)). Øvrige kliniske kontrollstudier har ikke vært blindet i det hele tatt.

Randomisering

Randomisering er en måte å dele inn studieenhetene i de forskjellige behandlingsgrupper. En ekte randomisering gjøres enten av et dataprogram eller ved å kaste en terning. Formålet med randomisering er at hver behandlingsgruppe blir så lik som mulig med hensyn på konfunderende faktorer. En konfunderende faktor er en faktor som påvirker både eksponering og utfall.

En måte å «randomisere» på, som ikke er ordentlig randomisering, er systematisk allokering. Dette skjer for eksempel ved at kuer med partall i sitt id-nummer havner i samme gruppe, eller annenhver ku som blir undersøkt kommer i gruppe 1 og 2. I de klinisk kontrollerte studiene utført i de inkluderte artiklene, er det kun systematisk allokering som er brukt der det har vært snakk om randomisering. Denne metoden kan føre til store skjevheter i behandlingsgruppene, og er ikke å foretrekke.

I kasusrapporten er det ingen mulighet for randomisering, da alle kyrne får samme behandling.

Studieutvalg

Tabell 11 gir en oversikt over studiedesign og studiepopulasjon i de inkluderte artiklene. McDougall et al., (2007) er studien med flest kyr inkludert (1463 kyr). Kalmus et al., (2014) har inkludert nest flest kyr, men McDougall et al., (2007) har ti ganger flere kyr enn denne studien. Flere kyr vil gi en sikrere konklusjon, og konklusjonen har større sannsynlighet for å være gyldig for referansepopulasjonen. Gitt at randomisering er korrekt gjennomført vil et tilstrekkelig stort studieutvalg også sikre at man unngår skjevfordeling i

behandlingsgruppene som skyldes tilfeldigheter (tilfeldig feil). Zhen et al., (2009) har kun inkludert 18 kyr, dette er et så lavt antall at det er vanskelig å se for seg at denne studien kan ha noen særlig relevans utover å oppmuntre til videre forskning på behandlingsmetoden de prøver ut.

I denne litteraturstudien er det enda mer relevant å se på antall kyr som er behandlet med penicillin G, enn antall kyr i hele studien, fordi vi ønsker å vurdere cure-raten ved bruk av dette virkestoffet. Studiene som er inkludert har ønsket likt antall kyr i hver behandlingsgruppe, da de har ønsket å produsere en studie med høy power. Tabell 11 gir en oversikt over hvor mange melkekjertler som ble behandlet med penicillin G, og hvor mange kjertler som var en del av hver studie.

Tabell 11 viser også antall besetninger som er inkludert i de forskjellige studiene. Watts et al., (1984) er en kasusrapport som tar for seg et utbrudd av mastitt i én besetning. Zhen et al., (2009) er en klinisk kontrollstudie. De har kun inkludert en besetning. Det er ikke begrunnet i teksten, det er derfor umulig å vite sikkert hvorfor dette valget er gjort. Kalmus et al., (2014) har kyr fra fire forskjellige besetninger, mens de tre resterende studiene inkluderer kyr fra 28 til 72 besetninger. Er studien gjennomført i mange besetninger vil det si at mange bønder for eksempel kan ha utført medisinerings, hentet ut aseptiske melkeprøver, vurdert kuas symptomer og lignende. Dette kan være konfunderende faktorer, og kan derfor å noe å si for resultatet i studien. Det betyr også at studien ser på kyr som bor i forskjellige miljøer med forskjellige rutiner, hygiene, fjøsutforming og besetningsstørrelse med mer. Derfor er det naturlig å si at jo flere besetninger som er inkludert, jo større sannsynlighet er det for at konklusjonen studien gjør er gyldig for referansepopulasjonen. Det er altså både fordeler og ulemper ved å bruke flere besetninger.

Konfunderende faktorer

Kalmus et al., (2014) har definert skader på jur, tre tidligere mastittepisoder og kyr behandlet med antimikrobielle midler under en uke før inklusjon som eksklusjonskriterier. Taponen et al., (2003b) definerer noen av sine eksklusjonskriterier som «antimicrobial treatment according to the study design and no concomitant systemic disease, teat lesions or chronic mastitis, i.e. mastitis that had persisted during the dry period or had been treated at least 2 times during the same lactation or had caused elevated somatic cell count for a long period, i.e. months». Taponen et al., (2003a) har nærmest identiske eksklusjonskriterier på disse punktene, men nevner ikke «antimicrobial treatment according to the study design and

no concomitant systemic disease». Øvrige artikler nevner ingenting om sår, tidligere behandlinger, andre sykdommer eller persisterende mastitt.

Her er relevant å nevne at enkelte studier kun inkluderte en kjertel per ku (Zhen et al., (2009), Kalmus et al., (2014)), mens andre inkluderte flere i de tilfellene kua hadde mastitt i flere kjertler (Taponen et al., (2003a), Taponen et al., (2003b)), Watts et al., (1984), McDougall et al., (2007)). I Kalmus et al., (2014) presiseres det at kuer med mastitt i mer enn en melkekjertel blir ekskludert fra studien. Å inkludere kuer med mer enn én infisert melkekjertel kan føre til informasjonsbias. For eksempel kan kua bli klassifisert som klinisk ikke kureret, mens en av kjertlene er kureret. Er kjertlene infisert med forskjellige patogener, er det en mulighet for at et av patogenene er sensitivt for den valgte behandlingen, mens det andre ikke er det.

Tabell 11. Oversikt over studiedesign og studiepopulasjon hos inkluderte artikler for kyr med naturlig forekommende klinisk mastitt

Referanse	Studiedesign			Studiepopulasjon					
	Studiedesign	Randomisert	Blindet	Raser	Antall kyr i studien	Antall kjertler		Antall besetninger	Besetnings- størrelse
						Behandlet m/ penicillin	Totalt i studien		
Kalmus et al., 2014	Kontrollstudie	Nei, systematisk allokering	Nei	-	140	140	140	4	300-1000
McDougall et al., 2007	Kontrollstudie	Nei, systematisk allokering	Ja	Jersey, frisisk, blanding	1462	210	1561	28	107-1287
Taponen et al., 2003a	Kontrollstudie	Nei, systematisk allokering	Dobbelt	-	96	56	117	68	-
Taponen et al., 2003b	Kontrollstudie	Nei	Nei	Flertall: Finsk Ayrshire	118	41	166	72	-
Watts et al., 1984	Kasusrapport	-	-	Holstein- frisisk	75	135	135	1	229
Zhen et al., 2009	Kontrollstudie	Nei	Nei	Holstein	18	6	18	1	Ca. 1000

Statistisk signifikans tilknyttet cure-rate

P-verdiene av størst relevans for denne systematiske litteraturstudien som er oppgitt i de inkluderte artiklene er ført opp sammen med klinisk og bakteriologisk cure-rate i Tabell 12.

Watts et al., (1984) undersøker ikke p-verdi i det hele tatt. Dette er fordi det er snakk om en kasusrapport som bare omfatter én behandlingsgruppe. For at det skal være mulig å beregne p-verdi må man sammenlikne to grupper.

Hverken Taponen et al., (2003a) eller Taponen et al., (2003b) oppgir om det er benyttet ensidig eller tosidig test av signifikans. De oppgir heller ikke hvilket signifikansnivå som er satt i forkant av studien. Basert på hva som blir omtalt som signifikant og ikke i studiene, kan det antas at de har benyttet 0.05 som signifikansnivå hvilket er det vanligste.

Taponen et al., (2003a) oppgir p-verdi for forskjellen mellom de to behandlingsgruppene tilknyttet klinisk ($p=0.708$), bakteriologisk ($p=0.514$) og total cure-rate ($p=0.568$). Disse oppgitte p-verdiene indikerer at forskjellen mellom gruppene i cure-rate (1.2, 5.5 og 3.1 prosentpoeng forskjell) ikke er statistisk signifikant.

Taponen et al., (2003b) oppgir p-verdi for forskjellen mellom bakteriologisk cure-rate for den behandlingsgruppen som bare mottok prokain penicillin G (56.1%) og gruppen som fikk det i kombinasjon med neomycin (79.1%). Denne p-verdien ($p=0.028$) tilsier at forskjellen (23.0 prosentpoeng) er statistisk signifikant. Det blir ikke oppgitt p-verdi tilknyttet de to gruppene med hensyn til klinisk og total cure-rate.

Zhen et al., (2009) benyttet ensidig ANOVA til estimeringen av p-verdi. Denne studien har oppgitt et bestemt signifikansnivå ved å definere at en p-verdi er signifikant om den er under 0.05 ($p<0.05$). Det ble oppgitt p-verdi for forskjellen mellom cure-rate for behandlingsgruppen som mottok penicillin og den som ikke fikk behandling ($p<0.05$). Det ble også oppgitt p-verdi for forskjellen mellom cure-rate for behandlingsgruppen som mottok penicillin og den som fikk immunoglobulin ($p<0.05$).

McDougall et al., (2007) oppgir at de benyttet en tosidig test av signifikans og definerte signifikansnivået i studien til å være 0.05. P-verdien for forskjellen i klinisk cure-rate mellom gruppen som fikk bare penicillin og den som fikk cefuroxime (5.7 prosentpoeng) var signifikant ($p=0.02$). Da klinisk og bakteriologisk cure-rate ble sammenlignet mellom gruppen som bare fikk penicillin og gruppen som fikk både penicillin og DHS (1.8 og 1.0

prosentpoeng forskjell) ble det ikke funnet statistisk signifikante forskjeller ($p=0.50$ og $p=0.41$).

Kalmus et al., (2014) benyttet også en tosidig test av signifikans og et signifikansnivå på 0.05. Denne studien oppgav p-verdi ($p=0.69$) for forskjellen mellom bakteriologisk cure-rate hos de to behandlingsgruppene (1.6 prosentpoeng). Det er da ingen statistisk signifikant forskjell mellom den bakteriologiske cure-raten til de to behandlingsgruppene/administrasjonsmetodene.

Cure-rate

En av inklusjonskriteriene brukt i denne litteraturstudien er en tydelig utfallsvariabel. Det vil si at de som har utført studien har definert hvilke kyr som ble kurert av penicillinbehandling. Cure er definert enten som klinisk eller som bakteriologisk. Andelene bakteriologisk og klinisk kurerter kyr etter ulike behandlinger finnes i Tabell 12.

Klinisk cure-rate

De fleste studiene har sett på om hver enkelt ku har blitt klinisk kurert. De to studiene som hadde de klareste definerte parameterne for klinisk kur var Kalmus et al., (2014) og Taponen et al., (2003a). Kalmus et al., (2014) definerte det slik: "The cow was defined as clinically cured if the affected quarter was free from clinical signs." Her har de sett på forskjellen i cure-rate mellom intramuskulær og intramammær administrering av penicillin. Taponen et al., (2003a) gjorde det slik: "Clinical cure was assessed by clinical examination and a quarter was classified as clinically cured, if no systemic or local signs were detected and milk appearance was normal."

McDougall et al., (2007) definerte en ku som klinisk kurert hvis det ikke ble utført ny behandling på noen melkekjertler hos kua de første 30 dagene etter initial behandling. Taponen et al., (2003b) har valgt å definere alle kuer som er bakteriologisk kurerter som klinisk kurerter, uten at det skrives noe om kyrnes kliniske tegn (kardinaltegn, atferd, temperatur).

Hverken Watts et al., (1984) eller Zhen et al., (2009) har eksplisitt definert en klinisk frisk ku. Her har de sett på total cure. I Zhen et al., (2009) er det både bakteriologisk cure og en vurdering av melkens utseende. I Watts et al., (1984) skriver de ikke hva de bruker som parameter, men utfra resten av artikkelen er det naturlig å tenke at de ser på celletall. Dette har de gjort på kunivå.

Bakteriologisk cure-rate

Alle artiklene ser på bakteriologisk cure-rate. Dette ble også definert noe forskjellig. Kalmus et al., (2014) definerte det slik: “A quarter was defined as bacteriologically cured if the DNA of the same bacterial species detected in the pretreatment milk sample was not present in the follow-up milk sample.” Her har de altså benyttet PCR-testing, som er mer følsomt enn en vanlig dyrkningsprøve. McDougall et al., (2007) gjorde det på en lignende måte, men med dyrkning, ikke PCR: “Bacteriological cure was defined as having occurred when the pathogen isolated pre-treatment was not isolated from either of the posttreatment samples.” Hvis mer enn tre patogener ble isolert i prøven, ble prøven definert som kontaminert. Taponen et al., (2003a) skrev det slik: “Bacteriological cure was assessed based on the results of the post-treatment milk samples: a quarter was classified as bacteriologically cured if no bacterial growth was found in the post-treatment milk sample.” Her snakkes det om funn av bakterien kua originalt var infisert med. Om de fant et annet patogen i prøven, ble den fortsatt definert som kurert. “A quarter was classified as bacteriologically cured if growth of *S. aureus* was not detected in either of the post-treatment milk samples.” skrives det i Taponen et al., (2003b). Zhen et al., (2009) skrev “The udder was considered cured if no pathogen was isolated from milk samples of treated cows.”. Her kan det derfor virke som kua ikke ble definert som kurert hvis et annet patogen ble funnet etter behandling. Som tidligere nevnt, har ikke Watts et al., (1984) definert dette, de har kun sett på celletall.

Total cure-rate

Til slutt har enkelte av artiklene inkludert en total cure-rate. Hos både Taponen et al., (2003a) og Taponen et al., (2003b) defineres total cure-rate som kyr som er klinisk og bakteriologisk kurert.

Sammenfatning av bakteriologisk og klinisk cure-rate

Vi har sammenfattet resultatene fra de inkluderte studiene ved å regne ut gjennomsnitt for bakteriologisk og klinisk cure-rate hos behandlingsgruppene som fikk penicillin G. Utregningene ble gjort basert på informasjon fra Tabell 10 og 12.

Ved utregning av gjennomsnittlig bakteriologisk cure-rate hadde parenteral behandling en gjennomsnittlig cure-rate på 55.1%, mens I.M.M. behandling hadde til sammenlikning en gjennomsnittlig cure-rate på 47.2%. Watts et al., (1984) og Zhen et al.,

(2009) som benyttet I.M.M. administrasjonsrute hadde betydelig lavere bakteriologisk cure-rate sammenliknet med de andre studiene (20.8 og 29.7 prosentpoeng lavere enn tredje lavest cure-rate). Dette bidro til det lavere gjennomsnittet. Gjennomsnittlig bakteriologisk cure-rate for penicillingruppene uavhengig av administrasjonsrute var 53.1%.

For klinisk cure-rate var det I.M.M. penicillinbehandling som presterte bedre sammenliknet med parenteral behandling (80.3% vs. 68.2%). Gjennomsnittlig klinisk cure-rate uavhengig av administrasjonsrute var på 74.4%. I gjennomsnitt er det altså en større andel av kyrne som blir klinisk kurert enn bakteriologisk kurert.

Tabell 12. Klinisk og bakteriologisk cure-rate for utvalgt penicillin og andre behandlingsgrupper tilknyttet behandling av klinisk mastitt hos melkekyr

Referanse	Behandlingsgruppe	Klinisk cure-rate	p-verdi	Bakteriologisk cure-rate	p-verdi
Kalmus et al., 2014	Prokain penicillin G (I.M.)	80.3 %	-	54.1 %	0.69 ¹
	Prokain penicillin G (I.M.M.)	74.6 %		55.7 %	
McDougall et al., 2007	Prokain penicillin G	85.9 %	0.02 ²	75.2 %	0.41 ⁴
	Cefuroxime	80.2 %	0.50 ³	69.9 %	
	Prokain penicillin G + DHS	84.1 %		76.2 %	
Taponen et al., 2003a	Prokain penicillin G	75.0 %	0.708 ⁴	73.2 %	0.514 ⁴
	Prokain penicillin G + neomycin	73.8 %		78.7 %	
Taponen et al., 2003b	Prokain penicillin G	56.1 %	-	56.1 %	0.028 ⁵
	Prokain penicillin G + neomycin	79.1 %	-	79.1 %	
	Amoxycillin + klavulansyre + prednisolon	33.3 %	-	33.3 %	-
	Spiramycin	33.3 %	-	33.3 %	-
Watts et al., 1984	Prokain penicillin G	-	-	24.4 %	-
Zhen et al., 2009	Penicillin	-	-	33,3 %	<0.05 ⁶
	Immunoglobulin Y	-	-	50 %	<0.05 ⁷
	Ingen behandling	-	-	0 %	

p-verdi: ¹ mellom I.M.M. og I.M., ² mellom prokain penicillin og cefuroxime, ³ mellom prokain penicillin og kombinasjonskur (prokain penicillin G + DHS), ⁴ mellom alle behandlingsgrupper, ⁵ mellom prokain penicillin G og kombinasjonskur med prokain penicillin G + neomycin, ⁶ mellom penicillin og ingen behandling, ⁷ mellom immunoglobulin og penicillin

Agensspesifikk cure-rate

Noen av studiene fokuserte bare på et agens (Taponen et al., 2003b og Zhen et al., 2009). Tre studier (Kalmus et al., 2014, McDougall et al., 2007, og Taponen et al., 2003a) gjorde lite seleksjon av agens, men oppgav til gjengjeld agensspesifikk bakteriologisk cure-

rate. De agensspesifikke cure-ratene for disse tre studiene, samt Taponen et al., (2003b) er oppgitt i Tabell 13.

Studien til Kalmus et al., (2014) var den med størst utvalg av agens. Det ble oppgitt bakteriologisk cure-rate for *Staphylococcus aureus*, KNS, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis*, *Trueperella pyogenes*, og *Peptoniphilus indolicus*. Agensspesifikk cure-rate for de tre sistnevnte agens ble ekskludert fra Tabell 13 på grunn av plassmangel i tabellen og at disse ikke er spesielt relevant i Norge (Østerås & Sølverød, 2009). I denne studien var alle agensene med agensspesifikk cure-rate følsomme for penicillin G in vitro. Antall kjertler som var infisert av bestemte agens varierte mye, fra seks kjertler som hadde vært smittet av *C. bovis* til 66 smittet av *S. uberis*.

McDougall et al., (2007) oppgav agensspesifikk bakteriologisk cure-rate for *S. aureus*, KNS og *S. Uberis*. Også her var det størst antall kjertler som var smittet med *S. uberis* (totalt 324 kjertler). Det var færrest kjertler som hadde blitt smittet med KNS (totalt 55 kjertler). I tillegg ble det oppgitt cure-rate separat for det forfatterne kategoriserte som «other streptococci», gram-negative staver, «other», «mixed», minor og major. Disse sistnevnte kategoriene ble ikke inkludert i våre tabeller.

I tillegg til *S. aureus*, KNS og *S. uberis* oppgav Taponen et al., (2003a) agensspesifikk cure-rate for *S. dysgalactiae*. I denne studien var alle agensene med agensspesifikk bakteriologisk cure-rate følsomme for penicillin G in vitro. Dette var studien med jevnest fordeling av antall kjertler smittet med de forskjellige agensene. Det var færrest som var infisert av *S. aureus* i studien (totalt 19 kjertler) og flest kjertler var smittet av *S. uberis* (totalt 26 kjertler).

Det kommer frem av tallene at det er flest av inkluderte studier som tar for seg *S. aureus* og at det er størst forekomst av *S. uberis* i de studiene som ikke gjør seleksjon av inkluderte agens.

Sammenfatning av agensspesifikk cure-rate

Om man samler alle kjertlene fra studiene som var infisert med *S. aureus* følsom for penicillin G og behandlet med penicillin G får man en cure-rate på 32/59 (54.2%). Inkluderer man resultatene fra studiene som ikke gjør følsomhetstesting blir denne cure-raten redusert til 48/107 (44.6%). Ser man på de kjertlene som var infisert med KNS følsom for penicillin G og behandlet med penicillin G får man en cure-rate på 14/26 (53.8%). Blir resultatene fra studier uten følsomhetstesting inkludert får man en økt cure-rate på 27/40 (67.5%). Samler man alle

kjertlene infisert med *S. uberis* følsom for penicillin G og behandlet med penicillin G resulterer dette i en cure-rate på 58/90 (64.4%). Hvis man inkluderer resultater fra studiene uten følsomhetstesting blir det en økt cure-rate på 164/207 (79.2%). Ser man på de kjertlene som var infisert med *S. dysgalactiae* som er følsom for penicillin G og behandlet med penicillin G får man en cure-rate på 21/28 (75%).

Presentasjon

Det hadde vært ønskelig at Watts et al., (1984) hadde hatt flere tabeller. De fleste av tallene de presenterer i sin artikkel er kun fremstilt tekstformat. Det hadde vært enklere å få en oversikt over resultater om de hadde brukt tabeller. Språket er forøvrig godt forståelig. Watts et al., (1984) har en separat konklusjonsdel; noe som gjør det oversiktlig og fint å se hva de har kunnet konkludere med.

Det er noe tallforvirring i McDougall et al., (2007). Et eksempel på dette er: “In the final model, the bacteriological cure proportion did not differ among treatments (0.84 (95% CI=0.77–0.90) vs 0.81 (95% CI=0.72–0.87) vs 0.85 (95% CI=0.78–0.90) for procaine penicillin vs cefuroxime vs procaine penicillin and DHS, respectively; $p=0.41$)”. I dette sitatet er det ikke intuitivt å forstå hva som menes med tallene 0.84, 0.81 og 0.85. Dette er tall man heller ikke finner igjen andre steder i artikkelen – hverken tekst, tabeller eller figur. Det savnes også en egen tabell for klinisk cure-rate. Siste avsnitt i artikkelen inneholder konklusjonen. De kunne med fordel hatt en egen overskrift for denne, da diskusjonen er mer enn nok lang i seg selv.

Zhen et al., (2009) kunne gjerne hatt med mer informasjon om celletall, og gjerne skrevet om det faktiske tallet i teksten. De har også brukt logaritmer når de presenterer sine celletall, dette er vanlig når man statistisk skal behandle data som ikke er normalfordelt, men dette kommer ikke tydelig frem i artikkelen. Zhen et al., (2009) har også mange tabeller i sin artikkel uten å ha tilstrekkelig henvisninger og kommentarer til tabellene sine. Dette gjør at de til dels virker overflødige. Tabellene er likevel forståelige og oversiktlig, men man kan dessverre ikke si det samme om figurene. Zhen et al., (2009) har heller ikke valgt en egen overskrift for konklusjonen, men derimot kun skrevet sin konklusjon i siste avsnittet under diskusjonsdelen. Det er svært vanlig å slå sammen diskusjon og konklusjon, så det er ikke noe feil i seg selv.

Kalmus et al., (2014) er den artikkelen vi har minst å utsette på. Språket er tydelig og forståelig, samt at den har gode figurer og tabeller. Det er også oversiktlig og fint at de har

flere underoverskrifter og en egen overskrift for konklusjonen. Taponen et al., (2003b) har kun framstilt celletall i figur og ingen henvisninger i tekst. Taponen et al., (2003a) har vi ikke så mye å utsette på.

Generelt har alle artiklene et formelt språk og bruker faguttrykk på riktig måte. Det oppleves at forfatterne holder seg til en måte å omtale temaet – at språket er konsekvent. Med unntak av tidligere kommentarer over fremstår artiklene som ryddige og strukturerte, uten unødvendige tabeller og figurer. Layouten virker forøvrig oversiktlig. Tabellene og figurene er som regel klare og lette å lese – med unntak som nevnes over. Generelt gir artiklene et helt greit inntrykk med tanke på språk.

Artiklens referanser

En av mange kriterier for å kunne si at en artikkel er vitenskapelig er dens referanseliste og henvisninger i teksten. Det skal oppgis referanser for det forskningen i artikkelen er basert på. Det skal ikke være påstander eller fakta i artikkelen som ikke er underbygget av en referanse.

Alle seks artikler har referanser med referanseliste. Henvisningen i teksten er ryddig, og man finner dem igjen i litteraturlisten. Litteraturlisten er utformet på en konsekvent og god måte som gjør det enkelt å finne igjen de oppgitte kildene. Alle artiklene (med unntak av Watts et al., (1984)) har en til to referanser hvor de referer til en annen artikkel forfatterne har skrevet selv. Dette er vanlig for temaer som er smalspektret – som penicillinbehandling mot mastitt hos melkekyr. I tillegg til å ha en til to referanser fra seg sitt/sine egne verk har de også mange andre referanser å vise til. De inkluderte artikkelartiklene har fra 13 til 53 referanser. Et gjennomgående problem er referanser som henviser til nettsider og/eller PDF som finnes på nettet. Disse finnes det ikke treff på. Hos enkelte av artiklene har de heller ikke skrevet i referanselisten når de leste denne referansen. Siden fire av seks artikler er fra 2000-tallet, kan det tenkes at det er en naturlig årsak til dette, da artiklene henvisningene er over 20 år gamle og nettsiden/PDF ligger et annet sted eller er fjernet siden den gang de selv fant siden.

Kalmus et al., (2014) skiller seg noe ut da de ikke har vært konsekvente på sin referansestil i referanselisten. Dette kan minske noe av troverdigheten til artikkelen. Utenom det har de vært konsekvente i sitt referansedesign med å starte sine referanser med forfatternavn - noe som igjen gjør det enkelt å finne kilden, selv om de ikke er konsekvente på om sidetallet skal stå tidlig eller på slutten av referanselinjen.

Da alle artiklene utenom Watts et al., (1984) hadde over 24 referanser ble det kun gjort stikkprøver på hvorvidt man kunne finne igjen referansen som var oppgitt i referanselisten. De få stikkprøvene fant oppgitte referanser – med unntak av nettsider som tidligere nevnt. Uten at en har meget god kunnskap om fagområdet, virker resonnementene i artiklene forankret til troverdige kilder. En kan også se at det henvises til relevante artikler – ut ifra artikkelens tittel. Artiklene har vært forsiktige med å skrive om påstander eller fakta uten å underbygge dette med en kilde. Dette øker troverdigheten for artiklene vi har valgt i litteraturstudien.

Tabell 13. Agensspesifikk bakteriologisk cure-rate for utvalgt penicillin og andre behandlingsgrupper

Referanse	Behandlingsgruppe	Sta. Aur.	KNS	Str. Ub.	Str. Aga.	Str. Dys.	Total
		Antall (%)	Antall (%)	Antall (%)	Antall (%)	Antall (%)	Antall (%)
Kalmus et al., 2014	Prokain penicillin G (I.M.)	1/2 (50.0)	2/6 (33.3)	20/34 (58.8)	4/6 (66.7)	5/8 (62.5)	33/61 (54.1)
	Prokain penicillin G (I.M.M.)	5/6 (83.3)	4/7 (57.1)	16/32 (50.0)	6/8 (75.0)	8/11 (72.7)	44/79 (55.7)
McDougall et al., 2007	Prokain penicillin G	16/48 (33.3)	13/14 (92.9)	106/117 (90.6)	-	-	173/230 ¹ (75.2)
	Cefuroxime	14/51 (27.5)	19/25 (76.0)	87/92 (94.6)	-	-	153/219 ¹ (69.9)
	Prokain penicillin G + DHS	23/60 (38.3)	15/16 (93.8)	110/115 (95.7)	-	-	189/248 ¹ (76.2)
Taponen et al., 2003a	Prokain penicillin G	3/10 (30.0)	8/13 (61.5)	22/24 (91.7)	-	8/9 (88.9)	41/56 (73.2)
	Prokain penicillin G + neomycin	4/9 (44.4)	14/15 (93.3)	18/22 (81.8)	-	12/15 (80.0)	48/61 (78.7)
Taponen et al., 2003b	Prokain penicillin G	23/41 (56.1) ²	-	-	-	-	23/41 (56.1)
	Prokain penicillin G + neomycin	68/86 (79.1) ²	-	-	-	-	68/86 (79.1)
	Amoxycillin + klavulansyre + prednisolon	8/24 (33.3) ³	-	-	-	-	8/24 (33.3)
	Spiramycin	5/15 (33.3) ³	-	-	-	-	5/15 (33.3)

¹ Det ble oppgitt cure-rate også for mer uspesifikke bakteriegrupper som ikke er inkludert i tabellen, ² bare β -laktamase negativ, ³ bare β -laktamase positiv. Sta. Aur = *Staphylococcus aureus*, Str. Ub. = *Streptococcus uberis*, Str. Aga = *Streptococcus agalactiae*, Str. Dys = *Streptococcus dysgalactiae*

Diskusjon

Kriterier for metaanalyse

For å kunne utføre en metaanalyse må artiklene være av god kvalitet og ha en utfallsvariabel som kan sammenlignes med hverandre. Denne litteraturstudien gjør en enkel metaanalyse. Utfordringer hos de inkluderte artiklene har blant annet vært ulike krav til cure-rate og utelatt informasjon. Følgende avsnitt vil diskutere disse faktorene.

Vurdering av eksterne faktorer

Tidsskriftene som de inkluderte artiklene er publisert i holder våre krav, selv om det kun er et tidsskrift som møter alle kriterier som er satt for publikasjon av NPI. En kan likevel tenke at dette er «bra nok» tidsskrifter for vår litteraturstudie og heller ha et kritisk blikk på artiklenes innhold. En kan også se at den norske publiseringsfaktoren inneholder relevante emner som veterinærmedisin, farmasi, farmakologi og toksikologi, samt biologi.

Ut ifra bakgrunnen til forfatterne kan man se at det stort sett er forskere som arbeider ved universiteter eller forskningsinstitusjoner. Dette kan man tenke er et godt grunnlag for å kunne si at forfatterne har den rette kompetansen til å uttale seg om emnet, men noen forfattere kan ha egne intensjoner om hva de ønsker å få av resultater. Dette kan minske troverdigheten til artikkelen. Flere av forfatterne har også skrevet andre artikler innenfor samme fagområde. Noen av artiklene har også forfattere fra bedrifter som oppbevarer og utfører analysene av melken. Dette kan tolkes begge veier. Enkelte vil kanskje gjøre en mer nøyaktig jobb da de vil føle eierskap til resultatet - på en annen side kan de ha stor interesse for hvilket resultat som er ønskelig å oppnå. Med andre ord kan en tenke at forfatterne i utgangspunktet er troverdige – men enkelte forfattere kan ha egen intensjon som kan påvirke resultatet.

Vurdering av utfall

Flesteparten av studiene har valgt å presentere utfallet etter tre til fire uker (McDougall et al., (2007), Taponen et al., (2003a), Taponen et al., (2003b) og Kalmus et al., (2014)) etter første dag med behandling. Taponen et al., (2003b) hadde to kontroller, hvorav den ene var etter to uker og den andre kontrollen var etter fire uker. Tallene i Tabell 12 og 13 er fra den

andre kontrollen ettersom det ikke var oppgitt resultater i den første kontrollen for behandlingsgruppen som fikk prokain penicillin G. I denne studien gikk bakteriologisk cure-raten ned med tid. Watts et al., (1984) presenterte utfallet etter to måneder og Zhen et al., (2009) etter seks dager. Dette kan ha påvirket utfallet, og gjør studiene mindre sammenlignbare. I studien til Zhen et al., (2009) ble utfallet presentert på siste dag av behandlingen, som kan ha ført til at flere kjertler ble erklært kurert enn realiteten. Det kan ha blitt en oppblomstring av bakterier etter at penicillin var ute av kuas system. Artikkelen har definert cure-rate etter kliniske tegn i melken og telling av bakteriekolonier på agarplate. Figuren i artikkelen viser at det fortsatt var bakterier i melken ved presentasjon av utfall, men det er ikke presisert hvilke(n) bakterie(r) eller estimert antall. Det underbygger argumentet for at oppgitt cure-rate ikke er korrekt.

Behandlingsregimets lengde kan være avgjørende for utfallet. I Taponen et al., (2003a) kan vi lese: «The pharmacological properties of aminoglycosides are very different from those of β -lactams. β -Lactams are time-dependent drugs (Livermore & Williams, 1996; Prescott, 2000b). In successful treatment with a β -lactam a constant concentration above minimum inhibitory concentration level is needed for a sufficient length of time, whereas aminoglycosides are concentration-dependent with a marked post-antibiotic effect, and the higher the peak concentration, the more efficacious the treatment (Stratton, 1996; Prescott, 2000a).» Prokain penicillin er et β -laktamase antibiotika. Dette medfører at, slik det står i McDougall et al. (2007): «For beta-lactam antibiotics, the longer the period over which treatment remains above the MIC the greater the efficacy».

Kalmus et. al. (2014) er den eneste studien som har benyttet seg av PCR for vurdering av bakteriologisk cure-rate, i tillegg til dyrkning av melk på agarplate. PCR er en mer følsom metode enn tradisjonell bakteriedyrkning på agarplate, og vil påvirke cure-rate. Dette gjør artikkelen mindre sammenlignbar med øvrige inkluderte artikler. En studie sammenlignet PCR og dyrkning av melk på agarplate for å påvise mastittagens fra sau. Den viste at for *Staphylococcus* spp., ble i ni prøver påvist positivt ved dyrkning, mens 20 prøver ble påvist positivt av PCR (Zadoks et al., 2014). Høy følsomhet kan bety en mer korrekt cure-rate. Likevel kan følsomheten være en svakhet. PCR kan oppdage DNA fra agens som har blitt ufarliggjort av kuas immunsystem, og dermed gi et falsk positivt resultat (Ruegg, 2014). Kalmus et. al. (2014) oppgir ikke hvor mange prøver som ble påvist positivt av PCR og dyrkning på agarplate separat.

Enkelte av artiklene inkludert en total cure-rate. Hos både Taponen et al., (2003a) og Taponen et al., (2003b) forklares total cure-rate som kyr som er klinisk og bakteriologisk kurert, samt at de har NAGase aktivitet <40 U. Ved å se på tallene i Tabell 12, kan ser vi at mange av kyrne som var både bakteriologisk og klinisk kurert, fortsatt hadde høy NAGase aktivitet. Dette er spesielt tydelig i Taponen et al., (2003a).

Det faktum at de inkluderte artiklene har benyttet seg av ulike behandlingstidspunkter og vurdering av utfall gjør det vanskelig å direkte sammenligne dem med hverandre.

Dokumentasjonsmangler

Watts et al., (1984) oppgir både tall for hvor mange av kyrne med klinisk mastitt som fremdeles var infisert etter behandling (95 av 135 kyr) og et tall for cure-rate (24.4%). Ved en nærmere undersøkelse av disse tallene ble det avdekket at noe ikke stemte. Basert på informasjonen at 95 av 135 kyr fremdeles var infisert, kan man anta at andel kurerte var 40 av 135 (med mindre det er annen informasjon som motsier dette). Dette utgjør en cure-rate på 29.6 % hvilket ikke stemmer overens med den rapporterte cure-raten i studien (24.4%). Dette kan bety to ting: Enten har forfatterne av artikkelen gjort en regnefeil ved utregning av cure-rate, eller så har de unnlatt å oppgi relevant informasjon. Mulige grunner til at det er lavere cure-rate kan være frafall av kyr fra studien (for eksempel på grunn av avlivning), men dette er ikke oppgitt. Det blir da umulig å bedømme hva som er årsaken til dette og hva som er den reelle cure-raten.

Zhen et al., (2009) har ikke definert hvilken type penicillin de har brukt i studien. Vi kan derfor ikke vite om de har brukt penicillin G eller en annet type penicillin. Dette kan gjøre at resultatene fra Zhen et al., (2009) ikke er relevante for behandlingsmetodene som blir benyttet mot mastitt hos melkekyr i Norge.

På bakgrunn av dokumentasjonsmanglene kan det argumenteres for at utfallsvariablene (cure-rate) til disse to artiklene ikke kan sammenlignes med øvrige studier.

Intern validitet

God intern validitet viser at forfatterne har gjort få feil som kan føre til bias. Den interne validiteten forteller om konklusjonen også er gjeldende for studiepopulasjonen. For å unngå bias er det flere metoder som kan benyttes for å sørge for at studieutvalget er

representativt for studiepopulasjonen. Randomisering, stor nok utvalgsstørrelse, blinding, utforsking av konfunderende faktorer er eksempler på dette. Avsnittene under drøfter den interne validiteten, både i inkluderte artikler og i denne litteraturstudien.

Studiedesign, randomisering og blinding

Seleksjonsbias er noe man ikke ønsker i en studie. Det kan oppstå i utvelgelsesprosessen, ved at forskjellige behandlingsgrupper blir skjevfordelt på en eller annen måte. Her vil god randomisering være motvirkende. Blir for eksempel alle de yngre kyrne satt i samme behandlingsgruppe, vil denne gruppen av større sannsynlighet for suksess. Hvis denne gruppen oppnår høyere cure-rate, vil ikke dette si noe om behandlingen de har fått er bedre, fordi det ikke finnes en lignende gruppe å sammenligne dem med. Randomisering skal hjelpe forskerne å lage sammenlignbare behandlingsgrupper. Riktig randomisering skjer for eksempel ved at et dataprogram randomiserer kyrne. Ingen av artiklene inkludert her har gjort dette. I Kalmus et al., (2014) valgte de behandlingsgruppe for kyrne etter det siste sifferet i kuas ID, dette er ikke en spesielt god måte å randomisere på, og er det som kalles systematisk allokering. Her kan det lett bli skjevfordeling mellom behandlingsgruppene. Denne metoden er mest sannsynlig valgt fordi den er enkel og billig. McDougall et al., (2007) og Taponen et al., (2003a) ser ut til å ha brukt en lignende metode.

Feilklassifisering av utfall kan skje i analysedelen av studien, via bekreftelsestendens. Dette kan skje ved at menneskene som analyserer resultatene ønsker et spesielt utfall, og derfor har lettere for å se dette. Både menneskene som vurderer kyrnes kliniske status og menneskene som vurderer bakteriologisk status kan være skyldig i dette. Derfor er blinding viktig. Dobbel blinding er 'the gold standard', mens enkel blinding er andrevalget. I studier som ikke er blindet i det hele tatt har det lett for å oppstå bias, da alle som er involvert i studien vanligvis vil ha forutinntatte meninger om hvilke behandlingsmetoder de foretrekker og hvilke de tror vil feile. Dette kalles bekreftelsestendens. Dermed kan bondens eller veterinærens rapportering av kuas symptomer bli farget av dette, og det samme kan skje ved mikroskopundersøkelser av bakteriologiske prøver.

En ideell studie ville inkludert så mange kyr så mulig, i mange forskjellige besetninger. Studien ville dessuten vært en klinisk kontrollstudie som er randomisert og dobbelt blindet, for å unngå seleksjonsbias. Det er også en type studie, som hvis den blir gjennomført riktig, skal være lett å reproducere og være gyldig for referansepopulasjonen. Av disse studiene er Taponen et al., (2003a) den som fyller disse kravene best, mens Watts et al.,

(1984) fyller dem dårligst. Det betyr likevel ikke at den ene studien er bedre enn den andre, da man må se på flere andre faktorer når man helhetlig skal bedømme kvaliteten i en studie.

Studiepopulasjon og studieutvalg

Den totale studiepopulasjonen er stor med et antall på 1909 kyr. Fire av de inkluderte artiklene har oppgitt antall kyr behandlet med penicillin ved starten av studien, som blir et antall på 706 kyr i studieutvalget. McDougall et al., (2007) er den studien med flest oppgitt kyr i studieutvalget, men er også den studien med størst frafall på 58.1% penicillinbehandlede kjertler. Hverken Taponen et al., (2003a) eller Taponen et al., (2003b) har tatt med antall kyr behandlet med penicillin. Den totale mengden i studieutvalget gir litteraturstudien høyere validitet, da en større studiepopulasjon blir mer representativt for referansepopulasjonen. Zhen et al., (2009) er studien som har lavest antall inkluderte kyr. Kun seks kyr ble behandlet med penicillin, som øker sannsynligheten for systematiske feil på bakgrunn av seleksjonsbias, og derfor har studien lavere validitet.

Samtlige inkluderte artikler har oppgitt antall kjertler behandlet med penicillin. I noen av disse studiene har ei ku bidratt med flere kjertler. Taponen et al., (2003a) og Taponen et al., (2003b) har sett på hver kjertel som en enhet. Dette kan ha ført til systematisk bias, siden blant annet immunforsvaret er med på å påvirke risiko for mastitt og derfor muligens cure-rate. Taponen et al., (2003a) og Taponen et al., (2003b) argumenterer for at de har gjort det på denne måten på grunn av det lave antallet kyr. McDougall et al., (2007) har også oppgitt flere kjertler enn antall kyr, men har valgt å definere klinisk cure-rate på kunivå.

Eksklusjonskriterier på kyr varierer hos de ulike artiklene. Watts et al., (1984) og McDougall et al., (2007) har ikke oppgitt eksklusjonskriterier. Zhen et al., (2009), Kalmus et al., (2014) og Taponen et al., (2003a) og Taponen et al., (2003b) deler eksklusjonskriterier på at kua ikke skal ha blitt behandlet med antibiotika kort tid før studien. Kalmus et al., (2014), Taponen et al., (2003a) og Taponen et al., (2003b) deler eksklusjonskriterier skade på juret og kronisk mastitt. Kalmus et al., (2014) ekskluderte kyr som hadde hatt mer enn tre episoder med mastitt tidligere. Taponen et al., (2003a) og Taponen et al., (2003b) ekskluderte kyr som tidligere hadde blitt behandlet mot mastitt to ganger innenfor samme laktasjon, kyr med annen sykdom og kyr med høy SCC over en lenger periode. Disse kriteriene kan ha påvirket cure-rate, både i positiv og negativ retning. Kyr behandlet med antibiotika kort tid før studien kan ha gitt høyere cure-rate enn reelt. Kyr med annen sykdom, skade på juret, kronisk mastitt og historikk med klinisk mastitt kan ha gitt lavere cure-rate enn reelt.

Frafall

McDougall et al., (2007) er den studien med høyest prosentandel oppgitt frafall av studieenheter (kjertler) på 58.1% hos gruppen behandlet med penicillin. De øvrige behandlingsgruppene i samme studie har også høy frafallsprosent på 61.0% (cefuroxime) og 58.7% (penicillin + DHS). Frafallet skyldes at bonden behandlet en kjertel på nytt, at en annen kjertel hos samme ku ble behandlet for klinisk mastitt, at kua ble behandlet med antibiotika av annen årsak, eller at bonden ikke fikk samlet inn prøver. Årsaken til at studien har klassifisert rebehandling som frafall fremfor ikke-suksessfull behandling er at prøvene ville gitt et falsk-negativt bakteriologisk resultat. Det kan diskuteres at disse kjertlene burde likevel blitt vurdert som et utfall i cure-rate. Likevel kan kjertelen ha blitt infisert av en annen bakterie enn originalt. Eksakt tall på hvor mange kjertler som har blitt re-infisert av samme eller en annen bakterie er ikke oppgitt i studien. Det har blitt oppgitt et totalt antall av penicillinbehandlede kjertler som ble ekskludert grunnet ny behandling av samme kjertel eller behandling av annen kjertel hos samme ku, som er 51 kjertler. Disse kjertlene står for omtrent 25% av det totale frafallet. Taponen et al., (2003a) har klassifisert kjertler med bakterievekst av en annen bakterie enn originalt funnet som bakteriologisk og klinisk kurert - ved å ha gjort det på denne måten kunne McDougall et al., (2013) unngått frafallet og fått en mer korrekt agensspesifikk cure-rate.

Øvrige studier har ikke nevnt frafall av studieenheter. Det kan bety at det ikke har vært frafall, eller at forfatterne har unngått å oppgi frafall. Ved å ikke oppgi frafall av studieenheter blir studien mindre transparent og mister troverdighet.

Klassifisering av mastittgrad

Fordeling av alvorlighetsgrad av mastitt kan ha påvirket cure-rate, og kan ha vært en konfunderende faktor. En studie som har hovedvekt av kyr med mild mastitt vil ha en høyere cure-rate enn en studie av kyr med alvorlig mastitt. Kun to av studiene (Kalmus et al. 2007 og Zhen et al. 2009) har oppgitt andelen kyr klassifisert etter mastittgrad. Taponen et al., (2003a) skriver at graden av mastitt ikke påvirket cure-rate, men at andelen kyr med moderat eller alvorlig klinisk mastitt var noe høyere i gruppen som ikke ble bakteriologisk friske. Det samme kan gjelde for resten av de inkluderte artiklene, men det er ikke rapportert.

Watts et al., (1984) har ikke presisert i artikkelen om det dreier seg om klinisk mastitt, som er et av inklusjonskriteriene for denne litteraturstudien. Artikkelen ble på tross av dette

inkludert ettersom det heller ikke ble presisert i artikkelen at det dreide seg om subklinisk mastitt. I artikkelen ble en av kyrne avlivet for histopatologisk vurdering. Denne kua hadde store forandringer i jurvevet, som kan tyde på at det dreide seg om klinisk mastitt.

Følsomhetstesting

Følsomhetstesting for penicillin er viktig for å vite om behandlingen vil være effektiv, og kan ha vært en konfunderende faktor. Watts et al., (1984), McDougall et al., (2007) og Zhen et al., (2009) har ikke benyttet seg av dette. Zhen et al., (2009) har lav klinisk cure-rate av *S. aureus* (33.3%). Den lave cure-raten og viten om at Kina er et land med høy insidens av MRSA kan tyde på at kyrne var infisert med penicillinresistent *Staphylococcus aureus*. Taponen et al., (2003a) argumenterer for at penicillinresistente strains har sterkere virulensfaktorer enn strains som ikke er penicillinresistente og dermed gjør bakterien vanskelig å behandle. Om inkluderte studieenheter var smittet av resistente bakterier, vil dette ha ført til informasjonsbias.

I studien til Zhen et al., (2009) brukte de kyr med eksperimentell mastitt i tillegg til naturlig forekommet mastitt. Cure-rate fra disse kyrne er ikke inkludert i tidligere tabeller, fordi de ikke er relevante for denne litteraturstudien. Kyr med penicillinbehandlet eksperimentell mastitt hadde en cure-rate på 66.67%, som er høyere enn gruppen med naturlig forekommende klinisk mastitt. Dette underbygger teorien om at kyrne med naturlig forekommende klinisk mastitt har vært smittet av penicillinresistent *Staphylococcus aureus*. Det kan dog være andre grunner til forskjellen. *S. aureus* som ble benyttet til indusering av klinisk mastitt var isolert fra geit hvilket gjør den mindre representativ for mastitt hos kyr. I tillegg er det ikke oppgitt når mastitten ble indusert; det er lettere å behandle mastitt tidlig i sykdomsforløpet enn sent. Det kan også ha vært ren tilfeldighet at cure-raten hos denne gruppen var høyere.

Sammenlignet med Zhen et al., (2009) hadde McDougall et al., (2007) en høyere klinisk cure-rate på 85.9% og en bakteriologisk cure-rate på 75.2%. Det kan derfor argumenteres for lavere prevalens av penicillinresistente bakterier. Denne studien hadde en bredere agensprofil. Ved agensspesifikk bakteriologisk cure-rate hadde McDougall et al., (2007) også 33.3% cure-rate av *S. aureus*. Det kan derfor ikke utelukkes at inkluderte kyr var infisert med en strain av penicillinresistent *S. aureus*. McDougall et al., (2007) og Zhen et al., (2009) kan ha påvirket den totale agensspesifikke cure-raten av penicillinbehandlet *S. aureus* på grunn av potensiell penicillinresistens. Taponen et al., (2003a) hadde brukt

følsomhetstesting, men hadde også en lav bakteriologisk cure-rate av *Staphylococcus aureus* (30%). Dette kan skyldes et lite studieutvalg, eller at kombinasjonen parenteral og I.M.M. penicillinbehandling har en dårligere effekt hos *S. aureus*. En annen teori er at strainen i dette tilfellet var av sterkere virulensfaktor som penicillin hadde dårlig effekt mot, uten at strainen hadde genet Meca (betalaktamase-produksjon). I Taponen et al., (2003a) blir det påpekt at *S. aureus* er ofte intracellulær og trenger dypt inn i jurvevet, som kan påvirke effekten av penicillin.

Watts et al. (1984) har heller ikke benyttet følsomhetstesting i forkant av behandling. De identifiserte at kyrne i studien var infisert med en type streptokokker, men ikke hvilken art eller strain. Her var cure-rate 24,4 %, som er svært lavt. Sannsynligheten for at kyrne i studien var infisert med en penicillinresistent bakterie er stor.

Tid i laktasjon

Alle som lager en studie må velge å inkludere og ekskludere informasjon utfra hva de mener er viktig, men alle vil ikke være enige om hvilken informasjon som bør inkluderes og ekskluderes. Når det gjelder penicillinbehandling av mastitt kan man diskutere om faktorer som laktasjonsnummer, dager siden kalving, fjøsutforming og hygiene kan ha innvirkning på effektiviteten av behandlingen og risikoen for at mastitt oppstår (konfunderende faktor). McDougall et al., (2007) skriver for eksempel "Quarters treated 28–72 days after calving had a lower proportion of bacteriological cure than those treated earlier in lactation. This may have been due to these infections being of longer duration at detection, which is a risk factor for failure of therapy (Milner et al 1997; Sol et al 2000), due to differences in the prevalence of pathogens present at this time relative to earlier periods postpartum, or due to poorer immune function at this time".

Artiklene som er inkludert i denne litteraturstudien har inkludert kuer både langt og kort ut i sin laktasjon. Dette kan ha hatt noe å si både for hvor sannsynlig det er at kua får mastitt og hvor sannsynlig det er at hun blir kurert, og er derfor å regne som en konfunderende faktor. Taponen et al., (2003a), Taponen et al., (2003b), Kalmus et al., (2014) og McDougall et al., (2007) har undersøkt dette i sine artikler og utelukket at det har vært signifikant i disse studiene. De har også sett på kuas paritet, dette har heller ikke hatt signifikant betydning. Zhen et al. (2009) har ikke undersøkt dette, her kan det derfor ha vært med på å påvirke resultatene. Fordi Watts et al., (1984) er en kasusrapport har dette ikke vært aktuelt.

Kombinasjonskurer

Tre av seks studier (McDougall et. al. (2013), Taponen et. al. (2003a), Taponen et. al. (2003b)) har én eller flere behandlingsgrupper som får en kombinasjonskur. De overordnede hensiktene med dette er å sammenlikne effekten av bestemte virkestoffer opp mot den antatte synergiske effekten til kombinasjonskurer, eller undersøke om kombinasjonskurene bidrar til en synergi (og at dette gir mer tilfredsstillende resultater).

McDougall et. al. (2013) sammenlikner effekten av cefuroxime og prokain penicillin G alene, eller i kombinasjon med DHS. Med dette ønsker forfatterne ikke bare å studere effekten av cefuroxime og prokain penicillin som enkeltstående virkestoffer på kyr med klinisk mastitt. De forsøker også å studere om det er en betydelig synergisk effekt når man kombinerer prokain penicillin G med DHS. Resultatene av studien tilsier at det denne kombinasjonen ikke bidrar til noen signifikant forskjell i effekt på cure av klinisk mastitt hos melkekyr når man sammenlikner det med bruk av prokain penicillin G alene.

I meget streng forstand kan man si at begge behandlingsgruppene i studien til Taponen et al. (2003a) er kombinasjonskurer. Det har likevel blitt valgt å inkludere artikkelen i denne litteraturstudien ettersom den ene behandlingsgruppen kun mottar ett virkestoff (prokain penicillin G). I denne gruppen skjer kombinasjonsdelen av behandlingen ved bruken av to administrasjonsruter. I den andre behandlingsgruppen har det i tillegg til dette blitt benyttet et ekstra virkestoff (neomycin) ved den ene administrasjonsruten. Med dette ønsker forfatterne å studere om det er en betydelig synergisk effekt mellom prokain penicillin G og neomycin slik at det gir bedre effekt ved behandlingen av klinisk mastitt forårsaket av penicillinfølsomme, gram-positive bakterier. Ettersom kombinasjonskuren har cure-rater som ikke er signifikant forskjellig fra den andre behandlingen kan man ikke si at det er funnet betydningsfull synergi mellom prokain penicillin G og neomycin i denne sammenhengen. Den eneste cure-raten hvor kombinasjonskuren presterte bedre var bakteriologisk cure-rate (5.5 prosentpoeng høyere). Ved klinisk og total cure-rate presterte kombinasjonskuren marginalt dårligere enn den andre behandlingen (2.2 og 3.1 prosentpoeng lavere).

Hos Taponen et. al. (2003b) er det fire behandlingsgrupper. Effekten til to av disse (prokain penicillin G alene og kombinert med neomycin) blir vurdert opp imot hverandre i behandlingen av klinisk mastitt forårsaket av penicillinfølsom (β -laktamase negativ) *S. aureus*. Hos de to andre behandlingsgruppene (spiramycin alene og kombinasjonskur med amoxycillin, klavulansyre og prednisolon) blir effekten av dem vurdert i behandlingen av klinisk mastitt forårsaket av penicillinresistent (β -laktamase positiv) *S. aureus*. Hensikten med

dette er å vurdere effekten av virkestoffer alene administrert systemisk/parenteralt opp imot kombinasjonskurer som også benytter kombinasjonen av parenteral og I.M.M. administrasjonsrute. I denne studien fikk forfatterne et resultat der kombinasjonen av prokain penicillin G og neomycin kom best ut med en bakteriologisk cure-rate som var signifikant høyere (23.0 prosentpoeng høyere) enn med prokain penicillin G alene. Denne kombinasjonskuren hadde også 10.5 prosentpoeng høyere total cure-rate. Det er da verdt å sette spørsmål ved hvorfor behandlingsgruppen som bare fikk prokain penicillin G presterte så mye dårligere og gruppen som fikk kombinasjonskuren presterte bedre ved denne studien sammenliknet med studien til Taponen et. al. (2003a). De to studiene ble utført av de samme forfatterne og benyttet de samme virkestoffene i de to mest aktuelle behandlingsgruppene. På tross av disse resultatene konkluderer de i Taponen et. al. (2003b) at penicillin G kan anbefales som "the drug of choice" for mastitt forårsaket av penicillinfølsom *S.aureus*. De skriver også: «The therapeutic effect of intramammaries containing penicillin G and an aminoglycoside on *S.aureus* is, however, mainly based on the penicillin G component, and the therapeutic effect of aminoglycoside in the combination is negligible.»

Statistisk signifikans tilknyttet cure-rate

Når man tar for seg statistisk signifikans er det ikke bare selve p-verdien som er viktig. Det er flere faktorer som kan ha innflytelse på hvor pålitelig p-verdien virkelig er. Man må derfor blant annet ta i betraktning faktorer som hvilken type signifikanstest som er benyttet og størrelsen på utvalget.

Som tidligere nevnt ble det hverken hos Taponen et al., (2003a) og Taponen et al., (2003b) oppgitt om det ble brukt en ensidig eller tosidig signifikanstest. Et annet element som var savnet i artiklene var et definert signifikansnivå. Det kom frem fra hvordan forfatterne skrev om resultatene at det sannsynligvis hadde blitt benyttet et signifikansnivå på 0.05. Det er ikke gitt at alle studier bruker dette selv om det er oftest anvendt. Noen ganger kan forskere velge å ta i bruk et strengere signifikansnivå som 0.01. Størrelsen på utvalget deres er ikke spesielt stort og det er ikke det optimale antallet kjertler i behandlingsgruppene (56 og 41 kjertler i de penicillinbehandlede gruppene). Det er likevel ikke så få kjertler at man kan kalle p-verdien helt upålitelig, men det kan gi en indikator på hva man kan forvente ved en studie med større utvalg.

Zhen et al., (2009) sin studie har forfatterne som tidligere nevnt valgt å benytte en ensidig signifikanstest for å regne ut p-verdi tilknyttet cure-rate. En ensidig test bør bare bli

brukt framfor en tosidig om man har en god grunn til det. Dette er fordi en slik test gjør det lettere å oppnå signifikante resultater og man bør derfor være ekstra kritisk ved vurdering av studien. Om forskerne i denne studien hadde en spesifikk grunn til å velge en ensidig test, ble dette ikke oppgitt. Måten p-verdiene er presentert er svært uspesifikk i at forfatterne bare uttrykker at den er lavere enn det definerte signifikansnivået, altså $p > 0.05$. Siden det ikke er framstilt som en spesifikk verdi er det derfor ikke mulig å vite nøyaktig hvor lav den er. Man kan ikke vite om det er snakk om $p = 0.001$ eller $p = 0.049$. P-verdiene forfatterne kommer frem til indikerer at de store forskjellene mellom behandlingsgruppene i cure-rate er statistisk signifikant basert på det definerte signifikansnivået. På tross av dette blir det feil å forkaste det som tilsvarer studiens nullhypotese og si at det er forskjell i behandlingenes effektivitet i kurering av klinisk mastitt. Dette er fordi man risikerer feilaktig forkasting av nullhypotesen ettersom utvalget er uhyre lite (åtte kjertler per behandlingsgruppe). Denne studien sitt utvalg er det minste blant alle de inkluderte artiklene.

I motsetning til Zhen et al., (2009) ble det hos McDougall et al., (2007) benyttet en tosidig test av signifikans. Dette er fordelaktig ettersom det ikke gjør det like lett å oppnå signifikante resultater som en ensidig test. De har også i motsetning til den forrige nevnte studie det største utvalget blant alle de inkluderte studiene. Dette medfører at resultatene av signifikanstesting tilknyttet cure-rate blir mer pålitelig. Man kan altså med større sikkerhet si at forskjellen mellom klinisk cure-rate hos gruppen ble behandlet med penicillin G alene og den som fikk cefuroxime ikke er tilfeldig. Forskjellen i klinisk cure-rate hos gruppen som bare fikk penicillin G og gruppen som både fikk penicillin G og DHS var ikke stor (1.8 prosentpoeng) og p-verdien tilsa at forskjellen ikke var signifikant ($p = 0.50$). Man kan da anta at det trolig ikke er forskjell mellom de to behandlingsmetodene i effektivitet. Denne antakelsen er videre styrket når man ser på den bakteriologiske cure-raten hos de to gruppene (bare 1.0 prosentpoeng forskjell) og den tilhørende ikke-signifikante p-verdien ($p = 0.41$).

Kalmus et al., (2014) oppgav tydelig at de også hadde benyttet en tosidig signifikanstest og definert et signifikansnivå på 0.05. Når man ser på hvor liten forskjellen mellom de to behandlingsgruppene er tilknyttet bakteriologisk cure-rate (1.6 prosentpoeng) og at denne forskjellen ikke var statistisk signifikant ($p = 0.69$) kan man anta at det ikke er betydelig forskjell mellom de to. Forfatterne beskriver i artikkelen at de ved begynnelsen av studien kalkulerte den nødvendige størrelsen på utvalget (106 kjertler per gruppe) for statistisk evaluering. Dette er den eneste av studiene hvor dette er oppgitt. Denne kalkuleringen er større enn det de endte opp med og forfatterne trekker også frem dette med

begrunnelser samt noen av følgene av det statistisk (dog ikke tilknyttet p-verdi spesifikt). Det vedkjennes av forfatterne at det ideelt skulle ha vært flere kjertler enn 61 i ene behandlingsgruppen og 79 i den andre. Likevel er ikke det så få kjertler at p-verdien blir like upålitelig som hos Zhen et al., (2009) eller Taponen et al., (2003b) basert på utvalgsstørrelse.

Begrensinger ved egen litteraturstudie

Vi var nødt til å holde oss til VPN og de artiklene NMBU hadde tilgang til da litteratursøket foregikk. Det var ikke muligheter for å kunne låne fysiske artikler/tidsskrifter, og vi kunne heller ikke låne noe fra andre bibliotek. Derav er det kanskje noen artikler som burde blitt sett nærmere på før en eventuell ekskludering. Det var også noen artikler som var for gamle til å være digitale – kun i tidsskrift som kun biblioteker hadde tilgang på. Noen mulig relevante artikler har derfor blitt ekskludert da det ikke har vært lov til å fjernlåne tidsskrifter fra andre bibliotek.

Tidligere i denne litteraturstudien ble inklusjons- og eksklusjonskriterier forklart. Vi valgte kun artikler som var på følgende språk: norsk, svensk, dansk, engelsk. Dette kan ha bidratt til at vi har «mistet» artikler som kunne være aktuelle for vår litteraturstudie. På en annen side skal alle vitenskapelige artikler være skrevet på et språk som mange kan lese, og har artikkelen internasjonal interesse bør den publiseres på engelsk. Med samme grunnlag kan en artikkel som kun har nasjonal interesse publiseres på norsk. Vi kan derfor være relativt trygge på at vi har fått med oss de artiklene som er relevante for vår litteraturstudie med tanke på språk.

Ekstern validitet

Ekstern validitet forteller om artikkelen er relevant for andre grupper enn studiepopulasjonen i artikkelen. Denne litteraturstudien har tatt i utgangspunkt at resultatene skal kunne gjelde for norske melkekyr i 2021, og avsnittene under vil drøfte validiteten i forhold til dette.

Publiseringsdato

Det ble tidligere i denne litteraturstudien satt spørsmål ved om tidsbegrensningen for søket burde vært ytterligere innsnevret. Etter screening av artikler som dukket opp i søkene

ble det funnet at de resulterende artiklene ikke var publisert tidligere enn 1984. Det hadde dermed vært mulig å snevre inn tidsbegrensningen ytterligere uten å gå glipp av aktuelle artikler. Fem av seks inkluderte artikler var publisert så sent som etter år 2000. Dette kan tyde på at det er først i de senere år at man virkelig har begynt å sette søkelys på hvor effektivt akkurat penicillin G er i behandlingen av naturlig forekommende klinisk mastitt hos melkekyr. Det kan også bety at det har blitt satt mer fokus på viktigheten av å benytte smalspektret antibiotika hvis det er mulig i stedet for resistensdrivere som tetracyclin og enrofloxacin.

De fem inkluderte kontrollstudiene er publisert etter år 2000 og ut fra dette kan man anta at det er de artiklene som er mest anvendbare med tanke på moderne husdyrdrift og antibiotikabruk. Case-studien fra Watts et al., (1984) er 19 år eldre enn den eldste inkluderte kontrollstudien. Det er mulig at dette kan ha en virkning på hvor anvendbar den er. Den moderne husdyrdriften er alltid under utvikling ettersom miljøet til kua har en unektelig påvirkning på dyrene sin helse. Moderne antibiotikabruk er også alltid under utvikling ettersom man får mer kunnskap. Dette er viktig å ha i tankene ved vurdering av en eldre artikkel.

Land

Artiklene inkludert i denne litteraturstudien er fra fem ulike land, hvorav ingen av disse er Norge. Dette gjør at studiene er mindre sammenlignbare på bakgrunn av forskjeller ved blant annet agensprofil og referansepopulasjon. Taponen et al., (2003a) og Taponen et al., (2003b) er studier fra Finland, og er et av Norges naboland. Kalmus et al., (2014) er fra Estland, som også ligger i Europa og er relativt sett geografisk nærme Norge.

Staphylococcus aureus var en del av agensprofilen i fem av seks studier inkludert. Dette er en bakterieart som det er høy prevalens av i Norge. Det er dog en mulighet for at *S. aureus* i inkluderte artikler er av en annen strain enn den som er mest hyppig forekommende i Norge. Ulike strains kan ha ulike virulensfaktorer, som igjen kan påvirke cure-rate. En av disse virulensfaktorene kan være penicillinresistens (MRSA). I Norge er det lav insidens av MRSA, mens i Kina er den høy på 47.6% (Gopal & Divya, 2017).

Driftsforhold

Bonden kan også være en konfunderende faktor. Taponen et al., (2003a) og Taponen et al., (2003b) behandler kyr i felt, noe som vil si at bonden tar kontakt med dem angående ei

ku/flere kyr med mastitt. Forskjellige bønder vil ha forskjellig terskel for å kontakte veterinær ved sykdom hos dyra sine. Det kan derfor være at enkelte kyr har gått mye lenger med mastitt enn andre, som ifølge McDougall et al., (2007) kan påvirke cure-rate.

Det kan også tenkes at bønder som ønsker å være med i disse studiene er spesielt interesserte bønder, da flere av studiene krever at bonden gjør noe av arbeidet, som å samle aseptiske speneprøver etter behandling. En så pliktoppfyllende bonde vil kanskje ha bedre hygiene, strammere rutiner og mer kontroll på sine kyrs helse enn gjennomsnittet.

Hygiene er noe som kan tenkes å være en konfunderende faktor. I Watts et al., (1984) blir det skrevet: «Post-milking teat disinfection with a 1.0% iodophor teat dip was practiced, though random checks determined that employees did not routinely dip teats unless closely supervised.» Det er ikke unaturlig å tenke at lignende problemer også er å finne i andre besetninger som er inkludert i studiene. Dårlig hygiene kan forårsake mastitt ved at bakterier fra fjøset infiserer kua gjennom spenekanalen eller skadet hud i juret. Samtidig kan dårlig hygiene gjøre det vanskeligere å kurere mastitt, hvis kua hver dag utsettes for både patogenet hun allerede er smittet med og andre patogener i miljøet. Ingen av studiene diskuterer hygiene i besetningene de har inkludert og det er derfor umulig å si om dette kan ha hatt en effekt. Det er likevel naturlig å tenke at det vil være forskjell på besetningene. De er av forskjellig størrelse og i helt forskjellige deler av verden, og drevet av forskjellige bønder. Dette kan dermed absolutt ha påvirket vår forklaringsvariabel og utfallsvariabel.

Kuraser

De fleste inkluderte artikler har benyttet kuraser som tradisjonelt blir brukt primært for melkeproduksjon. Disse inkluderer blant annet Jersey, Friesian, Holstein og blandinger av disse. Friesian og Holstein er trolig samme rasen, som i Norge kalles for holstein-frisisk fe, da navnet forkortes til enten Holstein eller Friesian i ulike land (Wikipedia, 2021). Holstein-frisisk fe er en av de mest utbredte rasene i verden (McGuffey & Shirley, 2011) og disse studiene er derfor representative for land som har størst utbredelse av denne rasen. I Norge er flesteparten av kyrne av rasen NRF, som er brukes til både melk- og kjøttproduksjon. Studier med primært melkeproduserende raser blir derfor ikke like representative for Norge, da det blir en annen referansepopulasjon. Raser med høy produksjon av melk har høyere risiko for å få mastitt, som kan ha påvirket cure-rate med tanke på tilbakefall i perioden mellom endt behandling og ved vurdering av utfall. Taponen et al., (2003b) har brukt rasen Finsk Ayrshire,

som er en del av opprinnelsen til NRF (Geno SA, 2020c). Denne kurasen blir benyttet som både melkeku og kjøttku, og kan derfor i større grad sammenlignes med NRF.

Resultater i praksis

Penicillin og annen antibiotika har vært en svært attraktiv og populær behandling i mange år. I mange land selges antibiotika fortsatt over disk. De fleste ser på antibiotika som en vidunderkur og mener det kan fungere som behandling for det meste. Man begynner forhåpentligvis å få øynene opp for farene ved antibiotikaresistens og dette vil føre til en mer forsiktig bruk av slike preparater. Fordi mange tenker at antibiotika alltid kan kurere blir det tidvis brukt med liten omhu. Følsomhetstesting er en ekstra kostnad og tar tid. Gjennom denne studien ser man derimot at selv med følsomhetstesting er ikke utfallet sikkert. Studiene som har benyttet følsomhetstesting har oppnådd en bakteriologisk cure-rate (se Tabell 12) på 73,1 % (Taponen et al., 2003a), 56,1 % (Taponen et al., 2003b) og 55,7 % IMM, 54,1 % IM (Kalmus et al., 2014). Dette gir en gjennomsnittlig cure-rate på 59,8 % ved bruk av penicillin på kyr man vet er infisert med en penicillinsensitiv bakterie. Mange faktorer kan ha spilt inn på dette resultatet, men man ser likevel at penicillin kanskje ikke er den vidunderkuren man ønsker at det skal være.

Det beste for kua, bonden og verden er om det ikke oppstår mastitt som må behandles i det hele tatt. Kua slipper smertene, bonden slipper kostnadene og verden slipper potensiell økning av resistente bakterier. Det er derfor viktig med forebyggende arbeid. Studier viser at båsfjøs i gjennomsnitt har færre tilfeller av mastitt (Gordon et al., 2013). I Norge skal båsfjøs avvikles av hensyn til dyrevelferd, og det øker fokuset på andre profylaktiske tiltak. Hygiene i fjøset og ved melking har betydning for utvikling av klinisk mastitt. Automatiske melkesystem har gjennomsnittlig lavere antall tilfeller av klinisk mastitt (Ottinsen, 2013). Kyr med klinisk mastitt bør identifiseres så tidlig som mulig for å øke både sannsynligheten for at kua blir frisk og å hindre spredning av smittsomme agens i besetningen.

Skulle ei ku få tegn på klinisk mastitt er det beste å finne årsaken, om det skyldes infeksjøs eller ikke-infeksjøs mastitt. Dreier det seg om bakteriologisk infeksjon er det mange ulike metoder for å identifisere bakterier. Samtlige inkluderte artikler har benyttet seg av dyrkning av melk på agarplate. Ulempen med dyrkning er at det vanligvis gjøres i et laboratorium, og ikke i fjøset. Melken må hentes ut aseptisk for å unngå kontaminering av andre bakterier, bakteriekulturen må inkuberes og til slutt identifiseres på bakgrunn av blant annet morfologi. Identifisering av bakterien vil dog gi best behandling og mulighet for

iverksetting av tiltak ved påvist smittsom bakterie. På grunn av den lave insidensen av penicillinresistente bakterier i Norge kan det argumenteres at det ikke er nødvendig med rutinemessig følsomhetstesting før behandling. Det gjøres likevel for å kartlegge insidensen for å overvåke mulig endring av antibiotikaresistens i Norge.

Konklusjon

Alle studiene ble kvalitetsvurdert i design, analyse og rapportering av funn og resultater. De hadde alle større eller mindre mangler ved hvordan studien var designet, samt i beskrivelsene som er oppført i materiale og metoder og resultat. To av studiene hadde så omfattende mangler (på tross av at de passet rammene til litteraturstudien) at de ikke kunne bidra med pålitelige svar på det som vi ønsket å undersøke. Når man så vekk fra disse to stod man igjen med fire artikler som var vurdert til å være av god nok kvalitet. Disse er generelt godt skrevne artikler som er fagfellevurdert, skrevet av troverdige forfattere og er publisert i nyere tid.

Resultatene fra denne litteraturstudien viste at behandling av klinisk mastitt ved hjelp av penicillin G fungerer, men gir lavere klinisk og bakteriologisk cure-rate enn forventet for agens følsom til penicillin. At agens er følsom for penicillin er altså ingen garanti for at klinisk mastitt blir kurert av penicillin G. Videre kom det frem at penicillinbehandling gir bedre klinisk cure-rate enn bakteriologisk, samt at cure-rate varierer med agens. Når man sammenfattet agensspesifikk bakteriologisk cure-rate uavhengig av følsomhetstesting fikk man verst cure-rate for *S.aureus* og best for *S.uberis*. Per i dag konkluderer de fleste studiene at penicillin G er det beste alternativet ved behandling av klinisk mastitt forårsaket av penicillinfølsomme, gram-positive bakterier. Dette gjelder både ved sammenlikning med andre virkestoffer og med kombinasjonskurer. Med tanke på penicillinresistens bør det likevel bli gjort forsøk på å finne alternativer.

I fremtidig forskning ville det vært av interesse å utføre ytterligere kontrollstudier på området som følger gullstandard med randomisert og dobbelt blindet design. Det bør bli prioritert at disse studiene har et større studieutvalg, samt bedre beskrivelser av behandlingsgruppene og resultatene. Bakteriene som identifiseres må bli følsomhetstestet for penicillin ettersom gram-positive bakterier kan ha utviklet resistens, noe som vil ha betydelig påvirkning på cure-rate.

Summary

Title: Clinical mastitis – A systematic review of the use and effect (cure-rate) of penicillin

Authors: Langnes Hanne, Max Line, Tronsmoen Heidi og Aashammer Josefine Ambrosia

Supervisor: Ingrid Hunter Holmøy – Institute of production medicine

In this systematic review we have investigated the cure rate of naturally occurring clinical mastitis caused by gram-positive bacteria in lactating dairy cows treated with penicillin G. We have also described other factors in conjunction with mastitis and dairy cows and the treatment of this condition. We have gone through five clinically controlled studies and one case study. We have studied both bacteriological and clinical cure rates. Three of the included studies have used susceptibility testing, while the other three only have identified pathogens. In the included studies the average bacteriological cure rate is 53.1 % and the average clinical cure rate is 74.4 %. For the studies using susceptibility testing the average bacteriological cure rate is 59.8 %, while the studies who did not have an average cure rate of 44.2 %. Bacteriological cure rates are lower than clinical cure rate in all studies that have provided data about both cure rates. From these results we can conclude that penicillin G is a fairly good treatment for mastitis caused by bacteria sensitive to penicillin, and that we should monitor the development of antibiotic resistance going forward.

Referanser

- Animalia. (2017). *Husdyrnæringas felles handlingsplan mot antibiotikaresistente bakterier*. Tilgjengelig fra: <https://www.animalia.no/contentassets/7449306a50344bd4ba69c4d71af51f07/husdyrnaringas-felles-handlingsplan-mot-antibiotikaresistente-bakterier.pdf> (lest 08.02.21).
- Animalia. (2019). *Helsekort og beskrivelse av helsekortordningen*. Tilgjengelig fra: <https://www.animalia.no/no/Dyr/storfe/helsekort-og-beskrivelse-av-helsekortordningen/> (lest 25.04.21).
- Anjum, M. F., Marco-Jimenez, F., Duncan, D., Marín, C., Smith, R. P. & Evans, S. J. (2019). Livestock-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus From Animals and Animal Products in the UK. *Front Microbiol*, 10: 2136. doi: 10.3389/fmicb.2019.02136.
- Ashraf, A. & Imran, M. (2020). Causes, types, etiological agents, prevalence, diagnosis, treatment, prevention, effects on human health and future aspects of bovine mastitis. *Animal Health Research Reviews*, 21 (1): 36-49. doi: 10.1017/S1466252319000094.
- Batavani, R., Asri, S. & Naebzadeh, H. (2007). The effect of subclinical mastitis on milk composition in dairy cows. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 8 (3): 205-211.
- Berge, S. (1954). *Avlslære : A. Reproduksjon*: Norwegian University of Life Sciences, Ås.
- Bradley, A. (2002). Bovine mastitis: an evolving disease. *The veterinary journal*, 164 (2): 116-128. doi: 10.1053/tvjl.2002.0724.
- Bratberg, E. (2020). *Melkemaskin*. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/melkemaskin> (lest 09.01.21).
- Braut, G. S. (2019). *P-verdier*. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/p-verdier> (lest 28.01.21).
- Britannica The Editors of Encyclopaedia. (2020). *Penicillin*. Tilgjengelig fra: <https://www.britannica.com/science/penicillin> (lest 16.01.21).
- CABI. (u.å). *How we are managed. Governance and structures*. Tilgjengelig fra: <https://www.cabi.org/about-cabi/how-we-are-managed/> (lest 08.01.21).
- Calvinho, L. F., Almeida, R. A. & Oliver, S. P. (1998). Potential virulence factors of Streptococcus dysgalactiae associated with bovine mastitis. *Vet Microbiol*, 61 (1-2): 93-110. doi: 10.1016/s0378-1135(98)00172-2.
- Cobo-Ángel, C., Jaramillo-Jaramillo, A. S., Lasso-Rojas, L. M., Aguilar-Marin, S. B., Sanchez, J., Rodriguez-Lecompte, J. C., Ceballos-Márquez, A. & Zadoks, R. N. (2018). Streptococcus agalactiae is not always an obligate intramammary pathogen: Molecular epidemiology of GBS from milk, feces and environment in Colombian dairy herds. *PLoS one*, 13 (12): e0208990-e0208990. doi: 10.1371/journal.pone.0208990.
- Edvardsen, K. (2018). *Løsdriftskrav og tidsfrister frem mot 2034*. Tilgjengelig fra: <https://nordnorge.nlr.no/fagartikler/loesdriftskrav-og-tidsfrister-frem-mot-2034/> (lest 11.02.21).
- European Commission. (2015). Commission notice. Guidelines for the prudent use of antimicrobials in veterinary medicine. *Official Journal of the European Union*, 299 (4).
- Ezzat Alnakip, M., Quintela-Baluja, M., Böhme, K., Fernández-No, I., Caamaño-Antelo, S., Calo-Mata, P. & Barros-Velázquez, J. (2014). The Immunology of Mammary Gland of Dairy Ruminants between Healthy and Inflammatory Conditions. *Journal of Veterinary Medicine*, 2014, Article ID 659801, 31 pages. doi: 10.1155/2014/659801.

- Fass djurläkemedel. (2020). *Ethacilin® vet.* Tilgjengelig fra: <https://www.fass.se/LIF/product?userType=1&nplId=19910816000010> (lest 10.04.21).
- Felleskatalogen. (2020). *Penovet vet.* Tilgjengelig fra: <https://www.felleskatalogen.no/medisin-vet/penovet-vet-boehringer-ingelheim-animal-health-nordics-a-s-562709>.
- Folkehelseinstituttet. (2016). *PICO.* Tilgjengelig fra: <https://www.helsebiblioteket.no/kunnskapsbasert-praksis/sporsmalsformulering/pico> (lest 09.09.20).
- Fossen S. & Dissen, E. (2020). *Polymerasekjedereaksjon.* Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/polymerasekjedereaksjon> (lest 17.01.21).
- Geno SA. (2020a). *Avlsmålet for NRF.* Tilgjengelig fra: <https://www.geno.no/fagstoff-og-hjelpemidler/avlprogram-for-norsk-rodt-fe/avlsmålet-for-nrf/> (lest 19.01.2021).
- Geno SA. (2020b). *Fruktbarhetsmål.* Tilgjengelig fra: <https://www.geno.no/fagstoff-og-hjelpemidler/fagstoff/brunst-og-fruktbarhet/fruktbarhet-og-fruktbarhetsproblemer/fruktbarhet/fruktbarhetsmal/> (lest 11.02.2021).
- Gillund, P. (2018). *Fruktbarhet viktig for både økonomi og miljø.* Buskap 2018:4. Hamar: Geno SA.
- Gopal, S. & Divya, K. C. (2017). Can methicillin resistant Staphylococcus aureus prevalence from dairy cows in India act as potential risk for community-associated infections?: A review. *Vet World*, 10 (3): 311-318. doi: 10.14202/vetworld.2017.311-318.
- Harmon, R. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*, 77 (7): 2103-2112. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77153-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77153-8).
- Heringstad, M., Klemetsdal, G., Wethal, K. B. & Dalen, G. (2018). *Forskjeller i celletall og andre mastittindikatorer fra melkeroboten i to seleksjonslinjer av NRF.* Masteroppgave. Ås: Norwegian University of Life Sciences. Tilgjengelig fra: <https://nmbu.brage.unit.no/nmbu-xmlui/handle/11250/2505777> (lest 14.01.21).
- Hovinen, M., Simojoki, H., Pösö, R., Suolaniemi, J., Kalmus, P., Suojala, L. & Pyörälä, S. (2016). N-acetyl-β-D-glucosaminidase activity in cow milk as an indicator of mastitis. *Journal of Dairy Research*, 83 (2): 219-227. doi: 10.1017/S0022029916000224.
- Jeffries, C. M. & Rodgers, M. (2016). Immunity and Defense. I: Colville, T. & Bassert, J. M. (red.) *Clinical anatomy and physiology for veterinary technicians*, s. 329-331. St. Louis: Elsevier.
- Jenssen, M. (2012). *God styring gir friske kyr.* Tilgjengelig fra: <https://forskning.no/partner-norges-veterinaerhogskole-dyreverden/god-styring-gir-friske-kyr/721816> (lest 16.01.2021).
- Kankofer, M., Albera, E. & Rózańska-Boczula, M. (2010). Activities of N-acetyl-β-D-glucosaminidase and glutathione peroxidase in bovine colostrum and milk. *Czech Journal of Animal Science*, 55 (1): 488-495. doi: 10.17221/1707-CJAS.
- Kirchhelle, C. (2018). Pharming animals: a global history of antibiotics in food production (1935–2017). *Palgrave Communications*, 4 (1): Article number: 96. doi: 10.1057/s41599-018-0152-2.
- Kirsanova, E. (2018). *Alternative egenskaper til subklinisk mastitt.* Buskap 2018:4. Hamar: Geno SA.
- KORE. (2015). *Celletall og jurhelse i automatiske melkingssystemer (AMS).* Tilgjengelig fra: <http://www.kore.no/celletall-og-jurhelse-i-automatiske-melkingssystemer-ams/> (lest 17.01.2021).

- Landecker, H. (2016). Antibiotic Resistance and the Biology of History. *Body & Society*, 22 (4): 19-52. doi: 10.1177/1357034x14561341.
- Litwińczuk, Z., Król, J. & Brodziak, A. (2015). Factors Determining the Susceptibility of Cows to Mastitis and Losses Incurred by Producers Due to the Disease – A Review. *Annals of Animal Science*, 15 (4): 1-24. doi: 10.1515/aoas-2015-0035.
- Milne, M. H., Biggs, A. M., Barrett, D. C., Young, F. J., Doherty, S., Innocent, G. T. & Fitzpatrick, J. L. (2005). Treatment of persistent intramammary infections with *Streptococcus uberis* in dairy cows. *Vet Rec*, 157 (9): 245-50. doi: 10.1136/vr.157.9.245.
- Myrvang, B. (2019). *Opportunistisk infeksjon*. Tilgjengelig fra: https://sml.snl.no/opportunistisk_infeksjon (lest 11.01.21).
- National Center for Biotechnology Information. (u.å.). *PubMed Overview*. Tilgjengelig fra: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/about/> (lest 09.09.20).
- National Research Council (US) Committee on Technological Options to Improve the Nutritional Attributes of Animal Products. (1988). *Designing Foods: Animal Product Options in the Marketplace*. Washington, D.C: Washington, D.C: National Academies Press.
- NPI. (2004). *Vekt på forskning* Tilgjengelig fra: https://npi.nsd.no/dok/Vekt_pa_forskning_2004.pdf (lest 10.03.21).
- NPI. (u.å). *Norsk publiseringsindikator (NPI) har til mål å fremme god forskning og skape oversikt over og innblikk i forskningsaktivitetene*. Tilgjengelig fra: <https://npi.nsd.no/> (lest 10.03.21).
- Nævdal, I. (2015). *Avl for bedre jurhelse virker*. Tilgjengelig fra: <https://medlem.tine.no/fagprat/oppdrett/avl-for-bedre-jurhelse-virker> (lest 19.01.2021).
- Nørstebø, H. (2015). *Gode rutiner hindrer medisinrester i tankmjølk*. Tilgjengelig fra: <https://medlem.tine.no/fagprat/mj%C3%B8lke%20kvalitet/unnng%C3%A5-antibiotikarester-i-melk> (lest 17.01.21).
- Opplysningskontoret for Meieriprodukter. (u.å.). *Laktasjon*. Tilgjengelig fra: <https://www.melk.no/Meierileksikon/Laktasjon> (lest 11.09.20).
- Otterholt, E. (2020). *MRSA*. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/MRSA> (lest 09.01.21).
- Ottinsen, H. G. (2013). *Hvordan mjølkesystem påvirker mastittfrekvensen i norske besetninger*. Masteroppgave. Ås: Norwegian University of Life Sciences. Tilgjengelig fra: <https://nmbu.brage.unit.no/nmbu-xmlui/handle/11250/186217> (lest 16.01.21).
- Pal, M., Regasa, A. & Gizaw, F. (2019). Etiology, Pathogenesis, Risk Factors, Diagnosis and Management of Bovine Mastitis: A Comprehensive Review. *International Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 6: 40-55.
- Petersson-Wolfe, C. S., Leslie, K. E. & Swartz, T. H. (2018). An Update on the Effect of Clinical Mastitis on the Welfare of Dairy Cows and Potential Therapies. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 34 (3): 525-535. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2018.07.006>.
- Petticrew M. & Roberts, H. (2006). *Systematic Reviews in the Social Sciences: A Practical Guide*. 1st. utg. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd. Tilgjengelig fra: https://books.google.no/books?hl=no&lr=&id=ZwZ1_xU3E80C&oi=fnd&pg=PR5&ots=wZP_tNGSRv&sig=6E7ONzD7zBXEBu8JNsvj5Bzx3As&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false.
- Punchard, N. A., Whelan, C. J. & Adcock, I. (2004). The Journal of Inflammation. *Journal of inflammation*, 1 (1): 1-1. doi: 10.1186/1476-9255-1-1.

- Rainard, P., Foucras, G., Boichard, D. & Rupp, R. (2018). Invited review: Low milk somatic cell count and susceptibility to mastitis. *Journal of Dairy Science*, 101 (8): 6703-6714. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14593>.
- Ranheim, B. (2020). RE: Spørsmål angående penicillin til bacheloroppgave. 17.12.20 (e-post til Josefine Ambrosia Aashammer).
- Refsdal, A. O., Gillund, P. & Karlberg, K. (2014). Inseminasjon. I: *Fruktbarhet i fjøset*, s. 53-62. Bergen: Fagbokforlaget.
- Ruegg, P. L. (2014). *Facts about using PCR to diagnose mastitis*. Tilgjengelig fra: <https://milkquality.wisc.edu/whats-new/facts-using-pcr-diagnose-mastitis/> (lest 01.04.21).
- Scott, P. R., Penny, C. D. & Macrae, A. I. (2011). *Cattle medicine*. London: CRC Press.
- Stanford, K. (2019). *E. coli O157:H7*. Tilgjengelig fra: <https://www.beefresearch.ca/research-topic.cfm/e-coli-o157h7-10> (lest 11.02.21).
- Svardal, F. (2017). *Metaanalyse*. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/metaanalyse> (lest 24.03.21).
- Sølverød L. & Smistad, M. (u.å.). *Ny rutine for identifisering av koagulase negative stafylokokker (KNS)*. Tilgjengelig fra: <https://medlem.tine.no/aktuelt/nyheter/fagnytt/ny-rutine-for-identifisering-av-koagulase-negative-stafylokokker-kns> (lest 16.01.21).
- Tine Rådgivning. (2014a). *Sinkuføring - grunnlaget for neste laktasjon* Tilgjengelig fra: <https://medlem.tine.no/aktuelt/nyheter/fagnytt/diverse-brosjyrer-fra-tine-r%C3%A5dgiving> (lest 09.01.21).
- Tine Rådgivning. (2014b). *TINEs regelverk om bedømmelse og betaling av melk etter kvalitet ved levering til TINE Råvare*. Tilgjengelig fra: <https://medlem.tine.no/praktisk-informasjon/tines-regelverk/attachment/346898?ts=14a7119b071> (lest 10.02.21).
- Tine Rådgivning. (2018). *Oversikt over mastittbakterier med tallkoder*. Tilgjengelig fra: <https://medlem.tine.no/fagprat/helse/oversikt-over-mastittbakterier-med-tallkoder> (lest 11.02.21).
- Tine Rådgivning. (2020a). *Delindikator - jurhelse*. Tilgjengelig fra: <https://medlem.tine.no/fagprat/helse/dyrevelferdsindikator/delindikator-jurhelse> (lest 10.02.21).
- Tine Rådgivning. (2020b). *Statistikksamling fra Ku- og Geitekontrollen 2019. Årsrapport fra Helsekortordningen.*: Tine Rådgivning Husdyrkontrollen. Tilgjengelig fra: <https://medlem.tine.no/aktuelt/nyheter/husdyrkontrollen/attachment/499536?ts=171c62ad785> (lest 16.01.21).
- Tønjum, T. (2019). *Agens*. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/agens> (lest 28.01.21).
- Uman, L. S. (2011). Systematic reviews and meta-analyses. *Journal of the Canadian Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 20 (1): 57-59.
- Vangen, O. (2020). *Avdrått*. Tilgjengelig fra: <https://snl.no/avdr%C3%A5tt>.
- Watts, J. L., Nickerson, S. C. & Pankey, J. W. (1984). A case study of Streptococcus group G infection in a dairy herd. *Vet Microbiol*, 9 (6): 571-9. doi: 10.1016/0378-1135(84)90019-1.
- Whist, A. C. & Sølverød, L. (2017). *Jurhelse*. 3. utg. S.l.: TINE Rådgiving, Fagavdelingen.
- Wikipedia. (2021). *Holstein Friesian cattle*. Tilgjengelig fra: https://en.wikipedia.org/wiki/Holstein_Friesian_cattle (lest 10.03.21).
- Winder, C. B., Sargeant, J. M., Kelton, D. F., Leblanc, S. J., Duffield, T. F., Glanville, J., Wood, H., Churchill, K. J., Dunn, J., Bergevin, M. d., et al. (2019). Comparative efficacy of blanket versus selective dry-cow therapy: a systematic review and pairwise meta-analysis. *Animal Health Research Reviews*, 20 (2): 217-228. doi: 10.1017/S1466252319000306.

- Waalør, S. (2016). *MRSA på melkekyr i søndre Buskerud*. Tilgjengelig fra: <https://www.bondelaget.no/buskerud/nyheter/mrsa-pa-melkekyr-i-sondre-buskerud> (lest 20.01.2021).
- Yang, Y., Liu, Y., Ding, Y., Yi, L., Ma, Z., Fan, H. & Lu, C. (2013). Molecular characterization of *Streptococcus agalactiae* isolated from bovine mastitis in Eastern China. *PLoS One*, 8 (7): e67755. doi: 10.1371/journal.pone.0067755.
- Østerås, O. & Sølverød, L. (2009). Norwegian mastitis control programme. *Irish Veterinary Journal*, 62 (4): 26-33. doi: 10.1186/2046-0481-62-s4-s26.
- Østerås, O. (2016). *Helsekortordningen, Storfe 2016 - Statistikk-samling*. Tilgjengelig fra: https://www.animalia.no/contentassets/e386d3f234f94a84ae763b0ddcc050e3/arsrapport_helsekortordningen_-2016.pdf (lest 12.02.21).
- Øye, I. (2019). *Parenteral*. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/parenteral>.
- Øye I. & Børs, O. (2019). *Legemiddelinteraksjon*. Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/legemiddelinteraksjon> (lest 23.01.21).



Norges miljø- og biovitenskapelig universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway