

Luis Del Baglivi *

Mirta Bonilla **

Manrique Laborde **

M. A. P. C. I. Vet. "Miguel C. Rubino"
Pando - Uruguay

RESUMEN

Se describe la prevalencia de la enfermedad, los diferentes agentes etiológicos y se estima la disminución de la producción láctea.

Los 43 rodeos estudiados se clasificaron en tres grupos de acuerdo a sus condiciones de manejo. Se realizó el análisis bacteriológico y determinación del contenido celular en la leche individual de cada cuarto de los animales muestreados en base al CMT. Se buscó la presencia de residuos de antibióticos en leche y se realizaron pruebas de sensibilidad a cepas aisladas de cuartos con mastitis subclínica.

La prevalencia de mastitis subclínica fue significativamente diferente para cada grupo de tambo ($P < 0.001$). Los niveles encontrados para el grupo A fueron 40.65 %, para el B 65.72 % y 50.92 % en el grupo C. Se destaca por primera vez en el Uruguay la importancia del *Str. agalactiae* como agente productor de mastitis y la alta prevalencia de los *Staphylococcus hemolyticus* en rodeos de ordeño mecánico. Los valores porcentuales de disminución de producción láctea fueron: grupo A (16.45 %), grupo B (17.41 %) y grupo C (17.4 %).

Se discute la significación de los diferentes niveles de prevalencia así como la presencia de residuos de antibióticos y la sensibilidad de las cepas aisladas. Se concluye sobre la necesidad de realizar futuras investigaciones para determinar la difusión y magnitud del problema.

INTRODUCCION

Las mastitis subclínicas⁽¹¹⁾ son causa de: disminución de la producción láctea⁽¹⁾, alteración de la composición química

de la leche⁽⁹⁻²²⁾, problemas de industria⁽²³⁾, salud pública⁽¹⁷⁾ y de eliminación de animales enfermos⁽³⁾. Provocan graves pérdidas económicas, aún en aquellos países que aplican sistemas de control⁽⁴⁻⁵⁻⁹⁻¹⁰⁻²⁶⁾.

Hasta el comienzo de la presente investigación, la única información disponible en el Uruguay se debe al trabajo realizado por Rossi Lema et al.⁽¹⁸⁾.

* Jefe del Departamento de Bacteriología del Centro de Investigaciones Veterinarias "Miguel C. Rubino". Pando, Uruguay.

** Técnico adjunto y Técnico asistente del mismo Instituto.

C. I. Vet. (Rubino) MAP. Casilla de Correo 177, Montevideo-Uruguay.

El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de la enfermedad, los diferentes agentes etiológicos y estimar la disminución de la producción láctea en base al contenido celular por mililitro de leche.

MATERIALES Y METODOS

3.1 Terminología usada

Se consideró que existía mastitis subclínica, en las vacas que presentaban uno o más cuartos con reacción de dos cruces (++) o más al CMT y aislamiento bacteriano. Como se trabajó con los primeros chorros de leche de cada cuarto, una reacción de una cruz (+) al CMT se consideró dudosa (7).

Cuando se aisló *Streptococcus agalactiae* de uno o más cuartos, aún en ausencia de reacción al CMT, se consideró que existía mastitis subclínica debido a la posible existencia de infección con reacción inflamatoria baja y al restringido habitat de este microorganismo en comparación con otras bacterias productoras de mastitis (11). Para dar practicidad al trabajo se consideró que existía mastitis clínica cuando ésta era detectable a la inspección.

3.2 Rodeos

Se estudiaron 43 rodeos lecheros de la zona sur del país, situándose el más lejano a 180 km. de la ciudad de Montevideo. Estos estaban formados por animales raza Holando y seguían normas de parición escalonada a través del año.

En la zona sur del Uruguay existen varios tipos de tambos diferenciables de acuerdo a normas de higiene, manejo y prácticas de ordeño utilizadas.

Los rodeos estudiados se dividieron en tres grupos de acuerdo a características bien definidas (cuadro 1). Se supuso que el producir leche con o sin un programa de producción de leche higiénica (16) y el tipo de ordeño realizado podían influir en la forma de presentarse la enfermedad. La selección se hizo de acuerdo a una muestra de conveniencia, basada en la elección de rodeos de fácil acceso y ante la solicitud de médicos veterinarios que pretendían conocer la situación de establecimientos de su radio de acción.

Se tomó al azar un máximo de muestras de 30 animales por rodeo.

El estudio se realizó mediante una única visita a cada rodeo, durante el período de abril 1972 - abril 1973.

C U A D R O 1

Características de cada uno de los grupos de tambos estudiados.

Grupo de tambo	Tipo de ordeño	Leche calificada	Número de establecimientos muestreados	Vacas en producción		Vacas examinadas	
				Nº	Promedio	Nº	%
A	Manual	No	10	191	19.1	182	95.25
B	Manual	Sí	10	591	59.1	283	47.88
C	Mecánico	Sí	23	1091	47.4	652	59.76

3.3 Toma de muestras

Previo a la toma de muestras individuales de leche de cada cuarto y procediendo antes del ordeño, se lavó la ubre con agua fría, se realizó el strip-cup, se desinfectó con solución de hipoclorito de sodio (500 p.p.m.), se secó con toallas individuales y se desinfectaron los pezones con alcohol a 70°.

La leche se recogió en tubos estériles con tapa de rosca, a razón de 15 ml. por cuarto, siguiendo la metodología recomendada por Plommet (14). Se mantuvo refrigerada entre 4-6 grados centígrados y se procesó dentro de las 18-24 horas siguientes a su extracción.

No se muestrearon animales que padecían mastitis clínicas.

3.4 Análisis bacteriológicos

Aproximadamente 0.01 ml. de leche de cada cuarto se sembró en media placa de agar sangre esculina con cruz de toxina estafilocócica beta (5 % de sangre bovina desfibrinada, previamente probada para conocer su reacción frente a *Staphylococcus* productores de toxina alfa, beta y alfa-beta; y 0.1 % de concentración final de esculina).

La toxina estafilocócica beta fue producida y estandarizada de acuerdo al método usado en Dinamarca. Las placas sembradas se incubaron aeróbicamente a 37°C, se examinaron entre las 18-24 horas y cuando no hubo crecimiento se reexaminaron a las 48 horas.

Las colonias de bacterias que se obtuvieron se seleccionaron en base a su morfología y de acuerdo al esquema siguiente:

Str. agalactiae: CAMP positivo, esculina negativo, hemólisis positiva o negativa.

Str. hemolyticus: CAMP negativo, esculina negativo, hemólisis beta.

Str. uberis: CAMP positivo o negativo, esculina positivo, hemólisis negativa.

Str. dysgalactiae: CAMP negativo, esculina negativo, hemólisis negativa o alfa.

Streptococcus que atacan la esculina: CAMP negativo, esculina positivo, hemólisis negativa.

Los *Staphylococcus* se clasificaron en base a la producción de toxina en alfa, beta y alfa-beta. Cualquier otro germen de aparición esporádica, sólo se identificó por la morfología de la colonia y tinción de Gram.

3.5 Determinación del contenido celular

Se realizó el test de Schalm y Noorlander⁽²⁰⁾ a las leches provenientes de cada cuarto, interpretándose las reacciones de acuerdo a dichos autores. El

reactivo usado se preparó de acuerdo a las recomendaciones de la Danish Dairy Federation.

Debido a la imposibilidad práctica de tomar una muestra de leche mezcla en cada uno de los establecimientos estudiados y con el propósito de estimar el contenido celular en la leche mezcla del rodeo, se aplicó la fórmula de Schnieder⁽¹³⁻²¹⁾ a cada animal muestreado.

El resultado de la suma de cada uno de los datos individuales obtenidos luego de la aplicación de la mencionada fórmula, dividido por el número de vacas estudiadas, da una cifra que se puede considerar estimativa del contenido celular de la leche mezcla producida en cada uno de los rodeos estudiados.

Los resultados individuales de los rodeos se utilizaron para estimar el promedio de células por ml. de leche mezcla para cada grupo de tambo.

3.6 Estimación de la disminución de la producción láctea

De acuerdo a los datos experimentales aportados por Forster⁽³⁾ y en base al grado de reacción al CMT, se calculó el porcentaje de merma en la producción láctea para cada animal muestreado. Con los resultados obtenidos se estimó el valor promedio de disminución de producción láctea por animal, para cada grupo de tambo.

3.7 Determinación de residuos de antibióticos

Cuando se obtuvieron leches provenientes de animales con historia de tratamiento en los siete días anteriores a la toma de las muestras y/o cuando leche de varios animales presentaron reacción de dos o más cruces al CMT y cultivos negativos, se realizó la búsqueda de residuos de antibióticos de acuerdo a la técnica de Read⁽¹⁵⁾ usando la cepa ATCC 9341 de *Sarcina Lútea*.

3.8 Prueba de sensibilidad a los antibióticos

Para el estudio de la sensibilidad se

utilizó el método de los discos impregnados, sobre cepas de **Staphylococcus** y **Streptococcus** aisladas de cuartos con mastitis subclínica.

Dichos gérmenes, se hicieron crecer en Brain Hearth Infusion (DIFCO B 37) por 18-24 horas a 37°C. Aproximadamente 0.1 ml. de cada cultivo de **Staphylococcus** se depositó en una placa de agar Mueller-Hinton (DIFCO B 0757) y se extendió con espátula de Drigalsky. Para los **Streptococcus** en lugar de agar Mueller-Hinton se usó agar sangre bovina al 5 %. Los antibióticos y las concentra-

ciones usadas en cada uno de los discos fue la siguiente: Penicilina (10 u. i.), Estreptomina (10 mcgr). Cloramfenicol (30 mcgr), Tetraciclina (30 mcgr), Eritromicina (15 mcgr.) y Sulfonamida (300 mcgr.). Sólo se usó sulfonamida sobre el medio de agar Mueller-Hinton.

RESULTADOS

4.1 Prevalencia de mastitis subclínica

El cuadro 2 muestra la prevalencia de mastitis subclínica en los tres grupos de rodeos estudiados.

C U A D R O 2

Prevalencia de mastitis subclínica en cada grupo de tambo.

Grupo de tambo	Número de vacas muestreadas	Número de vacas con mastitis subclínica	Porcentajes de vacas con mastitis subclínica
A	182	74	40.65
B	283	186	65.72
C	652	332	50.92

Las diferencias entre cualquiera de los grupos altamente significativo: $\chi^2 = 28.84$ ($P < 0.001$ para 2 G. L.). También es significativa la diferencia

entre cualquier comparación binaria entre los tres grupos.

La distribución de vacas enfermas para cada grupo de rodeos se indica en el cuadro 3.

C U A D R O 3

Distribución porcentual de vacas enfermas en cada grupo de tambos

Grupo de tambo	Número de rodeos muestreados	Número de rodeos con		
		0-33 % vacas enfermas	34-67 % vacas enfermas	68-100 % vacas enfermas
A	10	2	8	0
B	10	0	6	4
C	23	5	15	3

4.2 Análisis bacteriológicos

El número y porcentaje de rodeos infectados con **Str. agalactiae** y **Staph. he-**

moliticus para cada grupo de tambos se indica en el cuadro 4.

C U A D R O 4

Rodeos infectados por **Str. agalactiae** y **Staph. hemolyticus**

Grupo de tambo	Número de rodeos muestreados	Rodeos con Str. agalactiae		Rodeos con Staph. hemolyticus	
		Nº	%	Nº	%
A	10	8	80	8	80
B	10	10	100	8	80
C	23	19	82.6	21	91.3

El único rodeo del que no se aisló ninguno de estos gérmenes correspondió al grupo A, con un nivel de prevalencia de mastitis subclínica de 5.55 % en 21 vacas en ordeño.

El número y porcentaje de vacas infectadas con **Str. agalactiae**, **Staph. he-**

molyticus y gérmenes varios para cada grupo de tambos, están expresados en el cuadro 5. Dentro del grupo denominado varios se encontró: **Str. dysgalactiae**, **Str. hemolyticus**, **Streptococcus** que atacan la esculina, así como **Staphylococcus** no productores de toxina, **Corynebacterium** spp. y otros.

C U A D R O 5

Nivel de infección de diferentes gérmenes en cada grupo de tambos.

Bacterias aisladas	Grupo de tambo					
	A Vacas, enfermas		B Vacas, enfermas		C Vacas, enfermas	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Streptococcus agalactiae	34	45.94	143	76.88	123	37.04
Staphylococcus hemolyticus	27	36.48	24	12.90	123	37.04
Varios	13	17.56	19	10.21	86	25.90

En la comparación intergrupo de los resultados obtenidos sobre el aislamiento de los **Staph. hemolyticus**, versus otros gérmenes, se encontró una muy alta prevalencia de infección a los primeros en el grupo C de rodeos con un valor de $X^2 = 35.5$ ($P < 0.001$) 2 G.L.

Efectuando el mismo tipo de comparación entre **Str. agalactiae** versus otros gérmenes, se encontró una mayor prevalencia de los primeros en el grupo B de

rodeos con un valor de $X^2 = 76.41$ ($P < 0.001$) 2 G.L.

De 530 cepas de **Str. agalactiae** aisladas se encontró que sólo el 39 % presentaron hemólisis.

De 531 cepas de **Staph. hemolyticus** aisladas, el 36.36 % presentaron toxina alfa; 47.61 % beta y 16.01 % alfa-beta.

El contenido celular, por grupo de tambos se indica en el cuadro 6.

C U A D R O 6

Recuento celular promedio por ml. de leche mezcla en cada grupo de tambo y porcentaje de disminución de producción

Grupo de tambo	Recuento celular por ml. x 10 ⁶	Porcentaje de disminución de producción
A	1.584 ± 0.643	16.45
B	2.100 ± 0.518	17.41
C	1.954 ± 0.747	17.4

4.3 Estimación de la disminución de la producción láctea

Los resultados obtenidos se expresan en el cuadro 6.

4.4 Resultados de residuos de antibióticos en leche

Los resultados se indican en el cuadro 7.

C U A D R O 7

Presencia de residuos de antibióticos

Grupo de tambos	Muestras analizadas en búsqueda de residuos		Muestras positivas a residuos de antibióticos	
	Nº	%	Nº	%
A + B	34	7.31	2	5.88
C	71	10.88	13	18.30

4.5 Resultados de los antibiogramas

Los resultados de las pruebas de sensibilidad se indican en el cuadro 8.

C U A D R O 8

Sensibilidad de las cepas aisladas

Cepas aisladas	Staph. hemolyticus	Str. agalactiae	Otros Streptococcus
Número de cepas estudiadas	134	79	38
Penicilina	% sensibles 52.72	% sensibles 100	% sensibles 100
Estreptomicina	90.49	48.72	64.45
Cloramfenicol	90.90	98.65	97.36
Tetraciclina	93.65	98.69	91.40
Polimixina	59.64	33.70	40.55
Eritromicina	97.58	97.19	98.06
Sulfonamida	5.11	—	—

DISCUSION

Debido a que el diagnóstico de mastitis subclínica se realizó en un muestreo único y considerando que existe la posibilidad de colonización bacteriana transitoria, sin reacción inflamatoria⁽²⁾, se cree que la terminología usada fue correcta.

Es llamativo el hecho de que exista un nivel de prevalencia significativamente diferente para cada grupo de tambos, encontrándose el nivel más bajo en el grupo A (cuadro 2). El único motivo aparente que podría asociarse con la baja prevalencia encontrada en este grupo es el reducido número de vacas de ordeño por rodeo, lo que permite una mejor atención de los animales (cuadro 1), hecho también observado por Brookbanks en N. Zelandia⁽¹⁾.

Rossi Lema et al.⁽¹⁸⁾ también encuentran un alto nivel de prevalencia indicando que el 68.5 % de leches provenientes de cuartos individuales revelaron la presencia de mastitis subclínica.

Se destaca el hecho, de que la alta prevalencia de mastitis subclínicas debidas al **Str. agalactiae** en el grupo B tiene alta significación estadística. Esta información coincide con los datos aportados por la bibliografía que indican la mayor importancia de este germen en los rodeos donde se realiza ordeño manual⁽²⁵⁾.

La mayor prevalencia de **Staph. hemolyticus** en el grupo C, confirma los hallazgos de que a medida que se mecaniza el ordeño, estos gérmenes aumentan la importancia como agentes productores de mastitis⁽²⁵⁾.

Rossi Lema et al. y col.⁽¹⁸⁾ destacan la mayor prevalencia de los **Staphylococcus** sin mencionar la presencia de **Str. agalactiae**, lo que puede deberse a que ambas muestras no son comparables y/o a la diferente metodología usada.

Si bien denominamos **Str. agalactiae** a las colonias CAMP positivas, esculina negativas, se debe tener presente que

tales reacciones pueden presentarlas otros estreptococos que no pertenecen al grupo B. de Lancefield⁽⁶⁾.

Se consideró útil y práctico el uso del carácter hemolítico para la diferenciación de los **Staphylococcus**. Much-Petersen, usando la prueba rápida de la coagulasa con plasma humano, encontró que el 90.8 % de 262 cepas de estafilococos hemolíticos dieron reacción de coagulasa positiva, comparado con el 34.9 % de 103 cepas no hemolíticas. El mismo autor demuestra que la producción de toxinas hemolíticas y coagulasa no son caracteres independientes, pero ello no se puede aplicar a las cepas no hemolíticas⁽¹²⁾.

Rossi Lema et al.⁽¹⁸⁾ estimaron una pérdida que oscilaba entre 79 y 177 millones de litros de leche por año en nuestro país solamente por concepto de disminución de producción láctea. Se cree conveniente realizar nuevos estudios sobre la difusión y magnitud del problema, como paso previo a la estimación de pérdidas económicas.

El hallazgo de 15 muestras conteniendo residuos de antibióticos (en 150 analizados) demuestra la existencia de la enfermedad en su faz clínica, y constituye un desafío a la salud pública y a la industria, pues la leche que contenía antibióticos fue remitida a las plantas receptoras. El mayor porcentaje de leches con antibióticos en el grupo C (cuadro 8) puede interpretarse como resultado del mayor número de mastitis clínicas en dichos rodeos y/o al uso más difundido de los antibióticos por productores supuestamente más avanzados desde el punto de vista tecnológico.

A pesar de que en el Uruguay no existe reglamentación sobre venta y aplicación de antibióticos para uso veterinario, el problema de la resistencia de los microorganismos no mostró ser tan grave como en otros países⁽⁸⁻¹⁹⁻²⁴⁾.

Sería necesario realizar futuras investigaciones para determinar si los resultados obtenidos en el presente estudio

se hacen extensivos a la población de animales lecheros del Uruguay.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio, muestran la existencia de alta prevalencia de mastitis subclínicas en los tres grupos de rodeos estudiados (cuadro 2).

Por primera vez en el Uruguay se señala la importancia que tiene el **Streptococcus agalactiae** como agente productor de mastitis (cuadros 4 y 5). El contenido celular en cada grupo de tambos estudiados resultó ser elevado (cuadro 6). A través de los porcentajes de disminución de la producción obtenidos se puede afirmar que las mastitis subclínicas causan importantes pérdidas económicas

(cuadro 6). Los resultados muestran que el programa de leche higiénica, si bien muy útil para otros fines, no influyó ni estimuló al veterinario y/o productor para aplicar medidas que salvaguarden la salud de las ubres (cuadros 2 y 3).

Se destaca la importancia de trabajar con cruz de toxina estafilocócica beta, para detectar el mayor número posible de colonias de **Streptococcus agalactiae**.

Se cree necesario utilizar técnicas de detección de antibióticos en leche en las Usinas de recepción dado el alto porcentaje de muestras positivas encontradas.

De repetirse los resultados de sensibilidad microbiana a los antibióticos, sería recomendable el uso de combinaciones de penicilina-streptomina para el control de las mastitis subclínicas.

SUMMARY

The prevalence of mastitis and the different etiological agents are described, and the loss of milk production is estimated.

The 43 herds studied were classified in three groups according to their management conditions. The bacteriological analysis was carried out and the tested animals had their cellular contents determined. This was done by taking samples of milk from each individual quarter using the CMT. The presence of antibiotic residues in milk was searched for, and sensibility tests on isolated strains from quarters with subclinical mastitis were carried out.

The prevalence of subclinical mastitis was significantly different for each group of dairy herds ($P < 0.001$). The levels found were 40.65 % for group A, 65.72 % for group B and 50.92 % for group C. For the first time in Uruguay, the importance of **Str. agalactiae** was recognized as a producing agent for mastitis together with the high prevalence of haemolytic **Staphylococcus** in mechanical dairy herds. The decrease of milk production was estimated as: 16.45 % for group A, 17.41 % for group B and 17.4 % for group C.

The significance of the different levels of prevalence as well as the presence of antibiotic residues and the sensibility of isolated strains were discussed. It is concluded that there is a need to perform future research work to determine the extent and magnitude of the problem.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración de los Dres. Venus González Panizza (Facultad de Medicina de Montevideo) y Antonio Obiaga (D. I. L. F. A.

de Pando), quienes efectuaron el análisis estadístico de los resultados y a los ayudantes técnicos Sr. Paulino Martínez y Srta. Sylvia Chiappe funcionarios del C. I. Vet. "Miguel C. Rubino".

REFERENCIAS

- 1) BROOKBANKS, E. O. Bovine Mastitis in relation to intensive farming. *Aust. Vet. J.*, 47: 226-232, 1971.
- 2) FORBES, D. The pathogenesis of bovine mastitis. *Vet. Bull.* 39: 529-541, 1969.
- 3) FORSTER, T. L. ASHWORTH, U. S. & SUE-DECKE, L. O. Relationship between California Mastitis Test reaction and production and composition of milk from opposite quarters. *J. Dairy Sci.* 50: 675-682, 1967.
- 4) FUNKE, H. Mastitis control in Sweden. *Bull Off. int. Epiz.*, 79: 1097-1102, 1973.
- 5) GIESECKE, W. H. & VAN DER HEEVER, L. W. Losses caused by mastitis to industrial and fresh milk producers in the Republic of South Africa. *J. S. Afr. Vet. Med. Ass.*, 42: 73-79, 1971.
- 6) GODDARD, R. Some comments on the CAMP test. *Medium. The Tech. J. of the Vet. Lab.* 3: 82-86, 1970.
- 7) GRAY, D. M. & SCHALM, O. W. Interpretation of the California Mastitis Test results on milk from milk individual mammary quarters, bucket milk and bulk herd milk. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 136: 195-198, 1960.
- 8) HOARE, R. J. T. & BARTON, M. D. Investigations in mastitis problem herds. I. Bacteriological examination. *Aust. Vet. J.*, 48: 657-667, 1972.
- 9) JANSEN, J. J. Economic losses resulting from mastitis. A review. *J. of Dairy Sci.*, 53: 1151-1161, 1970.
- 10) KLASTRUP, O. Principles, methods and results of the Danish anti-mastitis campaign. *Bull. off. int. Epiz.*, 79: 1023-1032, 1973.
- 11) Mastitis sub-committee of the Technical Development committee. England. Controlling bovine mastitis. *Vet. Rec.*, 77: 612-622, 1965.
- 12) MUNCH-PETERSEN, E. & GARDINER, M. R. Staphylococci in secretions from the bovine udder in Western Australia. *Aust. Vet. J.*, 41: 5-15, 1965.
- 13) PEARSON, J. K. L.; GREER, D. O. & SPENCE, B. K. The relationship between bulk milk cell counts and cow and quarter mastitis incidence. *Vet. Rec.* 88: 488-494, 1971.
- 14) PLOMMET, M. Diagnóstico bacteriológico de las infecciones de la mama de la vaca. In *Patología de la producción láctea*. León, España, Academia, 9-58, 1968.
- 15) READ, R. B. et al. Detection of sulfa drugs and antibiotics in milk. *Appl. Microbiol.* 21: 806-808, 1971.
- 16) REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY. Registro Nacional de Leyes y Decretos, Montevideo 1964, 588-591, 1963.
- 17) ROSANOVE, R. Contamination of milk with Penicillin. *Minnesota Medicine*, 43: 306-399, 1960.
- 18) ROSSI LEMA, L. & GIL TURNES, C. Mastitis subclínicas. Comportamiento de los distintos métodos diagnósticos, estimación de su incidencia económica en la República Oriental del Uruguay. *Anales de la Facultad de Veterinaria del Uruguay*. 12: 11-21, 1970.
- 19) SANDERSON, C. J. The treatment of mastitis with intramammary infusions. *Aust. Vet. J.*, 42: 47-53, 1966.
- 20) SCHALM, O. W. & NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of CMT. *J. of Am. Vet. Med. Ass.* 130: 199-204, 1957.
- 21) SCHNEIDER, E.; JASPER, D. E. & EIDE, R. N. The relationship between bulk tank microscopic cell count and the individual cow California Mastitis Test Reactions. *Am. J. Vet. Res.* 27: 1169-1175, 1966.
- 22) TALLAMY, P. T. & RANDOLPH, H. E. Influence of mastitis on properties of milk. V. Total and free concentrations of major minerals in skim milk. *J. of Dairy Sci.* 53: 1386-1388, 1970.
- 23) WELCH, H. JESTER, W. R. & BURTON, J. M. Antibiotics in fluid milk. *Antibiotics and Chemotherapy*, 5: 571-573, 1955.
- 24) WILSON, C. D. Symposium on Staphylococcal mastitis. III. The treatment of staphylococcal mastitis. *Vet. Rec.* 73: 1019-1033, 1961.
- 25) The microbiology of bovine mastitis in Great Britain. *Bull. Off. int. Epiz.*, 60: XXX'e session générale, 1-19, 1963.
- 26) The mastitis awareness scheme in the United Kingdom. *Bull. off. int. Epiz.* 79: 1077-1087, 1973.

