

EFEITO DO AGENTE ETIOLÓGICO DA MASTITE SUBCLÍNICA SOBRE A PRODUÇÃO DE LEITE¹

JEROME LANGENEGGER², MARIA DA CONCEIÇÃO ESTELLITA VIANI³ E MELQUISEDEC GONÇALVES BAHIA³

ABSTRACT. — Langenegger J., Viani M.C.E. & Bahia M. G. 1981. [Effect of the etiological agent of subclinical mastitis on the production of milk.] Efeito do agente etiológico da mastite subclínica sobre a produção de leite. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 1(2):47-52. EMBRAPA — Patologia Animal, Km 47, Seropédica, Rio de Janeiro 23460, Brazil.

Fifty-five cows were selected from three dairy farms with a high incidence of subclinical mastitis. The California Mastitis Test (CMT) performed on the milk of these animals had revealed 70 pairs of quarters, only one of which reacted positively. During a three-day period, milk from the individual quarters was weighed, recorded and the mean calculated. A comparison of the milk production from these individual quarters revealed that those with subclinical mastitis produced 25.4% less milk than the opposite normal quarters. Laboratory tests confirmed the presence of bacterial infections in samples of milk from 41 of the affected quarters. In 15 quarters infected with *Streptococcus sp.*, production of milk was reduced 42.9%. In 26 quarters infected with *Staphylococcus sp.*, the reduction was 27.4%. In contrast, 30 normal pairs of quarters showed a productivity difference of only 1.1%.

INDEX TERMS: Subclinical bovine mastitis, streptococcal mastitis, staphylococcal mastitis, economic loss.

SINOPSE.— Em três rebanhos com alta incidência de mastites subclínicas, foram escolhidas, ao acaso, 55 vacas que, pelo Teste de Mastite da Califórnia (CMT), revelaram 70 pares de quartos, anteriores e posteriores, dos quais um quarto reagia positivamente em vários graus de intensidade enquanto no oposto a reação era negativa. O exame bacteriológico confirmou a existência da infecção por *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis* nas amostras de leite dos quartos afetados.

Durante três dias consecutivos, as vacas foram ordenhadas, manualmente, em baldes com quatro subdivisões móveis, pesando-se o leite de cada quarto e calculando-se a média diária por quarto. O efeito da mastite foi avaliado comparando-se a produção de leite dos quartos normais com a dos quartos opostos portadores da mastite subclínica causada pelos agentes etiológicos acima citados.

A comparação da produção de leite dos 70 pares de quartos opostos revelou que os quartos com mastite subclínica diagnosticada pelo CMT produziram 25,4% menos leite do que nos quartos normais.

A comparação da produção de leite de 41 pares de quartos opostos, cuja reação positiva ao CMT foi complementada pelo exame bacteriológico, revelou que a redução da produção de leite em quartos com mastite subclínica variou de acordo com o agente etiológico. Em 15 quartos infectados por *Streptococcus* (*S. agalactiae* 8 pares, *S. dysgalactiae* 6 pares e *S. uberis* 1 par), a redução foi de 42,9%. Em 26 quartos infectados por *Staphylococcus* (*S. aureus* 11 pares e *S. epidermidis* 15 pares)

a redução da produção de leite foi de 27,4% em relação aos quartos opostos normais.

A comparação de 15 pares de quartos anteriores e 15 posteriores normais, revelou apenas diferenças médias de 0,5% e 1,7%, respectivamente, entre os quartos de cada par.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Mastite bovina subclínica, mastite estreptocócica, mastite estafilocócica, perda econômica.

INTRODUÇÃO

A mastite subclínica reduz progressivamente a produção de leite e altera a composição química deste, bem como, diminui a vida reprodutiva da vaca. Antes da década de 1950-60, os cálculos das perdas econômicas baseavam-se principalmente sobre a perda imediata do leite causada pela mastite clínica. Nas décadas subseqüentes ficou evidenciado que as mastites subclínicas, isto é, infecções do úbere sem alterações visíveis tanto do órgão quanto do leite, causavam prejuízos econômicos maiores, levando-se em conta a frequência destas mastites nos rebanhos e a longa persistência inaparente de infecções, mormente por estreptococos e estafilococos, na glândula mamária. A contínua ação irritante destes germes sobre a mucosa, durante uma ou várias lactações, provoca progressiva atrofia do epitélio secretor e assim redução da produção de leite.

Wilson (1961), na Inglaterra, já estimava que as perdas da produção de leite causadas por infecções subclínicas por *Staphylococcus aureus* eram cerca de três vezes os prejuízos causados pela mastite clínica.

A redução quantitativa e qualitativa do leite provocada pela mastite subclínica no quarto infectado, na vaca ou no rebanho, varia muito, dependendo do somatório de fatores ligados à natureza do(s) agente(s) etiológico(s), da resposta imunitária do animal, da evolução e duração da infecção e da propagação da mastite no rebanho. Estas condições ainda são influenciadas pelos cuidados higiênicos e medidas sanitárias adotados.

As pesquisas visando demonstrar a incidência da mastite

¹ Aceito para publicação em 12 de novembro de 1980.

² Unidade de Pesquisa de Patologia Animal, EMBRAPA, 23460 Seropédica, Rio de Janeiro.

³ Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

subclínica nos rebanhos, elucidar a etiopatogenia, aperfeiçoar o diagnóstico e obter meios práticos de controle multiplicaram-se em todas as partes do mundo, motivadas pelo reflexo econômico na exploração pecuária de leite.

A descoberta do Teste de Mastite da Califórnia (CMT), por Schalm e Noorlander (1957), permitiu, além do diagnóstico rápido da mastite subclínica ao pé da vaca, estabelecer certa correlação entre a intensidade do processo inflamatório da glândula mamária, ou seja, a quantidade de leucócitos, e a redução da produção de leite. Jansen (1970) resumiu resultados já publicados sobre as perdas econômicas causadas pela mastite. Como estes foram obtidos em condições experimentais diferentes e expressos sob várias modalidades, é difícil estabelecer índices comparativos de perdas, mas torna-se evidente que a produção de leite cai com o aumento de leucócitos no leite.

No presente trabalho procurou-se avaliar a redução da produção de leite, correlacionando-a aos diversos agentes etiológicos da mastite subclínica.

MATERIAL E MÉTODOS

Rebanhos utilizados

O trabalho foi realizado em três rebanhos, cronicamente infectados e com alta prevalência de mastites subclínicas causadas por estreptococos e estafilococos. Foram selecionadas 55 vacas que apresentaram 70 pares de quartos de interesse para a presente investigação.

O sistema de manutenção dos rebanhos é semi-intensivo, com duas ordenhas manuais diárias, sem a presença do bezerro, em estábulos com manejo e cuidados higiênicos precários.

As vacas em sua maioria eram mestiças, resultado do cruzamento de raças européias e zebuínas, com produção média de 6.720 g/dia, mas com grande variação de animal para animal.

Escolha dos quartos opostos

Foi utilizado o Teste de Mastite da Califórnia (CMT) para a triagem dos quartos com mastite e escolhidos os pares de quartos nos quais um apresentasse reação negativa (- ou ±) e o outro reação positiva em um dos três graus de intensidade (+, ++ e +++). Foram comparados também pares de quartos infectados com intensidades + e +++. Não foram encontrados pares infectados com intensidades ++ e +++, para comparar a produção.

Preparo do reagente do CMT

O reagente para a prova do CMT foi preparado com o detergente comercial ODD, segundo Fernandes e Louzada (1967), modificado por Langenegger et al. (1970). Como o detergente comercial ODD, em sua nova apresentação, está mais concentrado, foi necessário alterar a fórmula para:

Detergente comercial ODD	300 ml
Água destilada	600 ml
Púrpura bromo-cresol, solução 0,5%	15 ml
Verde bromo-cresol, solução 0,5%	5 ml

O pH foi ajustado para 8,0 antes de adicionar os indicadores. O reagente de coloração azul-escuro contrasta bem com o leite.

Procedimento do CMT

O úbere era lavado com água limpa e enxugado com toalha. Estimulada a descida do leite, eram ordenhados os primeiros 2 a 3 ml de leite em cada copo da bandeja plástica com o cuidado de não formar espuma. Em seguida inclinava-se a bandeja até um ângulo de aproximadamente 45° para entornar o excesso de leite e deixar quantidade igual em cada copo. Adicionava-se então o reagente em cada copo, sem formar espuma, mais ou menos na mesma quantidade da do leite. Em seguida imprimiam-se movimentos circulares à mistura e dentro de 15 a 20 segundos fazia-se a leitura.

Leitura e interpretação do CMT

Os resultados foram interpretados conforme mostra o Quadro 1.

Quadro 1. Leitura e interpretação do California Mastitis Test (CMT)

Caracterização	Leucócitos/ml	Resultados
Mistura homogênea, inalterada, geralmente de coloração azul-clara	até 250.000	Reação negativa (-)
Presença de estrias e leve viscosidade que tendem a se desfazer	250.000-500.000	Reação suspeita (±)
Ligeiro precipitado viscoso	500.000-1.000.000	Reação fraca positiva (+)
Distinta viscosidade com nítida formação de gel	1.000.000-5.000.000	Reação positiva (++)
Densa massa gelatinosa que se acumula no centro do copo, geralmente azul-violácea	> 5.000.000	Reação forte positiva (+++)

Exame bacteriológico do leite

A coleta do leite era precedida por limpeza da pele das tetas e da abertura do canal galactóforo com álcool a 70%. Os primeiros dois ou três jatos eram desprezados e, em seguida, coletados cerca de 10 ml de leite em tubos de ensaio esterilizados, contendo 0,5 ml de solução a 1:300 de púrpura bromo-cresol para o teste de Hotis e Miller (1936).

No laboratório, o leite era incubado durante 15 a 18 horas a 37°C, fazendo-se então a leitura e interpretação do teste de Hotis. Em seguida, o mesmo leite era plaqueado em ágar sangue e incubado por 24 horas. As colônias suspeitas eram isoladas para a identificação bacteriológica e reincubadas por mais 24 horas a 37°C.

A identificação dos *Streptococcus* baseou-se nos seguintes caracteres e provas: hemólise, teste de CAMP, hidrólise da esculina e do hipurato de sódio e fermentação da trealose, do sorbitol, do manitol, da salicina, do inositol e da lactose. Não foi feita a grupagem sorológica.

A identificação dos *Staphylococcus* obedeceu aos seguintes critérios: pigmentação das colônias, hemólise, teste da coagula-

se, e as provas preconizadas por Baird-Parker (1965) e por Holmberg (1973) para a grupagem dos *S. epidermidis*.

Ordenha e pesagem do leite dos quartos opostos

As vacas portadoras de mastite subclínica em um dos quartos opostos, foram ordenhadas duas vezes por dia, durante três dias consecutivos, manualmente, em baldes com quatro subdivisões móveis de igual peso e o leite de cada quarto foi pesado individualmente no estábulo em balança portátil sensível para unidade de 10 gramas. Com o registro da produção das seis ordenhas foi calculada a produção média diária por quarto. A comparação da produção de leite dos 70 pares de quartos, bem como entre os infectados pelos vários agentes etiológicos, foi obtida por simples média aritmética e transformação em percentagem.

RESULTADOS

A comparação da produção de leite de 70 pares de quartos opostos em que o Teste de Mastite da Califórnia (CMT) acusou em um dos quartos reação negativa (–) ou suspeita (±) e no outro reações positivas nos três graus de intensidade (+, ++ ou +++), ou ainda entre reações fracamente positivas (+) e fortemente positivas (+++), permitiu demonstrar que os quartos infectados, ou os mais intensamente afetados, produziram em média 25,4% menos leite do que os quartos opostos, conforme pormenoriza o Quadro 2.

Quadro 2. Redução da produção de leite de quartos opostos baseado no resultado do CMT

Reações comparadas	Nº de pares de quartos	Produção média (g)		Diferença (g)	%
		Negativos	Positivos		
–/± +++	38	1857,2	1270,3	586,9	31,6
–/± ++	11	1438,3	1151,4	286,9	19,9
– +	5	1260,2	1157,8	102,4	8,1
+ +++	16	1558,6	1314,0	244,6	15,6
Soma	70				
Média geral		1680,5	1253,5	427,0	25,4

Em 41 pares de quartos o exame bacteriológico permitiu o isolamento e identificação do agente da mastite subclínica dos quartos positivos no CMT. A comparação da produção de leite dos quartos opostos revelou os resultados que se seguem.

Mastites por *Streptococcus* spp.

A produção de leite em 15 quartos infectados por *Streptococcus* spp. comparada com a produção dos quartos normais opostos acusou a redução, em média, de 42,9%. O Quadro 3 mostra a produção média dos pares de quartos, individualmente, juntamente com o resultado do CMT e do exame bacteriológico.

Quadro 3. Redução de produção de leite em quartos infectados por *Streptococcus* spp.

Nº de ordem	Nome da vaca	Infecção	CMT				Produção média dos quartos opostos (g)	Diferença (g)	%	
			PD	PE	AE	AD				
1	Arapongas	<i>S. agalactiae</i>			–	++	870	483	387	44,4
2	Araxá	"	+++	–			1053	1973	920	46,6
3	Araxá	<i>S. dysgalactiae</i>			–	+++	2690	293	2397	89,1
4	Doméstica	<i>S. agalactiae</i>	+++	–			636	1423	787	55,2
5	Eclosão	"	+++	–			563	1297	734	56,5
6	Hellen	<i>S. dysgalactiae</i>	+++	–			3760	4300	540	12,5
7	Oakland	"	–	+++			2970	2080	890	29,9
8	Onda	"			+++	(+)	990	1180	190	16,1
9	Princesa	"	+++	(+) ^a			3250	3780	530	14,0
10	Represa	<i>S. agalactiae</i>			+++	(+)	530	830	300	37,6
11	Ribeira	<i>S. uberis</i>	–	++			2840	2197	643	22,6
12	Sinhá	<i>S. agalactiae</i>			+++	–	210	1620	1410	87,0
13	Veneza	"	–	+++			2286	783	1503	65,7
14	Veneza	<i>S. dysgalactiae</i>			+++	(+)	223	1316	1093	83,0
15	Vidreira	<i>S. agalactiae</i>	+++	–			1143	2506	1363	54,3
Soma							18.194 ^b	13.687	4.507	24,8
							31.881 ^c			

^a (+) = bacteriologicamente negativa.

^b Soma das parcelas grifadas (quartos infectados).

^c Soma das parcelas não grifadas (quartos não infectados).

Calculando-se separadamente, por espécie de estreptococos, a redução da produção de leite foi a seguinte: *Streptococcus agalactiae*, 57,7%, *Streptococcus dysgalactiae*, 32,9% e *Streptococcus uberis*, 22,6%.

Mastites por *Staphylococcus* spp.

Em 26 pares de quartos, dos quais um dos quartos infectado por *Staphylococcus* (*S. aureus* 11 pares e *S. epidermidis* 15 pares), a redução média da produção de leite foi de 27,4% em relação aos quartos opostos normais.

Em 11 pares de quartos opostos foi avaliada a redução da produção de leite causada pela infecção subclínica por *Staphylococcus aureus*, verificando-se que a perda média foi de 30,9%. O Quadro 4 apresenta a produção média diária por quarto de cada animal e o resultado do CMT. O exame bacteriológico do leite dos seis quartos que acusaram reações positivas fracas no CMT, não revelou a presença de infecção bacteriana.

A comparação da produção de leite de quartos opostos, com infecções subclínicas por *Staphylococcus epidermidis* de 15 vacas revelou redução média de 22,5% da produção. O Quadro 5 mostra os dados individuais de cada animal.

Controle da produção de leite em pares de quartos normais

Foi comparada a produção de leite de 30 pares de quartos de 15 vacas que no CMT e no exame bacteriológico apresentaram resultados negativos. O Quadro 6 mostra a produção média por quarto/dia dos quartos anteriores e a diferença constatada entre os quartos opostos foi de 1,1%.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Sabendo-se que a grande maioria das mastites subclínicas é causada por microrganismos e partindo-se do princípio de que

estes têm mecanismos de agressão diferentes, bem como divergem na capacidade de lesar e provocar resposta da glândula mamária, procurou-se comprovar o efeito dos estreptococos e estafilococos sobre a produção de leite.

Na presente pesquisa foi comprovado que as infecções por *Streptococcus* spp. causaram, em média, 42,9% de perda da produção de leite, ao passo que as infecções por *Staphylococcus* spp. (*S. aureus* e *S. epidermidis*) provocaram redução média de 27,4% em relação aos quartos opostos normais. Este resultado global, além de mostrar aspecto de interesse econômico, envolve também curiosa faceta relacionada com o controle da mastite por estes dois grupos de germes. Os estreptococos causam grande redução da produção de leite mas seu controle é relativamente fácil, ao passo que os estafilococos provocam menor redução da produção de leite mas apresentam maior dificuldade para o seu controle.

Particularizando, verificou-se ainda, embora o número de casos examinados seja pequeno, que as infecções do úbere por *Streptococcus agalactiae* causaram maior redução, ou seja, 57,7%, seguido do *S. dysgalactiae* 32,9% e *S. uberis* 22,6%. Por sua vez, *Staphylococcus aureus* provocou perda de 30,9% e *S. epidermidis* 22,5%. Isto mostra nitidamente que há grande variação da redução da produção de leite influenciada pela ação patogênica de cada agente etiológico da mastite.

Na literatura há poucas referências relacionando a redução da quantidade e qualidade de leite com os agentes causadores ou comparando, entre si, os efeitos provocados pelas diferentes espécies. Crossman et al. (1950) apresentaram alguns exemplos de mastites subclínicas causadas por *Streptococcus* e *Staphylococcus* mostrando queda de produção de leite nos quartos afetados, sem estabelecer comparação.

Platridge (1958) constatou que as vacas com mastite causada por *Streptococcus agalactiae* produziram 10–14,8% menos leite do que os animais não portadores desta infecção. No caso,

Quadro 4. Redução de produção de leite em quartos infectados por *Staphylococcus aureus*

Nº de ordem	Nome da vaca	CMT				Produção média dos quartos opostos (g)	Diferença (g)	%	
		PD	PE	AE	AD				
1	Aliança	+++	(+) ^a			813	1396	583	41,7
2	América	+++	(+)			1386	1486	163	10,9
3	Andorinha			(+)	+++	1940	1833	107	5,5
4	Antilhas	+++	—			1607	2597	990	38,2
5	Areia			+++	—	1490	1773	283	15,9
6	Caratinga			(+)	+++	1070	923	147	13,7
7	Dinamarca			—	+++	950	926	24	2,4
8	Dinastia	—	+++			1060	806	254	23,9
9	Navy			—	+++	1830	1640	190	10,3
10	Suécia			+++	(+)	1077	3010	1233	64,2
11	Valquíria	+++	(+)			997	2343	1346	57,4
Soma						13.435 ^b		6020	\bar{X} 30,9
						19.405 ^c			

^a (+) = bacteriologicamente negativos.

^b Soma das parcelas grifadas (quartos infectados).

^c Soma das parcelas não grifadas (quartos não infectados).

Quadro 5. Redução de produção de leite em quartos infectados por *Staphylococcus epidermidis*

Nº de ordem	Nome da vaca	CMT				Produção média dos quartos opostos (g)	Diferença (g)	%	
		PD	PE	AE	AD				
1	América			-	+++	1193	960	233	19,5
2	Angola	+++	(+) ^a			1807	1914	107	5,5
3	Argentina	+++	-			880	1406	926	37,4
4	Balada	(+)	+++			1530	713	817	53,3
5	Desdita			-	+++	1260	730	530	42,0
6	Dinastia			-	+++	1136	936	200	23,9
7	Dragano			(+)	+++	1800	1570	230	12,7
8	Erva	-	+++			1060	750	310	29,2
9	Laluna	+++	-			1870	2380	500	21,4
10	Lilly			+++	-	1490	2140	650	30,3
11	Mary	+++	-			4910	5300	390	7,3
12	Serraria	+++	-			820	1593	773	48,5
13	Tiroleza			(+)	+++	1473	1310	163	11,0
14	Verba			-	+++	1154	1036	117	10,1
15	Vitória Régia			(+)	+++	1396	1303	93	6,6
Soma						21.085 ^b		6.039	X̄ 22,5
						26.734 ^c			

^a (+) = bacteriologicamente negativos.

^b Soma das parcelas grifadas (quartos infectados).

^c Soma das parcelas não grifadas (quartos não infectados).

Quadro 6. Produção de leite por quartos de vacas sem mastite

Nº de ordem	Nome da vaca	Produção diária de leite (g)			
		PD	PE	AE	AD
1	Anelada	2900	2656	2072	2150
2	Belle	1730	1680	1400	1557
3	Diacui	686	813	506	626
4	Enseada	660	651	880	910
5	Esperança	2650	2496	1970	2046
6	Eugênia	1073	1183	1063	1300
7	Fadista	2160	2060	1843	1776
8	Faixa	2103	2070	2116	1876
9	Fartura	920	1030	900	1023
10	Gilete	1620	1660	900	980
11	Ilusão	780	1070	700	750
12	Justina	2500	2550	2480	2150
13	Sana	3650	3330	2570	2350
14	Sheila	2429	2226	2926	2836
15	Viuvinha	3153	3099	2629	2753
Soma		29.014	28.514	24.955	25.083

Dif. 500 g = 1,7% Dif. 128 g = 0,5%

Diferença média 628 = 1,1%

o autor compara a produção de dois grupos de animais, sem considerar o número de quartos infectados ou a cronicidade da infecção no rebanho, fatores que influem ponderavelmente no percentual de redução da produção de leite. Rowland et al. (1959) compararam o efeito da infecção por *Staphylococcus aureus* em 92 quartos sobre a produção de leite em relação aos quartos opostos e verificaram uma redução de 15,3% nos quartos infectados. Resultados semelhantes foram obtidos por

Ruffo e Galli (1966) e Jones e Shannon (1972), ou seja, reduções de 17,2% e 10% respectivamente. Estes resultados, confrontados com os descritos no presente trabalho, permitem deduzir que, além de haver possivelmente variação da patogenicidade de amostras de *Staphylococcus aureus*, certamente a cronicidade da infecção nos nossos rebanhos acentuou a queda da produção para o índice de 30,9%. King (1969) demonstrou que mastites agudas causadas por *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae* e *S. uberis*, após o tratamento deixaram como seqüela, durante a mesma lactação, uma redução significativa ($P > 0,001$), ao passo que nas mastites causadas por estafilococos hemolíticos a redução foi menor ($P > 0,01$). Não avaliou a possível redução entre as diferentes espécies do mesmo gênero.

No presente trabalho procuramos estabelecer a correlação entre os vários graus de intensidade da reação ao Teste de Mastite da Califórnia (CMT) e a queda da produção de leite. Sabendo-se que a leitura do CMT está sujeita a influências de interpretação do operador, o resultado, conseqüente e freqüentemente, não corresponde às cifras das contagens de leucócitos realizadas por Gray e Schalm (1962) e Reichmuth et al. (1970). Independentemente disso, a correlação entre a intensidade da reação do CMT pode variar em função da cronicidade da infecção no úbere. Assim pode-se verificar, em n exemplos nos Quadros 2, 3 e 4, variação aparentemente discordante entre a intensidade da reação ao CMT e a redução de leite do quarto oposto.

No decurso da investigação foram vistos vários casos aparentemente paradoxais em que a produção dos quartos infectados era maior do que nos quartos sadios. Isto pode decorrer de mastite anterior tratada durante a mesma lactação ou de alteração mais grave, não infecciosa, havida em lactações anteriores.

REFERÊNCIAS

- Baird-Parker A.C. 1965. Staphylococci and their classification. Ann. N.Y. Acad. Sci. 128:4-25.
- Crossman J.V., Dodd F.H., Lee J.M. & Neave F.K. 1950. The effect of bacterial infection on the milk yield of the individual quarters of the cow's udder. J. Dairy Res. 17:128-159.
- Fernandes J.C.F. & Louzada C.A.R. 1967. Viamão mastite test (Nota prévia). Anais 7ª Reun. Anual Soc. Vet., Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Gray D.M. & Schalm O.W. 1962. Interpretation of California Mastitis Test on milk from individual mammary quarters, bucket milk and bulk herd milk. J. Am. Vet. Med. Ass. 136:193.
- Holmberg O. 1973. *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk. Biochemical properties, phage sensitivity and pathogenicity for the udder. Acta Vet. Scand., Suppl., 45:1-144.
- Hotis R.P. & Miller W.T. 1936. A single method for detecting mastitis streptococci in milk. U.S. Dept. Agric., Circ. 400.
- Jansen J.J. 1970. Economic losses resulting from mastitis. A review. J. Dairy Sci. 53(9):1151-1161.
- Jones M.A.S. & Shannon A.D. 1972. Effect of staphylococcal contamination of the bovine udder on milk yield. N.Z. Vet. J. 20(7):113-114.
- King J.O.L. 1969. The effect of different bacterial infections causing mastitis on the yield and quality of cow's milk. Brit. Vet. J. 125: 57-62.
- Langenegger J., Coelho N.M., Langenegger C.H. & Castro, R.P. 1970. Estudo da incidência de mastite bovina na bacia leiteira do Rio de Janeiro. Pesq. Agropec. Bras. 5:437-440.
- Plastridge W.N. 1958. Bovine mastitis. A review. J. Dairy Sci. 41:1141.
- Reichmuth J., Zeidler H., Tolle A. & Heeschen W. 1970. Zum Einfluss subklinischer Mastitiden auf die Milchleistung des Rindes. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 83:26.
- Rowland S.J., Neave F.K. Dodd F.H. & Oliver J. 1959. The effect of *Staphylococcus pyogenes* infections on milk secretion. Proc. 15th Int. Dairy Congr. 1:121.
- Ruffo G. & Galli A. 1966. Ricerche sui danni provocati dalla mastite stafilococcica. Atti Soc. Ital. Sci. Vet. 20:824-827.
- Schalm O.W. & Noorlander D.O. 1957. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. J. Am. Vet. Med. Ass. 130:199-204.
- Wilson C.D. 1961. Subclinical staphylococcal infection causes greatest milk losses in Britain. Vet. Rec. 73:1019.