

PREVALENCIA DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA BOVINA EN VENEZUELA Y EVALUACIÓN DE LA PRUEBA DE MASTITIS DE CALIFORNIA (CMT) COMO PRUEBA DIAGNÓSTICA

Prevalence of Subclinical Bovine Mastitis in Venezuela and Evaluation of California Mastitis Test (CMT)

Luciano Ferraro¹, Aura Scaramelli² y Héctor Troya¹

¹Departamento de Sanidad Animal. ²Departamento de Salud Pública

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, Apartado Apartado 4563. Maracay, estado Aragua, Venezuela

RESUMEN

Se aplicó la prueba Californiana de Mastitis (CMT) a 24.599 cuartos de ubre, pertenecientes a 6.405 vacas de 60 fincas lecheras, distribuidas en trece estados de Venezuela y se realizó cultivo bacteriológico a un total de 2.982 muestras de leche proveniente de igual número de cuartos, a fin de estimar la prevalencia de infección, tipo de patógenos y evaluar la efectividad del CMT como prueba de campo. El CMT resultó negativo en 8.502 (34,56%), Trazas en 2.993 (12,16%), Positivo 1+ en 5.681 (23,09%), 2+ en 4.071 (16,55%) grado 2+, y 3+ en 3.352 (13,63%) cuartos. La prevalencia general de mastitis subclínica estimada por el CMT (resultados positivos 2+ y 3+) fue de 30,18%. El cultivo bacteriológico resultó positivo en 1.052 (36,41%) de las 2.889 muestras que arrojaron resultados interpretables, siendo el *S. agalactiae* el patógeno más frecuente, seguido por *S. aureus* y otros Estafilococos coagulasa positiva (ECP), aislados a partir del 37,7% y 28,4% de los cuartos infectados, respectivamente. Los valores de Sensibilidad, Especificidad y Efectividad del CMT para el resultado 2+ fueron 0,56; 0,76 y 0,69. Indicando que la prueba permite la correcta identificación del 69% de los cuartos. La correlación entre los resultados del CMT y el porcentaje de cuartos infectados fue buena y estadísticamente significativa ($r = 0,9928$; $P < 0,01$). La desinfección de pezones post-ordeño (DPPO) y el tratamiento de vaca seca (TVS) se aplica en 20% y 27% de las fincas y las condiciones higiénicas del ordeño son precarias, lo que explica el alto porcentaje de cuartos afectados y la alta prevalencia de patógenos contagiosos.

Palabras clave: Mastitis, mastitis subclínica bovina, CMT, relación CMT-bacteriología, efectividad del CMT.

ABSTRACT

The California Mastitis Test (CMT) was applied to 24.599 udder of 6.405 cows from 60-milk farmer, in 13 States of Venezuela and bacteriological culture was taken from 2.982 milk samples, to determine the prevalence of infection, type of pathogen and to study the efficiency of CMT as a field test. The CMT was negative in 8.502 samples (34,56%), traces in 2.993 (12,17%), 1+ in 5.681 (23,09%), 2+ in 4.071 (16,55%) and 3+ in 3.352 (13,63%). The general prevalence of subclinical mastitis estimated by CMT was 30.18%. Bacteriological culture was positive in 1.052 (36,41%) of the 2.889 samples with interpretable results, the most common pathogen being *S. agalactiae* followed by *S. aureus* and other Coagulase Positive *Staphylococci* (ECP), isolated from 37,74% and 28,42% of the infected samples, respectively. The values of Sensibility, Specificity and Efficacy of the CMT for the 2+ result were 0,56; 0,76 y 0,69 respectively, and the test enable the correct identification of 69% of the quarters. The correlation between the results of the CMT and the percentage of positive quarters was good and statistically significant ($r = 0,9928$; $P < 0,01$). Post milk teat dipping (DPPO) and Dry-Cow Therapy (TVS) is applied in 20% and 27% of the farmer respectively, and the hygienic conditions of the milking are precarious, which explains the high percentage of affected quarters and the high prevalence of contagious pathogens.

Key words: Mastitis, subclinical mastitis, CMT, relationship CMT-bacteriology, CMT efficiency.

INTRODUCCIÓN

La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria, causada en la mayoría de los casos por acción microbiana; su

prevalencia de la mastitis varía ampliamente entre fincas y de un momento a otro en una misma finca [41, 53]; los microorganismos causantes varían y reflejan los factores predisponentes involucrados [16], pero se ha señalado a los patógenos contagiosos, particularmente *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*, como causantes del 80% al 90% de los casos [48, 62].

Está considerada como la más costosa enfermedad en las explotaciones lecheras del mundo, atribuyéndose la mayor parte de las pérdidas a la forma subclínica [16, 17, 29, 31], por ser mucho más frecuente que la clínica [48] y por ser la causa más importante de las alteraciones que comprometen la calidad de la leche [54, 55]. En Venezuela, en 1981 (precio de la leche Bs. 1,50/l y valor de la moneda Bs 4,70/\$), Alonso [4] estimó una pérdida total anual de Bs. 387.147.560,00 (\$ 82.371.821,28) atribuyendo el 41,14% de la misma a la reducción en producción debida a la forma subclínica. Una estimación semejante, sobre la base económica actual, arrojaría cifras aterradoras.

La forma clínica provoca evidentes anomalías de la ubre o la secreción, pero la subclínica induce cambios que sólo se detectan a través de pruebas especiales. Se han desarrollado numerosos métodos para detectar la presencia de animales o cuartos subclínicamente afectados [6, 30]. El método de referencia es el Recuento de Células Somáticas en leche (RCS) [34], pero otros permiten estimar el contenido de células somáticas mediante el uso de sustancias que reaccionan con el ADN de las células, provocando gelificación en grado variable, pero proporcional al contenido de ADN; entre estos, la prueba de Mastitis de California (CMT) [59, 60], ha sido muy usada debido a su simplicidad, rapidez, economía, aplicabilidad en campo y efectividad [8, 30], y la única aplicada en Venezuela [2, 3, 4, 35, 58].

Los estudios realizados en Venezuela revelan una alta prevalencia de infección subclínica y señalan al *S. aureus* como el agente causal más frecuente [2, 3, 4, 5, 35, 56, 58].

En Venezuela, los estudios previos han involucrado un pequeño número de fincas ubicadas en determinados estados del país y aunque se ha utilizado el CMT, no se ha intentado su evaluación mediante la medida de los atributos fundamentales de las pruebas diagnósticas: sensibilidad, especificidad y eficiencia, en vista de su posible variación entre poblaciones [38]. Por lo antes expuesto, los objetivos fundamentales de la presente investigación fueron: a) Estimar la prevalencia de mastitis subclínica, prevalencia de infección y patógenos involucrados y b) Estudiar la especificidad, sensibilidad y efectividad del CMT para discriminar entre cuartos infectados y no infectados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fincas y animales

Se incluyeron 6.405 vacas pertenecientes a 60 fincas de 13 estados venezolanos. En cada finca se recolectó informa-

ción sobre: propietario, ubicación geográfica y política, número de animales, características agrostológicas, características raciales, tipo de ordeño, medidas higiénicas aplicadas durante el ordeño y se exhortó a introducir medidas de control de mastitis y mejoramiento de la calidad de la leche.

Prueba de CMT

Durante el ordeño vespertino, se procedió a realizar la prueba de CMT a todas las vacas en producción, en cada una de las 60 fincas; la prueba, lectura y registro se realizó de acuerdo a las especificaciones originales de Schalm y Noorlander [60].

Muestras para estudio bacteriológico

Se seleccionó al azar un 12% de los animales en ordeño en cada finca [65], para la obtención de muestras destinadas a cultivo bacteriológico. Se recolectaron muestras de leche de cuartos individuales, luego de realizado el CMT, siguiendo las recomendaciones de la International Dairy Federation (I.D.F.) [34]. Las muestras fueron transportadas en cavas con hielo hasta el laboratorio para su procesamiento dentro de las 24 horas siguientes a su recolección. En total se estudiaron 2.982 muestras de leche de cuartos, de un total de 769 animales.

Estudio bacteriológico

Antes de la siembra, las muestras se dejaron a temperatura ambiente hasta que alcanzaran los 18-20°C; se tomaron alícuotas de 25 µl de cada muestra de leche, usando asa de platino calibrada y se sembraron por agotamiento en agar sangre (AS) preparadas con agar base sangre y 5% de sangre bovina, agar manitol-sal (AMS) y medio de Edward modificado. Las placas de AS y medio de Edward fueron incubadas en atmósfera de 5-8% de CO₂. Todas las placas se incubaron a 35-37°C por 24-48 horas [13, 34]. Los resultados obtenidos sobre AS, se interpretaron y registraron de acuerdo a los siguientes criterios: a) Cultivo negativo: Desarrollo de menos de 5 colonias del mismo o diferente tipo; b) Cultivo positivo: Desarrollo de 5 o más colonias del mismo tipo o de por lo menos 8 colonias de dos tipos distintos como máximo; c) Muestra contaminada: Desarrollo de más de dos tipos distintos de colonias; estas muestras fueron desechadas y excluidas de los análisis ulteriores.

La identificación de los aislados se realizó siguiendo esquemas y métodos previamente descritos [13, 34].

Análisis estadístico

Para probar independencia entre dos o más criterios de clasificación se construyeron tablas de contingencia y se aplicó la prueba de Ji-cuadrado [64].

Para el cálculo de la Sensibilidad, Especificidad y Efectividad del CMT [20, 38, 54] se incluyeron sólo los datos de los cuartos estudiados por CMT y cultivo, considerando como in-

fectados los cuartos que permitieron aislamiento de algún patógeno [mayor o menor), y como positivos al CMT, aquellos en los que el grado de gelificación fue igual o superior a 1+ y 2+, respectivamente; los cuartos clasificados como contaminados no fueron incluidos. Con los datos, se construyeron tablas de dos entradas y se aplicaron las fórmulas en la forma indicada a continuación:

Resultado del CMT	Cultivo Bacteriológico		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo: > al umbral	(A) Verdadero Positivos	(B) Falsos Positivos	A+B
Negativo: < al umbral	(C) Falsos Negativos	(D) Verdadero Negativos	C+D
Total	A+C	B+D	A+B+C+D

Sensibilidad = $A/A+C \times 100$. Especificidad = $D/B+D \times 100$.
Efectividad = $A+D / A+B+C+D$.

Los resultados del CMT Negativo, Trazas, 1+, 2+ y 3+, fueron transformados a una escala del 1 al 5 respectivamente, para correlacionarlos con los porcentajes de cuartos infectados correspondientes a cada uno; se usó análisis de regresión lineal simple considerando los resultados del CMT como variable independiente y el porcentaje de cuartos infectados como variable dependiente [22]. Para los análisis correspondientes a animales, a cada vaca se le asignó un valor de reacción al CMT igual al del cuarto con el más alto grado de reacción [52].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Condiciones de las fincas

El número de animales en las diferentes fincas varió ampliamente desde 5 a 800. El ordeño se realizaba en forma manual en 15 (25%) de las fincas y mecánicamente en 45 (75%). El uso del becerro como apoyo se observó en 15 (25%) fincas (11 con ordeño manual y 4 con ordeño mecánico). En sólo 12 (20%) fincas se usaba la desinfección de pezones post-ordeño (DPPO) para prevenir infecciones. El lavado de animales o ubres, usando sólo agua, se observó en el 99% de las fincas y en la mayoría de ellas no se secaban los pezones. En 45 (75%) fincas se aplicaba el tratamiento selectivo de vaca seca (TVS) como método de control de mastitis.

Resultados del CMT

La inspección de la totalidad de los animales en cada finca permitió establecer un 3% de animales con mastitis clínica (no incluidos en este estudio). En los 6.405 animales (25.620 cuartos) sin mastitis clínica, se detectó un total de 1.021 (3,99%) cuartos improductivos, lo que equivale a unas 255 vacas menos, en lo que a producción de leche se refiere. En la TABLA I se presentan los resultados de la prueba de CMT aplicada a los 24.599 cuartos restantes.

Del total de cuartos, 7.423 cuartos (30,18%) resultaron positivos 2+ y 3+ al CMT. Estos resultados difieren de los obtenidos por Alonso [3], quien, sobre un total de 6.975 cuartos, reporta 17,8% con reacciones 2+ y 3+ al CMT, pero son semejantes a los de Jiménez [35] y a los reportados por diferentes autores [14, 28, 66].

El porcentaje de cuartos con reacciones positivas (grado 2+ y 3+) al CMT fue ligeramente superior en los cuartos posteriores que en los anteriores (30,71% vs 30,45%) y la diferencia resultó estadísticamente insignificante. Batra [7] ha reportado una mayor frecuencia de reacciones positivas al CMT en los cuartos anteriores, pero otros autores [8, 42] encuentran mayor incidencia de mastitis en los cuartos posteriores y este hecho se ha señalado como una de las características de la mastitis [10]. Igualmente, en los cuartos derechos el porcentaje de reacciones positivas al CMT fue mayor que en los izquierdos (30,49% vs 29,85%) pero la diferencia encontrada resultó no significativa. Batra [7, 8] ha reportado también una mayor frecuencia de reacciones positivas en los cuartos derechos.

La importancia de la DPPO y de las prácticas de ordeño higiénico para prevenir las infecciones causadas por patógenos contagiosos, ha sido señalada por muchos autores [11, 19, 43, 44, 45, 46, 49, 50, 51] y dado que en la mayoría (80%) de las fincas incluidas en este estudio no se aplicaba la desinfección de pezones post-ordeño (DPPO), se exploró la relación entre la aplicación de la DPPO y los resultados del CMT; en la TABLA II se resumen los resultados.

Como puede observarse, el porcentaje de cuartos positivos al CMT fue superior en los no sujetos a la DPPO que en los sometidos a esta medida (30,75% vs 28,19%) y las diferencias en la distribución resultaron estadísticamente significativas ($\chi^2_c = 13,33 > \chi^2_t = 6,64; \alpha = 0,01; 1 \text{ gl}$), lo que debe estar relacionado con la disminución en la transmisión de patógenos contagiosos (*S. agalactiae*, *S. aureus*) lograda a través de la aplicación de la DPPO, como ha sido ampliamente señalado [19, 32].

TABLA I
RESULTADOS DEL CMT PARA LA TOTALIDAD DE LOS CUARTOS

Cuartos	Resultados del CMT				
	Negativo	Trazas	1+	2+	3+
Número	8.502	2.993	5.681	4.071	3.352
Porcentaje	34,6	12,2	23,1	16,6	13,6

TABLA II
DISTRIBUCIÓN NUMÉRICA Y (PORCENTUAL) DE LOS CUARTOS DE ACUERDO AL RESULTADO DEL CMT Y AL USO O NO DE LA DESINFECCIÓN DE PEZONES POST-ORDEÑO (DPPO)

Resultados del CMT	NO DPPO: N° y (%) de cuartos	DPPO: N° y (%) de cuartos
Negativo (Negativo, Trazas y 1+)	13.205 (69,25%)	3.971 (71,81%)
Positivo (2+ y 3+)	5.864 (30,75%)	1.559 (28,19%)
Total	19.069	5.530

TABLA III
DISTRIBUCIÓN NUMÉRICA Y (PORCENTUAL) DE LOS CUARTOS POSITIVOS AL CULTIVO, DE ACUERDO A LOS HALLAZGOS BACTERIOLÓGICOS

Hallazgos Bacteriológicos													
Cuartos	<i>S. aureus</i> y otros ECP (1) *	<i>Micrococcus</i> y ECN (2) **	<i>S. agalactiae</i> *	<i>S. uberis</i> *	<i>S. dysgalactiae</i> *	Otros <i>Streptococcus</i> *	<i>A. pyogenes</i> *	<i>C. bovis</i> **	Gram negativos *	Mezclas Pat. mayores	Mezclas Pat. Menores	Otras mezclas	Total positivos
Número	299	137	397	48	19	39	2	59	8	15	2	27	1.052
%	28,4	13,0	37,7	4,6	1,8	3,7	0,2	5,6	0,8	1,4	0,2	2,6	100

(*) = Patógenos mayores. (**) = Patógenos menores. ECP= Estafilococos coagulasa positivo. ECN= Estafilococos coagulasa negativo.

En cuanto a la modalidad de ordeño, del total de cuartos estudiados, 2504 (10,18%) estaban sujetos a ordeño manual y 22.095 (89,82%) a ordeño mecánico; la proporción de cuartos con reacciones 2+ y 3+ al CMT fue superior en los primeros (34,82% vs 29,64%) y las diferencias en la distribución resultaron estadísticamente significativas ($P < 0,01$). Esto puede ser consecuencia de ordeño manual incorrecto, ausencia de medidas de control de mastitis en la totalidad de estas fincas, pobres condiciones higiénicas generales, alto número de animales viejos y, muy probablemente, crónicamente infectados.

De las 6.405 vacas estudiadas, a sólo 1.122 (17,52%) animales se les asignó el valor 1 en el CMT, al resultar todos sus cuartos negativos al CMT, mientras que a 3.196 (49,89%) animales se les asignó valores 4 y 5, por presentar al menos uno de los cuartos con reacciones 2+ ó 3+, lo que equivaldría a decir que, sobre la base de vacas, la prevalencia de mastitis subclínica es muy cercana al 50%.

Por último, la media de la totalidad de los resultados del CMT, previamente transformados como se indicó, resultó ser 2,76 con una desviación estándar de 0,697; el promedio del CMT varió ampliamente entre fincas con valor mínimo de 1,48 y máximo de 4,42.

Resultados del estudio bacteriológico

Del total de muestras cultivadas, 93 (3,12%) resultaron contaminadas, lo que puede considerarse aceptable y coincide

con lo reportado por otros investigadores [4, 12, 35, 63]. De las 2.889 muestras restantes, 1837 (63,59%) fueron negativas al cultivo y 1052 (36,41%) positivas, de las cuales 1.008 (95,81%) resultaron mono infectadas y 44 (1,52%) permitieron el aislamiento de dos agentes. Los hallazgos bacteriológicos se presentan en la TABLA III donde se observa que el agente bacteriano más frecuente fue *S. agalactiae*, aislado a partir de 397 (37,7%) de los cuartos bacteriológicamente positivos, seguido por *S. aureus* y otros estafilococos coagulasa positivo (ECP) encontrados en 299 (28,4%) de los cuartos positivos al cultivo.

En Venezuela, Alonso y col. [5], encontraron que de 135 muestras de leche compuesta (cuatro cuartos de ubre) el 63,9% resultaron positivas al cultivo, siendo el *S. aureus* y los estreptococos hemolíticos los agentes más frecuentes en las explotaciones lecheras del Edo. Zulia. En otro estudio se reporta un 60,6% de cuartos bacteriológicamente positivos y a miembros del género *Staphylococcus* como los agentes más comunes [2]. En estudio sobre 680 cuartos de ubre de vacas en la zona alta del Edo. Mérida, se encontró 32,9% de positividad al cultivo y se aisló *S. aureus* a partir del 48,6% de los cuartos positivos [35]. En Brasil se ha incriminado al *S. aureus* como el más importante agente de mastitis [42]; en cambio, otros autores latinoamericanos [1, 36] han señalado al *S. agalactiae* como el agente más prevalente en explotaciones lecheras con condiciones generales semejantes a las de las fincas incluidas en el presente estudio. Jiménez [35] encuentra un porcentaje mucho

mayor (12,5%) de cuartos positivos a *E. coli* y otros agentes Gram negativos ambientales, al encontrado en el presente trabajo, lo que puede deberse a las características especiales de la ganadería de altura, tipificada por un sistema intensivo de pastoreo rotativo, en potreros reducidos, con alta humedad durante todo el año, lo que brinda condiciones ideales para los patógenos ambientales [21, 33, 63]. Ríos y Piuizzi [56] un 45,68% de cultivos positivos sobre 116 muestras de cuartos individuales, con un 18,87% de *S. aureus*, 11,3% de *Pseudomonas aeruginosa* y 5,6% de *Proteus mirabilis*. Estos resultados, particularmente en lo que se refiere a los dos últimos agentes, podrían corresponder a una situación muy particular del pie de monte de Barinas y difieren sustancialmente de los hallazgos de este y los otros estudios realizados en Venezuela.

En el presente estudio, se incluyó un total de 769 vacas; de ellas 690 presentaron resultados interpretables, es decir ninguno de los cuartos fue declarado improductivo, contaminado o dejó de estudiarse. En estas condiciones, 429 vacas presentaron infección en uno o más cuartos, lo que equivale a 62,2% de los animales, cifra semejante a la encontrada por Alonso y col. [5]. El porcentaje de cuartos positivos al cultivo fue mayor en los cuartos posteriores que en los anteriores (37,0% vs 35,8%) y ligeramente mayor en los derechos que en los izquierdos (36,5% vs 36,4%), pero las diferencias, evaluadas por Ji-cuadrado, resultaron estadísticamente insignificantes. Se ha sugerido que la mayor frecuencia de infección mastítica en los cuartos posteriores se deba a mal funcionamiento de las máquinas de ordeño y efecto de la mayor presión en estos cuartos, por ser los de mayor producción láctea [27]. Sin embargo, algunos autores reportan mayor frecuencia de mastitis en los cuartos anteriores [26]. La mayor frecuencia de infección en los cuartos derechos ha sido previamente reportada [7, 8, 26, 40], pero las razones de este hecho permanecen oscuras.

En las fincas en las que no se aplica la DPPO para la prevención de nuevas infecciones, se encontró un mayor porcentaje de cuartos positivos al cultivo (40,72 vs 25,84) y las diferencias en la distribución resultaron estadísticamente significativas ($\chi^2 c = 56,84 > \chi^2 t = 6,64; \alpha = 0,01; 1 \text{ gl}$). En la TABLA IV se resumen los resultados.

Adicionalmente, en 15,00% y 21,67% de las fincas incluidas en el estudio, no fue posible detectar *S. aureus* y *S. agalactiae*, respectivamente, y en sólo 8,33% de las mismas no se detectó ninguno de estos dos agentes. La TABLA V resume los resultados correspondientes a la detección de esos patógenos contagiosos, en función a la aplicación o no de DPPO.

Como se observa, en la mayoría de las fincas en las que no se detectó uno u otro de los patógenos contagiosos, o ambos, se practicaba rutinariamente la DPPO. Dado que las muestras se recolectaron de un 12% de los animales en producción, no puede afirmarse que tales fincas estuvieran libres de estos agentes, pero los resultados sugieren una menor prevalencia de infección debida a estos microorganismos, confirmando de manera indirecta que este tipo de medida puede ser efectiva, fundamentalmente para el control de *S. agalactiae* [22, 32, 49, 50].

Con relación a la influencia del tipo de ordeño sobre la frecuencia de infección subclínica se encontró que, de los 474 cuartos ordeñados manualmente, 150 (31,7%) resultaron positivos al cultivo, mientras que de los 2.415 ordeñados a máquina, 902 (37,3%) fueron positivos al cultivo, de manera que la frecuencia de infección subclínica en los cuartos sujetos a ordeño mecánico fue superior a la de los cuartos ordeñados manualmente y la diferencia resultó estadísticamente significativa ($P < 0,05$); una posible explicación la constituye el hecho de las máquinas de ordeño se constituyen en fómites y son, ade-

TABLA IV
DISTRIBUCIÓN DE CUARTOS SEGÚN LA APLICACIÓN O NO DE LA DPPO Y LOS RESULTADOS DEL CULTIVO BACTERIOLÓGICO

DPPO	Número y (%) de Cuartos según resultados del Cultivo		
	Positivos	Negativos	Total
No	836 (40,7)	1.217 (59,3)	2.053 (71,1)
Sí	216 (25,8)	620 (74,2)	836 (29,9)
Total	1.052 (36,4)	1.837 (63,6)	2.889

TABLA V
DISTRIBUCIÓN NUMÉRICA Y (PORCENTUAL) DE LAS FINCAS DE ACUERDO A LA APLICACIÓN O NO DE LA DPPO Y A LA DETECCIÓN O NO DE LOS PRINCIPALES PATÓGENOS CONTAGIOSOS

DPPO	Número y (%) de fincas en las que no se detectó			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. agalactiae</i>	Ambos	Total
Sí	5 (29,4)	7 (41,2)	5 (29,4)	17 (28,3)
No	4 (9,3)	6 (13,9)	0 (00,0)	43 (71,7)
Total	9 (15,0)	13 (21,7)	5 (8,3)	60 (100)

TABLA VI
DISTRIBUCIÓN DE VACAS (REAL Y ESPERADA), DE ACUERDO AL NÚMERO DE CUARTOS INFECTADOS

Nº de Cuartos Infectados/ vaca	Nº de vacas (Real)	Frecuencia (Real)	Frecuencia Calculada (*)	Nº de vacas (Calculado)
0	261	0,378	0,168	116
1	139	0,201	0,377	260
2	132	0,191	0,319	220
3	77	0,112	0,120	82
4	81	0,117	0,017	12
Total	690			690

*Calculada aplicando fórmula de distribución binomial, $P = Cn^k \times p^k \times q^{n-k}$. $P = 0,36$; es decir, la prevalencia total de infección encontrada en el presente estudio. $K = 0, 1, 2, 3, 4$. $q = 1 - 0,36 = 0,64$.

TABLA VII
RELACIÓN ENTRE RESULTADOS DEL CMT Y ESTUDIO BACTERIOLÓGICO

Hallazgos bacteriológicos	Número y (%) de cuartos para cada resultado del CMT					Total
	Negativo	Trazas	1+	2+	3+	
Negativo	740 (84,5)	228 (72,2)	430 (64,6)	270 (50,0)	169 (34,3)	1.837
Positivo Patóg. menores	51 (5,8)	26 (8,2)	71 (10,7)	38 (7,0)	12 (2,4)	198
Positivo Patóg. mayores	85 (9,7)	62 (19,6)	164 (24,7)	232 (43,0)	311 (63,2)	854
Total de positivos	136 (15,5)	88 (27,8)	235 (35,4)	270 (50,0)	323 (65,6)	1.052
Total cuartos	876 (100)	316 (100)	665 (100)	540 (100)	492 (100)	2.889

más, agentes traumáticos si no se someten a revisiones periódicas que garanticen un funcionamiento adecuado [10, 25].

El 63,3% (487/ 769) de los animales, arrojó cultivos positivos en por lo menos uno de los cuartos, cifra semejante a la reportada por Alonso y col. [5].

Resulta interesante el que la probabilidad de hallazgo de cuatro cuartos infectados resultó mayor a lo teóricamente esperado. En la TABLA VI se presenta la distribución de la totalidad de vacas que arrojaron resultados interpretables en todos los cuartos esto es, ninguno de los cuartos se declaró contaminado, perdido o clínicamente afectado), de acuerdo al número de cuartos infectados.

Así, el número de animales con cuatro cuartos infectados (N=81) fue muy superior al número calculado en función a la prevalencia general de infección en cuartos. Otros autores [52], han reportado hallazgos similares. Para este hecho existe un número de posibles explicaciones: a) Se podría suponer una mayor susceptibilidad individual, de carácter anatómico o funcional como ha sido previamente señalado [44]. b) Dado que los animales con problemas de mastitis son ordeñados en último lugar, puede suponerse un mayor riesgo debido a la agrupación; esta explicación en nuestro caso no es válida, toda vez que en muy pocas fincas se aplica esta medida preventiva. c) Mayor riesgo de contaminación entre cuartos de una misma vaca que entre vacas [18], lo cual es particularmente cierto para los patógenos contagiosos y especialmente en fincas en las que no se aplican medidas de higiene del ordeño,

programas de control de mastitis y revisión y ajuste periódico de los equipos de ordeño. d) Trato discriminatorio para estos animales dada su probable condición de malas productoras. e) Presencia de animales muy viejos (> de 6 lactancias) y por tanto, con mayor probabilidad de infecciones de carácter crónico [8, 9, 10, 12], lo que en nuestras explotaciones es un hecho común. La media del porcentaje de cuartos infectados en cada finca fue de 35,16% con desviación estándar de 19,58, valor mínimo de 0,00% y máximo de 79,50%.

Relación CMT-Bacteriología

La relación entre los resultados del CMT y la condición bacteriológica de los cuartos quedó evidenciada al analizar los resultados presentados en la TABLA VII.

Como puede apreciarse, a medida que se incrementa el valor asignado al resultado de la prueba CMT, aumenta la probabilidad de infección. De los 876 cuartos que resultaron negativos al CMT, 740 resultaron negativos también al cultivo, mientras que el 50,0% y 65,6 % de las muestras positivas 2+ y 3+ al CMT permitieron aislamiento de patógenos, particularmente los denominados "mayores" (*S. aureus*, *S. agalactiae*, miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *A. pyogenes*). Aunque la diversidad de criterios aplicados a la interpretación de los cultivos bacteriológicos hace difícil la comparación, nuestros resultados coinciden con la bien sustentada afirmación de que a medida que aumenta el valor asignado al resultado del CMT, aumenta la probabilidad de obtener cultivos

TABLA VIII

DISTRIBUCIÓN DE CUARTOS INFECTADOS Y NO INFECTADOS PARA EL CRITERIO DE POSITIVIDAD CMT $\geq 2+$

Criterio de clasificación CMT	Número de cuartos para cada clase bacteriológica		
	Infectados	No infectados	Total
Positivo ($\geq 2+$)	(A) 593	(B) 439	1.032
Negativo ($< 2+$)	(C) 459	(D) 1.398	1.857
Total	1.052	1.837	2.889

Especificidad = $1398/1837 \times 100 = 76,10$. Sensibilidad = $593/1052 \times 100 = 56,37$. Efectividad = $593 + 1398/2889 \times 100 = 68,92\%$.

positivos, es decir, de corroborar la presencia de infección [14, 23, 24, 47, 57, 66]. Se demuestra una vez más que el CMT es una prueba útil para evaluar la condición de los rebaños y que por su sencillez, economía y aplicabilidad en condiciones de campo, constituye una valiosa herramienta cuyo uso sistemático permite la identificación precoz de cuartos afectados, a fin de evitar infecciones crónicas, difíciles de erradicar, especialmente las debidas a *S. aureus* [15]. Los resultados del presente trabajo son coincidentes con los reportados por los investigadores antes señalados; resultó evidente que en las infecciones causadas por patógenos mayores el grado de inflamación, detectado por el CMT, es mayor que en el caso de infecciones debidas a patógenos menores como los ECN y *C. bovis*.

Para la evaluación del CMT como prueba para discriminar entre cuartos infectados y no infectados, se calculó la Especificidad, Sensibilidad y Efectividad de la prueba [20, 38, 54], usando los dos valores umbrales más comúnmente usados (1+ y 2+). Usando como valor umbral de positividad el resultado 1+, los valores de sensibilidad y especificidad fueron 0,79 y 0,53 respectivamente, muy semejantes a los reportados por Marschke y Kitchen [37]. Si se utilizara este valor se podría identificar correctamente el 62,16% de los cuartos. Tomando como umbral de positividad el resultado 2+, la sensibilidad y especificidad fueron 0,56 y 0,76 respectivamente y es posible la correcta identificación del 69% de los cuartos y 31 % serían erróneamente clasificados correspondiendo 15,88% a falsos negativos y 15,19% a falsos positivos. Los resultados y base de cálculos se presentan en la TABLA VIII.

Otros investigadores han reportado que para este criterio de positividad es posible la correcta identificación de 69,5% [14], 74,3% [23], 80% [52], 79% [37], y 78% [58] de los cuartos o animales infectados.

Aunque el cultivo bacteriológico no siempre permite el diagnóstico de infección, debido a que la eliminación de microorganismos puede ser baja e intermitente [13, 34], llama la atención el elevado número de animales con reacciones falsamente positivas al CMT lo que permite suponer que, para los animales incluidos en este estudio, existen condiciones que favorecen o inducen aumentos en el número de células inflamatorias en la leche, sin que exista (o pueda demostrarse por cultivo) infección establecida. Entre las condiciones que podrían señalarse como causantes de respuestas inflamatorias en ausencia de infección podemos mencionar: traumas ocasionados

por ordeño inadecuado, mal funcionamiento de los equipos de ordeño [39], gran número de vacas viejas o crónicamente infectadas en las que es común observar un aumento en el número de células somáticas [59, 61], lactancias muy largas, sin periodos de seca o descanso, que conducen a muy bajos niveles de producción y concentración de las células presentes [59, 61], gran número de infecciones transitorias autocontroladas [59] o respuestas inflamatorias de bajo nivel por la frecuente exposición a diferentes microorganismos debido a las pobres condiciones sanitarias del ordeño y de las explotaciones en general.

Pearson y Greer [47] aplican análisis de regresión lineal simple para estudiar la relación entre los resultados del CMT (variable independiente) y el porcentaje de cuartos positivos a cultivo (variable dependiente); estos autores engloban los resultados Trazas y Positivo 1+ e incluyen en el análisis los cuartos clínicamente afectados. En estas condiciones la fórmula de regresión encontrada fue: $Y = 14,24 + 18,22X$ y el coeficiente de correlación fue $r = 0,998$. En nuestro caso, excluyendo los casos clínicos y considerando todos los resultados del CMT y los correspondientes a cultivo bacteriológico se obtuvo la línea de ajuste mostrada en la FIG. 1; la fórmula de regresión fue $Y = 2,15 + 12,241X$; el coeficiente $r^2 = 0,9857$; el coeficiente de correlación $r = 0,9928$ resultado estadísticamente significativo ($P < 0,01$) revelando buena asociación entre las dos variables.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Tal como se pudo observar en el presente estudio, en la mayoría de las fincas lecheras no existen programas de detección y control de mastitis y las condiciones higiénicas del ordeño son pobres. Además, el productor por lo general no reconoce la presencia del problema, debido a su naturaleza subclínica y desconoce el impacto que tiene sobre la producción de leche. Estos factores explican la alta prevalencia de mastitis y la elevada frecuencia de patógenos contagiosos: *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*.

En conclusión, la prevalencia de mastitis subclínica diagnosticada a través del CMT, aunque variable entre fincas, puede considerarse elevada, toda vez que el 31,17% de los cuartos y el 49,89% de los animales dieron reacciones positivas al CMT y la prevalencia de infección subclínica estimada por cultivo, puede considerarse elevada también, por cuanto el

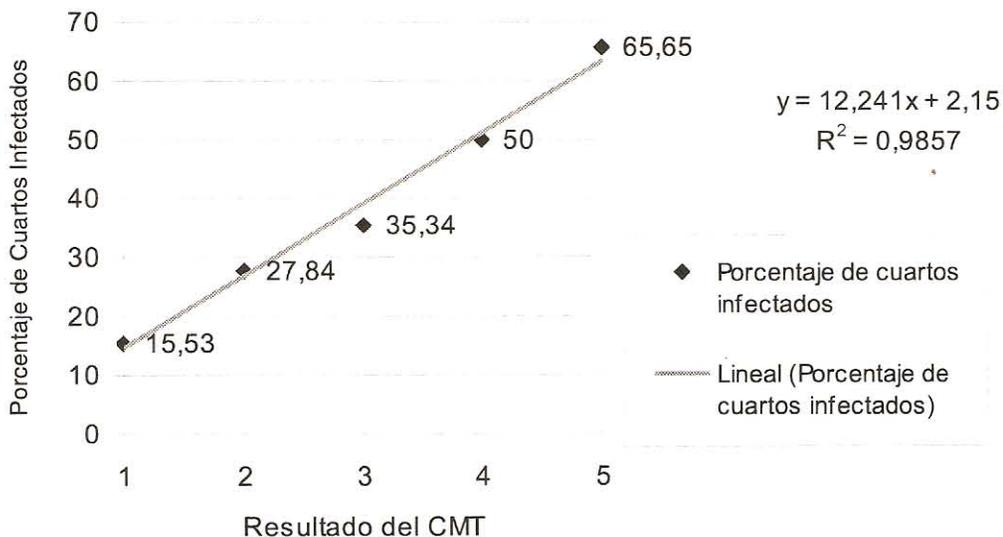


FIGURA 1. LÍNEA DE AJUSTE PARA LA RELACIÓN CMT-PORCENTAJE DE CUARTOS INFECCIONADOS.

36,41% de los cuartos permitió el aislamiento de un agente patógeno. El California Mastitis Test probó ser una prueba útil para la evaluación de la situación de la mastitis en el rebaño lechero al permitir la correcta identificación del 69% de los cuartos, con relación al estado infeccioso de los mismos.

En Venezuela no existen programas de incentivos por producción o calidad de leche. Los parámetros de calidad son múltiples y tampoco existe un criterio uniforme al respecto, vale decir, no se ha establecido un criterio único para evaluar la calidad de la leche producida. Además, no hay un sistema de vigilancia que garantice los controles requeridos y en muchas fincas los registros son insuficientes. Los resultados presentes sugieren la necesidad urgente de establecer programas educativos, de incentivos y penalizaciones, los dos últimos, sobre la base de cifras nacionales, que permitan el mejoramiento progresivo de la producción y de la calidad de la leche producida.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) y la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Central de Venezuela por el soporte financiero de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AGUILERA, R. Influencia del curso de la mastitis y del tipo de secreción mamaria sobre la efectividad del tratamiento con estreptopenicilina por diferentes vías. *Rev. Salud Anim.* 5: 1-13. 1983.
- [2] ALONSO, F.R. Prevalencia de Mastitis Subclínica Bovina en la Cuenca del Lago de Maracaibo. I.- Porcentaje de Prevalencia y Caracteres de la Infección. **1^{as} Jornadas Nacionales sobre Ganadería de Doble Propósito.** Machiques-Perija, Zulia. Enero 12-16. 23 pp 1977a
- [3] ALONSO, F.R. Prevalencia de Mastitis Subclínica Bovina en la Cuenca del Lago de Maracaibo. II.- Prevalencia de Mastitis Subclínica en Relación al Estimado de Contenido Celular de la Leche. **1^{as} Jornadas Nacionales sobre Ganadería de Doble Propósito.** Machiques-Perija, Zulia. Enero 12-16. 24 pp 1977b.
- [4] ALONSO, F.R. Programas de control de mastitis subclínica bovina en la Cuenca del Lago de Maracaibo. *Rev. Vet. Ven.*, XLVII: 11-29 y 67-93. 1981.
- [5] ALONSO, F.R.; MALDONADO, C.; CASTILLO, A. Perfiles de Incidencia de Mastitis Bovina. Seminario sobre Producción de Leche en Venezuela. Maracaibo, Zulia. **Cong. Nac. de Inv. Agr:** 126-137. 1973
- [6] BAKKEN, G.; THORBURN, M. Seriousness and stability of subclinical mastitis, assessed by quarter milk serum albumina. *Act. Vet. Scan.* 26: 273-285. 1985
- [7] BATRA, T.R. The incidence of subclinical mastitis and related pathogens in two lines of dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 60: 743-748. 1980
- [8] BATRA, T.R.; McALLISTER, A.J. Incidence of subclinical and clinical mastitis in pureline and crossline dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 63: 773-780. 1983
- [9] BATRA, T.R.; McALLISTER, A.J. A comparison of mastitis detection methods in dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 64: 305-312. 1984.
- [10] BRAMLEY, A.J.; DODD, F.H. Reviews of the progress of dairy science: Mastitis control-progress and prospects. *J. Dairy Res.* 51: 481-512. 1984.
- [11] BRAY, D.R.; NATZKE, R.P.; EVERETT, R.W; WILCOX, C.J. Comparison of teat dips with differing concentrations in prevention of mastitis infection. *J. Dairy Sci.* 66: 2593-2596. 1983.

- [12] BROLUND, L. Cell counts in bovine milk. Causes of variation and applicability for diagnosis of subclinical mastitis. **Act. Vet. Scand. Suppl.**, 80: 1-123. 1985.
- [13] BROWN, R.W.; MORSE, G.E.; NEWBOLD, F.H.S.; SLANETZ, L.W. **Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Mastitis**. National Mastitis Council Inc., Washington, DC. 27pp. 1969.
- [14] COLE, E.J.; PAINTER, E.V.; SCHNEPPER, G.H. Detection Efficiency of Mastitis Screening Test. **J. Milk Food Technol.** 28: 5-8. 1965.
- [15] CORBETT, R.B. "Once a Staph cow, always a Staph cow?". **Intern. Symp. on Bovine Mastitis**. NMC-AABP. Indiana, U.S.A. Septiembre, 1990: 407-411. 1990.
- [16] DAVID, G.P.; JACKSON, G. The collection and interpretation of herd mastitis data. **Br. Vet. J.** 140: 107-114. 1984.
- [17] DOBBINS, Ch.N. Mastitis losses. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 170 (10) Part. 2: 1129-1132. 1977.
- [18] DODD, F.H. Mastitis Control-Areas for potencial research progress. **Proc. 25th Ann. Mtg. Natl. Mastitis Council**. Columbus, OH., USA. Feb. 9-12: 126-132. 1986.
- [19] DODD, F.H.; WESTGARTH, D.R.; GRIFFIN, T.K. Strategy of mastitis control. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 170, (10) Part. 2: 1124-1128. 1977.
- [20] DOHOO, I.R. Evaluating Mastitis Test. **Proc. 29th Annual Meeting. National Mastitis Council**. Louisville, KY., USA. Feb. 12-14: 68-75. 1990.
- [21] EBERHART, R.J.; NATZKE, R.P.; NEWBOULD, F.H.S.; NONNECKE, B.; THOMPSON, P. Coliform mastitis. A review. **J. Dairy Sci.** 62: 1-22. 1979.
- [22] EDMONSON, P.W. Case report: Subclinical mastitis due to *Streptococcus agalactiae* in a dairy herd. **Bov. Pract.** 23: 116-119. 1988.
- [23] EWBANK, R. An evaluation of California Mastitis Test an Negretti Field test as indicators of subclinical bovine mastitis. **Vet. Rec.** 74: 1017-1020. 1962.
- [24] FAGLIARI, J.J.; LUCAS, A.; FERREIRA, J.M. Mastitis bovina: Comparação entre los resultados obtidos pelo California Mastitis Test" e o exame bacteriológico. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.** 35: 309-315. 1983.
- [25] FARNSWORTH, R.J. Integrating microbiology into mastitis programs. **Proc. 21st Ann. Mtg. National Mastitis Council**. Louisville, KY., USA. Feb. 15-18: 26-30. 1982.
- [26] FERREIRO, L.; DOS SANTOS, E.C.; DA SILVA, N. Occurrence and etiology of bovine mastitis in the "Zona da Mata" Region of Minas Gerais State, Brasil. **Arq. Esc. Vet.** 33: 31-37. 1985.
- [27] FORSTER, T.L.; ASHWORTH, U.S.; LUEDECKE, L.O. Relation ship between California mastitis test reaction and production an composition of milk from opposite quarters. **J. Dairy Sci.** 50: 675-682. 1967.
- [28] FUSTES, E.; AVILA, C.; ORTEGA, L. Mastitis bovina: efecto sobre la producción lechera y la economía agropecuaria en Cuba. **Rev. Salud Anim.** 7: 91-100. 1985
- [29] GILL, R.S.; HOWARD, W.H.; LESLIE, K.E.; LISSEMORE, K.D. Economics of mastitis control in Ontario dairy herds. **Proc. International Symposium on Bovine Mastitis; NMC-AABP**. Indianapolis, IN., USA. Sept. 13-16: 382-387. 1990.
- [30] GORDON, W.A; MORRIS, H.A.; PACKARD, V. Methods to Detect Abnormal Milk. A Review. **J. Food Prot.** 43 (1): 58-64. 1980
- [31] GRAY, D.M.; SCHALM, O.W. The mastitis variable in milk yield as estimated by the California mastitis test. **Am. J. Vet. Res.** 32: 541. 1962
- [32] HOBLET, K.H.; EASTRIDGE, M.L. **Control of contagious mastitis. Dairy Guide**. The Ohio State University. Inserto 209.3pp. 1987
- [33] HOGAN, J. S.; SMITH, K. L.A. Practical look at environmental mastitis. **Comp. Contin. Educ. Pract. Vet:** F341-F346. 1987
- [34] INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Laboratory methods for use in mastitis work. Doc. 132: 1-26. 1981.
- [35] JIMÉNEZ M., M.R. Estudio preliminar de la mastitis subclínica en vacas productoras de ciertas zonas altas del Estado Mérida. UCV-ULA-CORPOANDES (Mimeografiado). Mérida, Venezuela. 43 pp. 1981
- [36] LORBACHER DE R., H.; ESTRADA, M.V.; MESA, P.A.; ARROYAVE, I.D. Vigilancia epidemiológica de la mastitis bovina en un hato lechero. **Rev. Col. Cienc. Pec.** IV: 71-77. 1982.
- [37] MARSCHKE, R.J.; KITCHEN, B.J. Detection of bovine mastitis by Bromothimol blue pH indicator test. **J. Dairy Sci.** 68: 1263-1269. 1985.
- [38] MARTIN, S.W. The evaluation of tests. **Can. J. Comp. Med.** 41: 19-25. 1977.
- [39] McDONALD, J.S. Relationship of Milking Machine design and function to udder disease. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 158 (2): 184- 190. 1971.
- [40] MILLER, R.H.; OWEN, J.R.; MOORE, E.D. Incidence of clinical mastitis in a herd of Jersey cattle. **J. Dairy Sci.** 59: 113-119. 1976.
- [41] MURPHY, J.M. Mastitis. The struggle for understanding. **J. Dairy Sci.** 39: 1768-1773. 1956.
- [42] NADER F.A.; SHOCKEN-ITURRINO, R.P.; ROSSI JUNIOR, O.D. Mastite subclinica em rebanhos produtores

- de leite tipo B. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, 35 (5): 621-630. 1983.
- [43] NATZKE, R.P. Elements of mastitis control. **J. Dairy Sci.** 64: 1431-1442. 1981.
- [44] PANKEY, J.W. Problem solving -An academic approach. **Proc. Intern. Symp. Bovine Mastitis**, NMC-AABP. Indianapolis, IN., USA. Sept. 13-16: 388-393. 1990a.
- [45] PANKEY, J.W. Mastitis -Two different diseases: contagious and environmental. **Proc. 29th Ann. Mtg. National Mastitis Council**. Arlington, VA., USA. Feb. 12-14: 326-335. 1990b.
- [46] PANKEY, J.W.; PHILPOT, W. N. Hygiene in the prevention of udders infections I. Comparative efficacy of four teat dips. **J. Dairy Sci.** 58 (2): 202-204. 1975.
- [47] PEARSON, J.K.L.; GREER, D.O. Relationship between somatic cell counts and bacterial infections of the udder. **Vet. Rec.** 95: 252-257. 1974.
- [48] PHILPOT, W.N. Modern mastitis management. **Vet. Scope**. XV, (1): 2-10. 1970.
- [49] PHILPOT, W.N. Control of mastitis by hygiene and therapy. **J. Dairy Sci.** 62 (1): 168-176. 1979.
- [50] PHILPOT, W.N.; PANKEY, J.W. Hygiene in the prevention of udder infections II. Evaluation of oil-based teats dips. **J. Dairy Sci.** 58 (2): 205-208. 1975a.
- [51] PHILPOT, W.N.; PANKEY, J.W. Hygiene in the prevention of udder infections III. Effectiveness of 59 teat dips for reducing bacterial populations on the skin. **J. Dairy Sci.** 58 (2): 209-216. 1975b.
- [52] POUTREL, B.; RAINARD, P. California mastitis test guide of selective dry cow therapy. **J. Dairy Sci.** 64: 241-248. 1981.
- [53] RAINARD, P.; POUTREL, B. Dynamics of nonclinical bovine intramammary infections with major and minor pathogens. **Am. J. Vet. Res.** 43: 2143-2146. 1982.
- [54] RENEAU, J.K. Using DHI Somatic Cell Counts. **Proc. 24th Annual Mtg Natl. Mastitis Council**. Louisville, KY., USA. Feb. 12-14:26-30. 1985
- [55] RENEAU, J.K. Monitoring mastitis, milk quality and economic losses in dairy herds. **Proc. International Symposium of Bovine Mastitis**. NMC-AABP. Indianapolis, IN., USA. Sept. 13-16: 326-335. 1990.
- [56] RIOS, L.; PIUZZI, L.I. Incidencia de la mastitis bovina en el piedemonte barinés. **Rev. Fac. Ciencs. Vets. U.C.V.**, 31: 97-104. 1984.
- [57] RUDE, T.A. Comparison of California mastitis test readings and bacteriological culture results. **Vet. Med.** 58: 322-327. 1963.
- [58] SCARAMELLI, A.M. Comparación de tres métodos indirectos para detección de mastitis subclínica bovina. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias (Tesis Master of Science). Maracay. 109pp.1988.
- [59] SCHALM, O.W.; LASMANIS, J. The leucocytes: origin and function in mastitis. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 153: 1688- 1694. 1968.
- [60] SCHALM, O.W.; NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 130, 199-204. 1957.
- [61] SCHMIDT MADSEN, P.; KLASTRUP, O.; OLSEN, J.; STØVLBÆK PEDERSEN. Herd incidence of bovine mastitis in four danish dairy districts. I.- The prevalence and mastitogenic effect of microorganisms in the mammary gland of cow. **Nord. Vet. Med.**, 29: 473-482. 1974.
- [62] SMITH, K.L. Mastitis control: A discussion. **J. Dairy Sci.** 66: 1790-1794. 1983.
- [63] SMITH, K.L.; HOGAN, J.S.; TODHUNTER, D.A.; SCHOENBERGER, P.S. Environmental mastitis: An everyday affair. **Proc. 21th Ann. Conv. Am. Assoc. Bov. Pract.** Louisville, KY., USA. Feb. 15-18: 122-126. 1989.
- [64] SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. **Statistical Methods**. (6ta Edición). The Iowa State University Press. Ames, Iowa, U.S.A: 593 pp.1973.
- [65] WESEN, D.P. How to utilize the mastitis laboratory. **Proc. 25th Ann. Mtg. National Mastitis Council**. Columbus, OH., USA. Feb. 9-12: 110-117. 1986.
- [66] WESEN, D.P.; LUEDECKE, L.O.; FORSTER, T.L. Relationship between California Mastitis Test Reaction and Bacteriological Analyses of stripping samples. **J. Dairy Sci.**, 51: 679-6. 1968.