

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 48, No 1 (1997)



Clinical and subclinical bovine mastitis in area of Kilkis

N. ILIADIS (N. ΗΛΙΑΔΗΣ), E. N. PETRIDOU (E.N.ΠΕΤΡΙΔΟΥ), A. FOUKOS (A. ΦΟΥΚΟΣ)

doi: [10.12681/jhvms.15791](https://doi.org/10.12681/jhvms.15791)

Copyright © 2018, N ILIADIS, EN PETRIDOU, A FOUKOS



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

To cite this article:

ILIADIS (N. ΗΛΙΑΔΗΣ) N., PETRIDOU (E.N.ΠΕΤΡΙΔΟΥ) E. N., & FOUKOS (A. ΦΟΥΚΟΣ) A. (2018). Clinical and subclinical bovine mastitis in area of Kilkis. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 48(1), 32–36. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15791>

Κλινικές και υποκλινικές μαστίτιδες αγελάδων στο Νομό Κιλκίς.

Ν. Ηλιάδης,¹ Ε. Πετρίδου,¹ Α. Φούκος²

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Εξετάστηκαν 216 δείγματα γάλακτος από ισάριθμα τεταρτημόρια μαστών. Από τις μικροβιολογικές εξετάσεις και τα αποτελέσματα του California test βρέθηκε, ότι τα 82 δείγματα (ποσοστό 38%) προέρχονταν από τεταρτημόρια με υποκλινική μαστίτιδα. Τα συχνότερα μικροβιακά είδη που απομονώθηκαν ως αίτια των υποκλινικών μαστίτιδων ήταν οι πηκτάση αρνητικοί σταφυλόκοκκοί, οι οποίοι με 39 στελέχη απομονώθηκαν στο 47,5% των περιπτώσεων. Από τη δοκιμή ευαισθησίας των μικροοργανισμών στις αντιμικροβιακές ουσίες, προέκυψε, ότι η gentamycine, με ποσοστό 90,9%, είχε το μεγαλύτερο ποσοστό ευαισθησίας. Στη συνέχεια, ακολούθησαν, με φθίνουσες τιμές, η cephalotin με 75%, το oxalinique acid με 63,6% και η ampicilline με 54,2%. Στα υπόλοιπα τέσσερα αντιβιοτικά, tetracycline, lincomycine, erythromycine and penicilline G, η ευαισθησία των βακτηρίων ήταν κάτω του 50%.

ABSTRACT. Iliadis N., Petridou Ev., Foucos A. Clinical and subclinical bovine mastitis in area of Kilkis. *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society* 48(1):32-36. In this study 216 milk samples from equal number of quarters were examined. The results from microbiological examination and the performed California test revealed that 82 samples (38%) were collected from quarters with subclinical mastitis. Coagulase-negative staphylococci were the most frequent pathogens isolated from the examined milk samples, representing 47.5% of the total isolated strains. Sensitivity test of the strains to certain antimicrobials showed higher performance of gentamycine (90.9% of the cases). On a descending sequence cephalotin (75%), oxalinique acid (63.6%) and ampicilline (54.2%) were the antimicrobials to which sensitivity of the

strains was higher than 50%. On the contrary, tetracycline, tincomycine, erythromycine and penicilline G performance was lower than 50%.

Λέξεις ευρετηριασμού: Μαστίτιδα, μικροοργανισμός, αντιβιοαντοχή.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Με την εντατική μορφή εκτροφής των αγελάδων, καθώς και με τη συνεχή γενετική βελτίωση, επιδιώκεται σήμερα ολοένα και μεγαλύτερη παραγωγή γάλακτος. Ως αποτέλεσμα της προσπάθειας αυτής, ήταν η εξέλιξη του μαστού σ' ένα κατεξοχήν παραγωγικό όργανο. Η υψηλή παραγωγικότητα όμως, όπως ήταν φυσικό, συνοδεύτηκε από μια αυξημένη ευαισθησία του μαστικού αδένου, που ως επακόλουθο είχε τη συχνή προσβολή του από μικροοργανισμούς και τη δημιουργία μαστίτιδων.

Με τον όρο μαστίτιδα εννοούμε τη φλεγμονή του μαστικού αδένου, η εκδήλωση της οποίας εξαρτάται από το ίδιο το ζώο (ιδιοσυγκρασία), από την παθογένεια του μικροοργανισμού και από τις συνθήκες διαβίωσης του ζώου.

Από τα παραπάνω γίνεται φανερό ότι ο χαρακτηρισμός της μαστίτιδας ως πολυπαραγοντικής ασθένειας είναι δικαιολογημένος (εικόνα 1).

Το ζώο, το περιβάλλον και οι παθογόνοι μικροοργανισμοί βρίσκονται σε μια δυναμική ισορροπία, που η διατάραξη της ευνοεί την εκδήλωση της μαστίτιδας. Η διαβίωση του ζώου π.χ. σε ακατάλληλες συνθήκες, μειώνει την αντίσταση του οργανισμού του και δίνει ευκαιρία στην υπέρμετρη ανάπτυξη κάποιου παθογόνου μικροοργανισμού, με συνέπεια τη δημιουργία μαστίτιδας.

Οι μαστίτιδες υποδιαιρούνται σε κλινικές και υποκλινικές.

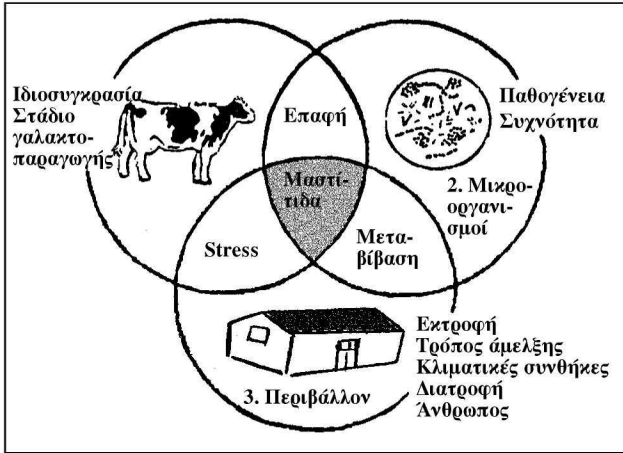
Οι κλινικές, παρουσιάζονται με εμφανή συμπτώματα, όπως είναι π.χ. η διόγκωση ενός τεταρτημορίου και ως εκ τούτου η ασυμμετρία του μαστού, η ερυθρότητα, το

¹ Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Λοιμωδών Νοσημάτων,

² Κλινική Μαιευτικής και Τεχνικής Σπερματέγχυσης, Τμήμα Κτηνιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

¹ Laboratory of Microbiology and Infectious Diseases,

² Clinic of Obstetrics, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotelian University of Thessaloniki



Εικόνα 1. Παράγοντες που επηρεάζουν την εκδήλωση μαστίτιδας.

οίδημα, ο πόνος, η άνοδος της θερμοκρασίας του ζώου, οι αλλοιώσεις της σύστασης του γάλακτος, καθώς και η μείωση της παραγόμενης ποσότητας ή η παντελής έλλειψη αυτού. Βάσει των παραπάνω κλινικών συμπτωμάτων, η διάγνωση δεν παρουσιάζει δυσκολίες.

Αντίθετα, οι υποκλινικές μαστίτιδες παρουσιάζονται χωρίς κανένα κλινικό σύμπτωμα, παρά μόνο με ελαφρά μείωση της γαλακτοπαραγωγής. Εξαιτίας του γεγονότος αυτού, η διάγνωση των υποκλινικών μαστίτιδων είναι δύσκολη και γίνεται μόνο κατόπιν εργαστηριακών εξετάσεων, που βασίζονται στην παρουσία μεγάλου αριθμού σωματικών κυττάρων στο γάλα, στην αύξηση του μικροβιακού πληθυσμού στο μαστό, στην απομόνωση και ταυτοποίηση αυτών και τέλος στην εργαστηριακή διαπίστωση αλλαγής της χημικής σύστασης του γάλακτος.

Επειδή οι εξετάσεις αυτές δε γίνονται χωρίς αποχρώνα λόγο, παρά μόνο κατόπιν εκπόνησης ειδικού προγράμματος, οι υποκλινικές μαστίτιδες παραμένουν άγνωστες στην εκτροφή, με αποτέλεσμα ο αριθμός τους να αυξάνεται ολοένα και περισσότερο.

Η σοβαρότητα του προβλήματος των υποκλινικών μαστίτιδων γίνεται αντιληπτή από μακροχρόνιες έρευνες, από τις οποίες προέκυψε, ότι η απώλεια γάλακτος λόγω μαστίτιδων οφείλεται κατά 80% σε υποκλινικές και μόνο κατά 20% σε κλινικές μαστίτιδες.¹ Όσον αφορά δε, γενικά, στις οικονομικές απώλειες, αυτές αποδίδονται εξίσου και στα δύο είδη μαστίτιδων.¹

Είναι βέβαιο, πως οι κλινικές μαστίτιδες αποτελούν μόνο την κορυφή του παγόβουνου. Στην πραγματικότητα, στην εκτροφή υπάρχουν 20 - 50 φορές περισσότερες μαστίτιδες, από εκείνες που εκδηλώνονται κλινικά¹, (εικόνα 2).

Για τους παραπάνω λόγους, ως σκοπός της έρευνας

αυτής τέθηκε:

- Ο καθορισμός του ποσοστού των κλινικών και υποκλινικών μαστίτιδων των αγελάδων στο νομό Κιλίκις.

- Η απομόνωση και η ταυτοποίηση των σπουδαιότερων βακτηριδίων που προκαλούν μαστίτιδα, καθώς και ο καθορισμός της εκατοστιαίας αναλογίας συμμετοχής τους στη νόσο.

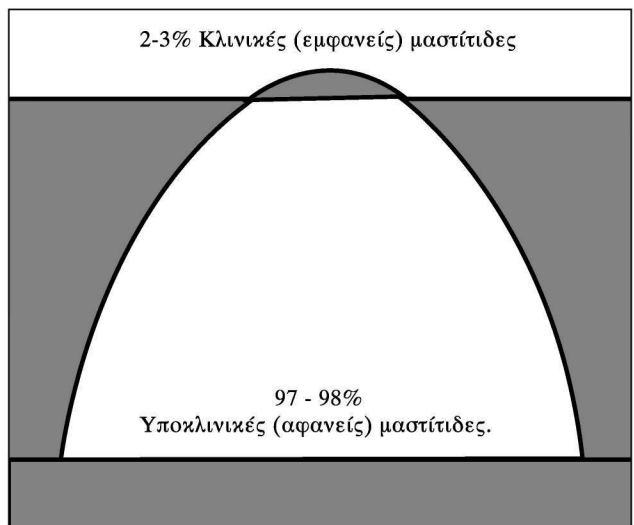
- Η εξέταση της ευαισθησίας των παθογόνων βακτηριδίων στις χορηγούμενες θεραπευτικές ουσίες.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Εξετάστηκαν 216 δείγματα γάλακτος από ισάριθμα τεταρτημόρια μαστών. Τα δείγματα πάθησαν άσηπτα, δηλαδή μετά από απολύμανση του μαστού και ιδιαίτερα της θηλής. Οι πρώτες δέσμες γάλακτος συλλέγονταν σε ένα δοχείο και στη συνέχεια το δείγμα σε στείρο δοκιμαστικό σολήνα. Αμέσως, ακολουθούσε δεύτερη δειγματοληψία, για την εκτέλεση του California test.

Τα δείγματα που προορίζονταν για μικροβιολογική εξέταση μεταφέρονταν μέσα σε ισοθερμικό δοχείο στο εργαστήριο, όπου γινόταν η καλλιέργεια σε αιματούχο άγαρ (BA), σε MacConkey άγαρ (MCA), σε ζωμό Viande-Foie (VF) για την απομόνωση αναερόβιων βακτηριδίων και σε Sabouraud άγαρ (SbA) για την απομόνωση μυκήτων.

Μετά την απομόνωση και την ταυτοποίηση, που βασίστηκε στις βιοχημικές ιδιότητες των μικροοργανισμών, ελεγχόταν η ευαισθησία στις εξής 8 θεραπευτικές ουσίες: gentamycin, cephalotine, oxalinique acid, ampicilline, tetracycline, lincomycine, erythromycine, penicilline G.



Εικόνα 2. Εκατοστιαία αναλογία κλινικών και υποκλινικών μαστίτιδων σε γαλακτοπαραγωγικές εκμεταλλεύσεις αγελάδων.

Πίνακας 1. Μικροοργανισμοί που απομονώθηκαν από τα εξετασθέντα δείγματα γάλακτος.

Μικροοργανισμός	αριθμ. στελεχών
<i>Staphylococcus aureus</i>	7
<i>Staphylococcus</i> spp πηκτάση αρνητικός	39
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
<i>Pasteurella</i> spp	3
<i>Serratia marcescens</i>	2
<i>Proteus vulgaris</i>	2
<i>Proteus mirabilis</i>	1
<i>Enterobacter</i>	3
<i>Escherichia coli</i>	3
<i>Corynebacterium</i> spp	6
Πολυμικροβιακό φορτίο	13
Σύνολο	82

Το test ευαισθησίας γίνονταν σύμφωνα με τη μέθοδο Kirby-Bauer σε στερεό υπόστρωμα Muller-Hinton Agar.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τα 216 δείγματα γάλακτος που εξετάστηκαν, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών εξετάσεων και του California test, αποδείχθηκε, ότι τα 82 δείγματα (ποσοστό 38%) προέρχονταν από τεταρτημόρια με υποκλινική μαστίτιδα.

Οι μικροοργανισμοί, που απομονώθηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 1.

Τα αποτελέσματα από τη δοκιμή ευαισθησίας των απομονωθέντων μικροοργανισμών έναντι των 8 αντιβιοτικών παρουσιάζονται στον πίνακα 2.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο Steras και οι συνεργάτες του (1994)² κατέταξαν τα βακτηρίδια που προσβάλλουν το μαστό, σε ισχυρά παθογόνους μικροοργανισμούς (major pathogens) και σε μειωμένης παθογένειας μικροοργανισμούς (minor pathogens).

Στην πρώτη κατηγορία κατατάχτηκαν ο *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), ο *Streptococcus dysgalactiae* (*Str. Dysgalactiae*), ο *Str. agalactiae* και ο *Actinomyces pyogenes*. Στη δεύτερη κατηγορία κατατάχτηκαν ο *Str. Faecalis*, η *Escherichia coli*, τα κολοβακτηριδιόμορφα και οι πηκτάση αρνητικοί σταφυλόκοκκοι (ΠΑΣ). Οι πηκτάση αρνητικοί σταφυλόκοκκοι είναι οι συχνότερα απομονούμενοι μικροοργανισμοί από τα δείγματα γάλακτος αγελάδων.^{3,4} Στα τελευταία 20 χρόνια, διαπιστώθηκε στο National Veterinary and Food Research Institute στο Ελσίνκι της Φιλανδίας, ότι το ποσοστό απομόνωσης των ΠΑΣ, από 15% έφτασε στο 40%.⁵ Παράλληλα κατά την τελευταία δεκαετία, οι κλινικές

Πίνακας 2. Εκατοστιαία αναλογία ευαισθησίας των απομονωθέντων βακτηριδίων έναντι των αντιβιοτικών.

Αντιμικροβιακή ουσία	Ευαισθησία (%)
Gentamycine	90,9
Cephalotin	75
Oxalinique acid	63,6
Ampicilline	54,2
Tetracycline	50
Lincomycine	31,8
Erythromycine	27,2
Penicilline G	9

μαστίτιδες, που οφείλονται στα βακτήρια αυτά, διπλασιάστηκαν. Η αύξηση αυτή ανέβασε το ποσοστό των κλινικών μαστίτιδων στο 15% του συνολικού αριθμού μαστίτιδων.⁶ Οι ΠΑΣ προκαλούν κυρίως υποκλινικές μαστίτιδες, ήπια φλεγμονή του μαστικού αδένου και αποικισμό στη θηλή. Για τις ιδιότητες αυτές, άλλωστε, χαρακτηρίστηκαν ως μειωμένης παθογένειας βακτηρίδια (minor pathogens).^{2,7,8}

Οι υποκλινικές μαστίτιδες που προκαλούνται από τους ΠΑΣ είναι ήπιες μορφές και παρατηρούνται κυρίως στις πρωτοτόκες αγελάδες κατά την πρώτη εβδομάδα μετά τον τοκετό.^{5,9}

Οι έρευνες που έγιναν ως τώρα αναφορικά με τον παθογενετικό ρόλο των ΠΑΣ στις κλινικές μαστίτιδες είναι περιορισμένης έκτασης και για το λόγο αυτό, οι γνώσεις μας, γενικά, σε ό,τι αφορά τις λοιμογόνες ιδιότητες των ΠΑΣ, είναι ανεπαρκείς.^{10,11}

Τα δικά μας αποτελέσματα συμφωνούν με εκείνα των παραπάνω ερευνητών, καθότι τα συχνότερα βακτηρίδια που απομονώθηκαν από υποκλινικές μαστίτιδες ήταν οι ΠΑΣ. Τα στελέχη ΠΑΣ αποτέλεσαν το 47,5% του συνόλου των απομονωθέντων στελεχών (πίνακας 1). Στελέχη του *S. aureus* απομονώθηκαν από 7 δείγματα, (ποσοστό 8,5%). Από τα στελέχη αυτά, όμως, τα 5 προέρχονταν από περιπτώσεις κλινικών μαστίτιδων. Είναι γνωστό ότι ο *S. aureus* είναι ένας από τους σοβαρότερους αιτιολογικούς παράγοντες των κλινικών μαστίτιδων, με μικρή ανταπόκριση στη θεραπευτική αγωγή¹². Από τα 13 δείγματα γάλακτος απομονώθηκαν περισσότερα από 2 είδη βακτηριδίων και για το λόγο αυτό χαρακτηρίστηκαν ως δείγματα με πολυμικροβιακό φορτίο. Σύμφωνα με τον αριθμό των σωματικών κυττάρων (California test) και το συνολικό αριθμό των μικροοργανισμών/ml γάλακτος, τα τεταρτημόρια αυτά κατατάχτηκαν στις υποκλινικές μαστίτιδες, χωρίς να μπορεί να εκτιμηθεί αν η παρουσία των μικροοργανισμών ήταν τυχαία και παροδική.

Συγκρίνοντας τα είδη των μικροοργανισμών, που

απομονώθηκαν από τα δικά μας δείγματα με εκείνα άλλων ερευνητών, παρατηρούμε, ότι η σύνθεση και η εκατοστιαία αναλογία των παθογόνων για το μαστό βακτηριδίων ποικίλλει ανάμεσα στα διάφορα είδη ζώων (αιγοπρόβατα, αγελάδες), διαφέρει από περιοχή σε περιοχή και κατά καιρούς είναι δυνατό να μεταβάλλεται ποιοτικά και ποσοτικά^{13,14,15}. Στις αλλαγές αυτές βοηθούν πολλοί παράγοντες, μερικοί από τους οποίους είναι το κλίμα της περιοχής, η εποχή του έτους, το σιτηρέσιο, η χορήγηση θεραπευτικών ουσιών στα ασθενή ζώα, οι υγιεινομικές συνθήκες διαβίωσης και ενσταυλισμού των ζώων, οι απολυμάνσεις κ.ά.

Η δοκιμή ευαισθησίας στις 8 θεραπευτικές ουσίες έδειξε, ότι τα καλύτερα αποτελέσματα, με ποσοστό 90,9%, έδωσε η gentamycine. Σχετικά υψηλά ποσοστά ευαισθησίας παρατηρήθηκαν, ακόμη, στην cephalotin, στην oxalinique acid και στην ampicilline, (Πίνακας 2). Στις υπόλοιπες θεραπευτικές ουσίες, (tetracycline, lincomycine, erythromycine και penicilline G), τα ποσοστά ευαισθησίας ήταν κάτω από 50%. Τα χαμηλά ποσοστά ευαισθησίας στην penicilline και στην erythromycine είναι πιθανό να οφείλονται στη μακροχρόνια χορήγησή τους στη θεραπεία των μαστίτιδων, επειδή στην περιοχή αυτή, επί σειρά ετών, αποτελούσαν τις θεραπευτικές ουσίες επιλογής.

Θετικά αποτελέσματα αναμένονται μόνο όταν χορηγούνται αντιβιοτικές ουσίες, οι οποίες *in vitro* δίνουν τα υψηλότερα ποσοστά ευαισθησίας των μικροοργανισμών. Η αποτελεσματικότητα της αντιμικροβιακής θεραπείας, όμως, δεν μπορεί να προβλεφθεί με βάση τα αποτελέσματα της *in vitro* δοκιμής.¹⁶

Πειραματικές μελέτες έδειξαν, ότι τα καλύτερα θεραπευτικά αποτελέσματα δεν ξεπερνούν το ποσοστό των 70%. Σε μαστίτιδες δε που οφείλονται, π.χ., σε *S. aureus* οι θεραπευτικές αποτυχίες, πολλές φορές, μπορεί να φθάσουν και στο 50 - 80%.¹²

Οι αιτίες που προκαλούν τα μεγάλα ποσοστά αποτυχίας στη θεραπεία των μαστίτιδων είναι δυνατό να οφείλονται στη μικρή ικανότητα διάχυσης των αντιβιοτικών στο μολυσμένο μαστικό αδένα,¹⁷⁻¹⁹ στην ενδοκυτταρική εντόπιση του *S. aureus* στα λευκοκύτταρα που απαντώνται στο μαστικό αδένα,^{20,21} στη δημιουργία L μορφών κατά τη διάρκεια της θεραπευτικής αγωγής,^{22,23} στην αντοχή των βακτηριδίων στα αντιβιοτικά και στη μείωση της δραστηριότητας των αντιβιοτικών στα γάλα.^{16,24,25}

Εδώ πρέπει να σημειωθεί, ότι οι μαστίτιδες που οφείλονται στους ΠΑΣ, ανταποκρίνονται καλύτερα στη θεραπευτική αγωγή, σε σχέση με εκείνες που οφείλονται σε *S.aureus*.⁵

Από τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής προκύπτει ότι:

- Το ποσοστό των υποκλινικών μαστίτιδων των αγελάδων στο νομό Κιλίκις είναι μεγάλο.

- Οι συχνότεροι αιτιολογικοί παράγοντες του νοσήματος αποδείχτηκαν οι πηκτάση αρνητικοί σταφυλόκοκοι.

- Τα καλύτερα αποτελέσματα στη δοκιμή ευαισθησίας στις αντιμικροβιακές ουσίες, με φθίνουσα τιμή, απέδωσαν η gentamycine, η cephalotine και το oxalinique acid.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Tolle A. Mastitis, Euterkrankheiten erkennen, Vorbeugen und behandeln. Top Agar Extra 1986,2:7-15.
2. Steras O, Aursj J, Gronnings Aeter Gjul G, Jorstad A. Effect of dry-cow therapy on subclinical Mastitis - an evaluation of long-acting and short-acting intramamaria J Vet Med B 1994,41:529-540.
3. Harmon RJ, Langlois BE. Mastitis due to coagulase-negative species. Agri-Practice 1989, 10:29-33.
4. Honkanen-Buzalski T. The role of coagulase-negative *Staphylococcus* species in bovine mastitis. Proc. Int. Symp. Bovine Mastitis, Indianapolis, IN. Natl Mastitis Counc, Arlington VA, and Am Assoc Bovine Practitioners, West Lafayette, IN, 1990:98-102.
5. Honkanen-Buzalski T, Myllys V, Pyörälä S. Bovine clinical mastitis due to coagulase-negative *Staphylococci* and their susceptibility to antimicrobials. J Vet Med B 1994, 41:344-350.
6. Pyörälä S, and Pyörälä E. Efficacy of therapy in clinical mastitis during lactation. Proc XVII Nordic Vet Congress, Reykjavik, The Icelandic Vet Assoc 1994:42-45.
7. Schalm O.W, Carroll E.J, Jain N.C. Bovine Mastitis. Lea and Febiger, Philadelphia, 1971:360
8. Pyörälä S, Syvajarvi J. Bovine acute mastitis. J Vet Med B 1987, 34:573-584.
9. Watts JL, Naidu AS, Wadstrom T. Collagen binding, elastase production, intramammary infection. J Clin Microbiol 1990, 28:580-583.
10. Birgersson A, Haraldsson I, Jonsson P. Virulence of coagulase-negative *staphylococci* isolated from bovine mastitis. The staphylococci, Zbl Bakt Suppl 1991, 21:331-334.
11. Owens WE, Ray CH, Washburn P.L. Effect of selected antibiotics on *Staphylococcus aureus* present in milk from infected mammary Glands. J Vet Med B 1993, 40:508-514.
12. Deutz A, Schuh M, Planner G, Fucs K. Milchverluste durch chronische mastitiden und Sekretionsstörungen Sowie Therapieerfolge bei Milchschaufen. Wien Tierärztl Mschr 1995, 82:346-350.
13. Φθενάκης Γ.Χ., Jones, J.E.T. Συχνότητα και αιτιολογία της κλινικής μαστίτιδας των προβάτων σε κοπάδια της Κεντρικής Μακεδονίας. ΔΕΚΕ 1990, 41:133-141.
14. Owens WE, Nickerson SC, Washburn PJ, Ray CH. Prepartum antibiotic therapy with a cephalirin dry-cow product against naturally occurring inframammary infections in heifers. J Vet Med B 1994, 41:90-100.
15. Louhi M, Inkinen K, Myllys V, Sandholm M. Relevance of

- sensitivity testings (MIC) of *S. aureus* to predict the antibacterial action in milk. *J Vet Med B* 1992, 39:253-262.
16. Backstrom G, Funke H. Palpatory observations and distribution of antibiotics in udders. *Sven Vet* 1978, 30:99-108.
 17. Owens WE, Nickerson SC. Antibiotic concentrations in milk and mammary tissues during various treatment regimens for mastitis. *Agri-Practice* 1989, 10:10-15.
 18. Owens WE, Nickerson SC. Treatment of *Staphylococcus aureus* mastitis with penicillin and novobiocin: antibiotic concentrations in milk and mammary tissue. *J Dairy Sci* 1990, 73:115-124.
 19. Craven N, Anderson J.C. Phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by bovine mammary gland macrophages and intracellular protection from antibiotic action *in vitro* and *in vivo*. *J Dairy Sci* 1984, 51:513-523.
 20. Craven N, Anderson JC. Antibiotic activity against intraleukocytic *Staphylococcus aureus in vitro* and in experimental mastitis in mice. *Am J Vet Res* 1983, 44:709-712.
 21. Owens WE. Isolation of *Staphylococcus aureus* L forms from experimentally induced bovine mastitis. *J Clin Microbiol* 1987, 25:1956-1961.
 22. Sears PM, Fetting M, Marsh-Salin J. Isolation of L forms variants after antibiotic treatment in *Staphylococcus aureus* bovine mastitis. *J Amer Vet Med Assoc* 1987, 191:681-684.
 23. Myllys V, Louhi M, Ali-Behmas T. Comparison of penicillin-G susceptibility testing methods of staphylococci isolated from bovine mastitis. *J Vet Med* 1992, 39:723-731.
 24. Owens WE, and Watts JL. Effect of milk on activity of antimicrobials against *Staphylococcus aureus* isolated from bovine udders. *J Dairy Sci* 1987, 70:1946-1951.