

ETIOLOGIA INFECCIOSA DA MASTITE SUBCLÍNICA OVINA EM REBANHOS DESTINADOS À PRODUÇÃO DE CARNE*

Luiz Francisco Zafalon¹
Katheryne Benini Martins²
Willian Alexandre Ferreira Dias³
Cecília José Verissimo⁴
Sérgio Novita Esteves¹

RESUMO

A inflamação da glândula mamária, conhecida como mastite, apresenta origem principalmente infecciosa. A doença é responsável por grandes prejuízos na produção de ovinos de corte, pois acarreta descarte prematuro de ovelhas e pode interferir diretamente no desenvolvimento dos cordeiros. Os objetivos do presente estudo foram determinar os principais agentes etiológicos infecciosos causadores da mastite subclínica em ovinos de corte e analisar o perfil de resistência frente a 12 antimicrobianos. Foram colhidas 576 amostras de leite de 170 animais, originados de dois rebanhos localizados no estado de São Paulo. Destas, 125 (21,7%) amostras foram positivas nos exames microbiológicos. Estafilococos coagulase negativa sensíveis à novobiocina (ECNSN) foram os microrganismos mais frequentes (11,1%), seguidos pelos estafilococos coagulase negativa resistentes à novobiocina (ECNRN) (3,6%), *Staphylococcus aureus* (2,1%), coliformes (1,7%), estafilococos coagulase positiva (1,2%), *Streptococcus* spp. (0,9%), *Corynebacterium* spp. (0,3%), *Micrococcus* spp. (0,2%), ECNSN mais coliformes (0,2%), ECNSN mais *Corynebacterium* spp. (0,2%) e ECNRN mais coliformes (0,2%). O teste de sensibilidade microbiana *in vitro* foi realizado para as bactérias do gênero *Staphylococcus*. A maior ocorrência de resistência das estirpes de estafilococos coagulase negativa foi observada frente à penicilina (28,8%), oxacilina (22,1%) e cefepima (19,5%). Entre as estirpes de *S. aureus* não foi encontrada resistência aos princípios ativos testados. Para os estafilococos coagulase positiva, o maior percentual de resistência foi encontrado frente à penicilina (42,9%). Os resultados dos testes de sensibilidade antimicrobiana para os microrganismos detectados nos rebanhos destacam a sua relevância, com vistas a otimizar a eficácia de cura e reduzir a pressão de seleção para estirpes multirresistentes.

Palavras chave: mastite, microrganismos, estafilococos, ovinos.

INFECTIOUS ETIOLOGY OF SUBCLINICAL MASTITIS IN SHEEP FLOCKS FOR MEAT PRODUCTION

ABSTRACT

Inflammation of the mammary gland, known as mastitis, has mainly infectious origin. The disease is responsible for great economic losses in meat sheep production, because of the

* Financiamento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo/ Fapesp - Processo nº 2007/56558-9

¹ Pesquisador, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP;

² Bolsista - Iniciação científica - Fapesp, Embrapa Pecuária Sudeste, graduação em Ciências Biológicas - Centro Universitário Central Paulista, São Carlos, SP;

³ Bolsista PIBIC/CNPq, Embrapa Pecuária Sudeste, graduação em Ciências Biológicas - Centro Universitário Central Paulista, São Carlos, SP;

⁴ Pesquisadora, Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP.

Endereço e autor para correspondência: Luiz Francisco Zafalon – Embrapa Pecuária Sudeste - Rodovia Washington Luís, Km 234, Caixa Postal 339, CEP 13560-970, São Carlos, SP, Email: zafalon@cnpse.embrapa.br

Zafalon LF et al. Etiologia infecciosa da mastite subclínica ovina em rebanhos destinados à produção de carne. Vet. e Zootec. 2010 dez.; 17(4): 568-576.

premature culling of the ewes and can directly affect the of lambs' performance. The objectives of this study were to determine the main etiological agents infectious of the subclinical mastitis in meat ewes and analyze the resistance profile against 12 antibiotics. We collected 576 samples from 170 animals originating from two farms located in São Paulo. Of these, 125 (21.7%) were positive in microbiological tests. Coagulase-negative *staphylococci* sensitive to novobiocin (CNSSN) were the microorganisms most frequently (11.1%), followed by coagulase-negative *staphylococci* resistant to novobiocin (CNSRN) (3.6%), *Staphylococcus aureus* (2.1%), coliforms (1.7%), coagulase negative *staphylococci* (1.2%), *Streptococcus* spp. (0.9%), *Corynebacterium* spp. (0.3%), *Micrococcus* spp. (0.2%), CNSSN AND coliforms (0.2%), CNSSN and *Corynebacterium* spp. (0.2%) and CNSRN more coliforms (0.2%). The sensitivity test in vitro was carried out for bacteria of the genus *Staphylococcus*. The highest occurrence of resistance of strains of coagulase-negative *staphylococci* was to penicillin (28.8%), oxacillin (22.1%) and cefepime (19.5%). Among the strains of *S. aureus* there was no resistance to the antibiotics tested. For coagulase positive *staphylococci*, the highest percentage of resistance was found against penicillin (42.9%). The results of antimicrobial susceptibility tests for microorganisms detected in herds highlight their relevance, in order to optimize the effectiveness of healing and reduce the selection pressure for multidrug-resistant strains.

Key words: mastitis, microorganisms, *staphylococci*, sheep.

ETIOLOGÍA INFECCIOSA DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA EN LOS REBAÑOS DE OVEJAS PARA LA PRODUCCIÓN DE CARNE

RESUMEN

La inflamación de la glándula mamaria, conocida como mastitis, tiene origen principalmente infecciosa. La enfermedad es responsable por grandes pérdidas económicas en la producción ovina de corte, ya que causa la eliminación prematura de las ovejas y puede afectar directamente el desarrollo de los corderos. Los objetivos de este estudio fueron determinar los agentes etiológicos principales de mastitis subclínica infecciosa en las ovejas para la producción de carne y analizar el perfil de resistencia frente a 12 antimicrobianos. Se colectaron 576 muestras de 170 animales procedentes de dos rebaños ubicados en São Paulo. De estos, 125 (21,7%) fueron positivos en las pruebas microbiológicas. Estafilococos coagulasa-negativos sensibles a novobiocina (ECNSN) fueron los microorganismos más frecuentes (11,1%), seguido por estafilococos coagulasa-negativos resistentes a la novobiocina (ECNRN) (3,6%), *Staphylococcus aureus* (2,1%), coliformes (1,7%), estafilococos coagulasa negativo (1,2%), *Streptococcus* spp. (0,9%), *Corynebacterium* spp. (0,3%), *Micrococcus* spp. (0,2%), ECNSN más coliformes (0,2%), ECNSN más *Corynebacterium* spp. (0,2%) y ECNRN más coliformes (0,2%). La prueba de sensibilidad in vitro se llevó a cabo por bacterias del género *Staphylococcus*. La mayor incidencia de resistencia de las cepas de estafilococos coagulasa-negativos fue a la penicilina (28,8%), oxacilina (22,1%) y cefepime (19,5%). Entre las cepas de *S. aureus* no hubo resistencia a los ingredientes activos probados. Para los estafilococos coagulasa positivos, el mayor porcentaje de resistencia se encuentra frente a la penicilina (42,9%). Los resultados de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos de los microorganismos detectados en los rebaños son de resaltar su importancia, con el fin de optimizar la eficacia de la curación y reducir la presión de selección de cepas multirresistentes.

Palabras-clave: mastitis, microorganismos, estafilococos, ovejas.

INTRODUÇÃO

A mastite é caracterizada como processo inflamatório da glândula mamária predominantemente de origem infecciosa, classificada em mastite clínica ou subclínica, de acordo com a intensidade das alterações que causam na glândula e no leite (1,2).

A doença na forma clínica apresenta sinais macroscópicos evidentes, permitindo o diagnóstico seguro pela visualização das alterações existentes (3). Os sinais podem variar de acordo com o microrganismo e propriedades de virulência. O leite pode apresentar grumos amarelados ou esbranquiçados, até modificação total da secreção, que pode se tornar aguada ou espessa. Nos casos mais graves há alterações inflamatórias do úbere, incluindo dor, hiperemia, edema e aumento da temperatura local (2).

A forma subclínica da doença não provoca modificações visíveis no aspecto do leite e do úbere, necessitando da adoção de métodos diretos ou indiretos para o diagnóstico. Portanto, a mastite subclínica pode se disseminar no rebanho e causar prejuízos financeiros, além de comprometer a saúde do animal (4). Na forma subclínica ocorre redução da produção e alterações na composição do leite, como o aumento na contagem de células somáticas (5). A invasão da glândula mamária provoca aumento das células de defesa, principalmente neutrófilos, no intuito de combater o processo infeccioso. Essas células de defesa, somadas às células de descamação do epitélio mamário são denominadas células somáticas. O aumento dessas células permite que testes indiretos de diagnóstico, como o *California Mastitis Test* (CMT), auxiliem no diagnóstico da mastite subclínica (6).

A relevância do estudo da mastite em ovinos destinados à produção de carne é justificada pela redução da produção de leite, por alterações na composição e interferência no desenvolvimento dos cordeiros (7,8). As bactérias são os principais agentes etiológicos da mastite infecciosa ovina, com destaque para *Staphylococcus aureus*, *Mannheimia haemolytica*, *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Arcanobacterium pyogenes*, estafilococos coagulase negativa, *Corynebacterium* spp. e *Clostridium* spp. (9). Em estudo sobre a etiologia da mastite infecciosa de ovinos na Espanha, Ariznabarreta et al. (10) relataram que bactérias do gênero *Staphylococcus* foram as mais prevalentes.

O presente estudo investigou a etiologia da mastite subclínica ovina em dois rebanhos de corte do estado de São Paulo e o perfil de resistência dos isolados.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de leite foram provenientes de 170 ovelhas oriundas de rebanhos localizados nas cidades de Nova Odessa e São Carlos, ambas no estado de São Paulo. Os rebanhos foram acompanhados a partir do mês de novembro de 2008 até dezembro de 2009.

Os animais foram criados de forma intensiva na unidade de ovinos localizada em Nova Odessa, em área de aproximadamente 10 hectares, cujo rebanho era formado por animais das raças Santa Inês, Morada Nova, Texel e Suffolk. Após o parto, as ovelhas eram confinadas junto com as crias em baias coletivas até o desmame, quando eram soltas novamente no pasto.

O rebanho localizado em São Carlos era formado por ovelhas deslanadas da raça Santa Inês ou sem raça definida. As matrizes foram criadas de forma intensiva em área de 3,5 hectares. Durante os primeiros dias pós-parto, as ovelhas foram mantidas em pequenos piquetes com acesso a baias coletivas. Aproximadamente duas semanas pós-parto, as ovelhas eram soltas junto com as crias novamente no sistema rotacionado, até o desmame.

As amostras de leite foram colhidas de todas as ovelhas paridas no início da lactação (14 dias pós-parto) e no final do aleitamento (desmame dos cordeiros) (11).

Antes da colheita de amostras de leite visando à cultura microbiana foi realizado o *California Mastitis Test* (CMT) (12). As amostras de leite foram colhidas de mamas reagentes (uma a três cruces) e não reagentes ao CMT. Posteriormente, alíquotas de leite foram colhidas assepticamente em tubos de ensaio esterilizados para os exames microbiológicos (13). Após a limpeza do óstio papilar com álcool etílico 70% (v/v) foram colhidas amostras individuais de 2 a 5 mL de leite, em duplicatas, de cada metade mamária.

As amostras de leite de cada metade mamária foram semeadas em sangue ovino desfibrinado (5%), em duplicatas, na quantidade de 10 microlitros. Após a incubação em aerobiose a 37°C durante 24 a 72 horas, realizou-se a identificação do microrganismos.

As colônias classificadas como cocos Gram-positivos, dispostos ou não sobre a forma de cachos de uva foram submetidos à prova da catalase e da coagulase lenta em plasma de coelho (14). Os isolados catalase e coagulase positivos foram submetidos à prova para verificação da produção de acetoina e utilização ou não da maltose e trealose. As estirpes positivas nestas provas foram classificadas como *Staphylococcus aureus* (15, 16). As estirpes coagulase-negativas foram submetidas ao teste da oxidase e de resistência à furazolidona, com o intuito de diferenciar os gêneros *Staphylococcus* e *Micrococcus* (17) e os isolados identificados como estafilococos coagulase negativa foram submetidos a testes de resistência à novobiocina (15). Colônias pequenas, lisas, translúcidas, circundadas ou não por halo hemolítico, cuja coloração revelou cocos Gram-positivos arranjados em cadeias e negativas à prova da catalase foram identificadas como pertencentes ao gênero *Streptococcus* (13,17). As colônias circulares, brancas, cremes ou opacas em ágar sangue, contendo bastonetes Gram-positivos pleomórficos sob a forma de paliçada e “letras chinesas” típicas de actinomicetos, foram submetidas à prova da catalase e produção de hemólise para diferenciação entre *Corynebacterium* spp. e *Arcanobacterium pyogenes* (10,16).

Os coliformes foram identificados como colônias grandes da cor cinza, reconhecidos como bastonetes Gram-negativos e semeados em *Eosin Methylene Blue agar* (EMB). Em EMB, os coliformes produziram colônias fermentadoras de lactose negras ou que possuíam centros escuros com periferias transparentes incolores, enquanto as não fermentadoras de lactose eram incolores (17).

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Staphylococcus* foram submetidos aos testes de sensibilidade *in vitro* a partir da técnica padrão de difusão com discos (18), frente a 12 antimicrobianos: rifampicina (30µg), cloranfenicol (10µg), vancomicina (30µg), clindamicina (2µg), eritromicina (15µg), penicilina (10 UI), oxacilina (1µg), cefepima (30µg), tetraciclina (30µg), gentamicina (10µg), ciprofloxacina (5µg) e sulfametoxazol (25µg), interpretados segundo o *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (19).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 576 amostras de leite ovino cultivadas, 125 (21,7%) foram positivas nos exames microbiológicos, enquanto nas demais não houve isolamento microbiano.

O CMT foi realizado em 441 metades mamárias, das quais 297 foram consideradas negativas ao teste. Em 144 amostras foram observadas reações com diferentes graus de positividade. Na Tabela 1 estão apresentados os resultados do CMT e dos isolamentos de microrganismos, de acordo com os escores do teste. Ocorreu o isolamento de microrganismos em 38 (12,8%) amostras de leite não reagentes ao CMT. Dentre as metades mamárias com reação positiva ao CMT (uma a três cruces), em 86 (59,7%) não houve isolamento microbiológico, fato que destaca no presente estudo a quantidade de resultados falso-positivos do CMT, quando se considera o exame microbiológico como “padrão-ouro” no diagnóstico.

Coutinho et al. (20) ao realizarem o CMT em 124 metades mamárias de 62 ovelhas da raça Santa Inês, verificaram resultados positivos em 39 metades mamárias. Porém, as análises

microbiológicas do leite revelaram a presença de microrganismos em 33 (84,6%) da amostragem. Em contraste, no presente estudo, dentre as 144 mamas positivas ao CMT, em somente 58 (40,3%) houve isolamentos de microrganismos. No entanto, o percentual total de mamas reagentes ao CMT (32,6%) nos animais amostrados foi superior ao encontrado por Bolsanello et al. (21), que obtiveram 4,4% de mamas ovinas reagentes ao CMT, dentre 482 amostras analisadas.

Tabela 1. Graus de intensidade ao CMT e resultados das análises microbiológicas em leite de ovinos de corte em rebanhos do estado de São Paulo.

Resultados de CMT ^a	Mamas positivas ^b	Mamas negativas ^c	Total de mamas
Negativo	38	259	297
Uma cruz	10	40	50
Duas cruces	20	21	41
Três cruces	28	25	53
Total	96	345	441

^a Intensidade da reação três cruces > duas cruces > uma cruz.

^b Mamas positivas na análise microbiológica.

^c Mamas negativas na análise microbiológica.

Estes achados reforçam que o CMT não deve ser utilizado como único recurso para diagnosticar animais com mastite subclínica em ovelhas com vistas a estabelecer medidas de controle para a doença. Recomenda-se que o CMT seja realizado em conjunto com o exame microbiológico ou outro exame auxiliar.

Os microrganismos encontrados isoladamente ou em associação, além do total de amostras de leite negativas ao exame microbiológico estão descritos na Tabela 2. Os estafilococos coagulase negativa sensíveis à novobiocina foram os agentes etiológicos mais frequentes nas amostras de leite estudadas. Isoladamente foram encontrados em 11,1% do total das amostras de leite, além de dois isolamentos em conjunto com outros microrganismos.

Tabela 2. Isolamento microbiológico em amostras de leite de metades mamárias ovinas em rebanhos do estado de São Paulo.

Microrganismos	Rebanho A		Rebanho B		Total	
	N	%	N	%	N	%
ECNSN ¹	54	12,0	10	7,9	64	11,1
ECNRN ²	14	3,1	7	5,5	21	3,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	1,8	4	3,2	12	2,1
Coliformes	9	2,0	1	0,8	10	1,7
ECP ²	5	1,1	2	1,5	7	1,2
<i>Streptococcus</i> spp.	4	0,9	1	0,8	5	0,9
<i>Corynebacterium</i> spp.	2	0,4	0	0,0	2	0,3
<i>Micrococcus</i> spp	1	0,2	0	0,0	1	0,2
ECNSN e Coliformes	1	0,2	0	0,0	1	0,2
ECNSN e <i>Corynebacterium</i> spp.	1	0,2	0	0,0	1	0,2
ECNRN e Coliformes	0	0,0	1	0,8	1	0,2
Sem isolamento	350	78,0	101	79,5	451	78,3
Total	449	100,0	127	100,0	576	100,0

¹ Estafilococos coagulase negativa sensível à novobiocina.

² Estafilococos coagulase positiva resistente à novobiocina

Nas amostras em que houve isolamento de microrganismos, estafilococos coagulase negativa foram identificados em 68% e 70,4%, isoladamente ou em associação com outros Zafalon LF et al. Etiologia infecciosa da mastite subclínica ovina em rebanhos destinados à produção de carne. Vet. e Zootec. 2010 dez.; 17(4): 568-576.

microrganismos, respectivamente. Estes resultados concordam com os verificados por Bolsanello et al. (21) que, ao investigarem a etiologia da mastite em rebanho de ovelhas da raça Bergamácia, relataram os estafilococos coagulase negativa como os agentes mais frequentes, correspondendo a 61,1% dos isolamentos, seguidos por *Corynebacterium bovis* (11,2%), *Streptococcus* spp. (3,1%), enterobactérias (2,9%) e *Micrococcus* spp. (1,4%).

O teste de resistência à novobiocina é um critério associado com a patogenicidade estafilocócica. Isolados com sensibilidade à novobiocina são descritos como responsáveis por alterações clínicas da mama, diferentemente dos resistentes à novobiocina, ainda por razões desconhecidas. A maior ocorrência dos microrganismos com sensibilidade à novobiocina também foi relatada por outros autores (10, 22).

Nas ovelhas amostradas, *S. aureus* foi a espécie isolada em 21,1% das ovelhas. Em contraste, Al-Majali e Jawabreh (23) relataram este microrganismo como o mais prevalente em amostras de leite de ovelhas da raça Awassi com mastite subclínica, correspondendo a 39,0% dos isolados. No presente estudo, coliformes foram mais frequentes que *S. aureus* em um dos rebanhos, talvez por condições particulares de ambiente que propiciaram um nível mais elevado de ocorrência.

Os estafilococos foram o grupo de microrganismos mais frequentemente isolados nos dois rebanhos. Desta forma, foram submetidos aos testes de sensibilidade *in vitro* frente a 12 princípios ativos. A Tabela 3 sumariza o perfil de resistência de estafilococos coagulase negativa, *S. aureus* e estafilococos coagulase positiva, isolados em casos de mastite subclínica nos rebanhos de ovinos de corte estudados.

Tabela 3. Percentuais de sensibilidade *in vitro* de microrganismos do gênero *Staphylococcus* isolados em casos de mastite subclínica ovina.

Princípios ativos	Microrganismos								
	Estafilococos Coagulase Negativa			<i>Staphylococcus aureus</i>			Estafilococos Coagulase Positiva		
	S ¹	I ²	R ³	S	I	R	S	I	R
Rifampicina	98,8	1,1	-	100,0	-	-	100,0	-	-
Sulfametoxazol	98,8	-	1,2	100,0	-	-	100,0	-	-
Vancomicina ⁴	93,1	-	-	83,3	-	-	100,0	-	-
Cloranfenicol	96,6	3,4	-	100,0	-	-	100,0	-	-
Gentamicina	91,9	1,2	6,8	100,0	-	-	71,4	-	28,6
Tetraciclina	92,0	5,7	2,3	91,6	8,4	-	100,0	-	-
Clindamicina	87,3	5,7	7,0	100,0	-	-	71,4	-	28,6
Ciprofloxacina	83,9	14,9	1,2	50,0	50,0	-	71,4	28,6	-
Cefepima	74,7	5,8	19,5	91,6	8,4	-	71,4	-	28,6
Oxacilina	77,9	-	22,1	100,0	-	-	71,4	-	28,6
Penicilina	71,2	-	28,8	100,0	-	-	57,1	-	42,9
Eritromicina	57,5	39,0	3,5	50,0	50,0	-	100,0	-	-

¹ Sensível ao princípio ativo testado.

² Sensibilidade intermediária ao princípio ativo testado.

³ Resistente ao princípio ativo testado.

⁴ Amostras resistentes à vancomicina não inseridas, pois devem ser submetidas à confirmação da resistência apresentada por técnica laboratorial adicional.

Estafilococos coagulase negativa apresentaram os maiores percentuais de sensibilidade à rifampicina, ao sulfametoxazol e à vancomicina (98,8%, 98,8% e 93,1% respectivamente). Os maiores percentuais de resistência das estirpes foram observados frente à penicilina, oxacilina e cefepima (28,8%, 22,1% e 19,5% respectivamente). Coutinho et al. (20) em

estudo sobre a etiologia da mastite ovina e a sensibilidade dos microrganismos aos antimicrobianos relataram que 89,5% dos isolados foram sensíveis à oxacilina e nenhuma estirpe foi resistente a esse princípio ativo. No presente estudo, as estirpes de estafilococos coagulase negativa que apresentaram resistência à oxacilina foram isoladas apenas em um dos rebanhos e provas moleculares para a investigação da presença do gene estrutural *mecA*, um dos responsáveis por conferir esse tipo de resistência em estafilococos serão realizadas futuramente nos isolados.

Entre os isolados de *S. aureus* não foi encontrada resistência aos princípios ativos testados. Resultados semelhantes aos obtidos no presente estudo foram observados em isolados de *S. aureus* obtidos de leite ovino, nos quais evidenciou-se altos índices de sensibilidade a todos os princípios ativos utilizados, com percentuais de resistência de 6,3%, apenas para a penicilina e ampicilina (24).

Dentre as estirpes de estafilococos coagulase positiva, 100% foram sensíveis à rifampicina, sulfametoxazol, vancomicina, cloranfenicol, tetraciclina e eritromicina. Isolados resistentes foram encontrados frente à penicilina (42,9%), além da resistência à oxacilina, clindamicina, gentamicina e ao cefepime (28,6%).

O tratamento de casos de mastite em ovelhas em rebanhos destinados à produção de carne não é uma prática comum em medicina veterinária. No entanto, a presença de estirpes com sensibilidade intermediária e resistentes reforça a necessidade de tratamentos serem preconizados com o respaldo do antibiograma.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos revelaram que o gênero *Staphylococcus* apresentou maior ocorrência na etiologia infecciosa da mastite ovina nos rebanhos estudados, com predomínio dos coagulase negativa. As diferenças observadas nos perfis de resistência dos microrganismos revelam a importância da realização de testes de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* para a escolha do agente antimicrobiano mais adequado para o tratamento da mastite infecciosa, com vistas a otimizar a eficácia de cura e reduzir a pressão de seleção para estirpes multirresistentes.

Aprovado pelo Comitê de Ética da Embrapa Pecuária Sudeste em 15/12/2008.

REFERÊNCIAS

1. Domingues FD, Langoni H. Manejo sanitário animal: mastite bovina. Rio de Janeiro: EPUB; 2001.
2. Charles TP, Furlong J. Doenças dos bovinos de leite adultos. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPQ; 1992.
3. Brito JRF, Brito MAVP. Programas de controle das mastites causadas por microrganismos contagiosos e do ambiente. Juiz de Fora: Embrapa; 1998.
4. Radostits OM, Blood DC, Gay CC. Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
5. Gianola D, Heringstad B, Klemetsdal G, Chang YM. Longitudinal analysis of clinical mastitis at different stages of lactation in Norwegian cattle. *Livest Prod Sci.* 2004; 88: 251-61.

6. Fonseca LFL, Santos MV. Qualidade do leite e controle de mastite. São Paulo: Lemos; 2000.
7. Fthenakis GC, Jones JE. The effect of experimentally induced subclinical mastitis on milk yield of ewes and on the growth of lambs. *Br Vet J.* 1990; 143: 43-9.
8. Winter P, Schilcher F, Fucks K, Colditz IG. Dynamics of experimentally induced *Staphylococcus epidermidis* mastitis in East Friesian milk ewes. *J Dairy Res.* 2003; 70: 157-64.
9. Domingues PF, Leite CA. Mastite em ovinos. *Berro.* 2005; 74: 50-60.
10. Ariznabarreta A, Gonzalo C, San Primitivo F. Microbiological quality and somatic cell count of ewe milk with special reference to staphylococci. *J Dairy Sci.* 2002; 85: 1370-5.
11. Hariharan H, Donachie W, Macaldowie C, Keefe G. Bacteriology and somatic cell counts in milk samples from ewes on a Scottish farm. *Can J Vet Res.* 2004; 68: 188-92.
12. Schalm OW, Noorlander DO. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *J Am Vet Med Assoc.* 1957; 130: 199-207.
13. Harmon RJ, Eberhart RJ, Jasper DE, Langlois BE, Wilson RA. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infections. Arlington: National Mastitis Council; 1990.
14. Holmberg O. *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk. *Acta Vet Scand.* 1973; 45 Suppl: 1-144.
15. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Gram-positive cocci. In: *Bergey's manual of determinative bacteriology.* Baltimore: Williams & Wilkins; 1994. p.544-51.
16. Zafalon LF. Mastite subclínica bovina por *Staphylococcus aureus*: qualidade e quantidade de leite secretado por quartos tratados e não tratados e relação custo/benefício do tratamento durante a lactação [tese]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista; 2003.
17. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn Jr WCW. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. Rio de Janeiro: Medsi; 2001.
18. Bauer AW, Kirby WMM, Truck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am J Clin Pathol.* 1966; 45: 493-6.
19. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Fifteenth Informational Supplement; 2005. v.25, n.1 (M100-S14).
20. Coutinho DA, Costa JN, Ribeiro MG, Torres JA. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana in vitro de bactérias isoladas de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica. *Rev Bras Saude Prod Anim.* 2006; 7: 139-51.

21. Bolsanello RX, Hartman M, Domingues PF, Mello Júnior AS, Langoni L. Etiologia da mastite em ovelhas Bergamácias submetidas à ordenha mecânica, criadas em propriedades de Botucatu, SP. *Vet Zootec*. 2009; 16: 221-7.
22. Gonzalo C, Ariznabarreta A, Carriedo JA, Primitivo FS. Mammary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. *J Dairy Sci*. 2002; 85: 1460-7.
23. Al-Majali AM, Jawabreh S. Period prevalence and etiology of subclinical mastitis in Awassi sheep in southern Jordan. *Small Rumin Res*. 2003; 47: 243-8.
24. Pengov A, Ceru S. Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine and ovine mammary glands. *J Dairy Sci*. 2003; 86: 3157-63.

Recebido em: 13/04/2010

Aceito em: 09/11/2010