

Perfil etiológico da mastite bovina na bacia leiteira do oeste paranaense, Brasil*

Júlia Gazzoni Jardim¹⁺, Bruno Borges Deminicis², Erika Cosendey Toledo de Mello Peixoto³, Eduardo Luiz Heinzen⁴ e Paulo Francisco Domingues⁵

ABSTRACT. Jardim J.G., Deminicis B.B., Peixoto E.C.T.M., Heinzen E.L. & Domingues P.F. [Etiological profile of bovine mastitis from dairy farms in the Western Paraná, Brazil.] Perfil etiológico da mastite bovina na bacia leiteira do oeste paranaense, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 36(1):65-70, 2014. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego, 2000, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-600, Brasil. E-mail: jugazzoni@hotmail.com

The aim of this study was evaluate the occurrence, infectious etiology and risk factors associated with mastitis in 331 dairy cows from sixteen farms located in the region of Marechal Cândido Rondon in the State of Paraná, Brazil. Both cows as the properties were selected of a non-random form and being selected 20% of lactation cows from each farm. The test for identification of subclinical mastitis was the California Mastitis Test and the diagnosis of the clinical mastitis was carried out by the observation of signs of inflammation in the udder and macroscopic changes in milk. Of lactating cows, 195 (60.77%) were positive for mastitis and 93,75% of the farms analyzed had at least one positive animal. The etiologic agents isolated in a total of three hundred twenty-nine samples were *Staphylococcus aureus* (47.2%), *Staphylococcus* sp. (29.2%), *Streptococcus dysgalactiae* (18.1%), *Streptococcus uberis* (16,7%), *Corynebacterium* spp. (11,1%) and *Streptococcus intermedius* (1.39%). Besides, was evaluated the interaction of the type of mechanical milking in function of the mastitis degree and the use of the disinfection of teats before and after milking was not interference in mastitis incidence, however, the accomplishment of the disinfection of teats before and after -dipping favored in the control of subclinical mastitis. We conclude that the significant occurrence of mastitis in herds is due to improper management conditions. The adoption of good management and prophylactic measures, assisted by a professional of Animal Science surgeon will allow the reduction of this disease in herds.

KEY WORDS. Disinfection, mastitis, quality of milk.

RESUMO. O objetivo neste estudo foi avaliar a ocorrência, etiologia infecciosa e os fatores de risco associados à mastite em 331 vacas, provenientes

de 16 propriedades leiteiras localizadas na região de Marechal Cândido Rondon, PR. Tanto as vacas quanto as propriedades foram selecionados de for-

* Recebido em 20 de junho de 2012.

Aceito para publicação em 16 de dezembro de 2013.

¹ Zootecnista, MSc. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego, 2000, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-600, Brasil. + Autora para correspondência, E-mail: jugazzoni@hotmail.com

² Zootecnista, DSc. Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/nº, Guararema, Cx. Postal 16, Alegre, ES 29500-000, Brasil.

³ Médico-veterinário, D.Sc. Faculdade Luiz Meneguel, Universidade Estadual do Norte do Paraná, Rua Padre Melo, 1200, Jardim Marymar, Bandeirantes, PR 86400-000, Brasil.

⁴ Zootecnista. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Ceará, Av. da Universidade, 2853, Benfica, Fortaleza, CE 60020-181, Brasil e Instituto de Desenvolvimento Rural do Amapá (RURAP), Rodovia BR 156 Km 2, São Lázaro, Macapá, AP 68908-575, Brasil.

⁵ Médico-veterinário, DSc. Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Unesp/Botucatu, Distrito de Rubião Júnior, s/n, Botucatu, SP 18618-900, Brasil.

ma não aleatória e foram escolhidas 20% das vacas em lactação de cada propriedade. O teste para identificação da mastite subclínica foi o *California Mastitis Test* e o diagnóstico da mastite clínica foi realizado pela observação de sinais de inflamação no úbere e alterações macroscópicas no leite. Das vacas em lactação, 195 (60,77%) estavam com mastite e 93,75% das propriedades analisadas tinham pelo menos um animal positivo. Os agentes etiológicos isolados em um total de 329 amostras de leite foram *Staphylococcus aureus* (47,2%), *Staphylococcus* sp. (29,2%), *Streptococcus dysgalactiae* (18,1%), *Streptococcus uberis* (16,7%), *Corynebacterium* spp. (11,1%) e *Streptococcus intermedius* (1,39%). Além disso, avaliou-se a interação do tipo de ordenhadeira em função do grau de mastite e o uso de desinfecção de tetos antes e após ordenha não sendo verificada interferência na incidência de mastite, entretanto, a prática de desinfecção dos tetos antes e após a ordenha, favoreceu o controle de mastite subclínica. Conclui-se que a ocorrência de mastite deve-se a condições de manejo inadequadas. A adoção de boas práticas de manejo e medidas profiláticas, assistidas por um Zootecnista permitirá a diminuição dessa enfermidade nos rebanhos.

PALAVRAS-CHAVE. Desinfecção, mastite, qualidade do leite.

INTRODUÇÃO

A inflamação da glândula mamária ou mastite apresenta grande importância na bovinocultura leiteira mundial, pois continua sendo um dos maiores problemas sob o ponto de vista econômico, por afetar a produção em quantidade e qualidade (Costa 2000), causando prejuízos aos produtores, à indústria e provocando riscos à saúde pública (Santos et al. 2010).

A fim de garantir produtos de melhor qualidade, desde 2007 entrou em vigor, em todas as regiões do Brasil, a Instrução Normativa nº 51 (Brasil 2002), atualmente substituída pela IN 62/2011 que dentre outros pontos determina novas normas para produção, identidade, qualidade e transporte do leite a granel (Brasil 2011). A mastite bovina caracteriza-se por enfermidade multifatorial que para ser controlada, faz-se necessário rigoroso monitoramento dos animais, do homem, ambiente, instalações, manejo de ordenha (Brito 2000).

A mastite subclínica está entre as principais doenças em propriedades leiteiras, causando grandes prejuízos aos produtores, principalmente devido à redução na produção de leite (Ruegg 2003, Zafalon et al. 2007). Essa redução ocorre devido a alterações

nas células epiteliais secretoras e na permeabilidade vascular no alvéolo secretor durante a infecção. A extensão da perda é influenciada por diversos fatores como gravidade da infecção, tipo de microrganismo causador, duração, idade do animal, época do ano, estado nutricional e potencial genético (Cunha et al. 2008).

Levando-se em consideração que a região Oeste do Paraná é importante produtora de leite, e que são insatisfatórias as condições físico-químicas do leite pasteurizado e produzido nesta região, considerando-se amplos aspectos, o levantamento epidemiológico referente à prevalência e incidência de mastite determinará a eficiência das estratégias de controle e tratamento (Zocche et al. 2002).

Objetivou-se com este trabalho, isolar e identificar os principais agentes etiológicos causadores de mastite no rebanho leiteiro em pequenas propriedades leiteiras da região Oeste do Estado do Paraná, determinando seus principais microorganismos infectantes e o grau de infecção no rebanho através da contagem de células somáticas, podendo dessa forma, contribuir no estabelecimento de estratégias de controle e monitoramento da doença na região a fim de gerar subsídios no desenvolvimento de um sistema microbiológico que permita identificação rápida e barata dos patógenos envolvidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Em parceria com o Centro de Apoio ao Pequeno Agricultor (CAPA), o presente trabalho se desenvolveu em 16 propriedades leiteiras de produção familiar, no município de Marechal Cândido Rondon-PR. Tanto as vacas quanto as propriedades foram selecionados de forma não aleatória, e foram escolhidas 20% das vacas em lactação de cada propriedade.

Os trabalhos foram iniciados em Março de 2006 e finalizados em Dezembro de 2007. Avaliou-se 1324 quartos mamários em 331 animais da raça Holandesa, Preto e Branco e seus cruzamentos, com produção média diária de 20 litros de leite por animal. Efetuaram-se os testes Tamis, Califórnia Mastite Teste (CMT), Contagem de Células Somáticas (CCS) e exame microbiológico individual em 1314 quartos mamários, pois 10 destes apresentavam-se atrofiados pela fibrose de mastites anteriores.

O teste de Tamis (caneca de fundo preto ou telado) foi realizado antes da primeira ordenha do dia, a partir da coleta dos três primeiros jatos de leite de cada quarto mamário. Um recipiente de fundo preto foi utilizado, para pesquisa de grumos, coágulos, pus ou outras alterações indicativas de mastite clínica (Radostits et al. 1994).

O CMT foi realizado em recipiente plástico, com quatro compartimentos iguais de 1,5cm de altura, onde foram coletados 2mL de leite de cada quarto mamário separadamente. Foi adicionado, em igual volume, rea-

gente próprio (lauril sulfato de sódio a 3%), detergente aniônico corado com bromocresol púrpura, e por meio de movimentos circulares realizou-se a mistura durante 20 segundos (Schalm & Noorlander 1957). Os animais foram classificados em 4 categorias: 0 (zero) representou todos os animais cujos exames não apresentaram reação; 1 atribuído de acordo com leve reação e formação de gel (escore +), 2 para formação mais espessa com mamilo central (escore ++) e 3 formação de gel muito espesso aderente ao fundo do recipiente (escore +++). O quarto mamário foi considerado positivo para mastite subclínica quando apresentou escores 1+, 2+ ou 3+, e negativo na ausência de reação.

Adicionalmente realizou-se contagem de célula somática (CCS) e exame microbiológico em 329 amostras de leite. Em relação à CCS, as amostras foram coletadas isoladamente em frasco identificado, contendo conservante Bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanodiol), e mantidas em temperatura ambiente até seu processamento. Utilizou-se aparelho eletrônico Somacount 300 (Bentley), e valores maiores ou iguais a 200 mil células somáticas por mililitro de leite foram consideradas positivas para mastite subclínica (Ruegg 2003).

Para realizar a coleta de leite, as mãos do coletor foram lavadas, desinfetadas (álcool 70%) e enluvadas. As tetas foram lavadas com água para remoção de sujidades provenientes de camas, poeira, fezes, etc. e procedeu-se secagem pelo uso de papel toalha. Posteriormente, foi realizada anti-sepsia das extremidades das tetas com algodão embebido com álcool 70%. As coletas de leite foram realizadas antissépticamente, em frascos estéreis, transportadas sob refrigeração em caixa térmica à temperatura de 4-5°C e mantidas congeladas a -18°C, conforme recomendações de Brito & Brito (1999). Após o término do período de coleta, as amostras congeladas foram enviadas ao laboratório do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP/Botucatu, SP.

Procedeu-se inicialmente o cultivo microbiológico em placas de Agar sangue, Agar MacOnkey (Bolsanello et al. 2009). Utilizou-se 0,1 mL de leite em placas de Petri contendo os meios de ágar-sangue ovino a 5% e MacConkey ágar, incubando-se a 37°C. Realizaram-se as leituras das placas às 24, 48 e 72 horas, observando-se a morfologia das colônias além da quantidade desenvolvida.

A seguir, utilizou-se microscopia ótica e coloração pelo método de Gram, para avaliação das características morfotintoriais das colônias desenvolvidas (Harmon et al. 1990, Freitas et al. 2009). As colônias foram selecionadas e inoculadas para o caldo de infusão cérebro-coração (BHI) para realização das provas taxonômicas (Krieg & Holt 1984, Carter & Cole Junior 1990, Quinn et al. 1994).

As colônias de *Staphylococcus* foram avaliadas ainda nos meios Manitol Salt Agar e Maltose. Avaliou-se reação de catalase, coagulase, Camp Teste e Teste de Esculina, para determinação das diferentes espécies dos gêneros de *Staphylococcus* e *Streptococcus* (Sa et al. 2004).

Para avaliação do tipo de ordenhadeira sobre a inci-

dência dos casos de mastite clínica e subclínica foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos (tipo de ordenhadeira) e oito repetições (propriedades). Para avaliação da frequência de mastite em relação à utilização de desinfetantes durante a ordenha foi utilizado o delineamento inteiramente casual com quatro tratamentos (Tipo de desinfecção) com quatro repetições (propriedades).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 331 vacas, 195 (60,77%) encontravam-se positivas para mastite (na forma subclínica e cinco na forma clínica) confirmadas ao exame microbiológico, em que 93,75% (15/16) das propriedades analisadas havia pelo menos um animal positivo, e a positividade nos rebanhos variou de 10 a 83% o que evidencia que, apesar de as propriedades estarem inseridas na mesma região, o tipo de manejo, quando bem adotado, mostra-se fundamental na diminuição da ocorrência dessa afecção nos rebanhos. Os resultados do presente estudo corroboram com os resultados verificados por Oliveira et al. (2010) que observaram em 90%, das propriedades analisadas, pelo menos um animal positivo, e a positividade nos rebanhos variando entre 12,5 a 73,33%. Martins et al. (2010) verificaram que em 85,2% das vacas examinadas, foi observada a presença de mastite clínica ou subclínica em pelo menos um quarto. Conforme demonstrado na Tabela 1, o presente estudo registrou valores acima daqueles considerados ideais, que conforme Fonseca & Santos (2000) devem ser abaixo de 1% e 15%, para mastite clínica e subclínica respectivamente.

Bueno et al. (2002) verificaram as frequências de mastite clínica e subclínica em cinco rebanhos leiteiros da região de Pirassununga, SP e encontraram frequências médias de 7,46% para mastite clínica e 63,68% subclínica, respectivamente. A forma subclínica representa maior impacto na produtividade leiteira devido a sua maior prevalência, principalmente porque passa despercebida entre os animais do rebanho leiteiro (Ribeiro Júnior et al. 2008). Um quarto afetado com mastite subclínica diminui em 30% sua produtividade e as fêmeas afetadas per-

Tabela 1. Porcentagem de quartos mamários livres de mastite e acometidos pela forma clínica e subclínica, de acordo com seu grau de acometimento: leve +, moderado ++ e severo +++.

Tipo de mastite	Nº quartos mamários	%
Clínica	19	1,43
Subclínica +	200	15,25
Subclínica ++	209	15,89
Subclínica +++	371	28,20
Livres de mastite	515	39,24
Total de casos avaliados	1314	

dem até 15% da sua produção na lactação (Prasad et al. 2002). A análise microbiológica das amostras positivas para mastite subclínica (Figura 1) apontou presença de *Staphylococcus aureus* (47,2%), *Staphylococcus spp.* (29,1%), *Streptococcus dysgalactiae* (18,0%) *Streptococcus uberis* (16,6%), *Corinebacterium sp.* (11,1%) e *Streptococcus intermedius* (1,39%).

Estes resultados corroboram com os aferidos por Beloti et al. (1997), Voltolini et al. (2001), Almeida et al. (2005) e Medeiros et al. (2008) que observaram alta ocorrência desses mesmos microorganismos, respectivamente em Londrina-PR, Maringá-PR e Recife-PE. Santos et al. (2010) em Santa Isabel-PR, verificou que *S. aureus* foi o patógeno primário mais frequentemente isolado (18,70%), entretanto os resultados observados por esses autores foi bem abaixo do verificado no presente estudo. Ao contrário de diversos países que erradicaram o *Streptococcus agalactiae*, esse agente foi isolado de 3,5% das amostras com crescimento bacteriano.

A etiologia da mastite é complexa e multivariada, o que torna necessária à identificação dos microorganismos que causam a infecção da glândula mamária, tanto para o controle e prevenção, quanto para o monitoramento de rebanhos (Ribeiro et al. 2003), entretanto, a alta frequência dos agentes etiológicos identificados sugere que nos rebanhos avaliados não estão sendo realizadas medidas de controle da mastite eficientes. Santos et al. (2010) verificou que os casos de mastite bovina clínica ou subclínica presentes na região da bacia leiteira de Santa Izabel do Oeste derivam, principalmente, das falhas de higiene antes, durante e após a ordenha, já que há grande prevalência de patógenos secundários e ambientais, sendo frequente o isolamento de *Staphylococcus coagulase negativo*.

Levando-se em consideração que os animais avaliados pelo presente estudo eram provenientes de rebanho comercial, os quartos acometidos por mastite clínica estavam sendo tratados por meio de antibioticoterapia, dessa forma não foram avaliados microbiologicamente. Assim, não foi observado presença de enterobactérias, entretanto, Bradley & Green (2000) mencionaram que enterobactérias, causadoras de infecções durante o período seco, têm habilidade em se manterem quiescentes na glândula mamária até o parto, subsequentemente, causando mastite clínica durante fase inicial da lactação.

As propriedades avaliadas eram essencialmente de atividade familiar, possuindo rebanho com média de 20 fêmeas e produção média diária de 20 litros de leite por animal. A maioria das proprieda-

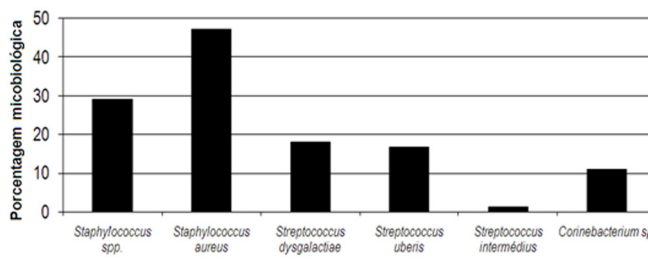


Figura 1. Microrganismos isolados em amostras de leite de quartos mamários acometidos por mastite subclínica.

Tabela 2. Comparação de médias em função do grau de mastite bovina e o tipo de ordenhadeira mecânica utilizada: parcialmente canalizada tipo balde ao pé e totalmente canalizada para o manejo.

Tipo de ordenhadeira	% Subclínica	% Clínica
Balde ao pé	58,76 a	0,00 b
Canalizada	46,94 a	0,98 a
CV%	16,48	64,37

* médias seguidas na mesma coluna por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

des (60%) apresentou salas de ordenha construída em madeira e piso de cimento, enquanto nas demais (40%) foram construídas totalmente em alvenaria.

Quanto ao tipo de ordenha, nenhuma propriedade realizava sistema manual de ordenha, oito utilizam sistema de ordenha mecânica com balde ao pé e oito utilizam sistema canalizado. Verificou-se que a incidência média de mastite subclínica (Tabela 2), nas propriedades que utilizam ordenhadeira parcialmente canalizada tipo balde ao pé foi de 58,76%, enquanto que naquelas totalmente canalizada foi de 46,94%.

Não houve diferença significativa na utilização de diferentes tipos de ordenhadeiras em relação à ocorrência mastite subclínica. Este resultado pode ser devido ao fato de que todas as propriedades apresentaram equipamentos de ordenha adequados quanto à pressão de vácuo. Verificou-se pressão de ordenha constante e variável entre 43 e 50 kPa, mantendo a estabilidade de vácuo, e dessa forma estando de acordo com as recomendações técnicas (Horst 2004).

Entretanto, em relação à mastite clínica, apesar de ter sido observado baixa ocorrência, verificou-se diferença significativa. Provavelmente, este resultado se deveu ao fato de que a mastite clínica é considerada de caráter ambiental, e o presente estudo verificou a ocorrência de falhas nos procedimentos de higiene e limpeza, inclusive na higiene pessoal dos ordenhadores. Entretanto, e considerando que os resultados aqui levantados determinaram a forma contagiosa, como sendo a de maior ocor-

Tabela 3. Incidência de mastite subclínica em função da utilização de diferentes tipos de desinfecção.

Tipo de desinfecção	% Mastite
Pré e Pós-dipping	32,65 a
Pré-dipping	43,17 ab
Pós-dipping	49,52 ab
Nenhum	65,24 c
CV%	17,97

* médias seguidas na mesma coluna por letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%).

rência, para as propriedades visitadas, estabeleceu-se como meta prioritária a implantação de manejo higiênico sanitário nos rebanhos seguindo as recomendações de Guerreiro et al. (2005); principalmente em relação à implantação da desinfecção dos tetos antes e após a ordenha.

Verificou-se que a incidência da mastite subclínica nas propriedades (Tabela 3) que utilizavam anti-sépticos é menor em relação às demais que não utilizam nenhum produto para o manejo sanitário da ordenha, o que pode ter contribuído para a alta incidência de mastite subclínica nos animais examinados. O uso isolado de pré ou pós-dipping não diferiram significativamente entre si, porém, quando combinados apresentaram uma melhor resposta no controle de mastite subclínica no rebanho. Entretanto, a falta de uso de desinfetantes agravou a incidência de mastite subclínica do rebanho.

Com relação às soluções desinfetantes, as propriedades que realizam desinfecção dos tetos antes da ordenha utilizaram hipoclorito de sódio (5 ml na concentração de 2 - 2,5%) diluído em um litro de água e as propriedades que realizam após a ordenha, utilizaram soluções de iodo a 1%.

A realização de desinfecção dos tetos contribui para diminuir a possibilidade de infecções mamárias dos animais, além de favorecer a qualidade do leite e a eficácia dessa desinfecção pode ser influenciada pelo tipo de antisséptico, pela presença de matéria orgânica, pela falta de reposição do produto e pelo tipo de aplicador utilizado. A desinfecção dos tetos antes da ordenha pode prevenir a contaminação do equipamento de ordenha por microrganismos de origem ambiental encontrado na superfície do teto, e após, previne a proliferação de microrganismos adquiridos durante o processo de ordenha (Yamamura et al. 2008).

CONCLUSÃO

A elevada prevalência de mastite pode representar um risco à saúde de consumidores de produtos lácteos e resultar em perdas econômicas às indústrias de laticínios locais. O predomínio de *S.*

aureus, de *Staphylococcus* spp. e de *Corynebacterium* sp. como agentes causais de mastite indica a ocorrência de falhas de higiene durante a ordenha e alerta para o risco de animais portadores de mastites atuarem como fonte de infecção para o rebanho, confirmando a necessidade de envolvimento técnico e assessoramento continuado, a fim de se conscientizar sobre a importância da aplicação de boas práticas higiênicas no manejo da ordenha, principalmente no que se refere à desinfecção dos tetos.

REFERÊNCIAS

- Almeida A.C., Soares T.M.P., Silva D.B., Silveira A.L., Fiorini J.E. & Fonseca Y.M. Eficácia de tratamento homeopático no controle da mastite subclínica em bovinos. *Vet. Not.*, 11:53-59, 2005.
- Beloti V., Müller E., Freitas J. & Mettífogo E. Estudo da mastite subclínica em rebanhos leiteiros no norte do Paraná. *Semina: Cienc. Agr.*, 18:45-53, 1997.
- Bolsanello R.X., Hartman M., Domingues P.F., Mello Júnior A.S. & Langoni H. Etiologia da mastite em ovelhas Bergamácia submetidas à ordenha mecânica, criadas em propriedades de Botucatu, SP. *Vet. Zootec.*, 16:221-227, 2009.
- Bradley A.J. & Green M.J. A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. *J. Dairy Sci.*, 83:1957-1965, 2000.
- Brasil. Ministério de Agricultura e do Abastecimento, Instrução normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade coleta e transporte de leite. *Diário Oficial da União*, Brasília, D.F. Seção 1, 2002. p.23-57,
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Disponível em: [http://www.sindicat.com.br/gomanager/arquivos/IN62_2011\(2\).pdf](http://www.sindicat.com.br/gomanager/arquivos/IN62_2011(2).pdf). Acesso em: 3 Ago 2014.
- Brito M. A. *Resíduos de antimicrobianos no leite*. Circular Técnica. Embrapa-CNPGL, Juiz de Fora, 2000. 28p.
- Brito M.A.V.P. & Brito J.R.F. *Diagnóstico microbiológico da mastite*. Circular Técnica. Embrapa-CNPGL, Juiz de Fora, 1999. 26p.
- Bueno V.F.F., Nicolau E.S., Silva R.A., Mesquita A.J., Couto D.V. & Coelho K.O. Mastite bovina clínica e subclínica, na região de Pirassununga, SP: frequências e redução na produção. *Cienc. Anim. Bras.*, 3:47-52, 2002.
- Carter G.R. & Cole Junior J.R. *Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology*. 5th ed. Academic Press, New York, 1990. 620p.
- Costa E.O. *NAPGAMA (Série Mastite)*. Napgama, São Paulo, 2000. 190p. CD ROM.
- Cunha R.P., Molina L.R., Carvalho A.U., Facury Filho E.J., Ferreira P.M. & Gentilin M.B. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 60:19-24, 2008.
- Fonseca L.F.L. & Santos M.V. *Qualidade do leite e controle de mastite*. Lemos Editorial, São Paulo, 2000. 175p.
- Freitas M.F.L., Luz I.S., Pinheiro-Junior J.W., Duarte D.A.M., Ribeiro A.R., Mota R.A., Balbino T.C.L. & Stamford T.L.M. Detecção de genes toxigênicos em amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de queijos de coalho. *Cienc. Tecnol. Alim.*, 29:1-5, 2009.
- Guerreiro P.K., Machado, M.R.F., Braga G.C., Gasparino E. & Franzenner A.S.M. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. *Cienc. Agrotec.*, 29:216-222, 2005.
- Harmon R.J., Eberhart D.E., Jasper B.E. & Langlois R.A. *Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection*. 3rd ed. National Mastitis Council, Arlington, 1990.
- Horst J.A., Valloto A.A. & Ribas Neto P.G. *Trabalhador na bovinocultura de leite: manejo da ordenha*. SENAR, Curitiba, PR. 2004, 36p.

- Krieg, N.R. & Holt J.G. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1:140-408, 1984.
- Santos L.L., Pedroso T.F.F. & Guirro E. Perfil etiológico da mastite bovina na bacia leiteira de Santa Izabel do Oeste, Paraná. *Cienc. Anim. Bras.*, 11:860-866, 2010.
- Martins R.P., Silva J.A.G., Nakazato L., Dutra V. & Almeida Filho E.S. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. *Cienc. Anim. Bras.*, 11:181-187, 2010.
- Medeiros E.S., Pinheiro Jr, J.W., Peixoto R.M., Silva Filho A.P., Faria E.B. & Mota R.A. Avaliação do exame microbiológico, California Mastitis Test e Somaticell® no diagnóstico da mastite subclínica em bovinos leiteiros. *Med. Vet.*, 2:16-22, 2008.
- Oliveira U.V., Galvão G.S., Paixão A.R.R. & Munhoz A.D. Ocorrência, etiologia infecciosa e fatores de risco associados à mastite bovina na microrregião Itabuna-Ilhéus, Bahia. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, 11:630-640, 2010.
- Prasad H., Roychoudhury G.K. & Patgir G. Economic gain on elimination of sub-clinical mastitis by dry-cow therapy. *Intern. J. Dairy Sci.*, 55:97-99, 2002.
- Quinn P.J., Carter M.E., Markey B.K. & Carter G.R. *Mastitis*, p.327-344. In: Quinn P.J., Carter M.E., Markey B.K. & Carter G.R. (Eds.), *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe Publishing, London, 1994.
- Radostits O.M., Leslie W.B. & Fretow J. *Herd Health: food animal production medicine*. 2nd ed. WB Saunders, Toronto, 1994.
- Ribeiro M.E.R., Petrini L.A., Aita M.F., Balbinotti M., Stumpf Jr W., Gomes J.F., Schramm R.C., Martins P.R. & Barbosa R.S. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na Região Sul do Rio Grande do Sul. *Rev. Bras. Agrocienc.*, 9:287-290, 2003.
- Ribeiro Júnior E., Silva M.H., Viegas S.A.A., Ramalho E.J., Ribeiro M.D. & Oliveira F.C.S. California Mastitis Test (CMT) e whiteside como métodos de diagnóstico indireto da mastite subclínica. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, 9:680-686, 2008.
- Ruegg P.L. Investigation of mastitis problems on farms - Review. *Vet. Clin. N. Am.: Food Anim. Pract.*, 19:47-63, 2003.
- Sa M.E.P., Cunha M.L.R.S., Elias A.O., Victória C. & Langoni H. Importância do *Staphylococcus aureus* nas mastites subclínicas: pesquisa de enterotoxinas e toxina do choque tóxico, e a relação com a contagem de células somáticas. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 41:321-326, 2004.
- Schalm O.W. & Noorlander D.O. Experiments and observations leading to development of California Mastitis Test. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 130:199-204, 1957.
- Voltolini T.V., Santos G.T., Zambom M.A., Ribas N.P., Müller E.E., Damasceno J.C., Itavo L.C.V. & Veiga D.R. Influência dos estádios de lactação sobre a contagem de células somáticas do leite de vacas da raça holandesa e identificação de patógenos causadores de mastite no rebanho. *Acta Sci.*, 23:961-966, 2001.
- Yamamura A.A.M., Muller E.E., Freire R.L., Freitas J.C., Pretto-Giordano L.G., Toledo R.S. & Ribeiro M.G. Fatores de risco associados à mastite bovina causada por *Prototheca zopfii*. *Cienc. Rur.*, 38:755-760, 2008.
- Zafalon L.F., Nader Filho A. & Oliveira J.V. Mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus*: custo-benefício da antibioticoterapia de vacas em lactação. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 59:577-585, 2007.
- Zocche F., Bersot L.S., Barcellos V.C., Paranhos J.K., Rosa S.T.M. & Raymundo N.K. Qualidade microbiológica e físico-química do leite pasteurizado produzido na Região Oeste do Paraná. *Arch. Vet. Sci.*, 7:59-67, 2002.