

PREVALÊNCIA DE MASTITE EM DOIS TAMBOS DE SANTA MARIA-RS*

Mastitis Prevalence in Two Dairy Herds, Santa Maria, RS

Sidoni Riedner**, Antonio Jorge Dreon de Albuquerque***,
Manoel Renato Telles Badke**** e Rudi Weiblen*****

RESUMO

A prevalência da mastite foi estudada em 35 vacas leiteiras, através de exame clínico, do "California Mastitis Test" (CMT) e da coleta de amostras para pesquisa de bactérias patogênicas na mama. A pesquisa foi feita em vacas que se encontravam entre 15 e 240 dias de lactação (GRUPO 1), e com mais de 240 dias da lactação (GRUPO 2). Em função dos resultados do CMT, a ausência de distúrbios na secreção láctea, em fêmeas que se encontravam entre 15 e 240 dias de lactação, não permite afirmar que as glândulas estejam livres de bactérias patogênicas. Por outro lado, os resultados em vacas com mais de 240 dias de lactação, evidenciaram mais uma vez que a técnica não tem valor para o diagnóstico neste estágio, uma vez que o leite pode apresentar distúrbios de secreção e não estar infectado. A pesquisa bacteriológica nas 554 amostras de leite estudadas no grupo de vacas que estavam entre o 15º e o 240º dias de lactação mostrou a presença de 204 microorganismos patogênicos. Do total das amostras, 321 (58,0%) foram negativas ao CMT e destas foram isoladas 67 bactérias (20,9%) capazes de causar mastite. Nas vacas de lactação com mais de 240 dias, foram examinadas 306 amostras e isoladas 107 bactérias patogênicas (35,0%). Destas amostras, 153 (50,0%) foram negativas ao CMT e 41 amostras (26,8%) foram positivas ao exame bacteriológico para o isolamento de bactérias mastitogênicas.

* Extraído da Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, apresentada pelo primeiro autor à Universidade Federal de Santa Maria, RS.

** Ex-aluna do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). 97.119 - Santa Maria, RS, Brasil.

*** Professor Adjunto do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Maria.

**** Professor Auxiliar do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Maria.

***** Professor Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Santa Maria.

UNITERMOS: mastite subclínica, California mastitis test, bactérias patogênicas.

SUMMARY

Subclinical mastitis was studied in 35 dairy cows through clinical examination and California Mastitis Test (CMT) and isolation of pathogenic bacteria. The cows used in the experiment were between 15 and 240 days of lactation (Group 1), while the second group had more than 240 days of lactation (Group 2). The negative results on the milk tested for the cows in Group 1, could not prove that the udder was completely free of pathogenic bacteria. The results obtained with the CMT on Group 2 showed that the test could not be used, because the milk showed an alteration but no infection was present. At the laboratory from 554 milk samples submitted, 204 were potentially pathogenic bacteria that were isolated from milk samples of Group 1. From this total, 321 samples (58.0%) were negative on the CMT, however yielded 67 pathogenic bacteria (20.9%). From Group 2, with more than 240 days of lactation 306 milk samples were examined and 107 pathogenic microorganisms were isolated (35.0%). One hundred and fifty three milk samples were CMT negative, but yielded forty one pathogenic bacteria (26.8%).

KEY WORDS: subclinical mastitis, California mastitis test, pathogenic bacteria.

INTRODUÇÃO

O maior problema encontrado em tambos são as mastites subclínicas e que são identificados mediante pesquisa laboratorial em conjunto com o "California Mastitis Test" (CMT) e pesquisa de campo (HOPKIRK, 25; IBRAHIM & HABIBALLA, 26; WEIGT, 44), justificando-se o experimento para que os resultados obtidos possam ser utilizados pelos clínicos na obtenção de melhores resultados nos tratamentos recomendados.

Mastite é um processo inflamatório dos tecidos do úbere frente às bactérias, micoplasmas, fungos, vírus, produtos químicos, lesões térmicas e mecânicas (GRUNERT & WEIGT, 22) que conjuntamente a mudanças físicas, químicas e microbiológicas, caracteriza-se por um incremento de células somáticas, especialmente leucócitos em leite, e por mudanças patológicas do tecido mamário (GIESECKE, 18). O processo inflamatório deve-se à necessidade do úbere neutralizar o material estranho presente, de reparar o tecido danificado e retornar o órgão a sua normalidade (HEIDRICH & RENK, 24; BATH et alii, 3).

As mastites subclínicas não mostram evidências macroscópicas de inflamação, mas o exame do leite revela infecção do úbere, incremento da contagem celular e também alterações nas propriedades químicas do leite (GIESECKE, 18).

A mastite tem importância em saúde pública pela fácil transmissão de agentes patogênicos ao consumidor pelo leite (ARANALDE et alii, 1; KIMBALL, 29; VERNA et alii, 42; FERREIRO et alii, 15) e pela presença de altos níveis de antibióticos (KIMBALL, 29; WEIBLEN & SPAHR, 43) que podem trazer sérios problemas à população consumidora. Quanto ao aspecto econômico há prejuízos devido à redução da produção de leite (FERREIRO et alii, 14; LANGENEGGER et alii, 32), ao incremento dos custos de reposição e conseqüente perda de potencial genético, devido ao descarte da vaca, perda do leite e outros custos, tais como: antibióticos, serviços especiais do veterinário, mão-de-obra incrementada e redução da qualidade do leite (JANSEN, 28; HOPKIRK, 25; DOBBINS, 8; BATH et alii, 3; ARDA & ISTANBULLUOGLU, 2; BLOSSER, 5; McDONALD, 33; WEIGT, 44).

Um bom manejo sanitário dos animais, equipo de ordenha, estábulo, técnica de ordenha adequados (GIRAUDO & TAMAGNINI, 20; WEIGT, 44) e bons hábitos de higiene pessoal dos ordenhadores são de grande valia, reduzindo a veiculação de patógenos para a glândula mamária (WEIGT, 44; FARIA et alii, 11), mas não o suficiente (GIRAUDO & TAMAGNINI, 20; FARIA et alii, 11). Além disso, a análise bacteriológica de uma única amostra de leite não dá lugar para um tratamento eficaz. Primeiramente porque a colheita de amostras de leite em um grande número de vacas não é feita com a suficiente precaução de assepsia e no laboratório, muitas vezes, contaminantes podem ser tomadas por agentes causais e assim, vacas sadias são consideradas bacteriologicamente positivas. Por outro lado, em uma única análise bacteriológica não é possível detectar todas as vacas enfermas de mastites crônicas, pois a eliminação de microorganismos, nestes casos, não é constante (WEIGT, 44).

Com o intuito de minimizar os prejuízos e perigos assinalados, devem ser tomadas e adotadas medidas sistemáticas, junto aos criadores, através de uma assistência direta com implantação de programas de prevenção e controle dessa insidiosa doença que afeta, em diferentes níveis, praticamente todos os rebanhos leiteiros (FERREIRO et alii, 15), com reavaliações periódicas, proporcionando, pela vigilância e investigação prospectiva, a adoção de medidas profiláticas eficazes (WEIGT, 44; FERREIRO et alii, 17; SANTOS et alii, 37).

Com base nas observações anteriores teve-se como objetivo estudar a prevalência das mastites subclínicas, a nível de campo, com o auxílio do teste presuntivo CMT, procurando-se detectar alterações no leite de vacas. No laboratório, pela bacteriologia, a pesquisa da prevalência e identificação de microorganismos potencialmente patogênicos ao tecido mamário (WEIGT, 44; FERREIRO & MELO, 16).

MATERIAL E MÉTODOS

1. Animais

Trinta e quatro vacas da raça holandesa e uma zebuína foram objeto de observação durante três períodos de 7 semanas consecutivas. Os animais encontravam-se em duas propriedades localizadas na periferia da cidade de Santa Maria-RS. Na propriedade chamada "A" foram objeto de estudo 14 vacas e na "B", 21. A ordenha no tambo "A" era mecanizada e no "B", mista. As condições higiênicas nos estábulos, equipamentos de ordenha e manejo de ordenha dos animais também foram objetos de observação.

Durante o trabalho coletaram-se amostras de leite de vacas que se encontravam entre 15 e 240 dias de lactação (grupo 1) e com mais de 240 dias de lactação (grupo 2). Estes animais, quando apresentavam sinais clínicos de mastite, passavam a ser examinados e ordenhados em último lugar.

Trabalhou-se com vacas em todos os estágios de lactação, com sem história prévia de mastite clínica. De todas as vacas em lactação foram efetuados o exame clínico, o "California Mastitis Test" (CMT) e a coleta de amostras de leite para pesquisa de microorganismos.

2. Métodos empregados na ordenha e exame clínico

Uma vez por semana, a secreção láctea era examinada pelo CMT após terem sido desprezados os 3 primeiros jatos de leite em um balde de plástico. Para colherem-se as amostras de leite, a base inferior da glândula mamária era lavada com água morna na primavera e outono e fria no verão. A assepsia dos tetos era feita utilizando-se algodão embebido em álcool, deixando este evaporar-se, para só então o leite ser coletado. Após a ordenha, efetuava-se também, uma vez por semana, o exame clínico pela inspeção e palpação da glândula mamária, com especial atenção ao parênquima glandular.

As amostras do leite eram coletadas dos quartos na forma de "pool" quando não reagentes ao CMT e individualmente quando um ou mais quartos

apresentavam alguma reação no "California Mastitis Test".

Coletavam-se, aproximadamente, 10ml de leite em vidros esterilizados e todas as amostras, em seguida, eram acondicionadas em caixa de isopor com gelo e levadas ao laboratório.

3. Interpretação do "California Mastitis Test" (CMT)

O reagente usado para o CMT foi adquirido da FATEC*.

A interpretação dos resultados foi segundo SCHALM & NOORLANDER (38) e que resumidamente são os seguintes:

- Reação negativa (-): mistura líquida homogênea, sem a evidência de formação de precipitado;
- Reação suspeita (\pm): leve precipitado com tendência ao desaparecimento após algum movimento contínuo da raquete;
- Reação fracamente positiva (+): aparecimento de visível precipitado sem tendência à formação de gel;
- Reação positiva (++) : aparecimento de distinta viscosidade, passando à formação de gel;
- Reação fortemente positiva (+++): formação de densa massa gelatinosa.

4. Métodos laboratoriais

4.1. Limpeza do material

Toda a vidraria usada era lavada em solução detergente, enxaguada em água corrente e esterilizada em forno de Pasteur a 160°C durante duas horas.

4.2. Exame das amostras de leite

No laboratório fez-se o isolamento dos microorganismos patogênicos utilizando-se os seguintes meios de cultura: ágar tripticase (BBL)**com adição de 10% de sangue desfibrinado de eqüino; tioglicolato (DIFCO)*** e caldo simples (BIER, 4). O sangue de eqüino utilizado para adicionar ao ágar tripticase foi coletado em vidro estéril contendo esferas de vidro para promover a desfibrinação através de suaves movimentos circulares durante 10 a 15 minutos.

O meio de ágar tripticase-sangue era espalhado em placas de petri; o tioglicolato e caldo simples, distribuído em tubos de ensaio. Nestes meios foi semeado leite com alça de platina, sendo incubados a 37°C por

* FATEC QUÍMICA INDUSTRIAL S.A. - São Paulo, Brasil.

** BBL MICROBIOLOGY SYSTEMS-Bencton Dickinson and Co., Cockeysville, USA.

*** DIFCO LABORATORIES - Detroit, Michigan - USA.

por 24 horas e, caso não houvesse crescimento, reincubados por mais 24 horas.

As cepas possivelmente patogênicas, após isoladas, foram identificadas conforme procedimentos indicados por CARTER (6) e BIER (4).

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com número variável de repetições, de um experimento fatorial 3 x 2 (3 épocas x 2 propriedades). A análise estatística inclui análise de variância e diferenças significativas ao nível de 5% ensejaram a aplicação do teste de Duncan ao mesmo nível de probabilidade de "F", conforme STEEL & TORRIE (40).

RESULTADOS

Com a realização do "California Mastitis Test" (CMT) foram coletadas 860 amostras de leite, das quais 474 (55,2%) foram negativas ao teste e 386 (44,8%), reagentes em algum grau. Os resultados estão relacionados na Tabela 1. Na Tabela 2 verificaram-se as médias reais para análise estatística.

TABELA 1. Prevalência de reações do "California Mastitis Test" (CMT) em leite de vacas em 2 granjas leiteiras de Santa Maria, RS/1983-1984.

Estágio de lactação (em dias)	Propriedades	Número de amostras de leite coletadas	CMT (%)				
			(-)*	(±)	(+)	(++)	(+++)
15 a 240 GRUPO 1	A	236	65,3	10,2	22,0	2,5	-
	B	318	52,5	12,3	30,2	4,1	0,9
	A + B	554	58,0	11,4	26,7	3,4	0,5
Mais de 240 GRUPO 2	A	118	58,5	7,6	24,6	9,3	-
	B	188	44,7	14,9	27,6	12,8	-
	A + B	306	50,0	12,1	26,5	11,4	-
TOTAL	A	354	63,0	9,3	22,9	4,8	-
	B	506	49,6	13,2	29,3	7,3	0,6
	A + B	860	55,1	11,6	26,6	6,3	0,4

(-)* Negativo

(+) Fracamente positivo

(+++) Fortemente positivo

(±) Traços

(++) Positivo

TABELA 2. Média aritmética do número de amostras de leite coletadas após exame ao CMT, obtida para análise estatística referente à tabela 1.

		Período de lactação em dias	
		15 a 240	+ de 240
Propriedade - NS	A	15,7	7,9
	B	21,2	12,5
CMT - S	*(-)	53,5 ^a	25,5 ^a
	(±)	10,5 ^c	6,2 ^b
	(+)	24,7 ^b	13,5 ^b
	(++)	3,2 ^d	5,8 ^{bc}
	(+++)	0,5 ^d	0,0

*(-) Negativo (±) Traços (+) Fracamente positivo

(++) Positivo (+++) Fortemente positivo

NS = Não significativo para propriedade

S = Significativo para CMT

($P < 0,01$) = Médias seguidas de letras diferentes são significativamente diferentes entre si pelo teste de Duncan ao mesmo nível da probabilidade de "F".

Na comparação dos resultados do CMT e bacteriologia estudaram-se 554 amostras de leite colhidas das vacas do grupo 1, das quais isolaram-se 204 estirpes bacterianas potencialmente patogênicas, mais 84 *Staphylococcus* coagulase negativa. Das 306 amostras de leite obtidas das vacas do grupo 2, isolaram-se 107 estirpes bacterianas potencialmente patogênicas ao úbere, mais 41 cepas de *Staphylococcus* coagulase negativa, sendo que 41 isolamentos de cepas potencialmente patogênicas provêm de 153 amostras de leite CMT negativas. Com relação às infecções mistas, estas se fizeram presentes em somente uma amostra de leite com reação em traços ao CMT e de 8 amostras de leite CMT negativas isolaram-se mais de um microorganismo patogênico ou não ao úbere. Destas 8, cada amostra de leite corresponde ao "pool" de todos quartos de uma glândula mamária CMT negativa.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Para o estudo da prevalência das mastites subclínicas usaram-se animais de duas propriedades com manejo e condições sanitárias diferentes. O menor número de animais reagentes ao CMT no tambo "A", foram atribuídos às diferenças nos procedimentos de manejo dos animais e uso de ordenha mecânica, observações estas já descritas por BATH et alii (3); diferenças nos hábitos com a higiene pessoal (FARIA et alii, 11) e do estábulo (HEIDRICH & RENK, 24; IBRAHIM & HABIBALLA, 26; GIRAUDO & TAMAGNINI, 20; McDONALD, 33; LABORDE et alii, 30). Com referência ao manejo e condições sanitárias oferecidas aos rebanhos leiteiros, verificou-se que as duas propriedades apresentavam problemas, observando-se que não havia uma seqüência na rotina e tipo de ordenha, principalmente na propriedade "B". Assim sendo, não foi surpresa encontrar-se um maior número de animais com reação positiva na propriedade "B".

Os resultados encontrados durante este experimento concordam com os de CRUZ et alii (7), pois não se pode afirmar que animais com quartos mamários não reagentes ao CMT, estejam realmente livres de infecções, podendo-se afirmar com HOPKIRK (25), que o CMT é um método que oferece pouca segurança para estabelecer-se o diagnóstico precoce da mastite, especialmente nas fases inicial e final de lactação.

Os elevados percentuais de microorganismos isolados das amostras de leite CMT negativas, mais especificamente o *Staphylococcus aureus*, permitem afirmar, juntamente com FAGLIARI et alii (10), que a prevalência de bactérias patogênicas ao úbere no leite, deve-se à elevada prevalência destas no ambiente de ordenha e sua facilidade em colonizar a pele do teto e canal galactóforo externo, facilitando a sua instalação no tecido mamário.

Ao traçar-se a relação dos resultados obtidos entre o CMT e a bacteriologia, encontraram-se de 860 amostras de leite, 474 (55,2%) negativas ao teste. No entanto, destas 474 amostras de leite, isolaram-se 108 (22,8%) cepas potencialmente patogênicas ao úbere, mais 91 (19,2%) estirpes de *Staphylococcus coagulase negativa*. Ao atentar-se para a elevada percentagem de microorganismos isolados, permite-se afirmar, concordando com HOPKIRK (25), que de fato o CMT tem valor limitado na detecção de infecções nas glândulas mamárias de vacas de leite em um estábulo.

Ao compararem-se os resultados encontrados nos dois grupos de vacas, nos diferentes estágios de lactação, verificou-se que a percentagem de amostras de leite CMT negativas, diminuiu no grupo de vacas com

mais de 240 dias de lactação e a percentagem de isolamentos bacterianos proporcionalmente foi maior. Os resultados bacteriológicos encontrados em amostras de leite CMT negativas são surpreendentes, principalmente, quando se considera que foram tomados todos os cuidados para reduzir ao mínimo a contaminação das amostras de leite por ocasião da coleta. Esse fato, assegura e ratifica a importância e necessidade das provas e estudos bacteriológicos de rotina como fator de identificação prévia do agente responsável por mastites subclínicas e de orientação à terapia, segundo afirmaram JAIN (27); WEIGT (4); RODRIGUES et alii (36) e FAGLIARI et alii (10).

Das 386 (44,8%) amostras de leite reagentes ao CMT em algum grau, 233 foram coletadas de vacas com estágio de lactação de 15 a 240 dias, sendo que estas amostras revelaram índices normais de infecção. Os índices de isolamento de cepas bacterianas, neste trabalho, são discordantes dos resultados encontrados por FAGLIARI et alii (9). Esta discordância nos resultados pode ser explicada pelas diferenças nos procedimentos de manejo e higiene dos animais, equipo de ordenha e instalações de um tambo a outro.

Houve uma diferença significativa ($P < 0,01$) entre os escores do CMT, evidenciando-se, mais uma vez, que em animais com mais de 240 dias de lactação o CMT não deve ser usado, pois nesta fase existe um aumento fisiológico do número de leucócitos com descamação e reorganização da glândula mamária e, dependendo do número de leucócitos e células descamativas, a reação varia de um leve precipitado até o desenvolvimento imediato de gel espesso. O CMT, portanto não deve ser empregado em vacas com mais de 240 dias de lactação como já foi descrito por GRAY & SCHALM (21), HEIDRICH & RENK (24), GIRAUDO & TAMAGNINI (19) e RODRIGUES et alii (36), que chamaram a atenção ao fato de que presença de células não necessariamente indicam infecção, podendo ser resultado de um aumento fisiológico de leucócitos no leite. No entanto, o CMT por ser um teste de campo, tem um valor inestimável devido à sua praticidade e precocidade já descritas por LANGENEGGER et alii (31) e constatado também por RODRIGUES et alii (36); e pela fácil aplicação do teste, torna o a prova de triagem inicial recomendado a nível de campo (FAGLIARI et alii, 9).

As más condições de manejo e sanidade são os fatores responsáveis pelos altos índices de vacas reagentes ao CMT e pela prevalência de bactérias patogênicas ao úbere, no leite de vacas nos diferentes estágios de lactação.

Pelo reconhecimento prévio da existência de bactérias patogênicas ao úbere como os *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp. e bacilos gram negativos, isolados das amostras de leite e os esforços concentra- dos no sentido de verificar a prevalência destes microorganismos nas glndulas mamárias das vacas em estudo, durante as 21 semanas, verifi- cou-se que os achados bacteriológicos, neste experimento, são semelhan- tes aos de outros autores (BATH et alii, 3; JAIN, 27; PHILPOT, 34; WEIGT, 44; RAINARD & POUTREL, 35; TOLLE, 41), sendo os cocos gram po- sitivos os mais problemáticos para a glândula mamária quando se con- sidera a sua predominância nas mastites. Outros, pesquisadores das mas- tites subclínicas, também encontraram os *Staphylococcus aureus* em pri- meiro lugar e *Streptococcus* sp. em segundo (LANGENEGGER et alii, 31; HOPKIRK, 25; FERNANDES et alii, 12; HARROP et alii, 23; IBRAHIM & HA- BIBALLA, 26; FERREIRO, 13; ARDA & ISTANBULLUOGLU, 2; FERREIRO et alii, 17; FAGLIARI et alii, 9 e 10; SILVA et alii, 39). Conforme FERREIRO et alii (17), tem havido uma concordância geral nos resultados da maioria dos estudos dessa natureza no Brasil, encontrando-se o *Streptococcus* sp. numa posição secundária na casuística da mastite bovina, ratificando o que se registra atualmente em outras bacias leiteiras de diversos pa- ses. Entre outras razões, essa tendência encontra respaldo na terapia, já que estas bactérias são muito sensíveis  ação terapêutica exercida pela penicilina, antibiótico de largo emprego na prática, principal- mente, no combate à mastite.

Durante este experimento, não foi constatada a capacidade do *Sta- phylococcus* coagulase negativa em produzir sintomas clínicos de masti- te, embora tenha sido isolado em elevada percentagem (14,5%) do total de 860 amostras de leite examinadas, sendo 19,2% isolados de 474 amos- tras de leite CMT negativas. Para FERREIRO et alii (17) a elevada fre- quncia do isolamento de *Staphylococcus epidermidis* (16,09%) chamou atno, verificando os autores que são recentemente vem sendo reconhe- cida a atividade mastitognica do microorganismo. FAGLIARI et alii (10) e SILVA et alii (39), embora encontrando uma pequena frequência de *Sta- phylococcus* coagulase negativa, consideraram o referido microorganismo patognico ao úbere, por terem provocado casos clínicos de mastite e tendo-se relacionado com fortes reações ao CMT. Os resultados encontra- dos nesta pesquisa e por outros autores confirmam, também aqui, a ne- cessidade de estudos bacteriológicos além das observações a nível de campo, devendo-se pesquisar a atividade mastitognica e a prevalência de bactérias no leite de forma periódica e prévia.

LITERATURA CITADA

1. ARANALDE, A.A.; MARTINS, L.F.; ZIEGLER, J.C. Ocorrência de estafilococos coagulase positiva no leite cru da bacia leiteira de Pelotas, RS. *Revista do Centro de Ciências Rurais*, 4(2): 155-8, 1974.
2. ARDA, M. & ISTANBULLUOGLU, E. The studies on isolation and identification of aerobic and anaerobic bacteria, mycoplasma and fungi, and determination of the most effective antibiotics and fungicides against these microorganisms. *Veteriner Fakültesi Dersisy Ankara Universitese*, 26:14-29, 1979.
3. BATH, D.L.; DICKINSON, F.N.; TUCKER, H.A.; APPLEMAN, R. D. *Dairy cattle: principles, practices, problems, profits*. 2.ed. Philadelphia, Lea & Febiger. 1978, 574p.
4. BIER, O. *Bacteriologia e Imunologia*. 17ed. São Paulo, Melhoramentos, 1976. 1076p.
5. BLOSSER, T.H. Economic losses from and the National Research Program on mastitis in the United States. *Journal of Dairy Science*, 62(1):119-27, 1979.
6. CARTER, G.R. *Procedimentos de diagnóstico en bacteriología y micología veterinarias*. Zaragoza, Acribia, 1969. 331p.
7. CRUZ, E.J.; TÉLLEZ, S.A.; SKEWES, H.R. Relación entre la reacción de la prueba de california y los tipos de bacterias aisladas de vacas holstein-friesian del Valle de México. *Veterinaria, México*, 11(3):102, 1980.
8. DOBBINS, C.N. Mastitis losses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 170(10):1129-32, 1977.
9. FAGLIARI, J.J.; LUCAS, A. de.; FERREIRA NETO, J.M. Mastite bovina: Comparação entre os resultados obtidos pelo "California Mastitis Test" e o exame bacteriológico. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 35(3):309-15, 1983.
10. FAGLIARI, J.J.; LUCAS, A. de.; FERREIRA NETO, J.M. Sensibilidade a drogas antimicrobianas de bactérias isoladas de vacas com mastite. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 35(4):471-8, 1983.
11. FARIA, J.E.; FIGUEIREDO, J.B.; SANTOS, J.L. Frequência de patógenos e desinfecção de mãos de ordenhadores. *Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais*, 34(3):515-21, 1982.
12. FERNANDES, J.C.T.; MOOJEN, V.; FERREIRO, L. Agentes etiológicos das mastites bovina na bacia leiteira de Porto Alegre, RS, Brasil. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul*, 1(1):41-6, 1973.
13. FERREIRO, L. Agentes etiológicos e terapêutica da mastite bovina no Brasil. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul*, 6:77-88, 1978.
14. FERREIRO, L.; SOUZA, E.P.L. de.; NOVY, E.F. Influência da mastite bovina subclínica na produção do leite de gado mestiço. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul*, 7:135-43, 1979.

15. FERREIRO, L.; SOUZA, H.M. de.; HEINECK, L.A. Influência da mastite bovina subclínica na composição físico-química do leite do gado mestiço. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 35 (208):19-24, 1980.
16. FERREIRO, L. & MELO, M.T. de. Susceptibilidade antimicrobiana de estafilococos, isolados de mastite bovina na Zona da Mata de Minas Gerais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 16(3):445-51, 1981.
17. FERREIRO, L.; SANTOS, E.C. dos.; SILVA, N. da. Ocorrência e etiologia da mastite bovina na "Zona da Mata" do Estado de Minas Gerais. *Arquivos da Escola Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais*, 33(1):31-7, 1981.
18. GIESECKE, W.H. The diagnosis of subclinical mastitis in lactating cows. *Journal of the South African Veterinary Association*, 45(3): 195-202, 1974.
19. GIRAUDO, J.A. & TAMAGNINI, A.A. Diagnóstico y tratamiento de mastitis subclínica: antibioticoterapia al secado. *Gaceta Veterinaria*, 40(328):99-105, 1978.
20. GIRAUDO, J.A. & TAMAGNINI, A.A. Mastitis, evaluación de un programa de control en un establecimiento lechero. *Gaceta Veterinaria*, 41 (342):412-9, 1979.
21. GRAY, D.M. & SCHALM, O.W. Interpretation of the California Mastitis Test results on milk from individual mammary quarters, bucket milk, and bulk herd milk. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 136(5):195-8, 1960.
22. GRUNERT, E. & WEIGT, U. Euterkrankheiten. In: AHLERS, D.; ANDRESEN, P. FRERKING, H.; GLASSER, H.; GRUNERT, E.; KRAUSE, D.; LOTHAMMER, H.; MERKT, H.; ROSENBERGER, G.; SCHULTE, B. & WEIGT, U. *Buiatrik*. 3.ed. Hannover, N. & H. Schaper, 1979. v.1. p.117-75.
23. HARROP, M.H.V.; PEREIRA, L.J.G.; BRITO, J.R.F.; MELLO, A.M.B. de. Incidência de mastite bovina na bacia leiteira da zona do agreste meridional de Pernambuco. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 10:65-7, 1975.
24. HEIDRICH, H.J. & RENK, W. *Enfermedades de las glándulas mamarias en los animales domésticos*. Barcelona, Labor. 1969. 503p.
25. HOPKIRK, C.S.M. Prevention of mastitis in cows. *New Zealand Veterinary Journal*, 20(4):43-6, 1972.
26. IBRAHIM, A.E. & HABIBALLA, N. Persistent mastitis in a dairy cows' breeding centre. *Journal of the Egyptian Veterinary Medical Association*, 36(1):187-93, 1976.
27. JAIN, N.C. Common mammary pathogens and factors in infection and mastitis. *Journal of Dairy Science*, 62(1):128-34, 1979.
28. JANZEN, J.J. Economic losses resulting from mastitis. A review. *Journal of Dairy Science*, 53(9):1151-61, 1970.
29. KIMBALL, D.R. Public health regulations in milk quality control. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 170(10): 1212-3, 1977.
30. LABORDE, M.; BARRIOLA, J.; BERMUDEZ, J.; BONILLA, M. Mastitis subclínica: etiología y distribución de la infección en cuartos mamarios de vacas ordenadas manual y mecanizadamente. *Veterinaria*, Uruguay, 76:75-80, 1981.

31. LANGENEGGER, J.; COELHO, N.M.; LANGENEGGER, C.H.; CASTRO, R.P. de. Estudo da incidência da mastite bovina na bacia leiteira do Rio de Janeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 5(90):437-40, 1970.
32. LANGENEGGER, J.; VIANI, M.C.E.; BAHIA, M.G. Efeito do agente etiológico da mastite subclínica sobre a produção de leite. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 1(2):47-52, 1981.
33. McDONALD, J.S. Bovine Mastitis: Introductory remarks. *Journal of Dairy Science*, 62(1):117-8, 1979.
34. PHILPOT, W.N. Control of mastitis by hygiene and therapy. *Journal of Dairy Science*, 62(1):168-76, 1979.
35. RAINARD, P. & POUTREL, B. Dynamics of nonclinical bovine intramammary infections with major and minor pathogens. *American Journal of Veterinary Research*, 43(12):2143-6, 1982.
36. RODRIGUES, C.F.M.; CARDOSO, H.L.; CAPURRO, M. de L. Observações sobre a incidência da mastite subclínica com isolamento dos agentes etiológicos. *Biológico*, 47(1):21-5, 1981.
37. SANTOS, E.C. dos.; FERREIRO, L.; VILELA, M.A.P. Modelo para investigação retrospectiva de mamites bovinas no leite de latões. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 38(225):27-31, 1983.
38. SCHALM, O.W. & NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *Journal of the Veterinary Medical Association*, 130(5):199-204, 1957.
39. SILVA, N.; FIGUEIREDO, J.B.; OLIVEIRA, M. Mamite no rebanho bovino da Escola Média de Agricultura de Florestal, UFV, MG. Parte II. Frequência e etiologia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 35(1):85-91, 1983.
40. STEEL, R.G.D. & TORRIE, J.H. *Principles and procedures of statistics: A biometrical approach*. 2.ed. New York, McGraw Hill Book, 1980. 633p.
41. TOLLE, A. Die subklinische Kokkenmastitis des Rindes. *Zentralblatt für Veterinärmedizin, Reihe B*, 29:329-58, 1982.
42. VERMA, T.N.; MANDAL, L.N.; SINHA, B.K. Studies on subclinical mastitis with special reference to bacterial correlation and its public health importance. *Indian Journal of Public Health*, 22(3):249-53, 1978.
43. WEIBLEN, R. & SPAHR, S.L. Determinação da persistência de penicilina no leite através de ensaio rádio-imunológico ("CHARM TEST"). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 2(4):133-7, 1982.
44. WEIGT, U. Mastitis: Un problema de rodeo. In: JORNADAS URUGUAYAS DE BUIATRIA. 7, Paysandú, 1979. *Seminário*. Paysandú, 1979, 01-15.