

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
NÚCLEO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DESENVOLVIMENTO RURAL  
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA  
AMAZÔNIA ORIENTAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**BRUNO DE CÁSSIO VELOSO DE BARROS**

**MASTITE BOVINA EM REBANHOS LEITEIROS NO  
MUNICÍPIO DE PARAUPEBAS, MESORREGIÃO  
SUDESTE DO ESTADO DO PARÁ.**

Belém  
2008

BRUNO DE CÁSSIO VELOSO DE BARROS

**MASTITE BOVINA EM REBANHOS LEITEIROS NO  
MUNICÍPIO DE PARAUAPEBAS, MESORREGIÃO  
SUDESTE DO ESTADO DO PARÁ.**

Trabalho de Dissertação apresentado como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural. Universidade Federal do Pará, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- Amazônia Oriental. Universidade Federal Rural da Amazônia.

Área de concentração: Sanidade Animal.

Orientador: Prof. Dr. José de Arimatéa Freitas.

Belém  
2008

BRUNO DE CÀSSIO VELOSO DE BARROS

**MASTITE BOVINA EM REBANHOS LEITEIROS NO  
MUNICÍPIO DE PARAUAPEBAS, MESORREGIÃO  
SUDESTE DO ESTADO DO PARÁ.**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência Animal da Universidade Federal do Pará, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-Amazonia Oriental e da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de concentração: Sanidade Animal.

Data da aprovação: Belém-Pa: 11 / 03 / 2008

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. José de Arimatéa Freitas (Orientador)  
Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA.

---

Prof. Dr. Washinton Luiz Assunção Pereira  
Instituto de Saúde e Produção Animal-UFRA.

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Hilma Lúcia Tavares Dias  
Instituto de Ciências Biológicas- ICB- UFPA.

Á Deus por me presentear com a vida, com as oportunidades que tive até hoje e por me mostrar o caminho a seguir...

Ao meu pai ( in memorian), minha avó DULCE, MINHA MÃE, pelo total apoio e compreensão que recebi nos momentos difíceis. Muito obrigado!

Meus irmãos, meu primo Daniel e aos verdadeiros amigos por fazerem da vida um milagre.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por ter segurado meus tropeços em todas as minhas atitudes e falhas, nas horas mais tortuosas sei que ele estava sempre comigo.

Gostaria de antes de tudo agradecer às pessoas que injustamente não me lembrei de colocar nessa seção.

Inicialmente gostaria de agradecer a meu orientador, Prof. Dr. José de Arimatéa de Freitas que confiou na minha capacidade, desde as fases que parecia que nada iria dar certo até o final. Muito obrigado mesmo pela confiança, amizade, sinceridade e pelo apoio e paciência nos momentos difíceis que apareceram ao longo desses dois anos, principalmente pelas longas, e às vezes rápidas, reuniões de onde saíram ótimas idéias e críticas para o desenvolvimento dessa dissertação.

Também gostaria de agradecer pelo mesmo apoio e entusiasmo a Profa. Dra. Dulcidéia Palheta, minha grande amiga, pelos incentivos como minha orientadora desde as épocas de início da pós-graduação. Obrigado pelo carinho e pela grande e importante amizade que temos, pelas inigualáveis palavras de otimismo.

Aos meus mestres e professores, alunos do Curso de Mestrado em Ciência animal pelos ensinamentos repassados e pela acolhida.

Ao Dr. Clovis Laurindo, grande parceiro das intermináveis viagens pelas fazendas do município de Parauapebas - PA, numa verdadeira maratona para a realização dessa pesquisa. Obrigado pelo ótimo humor, companheirismo, pelas conversas de estrada muitas vezes para espantar o sono, pelos momentos de risos junto com os produtores.

Em especial, agradeço aos meus colegas, médicos veterinários: Dra. Márcia Ferro e Dr. Antonio Júnior, pela ajuda nas coletas a campo, pelas risadas, e principalmente pelos novos caminhos. Sem o qual nada disso seria possível, muito obrigado pelo carinho, pela nossa grande e importante amizade que começamos a cultivar, pelas longas conversas de trocas de idéias, papos furados e momentos de relaxamento nos contratempos dos dias de coleta.

A Prefeitura de Parauapebas na figura do Secretario de Produção Rural do município de Parauapebas - SEMPROR, Sr. José Alves, pela ajuda na concessão do transporte e incentivo no desenvolvimento deste trabalho, espero que essa dissertação seja aproveitada nas melhorias da realidade local.

À Profa. Maria de Lourdes Soares e sua equipe ( Raimunda, Sebastião, Luiz e Anna), do Laboratório de Microbiologia de Alimentos da UEPA/CCNT em Belém, onde foi realizado o isolamento e a identificação dos agentes microbianos.

A Dra. Maurimélia Costa, Chefe da Seção de Microbiologia do Instituto Evandro Chagas, IEC-FUNASA pelo apoio dispensado à realização da identificação bioquímica das cepas microbianas isoladas.

Ao Diretor do Laboratório Central da Secretaria de Saúde Pública do Pará-Sespa, Dr. Kleysson, pela confiança, pelo incentivo e pela disponibilização de materiais cedidos para a identificação dos agentes.

Ao professor Cláudio Vieira pela ajuda nas análises dos resultados estatísticos.

A todos os proprietários das propriedades leiteiras que permitiram a coleta de Informações e de todas as amostras utilizadas. Apreendi com todos vocês a refletir no interior de mim mesmo na tentativa da resposta e da força para encontrar a saída, nos momentos árdios de construção deste trabalho de pesquisa.

Ao CNPq pela concessão de minha bolsa de mestrado.

Ao Laticínio POPETE, localizado em Parauapebas/PA, pelo fornecimento dos inúmeros meios de cultura utilizados.

Aos meus grandes amigos de Parauapebas, obrigado pela amizade, pelos ótimos e divertidíssimos churrascos, happy-hours e longas conversas. Em especial, obrigado a Jonathan Pantoja, Cleber Lima, Marivaldo Leite-“TEDD”, Oséias, Deolice, Patrícia, Ginaldo, Margareth, Francisco e Cláudio Carvalho.

Aos meus amigos de Belém: Roberto Gonçalves, Rodrigo Monteiro, Marcelo Canto, Nathércia Barros, por estarem presentes nos momentos árdios da construção deste trabalho.

Ao meu amigo “Dudu” pela paciência, colaboração, apoio na digitação e edição deste trabalho.

À minha família, que apesar de não saberem exatamente do que se trata tudo isso que pesquisei todos esses anos, eu tenho certeza que vocês estão com o maior orgulho de mim. Minha mãe Maria do Carmo, meus irmãos Junior e Thiago, a minha cunhada: Kelly e a minha sobrinha: Ariela.

E também ao meu pai, José Ribamar de Barros, que apesar de não estar mais fisicamente entre nós, tenho certeza que está bastante orgulhoso com tudo isso.

Ao produtor brasileiro, dedico toda essa pesquisa, espero que a mesma possa ajudar na melhoria da qualidade de vida e incremento da atividade leiteira localizada na região, principalmente na cidade de Parauapebas-Pa, devido a grandes potencialidades observadas.

E por fim, não existe maior recompensa na vida do que lutar por um sonho e vê-lo concretizado. Se eu pudesse faria tudo isso de novo...

“Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível, e de repente você estará fazendo o impossível.”

**São Francisco de Assis.**

## RESUMO

A mastite em sua forma subclínica é a responsável pelas maiores perdas de produção leiteira representando elevados prejuízos econômicos. Com o objetivo de estudar a etiologia da mastite subclínica bovina no município de Parauapebas-Pa, foram submetidas ao California Mastitis test. - CMT 174 (8,4%) vacas em sua maioria mestiças, aparentemente saudáveis de 15 propriedades leiteiras localizadas no referido município, situado na Mesorregião Sudeste do estado do Pará. Observou-se que 84 (48,33%) animais apresentaram resultados de +, ++, +++ ao CMT. O leite de cada teta que reagiram ao CMT num total de 178 amostras foi analisado bacteriologicamente visando o isolamento e a identificação dos microorganismos, foram analisadas as características macroscópicas, microscópicas e bioquímicas das culturas isoladas. Do total de amostras foram isoladas 208 cepas de agentes microbianos em culturas puras ou em associações sendo todos provenientes de leite mamífero, das quais 141 (67,79%) cepas eram cocos Gram positivos- *S.aureus* (29%) e *S.epidermidis* (19,14%) e 67 (32,21%) eram enterobactérias. Entre as enterobactérias destacaram-se *Pseudomonas sp.* com 12 (17,91%) cepas esisoladas, *Citrobacter sp.* com 12 (17,95%) cepas e *Shigella sp.* com 10 (14,92%), Outras 15 cepas de enterobactérias que não foram identificadas. O isolamento dos agentes apresentou variação significativa, pois se consideraram as observações quanto ao manejo de ordenha dos animais estudados, as condições higiênicas sanitárias da obtenção do leite através da aplicação de um questionário visando a observação das seguintes variáveis: sistema de criação, manejo adotado na propriedade, higiene e nível de exposição, infecciosidade dos agentes isolados o que reafirma a complexidade da infecção na área de estudo e seu aspecto multifatorial, necessitando o investimento por parte dos órgãos fiscalizadores de melhores práticas de higiene e obtenção na atividade de exploração de leite.

**Palavras chave:** Mastite bovina. Parauapebas - Pará. Ocorrência.



## ABSTRACT

The mastite in its subclínica form is the responsible one for the biggest losses of milk production representing raised economic damages. With the objective to study the etiology of the bovine subclínica mastite in the city of Parauapebas-Pará, they had been submitted to California Mastitis test. - CMT 174 (8.4%) cows in its majority crossbred, apparently healthful of 15 located milk properties in the related city, situated in the Southeastern Mesorregião of the state of Pará. ++ were observed that 84 (48.33%) animal ones had presented resulted of +, +++ to the CMT. The milk of each ceiling that had reacted to the CMT in a total of 178 samples was analyzed bacteriologically aiming at the isolation and the identification of the microorganisms, had been analyzed the macroscopic, microscopical characteristics and biochemists of the isolated cultures. Of the total of samples 208 had been isolated cepas of microbianos agents in pure cultures or in associations being all proceeding ones from mamitico milk, of which 141 (67.79%) cepas was positive coconuts Gram S.aureus (29%) and S.epidermidis (19.14%) and 67 (32.21%) were enterobactérias. Among the enterobacterias they had been distinguished Pseudomonas sp.com 12 (17.91%) cepas esisoladas, Citrobacter sp. with 12 (17.95%) cepas and Shigella sp. with 10 (14.92%), Others 15 cepas of enterobacterias that had not been identified. The isolation of the agents presented significant variation, therefore the comments had been considered how much to the handling of it milks of the studied animals, the sanitary hygienical conditions of the attainment of milk through the application of a questionnaire aiming at the comment of the following 0 variable: creation system, handling adopted in the property, hygiene and level of exposition, infecciosidade of the isolated agents what it reaffirms the complexity of the infection in the area of study and its multifactorial aspect, needing the investment on the part the agencies fiscalizadores of better you practise of hygiene and attainment in the activity of milk exploration.

**Key words:** Bovine Mastite. Parauapebas - Pará. Occurrence

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Perdas anuais decorrentes da mastite.....	32
TABELA 2 – Reação escore e Interpretação do teste de CMT.....	38
Tabela 3 - Ocorrência de casos de mastite em bovinos leiteiros em rebanhos do município de Parauapebas - PA, segundo localização das unidades produtoras de leite e o número de casos observados.	53
Tabela 4 - Resultado do exame do Califórnia Mastite Test - CMT, segundo as amostras de leite examinadas e os respectivos escores obtidos.	54
Gráfico 1- Resultado de CMT em amostras de leite bovino (n:696 tetos) de fêmeas bovinas do município de Parauapebas	54
Gráfico 2 - Ocorrência de Mastite bovina por quartos afetados no Município de Parauapebas- Pará.	55
Gráfico 3 - Ocorrência de animais acometidos por mastite bovina e sua respectiva faixa etária	56
Tabela 5 - Agentes microbianos de mastite diagnosticada em bovinos leiteiros mestiços no Município de Parauapebas, Mesorregião Sudeste do Estado do Pará, segundo o grupo microbiano isolado. 2008.	57
Tabela 6 - Agentes bacterianos Gram-positivos identificados em casos de mastite diagnosticada no Município de Parauapebas, Mesorregião Sudeste do Estado do Pará, segundo as espécies isoladas. (Belém, 2008).	58
Tabela 7 - Enterobactérias identificadas em casos de mastite diagnosticada no Município de Parauapebas, Mesorregião Sudeste do Estado do Pará, segundo as espécies isoladas. (Belém,2008 <sup>1</sup> ).	60

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>2.REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>16</b>
2.1 PRODUÇÃO LEITEIRA NO PARÁ	16
2.2 FATORES QUE INTERFEREM NA PRODUÇÃO LEITEIRA	17
2.3 MASTITE	18
2.3.1 CONCEITUAÇÃO E ASPECTOS PATOLÓGICOS	18
2.3.2 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	19
2.3.2.1 Etiologia	19
2.3.2.2 Fatores de Risco a mastite	25
2.3.2.3 Formas de Apresentação e Distribuição	26
2.4 PATOGENIA	29
2.5 IMPORTANCIA ECONÔMICA	30
2.6 OCORRÊNCIA	32
2.7 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO	36
2.8 PREVENÇÃO E CONTROLE	39
3.OBJETIVOS	43
<b>3.1 GERAL</b>	<b>43</b>
<b>3.2 ESPECÍFICOS</b>	<b>43</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>44</b>
4.1 MATERIAL	44
4.2 MÉTODOS	44
<b>4.3 DIAGNÓSTICO DE MASTITE</b>	<b>45</b>
<b>4.3.1 Mastite clínica</b>	<b>45</b>
<b>4.3.2 Mastite Subclínica</b>	<b>45</b>
<b>4.3.3 Levantamento dos Fatores de Risco</b>	<b>46</b>
<b>4.3.4 Isolamento e Identificação dos Agentes de Mastite</b>	<b>47</b>
4.3.4.1 Isolamento Primário	47
4.3.4.2 Identificação Presuntiva	47
4.3.4.3 Identificação de <i>Staphylococcus</i> sp.	48
4.3.4.4 Testes e Provas de Identificação	48
4.3.4.5 Identificação de <i>Streptococcus</i> spp.	49
4.3.4.6 Identificação Presuntiva de endobactérias	50
4.3.5 Estudos Estatísticos	51

<b>5. RESULTADOS</b>	<b>52</b>
5.1 Prevalência de Mastite	52
5.2 Fatores de Risco	55
5.3 Identificação dos Agentes de Mastite	56
<b>6. DISCUSSÃO</b>	<b>60</b>
<b>7. CONCLUSÃO</b>	<b>64</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>65</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura leiteira tem importante papel no contexto sócio-econômico de qualquer região; na Messorregião Sudeste do Estado do Pará, de um modo geral, ela é explorada sob condições inadequadas, quanto à disponibilidade de alimentos e recursos forrageiros no período seco do ano e quanto a fatores higiênicos e sanitários (GONÇALVES & TEIXEIRA NETO, 2002).

A pecuária leiteira é dentre os setores econômicos da produção animal, a atividade que mais fixa e mantém o homem na terra contribuindo para sobrevivência e desenvolvimento social. Caracterizada como atividade explorativa animal, a produção de leite e a verticalização do setor laticinista é um empreendimento que gera renda, agrega tecnologia e desenvolve o meio rural (LOPES *et al.*, 2005; MARTINS *et al.*, 2006).

Na Messorregião Sudeste do Estado do Pará a bovinocultura leiteira como atividade econômica vem crescendo cada vez mais, já existindo, nos dias atuais, o que se pode considerar como a mais importante bacia leiteira do Estado do Pará, com uma taxa de incremento de 64,3% registrada entre 1990 e 2000, contra uma média nacional estimada em 36,5%; logo, a bovinocultura leiteira passou a ser uma importante atividade econômica (NOGUEIRA, 2001; VIEIRA, 2005).

De acordo com Gonçalves & Teixeira Neto (2002) a criação de bovinos leiteiros na Região Amazônica revela-se como atividade pecuária importante para produtores de qualquer nível, em função do menor custo da terra e de sua favorável condição edafo-climática.

Considerando-se apenas o aspecto sócio-econômico, nessa região os animais representam não apenas um meio de subsistência do homem ou fator de diminuição do êxodo rural, mas uma atividade que têm contribuído para melhoria da renda familiar; quando explorada de forma otimizada, pode fornecer retorno econômico ao produtor, sendo um forte fator de consolidação dos estabelecimentos agrícolas, pois existe na região um mercado consumidor de população, na maioria urbana (FAMINOW, 1998; IBGE, 2000; FERREIRA, 2006).

A bovinocultura leiteira na Mesoregião Sudeste, principalmente no município de Parauapebas é voltada, em parte, para a produção de laticínios e cuja parte é destinada à subsistência, de acordo com observações rotineiras locais.

Segundo Silva & Oliveira (2003), as perspectivas de crescimento para geração de emprego e renda e, conseqüentemente, melhoria no padrão de vida da comunidade, evita o êxodo rural das famílias que vivem em função dessa atividade econômica.

A saúde dos rebanhos é um fator importante, pois pode representar grave impedimento ao crescimento da produção e aumento de produtividade, resultando em perdas financeiras e limitações de natureza sócio-econômicas como transmissão de doenças ao consumidor, além de inviabilizar o beneficiamento do leite pelos laticínios. (BRASIL, 1997, a, b; FREITAS, 2001).

A situação atual da pecuária leiteira no Sudeste Paraense, em especial no município de Parauapebas, parece indicar a necessidade de realização de estudos, considerando o panorama local da produção leiteira e seus entraves e os fatores de ordem sanitária que afetam a produção.

Devido ao fato de na região encontrarmos propriedades com grande potencial para constituir bacias leiteiras e capazes de aumentar a produtividade pretende-se, com este estudo, identificar fatores de ordem sanitária e levantar a ocorrência e as condições sanitárias relacionadas à mastite bovina, grave problema sanitário que afeta a produção leiteira. (SANTANA & COSTA; 2001).

Nesse contexto, doenças infecciosas como a mastite, são expressivas, pois influem, significativamente, na produção e produtividade e seletivas para consumo, pois a ingestão de leite e derivados contaminados representa um elevado risco para o consumidor. A doença é uma seqüência de processos patológicos que limitam a produção leiteira, e promove graves efeitos na produtividade e no aproveitamento e no beneficiamento do leite (HARROP *et al*, 1975; KRUIZE, 1998; COSTA *et al*, 1999; FREITAS, 2001; PRETTO *et al*, 2001).

Benites (1999) relaciona a mastite como um dos mais graves problemas sanitários da pecuária leiteira e que determina elevados prejuízos econômicos decorrentes de queda na produção e diminuição da qualidade do leite, afetando rebanhos leiteiros em todas as regiões geoeconômicas do País. Segundo o

autor as profundas alterações fisiológicas, bioquímicas e físico-químicas que a mastite determina no leite, refletem no aproveitamento tecnológico do produto.

Diferentes agentes infecciosos, entre as quais: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis*, *Prototheca zopfii* bem como, procedimentos higiênicos de ordenha e manejo dos animais, são causadores e concorrem para a ocorrência de mastites. De 15 a 25% das perdas na produção do leite por mastites ocorrem devido a agentes poucos conhecidos na patogênese dessa doença. Nos Estados Unidos a mastite resulta em perdas de milhões de dólares anualmente. (WHITNEY & PRIDDLE, 1992; COSTA *et al*, 1995; PARDO *et al*, 1998; KRUIZE, 1998; OLIVEIRA *et al*, 1999; LAEFRANCHI *et al*, 2001)

Por provocarem alterações importantes na quantidade do leite e nos seus derivados, os agentes microbianos de mastites constituem, um dos empecilhos a verticalização da indústria leiteira e de agregação de valor ao leite.

A mastite é uma doença que acarreta elevados prejuízos à produção de leite, com perdas financeiras, decorrentes de tratamentos, mão-de-obra especializada, descarte de animais, depreciação no valor e redução na produção de leite (VEIGA, 1998; SENA *et al*, 2000).

No Estado do Pará, são poucos os trabalhos de campo que podem servir de base para estabelecer a magnitude dos problemas decorrentes da mastite e os reflexos na produção leiteira (FREITAS, 2001).

O objetivo do presente trabalho foi estudar a ocorrência de mastite bovina em rebanhos no Município de Parauapebas, um dos municípios de maior crescimento sócio-econômico da Mesorregião Sudeste do Estado do Pará.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PRODUÇÃO LEITEIRA NO PARÁ

A Região Norte possui um efetivo bovino que corresponde à cerca de 11% do rebanho nacional, 88% dos quais estão nos Estados do Pará (35%), Tocantis (30%) e Rondônia (23%). A produção leiteira anual dessa região está em torno de 846 milhões de litros, o que representa aproximadamente 5% da produção brasileira, concentrada nos estados de Rondônia (40%), Pará (34%) e Tocantis (17%) (IBGE, 2001).

Em relação à produção leiteira do Estado do Pará Santana & Costa (2001) informaram que 94,59% do leite é procedente de vaca (287.217 litros) e 5,31% de búfala (16.254 litros). Do total de leite bovino, 55,37% são enviados aos laticínios, e aos consumidores de forma direta e o restante consumido na própria unidade de produção.

A Mesorregião Sudeste do Pará dispõe de um rebanho bovino leiteiro estimado em 2 482.963 reses, com um plantel de cerca de 159.415 vacas e ,no qual, predominam animais mestiços de Girolando X Zebuínos, Guzerás x vacas Mestiças. (SEBRAE/PA, ADEPARÀ, 2006).

A produção leiteira anual nessa região é de cerca de 84 milhões de litros de leite, destacando-se os municípios de Água Azul do Norte (33 milhões /litros/ano), Marabá ( 17 milhões/litros/ano), Canaã dos Carajás (11 milhões/litros/ano), Eldorado dos Carajás ( 8 milhões/litros/ano), Curionópolis (8 milhões/litros/ano) e Parauapebas (6 milhões/litros/ano) (SAGRI/PA, 2005).

Na Mesoregião Sudeste encontra-se o principal pólo de produção leiteira do Estado do Pará. Dados do ano de 2006 apontam para o município de Parauapebas um universo de 317 pecuaristas, produção estimada de 9.948 litros/dia, realizada exclusivamente por pequenos produtores, animais sem padrão racial definido, precárias condições sanitárias, sendo que 72% deles são considerados pequenos produtores, pois produzem até 50 litros/dia; 18% médios (produzem entre 51 e 100 litros/dia) e 10% grandes (produzem mais de 100 litros/dia) (SEBRAE/PA, ADEPARÀ, 2006).



Em Parauapebas 100% das propriedades são consideradas como familiares. O rebanho é criado livres a pasto, sem manejo reprodutivo, cerca de 92% das propriedades utilizam latão plástico para o transporte do leite e não são tomados cuidados especiais durante o processo de ordenha; foi observado o uso de recipientes reaproveitados de produtos químicos para o transporte do leite. Entre as fêmeas leiteiras predominam as raças mestiças (93%) e Guzerá (7%), a produtividade básica gira em torno de 3,3 litros/dia/animal e apenas 33% propriedades afirmam vacinar contra brucelose (SEBRAE/PA, ADEPARÀ, 2006).

## 2.2 FATORES QUE INTERFEREM NA PRODUÇÃO LEITEIRA

Conforme Oliveira (1999), a produtividade leiteira e a comercialização dos produtos lácteos na Amazônia, apresentam baixos índices de eficiência, como consequência de aspectos culturais, precários níveis tecnológicos, rebanhos originalmente de baixa aptidão leiteira, sistemas de produção e pelas adversidades climáticas, especialmente no período seco, que reduz drasticamente a produção de alimentos dispensados aos animais.

O leite apresenta elevado percentual de amostras fora dos padrões físico-químicos, microbiológicos e sanitários exigidos pela legislação vigente em nosso País. Para assegurar leite com qualidade, cuidados devem ser dispensados à produção, melhoramento genético, manejo nutricional, controle sanitário, práticas higiênicas de ordenha, resfriamento nas propriedades e transporte (OLIVEIRA, 1986; DÜRR *et al.*, 2001).

Segundo Vilela *et al.* (2003) o principal problema que restringe a rentabilidade das explorações leiteiras é a baixa produtividade, inadequado manejo alimentar, reprodutivo e sanitário do rebanho.

De acordo com Simão Neto (1986) os recursos naturais, as tecnologias adotadas na atividade leiteira, o manejo sanitário e a alimentação das vacas leiteiras, são inadequadas à produção regional de leite em qualquer região.

Conforme Gonçalves & Teixeira Neto (2002) entre os fatores que afetam a pecuária local encontram-se os baixos índices zootécnicos do rebanho, decorrentes de uma alimentação, manejo reprodutivo e sanitário inadequados,

baixo preço do leite, a assistência técnica precária, reduzida disponibilidade e altos custos de insumos, além dos baixos índices de escolaridade dos produtores. De acordo com os autores esses e outros fatores contribuem para os baixos índices de produtividade. De acordo com trabalhos realizados na Mesorregião Sudeste em 42 propriedades localizadas nos municípios de Tucuruí, Paragominas, São Felix do Xingu, Parauapebas, Marabá, Redenção e Conceição do Araguaia.

## 2.3 MASTITE

### 2.3.1 Conceituação e Aspectos Patológicos

A mamite (do latim *mammae*) ou mastite (do grego *mastos*) é uma doença de grande importância, a literatura veterinária reporta inúmeros estudos em vacas leiteiras. Identificar uma mama doente, na maioria dos casos não representa uma tarefa difícil, mas considerar um quarto efetivamente sadio ou em vias de apresentar alguma alteração ainda é discutível. Além disso, a maioria das mamites apresenta-se sem sinais físicos de processo inflamatório agudo, sendo crônicas ou incipientes e, apesar do aspecto aparentemente inofensivo, causam sérios prejuízos econômicos e servem de fonte de infecção (COSTA, 1998).

A inflamação da glândula mamária é causada por variados tipos de microorganismos, podendo se manifestar na forma clínica ou subclínica. No processo pode ocorrer a diminuição na produção de leite devido à destruição do tecido secretor pela ação dos microrganismos e pela migração de leucócitos para o interior da glândula (PHILPOT & NICKERSON, 1991, BRAMLEY *et al.*, 1996, LANGONI, 1998).

Andrade (2001) classifica a doença como uma enfermidade complexa resultante da interação do agente, do meio ambiente, incluindo os determinantes humanos e hospedeiro, sendo que, diversos microorganismos podem estar implicados nesta doença, assim como várias fontes de infecção podem veicular e disseminar esses agentes.

Brito *et al.* (1996) citam que na maioria das fêmeas o leite é estéril e normalmente não se isolam dele organismos, parasitas ou comensais. No entanto, como acontece com outros tipos de tecidos animais, materiais estranhos são introduzidos com frequência na glândula mamária podendo ocorrer o aparecimento de reações brandas, em razão da fraca estimulação do reconhecimento deficiente do irritante, ou da remoção rápida e eficiente do estímulo; não são detectáveis, a não ser por uma investigação mais detalhada, estas reações constitui as mastites subclínicas.

O tecido do úbere pode aparecer anormal, tornando-se edematoso avermelhado, sensível ao toque. Como efeitos sistêmicos no organismo dos animais acometidos pode ser evidenciado os seguintes sintomas: aumento de temperatura corporal até mesmo a morte de animal devido a vários efeitos fisiológicos possíveis (BRITO *et al.*,1996).

O estabelecimento dos microorganismos na glândula mamária e o conseqüente desencadeamento do processo inflamatório apresenta a seguinte seqüência de eventos: penetração – instalação – multiplicação. A principal porta de entrada de microorganismos é o orifício do teto. A via descendente (através da circulação sangüínea) é menos importante, mas pode ser esta a via de disseminação nos casos de mastite intersticial crônica (COSTA, 2000).

### 2.3.2 Aspectos Epidemiológicos

#### 2.3.2.1 Etiologia

Parece existir mais de 135 causas possíveis de mastite, mas a grande maioria dos casos resulta de um grupo de não mais de dez patógenos “comuns”. Nas diversas investigações microbiológicas de mastite clínica revelam um agente causador presente em torno de 75-95% dos casos com evidência suficiente de que microorganismos possam estarem envolvidos em quase todos os casos de mastite clínica (WILSON & KINGWILL, 1975; WILESMITH *et al.*, 1986; WATTS, 1988; HILLERTON *et al.*, 1993).

De acordo com Mendonça *et al.* (1999), a doença pode ser classificada quanto à forma de apresentação em clínica e subclínica e quanto à forma de transmissão, em primária (contagiosa) e secundária (ambiental).

Diferentes etiologias são responsáveis pela ocorrência de mastite, como fungos, bactérias e algas, até traumatismos e fatores relacionados à lactação, ordenha, intensidade e especialização da exploração leiteira (WHITNEY & PRIDDLES, 1992; GERMANO, 1994).

A mastite pode ser de origem tóxica, traumática, alérgica, metabólica ou infecciosa. Destacam-se como agentes das infecciosas, as bactérias do gênero *Staphylococcus* (COSTA *et al.*, 1995; BRITO *et al.*, 2002; FREITAS *et al.*, 2005; CUNHA *et al.*, 2006).

O leite é um ótimo meio para desenvolvimento de microrganismos e, entre os agentes etiológicos causadores de mastite, destacam-se os de origem contagiosa e os ambientais. Apesar da grande variedade de agentes infecciosos isolados a partir da glândula mamária, existem alguns que são predominantes, como é o caso dos *Estafilococos* e *Streptococos* (MENDONÇA *et al.*, 2004).

Os patógenos predominantes nas infecções são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, seguidos pelo *Corynebacterium bovis*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Mycoplasma* sp. A mastite ambiental caracteriza-se pelo fato do reservatório do patógeno estar localizado no próprio ambiente das vacas leiteiras, sendo os patógenos primários mais frequentes são as bactérias Gram negativas como *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp. e *Proteus* sp. (MARGATHO *et al.*, 1998).

De acordo com Brito *et al* (1996) *Staphylococcus aureus* é considerado o mais frequente dos microrganismos causadores de mastite subclínica e clínica. Sendo encontrados colonizando a glândula mamária, o canal da teta, feridas e lesões, e são especialmente importantes em lesões da teta e seu orifício. Os quartos mamários infectados são, porém, o principal reservatório desses microrganismos, sendo os mesmos transmitidos por qualquer forma de contato incluindo o ordenhador, tecidos usados na limpeza das tetas e equipamentos de ordenha, como os insufladores da teteira, pois a transmissão pode ocorrer durante a ordenha, seja de um quarto para outro ou a partir de vacas ordenhadas previamente.

Devido a baixa taxa de cura das mastites as bactérias sobrevivem dentro dos neutrófilos fagocíticos que permanecem no úbere e liberam bactérias viáveis após a morte dos neutrófilos (BRITO *et al.*, 1996).

Filippsen *et al.* (1999) avaliaram 1.319 quartos mamários de vacas em lactação em 20 propriedades leiteiras da região Norte do Paraná, e verificaram que 57% dos microrganismos isolados eram bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus*.

Algumas estirpes de *Staphylococcus aureus*, por exemplo, podem produzir toxinas termoestáveis desencadeadoras de intoxicação alimentar, sendo esta bactéria relevante nos casos de mastite bovina em todo o mundo. O *S. aureus* é considerado o mais importante agente etiológico de mastite em diferentes países. Esta bactéria induz resposta inflamatória e, conseqüentemente, grandes perdas na produção de leite, sendo considerados os quartos mamários infectados como os principais reservatórios da infecção (ENEVOLDSEN *et al.*, 1995).

O *S. aureus* tem sido apontado como o mais freqüente agente bacteriano isolado tanto de infecções clínicas como subclínicas em vacas leiteiras mas, atualmente, os *Staphylococcus coagulase-negativos* passaram a ser considerados os principais agentes etiológicos em ambas as formas de mastite (GENTILINI *et al.*, 2002; PITKÄLÄ *et al.*, 2004; FREITAS *et al.*, 2005; CUNHA *et al.*, 2006).

A participação dos estafilococos coagulase-negativos tem sido cada vez mais destacada na etiologia da mastite, causando elevadas contagens celulares e diminuição na produção de leite (TIMMS & SHULTZ, 1987; MENDONÇA *et al.*, 1999).

*S. aureus* é capaz também de pré-formar nos alimentos diferentes enterotoxinas termoestáveis. Desta forma, o leite mastítico e os produtos derivados podem levar a toxinfecções alimentares (BERGDOLL, 1989; MELCHÍADES *et al.*, 1993; COSTA *et al.*, 2000; FAGUNDES, OLIVEIRA, 2004).

*Staphylococcus* spp. se destaca pela capacidade de ser ou se tornar resistente a um grande número de antibióticos. Espécimes desse gênero, isolados em ambiente hospitalar humano, têm mostrado perfil de multiresistência (SANTOS, 1999; SADOYAMA & GONTIJO FILHO, 2000; FREITAS *et al.*, 2005).

Martins *et al.* (1998) e Ferreira *et al.* (2006) associaram o agravamento da resistência bacteriana ao uso freqüente e indiscriminado de antimicrobianos e, aos mecanismos de transferência de resistência entre os microrganismos. Este fato é comumente observado em surtos de mastite em vacas (BRITO *et al.*, 2001).

Entre os estreptococos o *S. agalactiae* é o patógeno melhor adaptado à glândula mamária, sendo raramente encontrado fora dela, causador de doença clínica aguda e infecção subclínicas persistentes, sendo facilmente eliminado por terapia antibiótica. A erradicação assim torna-se possível e os rebanhos permanecerão livres da infecção, a menos que, haja reinfecção a partir de animais de fora (BRITO *et al.*, 1996).

O *S. dysgalactiae* é associado com as lesões de tetas, geralmente no período seco e o *S. uberis*, tem grande importância como organismo associado ao ambiente. Em relação a participação da *E. coli* a contaminação da mama ocorre principalmente no intervalo entre as ordenhas. A doença é aguda ou hiperaguda, resultando no mais alto índice de mortalidade para qualquer forma de mastite (BRITO *et al.*, 1996).

As Enterobactérias são importantes agentes de infecções mamárias, justamente aquelas denominadas de mastites ambientais. Formam um grupo de bactérias Gram negativas, fermentadoras da glicose e oxidase negativas as quais inclui espécies como a *E. coli*, *Klebsiella* sp. e *Enterobacter* sp. Dentre dessas espécies de importância clínica geral, a *E. coli* destaca-se por ser responsável por episódios de severa manifestação clínica. Em infecções por *E. coli* além da antibioticoterapia, é importante o tratamento sintomático, já que, as toxinas podem levar o animal ao choque e morte (OLIVEIRA *et al.*, 2000; BRABES *et al.*, 2003, PRESTES *et al.*, 2003).

Segundo Laranja da Fonseca e Santos (2000), nas mastites ambientais entre os principais grupos de bactérias envolvidas estão, além dos coliformes, os estreptococos não *agalactiae*. Entre os coliformes, a *E. coli* é a mais prevalente e grave, porque, geralmente resulta em casos agudos decorrentes de um quadro causado por toxinas e, causam mais frequentemente, casos de mastite clínica. Waage *et al.* (1999) estudaram casos de mastites clínicas bovinas e verificaram que os Staphylococcus Coagulase Negativos - SCN eram os principais agentes. Deve ser destacado, no entanto, que no referido estudo,

o autor não determinou se os SCN isolados eram adquiridos durante a ordenha ou do ambiente.

Para Schalm *et al.* (1971), Watts (1988) e Fernandes (1992) três espécies de bactérias são freqüentemente identificadas como causadoras de mastite: *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* e o *S. uberis*, sendo o *S. agalactiae* o mais prevalente.

Uma classificação de interesse epidemiológico agrupa os microrganismos causadores de mastite em dois grupos segundo a fonte de infecção e modo de transmissão: microrganismos contagiosos (ou vaca dependentes), transmitidos principalmente durante a ordenha: e microrganismos ambientais, ubiqüitários, presentes no ar, cama, água e fezes.

No primeiro grupo encontram-se o *S. agalactiae*, *S. aureus* e *C. bovis* e no segundo grupo, *S. uberis* e outros estreptococos, enterobactérias, *Actinomyces pyogenes*, *Pseudomonas* sp., além de fungos, principalmente leveduras, e algas clorofiladas do gênero *Prototheca* sp. (COSTA, 1998).

Outros agentes bacterianos foram relacionados como causadores eventuais da mastite, tais como : *Pasteurella multocida*, *P. haemolytica*, *Actinomyces pyogenes*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* entre outras bactérias (SCHALM *et al.*, 1971, CARTER, 1979; FERREIRO *et al.*,1981).

Muitos outros microrganismos patogênicos podem ser isolados de leite mastítico. No Brasil há relatos de isolamento de *L. monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp. e *S. aureus* produtor de enterotoxina (Franco *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2000). O *Actinomyces pyogenes*, causa danos teciduais muito significativos e perda do tecido secretório (BRITO *et al.*,1996; FRANCO *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2000).

Nas mastites secas os mais comuns microrganismos causadores são: o *S. uberis* (Bramley, 1985), *E. coli* e outros coliformes, sendo a exteriorização da doença no período do pré-parto. De acordo com Kruze e Bramley (1983) – são os intestinos a mais importante fonte de infecção.

As mastites causadas por organismos contagiosos, como *S. aureus* e *S. agalactiae*, se transmite muito mais facilmente durante a ordenha por serem os principais agentes da glândula infectada. Enquanto que, as infecções por patógenos ambientais como *E.coli*, *klebsiella* sp., *S. uberis*, *S. dysgalactiae* e

*Pseudomonas* são mais freqüentes nos períodos de inter-ordenha, especialmente em animais estabulados, devido o contágio com as fezes, ou por contato com a descargas vaginais, camas contaminadas entre outros fatores (PHILPOT Y & NICKERSON, 1991).

Considera-se mastite contagiosa aquela causada por microorganismos bem adaptados para sobreviver no úbere, os quais são transferidos de uma glândula infectada para outra sadia, principalmente durante a ordenha. Nessa categoria se incluem o *S. agalactiae* e o *S. aureus* ( BRAMLEY 1987; PANKEY, 1989; CULLOR *et al.* 1993; GAY, 1993; SMITH & HOGANS, 1993).

Em relação a etiologia da mastite ambiental, esta ocorre quando bactérias que vivem na cama, na água, no solo, em fômites contaminados ou em qualquer componente do meio ambiente da vaca têm acesso a glândula mamária. A transferência dos microorganismos à glândula ocorre principalmente no intervalo entre ordenhas (GAY ,1993; SMITH & HOGANS, 1993).

Mastites causadas por coliformes, como a *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* e *Enterobacter aerogenes* e por Streptococcus ambientais como o *S. uberes*, *S. bovis*, *S. dysgalactiae*, *Enterococcus faecium* e o *Enterococcus faecalis*, cuja infecção ocorre predominantemente entre as ordenhas, são infecções consideradas de origem ambiental. (LESLIE, 2004).

Apesar da maioria das mastites bacterianas serem causadas por bactérias aeróbias (COSTA *et al.*, 1986) é crescente a preocupação do envolvimento de agentes anaeróbios nesses processos patológicos (Du PREEZ, 1989).

Esporadicamente, podem ser isolados outros agentes como fungos, identificados em 1 a 12% dessas afecções. O predomínio maior é das formas leveduriformes e em especial, do gênero *Cândida*. Tais microorganismos são encontrados em inúmeras fontes como equipamentos de ordenha, fezes, infusões intramamarias, alimentos e até mesmo na pele do úbere e tetos. (KRUKOWSKI & SABA,2003).



### 2.3.2.2 Fatores de Risco á Mastite:

Smith & Hogans (1993) relacionaram os fatores como ordenha, doenças digitais, cama, água, solo, parasitos, fômites contaminados onde podem propiciar a transferência de microorganismos para a glândula mamária desencadeando a inflamação que, geralmente, é de caráter infeccioso sendo classificado como clinica ou subclinica.

Smith & Hogans (1993) consideram que, além do nível de exposição às bactérias a que os animais estão sujeitos no meio ambiental, a possibilidade de ocorrência de infecção intramamária dependerá também dos mecanismos de defesa do animal, aspectos inerentes a interação agente, hospedeiro e ambiente.

Bramley (1981) relatou que uma boa preparação do úbere antes da ordenha melhora a qualidade bacteriológica do leite, quando a lavagem é realizada com água limpa e de baixa pressão.

No que se refere à ordenha, na Mesorregião Sudeste apenas 2,5% do leite são oriundos de unidades especializadas que praticam a ordenha mecânica o restante está restrito as unidades que fazem ordenha manual ou safrista (COSTA JÚNIOR, 2001).

A mastite é influenciada por uma variedade de fatores diretos e indiretos, tais como, a conformação do úbere, as condições do esfíncter da teta, as condições gerais da higiene, os procedimentos e condições de ordenha. Além de reduzir a produção, influi negativamente na qualidade do leite e leva os prejuízos devido ao descarte de animais e aumento dos custos da produção. (JAIN, 1979; BLOSSER 1979; PHILPOT, 1979; BECK *et al.*, 1992, VEIGA, 1998).

A incidência de mastite é em grande parte atribuída à falta de condições de higiene da ordenha do ordenhador e dos equipamentos (KRUG *et al.*, 1982; BECK *et al.*, 1992; BRITO *et al.*, 1997).

De acordo com Regik (1978), bons e maus hábitos de ordenha podem ser desenvolvidos tanto no ordenhador como na vaca. Se ordenhador puder manter um ambiente ótimo no estábulo e praticar bons hábitos de ordenha, a maioria das vacas irá responder favoravelmente, os animais, a área de criação, o clima, a salubridade do local, a fertilidade das terras, a alimentação o pessoal

encarregado do serviço e as vias de comunicação são fatores que influenciam a qualidade do leite.

O Sebrae (2000) informa que na região Sudeste Paraense, foi detectado que as práticas higiênicas tanto nas fazendas como nos laticínios são precárias, sendo a ordenha efetuada manualmente, em locais a céu aberto, sem piso de cimento, utilizando-se equipamentos (latões, coadores e baldes) inadequados e sujos, o que tem contribuindo em larga escala para a contaminação do leite.

### 2.3.2.3 Formas de Apresentação e Distribuição

Embora a mastite possa ocorrer nas fêmeas leiteiras durante o decorrer da vida produtiva é a partir da primeira gestação que os sintomas e mesmo os primeiros reflexos da doença aparecem (CORRÊA & CORRÊA, 1992).

Os índices mundiais da forma subclínica da mastite estão em torno de 40% e no Brasil, a prevalência média da forma clínica é de 17,45% e da forma subclínica 72,56% (DUVAL, 1997; LADEIRA, 2001; GREEN, 2002).

No Brasil, como de resto nos outros países, a mastite já ocorreu nas diversas regiões de criatório leiteiro, em animais de diferentes raças e graus de mestiçagem e envolveu fêmeas primíparas e múltiparas (ANDRADE *et al.*, 1998; PARDO *et al.*, 1998; LAFFRANCHI *et al.*, 2001).

Uma das mais antigas notificações de ocorrência de mastite no País é a de Langenegger *et al.* (1970), em bovinos na bacia leiteira do Estado do Rio de Janeiro; uma das mais recentes foi notificada por Martins *et al.* (2006), em rebanho de uma indústria laticinista no Estado do Mato Grosso.

A doença tem sido diagnosticada em rebanhos produtores de leite tipo B no Estado de São Paulo (NADER FILHO *et al.*, 1985; LARANJA & MACHADO, 1994) e em importantes regiões produtoras de leite no Brasil, como os estados de São Paulo, Paraná, Minas Gerais e Goiás (LARANJA & MACHADO, 1994; SILVA *et al.*, 2004; ALMEIDA & MENDES, 2005).

A mastite apresenta grande importância dentro de qualquer sistema de produção de leite no mundo todo. Apresentando uma alta prevalência, estando

presente em mais de 50% dos efetivos leiteiros do mundo, provocando diminuição total ou parcial na produção leiteira (RIBEIRO *et al.*, 2000).

Até 18% dos quartos mamários de novilhas podem estar infectados por ocasião do primeiro parto. O estágio de lactação e a época do ano também são fontes de variação para a incidência de infecção do úbere (.WIGGANS & SHOOK, 1987; BRITO *et al.*, 1996).

A mastite pode ocorrer na glândula mamária em qualquer estágio da vida da vaca. A doença clínica ocorre geralmente durante a lactação. As formas particulares de mastite são também comuns em animais não-lactantes, sejam antes do primeiro parto nas fêmeas primíparas ou nas pluríparas, seja no período seco, entre as lactações nos animais adultos (BRITO *et al.*, 1996; PARDO *et al.*, 1998; LAFFRANCHI *et al.*, 2001).

Vacas mais velhas e com maior número de lactações podem ser mais propensas a adquirir infecções mamárias e são mais difíceis de serem curadas quando se estabelecem infecções crônicas, com abscedação ou ainda por danos permanentes à glândula por infecções prévias (COLDEBELLA *et al.*, 2003).

Monsaller *et al* (1986) relataram que o crescimento do número de partos e as condições meteorológicas (calor e umidade) participam muito da evolução da doença.

A forma subclínica é a mais prejudicial que a forma clínica, pela falta de sintomas ou sinais, determinando perdas econômicas maiores que variam de 5 a 25% da produção leiteira por ocorrer 15 a 40 vezes mais que a forma clínica além de ter longa duração, ser de difícil detecção (LANGENEGGER *et al.* (1981; CORRÊA & CORRÊA, 1992; CERQUEIRA *et al.*, 1995; MENDONÇA *et al.*, 1999).

Existem animais que não apresentam alterações visíveis na glândula, porém o leite possui alta contagem de células somáticas (CCS). Essas infecções, além de contribuírem com significativas perdas econômicas, podem ser consideradas como um problema sério para a saúde pública (TYLER *et al.*, 1992; CARDOSO *et al.*, 1999).

Varela (1992) apontou a mastite clínica aguda como o resultado de um conjunto de alterações visíveis na glândula mamária na forma clínica como

tumor, dor, rubor e alterações no leite, como: alterações de composição, características sensoriais e físico-químicas, diferindo da condição subclínica.

Na forma clínica da doença, as alterações no leite e no úbere são evidentes, e os sintomas variam de acordo com a gravidade da infecção. Na forma subaguda ocorrem alterações visíveis no leite, principalmente nos primeiros jatos, podendo o quarto mamário doente estar ou não sensível ou inchado; na forma aguda as alterações se manifestam também no úbere, e o animal apresenta dor, inchaço, vermelhidão e consistência endurecida na área afetada. Na forma superaguda além dos sintomas anteriores que podem ser mais acentuados, o animal pode apresentar ainda respiração e pulso acelerados, desidratação, diarreia ou outros distúrbios no organismo, podendo até morrer (PHILPOT *et al.*, 1991).

Na forma subclínica os sintomas da mastite não são evidentes impossibilitando a identificação da doença por observação visual. Somente testes específicos que detectem células somáticas, enzimas, alterações dos componentes, como caseína, lactose, gordura e cloretos. Sendo a mastite subclínica muito mais freqüente que a clínica, pois altera a composição do leite onde o animal doente tem sua produção reduzida e transmite facilmente o agente da doença para outros animais do rebanho (VEIGA, 1998).

Veiga (1998) destaca aspectos externos importantes no exame de úbere e tetas, como diferenças no tamanho ou no formato das tetas e úbere. O quarto com mastite aguda recente e o linfonodo retromamário apresenta aumento de tamanho. Um quarto com infecção crônica tende à atrofia. Em relação ao exame manual do úbere e das tetas o autor destaca a importância da palpação na verificação da existência de nódulos, fibrose, edema aumento da temperatura local ou de outros sinais inflamatórios, sendo avaliadas possíveis alterações no leite, por exemplo: presença de grumos ou flocos, coloração amarelada, aspecto aquoso presença de pus ou sangue.

Santos *et al.*, (2007) descreve outras formas clínicas da doença tais como: mastite subaguda, mastite clínica aguda, mastite hiperaguda, mastite crônica, mastite não específica e mastite latente.

## 2.4 PATOGENIA

Em relação a patogenia do *S.aureus*, após a multiplicação deste agente no interior da glândula mamária, pode ocorrer a formação de vacúolos que envolvem o microrganismo e impedem o acesso e a ação de antibióticos. Os microabcessos formados poderão romper-se posteriormente, liberando o microrganismo no interior da glândula mamária e caracterizando as infecções de longa duração, com tendência a se tornarem crônicas e com baixas taxas de cura que são próprias do agente (WAITTIAUX, 2001).

*S. aureus* possui vários fatores de virulência que contribui para a sua persistência no tecido mamário, como produção de toxinas extracelulares e enzimas (LEE, 2003, SANTOS *et al.*, 2003).

De acordo com Hamill *et al.* (1986) os *Staphylococcus* sp aderem às células endoteliais por meio de receptores de adesinas e são fagocitados por essas células.

O ambiente intracelular protege os *Staphylococcus* sp. dos mecanismos de defesa do hospedeiro, assim como dos efeitos dos antibióticos. Segundo Lowy (1998) estes fatores podem aumentar a sobrevivência bacteriana contribuindo para o desenvolvimento de infecção persistente ou recorrente. Espécimes de *S. aureus* isolados de leite mastítico bovino também apresentam características de virulência e resistência a diversos antibióticos utilizados rotineiramente no tratamento da doença (FREITAS *et al.*, 2005)

O *S. aureus* é capaz de causar infecções de longa duração, com tendência a se tornarem crônicas, com baixa taxa de cura e grande perda na produção de leite (SABOUR *et al.*, 2004).

Durante a infecção e inflamação são expressas moléculas de adesão e os polimorfonucleares margeiam ou aderem ao endotélio dos capilares sanguíneos, passando entre as células destes. Mensageiros químicos ou agentes quimioatraentes liberados de leucócitos presentes no leite ou de tecidos danificados atraem grande número de polimorfonucleares para o leite, resultando num aumento do número de células somáticas (HARMON, 1994).

Quando um animal é acometido pela mastite, a concentração de potássio no leite diminui, enquanto as concentrações dos íons sódio e cloreto elevam-se (NIELEN *et al.*, 1992).

Por outro lado, o íon cloreto está presente na circulação sanguínea e, durante os processos inflamatórios, atravessa os capilares venulares e direciona-se ao lúmen dos alvéolos da glândula mamária, devido ao aumento da permeabilidade vascular e a destruição das junções celulares e do sistema de bomba ativa (ZAFALON *et al.*, 2005; EL-NAGGAR, 1973).

## 2.5 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

Dentre as doenças que acometem o rebanho leiteiro e comprometem a qualidade do leite, a mastite ocupa lugar de destaque por possuir importância econômica e para a saúde pública. Redução de até 70% na produção de leite e perdas devidas por descarte do leite (8%), despesas com medicamentos e assistência veterinária (8%), morte e descarte do animal (14%), além de substituição de matrizes e conseqüente desvalorização comercial dos animais. Apesar de ser a doença mais importante em termos econômicos para a indústria leiteira, é difícil de ser controlada a substituição de matrizes e conseqüente desvalorização comercial dos animais (PHILPOT, 1984; KIRK, GLENN, 1996; PYORALA, 2002).

Conforme Laranja da Fonseca e Santos (2000) os prejuízos no Brasil atribuídos às formas clínica e subclínica, incluem a diminuição na produção de 30% e 70%, respectivamente. Além disso, há gastos com medicamentos e assistência veterinária, inutilização de leite contaminado após tratamento, descarte precoce de animais doentes e dificuldade no controle do rebanho (COSTA *et al.*, 1999; FREITAS *et al.*, 2005; CUNHA *et al.*, 2006).

Como a doença que mais causa prejuízos à indústria leiteira, afeta diretamente o produtor, os processadores e o consumidor final, pois diminui a sua produtividade e aumenta os custos de produção, estima-se que haja prejuízos de cerca de US\$ 200 por animal ao ano (SANTOS *et al.*, 2007)

Além disso, leite bovino não beneficiado é freqüentemente empregado na fabricação de diversos tipos de derivados, principalmente queijos, o que transforma esses produtos também em alimentos de alto risco (Orriss, 1997). Em levantamento realizado na França, constatou-se que leite cru e derivados preparados com esse produto foram responsáveis por cerca de 6% dos surtos

de DTAs nos quais foi possível a identificação do alimento envolvido, sendo *S. aureus* o microrganismo mais freqüentemente identificado como a causa ( De Buyser *et al.*, 2001).

Em um rebanho típico dos Estados Unidos, a diminuição na produção de leite associada à mastite subclínica representou de 70% a 80% de todas as perdas econômicas advindas da mastite (Fetrow *et al.*, 2000).

Philpot (1984) calculou que 70 % das perdas econômicas, devido à mastite subclínica, podem ser atribuídas à queda de produção, 8 % ao descarte de leite contaminado, 8% à assistência veterinária e os restantes 14 % a gastos com medicamentos e mão-de-obra, diminuição do valor comercial e reposição do plantel. DeGraves & Fetrow (1993) acrescentaram que um aspecto frustrante é que 75 % das perdas são percebidas pelo produtor.

Kirk *et al.* (1994) ponderam que as mastites subclínica são responsáveis por 10% a 11% de perda na capacidade produtiva/vaca/ano. No Brasil, Domingues (1993), comparando a produção de leite entre quartos com mastite subclínica, com seus homólogos negativos, verificou queda de produção significativa nos quartos mamários positivos sendo 15,97%, 21,43% e 30,73% para os resultados (+), (++) e (+++) ao CMT, respectivamente.

Santos *et al* (2007) e Lightner *et al* (1988) descreveram de forma mais detalhada os fatores que determinam estas perdas econômicas: redução na produção de leite,descarte do leite,aumento da necessidade de reposição de matrizes,decréscimo no valor de venda dos animais,custos com assistência veterinária e medicamentos e aumento da necessidade de mão de obra.

Na tabela 1, nota-se claramente que os prejuízos estão relacionados principalmente com a queda na produção, pois além dos prejuízos na produção primária, a mastite também é um problema para as indústrias de laticínios. A utilização de leite de baixa qualidade tem implicações tecnológicas relevantes como, por exemplo, o baixo rendimento na fabricação dos derivados, a diminuição da vida de prateleira dos produtos e alterações nas características originais do leite e dos derivados (Silva, 1999).

**Tabela 1.** Perdas anuais decorrentes da mastite

<b>Causa da perda</b>	<b>Perda por vaca (US\$)</b>	<b>% do total</b>
Queda na produção	121.00	66.0
Descarte do leite	10.45	5.7
Preço de reposição	41.73	22.6
Trabalho extra	1.14	0.1
Tratamento	7.36	4.1
Serviços veterinários	2.72	1.5
<b>Total</b>	<b>184.40</b>	<b>100.00</b>

**Fonte:** Fonseca & Santos, 2000

Para os produtores de leite, a diminuição da produção láctea pela mastite é representada essencialmente pela forma clínica da enfermidade, talvez pela observação dos sinais de inflamação da glândula mamária e, conseqüentemente, maior atenção dada a estes animais. Contudo, a mastite subclínica representa 82% das perdas financeiras com a redução da produção láctea total, sendo que, a forma clínica é responsável por apenas 18% do prejuízo total, devido a mortes e descartes prematuros (Du Preez & Giesecke, 1994, apud COSTA, 1998).

## 2.6 OCORRÊNCIA

No Brasil a prevalência da mastite é variável quanto à distribuição e época do ano. Índices de 20% até 71% foram determinados nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais (FONSECA 1992; LANGENEGGER *et al.*, 1997; COSTA *et al.*, 1999).

Prevalências de 14,2% , 14,5% e 16,6% foram levantadas em bacias leiteiras nos estados do Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Pernambuco e São Paulo (MARTINEZ 1958, LANGENEGGER *et al.*, 1970; HARROP *et al.*,1975; NADER FILHO *et al.*,1983,1984).

Harrop *et al.* (1975), estudando a incidência da mastite bovina em 866 vacas procedentes do Agreste Meridional de Pernambuco encontraram 338 vacas reagentes ao CMT (39,0%) e 275 animais (31,2%) estavam com infecções no úbere detectadas pelo exame bacteriológico.



Nader Filho *et al.* (1985), estudaram a prevalência da mastite bovina encontraram 11,9% das vacas reagentes ao CMT e 11,1% foram confirmadas através do isolamento do agente etiológico, dentre os quais o *S. aureus* foi isolado de 52,1% dos casos, *S. epidermidis* de 11,3% e *Streptococcus spp* de 26,8% e outros agentes de 9,8%.

Andrade *et al.* (1984) estudando a etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Goiânia-GO revelou que o *S. aureus*, isolado em 67,70% das culturas sendo o principal agente causador da mastite bovina, confirmando os achados de Figueiredo (1959) Langenegger *et al.*, (1970) Fernandes *et al.* (1973); Harrop *et al.* (1975) e Ferreira *et al.* (1981).

Andrade *et al.* (1984) examinaram 701 vacas lactantes clinicamente e, através do CMT, detectaram 36,23% com distúrbios lácteos na lactação. Das 701 fêmeas examinadas, 87 (12,41%) manifestaram alterações macroscópicas do leite, sendo que o *S. aureus* foi o agente mais isolado com 67,7%, seguido pelo *Corynebacterium sp.* com 16,53% *Streptococcus sp.* com 14,96% e o *S. coagulase* negativa também com 14,96%.

Nader Filho *et al.* (1985) em estudo que utilizando o CMT em 497 vacas em lactação provenientes de 17 propriedades rurais produtoras de leite tipo B, na Região de Ribeirão Preto, São Paulo e encontraram 59 (11,9%) fêmeas reagentes à prova, 55 (11,1%) foram confirmadas através do isolamento e identificação do agente etiológico. As bactérias da família microcaceae foram as mais freqüentes (63,4%) sendo *S. aureus* isolado em 37 (52,1%) casos e *S. epidermidis* em 8 (11,3%), *C. pyogenes*, leveduras e *Bacillus* foram isolados em 3 (4,2%), (4,2%) e 1 (1,4%) casos de mastite, respectivamente.

Nader Filho *et al.* (1985) submeteram 497 vacas em lactação ao CMT, encontrando: 11,9% (59) das fêmeas reagentes, sendo que 11,1% (55) delas tiveram confirmação bacteriológica. Em relação aos agentes isolados, os autores verificaram a predominância de *S. aureus* com 52,1% (37) seguido pelo *Streptococcus spp.* com 26,8% (19). Nesse gênero, o *S. agalactiae* com 15,5% (11) *S. pyogenes* com 8,5% (6) e o *S. dysgalactiae* com 4,2% (3).

No município de Itaguaí, Rio de Janeiro, 198 vacas mestiças, com úbere aparentemente sadio foram submetidas ao CMT. Dessas, 80 (40,4%) apresentaram reação ao teste, sendo então colhidas 180 amostras de leite das

quais o *S. aureus* foi isolado em 52,2% e *Staphylococcus* coagulase negativa em 16,6% (VIANNI *et al.* 1992).

Vianni *et al.* (1992) encontraram 40,40% de vacas positivas ao CMT as quais proporcionaram 52,22% de isolamento de *Staphylococcus* coagulase positiva e 16,67% de *Staphylococcus* coagulase negativa.

Braut & Figueiredo (1994) encontraram uma prevalência de mastite de 42,82% sendo o percentual de ocorrência de microorganismo pesquisados através de exame bacteriológico foi de 57,17% para *Staphylococcus sp.* e de 18,75% para *Streptococcus sp.*

Analisando bacteriologicamente 107 amostras de leite provenientes de vacas em lactação, Costa *et al.* (1996b), isolaram 28,04% (30) de *Staphylococcus sp.*, 28,97% (31) de *Corynebacterium sp.* 4,67% (5) de *Streptococcus sp.*, 4,67% (5) de *Nocardia sp.* e 2,80% (3) de *Enterobacteriaceae*.

Filippesen *et al.* (1996) quando estudaram a prevalência de mastite subclínica em rebanhos leiteiros, examinaram 421 animais e detectaram 54% de animais positivos ao CMT.

Das 549 amostras positivas nos exames laboratoriais 38% foram *Staphylococcus* coagulase negativa, 34% *C. bovis*, 19% *S. dysgalactia*, 3,0% *S. uberis*, 2,7% *A. pyogenes*, 1,7% *S. dysgalactiae*, 0,6% *S. agalactiae*, 0,6% *S. bovis* e 0,4% *Prototheca*.

Souza *et al.* (1996) submetteram 596 vacas em lactação à prova do CMT encontraram 47,9% de mastite subclínica, sendo que, o exame microbiológico o *S. aureus* e o *Staphylococcus* coagulase negativa foram os agentes isolados com maior frequência.

Vargas *et al.* (1996) examinaram bacteriologicamente 668 amostras de leite provenientes de rebanho leiteiro da Região de Santa Maria-RS e encontraram 49,85% de amostras positivas, obtendo a seguinte prevalência de agentes microbianos o *Staphylococcus* coagulase positiva (46,85%) foi o agente dominante seguindo pelo *Streptococcus sp.* (22,28%), pelo *Staphylococcus* coagulase negativo (11,65%) pelo *A. pyogenes* (3,54%) por leveduras (3,29%) pela *N. asteróides* (3,04%).

Andrade *et al.* (1998) relataram a ocorrência da doença no Estado de Goiás submetendo ao CMT, cerca de 942 vacas em sua maioria da raça

holandesa preta e branca, aparentemente saudáveis, de 25 propriedades leiteiras, que utilizaram ordenhadeira mecânica na obtenção do leite, verificaram que 375 (39,8%) animais apresentaram resultados de +, ++, +++ ao CMT. Perfazendo um total de 667 amostras. Foram isoladas 938 cepas em culturas puras ou em associações. *S. aureus* 291 (30,2%) *C. bovis* 120 (12,5%) Staphylococcus coagulase negativa, 112 (11,6%) *Streptococcus sp.* 66 (6,9%), *Pseudomonas sp.*, 96 (10,0%), *Corynebacterium pyogenes*, 24, (2,5%) *E. coli* 60 (6,2%), *Nocardia sp.* 14 (1,5%) e outros 93 (9,6%).

Brito *et al.* (1999) realizaram exames microbiológicos em 6.315 amostras de leite, obtidas de todos os quartos mamários de 1609 vacas em lactação originárias de 48 rebanhos localizados na Zona da Mata e campo das vertentes do Estado de Minas Gerais. Isolaram 3919 microorganismos sendo 3637 de quartos mamários com infecção causada por um único agente e 283 de infecção mista.

Vieira-da-Motta *et al.* (2001), analisaram 555 amostras de leite, provenientes de 362 vacas com mastite subclínica em diferentes propriedades rurais do Estado do Rio de Janeiro, de 1995 a 1997, foram submetidas ao CMT, 39,7% das amostras foram positivas, das quais foram isoladas 128 cepas de *S. aureus*, sendo todas as cepas isoladas positivas para o gene da coagulase, pela técnica do PCR, dando resultados variáveis, visualização de fragmentos com diferentes pesos moleculares na análise em gel de agarose, sugerindo a ocorrência de polimorfismo genético.

Lanfranchi *et al.* (2001) estudando cerca de 88 vacas primíparas, oriundas de quatro rebanhos leiteiros, sendo coletados 1985 amostras de leite ao longo dos 120 dias pós-parto das quais 457 (23,02%) apresentaram resultados microbiológicos positivos. Os Estafilococos coagulase negativos (ECN) foram isolados em 316 (69,14%) amostras; *C. bovis* em 56 (12,25%) estreptococos em 41 (8,97%) e estafilococos coagulase positivos (ECP) em 38 (8,31%). Mastite clínica foi detectada em nove (10,23%) vacas.

Mastins *et al.* (2006) coletaram 122 amostras dos quartos mamários de 31 vacas do rebanho de uma queijaria em Nossa Senhora do Livramento-MT, 74,2% (23/31) das vacas demonstraram-se portadoras de mastite subclínica e um nível de infecção de 44,3% (54/122) dos quartos para o *S. intermedius*

(41,4%), *S. aureus* (17,2%), *S. warneri* (6,9%), *S. carnosus* (3,4%) foram os percentuais de isolamentos determinados.

As cepas que não tiveram sua identificação confirmada permaneceram como *Staphylococcus* coagulase negativa (27,6%) e *Staphylococcus coagulase* positiva (3,4%), isolou-se, ainda Coliformes (15,6%), *Cândida kefyr* (7,8%), *Torulopsis glabrata* (7,8%), *Sarcina* sp (3,1%) e outros microrganismos (15,6%).

Ferreira *et al.*(2007), estudou a prevalência e a etiologia da mastite em rebanhos leiteiros pertencentes à bacia leiteira do município de Teresina, Piauí. Analisaram 852 amostras de leite, provenientes de vacas em período médio de lactações pertencentes a oito propriedades produtoras de leite tipo C. Verificou-se que 41,10% das amostras foram reagentes à prova de CMT nos mais variados graus (+, ++ e +++). Desse total, 252 (72,83%) foram positivas ao exame bacteriológico, sendo o gênero *Staphylococcus* o mais prevalente (74,60%).

Santos *et al.* (2007), afirmaram que, a despeito do grande número de pesquisas sobre controle da mastite em muitos países do mundo, trata-se ainda de uma doença com alta prevalência em rebanhos leiteiros. Um estudo realizado nos estados norte-americanos de Nova York e Pensilvânia, durante a década de 1990, no qual foram avaliadas culturas microbiológicas de leite de 108.312 amostras, identificou-se em cerca da metade (48,5%) algum agente patogênico da mastite; os agentes causadores encontrados foram: *Staphylococcus* sp. (11,3%), *S. agalactiae* (10,1%), *S. aureus* (9,1%), *Streptococcus* sp. (7,3%) e *C. bovis* (7,2%).

## 2.7 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de mastite como processo infeccioso que acomete o aparelho mamário inclui o exame clínico dos animais, para detecção da forma clínica e o emprego do método do “California Mastitis Test (CMT), para a detecção da mastite subclínica. O exame microbiológico de amostras do leite mamário é considerado o método padrão para determinação da saúde do úbere e, pela confirmação microbiológica do diagnóstico a campo (RADOSTITIS *et al.*, 1994).

O CMT estima o número de células somáticas do leite e pode ser realizado no próprio rebanho, no momento em que os animais são ordenhados. É um método de fácil aplicação e praticidade, além de permitir informações sobre o estado de sanidade da glândula mamária dos animais lactantes (FAGLIARI *et al.*, 1990).

De acordo com Corrêa & Corrêa, (1992) para realização do teste CMT são coletados de 2 a 3mL de leite de cada quarto mamário, com o auxílio de uma bandeja e adicionado a amostra um reagente específico composto por detergente aniônico e púrpura de bromocresol. A leitura é realizada na mistura, após movimentos giratórios lentos e o resultado considerado positivo quando for observada a ocorrência de geleificação e mudança de cor da amostra. O resultado é interpretado como reação negativa, “traços” (suspeito), 1, 2 ou 3 cruces, dependendo da quantidade de formação de gel na amostra.

A interpretação do resultado do CMT está baseada na observação visual da mistura do leite com o reagente, visto que, a reação se processa entre o reagente e o material genético das células somáticas presentes no leite e que forma um gel cuja concentração é proporcional ao número de células somáticas. O resultado do CMT é dado como negativo, suspeito, fracamente positivo, positivo e fortemente positivo (BRITO *et al.*, 1997), como demonstrado na Tabela 2.

TABELA 2 – Reação score e Interpretação do teste de CMT.

Reação Score	Interpretação
Sem formação de gel (N)	Negativa
Ligeira precipitação (Traços)	Negativa
Formação de gel (1 ou +)	Francamente
Positiva	
Formação de gel mais espesso, com mamilo Central (2 ou +)	Positiva
Formação de gel muito espesso, aderente ao fundo positivo. (3 ou +++)	Fortemente

Fonte : Veiga & Ribeiro (1992).

Entre os diversos métodos de diagnóstico de mastite encontram-se, ainda, a pesquisa do teor de cloretos e da condutividade elétrica do leite,

métodos que podem ser utilizados como auxiliares no diagnóstico da mastite subclínica, baseados nas alterações que o processo inflamatório da mastite causa na fisiologia da glândula mamária (EL-NAGGAR 1973; NIELEN *et al.* 1992; ZAFALON *et al.*, 2005; EL-NAGGAR 1973).

Outro método de destaque é a contagem de células somáticas (CCS), que é afetada, principalmente, pela infecção intramamária (RENEAU, 1986; HARMON, 1994; MACHADO *et al.*, 2000).

Vários pesquisadores demonstraram que a CCS dos animais mais jovens não aumenta de forma tão significativa quanto a dos animais mais velhos no final da lactação (BODOH *et al.*, 1976; PHILPOT & NICKERSON, 1986; TIMMS & SCHULTZ, 1987). Já WIGGANS & SHOOK (1987) fazendo uma revisão sobre o assunto citaram que investigações realizadas sobre os fatores ambientais que afetam a CCS têm mostrado que fatores como rebanho, animal (vaca), estágio de lactação, época do ano e idade da amostra são importantes fontes de variação.

A determinação do número de células somáticas no leite é um método convencional e amplamente utilizado no diagnóstico da mastite subclínica, sendo de valiosa utilidade para ajudar os produtores de leite na avaliação da presença da doença em seus rebanhos (HEESCHEN & REICHMUTH, 1995).

Laranja & Amaro (1998) relataram que a CCS tem o propósito de fazer uma avaliação indireta da saúde da glândula mamária, de fêmeas em lactação, utilizando-se como referencia o aumento na concentração de células de defesa no leite, constituindo-se uma estimativa precisa do nível de infecção do úbere.

Para Bramley *et al.* (1996), entretanto, níveis acima de 200.000/ml para o leite de conjunto são sugestivos de infecção subclínica nos animais.

Schalm *et al.* (1971) relata que devido a ausência de alterações macroscópicas no úbere ou no leite, a forma subclínica da mastite é detectável principalmente por testes aplicados ao leite para a demonstração dos produtos da inflamação, provas microbiológicas e mudanças na sua composição química. São exemplos destes testes o CMT, Winsconsin Mastitis Test e o teste de Whiteside.

De acordo com Veiga, (1998) como diagnostico diferencial tem-se: presença de sangue no leite-proveniente de traumatismos repetitivos, do esforço excessivo durante a ordenha, presença de hematomas, presença de

edema fisiológico do úbere. As lesões das tetas geralmente estão relacionadas com falhas de manejo, prejudicam a integridade da teta provocando dor e dificuldade na ordenha, entre as lesões destacando o aparecimento de hiperqueratose, lesões a vírus – papilomatose, pseudovariola, congestão, ferimentos e rachaduras.

## 2.8 PREVENÇÃO E CONTROLE

A higiene durante a ordenha é fundamental para o controle da mastite subclínica por microrganismos como o *S. aureus*. Às vezes, porém, a prevalência da doença é muito alta e buscam-se outras medidas para controlá-la. Uma delas pode ser a utilização de antimicrobianos para o tratamento dos casos subclínicos durante a lactação, ainda mais quando o leite da propriedade é recusado pelo laticínio. Dessa maneira, o estudo do tratamento da mastite subclínica bovina durante a lactação e a verificação da relação custo/benefício desta medida, poderá auxiliar os produtores na escolha de métodos de controle para a enfermidade.

Segundo Zafalon *et al.* (1999b), a queda da quantidade do leite secretado por quartos mamários afetados pela mastite subclínica, conjuntamente com a redução da qualidade do produto verificada, por exemplo, pelo aumento do número de células somáticas, faz com que seja necessário adotar medidas para contornar estes problemas e uma delas pode ser o tratamento da mastite com antimicrobianos.

Diversos fatores, isoladamente ou associados, podem influenciar ou determinar o surgimento de mastite, tais como o manejo, a nutrição, a higiene, o homem, o animal e o meio ambiente (TORRES, 1992; DUVAL, 1997; MENDONÇA, 1999). Tal característica associada ao fato da forma subclínica ser a mais comum, faz da mastite bovina uma doença de difícil controle e erradicação.

De acordo com Veiga (1998), como medida de controle torna-se importante fazer a triagem dos animais potencialmente acometidos, através da avaliação da celularidade do leite, quer indireta (CMT), quer direta (contagem de células somáticas). A partir do reconhecimento dos quartos acometidos e da

intensidade do processo inflamatório presente, o microrganismo predominante deve ser identificado.

Os animais com processo inflamatório mais intenso (clínico) devem ser tratados, os quadros menos intensos (subclínicos) devem ser analisados quanto à reincidência do processo, ao volume de leite produzido e fase da lactação.

As manifestações da mastite ambiental podem ser controladas principalmente através da redução da exposição aos agentes. Para tal, é importante o controle das condições do ambiente, tanto da ordenha quanto das instalações. É importante lembrar que a nutrição do animal também exerce um papel fundamental para o controle de ambas as mastites (LESLIE, 2004).

Em relação à mastite bovina subclínica, Domingues (1993) demonstrou que o diagnóstico precoce e o tratamento adequado desta forma da enfermidade restabeleceram a produção de leite do quarto mamário em uma mesma lactação, chegando-se a obter o aumento significativo de produção láctea dos quartos mamários tratados.

Allore *et al.* (1998) mostraram que a terapia durante a lactação em conjunto com estratégias preventivas e a terapia da vaca seca, diminuiram o número de células do leite de conjunto, o número de meses em que esta contagem foi superior a 500.000 células/mL de leite num período de dois anos e os descartes devido à mastite.

Omore *et al.* (1999), ao estudarem três diferentes estratégias de controle para a mastite, sendo elas a higiene adequada do úbere, o tratamento de casos subclínicos e a combinação das duas, verificaram que as duas primeiras estratégias isoladamente não tiveram qualquer efeito sobre a mastite e a produção de leite. Quando combinaram estratégias, algum impacto foi verificado sobre a diminuição da prevalência de microrganismos contagiosos. Não houve reflexos positivos sobre produção de leite, diminuição do número de células somáticas ou redução da incidência de mastite clínica.

Para Buragohain e Dutta (1994) houve aumento da produção de leite em vacas tratadas contra mastite subclínica. Este aumento de produção foi mais notável em animais que se encontravam em lactações iniciais e considerou-se que os danos causados aos tecidos do úbere dos animais foram menores no momento em que as vacas se encontravam em tais lactações.



Ao fazer uso da terapia com antibiótico contra a mastite por *S. aureus*, Diniz *et al.* (1998) citaram que dentre vários fatores que podem interferir na taxa de cura bacteriológica do microrganismo o estágio da ocorrência da infecção é um deles, juntamente com a presença de bactérias em abscessos ou mesmo a incapacidade das células fagocíticas em destruir os microrganismos.

Segundo Mallard *et al.* (1998), os mecanismos de defesa do animal têm baixa capacidade de resposta a infecções no período que vai de três semanas antes do parto até três semanas pós-parto. Dessa maneira o tratamento da mastite no terço inicial da lactação, pode ter uma menor probabilidade de sucesso. Sol *et al.* (1997) concluíram que os quartos mamários de animais nos terços inicial e médio de lactação possuíam menores chances de serem curados após tratamento da mastite subclínica durante a lactação.

Allore e Erb (1998) testaram estratégias de controle da mastite em estudo com simulação de rebanhos e as receitas foram baseadas nas mudanças ocorridas nos valores médios de produção de leite, gordura, proteína e número de vacas que foram descartadas. Tais autores citaram que a terapia durante a lactação, quando utilizada com outros componentes de controle, está sempre entre as estratégias com a menor média anual de número de casos clínicos.

Ahl *et al.* (1989) citaram custos num esquema de controle da mastite que normalmente não são incluídos na maioria dos estudos realizados que incluem a mudança dos insufladores das teteiras, quando usada a ordenha mecânica, checagem e reparo dos motores e reguladores de vácuo da máquina de ordenha e o ensino e monitoramento das técnicas de ordenha.

Como norma geral deve interceptar-se o contato entre o agente infeccioso e o orifício do teto (principal porta de entrada dos agentes), fato que depende das condições de higiene mantidas no teto, no ambiente e em todo material que possa ter contato com os tetos (panos se secagem dos tetos, teteiras, ordenhador, piso, etc.), ou seja, devem-se controlar as fontes de infecção e a porta de entrada do agente. ( DELLA LIBERA *et al.*, 2005).

O local da ordenha deve ser apropriado para tal fim: cimentado, coberto, tranquilo, arejado, limpo e, se possível, com meia parede, para proteger o leite contra poeira e evitar contaminação.

Manter a sala ou local de ordenha sempre limpa, usar roupas limpas para ordenhar as vacas; utilizar água de boa qualidade (potável); lavar as mãos e mantê-las limpas durante a ordenha (de preferência, usar luvas de borracha); imergir os tetos em solução desinfetante antes e após a ordenha; secar os tetos com papel toalha descartável (EMBRAPA, 2006).

No caso de *S. aureus*, embora possa ser isolado de diferentes locais em um rebanho, a principal fonte de eliminação no leite são as glândulas mamárias infectadas (ROBERSON *et al.*, 1994).

A higienização das tetas antes da ordenha contribui, ao mesmo tempo, para melhorar a qualidade do leite e prevenir e controlar as infecções da glândula mamária (PANKEY, 1989).

A redução quantitativa provocada pela mastite subclínica dependerá da conjugação de fatores ligados ao agente etiológico, assim como da resposta imune do animal, da evolução e duração da infecção e da propagação da mastite no rebanho (LANGENEGGER *et al.*, 1981; ZECCONI, 1996).

Para Zepeda *et al.* (1998) a produção láctea e o preço do leite têm mínimo impacto sobre o lucro líquido de um programa de controle de mastite por *S. aureus* para, sendo os benefícios de um programa mais dependentes da prevalência do microrganismo, do prêmio pela contagem de células somáticas e do custo do tratamento, nas hipóteses de estudo consideradas por estes autores.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. GERAL**

Estudar a ocorrência de mastite em rebanhos leiteiros no Município de Parauapebas, Mesorregião Sudeste do Estado do Pará.

#### **3.2. ESPECÍFICOS**

1. Determinar a frequência de mastite em rebanhos leiteiros;
2. Identificar agentes bacterianos Gram-positivos causadores de mastite;
3. Identificar presuntivamente as enterobactérias causadoras de mastite;
4. Determinar os fatores de risco associados à ocorrência de mastite;

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL

Foram estudados quanto a ocorrência de mastite 15 rebanhos bovinos leiteiros mestiços constituídos por 2076 vacas produtoras de leite, localizados no Município de Parauapebas, Mesorregião Sudeste do Estado do Pará.

Os rebanhos eram constituídos por fêmeas leiteiras mestiças e reprodutores de diferentes raças e graus de mestiçagem; na grande maioria das propriedades, a exploração leiteira era feita de forma não estruturada, com auxílio de integrantes do próprio ambiente familiar.

Em relação as características das propriedades, na maioria delas não existiam instalações zootécnicas destinadas ao manejo dos animais, a ordenha era manual e alguns proprietários relataram a não adoção de assistência técnica e sanitária; o manejo sanitário era deficiente.

O manejo das fêmeas era realizado com variações quanto aos sistemas de ordenha (ordenha manual, ordenha mecânica do tipo balde ao pé). Foram observadas variações quanto à forma de preparo dos animais, antes, durante e no final da ordenha, com ou sem a utilização do teste de caneca de fundo escuro, lavagem ou não dos tetos, uso ou não de anti-sepsia na pré-ordenha (pré-dipping), secagem dos tetos com papel toalha descartável e individual e diferentes tipos de interrupção da lactação.

### 4.2 MÉTODOS

A seleção das propriedades foi feita considerando-se a facilidade de acesso à área, as condições de trabalho no local, a existência de rebanho leiteiro permanente e, ainda, a concordância do proprietário com os objetivos do estudo.

Em cada propriedade foi aplicado um questionário apropriado desenvolvido e adaptado para o levantamento dos dados referentes ao sistema

de produção, instalações destinadas ao manejo dos animais, assistência técnica e sanitária, profilaxia de doenças, entre outras.

Nos trabalhos a campo os animais foram selecionados aleatoriamente, levando-se em consideração as características de cada propriedade, o número de fêmeas leiteiras, o estágio de prenhez e lactação.

Foram excluídas da seleção vacas recém paridas, no final de lactação e aquelas submetidas à antibioticoterapia. Considerando que a mastite é um evento biológico e os agentes causadores também biológicos de ampla disseminação no ambiente, foram selecionadas 174 (8,4%) fêmeas leiteiras do total de animais dos 15 rebanhos estudados.

#### 4.3- DIAGNÓSTICO DE MASTITE

##### 4.3.1 Mastite Clínica

Foram realizados exames clínicos nas 174 fêmeas selecionadas aleatoriamente, com inspeção e palpação das mamas, para detectar alterações como: nódulos, fibrose, edema, aumento de temperatura local ou qualquer outro sinal indicativo de processo inflamatório, de acordo com Santos *et al* (2007) e também submetidas ao exame clínico do úbere, pela inspeção dos quartos mamários (ROSEMBERGER, 1991).

##### 4.3.2 Mastite Subclínica

No diagnóstico da mastite subclínica foi empregado o Califórnia Mastitis Test (CMT), conforme Schalm e Noorlander (1957) citado por Costa *et al*, (1996), realizado imediatamente após a higienização das tetas e de acordo com a metodologia preconizada por Langenegger *et al*. (1970).

#### **4.3.2.1 Realização do Califórnia Mastit Test - CMT**

As fêmeas eram contidas, fazia-se a desinfecção do úbere com solução de iodo, enxugando-o em seguida com papel toalha. Os três primeiros jatos de leite eram desprezados e cerca de 2 a 3 mL de leite de cada quarto respectivo, eram coletados no orifício da bandeja de diagnóstico, junto com igual volume do reagente. A mistura dos dois reagentes permitia, então, a reação e visualização de resultado.

A interpretação do CMT foi realizada da seguinte maneira: o escore 1 (sem presença de reação entre o reagente e o leite) indica uma reação completamente negativa; 2: reação suspeita (traços); 3: reação fracamente positiva (+); 4: reação positiva (++) e; 5: reação fortemente positiva (+++) (PHILPOT & NICKERSON, 1991).

Após previa higienização e desinfecção dos tetos e do seu óstio com álcool etílico a 70°GL coletava-se de cada teto reativo (escores +, ++ e +++) 10-40 ml de leite, para realização de isolamento de microrganismos; as amostras eram acondicionadas em frascos estéreis com tampa rosqueável, marca BD, para congelamento e transporte até o laboratório.

#### **4.3.3 Levantamento de Fatores de Riscos**

Dados relativos à produção nas 15 propriedades estudadas, tais como: (sistema de produção, assistência técnica e sanitária) e de rebanho (raça ou mestiçagem, idade das fêmeas, número de reprodutores, ocorrência de doenças, profilaxia de infecções) foram apurados e avaliados, no decorrer das coletas nas propriedades selecionadas.

#### **4.3.4 Isolamento e Identificação dos Agentes de Mastite**

Foram obtidas após a visita nas propriedades 215 amostras de leite procedentes de 174 fêmeas bovinas leiteiras mestiças acometidas por mastite, 178 amostras foram empregadas no isolamento e identificação, resultando em 208 cepas de agentes microbianos presuntivos.

As amostras de leite mastítico foram submetidas a métodos, procedimentos e análises microbiológicos recomendados para a identificação de agentes microbianos (CARTER, 1988; KONEMAN et al, 1989). O isolamento microbiológico foi realizado no Laboratório de microbiologia de alimentos da Universidade Estadual do Pará - UEPA.

##### **4.3.4.1 Isolamento Primário**

Para o isolamento e demonstração de características morfológicas e tintoriais dos agentes presuntivos as amostras de leite foram, inicialmente, cultivadas diretamente em agar sangue ovino 5%, para o isolamento de cocos aeróbicos Gram-positivos (PARDO et al, 1998; PRETTO *et al.*, 2001) e, paralelamente, cultivadas em agar Mac Conkey, para a identificação presuntiva de microrganismos Gram-negativos como as enterobactérias *E. coli*, *Klebsiella* e *Proteus*; entre outros. Em ambos os casos as placas foram incubadas a 37 °C durante 24 a 48 horas.

##### **4.3.4.2 Identificação Presuntiva**

A identificação presuntiva foi realizada segundo as características culturais, morfológicas, tintoriais e bioquímicas dos microrganismos (EDWARDS, 1986; NATIONAL MASTISITIS COUNCIL, 1987; CARTER, 1988, citado por PARDO *et al.*, 1998). A observação de características morfológicas de colônias no agar sangue ovino 5% foi empregada para a determinação do tipo de hemólise ( $\beta$ -hemólise ou hemólise completa;  $\alpha$ -hemólise ou hemólise parcial;  $\gamma$ -hemólise ou ausência de hemólise).

Características morfológicas no agar Mac Conkey como coloração vermelha e coloração rósea de colônias auxiliaram a identificação presuntiva de *E. coli* e outros coliformes. A identificação presuntiva de enterobactérias seguiu também, em parte, os procedimentos e testes listados por Langenegger et al (1970) e Nader Filho *et al.* (1985).

Os cocos aeróbios Gram-positivos foram submetidos à prova da catalase em lâmina, para separação entre os *Staphylococcus sp*, catalase-positivos e *Streptococcus sp*, catalase-negativos, de acordo com procedimentos rotineiros e emprego de água oxigenada a 3% (KONEMAN *et al.*, 1989).

#### **4.3.4.4 Identificação de *Staphylococcus sp*.**

Colônias típicas de *Staphylococcus* isoladas no agar sangue ovino 5% foram inoculadas em agar Chapman, meio seletivo que permite a identificação de colônias pigmentadas características de *S.aureus*. Duas a três colônias foram semeadas por estriação na superfície de placas do meio referido e incubadas a 37°C, durante 24 a 48 horas.

As cepas de estafilococos isoladas no agar sangue desfibrinado de ovino a 5% foram submetidas também à prova da coagulase em tubo, a partir de culturas puras obtidas em infusão de cérebro coração (BHI), empregadas também em outros testes necessários à identificação das espécies desse gênero (KONEMAN *et al*, 1989).

#### **4.3.4.4 Testes e Provas para Identificação**

Foram empregados os seguintes: Oxidação-Fermentação da Glicose e Fermentação do Manitol.

Oxidação-Fermentação da Glicose: Meio OF adicionado de 10 mL de solução a 10% de glicose para cada 100 mL de meio. Inoculação em dois tubos do meio, um com tampão de óleo mineral e outro sem tampão; inoculação com agulha a partir de cultura pura, incubação a 37°C por 4 horas e, quando necessário, por mais 24 horas; observação de coloração amarela indicadora de



fermentação e produção de ácido nos dois tubos ou somente no tubo descoberto, indicando oxidação.

Fermentação do Manitol: Inoculação por estriação na superfície de placas contendo Ágar manito vermelho de fenol, com incubação a 37°C durante 24 a 48 horas; crescimento de colônias, com mudança de coloração do meio, de vermelho para amarelo, indicadora de fermentação do manitol.

#### **4.3.4.5 Identificação de *Streptococcus* sp.**

Cepas presuntivas de estreptococos observadas no agar sangue ovino 5% e caracterizadas adequadamente na prova da catalase, foram inoculadas em agar seletivo para *Streptococcus* sp. Duas a três colônias típicas de estreptococos foram estriadas em placas do meio e incubadas a 37°C durante 24 a 48 horas.

A partir do crescimento no referido meio, que é altamente seletivo, foi preparada cultura pura em BHI, para a realização dos seguintes testes e provas de identificação.

- Oxidação-Fermentação de Lactose, Rafinose, Trealose e Inulina: O meio empregado, o agar OF, um agar semi-sólido, foi adicionado de 10 mL por 100 mL de meio, de solução a 10% dos açúcares referidos, em dois tubos. A inoculação foi realizada com agulha, a partir de cultura pura, com incubação a 37°C durante 24 a 48 horas e observação de desenvolvimento de coloração amarela indicadora de fermentação e produção de ácido nos dois tubos (com e sem óleo mineral) ou somente no tubo aberto, indicador de oxidação.
- Crescimento em meio com 6,5% de NaCl: Ao meio empregado, o agar seletivo para estreptococos, foi adicionado 6,5% de cloreto de sódio. A inoculação era feita, a partir de cultura pura em BHI, por estriação na superfície de placas contendo o referido meio e incubação a 37°C durante 24 a 48 horas, observando-se o crescimento de colônias.

- Hidrólise da Esculina: Foi empregado o agar bile esculina. A partir de cultura pura em BHI, a cepa a ser testada era inoculada por estriação na superfície de placas contendo o meio, incubando-se a 37°C durante 24 a 48 horas. O crescimento de colônias com escurecimento do meio indicava cepa esculina-positiva.

#### 4.3.4.6 Identificação Presuntiva de Enterobactérias

Colônias presuntivas de enterobactérias observadas no agar MacConkey, foram inoculadas por estriações no Agar eosina azul de metileno (EMB), para a observação de características de espécies desse grupo de microrganismos. Duas a três colônias eram inoculadas por estriação na superfície de EMB e as placas incubadas a 37°C durante 24 a 48 horas.

A partir de colônias em EMB eram obtidas culturas puras dos microrganismos em BHI, para o desenvolvimento dos seguintes testes e provas para identificação das espécies (KONEMAN *et al.*, 1989).

- Oxidação-Fermentação da Lactose: Foi desenvolvido o mesmo procedimento empregado na identificação de estreptococos.
- Utilização do Citrato: Em tubos inclinados de agar citrato de Simmons foi estriado na superfície cultura pura de cepa presuntiva, com incubação a 37°C durante 24 a 48 horas. A mudança de coloração verde para azul indicava a utilização de citrato pelo microrganismo testado.
- Prova do Vermelho de Metila e Voges Proskauer: Para essas duas provas foi empregado o meio MR-VP, um caldo que foi distribuído em tubos. Cultura pura era semeada com no meio, incubação a 35°C durante 18 a 72 horas. Ao término de 24 horas, 1 mL do caldo era transferido para tubo de ensaio limpo, adicionado de 0,2 mL de solução a 5% de  $\alpha$ -naftol e 0,6 mL de lixívia de potássio (KOH a 40%). O desenvolvimento de coloração vermelha 15 minutos após a adição dos reagentes indicava uma prova positiva de Voges-Proskauer (VP). A adição ao caldo restante as 48 a 72 horas, não menos que 48 horas, de cinco gotas de solução indicadora de vermelho de metila, com o

desenvolvimento de coloração estável na superfície do meio, indicava uma prova VM positiva.

- Prova do Indol: Cultura pura da cepa era inoculada em caldo triptona, incubada a 35°C por 24 horas. Após esse período eram adicionadas ao caldo cinco a 15 gotas do reativo Kowacs e agitado suavemente os tubos. O desenvolvimento de coloração vermelha fúcsia na superfície de contato com o reativo indicava reação positiva.
- Produção de Uréase: Foi empregado o caldo uréia de Stuart. Cultura pura de cepa a ser testada era inoculada em tubo de caldo uréia, incubada a 35°C por 18 a 24 horas, observando-se a coloração final do cultivo.

#### **4.3.5 Estudo Estatístico**

O delineamento empregado foi o Teste do Qui-Quadrado, para testar a ocorrência de diferenças estatísticas entre os resultados obtidos.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 PREVALÊNCIA DE MASTITE

A tabela 3, apresenta os resultados de distribuição de animais testados e reagentes ao CMT, assim como, a média dos tetos afetados por vaca, nas respectivas propriedades estudadas.

**Tabela 3** - Ocorrência de casos de mastite em bovinos leiteiros em rebanhos do município de Parauapebas - PA, segundo localização das unidades produtoras de leite e o número de casos observados.

PROPRIEDADE RURAL	FÊMEAS					
	MASTITE CLÍNICA			MASTITE SUB - CLÍNICA		
	EXAMINADAS	POSITIVAS TOTAL	%	EXAMINADAS	POSITIVAS TOTAL	%
A	12	1	11	12	6	7,14
B	16	1	11	12	8	9,52
C	12	0	0	12	10	11,9
D	10	0	0	10	6	7,14
E	5	0	0	5	5	5,99
F	11	0	0	11	8	9,52
G	12	0	0	12	8	9,52
H	10	0	0	10	4	4,76
I	15	0	0	15	10	11,9
J	18	4	44	18	3	3,57
K	12	1	12	12	3	3,57
L	9	0	0	10	0	0
M	10	0	0	10	3	3,57
N	12	2	22	12	7	8,33
O	10	0	0	10	3	3,57
<b>TOTAL</b>	174	9	100	174	84	100

A freqüência foi de 11,11% á 44,44% em relação a mastite clinica , e em relação a mastite subclínica 3,57% á 11,90% considerando-se as 15 propriedades estudadas, independente do tamanho do rebanho. Nota-se que das 174 fêmeas submetidas ao exame clinico, nove (5,17%) foram positivas e 84 (48,33%), foram reagentes positivas ao CMT.

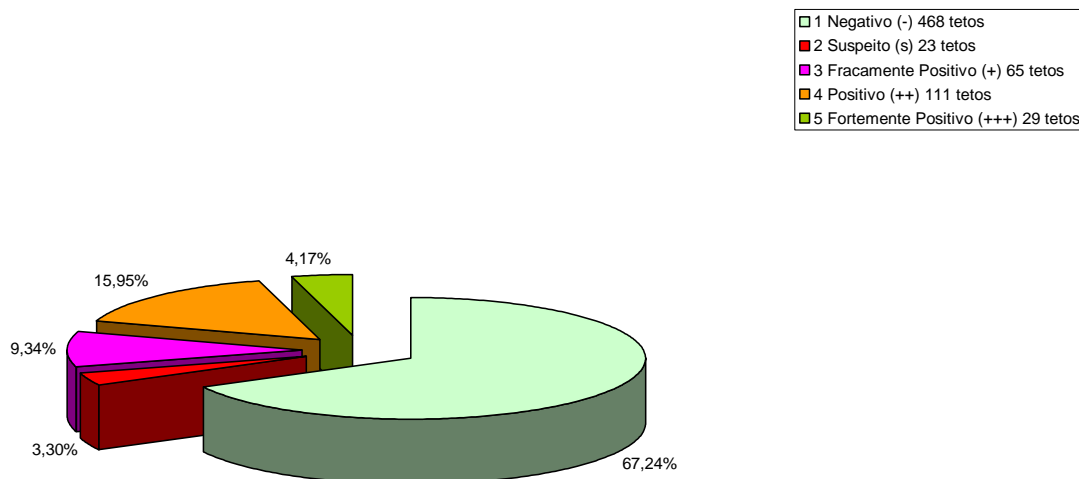
Conforme os dados da Tabela 4, o diagnóstico de mastite subclínica pelo CMT demonstrou, segundo os respectivos escores desde traços até a formação intensa de gel

**Tabela 4** - Resultado do exame do Califórnia Mastite Test - CMT, segundo as amostras de leite examinadas e os respectivos escores obtidos.

ESCORE	INTERPRETAÇÃO	AMOSTRAS (n)	PERCENTUAL (%)
1	Negativo (-)	468 tetos	67,24%
2	Suspeito (s)	23 tetos	3,30%
3	Fracamente Positivo (+)	65 tetos	9,34%
4	Positivo (++)	111 tetos	15,95%
5	Fortemente Positivo (+++)	29 tetos	4,17%
<b>TOTAL DE TETOS</b>		<b>696 tetos</b>	<b>100%</b>

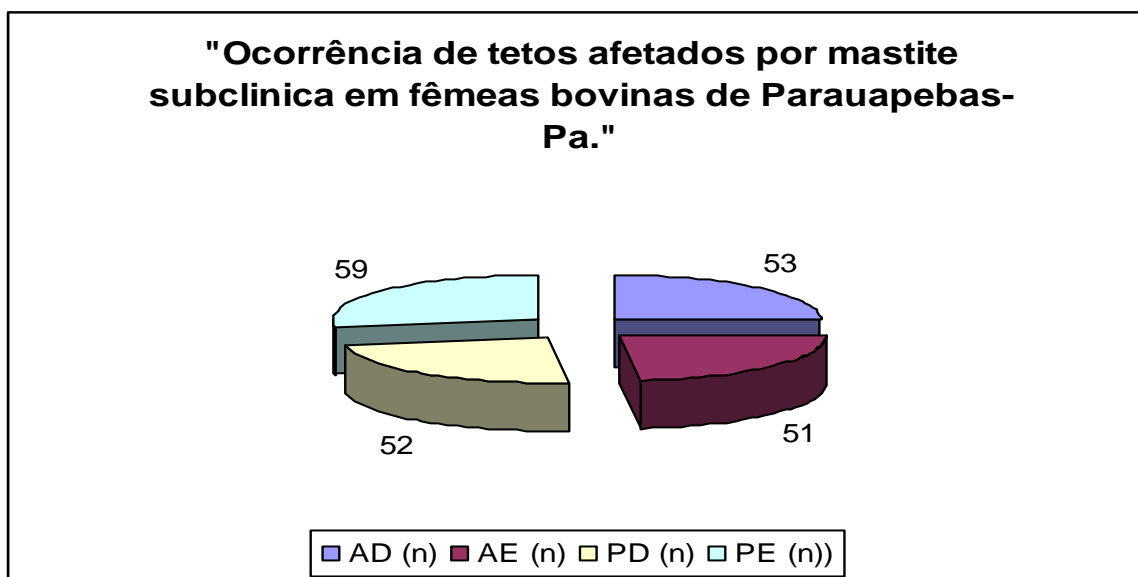
Fonte:Barros et al, 2008.

Resultado do exame de CMT em amostras de leite bovino ( n:698 tetos) de fêmeas bovinas do município de Parauapebas-Pa.



A porcentagem média de ocorrência de mastite subclínica em quartos nas diferentes propriedades leiteiras estudadas, em relação a intensidade da inflamação, medida pelos escores do CMT, está apresentada na Gráfico 1.

**Gráfico 2** - Ocorrência de Mastite bovina por quartos afetados no Município de Parauapebas- Pará.

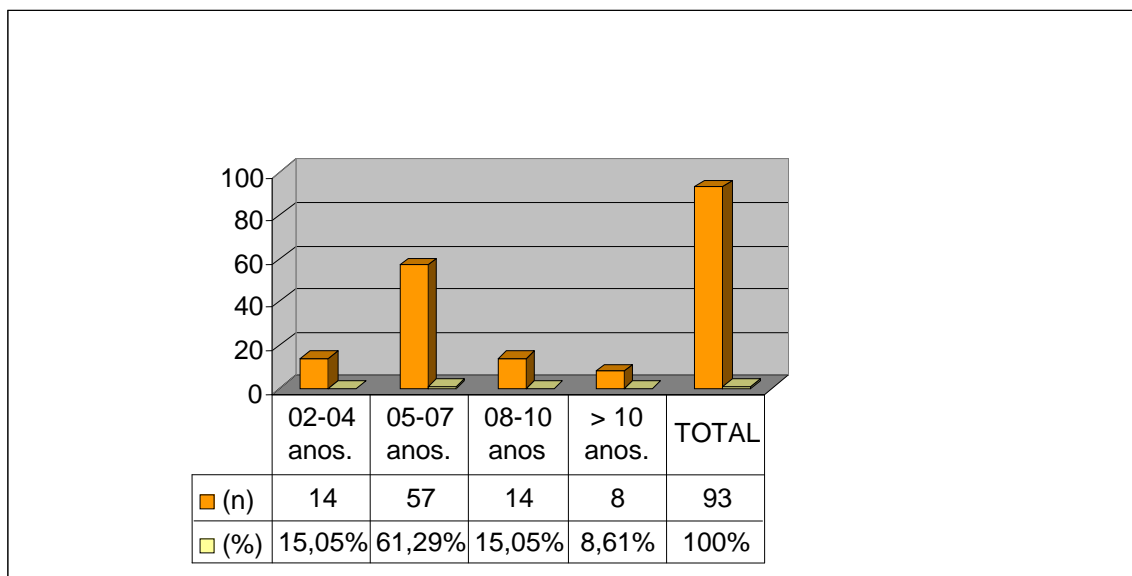


Tetos (n)	AD (n)	AE (n)	PD (n)	PE (n)
<b>215</b>	53	51	52	59

$\chi^2: 0,72$  (P=0,8683)

AD- Anterior direito, AE- Anterior esquerdo, PD- Posterior direito, PE- Posterior esquerdo.

**Gráfico 3** - Ocorrência de animais acometidos por mastite bovina e sua respectiva faixa etária



X<sup>2</sup>: 66,35, P<0,0001.

## 5.2 FATORES DE RISCO

A maioria das propriedades não adotavam algumas das práticas recomendadas no controle de mastite, embora conheçam a doença e os prejuízos decorrentes da mesma. 80% das propriedades não lavavam e não faziam “pré-dipping”, 100% não secavam os tetos com toalhas descartáveis e 100% não realizavam anti-sepsia pós-ordenha.

Em relação a instalações zootécnicas, 60% das propriedades possuíam curral, descoberto e não pavimentado, enquanto que 40% eram parcialmente coberto e pavimentado. 93,3% não possuíam sala de ordenha, 80% das propriedades dispunham de assistência técnica eventual realizada por Médicos Veterinários do quadro funcional da Secretaria de Produção do Município, e um baixo percentual de 6,70% propriedade não recebia qualquer tipo de assistência técnica.

Nas propriedades estudadas, 14 (93,30%) utilizavam a ordenha manual, no curral, contra apenas uma que realizava a ordenha mecânica com balde ao pé, sendo esta feita na sala de ordenha.

Em relação a prevenção de doenças, 100% dos proprietários relataram que todas as fêmeas eram vacinadas contra brucelose, costridiose, raiva e realizavam exames de tuberculinização.

No que se refere a assistência sanitária cinco (33,30%) propriedades não dispunham de assistência sanitária oferecida por órgãos competentes da região; seis (40,00%) propriedades recebiam assistência sanitária eventualmente e quatro (26,70%) propriedades sempre receberam assistência sanitária, principalmente relacionado a cura e tratamento dos bezerros após o nascimento.

Foi verificada a inexistência de qualquer tipo de higiene em relação ao hábito do ordenhador, quanto ao uso e utilização correta de uniforme e hábitos de higiene no momento da ordenha, mas não se observou em nenhuma propriedade práticas voltadas para o diagnóstico da ordenha.

### 5.3 IDENTIFICAÇÃO DE AGENTES DE MASTITE

Duzentas e oito cepas foram identificadas nas amostras de leite mamítico, das quais 141(67,79%) cepas eram de cocos Gram-positivos e 67 (32,21%) de enterobactérias (Tabela 05). No primeiro grupo destacaram-se os estafilococos coagulase-negativos (ECN) com 69 (38,76%) cepas, seguidos dos estafilococos coagulase-positivos (ECP) com 41 (23,03%) e os estreptococos com 25 (12,02%) cepas.

Entre as enterobactérias destacaram-se *Pseudomonas* sp. com 12 (17,91%) cepas, *Citrobacter* sp. com 12 (17,95%) cepas e *Shigella* sp. com 10 (14,92%); outras 15 cepas de enterobactérias não foram identificadas.



**Tabela 5** - Agentes microbianos de mastite diagnosticada em bovinos leiteiros mestiços no Município de Parauapebas, Mesorregião Sudeste do Estado do Pará, segundo o grupo microbiano isolado. 2008.

Microorganismo	Cepas isoladas	
	(n)	%
Cocos Gram-positivos	141	67,79
ECN	69	38,76
ECP	41	23,03
<i>Micrococcus</i>	5	2,81
<i>Streptococcus</i> sp.	25	14,10
<i>Enterococcus</i>	1	0,18
Enterobacterias	67	32,21
<b>Total</b>	<b>208</b>	<b>100,00</b>

Fonte: Barros et al, 2008.

No perfil microbiológico dos casos de mastite foram identificados como os agentes microbianos mais importantes as bactérias Gram-positivas, cujos resultados estão resumidos na Tabela 6.

**Tabela 6** - Agentes bacterianos Gram-positivos identificados em casos de mastite diagnosticada no Município de Parauapebas, Mesorregião Sudeste do Estado do Pará, segundo as espécies isoladas. (Belém, 2008).

<b>Espécies isoladas</b>	<b>(n)</b>	<b>%</b>
<i>S. aureus</i>	41	29,08
<i>S. saprophyticus</i>	12	8,51
<i>S. hyicus</i>	7	4,96
<i>S. epidermidis</i>	27	19,14
<i>S. intermedius</i>	26	18,43
<i>Micrococcus</i>	5	3,54
<i>Streptococcus agalatae</i>	5	3,54
<i>S. dysgalatae</i>	4	2,83
<i>S. uberis</i>	7	4,96
<i>S. zooepidermicus</i>	1	0,71
<i>S. equi</i>	6	4,25
<i>S. faecalis</i>	2	1,41
<i>Enterococcus</i>	1	0,71
<b>Total</b>	<b>141</b>	<b>100,00</b>

Fonte: Barros et al, 2008.

*S. aureus* foi o agente bacteriano mais prevalente, com 29,08% das cepas de cocos Gram-positivos; *S. epidermidis* e *S. intermedius* participaram também com elevados percentuais nos isolamentos, respectivamente, 19,14% e 18,43%. Entre os estreptococos, *S. uberis*, *S. equi*, *S. agalatae* e *S. dysgalatae*, apresentaram os maiores percentuais de isolamentos, respectivamente, 4,96%, 4,25%, 3,54% e 2,83% (Tabela 6).

Do mesmo modo, no perfil microbiano dos agentes associados aos casos de mastite as enterobactérias apresentaram os seguintes resultados na Tabela 7.

**Tabela 7** - Enterobactérias identificadas em casos de mastite diagnosticada no Município de Parauapebas, Mesorregião Sudeste do Estado do Pará, segundo as espécies isoladas. (Belém,2008<sup>1</sup>).

<b>Grupo/Espécie</b>	<b>(n)</b>	<b>%</b>
<i>Arizona</i> sp	2	2,98
<i>Shigella</i> sp	10	14,96
<i>Klebsiella</i> sp	6	8,95
<i>Citrobacter</i> sp	12	17,91
<i>Enterobacter</i> sp	4	5,97
<i>Salmonella</i> sp	1	1,49
<i>Hafnia</i> sp	3	4,47
<i>Pseudomonas</i> sp	12	17,91
<i>Proteus</i> sp	1	1,49
<i>Escherichia coli</i>	1	1,49
Outros <sup>2</sup>	15	22,38
<b>Total</b>	<b>67</b>	<b>100,00</b>

Fonte: Barros et al, 2008.

1 Identificação presuntiva: Prova do Indol, Reação do Vermelho de Metila, Prova de Voges Proskauer, Utilização de Citrato, Prova da Urease, Oxidação-fermentação da Lactose, características culturais, morfológicas e tintoriais

2 Não identificados

Entre as enterobactérias destacaram-se *Pseudomonas* sp. e *Citrobacter* sp., ambos com 12 (17,91%) cepas e *Shigella* sp. com 10 (14,96%); outras 15 cepas microbianas não foram identificadas

## 6. DISCUSSÃO

A Mesorregião Sudeste caracteriza-se como um pólo de pecuária diferenciada, pois a cadeia produtiva do leite nesta região apresenta grandes problemas de eficiência de produção e de qualidade do produto e grande variação quanto ao sistema de produção utilizado. De um lado, pequenas propriedades com numero reduzido de animais, alimentação insuficiente e pouca capacidade de investimento e de outro a existência de propriedades com alto nível de especialização que dispõem de assistência técnica, realizam controle leiteiro, seguindo um programa de alimentação intensiva, de acordo com observações in locu.

Os rebanhos leiteiros estudados são mestiços e estão sujeitos á mastite pois não existe um controle preventivo em relação aos fatores higiênicos e sanitários observados.

Os valores encontradas tanto para mastite como uma doença única e para mastite subclínica situaram-se próximos ou foram semelhantes aos resultados de diferentes estudos realizados no Brasil, conforme relataram Harrop et al. (1975), 39,00%, Andrade *et al.* (1984-1986, 1998), 36,23% e 39,80%, Nader Filho *et al.* (1985), 11,90%, Vianni et al. (1992) 40,40%, Brant & Figueiredo (1994) 42,82%, Sousa *et al.* (1996) 47,90%, Filippesen *et al.* (1996), 54,00% e Laffranchi et al. (2001), 10,23% e Ferreira *et al.* (2007), 41,10%.

Os resultados permitem concluir que: utilizando-se o CMT como método de diagnóstico de mastite subclinica em 15 rebanhos leiteiros localizados no município de Parauapebas - Pará, observou-se uma prevalência de 52,07% ou seja dos 174 animais testados, 88 animais apresentaram reações positivas ao teste, considerando os escores +, ++, +++ , sendo o índice médio de tetos reagentes por animal testado não significativo.

Em termos de mastite subclínica, isoladamente, a prevalência determinada entre os animais leiteiros no Município de Parauapebas mostraram-se também próximos ou semelhantes àquelas determinadas por Filippensen et al. (1996), Souza et al. (1996), Vieira da Mata et al. (2001), respectivamente, 54,00%, 47,90%, e 39,70%, mas foram consideravelmente inferiores e quase uma e meia vez menores que os resultados determinados por Martins et al. (2006), 74,20%.

As mastites encontradas se constituem em um problema para o município estudado, pois deve ser levar em consideração as perdas econômicas decorrentes, principalmente nos rebanhos com altos índices de mastite subclínica (LANGENEGGER *et al.*, 1970; COSTA, 1991; LANGONI e DOMINGUES, 1998).

De um modo geral, os resultados dos isolamentos e identificação da flora microbiana, em termos de cocos Gram-positivos e enterobactérias, associada aos casos de mastite observados em vacas leiteiras no Município de Parauapebas, assemelharam-se aos resultados determinados pelos mais diferentes autores, nas mais diversas áreas e sistemas de criatórios de bovinos leiteiros no Brasil. Tomando-se como base os resultados do perfil microbiológico determinado reafirmaram os achados dos diversos autores referenciados nesse estudo, em especial aqueles de Silva *et al.* (1983), Nader Filho *et al.* (1984), Laranja & Machado (1994), Wilson *et al.* (1997), Andrade *et al.* (1998), Langoni *et al.* (1998), Pinheiro de Sá *et al.* (2000), Laffranchi *et al.* (2001), Almeida & Mendes (2005), Martins *et al.* (2006) que relataram *Staphylococcus sp.* como os agentes mais prevalentes em mastite bovina.

De modo idêntico, já nas décadas dos anos de 1970 e 1980, os *Staphylococcus spp* eram os mais prevalentes agentes bacterianos de mastite bovina (LANGENEGGER *et al.*, 1970; NADER FILHO *et al.*, 1984).

Os ECN superaram os ECP como o grupo microbiano mais prevalente nos casos de mastite estudados, 37,86% contra 23,03%, o que confirma a tendência observada a partir dos anos de 1990 de maior participação desse grupo de estafilococos na ocorrência de mastite bovina (FILIPPENSEN *et al.*, 1996; SOUZA *et al.*, 1996; PARDO *et al.*, 1998; LAFFRANCHI *et al.*, 2001; MARTINS *et al.*, 2006).

Com exceção dos resultados determinados por Laffranchi *et al.* (2001), 10,23%, que é muito inferior ao determinado entre os bovinos no Município de Parauapebas, para esse grupo de *Staphylococcus* (Tabela 5), os índices observados por Filippensen *et al.* (1996) e Souza *et al.* (1996) foram semelhantes aos da presente pesquisa.

Entre os ECP, o *S. aureus* foi o mais prevalente (Tabela 6), reafirmando os achados de Harrop *et al.* (1975), Andrade *et al.* (1984-1986, 1998), Nader Filho *et al.* (1985), Vianni *et al.* (1992), Brant & Figueiredo (1994) e Ferreira *et*

al. (2007), que isolaram essa espécie como a mais prevalente na flora associada à mastite e em percentuais próximos ou semelhantes aos determinados nessa pesquisa. No entanto, Martins *et al.* (2006) relatam que o *S. intermedius* como a espécie mais prevalente.

*S. aureus* é considerado um patógeno primário e tem sido o agente mais frequentemente isolado tanto de infecções clínicas como subclínicas. Os ECN, comumente isoladas do leite bovino, são consideradas patógenos secundários e, em geral, causam reação inflamatória moderada na glândula mamária (WATTS, 1988; HARMON & LANGLOIS, 1989; BOOHT, 1995, BRAMLEY *et al.*, 1996, BRITO *et al.*, 1999).

Os percentuais de isolamento de *Streptococcus* spp. apareceram em percentual semelhante ou muito próximo daqueles determinados por outros autores na ocorrência de mastite, 14,10% (Tabela 6) contra 18,31% (LANGONI *et al.*, 1998), 10,00% (ANDRADE *et al.*, 1998), 7,96% (PARDO *et al.*, 1998) e 8,97% (LAFFRANCHI *et al.*, 2001), respectivamente, em rebanhos produtores de leite tipo A e leite tipo B no Estado de São Paulo, rebanhos bovinos leiteiros no Estado de Goiás, norte do Estado do Paraná e norte do Estado do Paraná e sudoeste do Estado de São Paulo.

A participação das enterobactérias na flora microbiana associada aos casos de mastite alcançou 67 (32,21%) cepas, conforme os dados da Tabela 3. Percentual muito próximo foi determinado por Langoni *et al.* (1998), 25,58%, em amostras de leite mastítico de rebanhos produtores de leite tipo A e leite tipo B no Estado de São Paulo. Porém, foi comparado inferior, de 0,23% ao registrado por Pinheiro de Sá *et al.* (2000) em amostras de leite mamítico no agreste meridional do Estado de Pernambuco.

Ainda em relação às enterobactérias, agentes como *Klebsiella* sp. e *E. coli*, que têm sido associados rotineiramente à mastite bovina, apresentaram-se em baixos percentuais na composição da flora microbiana da presente pesquisa (Tabela 7). De modo contrário, outros agentes como *Pseudomonas* sp., *Citrobacter* sp. e *Shigella* sp., apresentaram percentuais mais elevados, caracterizando uma participação maior desses agentes na ocorrência de mastite ambiental na região estudada.

Concluiu-se pelos resultados encontrados que tanto os agentes infecciosos transferidos de vaca a vaca, durante a ordenha, quanto os

ambientais, carregados do ambiente para a vaca, principalmente no intervalo entre ordenhas, podem estar contribuindo para infecções intramamárias nos rebanhos estudados. A análise da frequência destes agentes no nível de 5% de probabilidade demonstrou que existe uma variação significativa desses agentes.

As diferenças encontradas nos resultados das frequências dos diversos agentes quando comparadas com vários trabalhos levantados, podem ser atribuídas não somente a fatores genéticos como raça e susceptibilidade individual, mas também a questões ambientais, em especial aquelas determinadas pela ação humana, tais como sistema de criação, manejo, higiene e nível de exposição e ainda a determinantes do agente como patogenicidade, invasibilidade e infecciosidade, contagiosidade, entre outros, o que reafirma a complexidade da enfermidade e seu aspecto multifatorial. (SANTOS *et al.*, 2007)

## 7. CONCLUSÃO

A mastite está presente nos rebanhos leiteiros no Município de Parauapebas, com considerável prevalência na forma clínica e elevada prevalência na forma subclínica.

No perfil microbiológico da mastite bovina no Município de Parauapebas destacaram-se os estafilococos coagulase-negativos (ECN), estafilococos coagulase-positivos (ECP) e as enterobactérias.

*Staphylococcus aureus* foi o agente mais prevalente, seguido de *S. epidermidis* e *S. intermedius* e entre as enterobactérias destacaram-se *Citrobacter* sp, *Pseudomonas* sp e *Shigella* sp. *Streptococcus uberis* e *S. equi* tiveram participação pequena no perfil microbiano determinado. A análise da frequência no nível de 5% de probabilidade demonstrou que existe uma variação significativa desses agentes.

Sugere-se a adoção de medidas de prevenção que devem englobar, além de adequações técnicas (ordenha higiênica, procedimentos e equipamentos corretos, instalações adequadas) e o treinamento de ordenhadores, vaqueiros e outros empregados nos trabalhos de campo, para controlar e mesmo diminuir o número de animais acometidos pela doença.

Em relação à higiene de ordenha, todas as propriedades estudadas não utilizavam pré e pós "dipping" e nem demonstravam preocupação com a higiene do ordenhador e utensílios empregados na ordenha, condição que pode justificar os índices agentes de mastite ambiental, principalmente por enterobactérias.

Os resultados e as observações relativos aos fatores de risco indicaram que há realmente a necessidade de os produtores de leite melhorarem as condições higiênicas de ordenha e adotem as práticas atuais de controle de mastite.



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLORE, H. G.; ERB, H. N. Partial budget of the discounted annual benefit of mastitis control strategies. *J. Dairy Sci.*, v.81, p. 2280-2292, 1998.

ANDERSON, K. L. et al. Diagnosis and Treatment of acute mastitis in a large daily herd. *JAVMA*, 181;690-693,1982.

ANDRADE, M. A . Mastite bovina subclinica: Prevalência, etiologia e testes de sensibilidade a drogas antimicrobianas. *Vet News* Ano VIII nº49, 2001.

ANDRADE, M. A. ET ALLI, FILHO, F. de C. D., COSTA, R.R. Mastite bovina na bacia leiteira de Goiânia. *Anais Escola Agronomia e Veterinária*, 14, 15 e 16:69-78, 1984, 1985-86.

ANDRADE, M. A., MESQUITA, A. J. de; FILHO, F. de C. D. JAYME, V. de S. Prevalência e etiologia de mastite bovina subclinica em propriedades do estado de Goiás que utilizam ordenhadeiras na obtenção do leite. *Anais Esc. Agronomia e Veterinária*, 28 (1) 29-42, 1998.

ALLORE, H. G.; ERB, H. N. Partial budget of the discounted annual benefit of mastitis control strategies. *J. Dairy Sci.*, v.81, p. 2280-2292, 1998.

BRAMLEY, A.J; CULLOR, J. S; ERSKINE, R. J. et al. **Current concepts of bovine mastitis.**, Madison : National Mastitis Council, p. 1- 3, 1996.

BECK, H.; WISE, W.S.; DODD, F.H. Cost benefit analysis of bovine mastitis in the UK. *Journal Dairy Science*, v.59, n.1, p.449-460, 1992

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do leite.** 13 ed. Nobel: São Paulo. 1984.

BENITES, N.R. **Estudo morfométrico de mastite bovina em vacas naturalmente infectadas.** São Paulo, 1999. 111f. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Patologia, Universidade de São Paulo.

BRABES,K.C.S.; ANDRADE,N.J. MENDONÇA, R.C.S.,LIMA,J.C.,LOPES,F.A. Identificação e Classificação de Enterotoxinas produzidas por *Staphylococcus spp.* Isolados de ar de ambiente, manipuladores e de superfícies em uma indústria de laticínios.**Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**, Juiz de Fora, v.58,n.333,p.33-38,jul-ago,2003.

BRAMLEY, A. Y. Pathogens in dry mastitis in factors involved in the epidemiology and control of *Streptococcus uberis* and coliform mastitis.**Robinson T.C.Bret.Vet.J.**141 (6) 1985.

BRAMLEY,A,J. Mastitis In: ANDREWS,A.H.R.W.;BLOWEY,H.,EDDY,R.G. **Bovine medicine diseases and husbandry of cattle.**Oxford:Blackwell,1992,p.289-300.

BRAMLEY, A.J. J.S.; CULLOR, R.J.; ERSKINE, L.K.; FOX, R.J.; HARMON, J.S.;HOGAN, S.C.; NICKERSON, S.P.; OLIVER, K.L.; SMITH, L.M.; SORDILLO. 1996.Current Concepts of Bovine Mastitis. **National Mastitis Council**, 4th ed., Madison, Wisconsin, USA, 1996, 64p.

BRAMLEY, A. J., GRIFFIN, T. K., GRINDAL, R. J. Some investigations on the effect of continuous vacuum milking on new infection of the udder. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 17th Meeting Annual, 1987, Arlington. *Proceedings...* Arlington, 1987.p. 291-300.

BRAMLEY, A.J. et al. *Current concepts of bovine mastitis.* **National Mastitis Council**, Madison, 1996. p.1-3.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa nº51. Diário Oficial da União, Brasília 15 de agosto de 2002, seção1, págs 2-4.

BLOSSER, T.H. Economic losses from and the National research program on Mastitis in the United States **Journal Dairy science**,v.62,n.1,p.120-122,1979.

BRITO, J. R. F; CALDEIRA, G. A. V; VERNEQUE, R. S. et al. Sensibilidade e especificidade do “California Mastitis Test” como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira.** v.17, n.2, p. 49–53, 1997

*Brito, M.A.V.P., Brito J.R.F., Ribeiro M.T., Veiga V.M.O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação.* Embrapa, Juiz de Fora – MG, Juiz de Fora – MG,1998.

BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J. R. F.; SILVA, M. A . S.; CARMO, R. A . Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos para amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. **Arquivos**

**Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Juiz de Fora, v. 53, n.5, p.531-537, 2001.

BRITO, M. A. V. P.; CAMPOS, G. M. M. de; BRITO, J. R. F. Esquema simplificado para identificação de estafilococos coagulase-positivos isolados de mastite bovina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n.1, p-79-82, 2002.

BURAGOHAİN, J.; DUTTA, G.N. A note on the efficacy of treatment during lactation for the control of bovine mastitis. *Indian Vet. J.*, v.71, p.504-504, 1994.

CARDOSO, H.F.T; COSTA, G.M.; SILVA, N. Susceptibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* isolados de leite bovino no Estado de Minas Gerais. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v.22, p.199- 203, 2000.

CARTER, G. R. **Fundamentos de bacteriologia e micologia veterinária**. São Paulo: Roca, 198

CERQUEIRA, M. M. O. P; SOUZA, M. R.; FONSECA, L. M. et al. Características físico-químicas e microbiológicas de leite integral pasteurizado em propriedades rurais e colhidos no comércio varejista da grande Belo Horizonte. In: Congresso Nacional de Laticínios, 13. **Anais...** Juiz de Fora: FAPEMIG. 1995.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992, p. 117-131.

COSTA, E. O.; CARCIOFI, A . C.; MELVILLE, P. A.; PRADA, M.S.; SCHALCH, U. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 17, p. 156-159, 1995

COSTA, E.O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**, São Paulo, v.1, n.1, p.3-9, 1998.

COSTA, E.O. et al. Avaliação da condutibilidade elétrica do leite de glândula mamária com mastite: correlação com CMT e exames microbiológicos. **Napgama**, São Paulo, ano I, n.1, p.3-8, 1998.

COSTA E. O.; MELVILLE, P. A.; RIBEIRO, A. R.; VIANI, F. C.; MASCOLLI, R.; OLIVEIRA, P. J. Mastite bovina: CMT *versus* microbiológico. **Hora Veterinária**, v. 15, n. 89, p. 53-54, 1996.

COSTA, E. O.; BENITIS, N. R.; GUERRA, J. L.; GUERRA, J. L.; MELVILLE, P. A. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* spp. Isolated from mammary parenchymas of slaughtered dairy cows. **Journal of Veterinary Medicine B.**, v. 47, p. 99-103, 2000.

CUNHA, A. P.; SILVA, L. B. G. da.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; SILVA, D. R. da.; OLIVEIRA, A. A. da.; SILVA, K. P. C. da.; MOTA, R. A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana de agentes contagiosos e ambientais isolados de mastite clínica e subclínica de búfalas. **Arquivo Instituto de Biologia**, São Paulo, v.73, n.1, p.17-21, 2006.

Della Libera, A. M. M. P., Azedo, M. R., Blagitz, M. G., Bastos, C. R. Produção de Leite: metas sanitárias para uma produção responsável. Anais do ZOOTEC'2005 - 24 a 27 de maio de 2005 – Campo Grande-MS

de BUYSER, M-L.; DUFOUR, B.; MAIRE, M.; LAFARGE, V. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries. *International Journal of Food Microbiology*, v.67, p.1-17, 2001.

DeGRAVES, F. J., FETROW, J. F. Economics of mastitis and mastitis control. *Vet. Clin. N.Amer.: Food Animal Practice*, v.9, n.3, p. 421-433, 1993.

DINIZ, M.A.P.R.; BRANDÃO, S.C.C.; FARIA, E. et al. Tratamento de mastite subclínica e clínica, em vacas lactantes, com ácido acetilsalicílico, mastenzin e associação mastenzin com ácido acetilsalicílico. *Hora Vet.*, n.18, p.27-33, 1998.

DOMINGUES, P. F. Controle da produção leiteira na mastite bovina subclínica. Dissertação ( Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, SP. 1993.

DÖPFER, D.; BARKEMA, H.W.; LAM, T.J.G.M. et al. Recurrent clinical mastitis caused by *Escherichia coli* in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 82, p.80-85, 1999.

DÜRR, J. W.; FONTANELLI, R. S.; MORO, D.V. **Determinação laboratorial dos componentes do leite**: Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.

DUVAL, J. Treating mastitis without antibiotics. **EAP Publication** 69, 1997.

El-Naggar M.A. Una reacción sencilla para el diagnóstico de la mastitis bovina. *Noticias Med. Vet.* 3:219-225, 1973.

EMANUELSON, U. et al. Comparison of some screening tests for detecting mastitis. **Journal of Dairy Science**, v.70, n.4, p.880-7, 1987.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C.A.F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural**, Santa Maria. v. 34, n.4, p. 1315-1320, 2004.

FDA - Food & Drug Administration, 2002. Bacteriological Analytical Manual. **Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria**. Capturado em 11 ago.2007. Online. Disponível na Internet <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>.

FERREIRA, L. M.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, E de; ZAFALON, L. F.; SOUZA, V de. Variabilidades fenotípica e genotípica de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas em casos de mastite subclínica bovina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36,n.4, p-1228-1234, 2006.

FERNANDES, J. C. T. Agentes etiológicos de mastite bovina no RS no período 1972- 1989. **Arq. Fac. Vet. UFRGS**, Porto Alegre, n. 20, p. 151-163, 1992.

FETROW, J.; STEWART, S.; EICKER, S.; FARNSWORTH, R.; BEY, R. Mastitis: an economic consideration. In: ANNUAL MEETING OF THE NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 39. 2000, Atlanta. **Proceedings...** Madison: National Mastitis Council, 2000. p. 3-47.

FONSECA, L.F.L. & SANTOS, M.V. *Qualidade do leite e controle da mastite*. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. 2º Curso on-line de atualização sobre controle da mastite, <http://www.milkpoint.com.br/cursos.mastite>. acesso em 20/07/2006.

FONSECA, L. F. L. Estudo da prevalência da mastite bovina e sua relação com práticas de manejo, higiene e terapia em fazendas produtoras de leite tipo B no estado de São Paulo. São Paulo: **Universidade de São Paulo**, 1992, 148p.

FREITAS, J. A. Qualidade do leite frente seu beneficiamento e obtenção de derivados. In. SEMINÁRIO DE ZOOTECNIA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DO PARÁ, 1., 2001, Belém. **Resumos...**Belém: FCAP, 2001. p.105-110.

FRANCO, R. M.; CAVALCANTI, R. M. S.; WOOD, P. C. B.; LORETTI, V. P.; GONÇALVES, P. M. R.; OLIVEIRA, L. A. T. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de leite e derivados. *Higiene Alimentar*, v.14, n.68/69, p.70-77, 2000.

FREITAS, M. F. L.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; STAMFORD, T. L. M.; RABELO, S. S. de A .; SILVA, D. R. da; SILVEIRA FILHO, V. M. da; SANTOS, F. G. B.; SENA, M. J. de; MOTA, R. A. Perfil de Sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus coagulase positivos* isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. **Arquivo Instituto Biologia**, São Paulo, v. 72, n. 2, p.171-177, 2005.

GENIGEORGIS, C. A. Present state of knowledge on staphylococcal intoxication. *International J. of Food Microbiol.*, (9):327-360. 1989.

GREEN, M.J. et al. Influence of dry period bacterial intramammary infection on clinical mastitis in dry cows. **Journal of Dairy Science**. V.85. p.2589-2599, 2002.

GENTILINI, E.; DENAMIEL, G.; BETANCOR, A. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 1913-1917, 2002.

GONÇALVES, C. A.; TEIXEIRA NETO, J. F. **Caracterização do sistema de produção de leite predominante no Sudeste Paraense**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. 310 p.

HAMILL, R. J.; VANN, J.M.; PROCTOR R.A. Phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by culture bovine aortic endothelial cells: models for postadherence events in endovascular infections. **Infection Immunology**, v. 54, p. 833-836, 1986.

HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 7, p. 2103-2112, 1994.

HARROP, M. H. V. et al. Incidência de mastite bovina na bacia leiteira da zona do Agreste Meridional de Pernambuco. **Pesq. Agrop. Bras. série Vet.**, Rio de Janeiro, v. 10, p. 65-67, 1975.

HOLMES, C.W.; Kamote, H.; Mackenzie, D.D.S.. Effects of a decrease in milk yield, caused by once-daily milkink or by restricted feedind, on the somatic cell count in milk from cows with or without subclinical mastitis. *Australian Journal of Dairy Technology*, v.51, Apr., p. 8-11. 1996

HOLT, J. G., KRIEG, N. R., SNEATH, P. H. A. STANLEY, J. T., WILLIAMS, S. T. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams & Wilkins, Baltimore, 9<sup>o</sup> ed. 787p. 1994.

HOLT, J. G. et al. **Gram-positive cocci**. In: **HOLT, J.G.;KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J. T., WILLIAN, S,T.** *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9.ed. **Baltimore: Williams e Wilkins, 1994. p.544-551.**

JAIN, N. C. Common mammary pathogens and factores in infection and mastitis.**Journal of Dairy Science**,v.62,n.1,p.130-134,1979.

KAIPAINEN, T.; POHJANVIRTA, T.; SHPIGEL, N.Y.; SHWIMMER, A.; PYORALA, S.; PELKONEN, S. Virulence factores of *Escherichia coli* isolated from bovine clinical mastitis, **Veterinary Microbiology**, Finland, v.85, p.37-46, 2002.

KANGASNIEMI, R. *et al.* Absolute and relative effects of bacteria on the level of cell count, NAGase, BSA, Na, K and electrical conductivity in quarter foremilk of Ayrshire-cows. In: SYMPOSIUM ON MASTITIS CONTROL AND HYGIENIC PRODUCTION OF MILK, 1986, Espoo, Finland. **Proceedings...** Espoo, Finland, 1986. p.173-8.

KINABO, L. D. B., ASSEY, R. J. Bovine mastitis in selected dairy farms in Morogoro District, Tanzania, *Beiträge Trop., Landwirtschaft. Veterinärmed.*, n.1, p. 65-71, 1983.

KIRK, J.H., GLENN, J.S., MASS, J.P. Mastitis in a flock milking sheep. *Small Ruminant Research.* V. 22, p. 187-191, 1996.

KIRK, J. H., DEGRAVES, F., TYLER, J. Recent progress in treatment and control of mastitis in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* v. 204, p. 1152-1158, 1994.

LANGENEGGER, J.; ESTELITA, M.C.; BAHIA, M.G. Efeito do agente etiológico da mastite subclínica sobre a produção de leite. *Pesq. Vet. Bras.*, v.1, n.2, p.47-57, 1981.

LANGENEGGER, C. H; et al. Estudo da incidência da mastite bovina na bacia leiteira do Rio de Janeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.** v.5, p.437-440, 1970.

LANGENEGGER, J.; VIANI, M. C. E.; BAHIA, M. G. Efeito do agente etiológico da mastite subclínica sobre a produção de leite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio Grande do Sul, v.1, n.2, p. 47-52, 1981.

LANGENEGGER, H.; COELHO, N.M.; LANGENEGGER, C.H., CASTRO, R. P. Estudo da incidência de mastite bovina na bacia leiteira do Rio de Janeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.5, p.437, 1970.

LANGONI, H. et al. Aspectos etiológicos na mastite bovina: flora bacteriana aeróbica. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v

LANGONI, H. Complexidade etiológica da mastite bovina. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITES, 3., 1999, Botucatu. **Anais...** Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 1999. p.3-18.

LARANJA DA FONSECA, SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite.** São Paulo-MG: Lemos Editorial, 2000, 176p.

LEE, J. H. Methicillin (oxacilin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. **Appl. Environ. Microbiological**, v. 69, p-6489-6494, 2003.

LESLIE, K. E. New concepts on bovine mastitis control. **Medicin Veterinaire du Quebec.** v. 34, n. 1/2, p. 44-46, 2004.

LOWY, F.D. *Staphylococcus aureus* infections. **New England Journal Medicine**, v. 339, n.8, p. 520-532, 1998.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SILVA, L. F. P.; SARRIÉS, G. A. Células somáticas no leite em rebanhos brasileiros. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 359-361, 2000.

MARTINS, S.C.S.; FELIX, P. R. ; NASCIMENTO, G. G. F. Isolamento e caracterização de bactérias de diferentes ambientes hospitalares. Perfil da sensibilidade a quimioterápicos. **Higiene Alimentar**, Piracicaba, v.12, n.56, p.45-48, 1998.

MARGATHO, L.F.F.; HIPOLITO, M.; KANETO, C.N. *Métodos de prevenção, controle e tratamento da mastite bovina*. **Boletim. Técnico do Instituto Biológico**, São Paulo, n.9, p.5-35, 1938.

MALLARD, B.A.; DEKKERS, J.C.; IRELAND, M.J.; LESLIE, K.E.; SHARIF, S.; VANKAMPEN, C.L.; WAGTER, L.; WILKIE, B.N. Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health. *Journal of Dairy Science*, v.81, n.2, p.585- 595, 1998.

MELCHÍADES, L.E.A.; VEIGA, V.M.O.; RIBEIRO, M.T. Produção de enterotoxinas por *Staphylococcus* isolados de mastite subclínica bovina. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.48, p.80-81, 1993.

MENDONÇA, C.L.; FIOROVANT, M.C.S.; SILVA, J.A.B.A. Etiologia da mastite bovina. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v5, nº1, p 107-118, 1999.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Current concepts of bovine mastitis. 4ed. Madison: NMC, 1996. 64p.

NADER FILHO, A. R. P.; SCHOCKEN-ITURRINO, O. D.; ROSSI JR. O. D.; CEMBRANELLI, E. M. Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Ribeirão Preto, São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Brasília, v. 5, n. 2, p.17-23, 1985.

NIELEN M., DELUYKER H., SCHUKKEN Y.H. & Brand A. 1992. Electrical conductivity of milk: measurement, modifiers, and meta analysis of mastitis detection performance. *J. Dairy Sci.* 75(2):606-614.

OLIVEIRA, A. N. **Características de Composição do Leite e Métodos de Análise**. **Centro de Pesquisa em Alimentos**. Escola de Veterinária de Goiás. Goiânia. 2004. 17p.



OLIVEIRA, C.A.; FONSECA, L.F.L.; GERMANO, P.M.L. Aspectos relacionados à produção que influenciam a qualidade do leite. **Higiene Alimentar**, v.13, p.10-16, 1999.

OMOE, K. ; ISHIKAWA, M. ; SHIMODA, Y. HU, D. ; UEDA, S. ; SHINAGAWA, K. Detection of *seg*, *seh*, and *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *Staphylococcus aureus* isolates harborin *seg*, *seh*, or *sei* genes. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 3, p. 857-862, 2002.

ORRISS, G. D. Animal diseases of public health importance. *Emerging Infectious Diseases*, v.3, n.4, p.497-502, 1997.

PANKEY, J.W. Hygiene at milking time in the prevention of bovine mastitis. **British Veterinary Journal**, v.145, p.401-409, 1989.

PHILPOT,W.N. Control of mastitis by hygiene and therapy. **Journal Dairy Science**,v.62,n.1,p.168-173,1979.

PHILPOT,W.N; NICKERSON,S.C. **Mastitis: counter attack**.Naperwille:Babson Bros.,1991.150p.

PHILPOT, W. N. Economics of mastitis control. Symposium on mastitis. *Vet. Clin. N. Amer.:Large Animal Practice*, v. 6, n. 2, p. 233-245, 1984.

PHILPOT, W.N. **Somatic cell counts and your mastitis control program**. Baton Rouge: Louisiana Agricultural Experiment Station, 1986. p.48-57.

PHILPOT, W. N. Economics of mastitis control. Symposium on mastitis. *Vet. Clin. N. Amer.:Large Animal Practice*, v. 6, n. 2, p. 233-245,1984.

PITKALA, A.; HAVERI, M.; PYORALA, S.; MYLLYS, V.; HONKANNEN-BUZALSKI, T. Bovine Mastitis in Finland 2001- prevalence, distribution of bacteria and antimicrobial resistance. **Journal of Dairy Science**, Finland, v. 87, p. 2433-2441, 2004.

PRESTES, D. S., FILATI, A. CECIM, M. S. Suscetibilidade à mastite: Fatores que a influenciam- Uma revisão. **Revista Faculdade Zootecnia Veterinária e Agronomia**, Araguaiana, v.9, n.1, p-48-59, 2003.

PYORALA, S. New strategies to prevent mastitis. **Reproduction in Domestic Animals**, Belfast, v.37, n.4, p.211-216, 2002.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Veterinary medicine**. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 9.ed. London: W. B. Saunders, 2000. p.603-700

RENEAU, J. K. Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 69, n. 6, p. 1708-1720, 1986.

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 mastites clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas. v.9, n.3, p-287-290, 2003.

RIBEIRO, M.G.; COSTA, E.O.; LEITE, D.S. et al. Fator necrosante citotóxico em *Escherichia coli* isolada de mastite clínica bovina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.54, p.648-650, 2002.

RIBEIRO, A.R. *Estudo da mastite bovina causada por microrganismos ambientais: influência do manejo e higiene, sazonalidade e qualidade microbiológica da água*. 2001. 138f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências Universidade de São Paulo, São Paulo.

RIBEIRO, M.E.R. et al. Manejo de ordenha e mastite. In: **Sistemas de pecuária de leite – uma visão na região de clima temperado**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2000. 195p.

ROBERSON, J.R. et al. Sources of intramammary infections from ***Staphylococcus aureus*** in dairy heifers at first parturition. **J Dairy Sci**, v.81, n.3, p.687-693, 1998

ROBERSON J.R.; FOX L.K., HANCOCK D.D. & GAY J. M.. Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. *J. Dairy Sci.* 77(11):3354- 3364. 1994.

RYNIEWICS, H.Z. *et al.* The level of somatic cells in seemingly healthy milk and infection of udder quarters in cows. In: SYMPOSIUM ON MASTITIS CONTROL AND HYGIENIC PRODUCTION OF MILK, 1986, Espoo, Finland, 1986. **Proceedings...** Espoo, Finland, 1986. p.1-5.

SABOUR, P.M.; GILL, J.J.; LEPP, D. et al. Molecular Typing and Distribution of *Staphylococcus aureus* Isolates in Eastern Canadian Dairy Herds. *J. Clin. Microbiol.*, v.42, p.3449-3455, 2004.

SADOYAMA, G.; GONTIJO FILHO, P.P. Risk factors for methicillin resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* infection in a Brazilian University Hospital. **Brazilian Journal of Infections Diseases**, Salvador, v.4, n.2, p.135-143, 2000.

SANTOS, F. G. B.; MOTA, R. A.; SILVEIRA-FILHO, V. M.; SOUZA, H. M.; OLIVEIRA, M. B. M.; JOHNER, J. M. Q.; LEAL, N. C.; ALMEIDA, A. M. P.; LEALALBINO, T. C. Tipagem molecular de *Staphylococcus aureus* isolados do leite de vacas com mastite subclínica e equipamentos de ordenha procedentes

do estado de Pernambuco. **Revista Nappama**, São Paulo, v. 6, n. 1, p. 19-23, 2003.

SANTOS, K.R.N. *et al.* DNA typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates and factors associated with nosocomial acquisition in two Brazilian university hospitals. **Journal of Medical Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 48, p. 17-23, 1999.

SAPERSTEIN, G. Detecting and elimination the reservoirs for *Staphylococcus aureus* before attempting eradication of Staphylococcal mastitis. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 29th Annual Meeting, 1990, Kentucky. *Proceedings...*, Kentucky, 1990.

SCHÄELLIBAUM, M. Efeitos de altas contagens de células somáticas sobre a produção e qualidade de queijos. In: Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, 2, 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba: CIETEP/FIEP, 2000. p.21-26.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experimental and observation lading to development of California Mastitis Test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 139, p. 199-204, 1957.

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio a Micro e Pequena Empresa. **Diagnostico da Cadeia Produtiva do Leite em Marabá/ 1º Fase**. SEBRAE-Marabá. 2004.

SENA, M. J. Perfil epidemiológico, resistência de antibióticos e aos conservantes nisina lactoperoxidase de *Staphylococcus* spp. isolados de queijos coalho comercializados em Recife-PE. Dissertação de Doutorado em Tecnologia de Carne, leite e derivados. Belo Horizonte. Instituto de Veterinária da UFMG. 2000.

SENA, M. J.; MENDES, E. S.; ALMEIDA, C. C. *et al.* Qualidade físico-química e microbiológica do leite pasteurizado tipo "C" comercializado em Recife. In: Congresso Nacional de Laticínios, 18, 2001, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: EPAMIG, p. 389p.

SCHALM, O . W. *et al.* . **Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. cap. 11. p. 249-282.

SCHLUNDT, J. New directions in foodborne disease prevention. *International Journal of Food Microbiology*, v.78, p.3-17, 2002.

SEARS, P. M. *et al.* Procedures for mastitis diagnosis and control. **The vet. clin. of North America: food anim. Pract.**, Philadelphia , v. 9, n. 3, p. 445-468, 1993.

SILVA, W. P., DESTRO, M. T., LANDGRAF, M., FRANCO, B. D. G. M. Biochemical characteristics of typical and atypical *Staphylococcus aureus* in

mastitic milk and environmental samples of Brazilian Dairy farms. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.31, n.2, p.103-106, 2000.

SILVA, P.H.F. da; PORTUGAL, J.A.B.; CASTRO, M.C.D. e. **Qualidade e competitividade em laticínios**. Juiz de Fora: EPAMIG – Centro Tecnológico – ILCT, 1999. 116p

SILVA, F. F. da. **Zur dominanz bakterieller mastitiererger in problembetrieben im bereich der landwirtschaftskammer**. Hannover, 1993. Tese (Doutorado) - Hannover, 1993.

TAVERNA, M.A. *et al.* Influencia del estado de infeccion mamaria, del numero y momento de la lactancia sobre el recuento de celulas somaticas em leche individual de vacas. **Veterinaria Argentina**, v.10, n.92, p.114-21, 1993.

TIMMS, L.L.; SCHULTZ, L.H. Dynamics and significance of coagulase-negative Staphylococcal infections. **Journal of Dairy Science**, Champaign, n.70, p.2648, 1987.

TORRES, C.L.A. **Mamite Bovina**. Boletim Técnico. EPAGRI. Nº32. 38p. Florianópolis, Santa Catarina, 1992.

TYLER, J.W.; WILSON, R.C.; DOWLING, P. Treatment of subclinical mastitis. *Vet. Clin. North Am.:Food Anim. Pract.*, v.8, p.17-27, 1992.

URECH, E.; PUHAN, Z.; SCHÄLLIBAUM, M. Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, v.82, p.2402-2411, 1999.

VARGAS, A. C., LAZZARI, A., DUTRA, V., WEISS, L. H. N., FERREIRA, G. L., FLORES, L. A. S. Agentes infecciosos mais prevalentes em mastite bovina na região de Santa Maria, RS – Perfil de sensibilidade *in vitro*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 24., 1996, Goiânia: *Anais...* Goiânia: Sociedade Goiana de Medicina Veterinária, 1996. 251 p., p. 119.

VEIGA, V. M.O . Diagnóstico da mastite bovina.Juiz de Fora:**EMBRAPA-CNPGL\_ADT**,1998.24p.

VIANNI, M.C.E.; NADER FILHO, A. Eficiência do CMT na estimativa do número de células somáticas do leite bovino. **Ciência Veterinária**, Jaboticabal, v.3, n.2, p.5-6, 1989.

VIANNI, M.C.E.; NADER FILHO, A. Variação das características físico-químicas e celulares do leite de vacas com mastite subclínica. **Ciência Veterinária**, Jaboticabal, v.4, n.1, p.8-9, 1990.

WAAGE, S., MORK, T., ROROS, A. AASLAND, D., HUNSHAMAR, A., ODGAARD, S. A. Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers. **Journal Dairy Science**, v. 82, n. 4, p. 712-719, 1999.

WARD, G.E.; SCHULTZ, L.H. Relationship of somatic cells in quarter milk to type of bacteria and production. **Journal of Dairy Science**, v.55, n.10, p.1428-31, 1972.

WATTS, J. I. Etiological agents of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, Pennsylvania, v. 16, p. 41-66, 1988.

WIGGANS, G.R.; SHOOK, G.E. A lactation measure of somatic cell count. **Journal of Dairy Science**, Champaign, n.70, p.2666, 1987.

WILSON, D. J.; GONZALEZ, R. N.; DAS, H. H. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: prevalence and effects on somatic cell count and milk production. *Journal of Dairy Science*, v.80, p.2592-2598, 1997

Zafalon L.F., Nader Filho A., Oliveira J.V. & Resende F.D. 2005. Electrical conductivity and chloride concentration of milk as auxiliary diagnostic methods in bovine subclinical mastitis. *Pesq. Vet. Bras.* 25(3):159-163, jul./set. 2005

ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; FISHER, V.; MARQUES, L. T.; GABANA, G.; FAMPUS, F. S.; ZIGUEL, E. A. Mastite e qualidade microbiológica do leite em sistemas de produção da região sul do Rio Grande do Sul. In: I CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2004, Passo Fundo RS. CD-Rom do I Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. 2004.

ZSCHOCK, H. P.; HAMANN, B.; WOLTER, W. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* in faeces of healthy dairy cows, sheep and goats: prevalence and virulence properties. **Letters in Applied Microbiology**, Germany. v. 31, p. 203-208, 2000.