
ESTUDO DA MASTITE SUBCLÍNICA EM REBANHOS LEITEIROS NO NORTE DO PARANÁ

VANERLI BELOTI¹
ERNST ECHEHARDT MÜLLER¹
JULIO CESAR DE FREITAS¹
ELENA METTIFOGO¹

BELOTI, V.; MÜLLER, E.E.; FREITAS, J.C.; METTIFOGO, E. Estudo da Mastite Subclínica em Rebanhos Leiteiros no Norte do Paraná. *Semina: Ci. Agr.*, Londrina, v. 18, n. 1, p. 45-53, mar. 1997.

RESUMO: Foram examinadas através do "California Mastitis Test" (CMT) 503 vacas da raça holandesa em propriedades da região norte do Paraná. Destes animais, 150 (29,82%) apresentaram resultados positivos, totalizando 295 quartos. Crescimento bacteriano foi obtido em 223 amostras de leite, sendo 213 culturas puras e 10 mistas. Os agentes isolados com maior frequência em cultura pura foram os estafilococos (30,51%), sendo 17,97% *S. aureus* e 12,54% estafilococos coagulase negativos (ECN), estreptococos (21,69%) e *C. bovis* (18,98%). O número de unidades formadoras de colônias (UFC) de 193 amostras de leite mostrou nove com contagens inferiores a 3×10^2 /ml, 22 com 3×10^2 a 10^3 /ml, 17 com 10^3 a 3×10^3 /ml e, 145 superiores a 3×10^3 /ml. As médias das contagens de células somáticas (CCS) para as principais bactérias isoladas foram: estreptococos ($2,9 \times 10^6$ /ml); *S. aureus* ($2,5 \times 10^6$ /ml); ECN ($1,2 \times 10^6$ /ml) e *C. bovis* (979×10^3 /ml). Entre os ECN predominaram o *S. hyicus* (25,00%), *S. chromogenes* (15,00%), *S. epidermidis* (15,00%), *S. simulans* (5,00%) e *S. warneri* (5,00%). Dos 33 ECN, 30,30% foram resistentes à lincomicina, 27,27% à tetraciclina, 18,18% à penicilina e à novobiocina e 15,15% à ampicilina e à eritromicina.

PALAVRAS-CHAVE: Bovino; mastite; etiologia; células somáticas.

1- INTRODUÇÃO

A reação inflamatória da glândula mamária de bovinos nas suas principais formas de apresentação, clínica e subclínica, constitui-se na enfermidade que maiores prejuízos causa ao produtor de leite (SEYKORA & McDANIEL, 1985; MILLER & DORN, 1987). A forma subclínica predomina em cerca de 90% dos casos e também representa 70 a 80% dos custos devidos a mastite (TIMMS & SHULTZ, 1984; AHL et al., 1989).

Um grande número de microrganismos, principalmente bactérias, têm sido isolado de leite mastítico. Estes agentes podem ser separados em duas classes: os patógenos maiores e os menores. O *Staphylococcus aureus* e o *Streptococcus agalactiae* são exemplos de patógenos maiores enquanto que os estafilococos coagulase negativos (ECN) e o *Corynebacterium bovis* de patógenos

menores (RAINARDT & POULTREL, 1982). Estas mesmas bactérias, entre outras, são as responsáveis pelas mastites contagiosas, predominando na forma subclínica e com alta contagem de células somáticas (CCS). Por outro lado as mastites de meio ambiente, causadas principalmente pelos estreptococos, exceto o *S. agalactiae*, e enterobactérias, ocasionam uma alta frequência de mastites clínicas e com CCS mais baixa (ERSKINE et al., 1987; MONSALLIER, 1991).

O diagnóstico presuntivo da mastite subclínica pode ser realizado pela contagem direta ou indireta de células somáticas no leite (SCHALM & NOORLANDER, 1957; THOMPSON & POSTLE, 1964; SCHMIDT, 1975; MILLER et al., 1988). Através da cultura do leite, é possível a identificação correta do agente etiológico, que por sua vez possibilita determinar prováveis fontes de infecção e, como consequência, a adoção de medidas específicas de controle.

¹ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva / Universidade Estadual de Londrina, Caixa Postal 6001, Londrina, PR, CEP 86051-990.

Neste trabalho, estudamos a etiologia da mastite subclínica em rebanhos leiteiros no norte do Paraná, com ênfase à classificação dos ECN e sua resistência antimicrobiana, além de determinar o número de unidades formadoras de colônias e a contagem de células somáticas.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinadas 528 vacas da raça holandesa, oriundas de propriedades produtoras de leite B da região norte do Paraná.

Nas propriedades, o diagnóstico presuntivo de mastite subclínica foi realizado pelo CMT (SCHALM & NOORLANDER, 1957). Dos quartos reagentes ao CMT foram colhidas amostras de leite obedecendo as normas usuais de anti-sepsia, acondicionamento e transporte (LANGENEGGER et al., 1981).

A contagem de células somáticas no leite foi efetuada microscopicamente pelo método de PRESCOTT & BREED, citado por BIRGEL & BENESE (1983).

A contagem de colônias foi feita em placas de ágar sangue ovino a 5%, semeando-se em duplicatas 0,1 ml do leite não diluído e das diluições de 10^{-1} a 10^{-3} , sendo as placas incubadas a 37°C por 24 a 72 horas. A metodologia utilizada foi a preconizada pelo LANARA (1981) com modificações em relação ao meio de cultura.

Para o isolamento bacteriano as amostras de leite foram semeadas em ágar sangue ovino a 5% e MacConkey, incubadas a 37°C por 24 a 120 horas. Nas placas com crescimento foram observadas as características morfológicas e tintoriais.

A identificação dos cocos gram positivos obedeceu a metodologia proposta por BLOBEL & SCHLIESSER (1980) e CARTER (1988), enquanto os ECN foram classificados segundo DEVRIESE et al. (1978 e 1985). O *C. bovis* foi caracterizado seguindo métodos propostos por COSTA et al. (1985) e CARTER (1988). Os microrganismos restantes foram identificados segundo EDWARDS (1986) e CARTER (1988).

Para a determinação da resistência dos ECN frente a drogas antimicrobianas foi empregado o método da difusão em placas com discos (BAUER et al., 1966). Os antimicrobianos com as suas respectivas concentrações encontram-se na tabela 5.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 503 vacas examinadas, 150 (29,82%) apresentaram resultados positivos no CMT, totalizando 295 quartos. Em 223 (75,59%) amostras de leite obteve-se crescimento bacteriano, sendo 213 culturas

puras e 10 mistas. Na tabela 1, constam os achados bacteriológicos, predominando os estafilococos em 90 (30,51%) culturas puras, sendo *S. aureus* em 53 (17,97%) e os ECN em 37 (12,54%), os estreptococos em 64 (21,69%) e o *C. bovis* em 56 (18,98%). LANGENEGGER et al. (1970), HARROP et al. (1975) e NADER et al. (1985), encontraram índices de mastite subclínica ligeiramente inferiores aos deste trabalho. MÜLLER et al. (1978) em Londrina e BRANT & FIGUEIREDO (1994) em quatro rebanhos de Minas Gerais, citam uma ocorrência superior, 36,20% e 42,82%, respectivamente. No que se refere às bactérias isoladas, os resultados de diferentes pesquisas (NADER et al., 1983; NADER et al., 1985 e AHL et al., 1989), também mostram a ocorrência em maior número dos estafilococos e estreptococos. Quanto ao *C. bovis*, COBB & WALLEY (1962) e COSTA et al. (1985), verificaram uma percentagem superior a deste trabalho. Os ECN foram isolados em 12,54%, percentagem inferior a relatada por LANGONI et al. (1984), ERSKINE et al. (1987) e LANGONI et al. (1991). As variações observadas em relação à literatura na distribuição dos diferentes microrganismos se devem provavelmente a diferenças ambientais, produção, manejo zootécnico e sanitário dos animais.

Na tabela 2, verifica-se que do total de 193 amostras de leite apenas 9 apresentaram contagens de colônias inferiores a 3×10^2 UFC/ml, enquanto as demais foram superiores, predominando as contagens acima de 3×10^3 UFC/ml em 145 amostras. PHILPOT (1984) obteve em mais de 95% das infecções intramamárias por estafilococos e estreptococos, contagens superiores a 100 UFC/ml. GONZALES et al. (1988) consideraram que o isolamento de apenas uma colônia de *S. aureus* ou *S. agalactiae* é suficiente para caracterizar a infecção. Para coliformes, outros estreptococos e ECN o número mínimo é de 25 colônias.

Com relação a contagem de células somáticas, tabela 3, observa-se que as contagens médias para os patógenos maiores é superior a 2 milhões de células/ml, enquanto que para os patógenos menores a média se situa ao redor de 1 milhão. Os relatos de diversos autores correlacionando a contagem de células somáticas aos agentes etiológicos são divergentes (ERSKINE et al., 1987; RAINARD & POUTREL 1982; TORGERSON et al., 1992). Vários fatores podem influenciar a contagem, destacando-se o tipo de agente etiológico, número e fase da lactação e freqüência de infecções (HUESTON & HEIDER, 1987; LILIUS & PESONEN, 1990). Baseado em dados de PHILPOT (1984), as médias das contagens de células somáticas obtidas neste trabalho, permitem estimar as perdas devidas a

diminuição na produção de leite dos animais examinados, em mais de 20%.

As espécies de ECN identificadas neste trabalho estão relacionadas na tabela 4, verificando-se a predominância do *S. hyicus*, *S. chromogenes*, *S. epidermidis*, *S. simulans* e *S. warneri*. O esquema de diagnóstico utilizado não permitiu diferenciar conclusivamente 5 (12,50%) amostras de *S. warneri*/*S. haemolyticus* e não identificou outras 6 (15,00%) culturas de ECN. Estes resultados se aproximam aos encontrados por HODGES et al. (1984); LANGLOIS et al. (1984) e WATTS & OWENS (1987).

Quanto a resistência dos ECN frente a drogas antimicrobianas (tab. 5), os maiores percentuais foram obtidos para lincomicina (30,30%), tetraciclina (27,27%), penicilina (18,18%), novobiocina (18,18%), ampicilina (15,15%) e eritromicina (15,15%). GARCIA et al. (1980), Mc DONALD & ANDERSON (1981) e FAGLIARI et al. (1983), apresentaram diferentes perfis de resistência para ECN isolados de mastite subclínica. Esta variação se deve provavelmente à

pressão seletiva exercida pelo uso prolongado de determinadas drogas e à metodologia empregada para a determinação da resistência. Utilizando as mesmas amostras deste trabalho, BELOTI et al. (1995) detectaram de um a nove plasmídios em 24 das 33 culturas de ECN. Em algumas destas amostras, mediante experimentos de cura e transformação, os mesmos autores concluíram que o determinante genético de resistência à tetraciclina, eritromicina e cloranfenicol está localizado em plasmídios específicos.

Os resultados deste trabalho mostraram: uma taxa considerada alta de mastite subclínica nos rebanhos estudados com presumível queda na produção de leite; uma participação expressiva dos considerados patógenos menores (*C. bovis* e ECN); dificuldades na identificação pelos métodos bioquímicos tradicionais das diferentes espécies de ECN, além da possibilidade de recomendar medidas preventivas específicas baseadas nas bactérias isoladas.

Tabela 1. Distribuição dos microrganismos isolados de Mastite Subclínica Bovina no norte do Paraná em relação ao total de amostras de leite.

Microrganismos	Isolamentos	
	Nº	%
<i>Staphylococcus spp.</i>		
- <i>S. aureus</i>	53	17.97
- ECN*	37	12.54
<i>Streptococcus spp.</i>	64	21.69
<i>C. bovis</i>	56	18.98
<i>E. coli</i>	02	0.67
<i>P. aeruginosa</i>	01	0.33
<i>S. aureus</i> e <i>Streptococcus spp.</i>	03	1.01
<i>C. bovis</i> e <i>Streptococcus spp.</i>	02	0.67
<i>E. coli</i> e <i>Streptococcus spp.</i>	01	0.33
<i>S. aureus</i> e ECN	01	0.33
<i>A. pyogenes</i> e ECN	01	0.33
<i>E. coli</i> e ECN	01	0.33
<i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	01	0.33
Subtotal	223	75.60
Sem crescimento	72	24.40
T O T A L	295	100.00

* ECN - Estafilococos coagulase negativos

Tabela 2. Contagem de colônias em 193 amostras de leite de vacas com mastite subclínica no norte do Paraná.

Microorganismos	Nº de amostras de leite	UFC [*] / ml			
		até 3x10 ²	3x10 ² a 10 ³	10 ³ a 3x10 ³	mais de 3x10 ³
<i>Streptococcus spp.</i>	56	01	06	03	46
<i>C. bovis</i>	48	01	08	08	31
<i>S. aureus</i>	51	01	04	04	42
ECN ^{**}	26	04	03	02	17
<i>E. coli</i>	02	01	01	00	00
<i>P. aeruginosa</i>	01	01	00	00	00
<i>S. aureus</i> e <i>Streptococcus spp.</i>	03	00	00	00	03
<i>C. bovis</i> e <i>Streptococcus spp.</i>	01	00	00	00	01
<i>E. coli</i> e <i>Streptococcus spp.</i>	01	00	00	00	01
<i>S. aureus</i> e ECN	01	00	00	00	01
<i>A. pyogenes</i> e ECN	01	00	00	00	01
<i>E. coli</i> e ECN	01	00	00	00	01
<i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	01	00	00	00	01
TOTAL	193	09	22	17	145

* UFC - Unidades formadoras de colônias

** ECN - Estafilococos coagulase negativos

Tabela 3. Microrganismos isolados de Mastite Subclínica Bovina no norte do Paraná e respectivas contagens de células somáticas.

Microrganismos	Nº de amostras de leite	C C S					Média (x10 ³)
		A	B	C	D	E	
<i>Streptococcus spp.</i>	59	03	03	10	37	06	2915
<i>C. bovis</i>	54	07	08	19	20	00	979
<i>S. aureus</i>	50	02	05	11	26	06	2518
ECN *	33	01	04	10	16	02	1235
<i>E. coli</i>	02	00	00	00	02	00	3500
<i>S. aureus</i> e <i>Streptococcus spp.</i>	03	00	00	01	01	01	2373
<i>C. bovis</i> e <i>Streptococcus spp.</i>	02	00	00	00	02	00	1480
<i>E. coli</i> e <i>Streptococcus spp.</i>	01	00	00	00	01	00	1760
<i>S. aureus</i> e ECN	01	00	00	00	00	01	10800
<i>A. pyogenes</i> e ECN	01	00	00	01	00	00	880
<i>E. coli</i> e ECN	01	01	00	00	00	00	40
<i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i>	01	00	00	00	01	00	1680

- A - Contagem de células somáticas entre 0 e 250 mil / ml
 B - Contagem de células somáticas entre 250 e 500 mil / ml
 C - Contagem de células somáticas entre 500 mil e 1 milhão / ml
 D - Contagem de células somáticas entre 1 e 5 milhões / ml
 E - Contagem de células somáticas acima de 5 milhões
 * - ECN - Estafilococos coagulase negativos

Tabela 4. Identificação de 40 amostras de estafilococos coagulase negativos isolados de Mastite Subclínica Bovina no norte do Paraná.

Espécies	Nº de amostras	%
<i>S. hyicus</i>	10	25.00
<i>S. chromogenes</i>	06	15.00
<i>S. epidermidis</i>	06	15.00
<i>S. simulans</i>	02	5.00
<i>S. warneri</i>	02	5.00
<i>S. xylosus</i>	01	2.50
<i>S. cohnii</i>	01	2.50
<i>S. hominis</i>	01	2.50
<i>S. warneri</i> / <i>S. haemolyticus</i> *	05	12.50
Não identificadas	06	15.00
TOTAL	40	100.00

* Amostras não diferenciadas conclusivamente

Tabela 5. Resistência de 33 amostras de estafilococos coagulase negativos frente a drogas antimicrobianas pelo método de difusão em placas

Antimicrobianos	Concentrações	A M O S T R A S					
		Resistentes		Intermediárias		Sensíveis	
		nº	%	nº	%	nº	%
Lincomicina	30 µg	10	30,30	-	-	23	69,69
Tetraciclina	30 µg	9	27,27	1	3,03	23	69,69
Penicilina	10 U	6	18,18	8	24,24	19	57,57
Novobiocina	0.5 µg	6	18,18	2	6,06	25	75,75
Ampicilina	10 µg	5	15,15	15	45,45	13	39,39
Eritromicina	15 µg	5	15,15	-	-	28	84,84
Estreptomicina	10 µg	2	6,06	-	-	31	93,93
Cloranfenicol	30 µg	1	3,03	2	6,06	30	90,90
Gentamicina	10 µg	1	3,03	1	3,03	31	93,93
Oxacilina	0.5 µg	-	-	-	-	33	100,00
Cefalotina	30 µg	-	-	-	-	33	100,00

ABSTRACT: California Mastitis Test (CMT) was performed in five hundred and three Holstein cows from the north region of Paraná. One hundred and fifty of these cows (29,82%) and 295 quarters in the CMT were positives. In 223 milk samples was observed bacterial growth (213 pure cultures and 10 associated cultures). The most commonly agents isolated in pure growth were, staphylococci (30,51%), whereas *S. aureus* (17,97%) and coagulase negative staphylococci (12,54%), streptococci (21,69%) and *C. bovis* (18,98%). Colonie's counter was performed in 193 milk samples. Of these samples, 9 had less than 3×10^2 CFU/ml, 22 had between 3×10^2 to 10^3 CFU/ml, 17 had between 10^3 to 3×10^3 CFU/ml and 145 had more 3×10^3 CFU/ml. The mean somatic cell count for the main agents isolated were $2,9 \times 10^6$ /ml for streptococci, $2,5 \times 10^6$ /ml for *S. aureus*, $1,2 \times 10^6$ /ml for CNS. The most commonly species of CNS were *S. hyicus* (25,00%), *S. chromogenes* (15,00%), *S. epidermidis* (15,00%), *S. simulans* (5,00%) and *S. warneri* (5,00%). Thirty comma thirty percent of 33 isolated, were resistant to lincomycin, 27,27% to tetracycline, 18,18% to penicillin and novobiocin, 15,15% to ampicillin and erytromycin.

KEY-WORDS: Bovine; mastitis; aetiology; somatic cells.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHL, A.S.; GIBSON, C.D.; KIRK, J.H. Cost of mastitis and its prevention in four dairy herds on St. Croix, US Virgin Islands. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.194, n.10, p.1418-1421, 1989.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.G. Antibiotic susceptibility testing by standardized sigle disc method. *Am. J. Clin. Pathol.*, v.45, p.493-496, 1966.
- BELOTI, V.; ALFIERI, A.A.; ROCHA, I.C.; MÜLLER, E.E.; FREITAS, J.C. Resistance and plasmid profil of coagulase negative staphylococci isolated from bovine subclinical mastitis in Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.47, n.4, p.487-497, 1995.
- BIRGEL, E.H.; BENESI, F.J. *Patologia Clínica Veterinária*. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária. 1983. 260p.
- BLOBEL, H.; SCHLISSER, T. *Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren.*, Veb Gustav Fischer Verlag, Jena, 1980. 756p.
- BRANT, M.C.; FIGUEIREDO, J.B. Prevalência de mastite subclínica e perdas de produção em vacas leiteiras, *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.46, n.6, p.595-606. 1994.
- CARTER, G.R. *Fundamentos de Bacteriologia e Micologia Veterinária*. São Paulo. Roca. 1988. 250p.
- COBB, R.W.; WALLEY, J.K. *Corynebacterium bovis* as probable cause of bovine mastitis. *Vet. Rec.*, v.74, p.101-102, 1962.
- COSTA, E.O.; CARVALHO, V.M.; COUTINHO, S.D.; CASTILHO, W.; CARAMORI, L.F.L. *Corynebacterium bovis* e sua importância na etiologia da mastite bovina no estado de São Paulo. *Pesq. Vet. Bras.*, v.5, n.4, p.117-120, 1985.
- DEVRIESE, L.A.; HAJEK, V.; OEDING, P.; MEYER, S.A; SCHLEIFER, K.H. *Staphylococcus hyicus* (Sompolinsky 1953) comb. nov. and *Staphylococcus hyicus* subsp. *chromogenes* subsp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, v.28, p.482-490, 1978.
- DEVRIESE, L.A.; SCHLEIFER, K.H.; ADEGORE, G.O. Identification of coagulase negative *staphylococci* from farm animals. *J. Appl. Bacteriol.*, v.58, p.45-55, 1985.
- EDWARDS, P.R. *Identification of Enterobacteriaceae*. 4ed. New York, Elsevier Scientific Publishing Co., 1986.
- ERSKINE, R.J.; EBERHART, R.J.; HUTCHINSON, L.J.; SPENCER, S.B. Herd management and prevalence of mastitis in dairy herds with hight and low somatic cell counts. *JAVMA.*, v.190, n.11, p.1411-1416, 1987.
- FAGLIARI, J.J.; LUCAS, A.; FERREIRA NETO, J.M. Sensibilidade a drogas antimicrobianas de bactérias isoladas de vacas com mastite. *Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.*, v.35, n.4, p.471-478, 1983.
- GARCIA, M.L.; MORENO, B.; BERGDOLL, M.S. Characterization of *Staphylococcus* isolated from mastitis cows in Spain. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.29, n.3, p.548-553, 1980.
- GONZALEZ, R.N.; JASPER, D.E.; FARVER, T.B.; BUSHNELL, R.B.; FRANTI, C.E. Prevalence of udder infections and mastitis in 50 California dairy herds. *JAVMA.*, v.193, n.3, p.323-328, 1988.
- HARROP, M.H.V.; PEREIRA, L.J.V.; BRITO, J.R.F.; MELO, A.M.B. Incidência de mastite bovina na bacia leiteira na zona do Agreste Meridional de Pernambuco. *Pesq. Agrop. Bras.*, v.10, p.65-67, 1975.
- HODGES, R.T.; JONES, Y.S.; HOLLAND, J.T.S. Characterization on staphylococci associated with clinical and subclinical bovine mastitis. *N. Z. Vet. J.*, v.32, p.141-145, 1984.

- HUESTON, W.D.; HEIDER, L.E. The use of high somatic cell count prevalence in epidemiologic investigations of mastitis control practices. *Prev. Vet. Med.*, v.4, p.447-461, 1987.
- LANARA. *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes*; I. Métodos Microbiológicos. Brasília: Laboratório Nacional de Referência Animal, 1981.
- LANGENEGGER, J.; COELHO, N.M.; LANGENEGGER, C.H.; CASTRO, R.P. Estudo de mastite bovina na bacia leiteira do Rio de Janeiro. *Pesq. Agrop. Bras.*, v.8, p.49-52, 1970.
- LANGENEGGER, J.; VIANI, M.C.E.; BAHIA, M.G. Efeito do agente etiológico da mastite subclínica sobre a produção de leite. *Pesq. Vet. Bras.*, v.1, n.2, p.47-52, 1981.
- LANGLOIS, R.; HARMON, J.P.; AKERS, K. Biochemical identification of *Staphylococcus* species of bovine origin. *J. Dairy Sci.*, v.67, n.1, p. 177-180, 1984.
- LANGONI, H.; CORREA, C.N.M.; CORREA, W.M.; CARREIRA, E.L.C. Etiologia e tratamento das mastites bovinas com auxílio do dimetilsulfóxido. *Pesq. Vet. Bras.*, v.4, n.1, p.1-4, 1984.
- LANGONI, H.; DOMINGUES, P.F.; PINTO, M.P.; LISTONI, F.J.P. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.43, n.6, p.507-510, 1991.
- LILIUS, E.; PESONEN, U. Use of inflammatory cell activities in bovine milk to diagnose mastitis. *Am. J. Vet. Res.*, v.51, n.10, p.1527-1533, 1990.
- MCDONALD, J.S.; ANDERSON, A.J. Total and differential somatic cell counts in secretions from noninfected bovine mammary glands: the early nonlactating period. *Am. J. Vet. Res.*, v.42, n.8, p.1360-1370, 1981.
- MILLER, G.Y.; DORN, C.R. An economic summary of the National Animal Health Monitoring System data in Ohio. *91 st Annu Meet Vs Anim. Health Assoc.*, p.154-172, 1987.
- MILLER, G.Y.; EASTRIDGE, M.L.; HUESTON, W.D.; HOBLET, K.H. Use of dairy herd improvement somatic cell information by Ohio dairy producers and their perceptions of mastitis. *J. Dairy Sci.*, v.71, p.2284-2291, 1988.
- MONSALLIER, G. Mamites de meio ambiente: epidemiologia, fisiologia e papel terapêutico do banamine. *A Hora Veterinária*, v.11, n.64, p.33-38, 1991.
- MÜLLER, E.E.; HUMMING, O.N.; SOUZA, J.M.; MARQUES, F.A.C.; MACUCO, A.L.; GIACOMETTI, W.D. Estudo da prevalência de mastite bovina. *Semina*, v.1, p.47-48, 1978.
- NADER FILHO, A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; ROSSI Jr., O.D. Mastite subclínica em rebanhos produtores de leite tipo B. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.35, n.5, p.621-630, 1983.
- NADER FILHO, A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; ROSSI Jr., O.D. Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Ribeirão Preto, São Paulo. *Pesq. Vet. Bras.*, v.5, n.2, p.53-56, 1985.
- PHILPOT, W.N. Economics of mastitis control in *The Veterinary Clinics of North America*. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1984. v.6.
- RAINARD, P.; POUTREL, B.P. Dynamics on nonclinical bovine intramammary infections with major and minor pathogens. *Am. J. Res.*, v.43, n.12, p.2144-2146, 1982.
- SEYKORA, A.J.; McDANIEL, B.T. Udder and teat morphology related to mastitis resistance; a review. *J. Dairy Sci.*, v.68, p.2087-2093, 1985.
- SCHALM, O.W.; NOORLANDER, D.O. Experience and observation leading to development of the California Mastitis Test. *J. Am. Vet. Assoc.*, v.130, p.199-204, 1957.
- SCHMIDT, M.P. Fluro-opto-eletronic cell-counting on milk. *J. Dairy Res.*, v.42, p.227-239, 1975.
- TORGERSON, P.R.; GIBBS, H.A.; ANDERSON, D.B. High incidence of clinical mastitis due to *Staphylococcus aureus* in dairy herds with low milk cell counts. *Vet. Rec.*, v.130, p.54-55, 1992.
- TIMMS, L.L.; SHULTZ, L.H. Mastitis therapy for cows with elevated somatic cells counts on clinical mastitis. *J. Dairy Sci.*, v.67, p.367-371, 1984.
- THOMPSON, D.R.; POSTLE, D.S. The Wisconsin Mastitis Test, an indirect estimation of leucocytes in milk. *J. Milk and Food Technol.*, v.27, p.271-275, 1964.
- WATTS, J.L.; OWENS, W.E. Synergistic hemolysis associated with coagulase negative staphylococci isolated from bovine mammary glands. *J. Clin. Microbiol.*, v.25, n.11, p.2037-2039, 1987.