ETIOLOGIA E SENSIBILIDADE BACTERIANA DA MASTITE SUBCLÍNICA EM OVELHAS DA RAÇA SANTA INÊS

(ETIOLOGY AND BACTERIAL SENSIBILITY OF SUBCLINICAL MASTITIS
IN EWES OF SANTA INÊS BREED)

(ETIOLOGÍA Y SENSIBILIDAD BACTERIANA DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA
EN OVEJAS DE LA RAZA SANTA INES)

P. F. DOMINGUES¹, S. B. LUCHEIS¹, L. S. SERRÃO⁴, S. FERNANDES²,
A. P. A. CONTENTE³, E. C. V. MARTINS³, H. LANGONI¹

RESUMO

Examinaram-se 242 amostras de leite de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica, diagnosticada pelo teste *California Mastitis Test* (CMT), escore 1+, 2+ e 3+. Realizaram-se cultivos microbiológicos em meios de ágar-sangue ovino 5% e MacConkey, sendo que os microrganismos isolados foram identificados por esfregaços corados pelo método de Gram e provas taxonômicas. Em seguida, submetidos ao teste de sensibilidade bacteriana *in vitro*. Isolou-se um total de 94 microrganismos em cultura pura e em associação, distribuídos da seguinte maneira: *Staphylococcus sp* (n=50; 53,1%), *Streptococcus sp* (n=18; 19,1%), *Corynebacterium sp* (n=11; 11,7%), *Staphylococcus aureus* (n=9; 9,6%), *Proteus sp* (n=3; 3,2%), *Micrococcus sp* (n=1; 1,1%), *Acinetobacter calcoaceticus* (n=1; 1,1%) e *Bacillus sp* (n=1; 1,1%). No teste de sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos observou-se que *Staphylococcus sp*, *Corynebacterium sp* e *Streptococcus sp* foram os microrganismos isolados com maior frequência, sendo o florfenicol, a gentamicina e a cefalexina as drogas de melhor eficácia.

PALAVRAS-CHAVE: Ovelha. Mastite. Microrganismos. Antibióticos.

SUMMARY

Milk samples from 242 Santa Inês breed ewes tested for subclinical mastitis using California Mastitis Test (CMT) score 1+, 2+ and 3+ were cultured. The bacteriological tests were run in 5% sheep blood agar and MacConkey agar and the microorganism observed were identified using the gram method and taxonomy proves. Then the microorganisms were submitted to *in vitro* antibacterial susceptibility test. A total of 94 microorganisms were isolate in pure and in association culture distributed as followed: *Staphylococcus sp* (n=50; 53,1%), *Streptococcus sp* (n=18; 19,1%), *Corynebacterium sp* (n=11; 11,7%), *Staphylococcus aureus* (n=9; 9,6%), *Proteus sp* (n=3; 3,2%), *Micrococcus sp* (n=1; 1,1%), *Acinetobacter calcoaceticus* (n=1; 1,1%) and *Bacillus sp* (n=1; 1,1%). The antibacterial susceptibility test showed among the agents isolated in highest frequency that florfenicol, gentamicin and cefalexin were the drugs of better effectiveness.

KEY-WORDS: Ewe. Mastitis. Microorganisms. Antibiotics.

¹ Professor do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ, Unesp, Campus de Botucatu, Cep: 18618-000, Botucatu, SP. End. Eletrônico: domingues@fmvz.unesp.br

² Professora do Departamento de Produção e Exploração Animal, FMVZ, Unesp, Campus de Botucatu.

³ Aluna de Pós-Graduação, FMVZ, Unesp, Campus de Botucatu.

⁴ Aluna de Graduação do Curso de Zootecnia, Monitoria, Higiene Zootécnica, FMVZ, Unesp, Campus de Botucatu.

RESUMEN

Fueron examinadas 242 muestras de leche de ovejas de la raza Santa Inés en las cuales se diagnosticó mastitis subclínica por medio del *California Mastitis Test* (CMT). En el teste se obtuvieron escores 1+, 2+ e 3+. Fueron realizados cultivos microbiológicos en medios agar sangre ovino al 5% y MacConkey. Los microorganismos aislados fueron identificados por medio de extendidos colorados por el método de Gram y por pruebas taxonómicas. En seguida se utilizó el teste de sensibilidad bacteriana *in Vitro*. Fue aislado un total de 94 microorganismos, en cultivos puros y en asociación, distribuidos de la siguiente forma: *Staphylococcus sp* (n=50; 53,1%), *Streptococcus sp* (n=18; 19,1%), *Corynebacterium sp* (n=11; 11,7%), *Staphylococcus aureus* (n=9; 9,6%), *Proteus sp* (n=3; 3,2%), *Micrococcus sp* (n= 1; 1,1%), *Acinetobacter calcoaceticus* (n=1; 1,1%) y *Bacillus sp* (n=1; 1,1%). En el teste de sensibilidad *in vitro* a los antimicrobianos, se observó que *Staphylococcus sp*, *Corynebacterium sp* y *Streptococcus sp* fueron los microorganismos aislados con mayor frecuencia. El florfenicol, la gentamicina y la cefalexina fueron las drogas de mejor eficacia.

Palabras-clave: Oveja. Mastitis. Microorganismos. Antibióticos.

INTRODUÇÃO

A mastite, inflamação da glândula mamária, provoca alterações físicas, químicas, bacteriológicas do leite, e alterações patológicas do tecido glandular. Esta afecção constitui um dos maiores entraves à exploração leiteira, não só pelas perdas econômicas provocadas pela redução da produção, mas também pelas alterações dos principais componentes do leite e pela diminuição da vida produtiva das ovelhas, conseqüente ao comprometimento do parênquima mamário afetado. A mastite clínica pode ser diagnosticada através de um exame visual da glândula mamária e do leite, a qual dependendo do estágio clínico o tratamento deve ser aplicado (MAVROGENIS et al., 1995). Por outro lado, para o diagnóstico da mastite subclínica outros métodos como, *California Mastitis Test*-CMT (MAISI, 1990), contagem de células somáticas (CCS) e a presença de patógenos no leite (GREEN, 1984), a determinação da NAG-ase e da albumina do soro, são sugeridos.

Segundo os autores (GROSS et al., 1978, FTHENAKIS e JONES, 1990; MAVROGENIS et al., 1995, DARIO et al., 1996 e PERIS et al., 1996) a mastite subclínica resulta na diminuição da produção de leite e conseqüentemente no retardo do crescimento e aumento da taxa de mortalidade de cordeiros lactentes.

Hoje, dentre as raças utilizadas nos sistemas brasileiros de produção de carne ovina, destaca-se a Santa Inés como de elevada aptidão leiteira. Tem sido relatado pelos técnicos e criadores, a elevada incidência de mastite em ovelhas da raça Santa Inés, nos mais variados sistemas de produção, mesmo mantidas em pastagem. O estudo das prováveis causas é fundamental para a minimização dos prejuízos ocorridos com a perda de animais e diminuição da produção de leite, que afeta o crescimento dos cordeiros, interferindo na eficiência de produção de carne (FERNANDES, 2005).

A ovinocultura vem apresentando um acentuado crescimento nos últimos anos no estado de São Paulo,

este fato se deve ao aumento no efetivo dos rebanhos, e também, pelo aumento no número de propriedades envolvidas nessa atividade. Verifica-se ainda expressivo aumento na demanda de carne ovina, resultando em elevado valor de comercialização.

Tendo em vista a importância da infecção intramamária, e considerando, ainda, que no Brasil há um número limitado de estudos sobre a ocorrência de mastites em ovelhas, realizou-se este trabalho para determinar a ocorrência da mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inés, a presença e distribuição dos microrganismos patógenos encontrados nas amostras de leite, bem como a sensibilidade *in vitro* desses microrganismos frente aos antibióticos.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de julho a outubro de 2004 foram colhidas 242 amostras de leite proveniente de 29 ovelhas multíparas da raça Santa Inés, todas com o mesmo número de partos, mantidas na Fazenda Experimental Edgárdia, área de Produção de Ovinos, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp - Campus de Botucatu.

As ovelhas foram confinadas em baias coletivas de 6,60 m² com cama de bagaço de cana, a partir do 5^o mês de gestação até a desmama.

A mastite subclínica foi diagnosticada mediante o uso do *California Mastitis Test* (CMT), segundo Schalm e Noorlander (1957), considerando-se as amostras de leite positivas com escore 1+, 2+ e 3+. O CMT foi realizado a cada 15 dias, durante o período de quatro meses.

Para a colheita das amostras de leite, os tetos foram lavados previamente com água e secados com toalha de papel descartável. A seguir, fez-se anti-sepsia do óstio do teto com álcool iodado e as amostras colhidas em frascos de vidro esterilizados e encaminhadas ao laboratório do Núcleo de Pesquisa em Mastites - NUPEMAS, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Unesp,

Campus de Botucatu, sob refrigeração, em caixa isotérmica contendo gelo reciclável.

No laboratório, realizaram-se cultivos microbiológicos com 0,1 mL de leite em placas de Petri contendo meios de ágar-sangue ovino a 5% e MacConkey, incubando-se a 37°C. As leituras das placas foram realizadas às 24, 48 e 72 horas, observando-se a morfologia das unidades formadoras de colônias (ufc) e, a seguir, preparadas lâminas com esfregaços corados pelo método de Gram, para verificar-se ao microscópio, a morfologia bacteriana e sua característica tintorial. Os microrganismos foram transferidos para meio de caldo cérebro-coração (BHI) para realização das provas taxonômicas, segundo Carter e Cole Junior (1990) e Quinn et al. (1994). Os testes de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* foram realizados de acordo com Bauer et al. (1966), em placas contendo Ágar de Mueller-Hinton.

RESULTADOS

Das 242 amostras de leite analisadas pelo teste do CMT, 154 (63,7%) amostras foram consideradas negativas e 88 (36,3%) positivas, com a seguinte distribuição de resultados: escore 1+ (n=19; 21,6%), escore 2+ (n=30, 34,1%) e escore 3+ (n=39; 44,3%).

Os microrganismos isolados em cultura pura e em associação podem ser observados na Tabela 1 e 2, respectivamente.

Na Tabela 3, observa-se o total de microrganismos isolados.

Para os resultados do teste de sensibilidade bacteriana *in vitro* frente aos antibióticos, observou-se que para os microrganismos mais frequentes, como o

Staphylococcus sp, *Corynebacterium sp* e *Streptococcus sp*, as drogas de melhor eficácia foram o florfenicol, a gentamicina e a cefalexina, como pode ser verificado na Tabela 4.

DISCUSSÃO

O CMT estima a contagem de células somáticas (CCS) do leite e pode ser feito ao pé da ovelha para detectar a mastite subclínica. Os valores (escore) do CMT estão relacionados com o número de células somáticas no leite. A contagem total das células no leite é refletida pela viscosidade ou gelificação que ocorre entre o reagente do CMT, que é um detergente tensoativo aniônico neutro, e a amostra de leite.

Batavani et al. (2003) definem mastite subclínica como sendo uma inflamação na qual não se observam alterações visíveis na glândula mamária e o leite possui aparência normal, porém, com exames CMT e bacteriológicos positivos. Assim, no presente estudo, observou-se maior prevalência na taxa de resultados de CMT positivos em relação ao exame microbiológico (36,3% comparado com 32,0%). Batavani et al. (2003), mostram que a incidência de mastite subclínica, considerando o resultado do CMT, também foi maior em relação ao microbiológico (71% comparado com 51%).

Analisando amostras de leite de ovelhas, Gross et al. (1978) e Kirk et al. (1980) observaram consideravelmente baixa a incidência de mastite subclínica, com valores de 10% e 13%, respectivamente.

Algumas pesquisas relatam que o CMT usado no campo para detectar infecções intramamárias (*intramammary infection-IMI*) em ovelhas é menos seguro

Tabela 1 - Número de microrganismos isolados em cultura pura de 88 amostras de leite positivas ao teste do CMT (escores 1+, 2+ e 3+), provenientes de ovelhas da raça Santa Inês, Botucatu-SP, 2005.

Microrganismos	Número	%
<i>Staphylococcus sp</i> *	36	67,9
<i>Streptococcus sp</i>	7	13,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	9,4
<i>Corynebacterium sp</i>	3	5,7
<i>Proteus sp</i>	2	3,8
Total	53	100,0

* *Staphylococcus* coagulase-negativo

Tabela 2 - Número de microrganismos isolados em associação de cultura microbiológica de amostras de leite de ovelhas da raça Santa Inês, Botucatu-SP, 2005.

Microrganismos	Número	%
<i>Staphylococcus</i> sp + <i>Streptococcus</i> sp	7	33,4
<i>Staphylococcus</i> sp + <i>Corynebacterium</i> sp	6	28,6
<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Streptococcus</i> sp	2	9,6
<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Staphylococcus</i> sp	1	4,7
<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Corynebacterium</i> sp	1	4,7
<i>Staphylococcus</i> sp + <i>Micrococcus</i> sp	1	4,7
<i>Proteus</i> sp + <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1	4,7
<i>Streptococcus</i> sp + <i>Corynebacterium</i> sp	1	4,7
<i>Streptococcus</i> sp + <i>Bacillus</i> sp	1	4,7
Total	21	100,0

Tabela 3 - Número total de microrganismos isolados em cultura pura e em associação de amostras de leite provenientes de ovelhas da raça Santa Inês, Botucatu-SP, 2005.

Microrganismos	Número	%
<i>Staphylococcus</i> sp	50	53,1
<i>Streptococcus</i> sp	18	19,1
<i>Corynebacterium</i> sp	11	11,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	9,6
<i>Proteus</i> sp	3	3,2
<i>Micrococcus</i> sp	1	1,1
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1	1,1
<i>Bacillus</i> sp	1	1,1
Total	94	100,0

Tabela 4 - Resultado do teste de sensibilidade *in vitro* para os microrganismos com maior número de isolamentos de amostras de leite provenientes de ovelhas da raça Santa Inês, Botucatu-SP, 2005.

Antimicrobiano	<i>Staphylococcus sp</i> (n=59)*	<i>Corynebacterium</i> (n=11)	<i>Streptococcus</i> (n=18)
Tetraciclina	63,4%	20,8%	29,4%
Enrofloxacina	70,5%	31,2%	29,4%
Florfenicol	87,5%	41,6%	50,0%
Gentamicina	81,2%	41,6%	38,2%
Cefalexina	79,5%	37,5%	52,9%
Penicilina G	23,2%	25,0%	32,3%
Amoxicilina	20,5%	16,6%	29,4%
Oxacilina	58,0%	31,2%	47,5%

* *Staphylococcus* coagulase-negativo (n=50) + *S. aureus* (n=9)

e demonstram que a capacidade do CMT em prever as IMI em ovinos depende da prevalência e dos agentes presentes no rebanho (HUESTON et al., 1986b, KEISLER et al., 1992). Quanto à utilização, o CMT é considerado um teste subjetivo para ovinos. Razão pela qual a padronização do teste é feita para o leite de bovino sendo mais acurado nesta espécie (GREEN, 1984 e MAISI et al., 1987). Sabe-se que para cabras a exatidão do teste também é duvidosa devido à presença de células epiteliais que, juntamente com os leucócitos, reagem ao teste causando uma interpretação diferente da usada para bovinos (BARCELLOS et al. 1987). Da Silva et al. (1996) citam que os resultados de CMT 2+ e 3+ podem ser considerados como indicativos de infecção caprina, entretanto, para uma maior segurança, o teste bacteriológico deve ser utilizado, como o procedimento realizado na presente pesquisa.

Observou-se, neste estudo, que das 88 amostras positivas ao teste CMT, 14 (16,0%) apresentaram resultados negativos no cultivo microbiológico. De acordo com Philpot e Nickerson (2002), aproximadamente 10% das amostras dos casos clínicos, ou de glândula mamária com contagem de células somáticas (CCS) alta, apresentam uma cultura negativa.

Na Tabela 1 pode ser observado que os microrganismos isolados em cultura pura foram: *Staphylococcus sp* (n=36; 67,9%), *Streptococcus sp* (n=7; 13,2%), *Staphylococcus aureus* (n=5; 9,4%), *Corynebacterium sp* (n=3; 5,7%) e *Proteus sp* (n=2; 3,8).

Quanto ao patógeno isolado com maior frequência nas amostras de leite foi o *Staphylococcus* coagulase-

negativo (n=36; 67,9%). Batavani et al. (2003), estudando 209 amostras de leite descreveram que a presença do *Staphylococcus* coagulase-negativo em suas culturas também prevaleceu, sendo a taxa de 41%. Este microrganismo tem sido considerado o maior causador de infecções subclínicas intramamárias, de acordo com as pesquisas realizadas por Hueston et al., (1986a), Fthenakis e Jones, (1990); Keisler et al., (1992), Fthenakis, (1994); Stefanakis et al., (1995) e Burriel, (1997). No entanto, este microrganismo tem sido considerado como não patogênico ou menos patogênico para a glândula mamária dos pequenos ruminantes.

Keisler et al. (1992) verificaram uma incidência de mastite subclínica em ovelhas variando de 17 a 50%, com isolamentos mais frequentes de *Staphylococcus sp* (14/41), *Streptococcus sp* (3/41) e *Micrococcus sp* (1/41). Resultado semelhante ao presente estudo, que também predominou o isolamento de *Staphylococcus sp*. Por outro lado, Albenzio et al. (2002) verificaram em seus isolamentos microbiológicos que a *Escherichia coli* foi o microrganismo mais frequente, principalmente no estágio final da lactação, e ainda, observaram baixa prevalência de mastite subclínica, bem como baixa frequência de microrganismos contagiosos, provavelmente devido ao sistema intensivo de criação e aos cuidados higiênicos aplicados durante a ordenha.

Na Tabela 2 verifica-se que as associações de microrganismos nas amostras de leite analisadas mais frequentes foram entre *Staphylococcus sp* + *Streptococcus* (n=7; 33,4%) e *Staphylococcus sp* +

Corynebacterium sp (n=6; 28,6%). Demonstrando a importância do estudo microbiológico das amostras de leite de um rebanho, pois existe a possibilidade de infecção mista e, muitas relacionadas com o insucesso nos tratamentos, principalmente nas mastites clínicas. Observa-se que predominou o isolamento de microrganismos considerados contagiosos, como pode ser verificado na Tabela 3, com as seguintes porcentagens: *Staphylococcus* sp (53,1%), *Streptococcus* sp (19,1%), *Corynebacterium* (11,7%) e *Staphylococcus aureus* (9,6). Da mesma forma, em pesquisa realizada por Ribeiro et al. (1999), na região de Botucatu/SP, observaram também a prevalência maior de microrganismos contagiosos, sendo *Staphylococcus* sp (12,9%), *Staphylococcus aureus* (3,27%) e *Corynebacterium* sp (2,65%), entretanto, porcentagens menores do que as observadas no presente estudo.

Na Grécia, Fthenakis (1998) estudando a sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de *Staphylococcus* sp isolados de amostras de leite de vacas e, também, de ovelhas com mastite clínica e subclínica, verificou que 172 (100%) foram sensíveis a cefoperazona, cefuroxima, cloxacilina, enrofloxacina e metilicina. Enquanto que para a gentamicina observou-se 102 (59%) de sensibilidade, resultado inferior ao deste estudo, que foi de 81,2%.

No estudo da sensibilidade bacteriana *in vitro* frente aos antimicrobianos, verificou-se que para *Staphylococcus* sp, *Corynebacterium* sp e *Streptococcus* sp, agentes isolados com maior frequência, o florfenicol, a gentamicina e a cefalexina foram as drogas de melhor eficácia. Considerando o *Staphylococcus* sp que foi o microrganismo mais frequente, as drogas de melhor eficácia foram o florfenicol (87,5%), gentamicina (81,2%), cefalexina (79,5%) e enrofloxacina (70,5%). Resultado similar ao observado por Ribeiro et al. (1999), no que diz respeito à gentamicina.

Há poucos relatos no Brasil de estudos de sensibilidade antimicrobiana *in vitro* a partir de isolamentos de microrganismos em amostras de leite de ovelhas com mastite.

CONCLUSÕES

Conclui-se neste estudo que os microrganismos mais frequentes em amostras de leite de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica foram o *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp, *Corynebacterium* sp e *Staphylococcus aureus*. As drogas antimicrobianas testadas que demonstraram melhor eficácia foram: florfenicol, gentamicina e cefalexina.

ARTIGO RECEBIDO: Abril/2005
APROVADO: Maio/2006

REFERÊNCIAS

ALBENZIO, M., TAIBI, L., MUSCIO, A., SEVI, A. Prevalence and etiology of subclinical mastitis in intensively managed flock and related changes in the yield and quality of ewe milk. **Small Ruminant Research**, v.43, p.219-226, 2002.

BARCELLOS, T. F. S., SILVA, N., MARQUES JÚNIOR, A. P. Mastite caprina em rebanhos próximos à Belo Horizonte – Minas Gerais. I – Etiologia e sensibilidade a antibióticos. II – Métodos de diagnóstico. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.39, p.307-15, 1987.

BATAVANI, R. A., MORTAZ, E., FALAHIAN, K., DAWOODI, M. A. Study on frequency, etiology and some enzymatic actives of subclinical ovine mastitis in Urmia, Iran. **Small Ruminant Research**, v.50, p.45-50, 2003.

BAUER, A.W., KIRBY, W.M., SHERRIS, J.C., TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal Clinical Pathology**, v.45, p.493-496, 1966.

BURRIEL, A.R. Dynamics of intramammary infection in sheep caused by coagulase negative staphylococci and its influence on udder tissue and milk composition. **Veterinary Record**, v.140, p.419-423, 1997.

CARTER, G.R., COLE JUNIOR, J.R. **Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology**. 5 ed. New York: Academic Press, 1990. 620p.

DARIO, C., LAUDADIO, V., CORSALINI, T., BUFANO, G., BUONAVOGLIA, C. Subclinical mastitis in sheep: occurrence/ etiology and milk production in different genetic types. **Agricultura Mediterrânea**, n.126, p.320-325, 1996.

DA SILVA, E. R., SAUKAS, T. N., ALVES, F. S. F., PINHEIRO, R. R. Contagem de células somáticas e California Mastitis Test no diagnóstico da mastite caprina subclínica. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.18, p.78-83, 1996.

FERNANDES, S. **Efeitos da nutrição e da idade à desmama sobre o desempenho, qualidade do colostro e do leite e incidência de mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês**. Botucatu, SP. 2005. 72p. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

FTHENAKIS, G. G., JONES, J.E.T. The effect of experimentally induce subclinical mastitis on milk yield of ewes and the growth of lambs. **British Veterinary Journal**, v.146, p.43-50, 1990.

- FTHENAKIS, G. G. Prevalence and etiology of subclinical mastitis in ewes of Sourthem Greece. **Small Ruminant Research**, v.13, p.293-300, 1994.
- FTHENAKIS, G. G. Susceptibility to antibiotics of staphylococcal isolates from cases of ovine or bovine mastitis in Greece. **Small Ruminant Research**, v.28, p.9-13, 1998.
- GROSS, S.G., POLLAK, E.J., ANDERSON, J.G., TORELL, D.T. Incidence and importance of subclinical mastitis in sheep. **Journal Animal Science**, v.46, p.293-300, 1978.
- GREEN, T.J. Use of somatic cell counts for detection of subclinical mastitis in ewes. **Veterinary Record** v.114, p.43, 1984.
- HUESTON, W.D., HARTWIG, N.R., JUDY, J.K. Patterns of nonclinical intramammary infection in a ewe flock. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.188, p.170-172, 1986a.
- HUESTON, W.D., HARTWIG, N.R., JUDY, J.K. Detection of intramammary infection with the California Mastitis Test. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.188, p.522-524, 1986b.
- KEISLER, D.H., ANDREW, M.L., MOFFAT, R.J. Subclinical mastitis in ewes and on its effect on lamb performance. **Journal Animal Science**, v.70, p.1677-1681, 1992.
- KIRK, J. H., HUFFMAN, E. M., ANDERSON, B. C. Mastitis and udder abnormalities as related to neonatal lamb mortality in shed- lambed range ewes. **Journal Animal Science**, v.50, p.610, 1980.
- MAISI, P., JUNTILA, J., SEPPANEN, J. Detection of subclinical mastitis in ewes. **British Veterinary Journal**, v.143, p.402-409, 1987.
- MAISI, P. Milk NAGase, CMT and antitrypsin as indicators of caprine subclinical mastitis infections. **Small Ruminant Research**, v.3, p.493-501, 1990.
- MAVROGENIS, A.P., KOUMAS, A., KAKOYIANNIS, C.K., TALLOTIS, C. H. Use of somatic cell counts for the detection of subclinical mastitis in sheep. **Small Ruminant Research**, v.17, p.79-84, 1995.
- PERIS, C., DIAZ, J.R., FERNADEZ, N., RADRIGUEZ, M., RUBINO, R. **Effect of subclinical mastitis on milk yield of Manchega ewes: preliminary results. In: Proceedings of Somatic Cells and milk of small ruminants.** EAAP Publication, Wageningen Pers, Wageningen, p.203-206, 1996.
- PHILPOT, W.N., NICKERSON, S.C. **Vencendo a luta contra a mastite.** São Paulo: Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002. 192p.
- QUINN, P.J., CARTER, M.E., MARKEY, B., CARTER, G. R. **Clinical Veterinary Microbiology.** London: Mosby- year Book Europe Limited. Cap. 36, p 327-344, 1994.
- RIBEIRO, F. C., LANGONI, H., MENDONÇA, L. J. P., ARAUJO, W. N. Aspectos microbiológicos e perfis de sensibilidade de patógenos na mastite ovina. In: III Encontro de Pesquisadores em Mastites, Faculdade de Medicina Veterinária Zootecnia, UNESP, Botucatu/SP, 1999. **Anais...** p.135.
- SCHALM, O.W., NOORLANDER, D.D. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.130, p.199-204, 1957.
- STEFANAKIS, A., BOSCO, C., ALEXOPOULOS, C., SAMARTZI, F. Frequency of subclinical mastitis and observation on somatic cell counts in ewes milk in Northern Greece. **Animal Science**, v.61, p.69-76, 1995.