
ETIOLOGIA E SUSCETIBILIDADE A

ANTIMICROBIANOS DOS AGENTES DA MASTITE

BOVINA ISOLADOS NA REGIÃO DE

PIRASSUNUNGA- SP-BRASIL

Válter Ferreira F. Bueno,¹ Edmar Soares Nicolau,² Albenones José de Mesquita,² Andrea Rentz Ribeiro,³ Jocelina Aparecida B. Silva,³ Elizabeth Oliveira da Costa,⁴ Karyne Oliveira Coelho⁵ e Daine Vargas Couto⁶

RESUMO

No período de setembro a novembro de 2000, 543 amostras de leite cru foram analisadas na Universidade de São Paulo-Pirassununga, com o objetivo de conhecer a etiologia e a suscetibilidade *in vitro* dos agentes da mastite infecciosa bovina, além de estabelecer uma relação entre os agentes identificados e a forma de apresentação da enfermidade. Os microrganismos foram cultivados em ágar sangue de carneiro e identificados por suas características macroscópicas, microscópicas e bioquímicas. Os antibiogramas foram realizados em ágar Mueller Hinton, método de difusão de disco. Os agentes isolados foram: *Corynebacterium* spp, em 51,4% das amostras; *Staphylococcus* spp, em 40,3% (71,9% coagulase positiva); *Streptococcus* spp, em 17,5% (desses, 63,8% eram *Streptococcus agalactiae*); e ainda, *Nocardia* spp, leveduras e gram-negativos (50,0% eram *Escherichia coli*). Foram isoladas 603 cepas, observando-se o predomínio de agentes contagiosos (94,5% sendo 49,0% *Corynebacterium* spp). Entre os ambientais houve predomínio de *Streptococcus uberis* (69,7%). *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *Nocardia* spp e leveduras estavam mais associados à mastite subclínica, enquanto *Corynebacterium* spp ao quadro de animais portadores e gram-negativos à mastite clínica. Entre os agentes avaliados, as cepas de *Corynebacterium* spp apresentaram a maior suscetibilidade.

DESCRITORES: Mastite bovina. Etiologia. Antibiograma.

1 Mestrando em Medicina Veterinária, Escola de Veterinária (EV), Universidade Federal de Goiás (UFG).

2 Prof. Dr. do Centro de Pesquisas em Alimentos (CPA) – EV-UFG.

3 Pesquisador do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira (NAPGAMA), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, SP.

4 Professor Titular do NAPGAMA/FMVZ-USP.

5 Mestrando em Ciência Animal e Pastagens, ESALQ/USP.

6 Acadêmica em Medicina Veterinária, EV-UFG.

Endereço para correspondência: Centro de Pesquisa em Alimentos – Escola de Veterinária da UFG, Campus II, CEP 74001-970, Goiânia-GO. E-mail: vbueno@vet.ufg.br

Recebido para publicação em 15/4/2002. Revisto em 23/1/2003. Aceito em 23/3/2003.

INTRODUÇÃO

O leite destaca-se como um dos alimentos mais nobres utilizados pelo ser humano, em virtude da quantidade, diversidade e qualidade dos nutrientes que possui. Por isso, constitui também excelente meio de crescimento microbiano, o que compromete suas propriedades nutritivas e a de seus derivados, além de oferecer riscos à saúde pública (Cerqueira et al., 1994; Ávila & Gallo, 1996; Camargo et al., 1998). Assim, a produção de leite de boa qualidade torna-se fundamental para assegurar seu potencial nutritivo e resguardar a saúde dos consumidores.

Entre os elementos que afetam a qualidade do leite destacam-se as enfermidades da glândula mamária, como é o caso da mastite infecciosa. Enquadrada entre as principais doenças dos bovinos de leite, a mastite interfere na economia da produção leiteira mundial, principalmente por reduzir a produtividade dos rebanhos infectados (Veiga, citado por Brito & Bressan, 1996). Além disso, afeta significativamente a composição do leite, o rendimento industrial e a qualidade dos produtos lácteos (Brito & Dias, 1998; Schällibaum, 2000; Santos, 2001).

A ocorrência da enfermidade envolve uma série de fatores, e a sua redução, a níveis aceitáveis, pode ser obtida por meio de medidas que, adotadas em conjunto, “constituem um programa de controle de mastite” (Fonseca & Santos, 2000). Assim as análises microbiológicas são complementares e indispensáveis em um programa de controle de mastite, possibilitando o isolamento e a identificação do agente etiológico. Esse processo é fundamental para orientar as medidas de controle a serem adotadas (Veiga, 1998).

Entre essas medidas destaca-se a terapia antimicrobiana; no entanto, sua realização sem conhecimento prévio dos agentes e do seu perfil de suscetibilidade diante dos princípios utilizados poderá resultar em insucesso e maiores prejuízos ao produtor (Costa et al., 1997a), além de oferecer riscos à saúde do consumidor, em decorrência da maior possibilidade de desenvolvimento de espécies bacterianas multirresistentes e da presença de resíduos dos antimicrobianos no leite.

As amostras para análises microbiológicas podem ser provenientes dos quartos com mastite clínica ou com altas contagens de células somáticas (Fonseca & Santos, 2000). Portanto, as amostras de todos os quartos mamários das vacas em lactação permitem definir com exatidão os agentes infecciosos presentes no rebanho (Brito et al., 1999).

Outra vantagem do exame microbiológico consiste na possibilidade de identificar os animais portadores no rebanho. Considera-se portador aquele animal/quarto com resultados negativos nos testes de caneca telada e California Mastitis Test (CMT), mas com resultados positivos nas provas microbiológicas (Costa et al., 1997b). A identificação desses animais torna-se

importante do ponto de vista epidemiológico e para o controle da mastite, uma vez que podem atuar como fontes de contaminação para o ambiente e para outros animais, sendo indicadores principalmente de falhas na higiene de ordenha e/ou no método de secagem das vacas (Ribeiro AR, PUC, Poços de Caldas, 2000, comunicação pessoal).

Considerando o exposto, constituíram objetivos do trabalho: conhecer os agentes etiológicos da mastite infecciosa bovina de rebanhos leiteiros da região de Pirassununga (SP), bem como o seu perfil de suscetibilidade *in vitro* diante de alguns princípios antimicrobianos utilizados para o tratamento de mastite, além de estabelecer uma relação entre os agentes identificados e a forma de apresentação da enfermidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Entre setembro e novembro de 2000, no laboratório do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira (NAPGAMA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-USP, Pirassununga, foram analisadas 516 amostras individuais de leite provenientes de 5 propriedades leiteiras da região de Pirassununga (SP), além de 27 enviadas por produtores e médicos veterinários, perfazendo um total de 543 amostras de leite cru.

Antes da colheita foram realizadas as provas da caneca telada (Fonseca & Santos, 2000) e CMT (Schalm & Noorlander, 1957). As amostras foram assepticamente colhidas em tubos de ensaio esterilizados, acondicionadas em caixas isotérmicas, transportadas sob refrigeração ao laboratório e processadas no mesmo dia, através de sementeira em ágar sangue de carneiro a 5% e incubação aeróbica a 37°C por 24, 48 e 72 horas.

Os casos de mastite foram classificados quanto à apresentação da enfermidade, clínica ou subclínica, e à etiologia, contagiosa ou ambiental (Costa, 2000). Na caracterização do quadro de portador, além da definição de Costa et al. (1997b), estabeleceu-se que o resultado positivo no teste de caneca telada e traços no CMT, aliado ao microbiológico positivo, também identificava o quadro. Isso foi adotado para eliminar a influência da subjetividade que envolve a distinção entre os resultados negativos e os traços no CMT.

Staphylococcus spp, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Corynebacterium* spp foram considerados agentes contagiosos conforme classificação descrita por Smith & Hogan (1998) e adotada por Costa (2000).

Para o isolamento e a identificação das bactérias foram seguidas as recomendações de Lennete et al. (1985) e Cowan (1985). Utilizaram-se as seguintes provas bioquímicas: produção de catalase, plasma coagulase, produção de urease e indol, motilidade em ágar semi-sólido, hidrólise da esculina, fermentação de carboidratos, oxidação-fermentação da glicose em

meio de Hugh e Leifson, produção de H₂S, crescimento em TSI, ágar citrato de Simmons e Camp Test. A identificação das espécies bacterianas foi realizada segundo o Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Krieg & Holt, 1994).

A identificação de leveduras e *Nocardia* spp foi baseada na morfologia macro e microscópica das colônias, nas colorações pelo método de Gram e na avaliação do crescimento em ágar Sabouraud Dextrose. Consideraram-se contaminadas as amostras que proporcionaram crescimento de mais de três unidades formadoras de colônias distantes morfologicamente.

Os antibiogramas foram realizados em ágar Mueller Hinton, método de difusão de disco (Bauer et al., 1966). Para microrganismos fastidiosos acrescentaram-se 5% de sangue desfibrinado de carneiro ao meio-base. A interpretação dos antibiogramas baseou-se na medida do diâmetro do halo de inibição do crescimento, comparada às tabelas de difusão dos antimicrobianos da NCCLS (2000).

Nas amostras de *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp e *Corynebacterium* spp empregaram-se os seguintes inibidores de crescimento: penicilina (PEN – 10 U), oxacilina (OXA – 1 µg), tetraciclina (TET – 30 µg), amoxicilina (AMO – 10 µg), norfloxacin (NOR – 10 µg), cefoperazone (CPZ – 75 µg), tiamulina (TIA), associação de penetamato, estreptomina e frameticina (MAM), ampicilina (AMP – 10 µg), eritromicina (ERI – 15 µg), sulfazotrim (SUT – 25 µg), gentamicina (GEN – 10 µg), cefalexina (CFX – 30 µg), neomicina (NEO – 30 µg), associação de cefalexina e neomicina (CEN – 70 µg).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A frequência dos agentes isolados pode ser observada na Tabela 1. Nota-se a predominância de *Corynebacterium* spp, *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp, os agentes mais frequentes na mastite infecciosa bovina, segundo Langoni et al. (1991), Costa et al. (1995), Tirante et al. (1998), Brito et al. (1999), Costa et al. (2000). Tal ocorrência sugere que medidas de controle da mastite infecciosa podem não estar sendo realizadas, ou são executadas de maneira inadequada, o que compromete a produção e a qualidade do leite, acarretando prejuízos.

A frequência de *Staphylococcus* coagulase positiva obtida (71,9%) está próxima à verificada por Costa et al. (2000), que, ao estudarem a etiologia das mastites em São Paulo, isolaram 5.216 cepas de *Staphylococcus* spp, dentre as quais 65,5% foram coagulase positiva. Nesse mesmo trabalho, os autores isolaram 3.781 cepas de *Streptococcus* spp, sendo 59,8% *S. agalactiae*, valor também próximo do obtido no presente trabalho (63,8%).

Tabela 1. Resultados microbiológicos das análises de 516 amostras de leite colhidas em cinco propriedades leiteiras da região de Pirassununga (SP) e de 27 amostras enviadas ao laboratório. NAPGAMA (2000). Pirassununga (SP)

Agentes isolados	Nº de amostras ¹	% Total de amostras
<i>Corynebacterium</i> spp	279	51,4
<i>Staphylococcus</i> spp ²	219	40,3
<i>Streptococcus</i> spp ³	95	17,5
Leveduras	4	0,7
Gram-negativos	4	0,7
<i>Nocardia</i> spp	2	0,4
Sem crescimento	52	9,6
Contaminação	5	0,9

1. Em algumas amostras foi isolado mais de um agente. 2. 71,9% coagulase positiva. 3. 63,8% *S. agalactiae*; 23,8% *S. uberis*; 12,5% *S. dysgalactiae*.

Corynebacterium spp foi isolado em 51,4% das amostras, numa frequência superior à observada por Costa et al. (1985a) e Mettifogo et al. (1991), 32,5% e 25,8% respectivamente. Esse número assemelha-se, entretanto, ao relatado por Brito et al. (1999), que encontraram 55,2%, em relação ao total de isolamentos.

Costa et al. (2000) também observaram maior frequência de isolamento de *Corynebacterium* spp (36,6%), em 31.463 amostras de leite provenientes das 7 principais bacias leiteiras do Estado de São Paulo. Os autores isolaram o agente em 54,1% das amostras provenientes de 33 propriedades produtoras de leite tipo C.

No presente estudo, observou-se que em 9,6% das amostras não houve crescimento microbiano, mas Brito et al. (1999) obtiveram 39,0%. Tal diferença talvez possa estar relacionada às práticas de higiene empregadas nas propriedades, à metodologia utilizada e às características dos rebanhos analisados.

A Tabela 2 mostra as frequências de microrganismos contagiosos e ambientais, bem como os agentes mais frequentes. Observa-se o predomínio absoluto dos agentes contagiosos (94,5%). Esse achado é corroborado pelos resultados obtidos por Hillerton, citados por Brito & Bressan (1996), Brito & Brito (1998) e Costa et al. (2000). Entre os agentes bacterianos classificados como contagiosos, observou-se a predominância de *Corynebacterium* spp em 49,0% dos isolados. Essa elevada prevalência sugere que talvez seja mais apropriado não considerá-lo um patógeno secundário, assim como Costa et al. (1985a), que ressaltaram sua alta infectividade e patogenicidade, em oposição ao referido por Fonseca e Santos (2000). Essa predominância de *Corynebacterium* spp sugere a existência de falhas na higiene de ordenha – principalmente na realização da imersão dos tetos em solução desinfetante

após a ordenha – e na terapia de vacas secas, uma vez que se consideram esses procedimentos como altamente eficazes no controle dos agentes envolvidos nas mastites contagiosas, principalmente o *Corynebacterium* spp (Honkanen-Buzalski et al., 1984; Ribeiro, 1996; Nickerson, 1998).

Tabela 2. Frequências de ocorrência de microrganismos contagiosos e ambientais isolados de 543 amostras de leite. NAPGAMA (2000). Pirassununga (SP)

Agentes	Nº Cepas	%
Contagiosos (totais)	570	94,5
<i>Corynebacterium</i> spp	279	49,0
<i>Staphylococcus</i> spp	219	38,4
Ambientais (totais)	33	5,5
<i>Streptococcus uberis</i>	23	69,7

A elevada ocorrência de *S. uberis* (69,7%) entre os agentes ambientais foi também relatada por Costa (1998), que incriminou esse microrganismo como um dos principais agentes etiológicos da mastite ambiental.

A Tabela 3 apresenta, associadas à forma de apresentação da enfermidade, isolados nas amostras colhidas em cinco propriedades leiteiras da região de Pirassununga (SP). *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp predominaram em casos de mastite subclínica. Segundo Bramley & Dodd (1984) e Fonseca & Santos (2000), esses agentes são relacionados entre os principais causadores de infecções subclínicas, ocasionando expressivo aumento na contagem de células somáticas, o que representa grave comprometimento da produção e da qualidade do leite, gerando sérios prejuízos ao sistema de produção (Harmon, 1998; Wilson & Gonzalez, 1998; Fonseca & Santos, 2000; Schällibaum, 2000; Santos, 2001).

Observa-se que o *Corynebacterium* spp estava associado principalmente ao quadro mastite subclínica. Brito et al. (1999) isolaram esse microrganismo predominantemente de amostras provenientes de quartos mamários com CMT negativo. Esses achados – aliados à afirmativa de que o agente acarreta pequeno incremento na contagem de células somáticas (Fonseca & Santos, 2000), resultando em reações negativas ou traços no CMT (Dias Filho, 1987), além de o teste ser bastante suscetível a erros devido à subjetividade da interpretação visual das reações classificadas como traço ou uma cruz – associam o agente aos animais que podem ser considerados como portadores. O fato de estar associado aos animais que apresentam o quadro de portador não diminui a importância do agente, pois, além da possibilidade da disseminação entre os animais e do comprometimento da qualidade do leite, o *Corynebacterium* spp é citado como causador de significativa redução na produção de leite (Zafalon et al.,

1999). Esses aspectos, somados à elevada ocorrência, expressam o potencial impacto econômico da infecção por *Corynebacterium* spp e constituem motivo de preocupação, pois o quadro de portador geralmente tem sido desconsiderado por produtores e técnicos da área.

Tabela 3. Frequência dos agentes da mastite infecciosa, isolados de 516 amostras de leite, de acordo com a forma de apresentação da enfermidade. NAPGAMA (2000). Pirassununga (SP)

Agentes	MC %	MSC %	P %	Total de cepas
<i>Corynebacterium</i> spp	3,3	39,8	56,8	271
<i>Staphylococcus</i> sp	3,4	69,2	27,4	208
<i>Streptococcus</i> spp	6,1	74,4	19,5	82
<i>Nocardia</i> spp	0,0	50,0	50,0	2
Leveduras	33,3	66,7	0,0	3
Gram-negativos	100,0	0,0	0,0	1

MC: Mastite clínica; MSC: Mastite subclínica; P: Portador.

O perfil de suscetibilidade *in vitro* das cepas de *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp e *Corynebacterium* spp pode ser visto na Tabela 4. Nas linhas em que o somatório do percentual de resistência e de sensibilidade não atinge 100,0%, constata-se que essas amostras apresentaram halos de inibição que indicaram uma suscetibilidade intermediária e/ou parcial às drogas.

Os resultados relativos às cepas de *Staphylococcus* spp mostram maior resistência às penicilinas e maior suscetibilidade às cefalosporinas. Resultados semelhantes foram descritos por Costa et al. (1985b) e Langoni et al. (1991; no entanto, verificou-se a existência de um padrão de suscetibilidade bastante variável, principalmente em relação às penicilinas, e que pode ser, provavelmente, segundo Sandholm et al.(1990), atribuído à produção de betalactamase e ao uso indiscriminado e inadequado do antibiótico (Andrade, 1997).

As cepas de *Streptococcus* spp apresentaram maior resistência entre os agentes avaliados, com 100,0% para penicilina, ampicilina, tetraciclina e tiamulina. Esse percentual é superior aos encontrados por Costa et al. (1985b), que obtiveram para as penicilinas variações de resistência entre 31,0% e 83,0%. Os antimicrobianos mais efetivos foram a neomicina e a cefalexina.

A expressiva resistência apresentada pelas cepas de *Streptococcus* spp pode ser um reflexo de práticas inadequadas na escolha e/ou no uso indiscriminado desses antimicrobianos. Serve também para alertar sobre a necessidade de rever o conceito de que agentes como *Streptococcus* spp, com destaque para *S. agalactiae*, são altamente suscetíveis à terapia antimicrobiana (Fonseca & Santos, 2000).

Tabela 4. Perfil de suscetibilidade *in vitro* de *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp e *Corynebacterium* spp, isolados de 543 amostras de leite. NAPGAMA (2000). Pirassununga (SP)

PRINCÍPIO	<i>Staphylococcus</i> spp			<i>Streptococcus</i> spp			<i>Corynebacterium</i> spp		
	Nº Cepas	% R	% S	Nº Cepas	% R	% S	Nº Cepas	% R	% S
PEN	216	100,0	0,0	90	100,0	0,0	261	100,0	0,0
AMP	216	100,0	0,0	84	100,0	0,0	261	100,0	0,0
OXA	216	57,4	42,6	84	92,9	6,1	261	100,0	0,0
AMO	216	100,0	0,0	84	92,9	0,0	261	14,6	7,7
TET	216	88,4	9,3	84	100,0	0,0	261	66,7	33,3
ERI	216	15,3	56,1	84	35,7	0,0	261	37,9	25,7
NOR	219	0,0	42,5	90	84,4	0,0	261	0,0	55,9
SUT	216	2,3	30,6	84	48,8	0,0	261	66,7	7,7
TIA	122	99,2	0,8	46	100,0	0,0	41	0,0	100,0
MAM	218	13,3	0,5	47	0,0	36,2	261	0,0	100,0
CPZ	218	0,0	69,7	90	21,1	8,9	261	0,0	100,0
CFX	208	0,0	100,0	79	26,2	56,1	194	0,0	80,4
NEO	217	0,5	99,5	84	32,1	54,8	261	0,0	100,0
GEN	216	56,1	41,7	84	96,4	0,0	261	30,3	69,7
CEN	218	0,0	100,0	84	51,2	9,5	261	0,0	100,0

R: Resistente. S: Sensível.

As cepas de *Corynebacterium* spp manifestaram alta suscetibilidade à maioria dos princípios testados. Costa et al. (1985b) também observaram resultados semelhantes, acima de 75,0%, à maior parte dos antimicrobianos. Essa alta suscetibilidade justifica as afirmações de que o agente é altamente sensível à terapia da vaca seca (Honkanen-Buzalski et al., 1984; Fonseca & Santos, 2000). Por outro lado, os maiores percentuais de resistência apresentados pelas cepas de *Corynebacterium* spp foram observados para o grupo das penicilinas, fato também constatado por Costa et al. (1985b). A apresentação de maior resistência a esse grupo pode ter origem na intensa utilização dessa droga nas propriedades analisadas. Sabe-se que os produtos à base de penicilinas estão entre as drogas mais usadas pelos produtores rurais.

Considerando as variáveis que envolvem a interpretação e utilização dos testes de sensibilidade *in vitro*, Costa et al. (1985b) mencionaram que eles não sofrem interferência de fatores como presença de leite, reação tecidual de fibrose, veículo utilizado no tratamento e mecanismos de defesa do organismo, que poderiam reduzir ou aumentar a eficiência dos antimicrobianos *in vivo*. Somam-se a esses fatores outros como a via de aplicação, a assepsia, a dose, o intervalo e a duração do tratamento. Apesar dessas variáveis, há uma relação direta entre os resultados do tratamento *in vivo* e os testes de suscetibilidade *in vitro* (Costa et al., 1997a; Costa et al., 2001). Assim esses testes tornam-se indispensáveis para a realização correta e eficiente da terapia antimicrobiana, proporcionando maior produção e qualidade do leite, redução dos prejuízos aos produtores e indústrias, e ainda dos riscos à saúde dos consumidores.

CONCLUSÕES

A predominância de bactérias dos gêneros *Corynebacterium* spp, *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp indica a ocorrência de falhas nos procedimentos de controle da mastite contagiosa, nas propriedades analisadas.

O expressivo isolamento de agentes contagiosos através de amostras oriundas de animais com quadro de portador alerta para o risco de esses animais atuarem como fonte de infecção para o rebanho e de comprometerem a produção e qualidade do leite. Adverte ainda sobre a necessidade de realizar cultura microbiológica do leite de todos os animais e não somente daqueles com mastite clínica, CMT positivo ou com alta contagem de células somáticas.

Em virtude da grande variação no padrão de sensibilidade *in vitro* dos agentes avaliados, torna-se necessário realizar antibiogramas, de modo que a terapia antimicrobiana possa ser feita com eficiência técnica e econômica.

ABSTRACT

Etiology and susceptibility *in vitro* of the bovine mastitis agents isolated from cattle in the Region of Pirassununga (SP)-Brazil

During the period from September to November, 2000, 543 raw milk samples were analyzed at the University of São Paulo-Pirassununga-Brazil, with the objective of studying the etiology and susceptibility *in vitro* of the bovine infectious mastitis agents, besides establishing a relation between the identified agents and the clinical manifestation of the disease. The microorganisms were cultivated in sheep blood agar, and identified by its macroscopic, microscopic and biochemical features. The antibiograms were done in Mueller Hinton agar, disk diffusion method. The isolated agents were: *Corynebacterium* spp., in 51.4% of the samples; *Staphylococcus* spp., in 40.3% (71.9% coagulase positive); *Streptococcus* spp., in 17.5% (63.8% *Streptococcus agalactiae*); and, *Nocardia* spp.; leavenings; and Gram-negatives (50.0% *Escherichia coli*). 603 strains were isolated, observing the predominance of contagious agents (94.5%; being 49.0% *Corynebacterium* spp.). Among all the environmental agents there was predominance of *Streptococcus uberis* (69.7%). *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Nocardia* spp. and leavenings were more associated to subclinical mastitis, whereas *Corynebacterium* spp. to carriers condition and Gram-negatives to clinical mastitis. Among the tested agents, the *Corynebacterium* spp strains have shown the highest susceptibility.

KEYWORDS: Bovine mastitis. Etiology. Antibiograms.

1. Andrade MA. *Mastite Bovina Subclínica: prevalência, etiologia e frequência de patógenos isolados das mãos de ordenhadores e teteiras, e testes de sensibilidade a drogas antimicrobianas*. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás. Goiânia. 1997. 113 p.
2. Ávila CR, Gallo CR. Pesquisa de *Salmonella* spp. em leite cru, leite pasteurizado tipo “C” e queijo “minas frescal” comercializados no município de Piracicaba-SP. *Sci agri* 53:159-163, 1996.
3. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Path*.45:493-496, 1966.
4. Bramley J, Dodd FH. Reviews of the progress of dairy science: mastitis control – progress and prospects. *J Dairy Res* 51:481-512, 1984.
5. Brito JRF, Brito MAVP. *Qualidade higiênica do leite*. Juiz de Fora: Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite. 1998. 17p.
6. Brito JRF, Dias JC. *A Qualidade do Leite*. Juiz de Fora: Embrapa/Tortuga. 1998. 98p.
7. Brito MAVP, Brito JRF, Ribeiro MT, Veiga VMO. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. *Arq Bras Med Vet Zoot* 51: 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/>>. Acesso em: 4 de maio 2001.
8. Camargo NJ, Souza IL, Puzyna IP, Pestana A, Nervino CV, Hirooka EY, Oliveira TCRM. Etiologia dos surtos de doenças transmitidas por alimentos ocorridos no Paraná em 1997. In: Congresso Latino-Americano de Microbiologia e Higiene de Alimentos, V., São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.], p. 68, 1998.
9. Cerqueira MMOP, Souza MR, Fonseca LM, Rodrigues R, Rubinch J. Surto epidêmico de toxinfecção alimentar envolvendo queijo tipo minas frescal em Pará de Minas. *Arq Bras Med Vet Zoot* 46:723-728, 1994.
10. Costa EO, Carvalho VM, Coutinho SD, Castilho W, Caramori LFL. *Corynebacterium bovis* e sua importância na etiologia da mastite bovina no estado de São Paulo. *Pesq Vet Bras* 5: 117-120, 1985a.
11. Costa EO, Coutinho SD, Castilho W, Teixeira CM. Sensibilidade a antibióticos e quimioterápicos de bactérias isoladas de mastite bovina. *Pesq Vet Bras* 5:65-69, 1985b.
12. Costa EO, Benites NR., Melville PA, Pardo RB, Ribeiro AR, Watanabe ET. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. *Rev Bras Med Vet* 17:156-158, 1995.
13. Costa EO, Carciofi AC, Prada MS, Tessari JR, Melville PA. Tratamento de mastite bovina: comparação *in vitro* e *in vivo* da sensibilidade a antimicrobianos. *A Hora Vet* 16:27-30, 1997a.
14. Costa EO, Carciofi AC, Melville PA, Prada MS, Pantano T, Ribeiro AR. Influência do manejo de ordenha com a participação do bezerro sobre a ocorrência de mastite. *Rev Bras Med Vet* 19:19-22, 1997b.
15. Costa EO. Importância da mastite na produção leiteira do país. *Revista Educação Continuada*. Conselho Regional de Medicina Veterinária -SP, São Paulo, 1: 3-9, 1998.
16. Costa EO *CD Napgama- Série: Mastite*. São Paulo. Napgama, 2000. 190p. CD ROM.
17. Costa EO, Garino JR, F, Melville PA., Ribeiro AR, Silva JAB, Watanabe ET, Valle CR. Estudo da etiologia das mastites bovinas nas sete principais bacias leiteiras do Estado de São Paulo. *Rev Napgama* 3:6-13, 2000.
18. Cowan ST. *Manual for the identification of medical bacteria*. 2.ed. Cambridge: Cambridge University Press. 1985.
19. Dias Filho FC. *Perfil do produtor e características das propriedades rurais que utilizam ordenhadeira mecânica na bacia leiteira de Goiânia-GO*. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás. Goiânia. 1997.
20. Fonseca LFL, Santos MV. *Qualidade do leite e controle de mastite*. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.

21. Harmon RJ. Aspectos econômicos da mastite bovina. In: Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, 1998, Curitiba. *Anais...* [s.n.], p. 36-39, 2000.
22. Hillerton JE. Controle da mastite bovina. In: Brito, J.R.F., Bressan, M. *Controle integrado da mastite bovina*. Tradução de José Renaldi F. de Brito. Juiz de Fora: Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite, p.10-52, 1996.
23. Honkanen-Buzalski T, Griffin TK, Dodd FH. Observations on *Corynebacterium bovis* infection of the mammary gland. I: Natural infection. *J Dairy Res* 51:371-378, 1984.
24. Krieg NR., Holt JC. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.
25. Langoni H, Domingues PF, Pinto MP, Listoni FJP. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bovina subclínica. *Arq Bras Med Vet Zoot* 43:507-515, 1991.
26. Lennete EH, Balows A, Hauler HJ. *Manual of Microbiology*. 4.ed., Am Soc Microbiology, Washington, 1985.
27. Mettífogo E, Muller EE, Freitas JC, Megid J, Aalfieri AA, Beloti V. Mastite subclínica bovina por *Corynebacterium bovis* no norte do Paraná, Brasil. *Semina* 12:38-41, 1991.
28. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Approved Standards M2-A6. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 4 ed. Approved Standards. NCCLS, Villanova, Pa., 2000.
29. Nickerson SC. Strategies for controlling mastitis. In: Panamerican Congress on Mastitis Control and Milk Quality, 1998, Mexico. *Proceedings...* Merida: [s.n.], p.22-33, 1998.
30. Ribeiro AR. *Influência da anti-sepsia pós-ordenha na ocorrência de mastite bovina*. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo. São Paulo. 1996. 124 p.
31. Santos MV. Contagem de células somáticas e qualidade do leite e derivados. In: V Simpósio Internacional sobre Produção Intensiva de Leite, 2001, Belo Horizonte. *Anais...* São Paulo: Instituto Fernando Costa, p.115-127, 2001.
32. Sandholm M, Kaartinen L, Pyoral S. Bovine mastitis – why does antibiotic therapy not always work? an overview. *J Vet Phar Ther* 3:248-260, 1990.
33. Smith KL, Hogan JS. Epidemiology of Mastitis and Physiopathology. In: Panamerican Congress on Mastitis Control and Milk Quality, 1998, Mexico. *Proceedings...* Merida: [s.n.], p.100-113, 1998.
34. Schaeffibaum M. Efeitos de altas contagens de células somáticas sobre a produção e qualidade de queijos. In: II Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, Curitiba, 2000. *Anais...* Curitiba: [s.n.], p.21-26, 2000.
35. Schalm OW, Noorlander DO. Experimental and observation lading to development of california mastitis test. *J Am Vet Med Assoc* 130:199-204, 1957.
36. Tirante L. Prevalencia y etiologia de infecciones intramamarias en vacas de 38 hatos lecheros en Argentina. In: Panamerican Congress on Mastitis Control and Milk Quality, 1998, Mexico. *Proceedings...* Merida: [s.n.], p.122-124, 1998.
37. Veiga VMO. Retorno econômico de um programa de controle de mastite bovina em rebanhos no estado de Minas Gerais. In: Brito, J.R.F., Bressan, M. *Controle integrado da mastite bovina*. Juiz de Fora: Embrapa-CNPGL, p.97-111, 1996.
38. Veiga VMO. *Diagnóstico da mastite bovina*. Juiz de Fora: Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Gado de leite, 1998. 24p.
39. Watanabe ET, Ribeiro AR, Silva JB, Garino JRF, Costa EO. Avaliação *in vitro* e *in vivo* da eficiência dos antimicrobianos no tratamento de casos de mastite clínica bovina. *Rev Nappgama* 4:9-14, 2001.
40. Wilson JD, Gonzalez RN. Prevalence and effects of mastitis agents. In: Panamerican Congress on Mastitis Control and Milk Quality, 1998, Mexico. *Proceedings...* Merida: [s.n.], p.114-121, 1998.
41. Zafalon LF, Amaral LA, Nader Filho A, Oliveira JF, Resende FD, Oliveira JA. Influência de bactérias do gênero *Corynebacterium* e estafilococcus coagulase positivos e negativos sobre a contagem de células somáticas e a produção láctea de quartos mamários com mastite subclínica. *Rev Nappgama* 2:4-6, 1999.