

Etiologia e sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de bactérias isoladas de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica.

(*Aetiology and in vitro antimicrobial susceptibility of isolated bacteria from Santa Inês ewes with subclinical mastitis*).

COUTINHO, D.A.^{1*}; COSTA, J.N.²; RIBEIRO, M.G.³; TORRES, J.A.⁴

¹Aluna de pós-graduação (Mestrado em Medicina Veterinária Tropical – UFBA);

²Prof. Dr. Escola de Medicina Veterinária (UFBA);

³Prof. Ass. Dr. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP- Botucatu;

⁴Aluna de pós-graduação (Mestrado em Medicina Veterinária Tropical – UFBA)

*Endereço para correspondência: danicoutinho@gmail.com

RESUMO

Foram submetidas a exames clínicos e microbiológicos 124 metades mamárias de ovelhas da raça Santa Inês e as suas respectivas secreções lácteas, no momento da secagem, aos 90 dias após o parto. O exame de Tamis não revelou mastite clínica em nenhuma das metades analisadas e, de cada uma delas, foi coletada amostra para realização de exames microbiológicos em meios de ágar sangue ovino (5%) desfibrinado e ágar MacConkey. Os microrganismos isolados foram submetidos ao teste de sensibilidade antimicrobiana *in vitro*, frente a nove antimicrobianos. Das 124 amostras, 33 (26,6%) foram positivas ao exame microbiológico. O microrganismo isolado com maior frequência foi *Staphylococcus coagulase negativo* (19/33=57,6%), seguido por *Staphylococcus aureus* (5/33=15,2%), *Micrococcus sp.* (5/33=15,2%), *Streptococcus α-hemolítico* (3/33=9%) e *Streptococcus agalactiae* (1/33=3%). Dentre os antimicrobianos utilizados, o cefalônio anidro foi o mais efetivo, visto que a totalidade dos isolados se mostraram sensíveis à droga, enquanto os maiores índices de resistência foram constatados com o uso da penicilina G, neomicina e ampicilina.

Palavras-Chave: Mastite subclínica; ovino; etiologia; sensibilidade microbiana.

SUMMARY

Clinical and microbiological exams were performed in 124 mammary-halves of Santa Ines ewes in dry-off period, on the 90th day postpartum. The Tamis exam did not show any sign of clinical mastitis in none of the halves analyzed. Milk samples were submitted to microbiological culture on defibrinated sheep blood agar (5%) and MacConkey agar. Microorganisms isolated were also submitted to *in vitro* susceptibility test (diffusion disk) against nine antimicrobials. From the 124 samples, 33 (26.6%) were bacteriologically positive. The most-common agent found was coagulase-negative *Staphylococcus* (19/33=57.6%), followed by *Staphylococcus aureus* (5/33=15.2%), *Micrococcus sp.* (5/33=15.2%), *Streptococcus α-hemolytic* (3/33=9%) and *Streptococcus agalactiae* (1/33=3%). Among the antimicrobials used, cephalonium was the most effective, while most frequent resistance were observed with penicillin G, neomycin and ampicillin.

Keywords: Subclinical Mastitis; Sheep; aetiology; antimicrobial susceptibility test.

INTRODUÇÃO

A mastite é classicamente definida como inflamação da glândula mamária, caracterizada por alterações físico-químicas e microbiológicas no leite e no tecido glandular mamário, podendo destruí-lo parcial ou totalmente, dependendo do agente microbiano envolvido (LANGONI et al., 1998).

Além dos prejuízos quantitativos e qualitativos na produção de leite, a mastite pode levar à perda da capacidade funcional da glândula, inviabilizando a permanência destas matrizes nos plantéis, e ocasionalmente, à morte das fêmeas (FTHENAKIS e JONES, 1990). Em rebanhos ovinos de corte, a mastite é responsável pelo atraso no desenvolvimento dos cordeiros, resultando em um decréscimo da taxa de ganho de peso e aumento da mortalidade neonatal (GROSS et al., 1978; FTHENAKIS, 1988), principalmente nos casos de mastite clínica gangrenosa (WATKINS et al., 1991). Embora a mastite clínica seja responsável por perdas expressivas, a mastite subclínica assume elevada relevância econômica, em virtude dos prejuízos na produção e da maior ocorrência, comparativamente às formas clínicas de mastite (GROSS et al., 1987; MARCO MELERO, 1994).

A mastite infecciosa é causada por uma ampla variedade de microrganismos, particularmente de origem bacteriana, com base nas fontes de infecção e características ou vias de transmissão, subdivididos em agentes contagiosos e ambientais. Os agentes contagiosos são transmitidos fundamentalmente no momento da ordenha ou no ato de mamar do cordeiro, causados principalmente *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e

Corynebacterium bovis. Por outro lado, os agentes ambientais são transmitidos na ordenha e entre-ordenhas, representados principalmente pelas enterobactérias (*Escherichia coli*, *Klesbsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*), fungos, algas, *Nocardia* sp e *Pseudomonas aeruginosa* (SMITH e HOGAN, 1998; RADOSTITS et al., 2002).

Nas mastites clínicas, em ovelhas leiteiras e nas ovelhas destinadas à produção de carne os principais microrganismos isolados em casos isolados ou em surtos são *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase* negativos, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mannheimia haemolytica*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Clostridium perfringens* e *Aspergillus fumigatus* (RADOSTITS et al., 2002; BERGONIER e BERTHELOT, 2003).

Rotineiramente, o diagnóstico da mastite subclínica em ovelhas é baseado nos métodos que identificam o aumento do número de células e no isolamento bacteriano nas amostras de leite. A determinação quantitativa do número total de células somáticas no leite pode ser realizada pela microscopia direta (WATSON et al., 1990; KEISLER et al., 1992) ou pela contagem eletrônica de células somáticas (McDOUGALL et al., 2001), enquanto o diagnóstico qualitativo pode ser obtido com o uso de testes como o *Whiteside* (WATKINS et al., 1991) e *Califórnia Mastitis Test* (CMT) (McDOUGALL et al., 2001; SARGEANT et al., 2001).

Diferentes antimicrobianos têm sido recomendados na terapia intramamária da mastite em ovinos (CONTRERAS et al., 1995; NACCARI et al., 2003). Entretanto, são escassos os estudos conduzidos na investigação do perfil de sensibilidade da

mastite ovina. Adicionalmente, não estão disponíveis produtos comerciais elaborados especificamente para o uso na terapia de pequenos ruminantes, restando, na prática, a alternativa de uso de antimastíticos idealizados para espécie bovina. A grande diversidade dos agentes responsáveis pela mastite subclínica ovina (DE LA CRUZ et al., 1994; MARCO MELERO, 1994; GONZÁLEZ-RODRIGUES et al., 1995; LAFI et al., 1998) e a crescente resistência dos microrganismos isolados de infecções mamárias aos antimicrobianos convencionais alertam para a necessidade da instituição de protocolos terapêuticos na mastite ovina como respaldo nos testes de sensibilidade microbiana.

O presente estudo objetivou avaliar a sensibilidade antimicrobiana *in vitro* de bactérias isoladas de casos de mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês, aos 90 dias após o parto.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Foram utilizadas 62 ovelhas da raça Santa Inês, múltíparas, com bom escore corporal e peso vivo aproximado de 40 Kg, pertencentes à Fazenda Tingui, localizada no município de Serra Preta, Bahia. Os animais foram mantidos em pastagem de *Brachiaria* (*Brachiaria decubens*) e Pangolinha (*Digitaria decubens*), recebendo água e sal mineral *ad libitum*, sem sintomas clínicos de mastite. As fêmeas foram vermifugadas (moxidectina) e receberam uma dose anual de vacina comercial contra o botulismo e outras clostridioses, trinta dias antes da coleta das amostras.

Delineamento experimental

Aos 90 dias após o parto, todas as metades mamárias das ovelhas foram clinicamente avaliadas por inspeção e palpação, avaliando-se o parênquima, tetos e estruturas internas (BIRGEL, 2004). O diagnóstico de mastite clínica foi realizado, após exame clínico do animal, da glândula mamária e depositando três a quatro primeiros jatos de leite na caneca de fundo preto (Tamis), com vistas à observação de grumos, coágulos, pus, sangue ou leite aquoso (RADOSTITS et al., 2002). Foi utilizado o método do *California Mastitis Test* (SCHALM e NOORLANDER, 1957), utilizando reagente comercial.

Exame microbiológico

Coleta das amostras

No dia anterior às coletas, as ovelhas (aos 90 dias após o parto) foram separadas dos borregos. Procedeu-se a coleta asséptica posteriormente à última esgota. Após a anti-sepsia das tetas, com solução desinfetante (dicloroisocianurato de sódio anidro - Agrisept® - Schering-Plough), foram descartados os três primeiros jatos e colhidas amostras de leite, em duplicata. As amostras foram acondicionadas em frascos esterilizados, refrigeradas (4-8°C) e posteriormente congeladas (-20°C), até o momento da sua análise.

Exame bacteriológico

As amostras de leite foram cultivadas nos meios de ágar sangue ovino (5%) defibrinado e ágar MacConkey, incubadas em condições de aerobiose, a 37°C, mantidas por 72 horas, com leituras a 24, 48 e 72 horas, no Laboratório de Doenças

Infeciosas dos Animais da FMVZ-UNESP/Botucatu, SP. Os microrganismos foram identificados segundo as características morfo-tintoriais, bioquímicas e de cultivo, segundo QUINN et al. (1994); KRIEG e HOLT (1994) e MURRAY et al., (1999).

Teste de sensibilidade microbiana

A sensibilidade microbiana *in vitro* dos microrganismos foi realizada através do

método de difusão com discos (BAUER et al., 1966), segundo recomendações do Comitê Nacional de Análises Clínicas Laboratoriais (NCCLS, 1999), frente ao cefalônio anidro (30µg) e a outros antimicrobianos amplamente utilizados na terapia intramamária de mastite em animais domésticos, tais como: ampicilina (10µg), enrofloxacina (5µg), gentamicina (10µg), neomicina (30 µg), oxacilina (1µg), penicilina G (10U.I.), sulfadiazina/trimetoprim (25µg) e tetraciclina (30µg).

RESULTADOS

Na tabela 1, estão apresentados os resultados do exame de Tamis e do *Califórnia Mastitis Test*, efetuados em 124 metades mamárias de ovelhas Santa Inês.

Tabela 1. Resultados dos exames de Tamis e CMT realizados em 124 metades mamárias de ovelhas da raça Santa Inês.

Tamis			CMT		
N	Pos	%	N	Pos	%
124	0	0	124	39	31,45%

N: número de metades mamárias examinadas

Pos: número de metades mamárias que apresentaram resultados positivos

%; porcentagem de metades mamárias positivas

Na tabela 2, estão apresentados os resultados dos exames microbiológicos realizados em 124 metades mamárias de ovelhas Santa Inês.

Tabela 2. Distribuição dos microrganismos isolados em 124 amostras de leite em ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica.

MICROORGANISMO	ISOLAMENTO	
	N ^c	%
<i>Staphylococcus C</i> ^{-a}	19	57,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	15,2
<i>Micrococcus</i> sp.	5	15,2
<i>Streptococcus</i> sp.	4	12
<i>Streptococcus a. hemolítico</i>	3	9
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	3
Total de infecção	33	26,6
NCB ^b	91	73,4

^a Coagulase negativo

^bMetades não infectadas, nenhum crescimento bacteriano

^cNúmero de amostras

Das 124 amostras de leite analisadas de 62 ovelhas, antes do momento da secagem, 91 (73,4%) não apresentaram nenhum isolamento bacteriano, enquanto 33 amostras (26,6%) mostraram-se microbiologicamente positivas. *Staphylococcus* coagulase negativo foi o principal microrganismo isolado, detectado em 19 metades mamárias (57,6%). *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* sp., *Streptococcus a. hemolítico* e *Streptococcus agalactiae* foram isolados,

respectivamente, em cinco (15,2%), cinco (15,2%), três (9%) e uma (3%) metade(s) mamária(s).

Na tabela 3, estão apresentados os resultados da susceptibilidade do *Staphylococcus* coagulase negativo, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* sp., *Streptococcus a. hemolítico* e *Streptococcus agalactiae* a nove antimicrobianos amplamente utilizados na medicina veterinária.

Tabela 3. Perfil de sensibilidade de microrganismos isolados de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica, frente a diferentes antimicrobianos.

Drogas	Microrganismos				
	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativo	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	<i>Micrococcus</i> <i>sp.</i>	<i>Streptococcus a</i> <i>hemolítico</i>	<i>Streptococcus</i> <i>agalactiae</i>
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Ampicilina	52,6 ^S -36,8 ^{PS} -10,6 ^R	0 ^S -20 ^{PS} -80 ^R	40 ^S -60 ^{PS} -0 ^R	66,7 ^S -33,3 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R
Enrofloxacina	63,2 ^S -36,8 ^{PS} -0 ^R	20 ^S -80 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R	66,7 ^S -0 ^{PS} -33,3 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R
Gentamicina	78,9 ^S -21,1 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R	66,7 ^S -33,3 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R
Neomicina	47,4 ^S -42,1 ^{PS} -10,5 ^R	0 ^S -20 ^{PS} -80 ^R	20 ^S -60 ^{PS} -0 ^R	66,7 ^S -33,3 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R
Oxacilina	89,5 ^S -10,5 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R
Penicilina G	57,9 ^S -36,8 ^{PS} -5,3 ^R	20 ^S -0 ^{PS} -80 ^R	80 ^S -20 ^{PS} -0 ^R	66,7 ^S -33,3 ^{PS} -0 ^R	0 ^S -100 ^{PS} -0 ^R
Sulfazotrin	68,4 ^S -5,3 ^{PS} -26,3 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R	80 ^S -0 ^{PS} -20 ^R	66,7 ^S -0 ^{PS} -33,3 ^R	0 ^S -0 ^{PS} -0 ^R
Tetraciclina	89,5 ^S -5,2 ^{PS} -5,3 ^R	20 ^S -80 ^{PS} -0 ^R	80 ^S -20 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R
Cefalônio	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R	100 ^S -0 ^{PS} -0 ^R

S: Sensível; PS: Parcialmente sensível; R: Resistente.

O cefalônio anidro foi o antimicrobiano que apresentou maior efetividade, dentre os antimicrobianos utilizados, visto que a totalidade dos isolados se mostrou sensível à esta droga. Por outro lado, os maiores índices de resistência dos microrganismos foram observados com o uso da penicilina (80%), ampicilina (80%) e neomicina (80%).

Das cepas de *Staphylococcus* coagulase negativo isoladas, 52,6% foram susceptíveis à ampicilina, 63,2% à enrofloxacina, 78,9% à gentamicina, 47,4% à neomicina, 89,5% à oxacilina e à tetraciclina, 57,9% à penicilina G, 68,4% ao Sulfazotrin e 100% ao cefalônio. Estas cepas apresentaram-se resistentes à ampicilina (10,6%), à neomicina (10,5%), à penicilina G (5,3%), à tetraciclina (5,3%) e ao sulfazotrin (26,3%).

Das cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas, 20% foram susceptíveis a

enrofloxacina, penicilina G e à tetraciclina e 100% à gentamicina, oxacilina, sulfazotrin e ao cefalônio. Observou-se que 80% dos isolados de *Staphylococcus aureus* foram resistentes à ampicilina, neomicina e à penicilina G.

Das cepas de *Micrococcus* sp. isoladas, 40% foram susceptíveis à ampicilina, 20% à neomicina, 80% à penicilina G, Sulfazotrin e tetraciclina e 100% à enrofloxacina, gentamicina, oxacilina e ao cefalônio. Das cepas de *Staphylococcus* coagulase negativo isoladas, observou-se somente resistência ao sulfazotrin (26,3%). Das cepas de *Streptococcus a hemolítico* isoladas, 66,7% foram susceptíveis à ampicilina, enrofloxacina, gentamicina, neomicina, penicilina G e ao sulfazotrin e 100% sensíveis à oxacilina, tetraciclina e ao cefalônio. As cepas de *Streptococcus a hemolítico* isoladas (33,3%) apresentaram-

se resistentes à ampicilina, enrofloxacin, gentamicina e neomicina.

Das cepas de *Streptococcus agalactiae* isoladas, 100% foram susceptíveis à ampicilina, enrofloxacin, gentamicina, neomicina, oxacilina, tetraciclina e ao cefalônio. Não se observou resistência das cepas de *Streptococcus agalactiae* a nenhum dos antibióticos e quimioterápicos analisados.

DISCUSSÃO

O sucesso de isolamento microbiano em ovelhas com mastite, no presente estudo, foi menor que o observado por Clements et al. (2003), Batavani et al. (2003), LAFI (2005) e Domingues et al., (2005), que encontraram, respectivamente, 35%, 39%, 39,1% e 57,03% das amostras de ovelhas microbiologicamente positivas. Por outro lado, Al-majali e Jawabreh (2003), em estudo similar com ovelhas da raça Awassi, observaram porcentagem menor de isolamento microbiano comparativamente ao presente estudo, obtendo 18,3% de amostras microbiologicamente positivas em ovelhas com mastite subclínica. O menor número de úberes infectados nas ovelhas estudadas, provavelmente, decorre das melhores práticas de manejo de ordenha e/ou o descarte seletivo das fêmeas com mastite clínica que resultam em maior controle da enfermidade.

Staphylococcus coagulase negativo são consideradas as bactérias mais frequentemente isoladas da glândula mamária de ovelhas com mastite subclínica (HUESTON et al., 1986; KEISLER et al., 1992; WATSON et al., 1990; DE LA CRUZ et al., 1994; FTHENAKIS, 1994). Essa afirmação ratifica os resultados da pesquisa e de outras similares, nos quais o *Staphylococcus* coagulase negativo foi o

microrganismo mais freqüente em ovelhas com infecção intramamária subclínica (FTHENAKIS, 1994; LEITNER et al., 2001; BATAVANI et al., 2003; DOMINGUES et al., 2005), provavelmente em virtude do comportamento oportunista do gênero *Staphylococcus* nas infecções mamárias, favorecido pela sua manutenção como agente da microbiota da pele e úbere de animais domésticos.

Diferentes autores têm assinalado a similaridade de linhagens de *Staphylococcus* sp. de casos de mastite subclínica e de estirpes isoladas no ser-humano (KALOGRIDOU-VASSILIADOU, 1991; MAISI e RIIPINEN, 1991; BEDIDI-MADANI et al., 1998). Esses achados indicam que o ser-humano deve ser considerado eventual fonte de infecção do grupo de microrganismos para a glândula mamária (SILVA et al., 2004), visto que o agente pertence à microbiota normal da pele e trato respiratório alto do ser humano (DEVRIESE et al., 1985).

Isolados de *Staphylococcus* coagulase negativo têm sido associados a um aumento da contagem de células somáticas, das concentrações de NAGase, albumina e sal, indicando que a infecção por esse grupo de microrganismos provoca agravos ao tecido glandular (MAISI et al., 1987). Alterações histológicas na glândula mamária infectada de ovelhas e na composição do leite em animais infectados por *Staphylococcus* coagulase negativo têm sido reportada a fêmeas ovinas com mastite (FTHENAKIS e JONES, 1990; BURRIEL, 1997). Esses dados refletem a patogenicidade do *Staphylococcus* coagulase negativo para a glândula mamária ovina, levando a casos de mastite clínica ou subclínica, de difícil tratamento no decorrer da lactação (LAM, 1996).

Staphylococcus aureus é reconhecido como o principal agente na casuística de mastite em vacas (LAS HERAS et al., 1998) e em ovelhas (AL-SAMARRAE et al., 1985; BOR et al., 1989; Ameh et al., 1994). Em estudo da ocorrência de agentes de mastite ovina, no Uruguai. Apolo et al. (1999) assinalaram o isolamento de *S. aureus* em 46% das amostras microbiologicamente positivas. Batavani et al. (2003), estudando ovelhas de aptidão leiteira, obtiveram 39% de prevalência da mastite subclínica, no qual 22% eram por *S. aureus*. Radostits et al. (2002) estimaram a incidência de mastite de 2% ao ano em 6.000 ovinos, sendo 86% causadas por *Staphylococcus aureus*. O gênero *Staphylococcus* também foi encontrado como mais prevalente nas ovelhas estudadas, reforçando a importância dos agentes contagiosos na gênese de casos de mastite subclínica em ovelhas.

Micrococcus sp. não têm sido relatado como agente prevalente na casuística de mastite em ovinos, em outros países (FTHENAKIS, 1994; AL-MAJALI e JAWABREH, 2003). Entretanto, no Sudeste do Brasil, Domingues et al. (2005) observaram 3,11% de ocorrência do agente em ovelhas com mastite. A divergência nos isolamentos do microrganismo sugere que outros estudos sejam conduzidos para avaliar a real participação desse grupo de agentes na mastite em ovinos.

De maneira similar ao grupo dos estafilococos, *Streptococcus* sp também foram isolados nos animais estudados. Estudos em outros países (LEITNER et al., 2001; CLEMENTS et al., 2003; BATAVANI et al., 2003) e no Brasil (DOMINGUES et al., 2005) também têm assinalado a importância do gênero *Staphylococcus* na casuística da mastite

ovina, especialmente *Streptococcus agalactiae* sob a forma subclínica.

Dentre os antimicrobianos estudados, penicilina G, neomicina e ampicilina foram os que apresentaram a menor eficácia frente aos isolados. Diferentes estudos têm demonstrado a preocupação quanto à crescente ocorrência de multi-resistência em microrganismos isolados de pequenos ruminantes com mastite (LIMA JÚNIOR et al., 1993; SILVA et al., 2004; NACCARI et al., 2003). A ocorrência do aumento de linhagens resistentes isoladas de casos de mastite em pequenos ruminantes, provavelmente, encontra reflexo no uso indiscriminado e/ou inadequado de antimicrobianos na terapia, geralmente provocado pelo uso de sub-doses, instituição de protocolos terapêuticos sem o respaldo do antibiograma, descontinuidade da terapia, ou mesmo, o uso de antimicrobianos intramamários idealizados para a espécie bovina, resultando no aumento da pressão seletiva para microrganismos resistentes e/ou na baixa efetividade terapêutica.

O cefalônio anidro apresentou neste estudo alta efetividade “in vitro” frente aos isolados. Essa droga é um derivado da penicilina, indicada para terapia principalmente de bactérias Gram-positivas, incluindo produtoras de beta-lactamase. Esses resultados sugerem que cefalônio anidro apresenta ótima perspectiva para elaboração de anti-mastítico comercial para a terapia de ovelhas com mastite.

CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que os *Staphylococcus* coagulase negativo são os agentes comumente envolvidos na mastite subclínica em ovelhas.

Os resultados obtidos evidenciaram a possibilidade de tratamento de infecções subclínicas em ovelhas por CNS, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* sp., *Streptococcus hemolítico* e *Streptococcus agalactiae* com um dos nove princípios ativos ensaiados: ampicilina, enrofloxacina, gentamicina, cloxacilina,

sulfazotrin, neomicina, penicilina G, tetraciclina e cefalônio. Destaca-se o cefalônio como único antibiótico que apresentou eficácia de 100% contra todos os cinco agentes isolados.

As diferenças observadas na eficácia dos antibióticos e quimioterápicos testados demonstram a importância da realização de testes de identificação do agente causal e da sua sensibilidade antimicrobiana, com o intuito de eleger o tratamento mais apropriado.

REFERÊNCIAS

AL-MAJALI, A.M.; JAWABREH, S. Period prevalence and aetiology of subclinical mastitis in Awassi sheep in southern Jordan. **Small Rum. Res.**, v.47, p.243-248, 2003.

AL-SAMARRAE, S.A.G.; SHARMA, V.K.; YOUSIF, A.A. Mastitis in sheep in Iraq. **Vet. Rec.**, v.116, p. 323, 1985.

AMEH, A. J.; ADDO, P.B.; ADEKEYE, J.O. Gangrenous caprine coliform mastitis. **Small Rum. Res.**, v. 13, p.307-309, 1994.

APOLO, A.; BELLIZZI, T.; DE LIMA, D.; BURGUENO, M. Subclinical mastitis in dairy sheep in Uruguai. In: MILKING AND MILK PRODUCTION OF DAIRY SHEEP AND GOATS, 1999. Wageningen. **Proceedings...** Wageningen, 1999. p.168-170.

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

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method.

Am. J. Clin. Pathol., v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.

BEDIDI-MADANI, N.; GREENLAND, T.; RICHARD, Y. Exoprotein and slime production by coagulase-negative staphylococci isolated from goats milk. **Vet. Microbiol.**, v. 59, p. 139-145, 1998.

BERGONIER, D.; BERTHELOT, X. New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. **Livestock Prod. Sci.**, v.79, p.1-16, 2003.

BIRGEL, E.D. Semiologia da glândula mamária dos ruminantes. In: FEITOSA, F.L.F. **Semiologia veterinária a arte do diagnóstico**. São Paulo: Roca, 2004, p.353-391.

BOR, A.; WINKLEY, M.; GOOTWINE, E. Nonclinical intra-mammary infection in lactating ewes and its association with clinical mastitis. **Br. Vet. J.**, v. 145, p.178- 184, 1989.

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

CLEMENTS, A.C.A.; TAYLOR, D.J.; FITZPATRICK, J.L. Evaluation of diagnostic procedures for subclinical mastitis in meat-producing sheep. **J. Dairy Res.**, v.70, p.139-148, 2003.

CONTRERAS, A.; CORRALES, J.C.; SIERRA, D.; MARCO, J. Prevalence and aetiology of non-clinical intramammary infection in Murciano-Granadiana goats. **Small Rum. Res.**, v. 17, p.71-78, 1995.

CORRALES, J.C.; CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; MARCO, J. Sensibilidad antibiótica in vitro de estafilococos y corinebacterias aisladas de mamitis subclínicas caprinas. **Med. Vet.**, v. 12, p. 16-24, 1995.

DE LA CRUZ, M.; SERRANO, E.; MONTORO, V.; MARCO, J.; ROMEO, M.; BALSEGRA, R.; ALBIZU, I.; AMORENA, B. Etiology and prevalence of subclinical mastitis in the Manchega sheep at mid late lactation. **Small Rum. Res.**, v.14, p.175-180, 1994.

DEVRIESE, L.A.; SCHLEIFER, K.H.; ADEGOKE, G.O. Identification of coagulase-negative staphylococci from farm animals. **J. Appl. Bac.**, v.58, p.45-55, 1985.

DZIDIC, A.; KAPS, M.; BRUCKMAIER, R.M. Machine milking of Istrian dairy crossbreed ewes: udder morphology and milking characteristics. **Small. Rum. Res.**, v.55, p.183-189, 2004.

DOMINGUES, P. F.; LUCHEIS, S.B.; FERNANDES, S.; SERRÃO, L.S.; CONTENTE, A.P.A.; MARTINS, E.C.V.; LANGONI, H. Análise microbiológica de amostras de leite de ovelhas da raça Santa Inês e comparação com as provas do Califórnia Mastite Test (CMT) e whiteside. Disponível em:

<http://www.fmvz.unesp.br/cursos/8aMostra/analise/Mostra Cientifica -FMVZ.htm> Medicina

Veterinária Preventiva/MVP06.htm>. Acesso em: 1 de Fevereiro de 2005.

EAST, N.E.; BIRNIE, E.F.; FARVER, T.B. Risk factors associated with mastitis in dairy goats. **Am. J. Vet. Res.**, v.48, p.776-779, 1987.

FERNANDEZ-GARAYZABAL, J.F.; COLLINS, M.D.; HOTSON, R.A. *Corynebacterium camporealensis* sp.nov., associated with subclinical mastitis in sheep. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v.48, p.463-468, 1998.

FTHENAKIS, G.C. **Ovine mastitis with special reference to subclinical mastitis caused by coagulase-negative staphylococci.** 1988. Tese (Doutorado) University of London.

FTHENAKIS, G.C. Incidence and aetiology of subclinical mastitis in ewes of southern Greece. **Small. Rum. Res.**, v.13, p.293-300, 1994.

FTHENAKIS, G.C. Somatic cell counts in milk of Welsh Mountain, Dorset-Horn and Chios ewes throughout lactation. **Small. Rum. Res.**, v.20, p.155-162, 1996.

FTHENAKIS, G.C.; JONES, J.E.T. The effect of experimentally induced subclinical mastitis on milk yield of ewes and on the growth of lambs. **British Vet. J.** v.146, p.43-49, 1990.

FTHENAKIS, G.C.; MARPLES, R.R.; RICHARDSON, J.F. Some properties of coagulase negative staphylococci isolated from cases of ovine mastitis. **Epidemiol. Infect.**, v.112, p.171-176, 1994.

GONZÁLEZ-RODRIGUES, M.C.; CÁRMENES, P. Evaluation of the California mastitis test as a discriminant method to detect subclinical mastitis in ewes. **Small. Rum. Res.**, v. 21, p.245-250, 1996.

GONZÁLEZ-RODRIGUES, M.C.; GONZALO, C.; SAN PRIMITIVO, F.; CÁRMENEZ, P. Relationship between

- somatic cell count and intramammary infection of the half udder in dairy ewes. **J. Dairy Sci.**, v.78, p. 2753-2759, 1995.
- GONZALO, C.; BARO, J.A. ; CARRIEDO, J.A. Use of the Fossomatic method to determine somatic cell counts in sheep milk. **J. Dairy Sci.**, v. 76, p.115- 119, 1993.
- GONZALO, C.; DE LA FUENTE, L.F.; FUERTES, J.A. Day-to-day variation of the somatic cell count in ewe milk. In: SOMATIC CELLS AND MILK OF SMALL RUMINANTS, 1993, Italy. **Proceedings...** Italy: EAAP Publication, 1993. p.197.
- GROSS, J.S.; POLLACK, E.J.; ANDERSON, J.G.; TORREL, D.T. Incidence and importance of subclinical mastitis in sheep. **J. Animal Sci.** v.26, p.1-8, 1987.
- GROSS, J.S.; POLLACK, E.J.;ANDERSON, J.G. Incidence and importance of subclinical mastitis in sheep. **J. Animal Sci.** v.46, p.1-8, 1978.
- HERRTAGE, M.E.; SAUNDERS, R.W.; TERLECKI, S. Physical examination of cull ewes at point of slaughter. **Vet. Rec.**, v. 95. p. 257-260, 1974.
- HUESTON, W.D.; HARTWIG, N.R.; JUDY, J.K. Patterns of non-clinical intra-mammary infection in a ewe flock. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 188, p. 170-172, 1986.
- HUESTON, W.D.;BONER, G.J.; BAERTSCHE, S.L. Intra-mammary antibiotic treatment at the end of the lactation for prophylaxis and treatment of tmtra-mammary infections in ewes. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 194, p. 1041-1044, 1989.
- JOHNSTON, W.S.; MACLACHLAN, G.K.; MARRAY, I.S. A survey of sheep losses and their causes on commercial far4ms in the north of Scotland. **Vet. Rec.**, v.106, p. 238-240, 1980.
- KALOGRIDOU-VASSILIADOU, D. Mastitis-related pathogens in goat milk. **Small Rum. Res.**, v.4, p.203-212, 1991.
- KEISLER, D.H.; ANDREWS, M.L.; MOFFAT, R.J. Subclinical mastitis in ewes and its effect on lamb performance. **J. Animal Sci.**, v.70, p.1677-1681,1992.
- KIRK, J.H.; GLENN, J.S.; MAAS, J.P. Mastitis in a flock of milking sheep. **Small Rum. Res.**, v.22, p.187-191,1996.
- KLINGER, I.; ROSENTHAL, I. Publib health and the safety of milh and milk products from sheep and goats. **Revue Scientifique et Technique**, v.16, p.482-488, 1997.
- KRIEG, N.R.; HOLT, J.C. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 9.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 984p.
- LAFI, S.Q. Use of Somatic cell counts and California mastitis test resultsfrom udder halves milk samples to detect subclinical intramammary infection in Awassi sheep. **Small Rum. Res.**, p.1-4, 2005.
- LAFI, S.Q.; AL MAJALI, A.M.; ROUSAN, M.D.; ALAWNCH, J.M. Epidemiological studies of cinical and subclinical ovine mastitis in Awassi sheep in northern Jordan. **Prev.Vet.Med.**, v.33, p.171-181, 1998.
- LAM, T. J. G. M. **Dynamics of bovine mastitis a field study in low somatic cell count herds**. 1996. 199p. Tese (Doutorado)-Universidade de Utrecht, Faculdade de Diergeneeskunde, Utrecht, Holanda.
- LANGONI, H.; DA SILVA, A.V.; CABRAL, K.G.; DOMINGUES, P.F. Ethilogic aspects of bovine mastitis: aerobics bacterial flora. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CONTROL DE MASTITIS E CALIDAD DE LA LECHE, 1998, Mérida, **Anais...** México. Memórias...Mérida, 1998. p.25-29.

LARSGARD, A. G.; VABENOE, A. Genetic and environmental causes of variation in mastitis in sheep. **Small Rum. Res.**, v.12, p. 339-347, 1993.

LAS HERAS, A.; DOMINGUEZ, L.; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J.F. Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in dairy ewes of the Madrid region. **Small Rum. Res.**, v.32, p.21-29, 1999.

LEITNER, G.; CHAFFER, M.; ZAMIR, S.; MOR, T.; GLICKMAN, A.; WINKLER, M.; WEISBLIT, L.; SARAN, A. Udder disease etiology, milk somatic cell counts and NAGase activity in Israeli Assaf sheep throughout lactation. **Small. Rum. Res.** v.39, p.107-112, 2001.

LIMA JÚNIOR, A.D.; NADER FILHO, A.; VIANNI, M.C.E. Susceptibilidade "in vitro" dos *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase negativos*, isolados em casos de mastite caprina, à ação de antibióticos e quimioterápicos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 45, p.291-296, 1993.

MAISI, P.; JUNTILLA, J.; SEPPANEN, J. Detection of subclinical mastitis in ewes. **Br.Vet. J.**, v.143, p.402-409, 1987.

MAISI, P.; RIIPINEN, I. Pathogenicity of different species of staphylococci in caprine udder. **Br. Vet. J.** v.47, p. 126-132, 1991.

MARCO MELERO, J.C. **Mastitis en la oveja Latxa**: Epidemiologia, diagnóstico y control. 1994.52p.Tese (Doutorado). Universidade de Zaragoza, Espanha.

MCDUGALL,S.; MURDOUGH,P.;PANKEY,W.; DELANEY,C.; BARLOW, J.; SCRUTON, D. Relationships among somatic cell count, California mastitis test, impedance and bacteriological status of milk in goats and sheep in early lactation. **Small Rum. Res.**, v.40, p.245-254, 2001.

MORONI, P.; PISONI, G.; ANTONINI, M.; RUFFO, G.; CARLI, S.; VARISCO, G.; BOETTCHER, P. Subclinical Mastitis and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus caprae* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from two Italian Goat herds. **J. Dairy Sci.**, v.88, p.1694-1704, 2005.

MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, M.A.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. **Manual of clinical microbiology.** 7 ed. Washington, American Society for Microbiology, 1999.379 p.

NACCARI, F.; MARTINO, D.; GIOFRÈ, F.; PASSANTINO, A.; DE MONTIS, P. Therapeutic efficacy of tilmicosin in ovine mammary infections. **Small Rum. Res.**, v. 47, p. 1-9, 2003.

NCCLS. National Committee of Clinical Laboratory Standards. Performance standards for microbial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals. **Approved Stand.**, v.19, n.11, p.67, 1999.

QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B.; CARTER, G. R. **Clinical veterinary microbiology.** London; Wolfe, 1994. 648p.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C. Mastite. In: _____. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos.** 9ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 541-629.

SARGEANT, J.M.; LESLIE, K.E.; SHIRLEY, J.E.; PULKRABEK, B.J.; LIM, GH. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California mastitis test for identifying intramammary infection in early lactation. **J. Dairy Sci.**, v.84, p.2018-2024, 2001.

SCHALM,O.W., D.V.M.; NOORLANDER, B.S. Experiments and observations leading to development of the California Mastite Test. **J.**

Am. Vet. Med. Assoc., v.30, n.1, p. 199-204, 1957.

SILVA, E.R.; SIQUEIRA, A.P.; MARTINS, J.C.D.; FERREIRA, W.P.B.; SILVA, N. Identification and in vitro antimicrobial susceptibility of Staphylococcus species isolated from goats mastitis in the Northeast of Brasil. **Small Rum. Research**, v.55, p.45-49, 2004.

SMITH, K.L.; HOGAN, J.S. Epidemiology of mastitis and physiopatology. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CONTROL DE MASTITIS E CALIDAD DE LA LECHE, 1998, México: **Memórias**...Mérida, 1998.

WATANABE, E.T. **Avaliação do uso de antibióticos por via intramamária e sistêmica no tratamento de mastite clínica em vacas em lactação e subclínica na interrupção da lactação.** 1999. 121p. Dissertação (Mestrado)-USP São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas.

WATKINS, G.H.; BURRIEL, A.R.; JONES, J.E.T. A field investigation of subclinical mastitis in sheep in southern England. **Br. Vet. J.**, v.147, p.413-420, 1991.

WATSON, D.L.; FRANKLIN, N.A.; DAVIES, H.I.; KETTLEWELL, P.; FROST, A.J. Survey of intramammary infections in ewes in the New England Tablelands of New SouthWales. **Australian Vet. J.**, v.67, p.6-8, 1990.