

Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos em amostras de cocos Gram-positivos, catalase negativos, isoladas de mastite subclínica bubalina¹

Maria C.E. Vianni² e Norma S. Lázaro²

ABSTRACT.- Vianni M.C.E. & Lázaro N.S. 2003. [Profile of antimicrobial susceptibility in strains of Gram positive cocci, negative catalase, isolated from buffalo subclinical mastitis.] Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos em amostras de cocos Gram-positivos, catalase negativos, isoladas de mastite subclínica bubalina. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 23(2):47-51. Depto Epidemiologia e Saúde Pública, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil.

The susceptibility of antimicrobials was studied in Gram positive and catalase negative cocci (21 samples of *Lactococcus garvieae* and 6 *Enterococcus gallinarum*), isolated from the milk of cows with subclinical mastitis, belonging to six buffalo herds in the State of Rio de Janeiro. The test used was diffusion of disks in agar Müller Hinton, according to recommendations of the National Committee for Clinical Laboratory Standards – NCCLS. There were tested disks with ampicillin (10mg), cefalotin (30mg), cefotaxime (30mg), ceftiofur (30mg), cloranfenicol (30mg), eritromycin (15mg), gentamycin (10mg), nitrofurantoin (300mg), norfloxacin (10mg), penicillin (10 IU), tetracyclin (30mg) and vancomycin (30mg). The results showed that with *Lactococcus garvieae*, the most efficient antimicrobial was nitrofurantoin, revealing 85.71% sensibility, followed by cefotaxime (61.90%), vancomycin (52.38%), norfloxacin (47.62%) and cefalotin (47.62%). The highest resistance was developed against penicillin and ampicillin, with 95.24% resistance for the two antimicrobials. The susceptibility profile developed by the strains of *Enterococcus gallinarum* showed low sensibility against the tested antimicrobials; the highest resistance observed was against eritromycin and gentamycin, with 33.34% sensibility for both. The antimicrobial evaluation showed 100% resistance against vancomycin and tetracyclin, followed by cloranfenicol, penicillin, ampicillin, ceftiofur, cefotaxim, norfloxacin and nitrofurantoin; all of them showed a resistance of 83.33% with the samples tested.

INDEX TERMS: Buffalo subclinical mastitis, antimicrobial susceptibility, Gram positive cocci.

RESUMO.- Estudou-se o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos em cocos Gram-positivos catalase negativos (21 amostras de *Lactococcus garvieae* e 6 de *Enterococcus gallinarum*), isoladas do leite de fêmeas com mastite subclínica e pertencentes a uma população composta por seis rebanhos bubalinos localizados no Estado do Rio de Janeiro. O teste utilizado foi o da difusão de discos em agar Müller Hinton, segundo recomendações do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* - NCCLS, tendo sido testados discos com

ampicilina (10mg), cefalotina (30mg), cefotaxima (30mg), ceftiofuro (30mg), cloranfenicol (30mg), eritromicina (15mg), gentamicina (10mg), nitrofurantoína (300mg), norfloxacina (10mg), penicilina (10 UI), tetraciclina (30mg) e vancomicina (30mg). Os resultados evidenciaram que em se tratando de *Lactococcus garvieae*, o antimicrobiano mais eficiente foi o nitrofurantoína com 85,71% de sensibilidade, seguido da cefotaxima (61,90%), vancomicina (52,38%), norfloxacina (47,62%) e cefalotina (47,62%). A maior resistência foi desenvolvida frente a penicilina e ampicilina, com 95,24% de resistência para os dois antimicrobianos testados. O perfil de susceptibilidade desenvolvido pelas amostras de *Enterococcus gallinarum*, mostrou baixa sensibilidade frente aos antimicrobianos testados, onde os maiores índices foram observados frente eritromicina e gentamicina, com 33,34% de sensi-

¹Aceito para publicação em 13 de agosto de 2002.

²Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ 23890-000.

bilidade para ambos; quanto à resistência desenvolvida, foi possível observar 100% de resistência com relação a vancomicina e tetraciclina, seguindo-se cloranfenicol, penicilina, ampicilina, cefoxitina, cefalotina, cefotaxima, norfloxacina e nitrofurantoína, todas evidenciando uma resistência de 83,33% das amostras testadas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Mastite subclínica bubalina, susceptibilidade a antimicrobianos, cocos Gram-positivos.

INTRODUÇÃO

Considerada uma doença multifatorial de grande importância para a pecuária de leite, a mastite acarreta sérios prejuízos econômicos decorrentes da diminuição da secreção láctea, ou da perda total desta capacidade, além de representar importante problema de Saúde Pública (Leite et al. 1976, Rasool et al. 1985). O leite proveniente de fêmeas infectadas apresenta modificação em sua composição, alterando conseqüentemente suas características organolépticas, físicas, químicas e microbiológicas (Vianni 1986).

Sob o ponto de vista econômico, a mastite é a mais importante enfermidade do gado leiteiro, apresentando alta prevalência em todo o mundo, acometendo não só os bovinos, como também os caprinos e bubalinos e podendo se manifestar clinicamente com evolução super-aguda, aguda e crônica (Syamasundar & Choudhur 1988). Agravando o problema, a enfermidade se apresenta também sob a forma subclínica, sendo esta mais prejudicial pela falta de sinais ou sintomas, determinando, porém, perdas econômicas maiores devido à frequência e persistência do processo (Langenegger et al. 1981).

A literatura internacional dispõe de informações que permitem estimar a alta prevalência das mastites subclínicas bovinas e caprinas, o mesmo acontecendo com relação às mastites bubalinas nos países onde a exploração leiteira dessa espécie se constitui o principal objetivo. Na Índia por exemplo, a bubalinocultura de leite é uma atividade importante e as perdas determinadas pelo processo subclínico alcançam 35% (Noori & Tauro 1979). No Paquistão a doença foi reportada com uma prevalência de 20,6% (Rasool et al. 1985), no Iraque um estudo envolvendo 151 búfalas, comprovou 31,9% de casos positivos (Khalaf 1989) e no Egito, esta prevalência foi de 54,0% para as búfalas examinadas (Afifi & Barrada 1969). No Brasil a falta de informações não permite estimar a prevalência da doença.

Inúmeros são os agentes causadores do processo infeccioso, já tendo sido descritos 84 microrganismos no complexo etiológico das mastites (Philpot & Pankey 1975), entretanto, investigações sobre sua etiologia demonstraram que 90% ou mais dos casos tem como agentes etiológicos os estafilococos e os estreptococos (Fernandes et al. 1973, Ferreiro 1980, 1984, Ferreiro et al. 1981). Na atualidade, *Staphylococcus aureus* é provavelmente o agente etiológico mais freqüentemente isolado das mastites bovinas (Devriese 1979, Pal et al. 1979, Char et al. 1983, Kalra & Dhanda 1984, Watts 1986, Tuteja et al. 1993), e esta predominância ocorreu após o advento dos antibióticos e o seu uso indiscriminado, favorecendo o mi-

croorganismo adquirir resistência (Ferreiro 1980, Blood & Radostitis 1991).

As mastites bubalinas causadas por estafilococos também são consideradas um sério problema para as fazendas produtoras de leite, ocupando papel importante na patologia da doença e aumentando progressivamente sua incidência (Rahman & Baxi 1983b).

Os estreptococos também são reconhecidos como causadores de mastite bovina (Schalm et al. 1971), e apesar de *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus uberis* serem considerados como as três espécies mais comumente isoladas da glândula mamária (Pedersen et al. 1981, Bramley & Dodd 1984), outras espécies de estreptococos têm sido envolvidas no processo embora com frequência relativamente baixa (McDonald & McDonald 1976). Fato semelhante ocorre com relação às mastites bubalinas, onde os estreptococos não são considerados como principais patógenos da glândula mamária, já tendo sido descritos outros cocos catalase negativos, dentre eles *Enterococcus* (Jaffery & Rizvi 1975).

Estudos sobre hibridização de ácidos nucleicos permitiram diferenciar o gênero *Streptococcus* em três diferentes gêneros: *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Lactococcus* (Garvie & Bramley 1979, Farrow et al. 1983, 1984, Collins et al. 1984a,b, Farrow & Collins 1984, Schleifer et al. 1985). Entretanto, a taxonomia do grupo "D" de Lancefield foi considerada insatisfatória, sendo então dividido em enterococos e não enterococos (Ludwig et al. 1985), onde no Grupo dos enterococos, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium* e *E. durans*, são os mais frequentemente isolados das mastites bovinas. (Schalm et al. 1971, Philpot & Pankey 1975, McDonald & McDonald 1976). Os lactococos e em especial *Lactococcus garvieae* até bem pouco tempo somente haviam sido descritos como agente infeccioso de trutas arco-íris, porém, recentemente esses organismos foram identificados como agentes etiológicos das mastites bubalinas no Estado do Rio de Janeiro (Vianni 1997).

Esse complexo etiológico e multifatorial das mastites dificulta o controle da doença, principalmente quando levamos em consideração a resistência desenvolvida pelos microrganismos aos antimicrobianos. O uso indiscriminado de antibióticos com dosagens inadequadas, principalmente em casos de mastite, favoreceu o desenvolvimento de cepas patogênicas multiresistentes, cuja ocorrência na glândula mamária vem sendo observada freqüentemente (Jhala 1976, Rahman & Baxi 1983a). Entretanto, rebanhos submetidos a poucas intervenções terapêuticas com antimicrobianos, apresentam grande sensibilidade, tanto assim que o teste de sensibilidade ao cloranfenicol pelo método da difusão em discos, em 217 amostras de *Staphylococcus aureus* isolados de casos de mastite subclínica em rebanhos bovinos praticamente isentos de tratamento terapêutico, mostrou resistência somente em 5,07% das amostras (Cardoso & Schwarz 1992).

Utilizando a técnica da difusão em discos, Langoni et al. (1994) estudaram a sensibilidade de amostras de *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* isolados da glândula

mamária de rebanhos bubalinos no Estado de São Paulo, observando que dentre os antimicrobianos testados, aqueles que apresentaram maior eficiência para ambos os agentes foram cloranfenicol, gentamicina e oxacilina. Jayaro & Oliver (1992), utilizando a mesma técnica em discos, testaram a resistência de estreptococos e enterococos isolados da secreção da glândula mamária de bovinos, com relação aos aminoglicosídeos e macrolídeos, verificando que em se tratando de enterococos, 80% das amostras isoladas foram resistentes à estreptomomicina, 30% à canamicina e somente 5% foram resistentes à gentamicina e ao cloranfenicol. Anteriormente, já havia sido encontrada uma resistência à gentamicina, para cepas de enterococos isoladas da glândula mamária de bovinos, da ordem de 14% (Owens et al. 1990). A literatura entretanto não cita testes de sensibilidade a antimicrobianos para amostras de enterococos isoladas da glândula mamária de bubalinos (Vianni 1997).

Tendo em vista a inexistência de informações sobre a resistência a antimicrobianos apresentada pelos agentes etiológicos das mastites bubalinas, principalmente com relação aos cocos Gram-positivos e catalase negativos, o presente trabalho teve como objetivo realizar um estudo sobre o perfil de sensibilidade desenvolvido no teste de difusão em agar entre 27 espécimes isolados do leite obtido de búfalas com mastite subclínica.

MATERIAL E MÉTODOS

Um estudo realizado em seis rebanhos bubalinos do Estado do Rio de Janeiro permitiu identificar através de testes bioquímicos, determinação do perfil de proteínas e testes de hibridização de DNA, 27 amostras de cocos Gram positivos e catalase negativas sendo 21 de *Lactococcus garvieae* e 6 de *Enterococcus gallinarum*.

O perfil de susceptibilidade destas amostras foi determinado frente aos principais agentes antimicrobianos através de testes de difusão em agar, conforme recomendações do *National Committee for Clinical Laboratory Standards* - NCCLS (1993). Assim, 3 a 5 colônias com as mesmas características morfológicas eram passadas para tubos de ensaio contendo 4 a 5 ml de *Tryptone Soy Broth* (TSB) e incubadas a 35°C por um período suficiente (2-6h) para apresentar uma turbidez equivalente a 0,5 da escala padrão de McFarland. Em seguida era feita a semeadura, com a ajuda de *swabs* sobre a superfície do meio de agar Müller-Hinton. A etapa seguinte consistia na colocação dos discos, fazendo-se leve pressão para permitir o contato entre os mesmos e a superfície do meio inoculado. Os agentes antimicrobianos utilizados foram ampicilina (10 µg), cefalotina (30 µg), cefazolina (30 µg), cefoxitina (30 µg), cloranfenicol (30 µg), eritromicina (15 mg), gentamicina (10 µg), nitrofurantoína (300 µg), norfloxacim (10 µg), penicilina (10 UI), tetraciclina (30 µg) e vancomicina (30 µg), utilizando-se como padrões *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Escherichia coli* ATCC 25922. A incubação ocorreu à temperatura de 37° C por um período de 24 horas, quando então era feita a leitura de acordo com o diâmetro de sensibilidade apresentado por cada amostra frente aos diversos antimicrobianos utilizados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados percentuais obtidos para determinação do perfil de sensibilidade em testes de difusão em "agar" para as 21

Quadro 1. Determinação da susceptibilidade de amostras de *Lactococcus garvieae* e *Enterococcus gallinarum* de origem bubalina frente a 12 antimicrobianos através de testes de difusão em agar

Antimicrobianos	Percentual de amostras			
	<i>L. garvieae</i> ^b		<i>E. gallinarum</i>	
	S	R	S	R
Cloranfenicol (30 µg) ^a	9,53	90,47	16,67	83,33
Vancomicina (30 µg)	52,38	47,62	-	100,00
Gentamicina (10 µg)	23,80	76,20	33,34	66,66
Penicilina (10 U.I.)	4,76	95,24	16,67	83,33
Ampicilina (10 µg)	4,76	95,24	16,67	83,33
Eritromicina (15 µg)	19,05	80,95	33,34	66,66
Tetraciclina (30 µg)	14,28	85,72	-	100,00
Cefoxitina (30 µg)	14,28	85,72	16,67	83,33
Cefalotina (30 µg)	47,62	52,38	16,67	83,33
Cefotaxima (30 µg)	61,90	38,10	16,67	83,33
Norfloxacina (10 µg)	47,62	52,38	16,67	83,33
Nitrofurantoína (300 µg)	85,71	14,28	16,67	83,33

^aConcentração dos antimicrobianos.

^bS = sensível, R = resistente.

Quadro 2. Comparação entre os percentuais de susceptibilidade a antimicrobianos descritos na literatura para cocos Gram-positivos catalase negativos de origem bubalina e aqueles observados neste estudo

Autores	Antimicrobianos				
	Pe ^a	Er	Cl	Ni	Te
Jhala (1976)	4,00	15,0	52,00	-	-
Suri Babu et al. (1979)	87,50	-	100,00	87,50	100,0
Kalorey et al. (1983)	85,30	42,90	100,00	71,40	71,40
Rahman & Baxi (1983)	79,20	77,80	77,80	81,90	54,20
<i>L. garvieae</i> (presente estudo)	4,76	19,05	9,53	85,71	14,28
<i>E. gallinarum</i> (presente estudo)	16,67	33,34	16,67	83,34	zero

^a Pe = penicilina, Er = eritromicina, Ni = nitrofurantoína, Te = tetraciclina, Cl = cloranfenicol.

amostras de *Lactococcus garvieae* e 6 de *Enterococcus gallinarum*, bem como a comparação entre percentuais de sensibilidade descritos pela literatura para cocos Gram positivos catalase negativos de origem bubalina e aqueles obtidos nesse trabalho, estão expressos respectivamente nos Quadros 1 e 2.

Na espécie humana, a resistência dos enterococos aos diferentes antimicrobianos tem sido bastante divulgada e caracterizada, entretanto, a literatura é extremamente limitada em se tratando de amostras originárias da glândula mamária de bovinos (Jayaro & Oliver 1992, Rossito et al. 2002); com relação aos bubalinos, esta escassez é ainda maior.

O Quadro 1 evidencia os resultados dos testes de sensibilidade, por difusão em agar, a 12 antimicrobianos realizadas em 21 amostras de *Lactococcus garvieae* e 6 de *Enterococcus gallinarum*. Comparando-se os resultados entre os dois agentes etiológicos, nota-se que *Enterococcus gallinarum* com relação a cloranfenicol, gentamicina, penicilina, ampicilina, eritromicina e cefoxitina apresentou índices de sensibilidade aos antimicrobianos testados maiores do que aqueles apresentados por *Lactococcus garvieae*.

Jayaro & Oliver (1992) observaram que em enterococos

isolados da glândula mamária de bovinos, somente 5% apresentaram resistência a gentamicina e cloranfenicol, enquanto que no presente estudo, a resistência apresentada por *Enterococcus gallinarum* foi da ordem de 66,66% para a gentamicina e 83,33% em relação ao cloranfenicol. Quanto às cefalosporinas, penicilina, ampicilina, norfloxacin e nitrofurantoína, foi possível observar uma alta resistência (83,33%) das cepas de *Enterococcus gallinarum*, porém menor resistência foi apresentada com relação a gentamicina (66,66%) e eritromicina (66,66%). Os resultados citados por Stern (1993) para cepas de enterococos de origem humana, mostraram índices de resistência da ordem de 43,00% contra 66,66% do presente trabalho para a eritromicina. Com relação à vancomicina, todas as seis amostras apresentaram-se resistentes a este antimicrobiano, de acordo com os novos critérios adotados para enterococos, que considera como resistentes as amostras que apresentarem um diâmetro do halo de inibição de crescimento ≤ 14 mm (NCCLS 1991).

Em contrapartida, as 21 amostras de *Lactococcus garvieae* se apresentaram sensíveis a vancomicina, porém, elevada resistência foi observada em relação a outros antimicrobianos testados, destacando-se a penicilina (95,24%), ampicilina (95,24%) e o cloranfenicol (90,47%). Quando se analisou a sensibilidade demonstrada pelas amostras de *Lactococcus garvieae* aos antimicrobianos mais utilizados na terapêutica das mastites bovinas, ficou evidenciado que o cloranfenicol foi menos eficiente do que a gentamicina já que, a resistência destes microrganismos foi da ordem de 90,47% e 76,20% respectivamente. Quanto às cefalosporinas, houve sensibilidade acima de 50% somente para a cefotaxima (61,90%), enquanto que a cefalotina (47,62%) e a cefoxitina (14,28%) se apresentaram menos sensíveis.

Dentre os antimicrobianos testados, a nitrofurantoína não é rotineiramente recomendada para o tratamento das mastites causadas por cocos Gram positivos. Entretanto, demonstrou ser o mais eficiente frente as amostras de *Lactococcus garvieae*, com uma sensibilidade de 85,71%, embora o mesmo não tenha ocorrido com relação às amostras de *Enterococcus gallinarum* (16,67%).

Os índices percentuais de resistência aos antimicrobianos demonstrados por estes microrganismos, associado à falta de informações sobre o assunto, exige um cuidado muito grande com relação ao seu uso, principalmente por se tratar de rebanhos "virgens", ou seja, que nunca foram medicados e por isso mesmo, não foram expostos a condições adversas que propiciam o desenvolvimento de resistência.

Apesar da literatura não citar trabalhos sobre a sensibilidade de enterococos isolados da glândula mamária de bubalinos, o Quadro 2 compara os dados obtidos nas amostras de *Lactococcus garvieae* e *Enterococcus gallinarum* com aqueles fornecidos por diversos autores, os quais testaram amostras de estreptococos (outros cocos catalase negativos). É possível verificar que à semelhança de Jhala (1976), que obteve para estreptococos uma sensibilidade de 4% para a penicilina, *Lactococcus garvieae* também demonstrou a este mesmo antimicrobiano uma sensibilidade de 4,76%, entretanto para *Enterococcus gallinarum* tal sensibilidade foi maior (16,67%).

Com relação a eritromicina, os índices de sensibilidade apresentados pelos diversos autores divergiram entre si, porém Jhala (1976) obteve 15% de sensibilidade, valor próximo àquele apresentado pelas amostras de *Lactococcus garvieae* (19,05%) isoladas no presente estudo.

Suri Babu et al. (1979) e Kalorey et al. (1983) obtiveram uma sensibilidade de 100% ao cloranfenicol enquanto que, no presente trabalho, *Lactococcus garvieae* apresentou 9,53% e *Enterococcus gallinarum* 16,67% de sensibilidade.

À semelhança dos dados obtidos para *Lactococcus garvieae* (85,71%) em relação à nitrofurantoína, Suri Babu et al. (1979), Kalorey et al. (1983) e Rahman & Baxi (1983), também apresentaram elevados índices de sensibilidade, respectivamente 71,4% e 81,90%.

A tetraciclina não demonstrou sensibilidade sobre *Enterococcus gallinarum* e quanto a *Lactococcus garvieae* tal sensibilidade foi somente de 14,28%. Contrastando com tais resultados, Suri Babu et al. (1983), encontraram 100% de sensibilidade a este antimicrobiano. Índices mais baixos porém foram evidenciados por Kalorey et al. (1983) e Rahman & Baxi (1983), respectivamente 71,40% e 54,20%.

De acordo com os resultados apresentados nesse estudo, foi possível concluir que os índices percentuais de susceptibilidade de *Enterococcus gallinarum* frente aos antimicrobianos testados foram superiores àqueles demonstrados pelas amostras de *Lactococcus garvieae*, somente tendo havido sensibilidade inferior a este segundo agente com relação a cefalotina, cefotaxima e nitrofurantoína; a nitrofurantoína foi o antimicrobiano que demonstrou maior eficiência *in vitro* tanto para *Lactococcus garvieae* (85,71%) como para *Enterococcus gallinarum* (83,34%); e as seis amostras de *Enterococcus gallinarum* (100%) se apresentaram resistentes à vancomicina pelo teste de difusão em agar.

REFERÊNCIAS

- Affifi Y.A. & Barrada M.S. 1969. Factores affecting the incidence of clinical mastitis in Friesian cows and buffaloes under the prevailing farm conditions in Uar. J. Anim. Prod. 9:197-210.
- Blood D.C. & Radostis O. M. 1991. Mastite, p.423-470. In: Clínica Veterinária. 7ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Bramley A.Y. & Dodd F.H. 1984. Reviews of the progress of dairy science: mastitis control - progress and prospects. J. Dairy Res. 51:481-512.
- Cardoso M. & Schwarz S. 1992. Chloranphenicol resistance plasmids in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. Vet. Microbiol. 30:223-232.
- Char N.L., Rao P. & Rao R. 1983. Studies on mastitis in buffaloes. Livest. Ad. 3:19-22.
- Collins M.D., Farrow J.A.E., Katic V. & Kandler O. 1984a. Taxonomic studies on streptococci of serological groups E, P, U and V: description of *S. porcinus* sp. nov. Syst. Appl. Microbiol. 5:402-413.
- Collins M.D., Jones D., Farrow J.A.E., Kilpper-Balz R. & Schleifer K.H. 1984b. *Enterococcus avium* nom. rev. comb. nov., *E. casseliflavus* nom. rev. comb. nov., *E. durans* nov. rev. comb. nov., *E. gallinarum* comb. nov., and *E. malodoratus* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 34:220-223.
- Devriese L.A. 1979. Identification of clumping-factor-negative staphylococci isolated from cow udders. Res. Vet. Sci. 27:313-320.
- Farrow J.A.E. & Collins M.D. 1984. Taxonomic studies on streptococci of serological groups C, G and L and possibly related taxa. Syst. Appl. Microbiol. 5:483-493.

- Farrow J.A.E., Krueze J., Phillips B.A., Bramley A.J. & Collins M.D. 1984. Taxonomic studies on *Streptococcus bovis* and *Streptococcus equinus*: description of *Streptococcus alactolyticus* sp. nov. and *Streptococcus saccharolyticus* sp. nov. Syst. Appl. Microbiol. 5:467-482.
- Fernandes J.C.T., Moojen V. & Ferreiro L. 1973. Agentes etiológicos das mastites bovinas na bacia leiteira de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Arq. Fac. Vet., UFRGS, 1:41-46.
- Ferreiro L. 1980. Agentes etiológicos e terapêutica da mastite bovina no Brasil. Revta Inst. Lat. Candido Tostes., set/out, p. 37-41.
- Ferreiro L. 1984. Mastite bovina: causas e conseqüências na produção e qualidade do leite do gado mestiço da microregião de Juiz de Fora-MG. Bolm 3 Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite, Embrapa, Coronel Pacheco, MG, p. 1-8.
- Ferreiro L., Santos E.C. & Silva M. 1981. Ocorrência e etiologia da mastite bovina na zona da mata do Estado de Minas Gerais. Arq. Esc. Vet., UFMG, 33:31-37.
- Garvie E.I. & Bramley A.J. 1979. *Streptococcus uberis*: an approach to its classification. J. Appl. Bacteriol. 46:295-304.
- Jaffery M.S. & Rizvi A.R. 1975. Aetiology of mastitis in Nili-Ravi buffaloes of Pakistan. Acta Trop. 32:75-78.
- Jayaro B.M. & Oliver S.P. 1992. Aminoglycoside-resistant *Streptococcus* and *Enterococcus* species isolated from bovine mammary secretions. J. Dairy Sci. 75:991-997.
- Jhala V.M. 1976. In vitro trials on antibiotic sensitivity of bacteria in milk samples received at gujarat Veterinary College Anand. Indian Vet. J. 53:247-251.
- Kalorey D.R., Purohit J.H. & Dholakia P.M. 1983. Studies on the incidence of subclinical mastitis, its aetiology and in vitro sensitivity of isolates. Indian J. Anim. Sci. 53:961-963.
- Kalra D.S. & Dhanda M.R. 1984. Incidence of mastitis in cows and buffaloes in North-West. Indian Vet. Rec. 76:214-222.
- Khalaf F.A.M. 1989. Studies on mastitis in buffaloes in Iraq with particular reference to prevalence rates, etiology and diagnosis, p. 13-15. In: Proc. 3rd Int. Symposium World Assoc. Vet. Laboratory Diagnosticians, Ames, Iowa.
- Langenegger J., Vianni M.C.E. & Bahia M.G. 1981. Efeito do agente etiológico da mastite subclínica sobre a produção de leite. Pesq. Vet. Bras. 1:47-52.
- Langoni H., Domingues P.F., Molero Filho J.R., Baldini S. & Listoni F.J.P. 1994. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite bubalina subclínica, p.328. In: XXIII Congr. Bras. Med. Vet., Olinda, Pernambuco. (Resumo)
- Leite R.C., Brito J.R.F. & Figueiredo J.B. 1976. Alterações da glândula mamária de vacas tratadas intensivamente via mamária, com penicilina em veículo aquoso. Arq. Esc. Vet., UFMG, 28:27-31.
- Ludwig W., Seewaldt E., Kilpper-Balz R., Schleifer K.H., Woese C.R., Fox G.E. & Stackebrandt E. 1985. The phylogenetic position of *Streptococcus* and *Enterococcus*. J. Gen. Microbiol. 131:543-551.
- McDonald T.J. & McDonald J.S. 1976. Streptococci isolated from bovine intramammary infections. Am. J. Vet. Res. 37:377-381.
- NCCLS 1991. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Third Information Supplement: M100-S3. National Committee for Clinical Laboratories Standards, Villanova, Pa.
- NCCLS 1993. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 5th ed. Approved Standard: M2-A5. National Committee for Clinical Laboratories Standards, Villanova, Pa.
- Noori S.I. & Tauro P. 1979. Lucidence and extent of subclinical mastitis due to *Staphylococcus aureus*. Indian J. Dairy Sci. 32:82-83.
- Owens W.E., Watts J.H., Greene B.B. & Ray C.H. 1990. Minimum inhibitory concentrations and disk diffusion zone diameter for selected antibiotics against streptococci isolated from bovine intramammary infections. J. Dairy Sci. 73:1225-1231.
- Pal B.C., Singh P.P. & Pathak R.C. 1979. Studies on detection of subclinical staphylococcal bovine mastites. Indian Vet. J. 56:904-906.
- Pedersen P.S., Madsen J.A., Haeschen W., Neave F.K. Newbould, F.H.S. & Schultze, W.D. 1981. Isolation and identification of mastitis bacteria, p. 21-22. In: Dodd F.H. (ed.) Laboratory Methods for Use in Mastitis Work. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- Philpot W.N. & Pankey J.W. 1975. Review of microorganisms that reportedly cause mastitis, p.118-120. In: Dairy Research Report, Hill Farm Research Station, Homer, Los Angeles.
- Rahman H. & Baxi K.K. 1983a. Antibiogram of pathogens isolated from clinical cases of mastitis. Indian Vet. J. 60:434-437.
- Rahman H. & Baxi K.K. 1983b. Studies on staphylococcal mastitis in bovine. Indian Vet. J. 60:865-869.
- Rasool G., Jabbar M.A., Kazmi S.Z. & Ahmad Ali C. 1985. Incidence of subclinical mastitis in Nili-Ravi buffaloes and salriwal cows. Pakistan Vet. J. 5:76-78.
- Rossito P.V., Ruiz I., Kikuchi Y., Glenn K., Luiz K., Watts J.L. & Cullor J.S. 2002. Antibiotic susceptibility patterns for environmental streptococci isolated from bovine mastitis in Central California Dairies. J. Dairy Sci. 85:132-138.
- Schalm O.W., Carroll E.J. & Jain N.C. 1971. Bovine Mastitis. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Schleifer K.H., Kraus J., Dvorak C. Kilpper-Balz, Collins M.D. & Fischer U. 1985. Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus*. Syst. Appl. Microbiology 6:183-195.
- Stern C.S. 1993. Estudos de marcadores biológicos e epidemiológicos de microorganismos do gênero *Enterococcus*. Tese de Doutorado, Univ. Fed. Rio de Janeiro, RJ. 135 p.
- Suri-Babu T., Pargaonkar V.N., Gopalakrishna M. & Pandurangarao V. 1979. Study of antibiotic sensitivity pattern of mastitis milk. Indian Vet. J. 56:211-213.
- Syamasundar N. & Choudhur P.C. 1988. A study on the prevalence of subclinical mastitis in buffaloes. Indian J. Dairy Sci. 4:353-354.
- Tuteja F.C., Kapur M.P. & Vinayaka A.K. 1993. Studies on bovine subclinical mastitis: Prevalence and microflora. Indian Vet. J. 70:787-791.
- Vianni M.C.E. 1986. Influência de agentes etiológicos da mastite subclínica bovina sobre as características físico-químicas do leite. Tese de Mestrado, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 113p.
- Vianni M.C.E. 1997. Etiologia das mastites subclínicas bubalinas e sua influência sobre as características do leite. Tese de Doutorado, Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ. 162p.
- Watts J.L. 1986. Etiological agents of bovine mastitis. Vet. Microbiol. 16:41-66.