

EFEITOS DA MASTITE POR *Staphylococcus* COAGULASE NEGATIVA SOBRE A QUALIDADE DO LEITE: UMA REVISÃO

Amanda Thaís Ferreira SILVA¹, Huber RIZZO¹

RESUMO

Infecções intramamárias por *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN) têm sido relatadas em muitos sistemas de produção leiteira no mundo todo. A qualidade do leite é definida com base na sua composição e higiene. A contagem de células somáticas (CCS) é considerada como o principal indicador de qualidade do leite e da situação da mastite nos rebanhos. Objetivou-se assim, estudar as consequências da mastite por SCN sobre a qualidade do leite através de um estudo de meta-análise. Concluiu-se que os SCN são patógenos emergentes e que vêm causando graves consequências sobre a qualidade do leite.

Palavras-chave: Mastite. *Staphylococcus* coagulase negativa. Qualidade do leite.

ABSTRACT

Coagulase negative *Staphylococcus* (CNS) intramammary infections have been reported in many dairy production systems worldwide. Milk quality is defined based on its composition and hygiene. Somatic Cell Count (CCS) is considered the main indicator of milk quality and of the mastitis situation in herds. The aim of this study was to investigate the effects of CNS mastitis on milk quality through a meta-analysis study. In this context, the research pointed out that CNS are emerging pathogens and have been causing serious consequences on milk quality.

Keywords: Mastitis. Coagulase-negative *Staphylococcus*. Milk quality.

INTRODUÇÃO

A mastite é considerada a principal doença que afeta os rebanhos leiteiros no mundo, proporcionando as maiores perdas econômicas, além de causar prejuízos tanto ao produtor quanto à indústria de produtos lácteos (BEZMAN et al., 2015, p.304; LAFFRANCHI et al., 2011, p.1027).

Bactérias do gênero *Staphylococcus spp* têm uma grande importância na etiologia das infecções intramamárias do gado leiteiro, sendo a espécie *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN) considerada um patógeno emergente e importante na etiologia da mastite (TOMAZI, 2013).

Esses microrganismos, antes considerados contaminantes, agora são causa frequente de mastite, principalmente subclínica (CAPURRO et al., 2009, p.327; TAPONEN et al., 2007, p.3301). Além disso, são comumente considerados oportunistas, pois normalmente são encontrados na pele do teto e podem ter acesso ao interior da glândula mamária resultando na infecção intramamária (TAPONEN et al., 2007, p.3301).

¹ Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE – RECIFE/PE - BRASIL, amanda.tfs@gmail.com

Segundo Santos e Reis (2009) esses patógenos são descritos como os mais frequentemente isolados em amostras de leite, tanto de vacas em lactação quanto de novilhas, formando um grupo de bactérias conhecido como patógenos secundários, por terem baixa patogenicidade (ou seja, causam poucos danos na glândula mamária).

Pyorala e Taponen (2009, p.3) concluíram que os SCN podem causar uma infecção persistente, quando capazes de permanecer na glândula mamária, resultando em um aumento da contagem de células somáticas do leite, afetando sua qualidade e diminuindo sua produção.

A qualidade do leite é estabelecida a partir da sua qualidade microbiológica, podendo ser um bom indicativo da sanidade da glândula mamária do rebanho e das condições gerais de manejo e higiene adotados na propriedade (SANTOS; FONSECA, 2007).

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão sistemática sobre as consequências da mastite causada por *Staphylococcus* coagulase negativa sobre a qualidade do leite *in natura*.

Seleção de artigos

A revisão da literatura foi realizada por meio da identificação de artigos que abordassem a mastite por *Staphylococcus* coagulase negativa em bovinos e os efeitos da doença sobre a qualidade do leite. A seleção dos artigos foi realizada com a ferramenta de busca da internet nas seguintes bases de dados: SCOPUS (<http://www.scopus.com/>), PubMed Central (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>) e SciELO (<http://www.scielo.org>), sendo utilizadas as palavras chaves: mastite, *Staphylococcus* coagulase negativa e qualidade do leite (mastites, Coagulase-negative *Staphylococcus*, milk quality). Os critérios de seleção utilizados foram os seguintes: (1) artigos publicados em inglês ou português, (2) artigos publicados nos últimos dez anos.

Conceitos sobre a mastite

A mastite é um processo inflamatório da glândula mamária, de caráter multifatorial, envolvendo diversos patógenos, o ambiente e fatores inerentes ao animal (COSER, 2012). A doença é frequentemente causada por bactérias que provocam alterações na composição do leite, afetando adversamente a qualidade e podendo reduzir

o valor do leite pago ao produtor (ZHAO; LACASSE, 2008, p.57; HURLEY, 2017).

Amplamente difundidas na indústria leiteira, as infecções intramamárias (IIM) têm sido consideradas as mais persistentes e disseminadas doenças que têm importância sobre a higiene do leite em todo o mundo (BEZMAN et al., 2015, p.304; AMARAL et al., 2014, p.173).

A ocorrência da mastite nos rebanhos leiteiros está relacionada, sobretudo, ao manejo de ordenha. Desse modo, é importante que o ordenhador tenha consciência dos procedimentos adequados de ordenha, principalmente a respeito das formas apropriadas de higienização e desinfecção do ambiente, do animal, do profissional e dos utensílios utilizados na ordenha (COSER, 2012).

Existem duas formas de apresentação da doença, sendo elas: mastite clínica, quando as alterações são visíveis macroscopicamente e mastite subclínica, quando as alterações não são visíveis a olho nu (FONSECA; SANTOS, 2000; DIAS, 2007).

A identificação dos animais com mastite clínica pode ocorrer a partir dos sinais clínicos, como dor, em um ou mais quartos, recusa à ordenha, e leite com sangue, pus, flocos ou dessorando (RADOSTITS et al., 2002) e pela realização, antes da ordenha, do teste da caneca de fundo preto, buscando-se avaliar a presença de grumos, secreção purulenta, sangue ou leite aquoso (DIAS, 2007, p.23).

A mastite subclínica, por não apresentar sinais visíveis, pode passar despercebida pelos ordenhadores e ser disseminada por todo o rebanho. Além disso, pode ocorrer destruição da capacidade funcional da glândula mamária, causando diminuição da produção leiteira e prejuízos à saúde do animal (DIAS, 2007, p.23). No tocante ao diagnóstico de mastite subclínica, o mesmo será realizado por meio do Califórnia Mastite Teste (CMT) ou pela Contagem de Células Somáticas (CCS) (CHANG et al., 2004, p.251).

Em relação ao agente infeccioso, a mastite pode ser classificada como ambiental ou contagiosa (BLOWEY; EDMONDSON, 2010). Os principais microrganismos causadores de mastite são agrupados, quanto à sua origem e ao modo de transmissão, em dois grupos: agentes das mastites contagiosas e agentes das mastites ambientais (FONSECA; SANTOS, 2001).

Observa-se, no Brasil, uma elevada ocorrência do gênero *Staphylococcus* spp. nos casos de mastites na espécie bovina (ACOSTA et al., 2016, p.565; SOUTO et al., 2010,

p.63; BRITO et al., 1999, p.129) e, nos últimos anos, os *Staphylococcus* Coagulase Negativa (SCN) têm sido isolados com maior frequência em amostras de leite em diversos países (HEINZE et al., 2015, p.61; TOMAZI, 2013; SCHUKKEN et al. 2009, p.393; TAPONEN, 2007).

O Gênero *Staphylococcus*

Os *Staphylococcus spp.* são cocos Gram-positivos, imóveis, anaeróbios facultativos, apresentando metabolismo fermentativo com produção de ácido e não gás e capazes de crescer em meio contendo NaCl a 10% e a temperatura ótima de crescimento se encontra entre 30°C e 37°C (GOMES, 2011; PYÖRÄLÄ; TAPONEN, 2009; HOLT et al., 1994; BANNERMAN; KLEEMAN; KLOOS, 1993, p.1322).

No diagnóstico da mastite, usualmente se faz a diferenciação dos *Staphylococcus em Staphylococcus* coagulase positiva e *Staphylococcus* coagulase negativa com base na capacidade de coagular o plasma de coelho (NMC, 1999).

Um dos principais patógenos primários, o *Staphylococcus aureus*, é classificado como coagulase-positivo. Enquanto os isolados de amostras, com reação negativa na prova de coagulase, é identificado como *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN) (TOMAZI, 2013).

Os SCN são os microrganismos mais isolados de amostra de leite em diferentes países, destacando-se a importância destes microrganismos na sanidade de vacas e novilhas para produção leiteira (DE VISSCHER, 2017). Estes agentes são designados como "flora oportunista da pele do teto", uma vez que são parte da microbiota natural da pele dos bovinos, e, apesar de serem classificados como patógenos de baixa patogenicidade, quando a infecção se torna persistente na glândula mamária, começam a serem visualizadas as consequências da infecção (SANTOS; REIS, 2009, p.629).

Espécies de *Staphylococcus* coagulase negativo (SCN) relacionadas com a mastite

De acordo com Kloos e Bannerman (1994), os *Staphylococcus* coagulase negativos são o grupo de microrganismos bacterianos que compõe a maior parte das espécies do gênero *Staphylococcus*, sendo responsáveis por infecções oportunistas em seres humanos e em animais.

Segundo Taponen (2008), quarenta espécies de *Staphylococcus* já foram

identificadas, dez possuem subespécies, o que totaliza 52 espécies e subespécies. O estudo de Santos et al. (2011) constatou que as espécies de SCN identificadas como mais frequência em casos de mastite bovina são: *S. hyicus* (15,0%), *S. chromogenes* (12,5%), *S. gallinarum* (12,5%), *S. lentus* (12,5%) e *S. epidermidis* (10,8%). Assim, apesar da grande diversidade entre as espécies de SCN, o *Staphylococcus hyicus* foi a espécie mais isolada.

Por outro lado, Taponen et al. (2006, p.199) obtiveram maior frequência de isolamentos de *S. simulans* (43,6%), seguido de *S. chromogenes* (23,3%) entre SCN isolados de casos de mastite bovina. No entanto, recentemente, Nyman, Fasth e Waller (2018) identificaram em estudo que as infecções intramamárias persistentes são mais comuns nos quartos mamários com *S. hyicus*.

Mastite por SCN

O grupo de bactérias *Staphylococcus* coagulase negativos tem sido frequentemente isolado em casos de mastite em vacas e novilhas dos rebanhos, sendo considerados como agentes patogênicos emergentes da mastite bovina (PYÖRÄLA, TAPONEN, 2009).

As vacas e novilhas podem ser infectadas por SCN antes do parto, havendo maior prevalência das mastites por SCN em primíparas (DUFOUR et al, 2012, p.3110; TAPONEN, 2006, p.199; DE VLIEGHER et al., 2003, p.245).

Sugere-se que a mastite causada por SCN resulta em sinais clínicos locais leves, como leve rubor e pouca alteração na aparência do leite, por outro lado, existem poucos estudos sobre os sinais clínicos da mastite ocasionada por SCN (TOMAZI, 2013).

Geralmente, por serem leves, as infecções limitam-se a grumos no leite devidos a alterações locais no úbere e muitas destas infecções curam-se espontaneamente. No entanto, pontualmente também se observam animais com infecções intramamárias por SCN com sintomas a nível sistêmico e animais com infecções persistentes que podem ter uma duração de vários meses (OIKONOMOU et al., 2012).

Efeito da mastite causada por SCN sobre a produção de leite

Perdas na produção de leite podem estar relacionadas com a persistência de infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus* coagulase negativa e aos danos

causados na glândula mamária (THORBERG et al., 2009, p.4962).

Os SCN são a principal causa de mastite de vacas de primeira lactação, o que sugere que estes agentes possam ser responsáveis por possíveis reduções de produção de leite nos rebanhos.

Assim, uma vez que as glândulas mamárias de novilhas com infecção no pré-parto causadas por SCN são menos desenvolvidas e apresentam maior infiltração leucocitária que quartos sadios, sugere-se que infecções intramamárias causadas por SCN podem causar lesões na glândula mamária que comprometem a produção e a qualidade do leite (BEZMAN et al., 2015, p.304; PIEPERS, 2011, p.91; KLOOS; BANNERMAN, 1994, p.1322).

Efeito da mastite causada por SCN sobre a CCS e a composição do leite

Staphylococcus coagulase negativa é considerado um grupo de agentes secundários da mastite que normalmente causam infecções intramamárias subclínicas com aumento moderado de CCS (ZIMERMANN; ARAUJO, 2017, p.1; TOMAZI, 2013). A alta prevalência destes agentes em rebanhos leiteiros tem despertado o interesse em práticas de controle e tratamento, principalmente em rebanhos de média CCS (DE VISSCHER, 2017, p.629; BI et al., 2016; SAMPIMON et al., 2010, p.200; SCHUKKEN, 2009, p.9; SCHUKKEN, 2003, p.579).

A infecção por SCN causa grandes prejuízos ao produtor, como gastos com medicamentos, descarte de leite com antibióticos, descarte precoce de vacas, alteração na composição do leite (diminuição da gordura, caseína e lactose no leite) e perda da bonificação no pagamento do leite pelos laticínios (TOMAZI, 2013; SCHUKKEN, 1989, p.393).

Segundo Pereira et al. (2010, p.18), as alterações dos componentes do leite são reflexo do aumento na permeabilidade vascular da glândula mamária, determinando aumento da passagem de substâncias do sangue para o leite e pela redução de síntese de células secretoras, podendo modificar a concentração dos três principais componentes do leite: gordura, proteína e lactose.

De acordo com Brito e Brito (2015) as alterações na gordura do leite ocorrem pela ação da lipase nas membranas dos glóbulos de gordura, enquanto a proteólise da caseína se dá devido à presença de plasmina e enzimas proteolíticas de leucócitos e de bactérias

e, em adição, há uma redução na produção de lactose devido aos danos à glândula mamária resultantes da infecção.

Efeito da mastite causada por SCN sobre as características físico-químicas do leite

As alterações mais evidenciadas nas características físico-químicas do leite ocorrem em termos de condutividade elétrica e pH. No leite de vacas acometidas por infecção intramamária por SCN, a condutividade elétrica é aumentada devido à maior concentração dos íons Na⁺ e Cl. Enquanto o pH aumenta de 6,7, para 7,0 (SANTOS; FONSECA, 2007).

Métodos de identificação microbiológica dos SCN

Rotineiramente, a identificação de *Staphylococcus* spp. é baseada no aspecto morfológico das colônias, coloração de Gram e produção de catalase e coagulase. O que define o grupo de SCN é a reação negativa na prova de coagulase, o que é uma característica fenotípica da bactéria (BRITTEN, 2012, p.187).

Devido à alta prevalência de SCN em rebanhos leiteiros e às diferenças epidemiológicas entre as espécies que compõem esse grupo de microrganismos, justifica-se a necessidade de métodos rápidos, precisos e baratos para sua identificação (ZADOKS; WATTS, 2009, p.20).

Os métodos de identificação fenotípica são baseados na expressão de características genéticas dos isolados bacterianos. Entretanto, a variabilidade de expressão das características fenotípicas e a subjetividade da interpretação dos resultados são fatores limitantes para a reprodutibilidade do teste (RUEGG, 2009; ZADOKS; WATTS, 2009).

Os métodos de identificação genotípica, como reação da cadeia em polimerase (PCR), sequenciamento de genes de manutenção e genotipagem por meio polimorfismo do comprimento de fragmentos amplificados (AFLP) são muito eficientes para propósitos científicos (TAPONEN et al., 2007). No entanto, os seus usos a campo não estão difundidos por falta de definição quanto aos fatores de patogenicidade e devido aos potenciais prejuízos causados pelas diferentes espécies de SCN (RUEGG, 2009; TAPONEN et al., 2007, p. 3301).

Os estudos *proteômicos*, destacando-se a espectrometria de massas (MS),

permitem a identificação rápida do microrganismo através diferenciação de perfis proteicos bacterianos (CAMERON, 2017, p.2137; HEIN, 2013, p.3). A espectrometria de massas MALDI-TOF MS permite a especiação correta dos *Staphylococcus* coagulase negativos, tornando o diagnóstico da mastite mais rápido, preciso e espécie-específico (NYMAN; FASTH; WALLER, 2018; MARÍN et al., 2017). Assim, a identificação das diferentes espécies de SCN é importante para determinar a sua patogenicidade e desenvolver práticas de manejo específicas para prevenir a mastite.

Tratamento de mastite por SCN X Resistência a antimicrobianos

A porcentagem de cura espontânea de mastite por SCN é elevada (OIKONOMOU et al., 2012) pois os patógenos respondem bem à terapia antimicrobiana. Contudo, nem sempre o tratamento é eficaz, pois estes microrganismos podem ser classificados como *Staphylococcus* coagulase negativa novobiocina sensíveis e *Staphylococcus* coagulase negativa novobiocina resistentes (NMC, 1999).

O uso excessivo de antibióticos e as aplicações de doses sub-terapêuticas de antimicrobianos para a prevenção de doenças, promoção do crescimento e eficiência alimentar em animais de produção resulta no fenômeno da resistência às drogas antimicrobianas (SAMPIMON et al., 2011; SAWANT; GILLESPIE; OLIVER, 2009).

Os estudos de Sampimon et al. (2007) e Acosta et al. (2016) constataram que as drogas que as bactérias isoladas do leite oriundo de animais acometidos por mastite apresentam maior percentual de resistência são penicilina, ampicilina, amoxicilina e neomicina (ACOSTA, 2016; SAMPIMON, 2007).

Prevenção e controle da mastite por SNC

A presença da mastite nos rebanhos leiteiros pode estar relacionada às práticas deficientes de manejo, rotinas de ordenha inadequadas, equipamentos de ordenha defeituosos, condições sanitárias e ambientais insatisfatórias e a não utilização de métodos de controle (TOMAZI, 2013).

É importante que os produtores de leite e outros trabalhadores da área reconheçam que a mastite resulta da interação de muitos fatores ambientais e de manejo, aumentando a exposição das vacas aos microrganismos, reduzindo a resistência natural à doença e/ou auxiliando os microrganismos a terem acesso à glândula mamária pelo canal do teto

(SANTOS; FONSECA, 2007).

Segundo Coser (2012), os princípios básicos para o controle de mastite compreendem o monitoramento da saúde da glândula mamária, as eliminações de infecções existentes e a prevenção de novas. Entre vários critérios de avaliação, a CCS do tanque, a porcentagem de vacas com CCS alta, a ocorrência de mastite clínica e a distribuição dos agentes causadores de mastite são as principais formas de se diagnosticar a situação do rebanho.

Instrução normativa 62 (IN 62): Qualidade do leite no brasil

Entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2011).

O leite é um meio de cultura ideal para o crescimento de microrganismos, que quando encontram condições ideais de temperatura e de nutrientes, passam a se multiplicar e podem atingir números muito elevados. O controle microbiológico avalia o risco que o leite pode apresentar para a saúde do consumidor quando possui microrganismos patogênicos ou suas toxinas (SANTOS, FONSECA, 2007).

A qualidade do leite *in natura* engloba critérios relacionados à composição (gordura, proteína, lactose, sólidos totais) e higiene [contagem total de bactérias, contagem de células somáticas (CCS)], ausência de patógenos, ausência de resíduos de drogas veterinárias (NOUSIAINEN et al., 2007, p.255; BRITO;BRITO, 2015). Sendo a contagem de células somáticas (CCS) considerada como o principal indicador de qualidade, além de indicar a situação de mastite nos rebanhos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os *Staphylococcus* coagulase negativos têm sido os microrganismos mais comumente identificados nas análises microbiológicas do leite de animais com mastite, tratando-se de um patógeno emergente.

Sob esse olhar, o estudo evidenciou que a mastite por SCN influencia diretamente na qualidade do leite, ao alterar sua composição e higiene. Assim, constata-se que o monitoramento contínuo da mastite por SCN nos rebanhos é imprescindível para a manutenção da qualidade do leite produzido.

Desta forma, percebe-se que a prevenção é a chave para combater o problema, no entanto, mais conhecimento e experiência são necessários para que o controle e as estratégias de prevenção sejam mais efetivos.

Nesse contexto, conclui-se que a realização de um acompanhamento de mastite no rebanho torna-se de grande auxílio para o controle da enfermidade e para se evitar a disseminação do patógeno.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, A. C. et al. Mastites em ruminantes no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, n.7, p. 565-573, jul., 2016.
- AMARAL, L. A. Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, n.4, p.173-177, out./dez., 2004.
- BANNERMAN, T. L.; KLEEMAN, K. T.; KLOOS, W. E. Evaluation of the Vitek Systems Gram-Positive Identification card for species identification of coagulase-negative staphylococci. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, p. 1322-1325, 1993.
- BEZMAN, D. et al. Influence of intramammary infection of a single gland in dairy cows on the cow's milk quality. **Journal of Dairy Research**, v.82, n.3, p. 304-311, ago., 2015.
- BI, Y. et al. Prevalence of Bovine Mastitis Pathogens in Bulk Tank Milk in China. **PLoS One**, v.11, n.5, 2016.
- BLOWEY, R. W., EDMONDSON, P. Mastitis control in dairy herds. 2. ed. S.l.: **CAB International**, 2010, p. 266.
- BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. **Veterinary Journal**, Les Ulis, v.164, p.116-128, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 de dezembro de 2011, Seção 1.
- BRITTEN, A. M. The Role of diagnostic microbiology in mastitis control programs. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 28, n. 2, p. 187-202, 2012.
- BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F. B. **Qualidade do leite**. Embrapa, 2005.
Disponível em: <http://www.fernandomadalena.com/site_arquivos/903.pdf>. Acesso

em: 02 dez 2017.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F. B. Qualidade e Segurança do Leite e Derivados. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, Recife, v.18, n 2, maio/agosto, 2015.

BRITO, M. A. V. P. et al. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, p. 129-135, 1999.

CAMERON, M. et al. Identification of bovine-associated coagulase-negative staphylococci by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry using a direct transfer protocol. **Journal of Dairy Science**, v.100, p.2137–2147, 2017.

CAPURRO, A. et al. Comparison of a commercialized phenotyping system, antimicrobial susceptibility testing, and tuf gene sequence-based genotyping for species-level identification of coagulase-negative staphylococci isolated from cases of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 134, n. 3–4, p. 327-333, 2009.

CHANG, Y. M. et al. Longitudinal analysis of clinical mastitis at different stages of lactation in Norwegian cattle. **Livestock Production Science**, v. 88, n. 3, p. 251-261, 2004.

COSER, S. M. et al. Mastite Bovina: Controle e Prevenção. **Boletim Técnico**, n.93, Lavras (MG), p.1-30, 2012.

DE VISSCHER, A. et al. Coagulase-negative Staphylococcus species in bulk milk: Prevalence, distribution, and associated subgroup- and species-specific risk factors. **Journal of Dairy Science**. v. 100, n. 1, p. 629-642, jan., 2017.

DE VliegHer, S. et al. Prepartum teat apex colonization with Staphylococcus chromogenes in dairy heifers is associated with low somatic cell count in early lactation. **Veterinary Microbiology**, v.92, n.3, p. 245-252, 2003.

DUFOUR, S. et al. Epidemiology of coagulase-negative staphylococci intramammary infection in dairy cattle and the effect of bacteriological culture misclassification. **Journal of Dairy Science**, v.95, n.6, p. 3110-3124, 2012.

DIAS, R. V. C. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. **Acta Veterinária Brasília**, Mossoró, v.1, n.1, p.23-27, 2007.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos, 2000. 314p.

GOMES, M. J. P. (2011). **Gênero Staphylococcus spp.** Bacteriologia Clínica Veterinária, Área de Bacteriologia, UFRGS.

HEIN, M. Y. et al. Chapter 1 - Proteomic Analysis of Cellular Systems. In: Walhout, A.

J. M. et al. Handbook of Systems Biology. San Diego: **Academic Press**, 2013, p.3-25.

HEINZE, J. et al. Subclinical staphylococcal intramammary infections: Withinherd prevalence and effects on milk yield and somatic cell counts in Thuringian dairy herds. **Berliner und Munchener Tierarztliche Wochenschrift**, v.128, n.1-2, p. 61-69, 2015.

HOLT, J. G. et al. Gram- positive cocci. In: Bergey's Manual of determinative bacteriology. 9ed. Baltimore: **Willians & Wilkins**, 1994. p. 532-558.

HURLEY, W. L. **Lactation Biology Website**. Disponível em:
<<http://ansci.illinois.edu/static/ansc438/>>. Acesso em: 20 dez 2017.

KLOOS, W. E.; BANNERMAN, T. L. Update on clinical-significance of coagulase-negative staphylococci. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 7, n. 1, p. 117-140, 1994.

LAFFRANCHI, A. et al. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.6, p.1027-1032, 2011.

LANGONI, H. et al. **Milk cellularity and colony forming units in mastitis caused by coagulase-positive staphylococci and coagulase negative**. Pesquisa Veterinaria Brasileira, v. 35, n. 6, p. 518-524, 2015.

MARÍN, M. et al. Identification of Emerging Human Mastitis Pathogens by MALDI-TOF and Assessment of Their Antibiotic Resistance Patterns. **Frontiers in Microbiology**, v.8, p.1258, 2017.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL (NMC). **Current concepts of bovine mastitis**. 4. ed. Madison: WI, **NMC Inc.**, p. 1-64, 1999.

NOUSIAINEN, J. et al. Current and future prospects of milk quality from the Finnish dairy industry point of view. **Journal of Animal and Feed Sciences**, Jablonna, v.16, (Suppl. 1), p.255-265, 2007.

NYMAN, A. K.; FASTH, C.; WALLER, K. P. Intramammary infections with different non-*aureus* staphylococci in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.101, n. 2, 2018.

OIKONOMOU, G. et al. Microbial Diversity of Bovine Mastitic Milk as Described by Pyrosequencing of Metagenomic 16s rDNA. **PLoS One**, v. 7, n. 10, 2012.

PEREIRA, C. G. et al. Caracterização físico-química do leite cru comercializado no município de Lavras – MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, n 372, p. 18-25, 2010.

PIEPERS, S. et al. Pathogen group specific risk factors at herd, heifer and quarter levels for intramammary infections in early lactating dairy heifers. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 99, n. 2-4, p. 91-101, 2011.

PYÖRÄLÄ, S.; TAPONEN, S. Coagulase-negative staphylococci -Emerging Mastitis Pathogens. **Veterinary Microbiology**, v. 134, n. 1-2, p. 3-8, 2009.

RADOSTITS, O.M. et al. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1770, 2002.

RUEGG, P. L. The quest for the perfect test: Phenotypic versus genotypic identification of coagulase-negative staphylococci associated with bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 134, n. 1–2, p. 15-19, 2009.

SAMPIMON, O. et al. Effect of coagulase-negative staphylococci on somatic cell count in Dutch dairy herds. **Journal of Dairy Research**, v. 77, n.3, p. 318-324, 2010.

SAMPIMON, O. C. et al. Sensitivity to various antibiotics of coagulase-negative staphylococci isolated from samples of milk from Dutch dairy cattle. **Tijdschr. Diergeneeskde**, v. 132, n. 6, p. 200-204, 2007.

SAMPIMON, O.C. et al. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine milk samples. **Veterinary Microbiology**, v. 150, p.173–179, 2011.

SAWANT, A. A., GILLESPIE, B. E.; OLIVER, S. P. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative *Staphylococcus* species isolated from bovine milk. **Veterinary Microbiology**, v. 134, p. 73–81, 2009.

SANTOS, L. L. et al. Mastites clínicas e subclínicas em bovinos leiteiros ocasionadas por *Staphylococcus* coagulase-negativa. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.70, n.1, 2011.

SANTOS, M. V.; REIS, C. B. M. **Mastite por *Staphylococcus coagulase negativa***. Piracicaba – SP: Milkpoint. 2009. Disponível em: < <https://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/qualidade-do-leite/mastite-por-istaphylococcosi-coagulase-negativa-56691n.aspx>>. Acesso em: 21 dez 2017.

SANTOS, M. V.; TOMAZI, T. **Como os estafilococos coagulase-negativa afetam a contagem de células somáticas?**. Piracicaba – SP: Milkpoint. 2010. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/qualidade-do-leite/como-os-estafilococos-coagulasenegativa-afetam-a-contagem-de-celulas-somaticas-66680n.aspx>>. Acesso em: 03 dez 2017.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1ed. Barueri: Manole, 2007. p.314.

SCHUKKEN, Y. H. et al. CNS mastitis: nothing to worry about? **Veterinary Microbiology**, v. 134, n. 1–2, p. 9-14, 2009.

SCHUKKEN, Y. H. et al. Intramammary infections and risk-factors for clinical mastitis in herds with low somatic-cell counts in bulk milk. **Veterinary Record**, v. 125, n. 15, p. 393-396, 1989.

SCHUKKEN, Y. H. et al. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research*, v.34, n.5, p.579-596, 2003.

SOUTO, L. I. M. et al. Correlation between mastitis occurrence and the count of microorganisms in bulk raw milk of bovine dairy herds in four selective culture media. *Journal of Dairy Research*, v. 77, p. 63-70, 2010.

TAPONEN, S. **Bovine mastitis caused by coagulase-negative staphylococci.** Academic dissertation. Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, Walter Hall, Agnes Sjöbergin katu 2, Helsinki, 2008.

TAPONEN, S. et al. Bovine intramammary infections caused by coagulase-negative staphylococci may persist throughout lactation according to amplified fragment length polymorphism-based analysis. *Journal of Dairy Science*, v.90, p.3301-3307, 2007.

TAPONEN, S. et al. Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase negative staphylococci identified with API or AFLP. *Veterinary Microbiology*. v. 115, p. 199- 207, 2006.

TOMAZI, T. **Produção e composição do leite de vacas com mastite subclínica causada por Staphylococcus coagulase negativa.** 2013. 113 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) – Departamento de Nutrição e Produção Animal - FMVZ, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2013.

THORBERG, B. M. et al. Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative staphylococci. *Journal of Dairy Science*, v. 92, n. 10, p. 4962-4970, 2009.

ZADOKS, R. N.; WATTS, J. L. Species identification of coagulase-negative staphylococci: Genotyping is superior to phenotyping. *Veterinary Microbiology*, v. 134, n. 1–2, p. 20-28, 2009.

ZHAO, X.; LACASSE, P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.86, (Suppl. 1), p.57-65, 2008.

ZIMERMANN, K. F.; ARAUJO, M. E. M. Mastite Bovina: Agentes Etiológicos e Susceptibilidade a Antimicrobianos. *Revista Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias*, v. 12, n. 1, p.1-7, jan./jul., 2017.