



Perfil microbiológico da mastite bovina no Agreste e Brejo Paraibano

[*Bovine mastitis microbiological profile in Agreste and Brejo Paraibano*]

"Artigo Científico/Scientific Article"

Ewerton de Souza **Lima**^{1,2*}, Raphael Ferreira **Ordonho**^{1,2}, Clebson Santos de **Sales**^{1,3}, Alanny Maria Ricardo **Santos**³, Lucas Beserra de **Carvalho**², Fernando Nogueira de **Souza**^{1,2,4}, Artur Cezar de Carvalho **Fernandes**^{1,2}

¹Núcleo Aplicado à Produção e Sanidade da Glândula Mamária, Departamento de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB, Brasil.

³Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB, Brasil.

⁴Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil.

*Autor para correspondência/Corresponding author: E-mail: souzalimaewerton@gmail.com

Resumo

A mastite bovina é considerada a doença de maior prevalência nos rebanhos leiteiros no mundo, impactando produtores, indústria de laticínios e influenciando negativamente a qualidade do leite, além do impacto na saúde pública. Nesse contexto, objetivou-se traçar o perfil microbiológico dos agentes causadores da mastite bovina em propriedades leiteiras da microrregião do Agreste e Brejo paraibano entre o período de agosto de 2018 a dezembro de 2019 e avaliar o comportamento da dinâmica do *California mastitis test* (CMT) em diferentes perfis microbiológicos do leite. Foram analisadas um total de 421 amostras de leite provenientes de 920 quartos mamários de 230 vacas que foram submetidas ao diagnóstico da mastite clínica (MC) e subclínica (MSC). Observou-se uma expressiva ocorrência de casos de MSC (n = 370, 40,22%) e de MC (n = 51, 5,54%). As amostras de quartos mamários com MC ou MSC resultou em 16,63% de ausência de crescimento no exame microbiológico. Das amostras com crescimento microbiológico, *Staphylococcus* spp. (26,36%), *Corynebacterium* spp. (22,32%) e *Streptococcus* spp. (12,59%) foram os microrganismos mais frequentemente isolados, já os agentes etiológicos ambientais foram esporadicamente isolados. Na avaliação da dinâmica do CMT observou-se que as amostras com resultado positivo no CMT e negativos no exame microbiológico apresentaram tendência a uma redução expressiva dos escores de CMT no momento da coleta subsequente (após 30 dias). Os resultados demonstram a necessidade de realizar educação no processo de ordenha na região, bem como, reforçar a importância do uso do CMT e do exame microbiológico de forma criteriosa no controle da mastite bovina.

Palavras-Chave: glândula mamária; vaca leiteira; *California mastitis test*; infecção intramamária; indicador inflamatório.

Abstract

Bovine mastitis is the most prevalent disease affecting dairy cows worldwide, with detrimental effects on the health of dairy farmers, the dairy industry, customers, and the quality of milk produced. The goal of this study was to track the microbiological profile of the etiological agents of bovine mastitis in dairy farms in Paraíba's Agreste and Brejo microregion from August 2018 to December 2019, as well as to evaluate the behavior of the California mastitis test (CMT) from milk samples with distinct microbiological outcomes. A total of 421 milk samples were collected from 920 mammary quarters of 230 cows diagnosed with clinical (CM) and subclinical mastitis (MSC). A high occurrence of subclinical mastitis (n = 370, 40.22%) and MC (n = 51, 5.54%) was observed in the studied dairy herds. In the microbiological analyses, 16.63% of the samples

collected from udder quarters with MC or MSC resulted in no-growth in the microbiological analysis. The most isolated microorganism isolated in present study were *Staphylococcus* spp. (26,36 %), *Corynebacterium* spp. (22,32 %), and *Streptococcus* spp. (12,59 %), while environmental pathogens were sporadically isolated. In the study of the CMT dynamics, it was found that samples with positive CMT outcomes, but negative microbiological results tended to have a significant decline in CMT scores in the subsequent moment (after 30 days). The findings of this study highlight the importance of education in the milking process in the region, as well as the use of CMT and microbiological examination in a judicious manner in the control of bovine mastitis.

Keywords: mammary gland; dairy cow; *California mastitis test*; intramammary infection; inflammatory indicator.

Introdução

A mastite bovina é o processo inflamatório da glândula mamária que permanece sendo um dos principais problemas sanitários para toda a cadeia produtiva do leite (Langoni et al., 2017), tornando-se uma preocupação incontestável para produtores, consumidores e a sociedade. Nesse contexto, deve-se considerar o impacto negativo para a saúde pública associada à resistência antimicrobiana e possibilidade de resíduos antimicrobianos no leite, implicação negativa para o bem-estar animal, para a produção e qualidade do leite, descarte de animais cronicamente infectados e aumento dos custos de produção, problemas estes que inseridos no setor industrial de laticínios devem estar cientes dos transtornos ocasionados pela mastite (Piepers e De Vliegher, 2018).

De etiologia variada e cosmopolita, sua ocorrência está relacionada ao manejo sanitário do rebanho e da ordenha (Langoni et al., 2017). O diagnóstico definitivo da mastite consiste no isolamento do agente, sendo este considerado padrão ouro, por meio da coleta asséptica do leite do quarto mamário afetado. Todavia, o exame bacteriológico apresenta restrições devido à exigência de exames laboratoriais adicionais, além do tempo requerido para a cultura e honorários. Contudo, os exames bacteriológicos nem sempre são confiáveis, já que o sucesso da cultura irá variar de acordo com o tipo do microrganismo, metodologia de coleta e procedimentos laboratoriais, o que demonstra a necessidade do emprego de indicadores inflamatórios no diagnóstico da mastite bovina (Pyörälä, 2003; Della Libera et al., 2011; Ferronato et al., 2018).

Os casos de mastite clínica podem ser caracterizados com base na intensidade do processo inflamatório. Em casos considerados leves apenas o leite apresenta anormalidade, em casos moderados o leite apresenta-se anormal acompanhado de sinais inflamatórios locais no

úbere, por fim, em casos graves as alterações macroscópicas do leite estão associadas a sinais sistêmicos (Fuenzalida e Ruegg, 2019). Os casos de mastite subclínica não apresentam alterações macroscópicas do leite e sinais clínicos visíveis, que torna necessário o emprego de indicadores inflamatórios como *California Mastitis Test* (CMT), contagem de células somáticas (CCS), contagem diferencial de leucócitos, entre outros (Pyörälä, 2003; Della Libera et al., 2011; Pilla et al., 2013; Ferronato et al., 2018). O CMT é um teste amplamente empregado no diagnóstico da mastite subclínica, de fácil e rápida execução e de baixo custo, apresentando alta correlação com a contagem de células somáticas (Brito et al., 1997; Ferronato et al., 2018).

Considerando a importância e o impacto desta enfermidade na economia, saúde pública, qualidade do leite e bem-estar animal, objetivou-se: traçar o perfil microbiológico da mastite bovina no Agreste e Brejo paraibano e avaliar o comportamento da dinâmica do CMT em diferentes perfis microbiológicos do leite.

Material e Métodos

Foram analisados 920 quartos mamários funcionais de 230 vacas procedentes de nove propriedades leiteiras da microrregião do Agreste e Brejo paraibano selecionadas de forma aleatória entre o período agosto de 2018 a dezembro de 2019. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva (LMVP) do Hospital Veterinário, campus II, da Universidade Federal da Paraíba, Localizado no município de Areia-PB. As propriedades foram analisadas de forma randomizada por conveniência. As 230 vacas foram submetidas ao diagnóstico da mastite pelo teste da caneca de fundo escuro telada (TAMIS) para detecção da mastite clínica e o CMT para identificação de casos de mastite subclínica. Nos casos considerados

positivos no exame do CMT ou na caneca telada de fundo escuro as amostras de leite foram coletadas assepticamente para exame microbiológico de imediato precedente a ordenha.

Para a coleta do leite, foi realizada a assepsia do esfíncter do teto com algodão umedecido com álcool 70%. Posteriormente, foram coletadas cerca de 2 mL de leite em tubos Falcon estéreis de quartos mamários que apresentavam alterações macroscópicas no leite (mastite clínica) ou com resultado positivo ao CMT (mastite subclínica). Imediatamente após a coleta, as amostras foram transportadas sob refrigeração para o LMVP, onde realizou o semeio de 10 µL de leite em ágar sangue base (Kasvi, São José dos Pinhais, Brasil) enriquecido com 5% de sangue desfibrinado de ovino e Ágar MacConkey (Hi Media Laboratories, Mumbai, Índia), incubados em condições aeróbicas a 37°C, sendo realizadas as leituras em 24, 48 e 72 horas (Oliver et al., 2004).

Após o período de incubação, a identificação das bactérias foi realizada por meio das características morfológicas e provas bioquímicas de acordo com Quinn et al. (1999). As provas bioquímicas realizadas foram: catalase, oxidase, TSI (Triple Sugar Iron Agar), indol, motilidade, ureia, vermelho de metila, Vogler-Proskauer, citrato, fenilalanina, malonato, gelatina e nitrato. As amostras foram consideradas positivas quando houve crescimento de uma ou mais colônias (≥ 100 UFC/mL). A amostra de leite foi considerada contaminada quando houve o crescimento de três ou mais tipos de colônias distintas no primeiro cultivo, conforme descrito por Oliver et al. (2004).

O CMT foi realizado e interpretado conforme descrito por Kivaria et al. (2007). Sendo considerados da seguinte forma: Negativo (score 0), traço (score 1), fracamente positivo (score 2), positivo (score 3), fortemente positivo (score 4). Adicionalmente à avaliação do perfil microbiológico dos rebanhos estudados, dentre as 696 análises de quartos mamários procedentes de 87 vacas pertencentes a dois rebanhos, 96 quartos mamários foram aleatoriamente submetidos ao CMT e, posteriormente, cultura microbiológica em dois momentos sucessivos de análises com intervalo aproximado de 30 dias, denominados de momento 1 (M1) e momento 2 (M2), possibilitando a avaliação da dinâmica do CMT e correlacionando-as com as análises microbiológicas das amostras de leite coletadas assepticamente, realizadas no mesmo momento.

Os dados foram analisados através do programa estatístico *GraphPad Prism 8.0 Software*[®] (*GraphPad Software, Inc, San Diego, CA, USA*) utilizando o Teste de Mann-Whitney para comparação dos escores de CMT em M1 e M2. O valor de $P \leq 0,05$ foi considerado como significativo.

Resultados e Discussão

No total de nove rebanhos leiteiros, foi observada prevalência de 5,54% de mastite clínica entre os rebanhos, sendo isolados 38 microrganismos ao exame microbiológico. Segundo Santos e Fonseca (2019) é recomendado o máximo de 5% de mastite clínica em um rebanho. O diagnóstico da mastite clínica é baseado nas observações da inflamação da glândula mamária e, em muitos casos, são negativos na cultura microbiológica (Pinzón-Sánchez e Ruegg, 2011; Oliveira et al., 2013; Fuenzalida et al., 2015; Fuenzalida e Ruegg, 2019), corroborando os achados do presente estudo.

No presente estudo, quanto ao diagnóstico da mastite observou-se que dos 920 quartos mamários analisados, 499 (54,24%) foram considerados sadios (score zero no CMT), 370 (40,22%) apresentaram-se como mastite subclínica e 51 (5,54%) como mastite clínica. Das 421 amostras procedentes de casos com mastite clínica e/ou subclínica, foi realizado o exame microbiológico do leite, 350 (83,13%) foram positivas ao exame microbiológico, enquanto 70 (16,63%) foram negativas, e uma das amostras (0,24%) foi considerada contaminada. Das 350 amostras positivas no exame microbiológico foram isolados microrganismos pertencentes a nove gêneros bacterianos, bem como *Candida* spp. e *Prototheca* spp. (Tabela 1).

O gênero bacteriano mais isolado no presente estudo foi *Staphylococcus* spp. com prevalência de 26,36% (111/421), sendo responsável por expressiva porcentagem de casos de mastite clínica e subclínica. Este valor foi próximo ao encontrado por Bettanin et al. (2019), corroborando a importância desse patógeno na etiologia da mastite, qualidade do leite e saúde pública. As bactérias do gênero *Staphylococcus* são consideradas um dos principais patógenos causadores da mastite subclínica bovina na forma contagiosa (Saab et al., 2014; Wang et al., 2015; Acosta et al., 2016). Neste contexto, sabe-se que bactérias *Staphylococcus* spp. estão associadas a fatores de virulência como formação de biofilme,

enterotoxinas e resistência a antimicrobianos, com implicações negativas à saúde animal e humana (Lavor et al., 2019).

Com porcentagem significativa (22,32%; 94/421), podemos observar o gênero *Corynebacterium* considerado um agente contagioso na etiologia da mastite bovina e classificado como patógeno secundário, é responsável por aumentos modestos na CCS sem alterações na produção de leite (Gonçalves et al., 2015). Os isolados de *Corynebacterium* spp. nesse estudo mostraram-se inferior aos isolados por Krewer et al. (2013) e Cunha et al. (2015), os autores encontraram percentuais de 35,3% e

32,99%, respectivamente, em seus estudos. Apesar de ainda não ser claro o papel deste agente etiológico na mastite bovina (Blagitz et al., 2013; Blagitz et al., 2015; Mattos-Guaraldi et al., 2016; Langoni et al., 2017; Silva et al., 2021), este microrganismo pode estar associado a casos de mastite subclínica e clínica, como observado no presente estudo 91 (24,46%) casos de mastite subclínica e 3 (6,12%) de casos de mastite clínica ocasionados por este agente. Dessa maneira, para seu controle na propriedade é necessário que sejam instituídas medidas de higienização dos tetos no momento da ordenha (Langoni et al., 2017).

Tabela 1. Microrganismos isolados dos casos de mastite bovina clínica e subclínica em propriedades leiteiras na microrregião do Agreste e Brejo paraibano entre 2018 e 2019.

Microrganismos isolados	Mastite Subclínica		Mastite Clínica	
	N	%	N	%
Cultura Negativa	59	15,95	11	21,57
<i>Staphylococcus</i> spp.	103	27,84	8	15,67
<i>Corynebacterium</i> spp.	91	24,60	3	5,88
<i>Streptococcus</i> spp.	43	11,62	10	19,61
<i>Pseudomonas</i> spp.	18	4,86	-	-
<i>Enterococcus</i> spp.	8	2,16	-	-
<i>Prototheca</i> spp.	3	0,81	2	3,92
<i>Candida</i> spp.	1	0,27	2	3,92
<i>Escherichia coli</i>	1	0,27	-	-
<i>Nocardia</i> spp.	1	0,27	-	-
<i>Klebsiella</i> spp.	1	0,27	-	-
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	1	0,27	-	-
<i>Staphylococcus</i> spp./ <i>Streptococcus</i> spp.	14	3,78	1	1,97
<i>Staphylococcus</i> spp./ <i>Corynebacterium</i> spp.	13	3,51	7	13,72
<i>Streptococcus</i> spp./ <i>Corynebacterium</i> spp.	10	2,70	6	11,76
<i>Staphylococcus</i> spp./ <i>Aeromonas hydrophila</i>	1	0,27	-	-
<i>Streptococcus</i> spp./ <i>Pseudomonas</i> spp.	1	0,27	-	-
<i>Corynebacterium</i> spp./ <i>Pseudomonas</i> spp.	1	0,27	-	-
Amostra contaminada	-	-	1	1,97
Total	370	100	51	100

Ainda com relação aos patógenos Gram-positivos, *Streptococcus* spp. apresentaram frequência de 12,59%, destacando-se a maior ocorrência destes patógenos nas mastites subclínicas no presente estudo (43/421; 10,21%). Estes microrganismos possuem importância na epidemiologia da mastite, visto que podem causar tanto mastite contagiosa por *Streptococcus agalactiae*, quanto mastite ambiental causada por espécies de *Streptococcus uberis* e *Streptococcus dysgalactiae* (Martins et al., 2016). Portanto, a elevada prevalência de bactérias de caráter contagioso relacionadas à cultura microbiológica provenientes de mastite clínica e subclínica no presente trabalho revela que, certamente, a rotina de ordenha das propriedades analisadas não estava sendo realizada de forma adequada.

Convém evidenciar a importância dos demais patógenos de origem ambiental detectados no estudo que apresentaram menores porcentagens em seu isolamento, sendo elencados: *Pseudomonas* spp. (4,27%), *Enterococcus* spp. (1,90%), *Prototheca* spp. (1,18%), *Candida* spp. (0,71%), *Escherichia coli* (0,23%), *Nocardia* spp. (0,23%), *Klebsiella* spp. (0,23%) e *Arcanobacterium pyogenes* (0,23%). Deve-se destacar que a mastite por *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp., algas do gênero *Prototheca* spp. e leveduras do gênero *Candida* spp. apresentam refratariedade ao tratamento antimicrobiano, tornando-se casos crônicos que conduzem na maioria das vezes a perda dos tetos afetados e até mesmo o descarte dos animais acometidos (Langoni et al., 2017).

As amostras negativas no exame microbiológico do leite também obtiveram destaque nos resultados com 16,86%. Em um estudo realizado por Karach et al. (2015) na região sudoeste do Paraná, a porcentagem de amostras negativas foi de 19% sendo semelhante à do presente trabalho. Amostras negativas na cultura podem ser resultado da possível cura espontânea da infecção devido a ação das células do sistema imunológico da glândula mamária, resíduos de antibióticos após tratamento intramamário, liberação intermitente do agente em casos crônicos da infecção ou a presença reduzida do agente no leite, o que impossibilita o isolamento no laboratório. Outros fatores que podem levar a resultados negativos na cultura são as mastites causadas por *Mycoplasma* spp., pois este agente necessita de meios de cultura e condições específicas para seu crescimento e identificação (Karach et al., 2015).

Com base nos achados acerca da mastite subclínica abordados neste estudo, foi possível a realização das análises de CMT e culturas microbiológicas em dois momentos distintos denominados M1 e M2. Dentre os quartos mamários analisados, 96 foram acompanhados com intervalos aproximados de 30 dias, sendo os resultados apresentados nas Figuras 1 e 2.

Neste contexto, observamos que as amostras de leite com resultado positivo no CMT, associado a resultados negativos no exame microbiológico em M1, apresentaram tendência a uma redução expressiva dos escores de CMT em M2. Assim, hipotetizamos que a ausência de crescimento nas amostras de leite provenientes de casos de mastite subclínica pode refletir a cura espontânea da infecção e redução do processo inflamatório, demonstrando o sucesso da resposta imune do hospedeiro frente ao agente etiológico, reduzindo viabilidade do patógeno e a possibilidade de seu isolamento (Pinzón-Sánchez e Ruegg, 2011; Souza et al., 2016; Souza et al., 2020).

Desta forma, o presente estudo reforça a importância do diagnóstico da mastite através do emprego de indicadores inflamatórios, como o CMT, juntamente com a análise microbiológica de amostras assepticamente coletadas, em que a ausência de isolamento de quartos mamários inflamados pode indicar o sucesso da resposta do hospedeiro frente ao patógeno causador da mastite subclínica. Nesse contexto, vale ressaltar que o uso da CCS junto à análise microbiológica seria uma importante combinação no monitoramento da

dinâmica da infecção na glândula mamária, contudo devido a fatores que limitam o acesso a CCS, sobretudo na região, como custo elevado e inviabilidade logística, o CMT realizado por profissionais treinados, na perspectiva de minimizar a subjetividade do teste, assume um importante papel nesse processo de monitoramento.

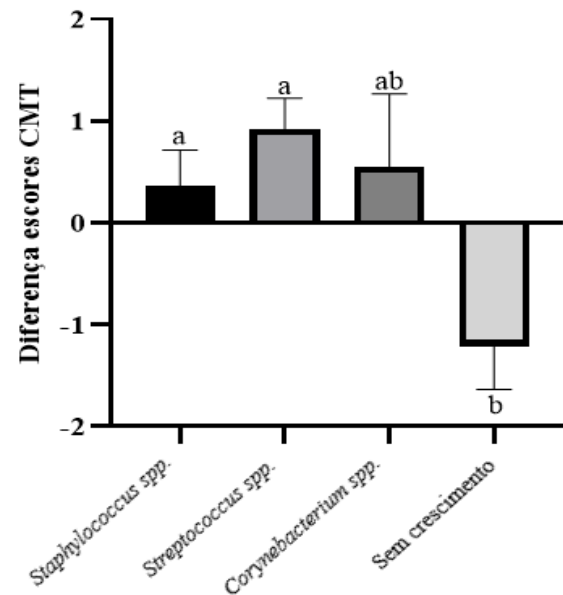


Figura 1. Diferença (média \pm erro-padrão) dos escores do *California Mastitis test* (CMT) em dois momentos consecutivos com intervalo aproximado de 30 dias de acordo com o resultado do exame microbiológico. Quartos mamários que apresentaram resultados negativos no exame microbiológico no primeiro momento (M1) apresentaram um menor escore no CMT na avaliação subsequente (M2), sugerindo o sucesso da resposta imune do hospedeiro frente ao agente etiológico, o que pode ter reduzido a viabilidade do patógeno e consequentemente a possibilidade de seu isolamento.

Por outro lado, devemos enfatizar que as amostras de leite consideradas positivas no CMT podem ocorrer sem crescimento bacteriano, pressupondo que o agente causador da MSC não seja eliminado de forma ininterrupta, podendo ocorrer um resultado falso negativo no cultivo microbiológico (Martins et al., 2016).

Portanto, os resultados do presente estudo demonstram que o uso de indicadores inflamatórios, como o CMT, deve ser associado à cultura microbiológica, tornando uma ferramenta importante no controle da mastite bovina e diagnóstico de situação em fazendas leiteiras, refletindo as condições de manejo sanitário do

rebanho, além de revelar o perfil contagioso dos microrganismos isolados de MSC. Adicionalmente esses achados evidenciam a importância do uso sistemático e criterioso do CMT como uma ferramenta para gerenciamento de dados acerca do status sanitários das vacas em lactação.

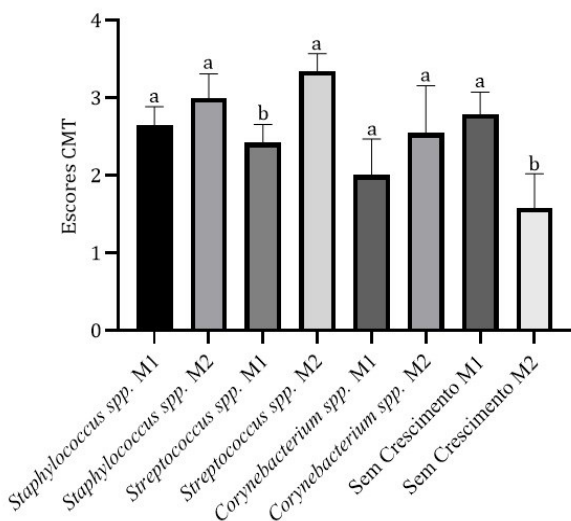


Figura 2. Escores de *California Mastitis test* (CMT) em dois momentos consecutivos (M1 e M2), com intervalo de 30 dias, provenientes de 96 quartos mamários de acordo com os microrganismos isolados em amostras de leite em M1.

Conclusão

O presente estudo demonstra a alta prevalência da mastite bovina por patógenos contagiosos na região do Agreste e Brejo paraibano, demonstrando a urgente necessidade de orientação e capacitação quanto ao processo de ordenha. Por fim, diante dos resultados, o presente estudo sugere a importância de aprofundar o conhecimento acerca da possibilidade do sucesso da resposta imune frente ao patógeno, quando não há isolamento de microrganismos em amostras de leite assepticamente coletadas, e reforça a importância do uso do CMT de forma sistemática e criteriosa em conjunto com o exame microbiológico do leite.

Conflito de interesse

Os autores declaram não existir conflitos de interesse.

Comitê de Ética

Todos os procedimentos seguidos neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) com protocolo nº 8131120718.

REFERÊNCIAS

- Acosta, A.C. et al. Mastites em ruminantes no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 36(7): 565-573, 2016.
- Bettanin, J. et al. Frequência de isolamentos dos Agentes etiológicos da Mastite Bovina no Sudoeste Paranaense. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, 13(4): 440-451, 2019.
- Blagitz, M.G. et al. Function of milk polymorphonuclear neutrophil leukocytes in bovine mammary glands infected with *Corynebacterium bovis*. **Journal of Dairy Science**, 96(6): 3750-3757, 2013.
- Blagitz, M.G. et al. Expression of CD14 and toll-like receptors 2 and 4 by milk neutrophils in bovine mammary glands infected with *Corynebacterium bovis*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 35(1): 1-5, 2015.
- Brito, J.R.F. et al. Sensibilidade e Especificidade do “California Mastitis Test” como Recurso Diagnóstico da Mastite Subclínica em Relação à Contagem de Células Somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 17(2): 49-53, 1997.
- Cunha, A.F. et al. Prevalência, etiologia e fatores de risco de mastite subclínica em rebanhos leiteiros de Viçosa-MG. **Acta Veterinaria Brasilica**, 9(2): 160-166, 2015.
- Della Libera, A.M.M.P.; Souza, F.N.; Blagitz, M.G.; Batista, C.F. Avaliação de Indicadores Inflamatórios no Diagnóstico da Mastite Bovina. **Arquivos do Instituto Biológico**, 78(2): 297-300, 2011.
- Ferronato, J.A. et al. Diagnosing mastitis in early lactation: use of somaticcell®, California mastitis test and somatic cell count. **Italian Journal of Animal Science**, 17(3): 723-729, 2018.
- Fuenzalida, M.J.; Fricke, P.M.; Ruegg, P.L. The association between occurrence and severity of subclinical and clinical mastitis on pregnancies per artificial insemination at first service of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, 98(6): 3791-3805, 2015.
- Fuenzalida, M.J.; Ruegg, P.L. Negatively controlled, randomized clinical trial to evaluate intramammary treatment of nonsevere, gram-negative clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, 102(6): 1-20, 2019.
- Gonçalves, J.L. et al. Effects of bovine subclinical mastitis caused by *Corynebacterium* spp. on somatic cell count, milk yield and composition by comparing contralateral quarters. **The Veterinary Journal**, 209: 87-92, 2015.

- Karach, G.M. et al. Perfil bacteriano de culturas de leite na região sudoeste do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, 20(4): 36-44, 2015.
- Kivaria, F.M.; Noordhuizen, J.P.T.M.; Nielen, M. Interpretation of California mastitis test scores using *Staphylococcus aureus* culture results for screening of subclinical mastitis in low yielding smallholder dairy cows in the Dar es Salaam region of Tanzania. **Preventive Veterinary Medicine**, 78(3-4): 274-285, 2007.
- Krewer, C.C. et al. Etiology, antimicrobial susceptibility profile of *Staphylococcus* spp. and risk factors associated with bovine mastitis in the states of Bahia and Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 33(5): 601-606, 2013.
- Langoni, H. et al. Considerações sobre o tratamento das mastites. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 37(11): 1261-1269, 2017.
- Lavor, U.L. et al. Bacterial identification, somatic cell count, antimicrobial profile and toxigenic *Staphylococcus* strains search from mastitic cow milk samples on small farms properties. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 39(9): 715-722, 2019.
- Martins, J.D. et al. Mastite subclínica em rebanhos leiteiros de propriedades rurais de Goiás. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, 10(3): 374-381, 2016.
- Mattos-Guaraldi, A.L. et al. Molecular characterization of *Corynebacterium bovis* causing clinical mastitis and increasing somatic-cell count. **Revista Internacional de Ciência e Tecnologia Veterinária Avançada**, 5(2): 248-255, 2016.
- Oliveira, L.; Hulland, C.; Ruegg, P.L. Characterization of clinical mastitis occurring in cows on 50 large dairy herds in Wisconsin. **Journal of Dairy Science**, 96(12): 7538-7549, 2013.
- Oliver, S.P. et al. **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality**. 4. ed. Verona: National Mastitis Council, 2004. 47 p.
- Piepers, S.; De Vliegher, S. Alternative approach to mastitis management- How to prevent and control mastitis without antibiotics? **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 55(3): 1-22, 2018.
- Pilla, R. et al. Differential cell count as an alternative method to diagnose dairy cow mastitis. **Journal of Dairy Science**, 96(3): 1653-1660, 2013.
- Pinzón-Sánchez, C.; Ruegg, P.L. Risk factors associated with short-term post-treatment outcomes of clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, 94(7): 3397-3410, 2011.
- Pyöralä, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. **Veterinary Research**, 34(5): 565-578, 2003.
- Quinn, P.J. et al. **Clinical Veterinary Microbiology**. London: Mosby, 1999.
- Saab, A.B et al. Prevalence and etiology of bovine mastitis in the Nova Tebas, Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, 35(2): 835, 2014.
- Santos, M.V.; Fonseca, L.F.L. **Controle da mastite e qualidade do leite**. Pirassununga: Manole, 2019. 301p.
- Silva, V.M. et al. Milk lymphocyte profile and macrophage functions: new insights into the immunity of the mammary gland in quarters infected with *Corynebacterium bovis*. **BMC Veterinary Research**, 17: 1-8, 2021.
- Souza, F.N. et al. Somatic cell count and mastitis pathogen detection in composite and single or duplicate quarter milk samples. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 36(9): 811-818, 2016.
- Souza, F.N. et al. Immune response in nonspecific mastitis: What can it tell us? **Journal of Dairy Science**, 103(6): 5376-5386, 2020.
- Wang, D. et al. Bovine mastitis *Staphylococcus aureus*: Antibiotic susceptibility profile, resistance genes and molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-sensitive strains in China. **Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases**, 31: 9-16, 2015.