

PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE EM VACAS COM MASTITE CAUSADA POR PATÓGENOS SECUNDÁRIOS

Tiago Tomazi¹, Juliano Leonel Gonçalves¹, Juliana Regina Barreiro¹, Patrícia Campos Braga², Christina Ramires Ferreira³, João Pessoa de Araújo Júnior⁴, Marcos Veiga dos Santos⁵.

¹ Pós-graduandos do Departamento de Nutrição e Produção Animal – FMVZ/USP.

² Pós-doutoranda do Instituto de Química Orgânica – UNICAMP, Campinas –SP.

³ Pesquisadora colaboradora do Laboratório de Espectrometria de Massas Thomson, Instituto de Química orgânica – UNICAMP, Campinas – SP.

⁴ Professor Doutor do Instituto de Biociências – UNESP, Botucatu – SP.

⁵ Professor Doutor do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ/USP.

RESUMO

Ao passo que os agentes principais da mastite estão mais bem controlados em decorrência de programas específicos de controle e prevenção, os agentes secundários têm chamado atenção e se tornado objeto de estudo nos principais países produtores de leite. *Staphylococcus coagulase negativa* (SCN) e *Corynebacterium* spp. são considerados agentes secundários da mastite e normalmente causam infecções subclínicas com aumento moderado na contagem de células somáticas (CCS). A alta prevalência destes agentes em rebanhos leiteiros tem despertado o interesse em práticas de controle e tratamento, principalmente em rebanhos de média CCS. A maioria dos estudos avalia o efeito destes agentes em nível de grupo ou gênero, no entanto, poucos avaliaram o efeito do SCN e *Corynebacterium* spp. em nível de espécie sobre a produção e composição do leite. Objetivou-se com esta revisão apresentar resultados recentes de pesquisas sobre o efeito de patógenos secundários, em especial SCN e *Corynebacterium* spp. sobre a produção, composição e CCS.

Palavras chave: infecções intramamárias, sanidade da glândula mamária, mastite subclínica

INTRODUÇÃO

A mastite é a doença que mais causa prejuízos na bovinocultura leiteira, pois afeta a produção e a qualidade do leite, além de reduzir o rendimento industrial dos derivados lácteos. Microrganismos secundários que afetam a glândula mamária, em especial,

Corynebacterium spp. e *Staphylococcus* coagulase-negativa (SCN) têm se tornado os agentes causadores de mastite mais predominantes em rebanhos leiteiros (Brito et al., 1999; Sampimon et al. 2010; Supré et al., 2011). Atualmente, em países onde os agentes primários da mastite (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e agentes ambientais) estão mais bem controlados, os agentes secundários têm se tornado microrganismos emergentes e importantes no desenvolvimento de inflamações na glândula mamária (Pyörälä & Taponen, 2009).

Ainda que sejam considerados agentes secundários da mastite bovina e com menores alterações da CCS e composição do leite, *Corynebacterium* spp. e SCN são altamente prevalentes nos rebanhos leiteiros. No entanto, os resultados do efeito destes agentes sobre a saúde da glândula mamária são ainda inconclusivos. Alguns pesquisadores classificam estes agentes como causa importante da mastite bovina e com redução na produção de leite (Mettifogo et al., 1991; Nicolau et al., 1996; Victória et al., 2005; Taponen & Pyörälä, 2009; Gröhn et al., 2004). Por outro lado, outros autores classificam tais microrganismos como patógenos secundários do úbere, com impacto limitado na produção e qualidade do leite (Schukken et al., 2009). Além disso, alguns estudos sugerem efeito protetor destes microrganismos na glândula mamária frente a agentes primários causadores de mastite, com inclusive, aumentos na produção leiteira (Rainard & Poutrel, 1982; Brooks & Barnum, 1984; Pankey et al., 1985; Sordillo et al., 1989; Wilson et al., 1997; White et al., 2001).

FREQUÊNCIA DE ISOLAMENTO DE AGENTES SECUNDÁRIOS

Dois estudos recentes foram desenvolvidos com objetivo de avaliar o efeito de infecção intramamária (IIM) causadas por SCN e *Corynebacterium* spp. sobre a produção, composição e CCS do leite (Gonçalves; Tomazi; 2012). Amostras de leite foram coletadas de 1.242 vacas pertencentes a 21 rebanhos localizados na região de Pirassununga, Estado de São Paulo. As coletas foram realizadas em duas etapas: na primeira, realizou-se coleta asséptica de amostras compostas de leite para identificação dos agentes causadores de mastite; e na segunda, em um período inferior a 15 dias, as amostras foram coletadas por quarto mamário dos animais com IIM causadas por SCN e *Corynebacterium* spp. para análises de composição, CCS e cultura microbiológica. Para as vacas da segunda etapa, a produção dos quartos mamários foi mensurada em ordenha mecânica individual por quarto mamário.

Corynebacterium spp. (285 vacas, 22,98%) e SCN (224 vacas, 18,06%) foram os agentes mais isolados de vacas infectadas por mastite subclínica. Além destas, 193 vacas (15,56%) estavam infectadas por bactérias do gênero estreptococos e 168 vacas (13,55%) por

S. aureus (Tabela 1). Os resultados deste estudo são similares aos de Supré et al. (2011), que também descreveram *Corynebacterium* spp. como o agente mais isolado de amostras de leite seguido de SCN.

Tabela 1 - Frequência absoluta e relativa dos microrganismos isolados de amostras compostas de leite em fazendas leiteiras comerciais.

Microrganismo	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
<i>Corynebacterium</i> spp.	285	22,98
<i>Staphylococcus</i> coagulase-negativa	224	18,06
<i>Staphylococcus aureus</i>	168	13,55
Outros <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva ¹	29	2,34
<i>Streptococcus</i> spp.	193	15,56
<i>Arcanobacterium</i> spp.	18	1,45
<i>Bacillus</i> spp.	34	2,74
Enterobactérias	3	0,24
Leveduras	5	0,40
<i>Nocardia</i> spp.	1	0,08
<i>Prothoteca</i> spp.	2	0,16
Culturas com mais de um agente isolado ²	5	0,40
Contaminação	11	0,89
Negativo	262	21,13
Total	1240	100,0

¹Cocos Gram-positivos com reação positiva na prova da coagulase. ²Culturas microbiológicas com crescimento de dois ou mais agentes.

Após cultura microbiológica das amostras compostas, retornou-se às fazendas para coleta de amostras de quarto mamário das vacas identificadas como *Corynebacterium* spp. e SCN. Nesta etapa, foram coletadas amostras de 291 vacas (1.141 quartos mamários). Os microrganismos mais prevalentes nas amostras por quarto mamário foram do gênero *Corynebacterium* spp. (30,76%, 351 quartos mamários), seguidos de SCN (12,36%, 141 quartos), e *Streptococcus* spp. (5,96%, 68 quartos). Além disso, 38,91% (444) dos quartos mamários apresentaram diagnóstico negativo nos exames microbiológicos (Tabela 2).

Tabela 2 - Frequência absoluta e relativa dos microrganismos isolados de amostras de leite coletadas por quarto mamário em fazendas leiteiras comerciais.

Microrganismo	Frequência absoluta	Frequência relativa (%)
<i>Corynebacterium</i> spp.	351	30.76
<i>Staphylococcus</i> coagulase-negativa	141	12.36
<i>Staphylococcus aureus</i>	42	3.68
Outros <i>Staphylococcus</i> coagulase-positiva ¹	31	2.72
<i>Streptococcus</i> spp.	68	5.96
<i>Arcanobacterium</i> spp.	16	1.40
<i>Bacillus</i> spp.	19	1.67
Enterobactérias	3	0.26
Leveduras	3	0.26
<i>Nocardia</i> spp.	4	0.35
<i>Prothoteca</i> spp.	3	0.26
Cultura com mais de um agente isolado ²	13	1.14
Contaminação	3	0.26
Negativo	444	38.91
Total	1141	100.00

¹Cocos Gram-positivos com reação positiva na prova da coagulase. ²Culturas microbiológicas com crescimento de dois ou mais agentes.

A alta prevalência de outros agentes que não se apresentaram como *Corynebacterium* spp. e SCN nas amostras analisadas por quarto mamário pode ser explicado pelo efeito de transitoriedade de infecção que algumas espécies destes agentes secundários possuem (Taponen et al., 2006), e pela incidência de novas IIM causada por outros agentes. Além disso, algumas vacas podem ter sido secadas, vendidas ou descartadas no período compreendido entre a primeira e a segunda etapa de coleta, não sendo contabilizadas nas análises por quarto mamário. Entretanto, *Corynebacterium* spp. e SCN foram os agentes causadores de mastite mais isolados de quartos mamários neste estudo, o que confirma a alta prevalência destes agentes em rebanhos leiteiros.

Nenhum caso de mastite clínica foi diagnosticado nos quartos mamários infectados por SCN e *Corynebacterium* spp., o que sugere que estes microrganismos apresentam maior importância em IIM subclínicas.

STAPHYLOCOCCUS COAGULASE-NEGATIVA

Infecções intramamárias são causadas por diversas espécies bacterianas, dentre as quais, os microrganismos do gênero *Staphylococcus*, o qual abrange elevado número de espécies com importância na epidemiologia da mastite. Alguns estudos descreveram que SCN são os microrganismos mais comumente isolados de amostras de leite (Pitkälä et al. 2004; Tenhagen et al. 2006; Roberson et al., 2006; Bradley et al. 2007; Piepers et al. 2007; Santos et al. 2008; Sampimon et al. 2009; Sampimon et al. 2010). Isto destaca a importância destes patógenos na etiologia da mastite de vacas leiteiras e a atual prevalência deste agente nos rebanhos leiteiros.

No passado, SCN era considerado um grupo homogêneo de bactérias, de patogenicidade moderada e que ocasionalmente causava mastite (Piessens et al., 2010). No entanto, uma grande variedade de espécies de SCN já foi isolada no canal do teto, pele, e outros locais extramamários (Matos et al., 1991; Matthews et al., 1992). Este grupo de bactérias é tradicionalmente considerado comensal da microbiota da pele dos bovinos, porém, causa mastite como agente oportunista (Taponen e Pyörälä, 2009). Em contraste a outros grupos de bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., e coliformes, SCN estão tipicamente associados com elevações moderadas na CCS (Lam et al., 1997; Schukken et al., 2009).

A CCS de tanques e a prevalência de patógenos primários causadores de mastite apresentam valores reduzidos em diversos países, enquanto que, a prevalência de IIM causadas por SCN mantém-se em níveis elevados (Sampimon et al. 2009). Segundo Taponen (2008), 40 espécies de estafilococos já foram identificadas, 10 destas possuem subespécies, o que totaliza 52 espécies e subespécies.

Em razão da variedade de espécies deste grupo de bactérias, o controle da mastite causada por SCN é complexo. Segundo Capurro et al. (2009), dezesseis espécies de SCN já foram isoladas como agentes causadores de mastite. No mesmo estudo, *Staphylococcus simulans*, *S. chromogenes*, *S. hyicus* e *S. epidermidis* foram as espécies mais isoladas de úberes infectados. Espécies como *Staphylococcus hyicus* podem também apresentar a prova de coagulase positiva. Este fato pode representar marcada proporção do grupo coagulase-positiva no rebanho, juntamente com o *S. aureus* (Devriese, 1980; Devriese et al., 2005), mesmo que algumas cepas de *S. aureus* já foram isoladas com reação negativa nesta prova enzimática (Fox et al., 1996).

Um número variável de espécies de SCN foi isolado de glândulas mamárias infectadas. A identificação destas espécies, em sua maioria, foi realizada por métodos baseados no

fenótipo dos microrganismos. Espécies como o *S. chromogenes*, *S. simulans*, *S. epidermidis*, *S. intermedius*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. sciuri* e *S. xylosus* foram isolados em amostras de leite, pelos, canal e pele dos tetos, e da pele de outras regiões do corpo (Taponen & Pyörälä, 2009).

Tomazi (2012) avaliou a frequência de isolamento de SCN em nível de espécie de amostras por quarto mamário coletadas em propriedades leiteiras do Estado de São Paulo por meio de uma técnica de espectrometria massas com ionização e dessorção a laser (MALDI-TOF MS). De 106 quartos infectados por SCN, 77 (69,37%) foram identificadas como *S. chromogenes*. Um estudo recente descreveu que apesar de espécies de SCN serem rebanho-dependentes, *S. chromogenes* também foi a espécie de SCN mais isolada (46,4%) de glândulas mamárias. Outras espécies isoladas (em ordem decrescente de prevalência) foram *S. xylosus*, *S. cohnii*, *S. simulans*, *S. hemolyticus*, *S. fleurettii*, *S. devriesei*, *S. sciuri*, *S. epidermidis*, *S. equorum*, *S. hyicus*, e *S. pasteurii* (Supré et al., 2011). No mesmo estudo, *S. chromogenes* e o *S. xylosus* causaram o maior número de infecções persistentes, enquanto, *S. cohnii*, *S. haemolyticus* e *S. simulans* causaram mais infecções transitórias que persistentes, e o *S. fleurettii* somente causou infecções transitórias. Taponen et al. (2007) avaliou 228 quartos mamários de 82 vacas durante toda a lactação e observou que aproximadamente metade das infecções causadas por SCN persistiu, em sua maioria até o final da lactação. Ambos *S. chromogenes* e *S. simulans* foram os mais persistentes.

A maioria dos estudos sobre a epidemiologia do SCN foi realizada anterior aos métodos avançados de microbiologia molecular. Poucos estudos compararam cepas de SCN de amostras de leite com outros reservatórios de bactérias. Thorberg et al. (2006) comparou isolados de *S. epidermidis* da mastite bovina e das mãos de ordenhadores pelo método de ribotipagem e eletroforese em gel de campo pulsado (PFGE). Espécies geneticamente similares de SCN foram isoladas de amostras de leite e das mãos e dobras dos cotovelos dos ordenhadores. Este resultado indicou que cepas de *S. epidermidis* causadoras de mastite podem ser originárias de humanos. Por outro lado, *S. epidermidis* e *S. aureus* parecem ser predominantemente específicos do hospedeiro (Zadoks et al., 2002; Smith et al., 2005).

Piessens et al. (2011) comparou, por meio de técnica de genotipagem, espécies de SCN de origem do leite com espécies de origem ambiental. Em geral, *Staphylococcus sciuri*, *S. equorum* e *S. haemolyticus* foram as espécies mais predominantes no ambiente. As principais espécies isoladas no leite foram *S. chromogenes*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis* e *S. simulans*. Estas mesmas espécies foram as principais causadoras de infecções crônicas. Alguns genótipos de espécies isolados do leite foram os mesmos isolados no ambiente, o que

indica a possibilidade do ambiente ser um reservatório destes agentes. Os resultados deste estudo indicam que existe grande variação no comportamento patogênico entre as espécies de SCN, e que os fatores de rebanho ou ambiente são importantes na epidemiologia da mastite por este grupo de microrganismos.

SINAIS CLÍNICOS DA MASTITE POR SCN

Staphylococcus coagulase negativa tem sido considerado patógenos secundários que infectam principalmente novilhas no periparto, não causam sinais clínicos, resultam em aumentos moderados na contagem de células somáticas (CCS), e apresentam elevada taxa de cura espontânea após o parto. De forma geral, sugere-se que a mastite causada por SCN resulta em sintomas leves, como rubor moderado na região do úbere e pouca alteração na aparência do leite, porém, são escassos estudos sobre as características clínicas da mastite ocasionada por SCN. Jarp (1991) relatou que os sintomas da mastite causada por SCN geralmente são subclínicos ou com leves sinais clínicos, apesar de alguns sinais clínicos graves terem sido registrados.

Infecções por SCN causam danos similares, porém menos graves na glândula mamária que IIM por *S. aureus*. Boddie et al. (1987) observou intensa resposta leucocitária à colonização por SCN no canal do teto e tecidos mamários de duas novilhas. Trinidad et al. (1990b) estudaram as alterações histopatológicas em 7 glândulas mamárias de novilhas não-prenhes infectadas experimentalmente com *S. aureus*, um quarto naturalmente infectado por *S. aureus*, e três quartos naturalmente infectados por SCN. Os quartos infectados com *S. aureus* e SCN apresentaram extensões menores de área alveolar, epitelial e luminal, maior área de estroma interalveolar e maior infiltração leucocitária que quartos não infectados. Quartos infectados com SCN não apresentaram alterações histopatológicas tão evidentes quanto os quartos infectados por *S. aureus*. Benites et al. (2002) avaliaram histopatologicamente vacas leiteiras descartadas devido a mastite. As alterações histopatológicas de 99 quartos infectados com SCN e 14 quartos infectados com *S. aureus* mostraram principalmente respostas inflamatórias crônicas, ou respostas inflamatórias crônicas com reparo, e nenhuma diferença histopatológica foi observada nas infecções entre SCN e *S. aureus*. Hyvönen et al. (2009) avaliaram a invasividade e a capacidade adesiva de algumas espécies de SCN e *S. aureus* e demonstraram que a capacidade adesiva de *S. chromogenes*, *S. cohnii*, *S. haemolyticus* e *S. simulans* foram iguais ao de *S. aureus*, porém com menos potencial invasivo nas células da glândula mamária.

EFEITO DO SCN SOBRE A PRODUÇÃO E COMPOSIÇÃO DO LEITE

Alguns estudos descreveram que IIM causadas por patógenos menores podem ter impacto negativo sobre a produção de leite. A variação na produção de leite entre vacas normalmente é alta, desta forma, seria necessário um grande banco de dados para avaliar diferenças significativas do efeito da mastite causada por diferentes patógenos sobre a esta variável. Kirk et al. (1996) não encontraram efeito da mastite causada por patógenos menores sobre a produção de leite ou CCS em novilhas de primeira lactação. Em contraste, Timms & Schultz (1987) observaram grande diferença (821 Kg) na produção de leite entre vacas sadias e vacas infectadas com SCN em dois rebanhos com alta prevalência de mastite por SCN.

Staphylococcus coagulase negativa são a principal causa de mastite de vacas de primeira lactação, o que sugere que estes agentes possam ser responsáveis por possíveis quedas de produção. No momento do parto a glândula mamária de primíparas ainda está em desenvolvimento. As glândulas mamárias de novilhas com infecção no pré-parto causadas por SCN, assim como por *S. aureus*, são menos desenvolvidas e apresentam maior infiltração leucocitária que quartos sadios (Boddie et al., 1987; Trinidad et al., 1990a; Piepers et al., 2011). Isto sugere que IIM por SCN em novilhas podem levar a danos na glândula mamária que poderão comprometer a produção e a qualidade do leite. No estudo de Coffey et al. (1986), a média de produção de leite de vacas primíparas com CCS no início de lactação inferiores a 100.000 células/mL foi 400 Kg maior que a média de produção de novilhas com CCS entre 100.000 e 400.000 células/mL, e 750 Kg maior que a média de produção de novilhas com CCS >400.000 células/mL. De Vlieghe et al. (2005) também descreveram que CCS elevadas estão associadas com redução da produção de leite durante a primeira lactação. Observou-se neste estudo que uma novilha com CCS de 500.000 células/mL e duas semanas pós-parto produziu 119 Kg menos leite durante a primeira lactação que uma novilha com CCS de 50.000 células/mL.

A mastite causada por SCN afeta vacas de alta produção (Gröhn et al., 2004). Estes autores observaram que vacas múltiparas com mastite clínica causada por SCN produziram de 2,3 a 2,7 kg/dia mais leite antes da infecção que vacas controle sem mastite por estes agentes. Após o diagnóstico da mastite clínica por SCN, nenhuma diferença de produção de leite foi registrada entre vacas com e sem mastite por SCN. Desta forma, infecções por SCN parecem estar concentradas em rebanhos de alta produção, e a comparação da produção de leite das vacas com e sem presença de infecção causada por SCN pode ter induzido a uma subestimação da perda de produção causada por este agente.

Tomazi (2012) avaliou o efeito da mastite em quartos mamários infectados com SCN em comparação com quartos contralaterais sem isolamento microbiológico de um mesmo animal (Tabela 3). Quarenta e três vacas apresentaram mastite subclínica em quartos mamários infectados por SCN com seus quartos contralaterais sadios (controle). No total, 138 quartos mamários foram avaliados, com 57 quartos com infecções por SCN e 81 quartos sem isolamento bacteriano nas análises microbiológicas (Tabela 3).

Tabela 3 – Produção, composição e contagem de células somáticas de quartos mamários sadios e infectados por *Staphylococcus coagulase negativa*.

Variável	Quartos infectados		Quartos sadios		EPM ²	P*
	n ¹	Médias	n ¹	Médias		
Produção (g)	57	2065.67	81	2306.90	81,48	0,127
Gordura (%)	51	3.25	73	3.39	0,08	0,396
Gordura (g)	51	62.71	73	71.02	3,35	0,214
Proteína (%)	57	3.11	81	3.11	0,03	0,875
Proteína (g)	57	64.00	81	71.14	2,56	0,143
Caseína (%)	57	2.38	81	2.39	0,02	0,838
Caseína (g)	57	49.19	81	54.78	1,99	0,139
Lactose (%)	57	4.43	81	4.57	0,03	0,033
Lactose (g)	57	91.66	81	104.04	3,93	0,104
ST ³ (%)	51	11.68	73	11.90	0,09	0,249
ST ³ (g)	51	234.05	73	259.80	10,39	0,184
ESD ⁴ (%)	57	8.49	81	8.60	0,04	0,171
ESD ⁴ (g)	57	175.98	81	197.48	7,23	0,122
CCS ⁵ (células/mL)	57	519.23	81	104.17	52,69	<.0001
LogCCS ⁶	57	2.36	81	1.67	0,05	<.0001

¹n – número de quartos analisados; ²EPM – erro padrão da média; ³ST – sólidos totais; ⁴ESD – extrato seco desengordurado; ⁵CCS – contagem de células somáticas; ⁶LogCCS – logaritmo natural da CCS.

A média de produção de leite dos quartos infectados por SCN foi de 2065,67 g, enquanto que a produção dos quartos mamários sem isolamento microbiológico foi de 2306,90 g. Não foi observado efeito (P=0,127) da infecção por SCN sobre a produção de leite. Estes resultados são similares aos de estudos que relataram redução moderada na produção de leite de animais infectados por SCN (Gröhn, 2004; De Vliegher et al., 2005). Contrariando estes resultados, alguns estudos descreveram que vacas infectadas por SCN, apesar de terem aumentado moderadamente a CCS, apresentaram pequeno aumento na

produção de leite quando comparados com vacas com cultura microbiológica negativa (Compton et al., 2007; Schukken et al., 2009; Piepers et al., 2010). No entanto, a perda na produção de leite pode ser subestimada quando vacas infectadas são comparadas com dados de rebanhos saudáveis e não com sua própria produção antes da infecção (Pyörälä & Taponen, 2009).

Tomazi et al. (2012) não observou efeito da infecção por SCN sobre os teores (%) e produções (g/Kg) de gordura, proteína, caseína, sólidos totais, e extrato seco desengordurado. Por outro lado, foi observado efeito ($P=0,033$) da infecção por SCN sobre o teor de lactose, mas não sobre a produção deste componente do leite. Quartos mamários com isolamento de SCN apresentaram teores de lactose menores (4,43%) do que quartos sem isolamento bacteriano (4,57) (Tabela 3). A mastite provoca diminuição na concentração de lactose no leite decorrente da lesão tecidual, a qual reduz a capacidade de síntese pelo epitélio glandular. Adicionalmente, ocorre passagem de lactose do leite para o sangue, o que pode ser comprovado pelas concentrações mais elevadas de lactose no sangue e na urina de vacas com mastite. Resultados semelhantes foram observados por Coulon et al. (2002), pois houve aumento moderado da CCS e redução da produção de lactose (1,8 g/kg) em vacas infectadas por SCN.

EFEITO DE SCN SOBRE A CCS DO LEITE

A CCS no leite é um excelente indicador de mastite subclínica em rebanhos leiteiros e estes resultados são usados com frequência para estimar o impacto da mastite sobre a produção do leite (PAPEE et al., 2002; SCHUKKEN et al., 2003). *Staphylococcus* coagulase-negativa tem sido isolados como causador de IIM, o que resulta em elevação moderada de CCS, principalmente em vacas no início de lactação (JARP, 1991, De VLIEGHER et al., 2009). Desta forma, é plausível a hipótese de que este grupo de bactérias seja responsável por perdas de produção e alteração na composição do leite de rebanhos bovinos.

Comparado com IIM causadas por outros agentes Gram-positivos, como *S. aureus* e estreptococos, a CCS em quartos infectados com SCN é menor. No entanto, é até 10 vezes maior que a CCS de quartos sadios, que tipicamente permanecem abaixo de 50.000 células/mL (Boddie et al., 1987; Laevens et al., 1997b; Barkema et al., 1999). Um estudo canadense avaliou o efeito de IIM causadas por SCN sobre a CCS e produção de leite de 2273 novilhas (Paradis et al., 2010). Neste estudo observou-se que o lnCCS de vacas infectadas por SCN foi 0,6 vezes maior que ao lnCCS de vacas sem isolamento microbiológico durante os primeiros 300 dias de lactação, e 0,55 vezes menor que vacas infectadas por *S. aureus*.

Tomazi et al. (2012), ao avaliar o efeito do SCN sobre a CCS observaram que quartos infectados apresentaram CCS de 519.230 células/mL, enquanto que quartos sem isolamento microbiológico apresentaram contagens de 104.170 células/mL (Tabela 3).

Infecções causadas por estafilococos normalmente aumentam a CCS do leite por longos períodos (de Haas et al., 2004), no entanto, mesmo uma infecção por SCN transitória causa aumento temporário da CCS (Laevens et al., 1997). A média geométrica de CCS de quartos infectados com SCN foi de 138.000 células/mL, enquanto quartos infectados com *S. aureus* apresentaram 357.000 células/mL (Djabri et al., 2002). Um estudo realizado por Simojoki et al. (2007) demonstrou que a CCS de determinadas espécies de SCN pode aumentar consideravelmente. O pico médio de CCS de vacas leiteiras após desafio experimental com *S. chromogenes* naquele estudo foi de 2.000.000 células/mL. No estudo realizado por Rainard et al. (1990), a CCS foi maior que 500.000 células/mL em 38% dos quartos infectados com SCN; em 42% dos quartos a CCS foi de 200.000 a 500.000 células/mL; e em 20% dos quartos menor que 200.000 células/mL. Na maioria dos estudos, a CCS relatada em infecções causadas por SCN varia entre 200.000 e 600.000 células/mL (Boddie et al., 1987; Pyörälä e Syyväjärvi, 1987; Matthews et al., 1990; Nickerson e Boddie, 1994; Chaffer et al., 1999).

Infecções intramamárias causadas por SCN foram responsáveis por 18% da CCS do leite de tanque em propriedades com contagens abaixo de 200.000 células/mL (Schukken et al., 2009). Nickerson et al. (1995) relataram que a média de CCS de quartos infectados por *S. chromogenes* ou *S. hycus* durante os três primeiros meses de lactação foi 168.000 e 193.000 células/mL, respectivamente. Em um estudo que avaliou o efeito de infecções persistentes causadas por SCN sobre a CCS, a média geométrica destes quartos foi de 657.600 células/mL, enquanto que a média geométrica de CCS dos quartos infectados por *S. aureus* foi de 3.286.000 células/mL (Taponen et al., 2007). Estes resultados sugerem que *S. aureus* aumenta consideravelmente a CCS do leite e trazem mais prejuízos à qualidade do leite que SCN.

Quartos sadios apresentam CCS menor em relação aos quartos infectados por SCN, entretanto a média de CCS baseada em todas as espécies de SCN encontradas demonstrou-se inferior à encontrada para os quartos infectados por *S. aureus*. Por outro lado, vacas com IIM causadas por espécies como *S. chromogenes*, *S. simulans* e *S. xylosus* apresentaram CCS semelhantes à encontrada em infecções por *S. aureus* (Supré et al., 2011). Este fato indica que algumas espécies de SCN podem ser mais virulentas que outras e merecem maior atenção quanto ao seu diagnóstico e tratamento.

O impacto econômico direto da alta CCS depende do limite utilizado para fins de bonificações pagas pelo leite de melhor qualidade, o que difere consideravelmente entre os indústrias e sistemas de pagamento utilizados. Nestas circunstâncias, o fato de infecções causadas por SCN elevar a CCS justifica o seu controle a fim de manter o leite em níveis adequados de qualidade.

***CORYNEBACTERIUM* SPP. COMO CAUSADOR DA MASTITE BOVINA**

A maioria dos diagnósticos realizados para identificação de espécies de *Corynebacterium* são baseados em características fenotípicas, com necessidade de suplementação de ácidos graxos para o crescimento em 48 horas. O uso destas características para o diagnóstico espécie-específico gera resultados incoerentes e alguns laboratórios reconhecem esta dificuldade de identificação (Coyle & Lipsky, 1990; Watts et al., 2000). Não existem métodos simples para identificação das espécies dentro do gênero *Corynebacterium*. Homme et al. (1999) propuseram uma chave de identificação após terem testado 33 testes microbiológicos, e demonstraram possibilidade de identificação das espécies não-lipofílicas, porém a maioria dos resultados são inconclusivos, além de serem laboriosos e demorados. Sendo assim, é comum observar diagnósticos microbiológicos de *Corynebacterium* spp. causadores da mastite bovina identificados apenas por gênero.

Em torno de 30% de erro ocorre na identificação de *Corynebacterium* spp. pelo método da microbiologia padrão (Coyle & Lipsky, 1990; Watts et al., 2000). A identificação das cepas de *Corynebacterium* spp. é realizada apenas no intuito de diferenciá-las dos demais bastonetes com maior patogenicidade (*Nocardia* spp.) (Hogan et al., 1999; Harmon et al., 1990). Outro fator que contribui para a não identificação espécie-específica parece estar vinculado com a importância do *Corynebacterium* spp. em relação à sanidade do tecido mamário, os quais são responsáveis por aumentos moderados de CCS (Bradley & Green, 2005; Schukken et al., 2009).

Corynebacterium spp. pode ser classificado quanto à afinidade lipídica que algumas espécies necessitam para auxiliar em seu crescimento. Assim, espécies que necessitam de ácidos graxos livres como suplemento para estimular o crescimento são chamadas de lipofílicas, e as demais espécies que não necessitam de adição de gordura são chamadas de não-lipofílicas.

Segundo o *National Mastitis Council* (NMC, 2004), *Corynebacterium bovis*, *Corynebacterium amycolatum*, *Corynebacterium ulcerans*, *Corynebacterium pseudotuberculosis* e *Corynebacterium minutissimum* são as 5 espécies mais prevalentes na

epidemiologia da mastite bovina. Atualmente, segundo a lista de nomes procarióticos de J.P. Euzéby, existem 111 espécies citadas e 11 subespécies dentro do gênero *Corynebacterium* spp., o que indica a possibilidade de cepas ainda não estudadas como possíveis causas da mastite subclínica e clínica em vacas leiteiras.

Vários estudos descreveram alta frequência de *Corynebacterium* como causador de mastite bovina. *Corynebacterium* spp. foi o isolado mais prevalente em estudo que avaliou 4.662 amostras de quartos mamários de 1.180 vacas, no estado de São Paulo, Brasil. Dos animais avaliados, 1.824 amostras foram CMT (*California Mastitis Test*) positivas e 379 não apresentaram crescimento bacteriano. Das 1.445 amostras restantes, 11,24% foram *Corynebacterium* spp., 9,20% *Staphylococcus* spp. e 5,34% *Streptococcus* spp. (Souto et al., 2008). Estes resultados são similares aos de outro estudo que relatou *Corynebacterium bovis* como o mais prevalente com 41,13% dos isolados provindos de 9.242 amostras com isolamento microbiológico (Schepers et al., 1997). *Staphylococcus* coagulase negativa (10,88%); *Staphylococcus aureus* (2,15%), *Streptococcus uberis* (<1%) e *Streptococcus dysgalactiae* (<1%) também foram isolados das amostras de leite.

Em outro estudo que avaliou 35.828 quartos mamários de 8.957 vacas leiteiras, *Corynebacterium bovis* e SCN foram os isolados mais frequentes em quartos mamários, com um total de 10.596 vacas (29,57%) e 5.030 vacas (14,04%), respectivamente. O caráter contagioso do *Corynebacterium bovis* pode ser percebido devido ao alto fator de correlação encontrado entre as variáveis CCS e rebanho, e também, da CCS entre os quartos de uma mesma vaca (Barkema et al., 1997). Schukken et al. (2009) analisaram amostras de leite de 352.614 vacas e observaram maior prevalência de patógenos secundários, o que foi similar ao descrito por Barkema et al. (1997).

Uma pesquisa realizada no Brasil realizou exames microbiológicos de 6.315 amostras de leite bovino (Brito et al., 1999). Os patógenos mais prevalentes foram *Corynebacterium* spp. (55,2%), *Staphylococcus aureus* (19,2%), SCN (12,4%), *Streptococcus agalactiae* (6,9%), *Streptococcus* esculina positivos (4,0%), *Streptococcus* esculina negativos (2,1%), leveduras (0,1%) e *Pseudomonas* spp. (0,1%). Em 2.463 amostras (39%) não houve isolamento no exame microbiológico e 216 (3,4%) estavam contaminadas. Bactérias do gênero *Corynebacterium* foram isoladas de todos os rebanhos e em 24 deles, 21 a 40% dos quartos estavam infectados. Em cinco rebanhos, mais de 50% dos quartos estavam infectados.

Corynebacterium bovis é a espécie mais isolada de IIM de bovinos. Porém, seu papel como agente causador de mastite é controverso. A presença de *Corynebacterium* spp. em regiões mais profundas do tecido mamário foi relatada por Benites et al. (2003), o que indica

potencial invasivo destes microrganismos ao tecido mamário bovino. Alteração nos epitélios cisterna do teto, roseta de Furstenberg, e no parênquima mamário devido à infecção por *C. bovis* foram observadas em 16 dos 19 quartos em que foram realizados exames histopatológicos (Ngatia et al., 1991). Entretanto, recente pesquisa avaliou por meio de cânula intramamária o grau de colonização do *C. bovis* ao tecido mamário. Os resultados indicaram o potencial deste microrganismo em colonizar o canal do teto sem causar infecção intramamária verdadeira (Bexiga et al., 2011; Brooks; Barnum, 1984). Somado a isso, existem evidências de que quartos infectados com *C. bovis* apresentem barreira biológica contra patógenos primários da mastite (*S. aureus* e *Streptococcus* spp.) por meio de colonização do canal e cisterna do teto (Huxley et al., 2003; Rainard & Poutrel, 1982; Pankey et al., 1985; Sordillo et al. 1989). Quartos mamários infectados com *C. bovis* foram significativamente menos infectados com outros organismos patogênicos do que quartos sem isolamento bacteriano (Brooks & Barnun, 1984;. Lam et al, 1997; Schukken et al., 1999).

Estudos posteriores contrariaram o efeito protetor em quartos com IIM por *C. bovis* (Brooks et al, 1983;. Hogan et al, 1988). Tais resultados sugerem que quartos com IIM por *C. bovis* são mais predispostos à infecção causada por estreptococos ambientais, *S. aureus* e *S. agalactiae*. Entretanto, existe uma tendência de considerá-los microrganismos de menor relevância por provocar resposta inflamatória de baixa intensidade (Bramley, 1975; Honkanen et al. 1984; Brooks & Barnun, 1984; Levan et al. 1985; Pocięcha, 1989; Sordillo et al., 1989; Bradley, Green; 2005).

C. bovis prontamente coloniza o canal do teto de vacas leiteiras e tem sido usado como um indicador de higiene no momento da ordenha (Watts et al., 2000). Em fazendas onde a desinfecção dos tetos pós-ordenha não é prática de rotina, *C. bovis* foi isolado em percentual maior do que 60% de amostras de quartos amostrados (Woodward et al., 1988). Brito, et al, (1999) em estudo sobre o padrão de IIM sugeriram que as medidas de controle para as mastites contagiosas não foram corretamente aplicadas nos rebanhos estudados onde se observou alta prevalência de *Corynebacterium* spp. Os produtos cujo ingrediente ativo é o LDBSA (ácido sulfônico linear duodecilbenzeno) não demonstraram resultados satisfatórios na desinfecção dos tetos sobre o *Corynebacterium* spp. (NMC, 1999). Por outro lado, produtos a base de iodo e clorexidina são eficazes para desinfecção dos tetos pós-ordenha (Timm et al. 2000). Em termos de controle para eliminação de infecções subclínicas causadas por *C. bovis*, além da desinfecção dos tetos após a ordenha, a terapia da vaca seca tem a mesma importância. Durante a lactação não se recomenda o tratamento dos casos subclínicos causados por *Corynebacterium* spp.

Schukken et al. (2009) relataram maior frequência das espécies de *Corynebacterium* em vacas (8.696) do que novilhas (2.803). Outros estudos descreveram alta prevalência de IIM por *Corynebacterium* spp. em vacas primíparas nos quatro primeiros meses de lactação (Laffranchi et al., 2001). Esses resultados sugerem a adoção de medidas preventivas e de controle direcionadas para as novilhas no pré e pós-parto, como monitoramento de CCS e exames microbiológicos.

SINAIS CLÍNICOS DA MASTITE POR *Corynebacterium* spp.

Corynebacterium spp. é considerado um patógeno secundário que infecta principalmente vacas durante a lactação, sem causar sinais clínicos e com aumentos moderados na CCS (Bradley & Green; 2005). Em geral, a doença é caracterizada por sintomas leves e de pouca alteração na constituição físico-química do leite.

Nenhum caso de mastite clínica foi observado de 285 vacas com isolamento de *Corynebacterium* spp (Gonçalves, 2012). Entretanto, outros estudos sugerem a importância do *Corynebacterium* spp. como causador de mastites clínicas e como responsável por alterações significativas em nível celular (Costa et al. 1985; Schukken et al. 1989; Hogeveen, 1998; Boyer, 1998). A ocorrência sob a forma de surto e a capacidade de provocar mastite clínica persistente demonstra sua patogenicidade e o colocam como agente causador da mastite com caráter contagioso (Costa et al. 1985).

EFEITO DE *Corynebacterium* spp. SOBRE A PRODUÇÃO, COMPOSIÇÃO E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO LEITE

Wilson et al. (1996) avaliaram amostras de leite de 105.083 vacas em lactação e detectaram escores lineares de CCS de 3,9 para vacas com mastite causada por *C. bovis*, e de 3,5 para mastites causadas por *Corynebacterium* spp. Os valores encontrados, tanto para vacas infectadas por *C. bovis* quanto para vacas sadias, foram inferiores ao escore linear considerado limítrofe para vacas infectadas (4,4). Outro estudo descreveu, por meio de escore linear, diferença significativa entre o escore médio de lnCCS (3,96) de 9242 quartos infectados comparados aos quartos sem isolamento microbiológico (lnCCS = 2,64) (Schepers et al., 1997). *C. bovis* é associado com IIM de baixa a moderada elevação da CCS e sem sintomas clínicos graves (<500.000 células/ml) (Huxley et al., 2003), o que o classifica como patógeno secundário juntamente com as espécies de SCN (Radostitis et al., 1994).

Schukken et al. (2009) descreveram CCS superior para vacas com quartos mamários infectados em relação aos de novilhas. Vacas com mastite subclínica causada por *C. bovis* apresentaram média de CCS 399.000 células/mL, e novilhas 232.000 células/mL. A

participação de *C. bovis* isolado de tanques foi de 7,1% (CCS < 200.000 células/mL), 8% entre 200.000 e 400.000 células/mL, e 8,6% em CCS > 400.000 células/mL. Haltia et al. (2006) avaliaram por meio da CCS a intensidade da infecção de *C. bovis*. Foram isolados 1.640 *C. bovis* de 11.649 amostras por quartos mamários com média de CCS de 303.000 células/mL. A alta prevalência de *C. bovis* encontrada neste estudo pode ser explicada pelo fato de apenas sete das 25 fazendas avaliadas apresentarem procedimento de desinfecção dos tetos antes e após a ordenha.

Apesar de quartos mamários com IIM causada por *Corynebacterium* spp. apresentarem pequena alteração na CCS, pesquisas descreveram resultados contraditórios (Victória et al., 2005). Mettifogo et al. (1991), em amostras de vacas com isolamento desse agente, descreveram que em 70,67% a CCS variou de 500.000 a 3.880.000 células/mL, com média de 1.032.000 células/mL. Foi relatada a ocorrência de *C. bovis* em 25,77% das amostras de leite associadas à alta CCS, o que classifica o agente como provável causador de mastite subclínica com consequentes prejuízos para glândula mamária e produção de leite. Zafalon et al. (1999) descreveram diferença na quantidade de células somáticas entre os quartos sadios e infectados por *C. bovis*. Entretanto, apesar da diferença ser significativa, os quartos infectados na grande maioria dos estudos apresentam média dentro do limiar de 200.000 células/mL, considerado para quartos sadios.

No estudo realizado por Gonçalves (2012), diferenças significativas ($P < 0,05$) foram observadas quando os quartos infectados por *Corynebacterium* spp. foram comparados aos quartos sem isolamento microbiológico (Tabela 4). Quartos infectados pelo agente em estudo apresentaram menor produção de leite (597 g), gordura (19g/kg), proteína (16g/kg), lactose (30 g/kg), caseína (13g/kg), sólidos totais (72g/kg) e extrato seco desengordurado (52g/kg) que os quartos negativos (controle). Em relação à CCS, quartos positivos para *Corynebacterium* spp. apresentaram média de 662.370 células/mL, enquanto quartos sadios tiveram média de 54.280 células/mL. Aproximadamente 49% dos quartos apresentaram CCS superiores a 200.000 células/mL.

Quartos com isolamento negativo apresentaram média de CCS <60.000 células/mL, e não apresentaram diferença de CCS em relação à distribuição entre dianteiros e traseiros. Por outro lado, quartos com isolamento de *Corynebacterium* spp. apresentaram maior CCS nos quartos dianteiros (>870.000 células/mL) em relação aos traseiros (500.000 células/mL). Quartos anteriores direito infectados apresentaram a maior média de CCS (>1.000.000 células/mL), enquanto os posteriores direito infectados apresentaram a menor média de CCS (<270.000 células/mL). Os quartos infectados do lado direito (lateral AD/PD) demonstraram a

maior média de CCS (>690.000 células/mL), assim como, a somatória da CCS de quartos anteriores direito e posteriores esquerdo (diagonal AD/PE) proporcionaram uma média alta de CCS (>900.000 células/mL) (Gonçalves, 2012). Estes dados diferem dos encontrados no estudo de Barkema et al. (1997), que relataram menor percentual de altas CCS e frequência de infecção em quartos dianteiros. No entanto, foram similares aos resultados de Barkema et al. (1997) quanto à maior frequência de infecção nos anteriores direitos quando comparados aos anteriores esquerdos.

Quartos mamários com isolamento de *Corynebacterium* spp. produziram 30 gramas a menos de lactose do que quartos sadios (Tabela 4), provavelmente devido ao processo inflamatório, que provoca diminuição na concentração de lactose no leite decorrente da lesão tecidual, a qual reduz a capacidade de síntese pelo epitélio glandular. Outra possibilidade da detecção de mastite seria por meio de mudanças ocorridas nas concentrações de minerais, porém estes constituintes não foram avaliados neste estudo.

Tabela 1. Efeito da IIM causada por *Corynebacterium* spp. sobre a composição e CCS no leite em relação a quartos mamários sem isolamento microbiológico (negativos).

Variável	Quartos mamários					
	n^1	Infectados	n^1	Negativos	EPM ²	<i>P</i>
CCS (CS/mL)	190	662,37	200	54,28	49,63	<,0001
CCS (log ₁₀ CS/mL)	190	5,32	200	4,60	0,03	<,0001
Produção de leite (g) ³	190	1623,01	200	2220,25	55,24	<,0001
PLC (g) ⁴	190	1628,97	200	2209,49	54,89	<,0001
Gordura (kg)	190	0,057	200	0,076	0,002	<,0001
Proteína (kg)	190	0,052	200	0,068	0,001	<,0001
Lactose (kg)	190	0,073	200	0,103	0,002	<,0001
Caseína (kg)	190	0,040	200	0,053	0,001	<,0001
Sólidos totais (kg)	190	0,198	200	0,270	0,006	<,0001
Extrato seco desengordurado (kg)	190	0,141	200	0,193	0,004	<,0001

¹ *n*: Número de observações. ² EPM: Erro padrão da média.

Dos quartos mamários com isolamento de *Corynebacterium* spp., foram selecionados quartos contralaterais (quartos infectados por *Corynebacterium* spp. e sem isolamento microbiológico como controle). Um total de 92 quartos foram selecionados, e com base no conhecimento prévio da existência de diferença de produção entre quartos anteriores e

posteriores, os quartos contralaterais foram tratados como metades de acordo com a metodologia estatística utilizada por Silva et al. (2008).

Não houve efeito da IIM causada por *Corynebacterium* spp. entre quartos contralaterais sobre a produção de leite, gordura, proteína, caseína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado, exceto para a variável CCS ($P=0,02$) (Tabela 5). Assim como, interações foram observadas ($P<0,05$) apenas para as variáveis: gordura (%) e gordura (kg), que demonstraram interação entre raça e distribuição de quartos; e para lactose (%) com interação entre tratamento e distribuição de quartos.

A CCS entre quartos infectados (194.000 células/mL) e sadios (81.000 células/mL) diferiram estatisticamente ($P<0,05$). Estes resultados são similares aos descritos por LeVan et al. (1985) e Ngatia et al. (1991), que observaram diferenças significativas na CCS entre quartos sadios e infectados. Apesar da diferença significativa entre quartos contralaterais observada por Gonçalves (2012), a média da CCS de quartos contralaterais infectados apresentou-se abaixo do limiar considerado padrão para quartos sadios (200.000 células/mL). Da mesma forma, LeVan et al. (1985) não encontraram diferenças significativas quanto a produção de leite, teores de gordura e proteína, entre quartos sadios e infectados por *C. bovis*. No entanto, estes mesmos pesquisadores quando corrigiram as variáveis para g/kg de leite, não observaram diferenças de produção. Gonçalves (2012), não observou diferenças significativas nas demais variáveis: produção de leite, gordura, proteína, caseína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado; além da CCS. No entanto, quartos contralaterais positivos tiveram produção de leite corrigida para gordura mais baixa (diferença de 32,76 g) que quartos sadios (controle) (Tabela 5). Esta perda de produção pode ser observada em gramas para cada variável: gordura (1 g/kg), proteína (11 g/kg), lactose (4 g/kg), caseína (2 g/kg), sólidos totais (8 g/kg) e extrato seco desengordurado (6 g/kg). LeVan et al. (1985), também detectaram leve perda de produção de leite pela mastite causada por *Corynebacterium bovis* (0,18 kg/dia), apesar deste resultado não ter sido estatisticamente significativo ($P>0,05$).

Tabela 5. Efeito da IIM causada por *Corynebacterium* spp. sobre a composição e a CCS no leite de quartos mamários contralaterais (infectado e sadio).

Variável	IIM causada por <i>Corynebacterium</i> spp.				
	<i>n</i> ¹	SIM	NÃO	EPM ²	<i>P</i>
CCS (log ₁₀ CS/mL)	46	4,97	4,74	0,05	0,02
Lactose (%)	46	4,54	4,58	0,026	0,43
Gordura (%)	46	3,45	3,46	0,10	0,94
Proteína (%)	46	3,23	3,20	0,04	0,78
Caseína (%)	46	2,50	2,48	0,03	0,77
Sólidos totais (%)	46	12,19	12,23	0,12	0,89
Extrato seco desengordurado (%)	46	8,74	8,76	0,05	0,85
Produção de leite (ml)	46	1.835,79	1.892,45	0,1157	0,80
Produção de leite (g) ³	46	1.868,65	1.901,41	119,39	0,89
PLC (g) ⁴	46	1.828,92	1.876,37	111,61	0,83
Gordura (kg)	46	0,062	0,063	0,003	0,96
Proteína (kg)	46	0,058	0,069	0,003	0,85
Lactose (kg)	46	0,085	0,089	0,005	0,74
Caseína (kg)	46	0,045	0,047	0,002	0,77
Sólidos totais (kg)	46	0,225	0,233	0,01	0,78
Extrato seco desengordurado (kg)	46	0,162	0,168	0,01	0,75

¹ *n*: Número de observações, aos pares. ² EPM: Erro padrão da média. ³ Volume de leite, em mililitros, convertido para massa de leite, em gramas. ⁴ Produção de leite ajustada para o percentual relativo de gordura de 3,5%.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de aumentos moderados na CCS, infecções intramamárias subclínicas causadas por agentes secundários da mastite, em especial, *Staphylococcus* coagulase negativa e *Corynebacterium* spp., não afetam a produção e composição do leite. *Staphylococcus chromogenes* e *Corynebacterium bovis* parecem ser os patógenos secundários mais isolados de amostras de leite quando identificados em nível de espécie. Em rebanhos nos quais a mastite causada por patógenos primários está controlada, práticas de manejo com objetivo de reduzir infecções intramamárias por agentes secundários são o próximo passo para melhoria da qualidade do leite.

AGRADECIMENTOS

A FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo auxílio ao desenvolvimento dos projetos de pesquisa. Aos proprietários das 21 fazendas leiteiras que permitiram a coleta de amostras para o desenvolvimento dos estudos. Aos colegas e funcionários que auxiliaram no desenvolvimento das pesquisas.

REFERÊNCIAS

- BARKEMA, H. W. et al. Estimation of interdependence among quarters of the bovine udder with subclinical mastitis and implications for analysis. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 8, p. 1592-9, ago. 1997.
- BARKEMA, HW; VAN DER PLOEG, JD; SCHUKKEN, YH; et al. Management style and its association with bulk milk somatic cell count and incidence rate of clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**. v.82, n.8, p.1655-1663, 1999.
- BENITES, N.R.; GUERRA, J.L.; MELVILLE, P.A.; DA COSTA, E.O. Aetiology and histopathology of bovine mastitis of spontaneous occurrence. **J. Vet. Med. B.**, v.49, p.366-370, 2002.
- BENITES, N.R.; MELVILLE, P. A; COSTA, E. O. Evaluation of the microbiological status of milk and various structures in mammary glands from naturally infected dairy cows. **Tropical animal health and production**, v. 35, n. 4, p. 301-7, ago. 2003.
- BEXIGA, R. et al. Observed reduction in recovery of *Corynebacterium* spp. from bovine milk samples by use of a teat cannula. **The Journal of dairy research**, v. 78, n. 1, p. 9-14, fev. 2011.
- BODDIE, R.L.; NICKERSON, S.C.; OWENS, W.E.; WATTS, J.L. Udder microflora in nonlactating heifers. **Agri-Practice**, v.8, p.22-25, 1987.
- BOYER, P. 1998. Mastitis in dairy herds associated with *Corynebacterium bovis*. **Vet. Rec.** 143:175–176.
- BRADLEY, A.; GREEN, M. Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. **Farm Animal Practice**, v. 27, p. 310-315, 2005.
- BRADLEY, A.J.; LEACH, K.A.; BREEN, J.E.; GREEN, L.E.; GREEN, M.J. Survey of the incidence and etiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. **Veterinary Record**, v.160, p.253–258, 2007.
- BRAMLEY, A.J. Infection of the udder with coagulase-negative micrococci and *Corynebacterium bovis*. In: Proc. Int. Dairy Fed. Seminar on Mastitis control Brussels, 1975. Belgium. p. 377-381, 1975.
- BRENNAN, N. M., R. BROWN, M. GOODFELLOW, A. C. WARD, T. P. BERESFORD, P. J. SIMPSON, P. F. FOX, and T. M. COGAN. 2001. *Corynebacterium mooreparkense* sp. nov., and *Corynebacterium casei* sp. nov. isolated from the surface of a smear-ripened cheese. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** **51**:843–852.
- BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; RIBEIRO, M.T.; VEIGA, V.M.O. 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.
- BROOKS, B.W.; BARNUM, D.A. Experimental colonization of the bovine teat duct with *Corynebacterium bovis* and the effect on milk somatic cell counts. **Can. J. Comp. Med.**, v.48, p.141–145, 1984.
- BROOKS, B. W.; BARNUM, D. A. The susceptibility of bovine udder quarters colonized with *Corynebacterium bovis* to experimental infection with *Staphylococcus aureus* or *Streptococcus agalactiae*. **Can. J. Comp. Med.** v.48, p.146–150, 1984.
- CAPURRO, A.; ARTURSSON, K.; WALLER, K.P.; BENGTSSON, B.; ERICSSON-UNNERSTAD, H.; ASPÁN, A. 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**, n.134, p.327-333, 2009.

- CHAFFER, M.; LEITNER, G.; WINKLER, M.; GLICKMAN, A.; KRIFUCKS, O.; EZRA, E.; SARAN, A. Coagulase negative staphylococci and mammary gland infections in cows. **J. Vet. Med. B.**, v.46, p.707-712, 1999.
- COFFEY, E.M.; VINSON, W.E.; PEARSON, R.E. Somatic cell counts and infection rates for cows of varying somatic cell count in initial test of first lactation. **Journal of Dairy Science**. v.69, p.552-555, 1986.
- COMPTON, C. W.; HEUER, C.; PARKER, K.; MCDOUGALL, S. Epidemiology of mastitis in pasture-grazed peripartum dairy heifers and its effects on productivity. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.4157-4170, 2007.
- COSTA, E.O.; CARVALHO, V.M.; COUTINHO, S.D.; CASTILHO, W.; COROMORI, L.F.L. *Corynebacterium bovis* e sua importância na etiologia da mastite bovina no Estado de São Paulo. **Pesq. Vet. Bras.**, 5(4):117-120, 1985.
- COULON, J.B.; GASQUIB, P.; BARNOUNIB, J.; OLLIERA, A.; PRADEL, F.; POMIÈSA, D. Effect of mastitis and related-germ on milk yield and composition during naturally-occurring udder infections in dairy cows. **Anim. Res.** v.51, p.383-393, 2002.
- COYLE, M. B.; LIPSKY, B. A. Coryneform bacteria in infectious diseases: Clinical and laboratory aspects. **Clinical microbiology reviews**, n. 3, p. 227-246, 1990.
- DE HAAS, Y.; VEERKAMP, R.F.; BARKEMA, H.W.; GRÖHN, Y.T.; SCHUKKEN, Y.H. Associations between pathogen-specific cases of clinical mastitis and somatic cell count patterns. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.95-105, 2004.
- DE VliegHER, S.; BARKEMA, H.W.; STRYHN, H.; OPSOMER, G.; DE KRUIF, A. Impact of early lactation somatic cell count in heifers on milk yield over the first lactation. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.938-947, 2005.
- DEVRIESE, L.A., DE KEYSER, H. Prevalence of different species of coagulase-negative staphylococci on teats and in milk samples from dairy cows. **J. Dairy Res.** v.47, p.155-158, 1980.
- DEVRIESE, L.A.; VANCANNEY, M.; BAELE, M.; VANEECHOUTTE, M.; DE GRAEF, E.; SNAUWAERT, C.; CLEENWERCK, I.; DAWYNDT, P.; SWINGS, J.; DECOSTERE, A.; HAESEBROUCK, F. *Staphylococcus pseudointermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.**, v.55, p.1569-1573, 2005.
- DJABRI, B.; BAREILLE, N.; BEAUDEAU, F.; SEEGER, H. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows - a meta-analysis. **Vet. Res.**, v.33, p.335-357, 2002.
- FOX, L.K.; BESSER, T.E.; JACKSON, S.M. Evaluation of a coagulase-negative variant of *Staphylococcus aureus* as a cause of intramammary infections in a herd of dairy cattle. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.209, p.1143-1146, 1996.
- GONÇALVES, J.L. Produção e composição do leite de vacas com mastite causada por *Corynebacterium* spp. 2012. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012. (Dados não publicados).
- GRÖHN, Y.T.; WILSON, D.J.; GONZÁLEZ, R.N.; HERTL, J.A.; SCHULTE, H.; BENNETT, G.; SCHUKKEN, Y.H. Effect of pathogen-specific clinical mastitis on milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.3358-3374, 2004.
- HALTIA, L. et al. A study of bovine mastitis, milking procedures and management practices on 25 Estonian dairy herds. **Acta veterinaria Scandinavica**, v. 48, p. 22, jan. 2006.
- HARMON, R. J., R. J. EBERHART, D. E. JASPER, B. E. LANGLOIS, and R. A. WILSON. 1990. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infections. **National Mastitis Council, Inc.**, Arlington, VA.
- HOGAN, J.S.; SMITH, K.L.; TODHUNTER, D.A.; SCHOENBERGER, P.S. Rate of environmental mastitis in quarter infected with *Corynebacterium bovis* and *Staphylococcus* sp. **J. Dairy Sci.**, 71(9)2510-2525, 1988.

- HOGVEEN, H. et al. Monitoring sub clinical intramammary infections on a low bulk milk somatic cell count farm. In: **INTERNATIONAL DAIRY HOUSING CONFERENCE**, 4, 1998, St. Louis. *Proceedings...* St. Louis, 1998, p. 9-16.
- HOMMEZ, J. et al. Identification of nonlipophilic corynebacteria isolated from dairy cows with mastitis. **Journal of clinical microbiology**, v. 37, n. 4, p. 954-7, abr. 1999.
- HONKANEN, B. T.; GRIFFIN, T. K.; DODD, F. H. Observations on *Corynebacterium bovis* infection of the bovine mammary gland I. natural infection. **Journal of Dairy Research**, v.51, p.371-378, 1984.
- HUXLEY, J.N. *Corynebacterium bovis* – friend or foe? **BRITISH MASTITIS CONFERENCE**, 2003, Garstang, Proceedings... 2003. p. 23-34. Disponível em: <http://www.britishmastitisconference.org.uk/Page9final09-04-16.html>>. Acesso em: 06 out. 2012.
- HYVÖNEN, P.; KÄYHKÖ, S.; TAPONEN, S.; VON WRIGHT, A.; PYÖRÄLÄ, S. 2007. Internalization by mammary epithelial cells of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis. In proceedings: **Heifer mastitis conference 2007**, June 24-26, Ghent, Belgium, pp. 42-43.
- JARP, J. Classification of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine clinical and subclinical mastitis. **Veterinary Microbiology**, n.27, p.151–158, 1991.
- KIRK, J.H.; WRIGHT, J.C.; BERRY, S.L.; REYNOLDS, J.P.; MAAS, J.P.; AHMADI, A. Relationship of milk culture status at calving with somatic cell counts and milk production of dairy heifers during early lactation on a Californian dairy. **Prev. Vet. Med.**, v.28, p.187-198, 1996.
- LAEVENS, H.; DELUYKER, H.; DEVRIESE, L.; DE KRUIF, A. The influence of intramammary infections with *Staphylococcus chromogenes* and *Staphylococcus warneri* or *haemolyticus* on the somatic cell count in dairy cows. **Epidémiol. Santé Anim.** 8th Symposium, International Society of Veterinary Epidemiology and Economy 31-32. 1997.
- LAFFRANCHI, A. et al. Etiologia das infecções intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactação. **Cienc. Rural** [online]. 2001, vol.31, n.6, pp. 1027-1032. ISSN 0103-8478. doi: 10.1590/S0103-84782001000600018.
- LAM, T.J.G.M.; SCHUKKEN, Y.H.; VAN VLIET, J.H.; GROMMERS, F.J.; TIELEN, M.J.M.; BRAND, A. Effect of natural infection with minor pathogens on susceptibility to natural infection with major pathogens in the bovine mammary gland. **Journal of Veterinary Research**, v.58, p.17–22, 1997.
- LEVAN, P. L.; BERHART, R. J.; ESLER, E. Effects of natural intramammary *Corynebacterium bovis* infection on milk yield and composition. **Journal of Dairy Science**, v.68, p.3329-3336, 1985.
- MATOS, J.S.; WHITE, D.G.; HARMON, R.J.; LANGLOIS, B.E. Isolation of *Staphylococcus aureus* from sites other than the lactating mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.1544–1549, 1991.
- MATTHEWS, K.R.; HARMON, R.J.; LANGLOIS, B.E. Prevalence of *Staphylococcus* species during the periparturient period in primiparous and multiparous cows. **Journal of Dairy Science**. v.75, p.1835–1839, 1992.
- METTIFOGO, E.; MULLER, E.E.; FREITAS, J.C.; JANE, M.; ALFIERI, A.A.; VANERLI, B. Subclinical mastitis attributable to *Corynebacterium bovis* in cattle from Northern Paraná, Brazil. **Semina Londrina**, v.12, p.41-44, 1991.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL (NMC). CURRENT CONCEPTS OF BOVINE MASTITIS. Madison - WI, NMC Inc., 4^a Ed., 1999. 64p.
- NGATIA, T. A.; JENSEN, N. E.; ERG, B. B. Changes in the bovine udder quarters naturally infected by *Corynebacterium bovis*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 147, p. 463-468, 1991.
- NICOLAU, E. S. et al. Influência da mastite subclínica estafilocócica sobre as características físico-químicas e celulares do leite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 1, n. 16, p. 35-38, 1996.
- PAAPE, M.; MEHRZAD, J.; ZHAO, X.; DETILLEUX, J.; BURVENICH, C. Defense of the bovine mammary gland by polymorphonuclear neutrophil leukocytes. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.7, n.2, p.09–121, 2002.

- PANKEY, J. W. et al. Effects of *Corynebacterium bovis* infection on susceptibility to major mastitis pathogens. *Journal of Dairy Science*, v. 68, p. 2684-2693, 1985.
- PANKEY, J.W.; NICKERSON, S.C.; BODDIE, R.L. et al. Effects of *Corynebacterium bovis* infection on susceptibility to major mastitis pathogens. **Journal of Dairy Science**, v.68, p.2684-2693, 1985.
- PARADIS, M.È.; BOUCHARD, É.; SCHOLL, D.T.; MIGLIOR, F.; ROY, J.P. Effect of nonclinical *Staphylococcus aureus* or coagulase-negative staphylococci intramammary infection during the first month of lactation on somatic cell count and milk yield in heifers. **Journal of Dairy Science**. v.93, n.7, p.2989-2997, 2010.
- PHILPOT, N.W.; NICKERSON, S.C. Vencendo a luta contra a mastite. Piracicaba: Westfalia Surge/ Westefali Landtechnik do Brasil, 2002. 188p.
- PICOLI, T.; SCHMITT, B.; SCHNEIDER, J.R.; ZANI, J.L. Práticas de manejo e ocorrência de *Corynebacterium bovis* em propriedades leiteiras no município de pelotas-RS. In: **Anais. COBRAVET**, 2008. <Acesso: www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/.../R0675-1.pdf> dez, 2010.
- PIEPERS, S.; OPSOMER, G.; BARKEMA, H.W.; DE KRUIF, A.; DE VliegHER, S. Heifers infected with coagulase-negative staphylococci in early lactation have fewer cases of clinical mastitis and higher milk production in their first lactation than noninfected heifers. **Journal of Dairy Science**. v.93, p.2014-2024, 2010.
- PIEPERS, S.; PEETERS, K.; OPSOMER, G.; BARKEMA, H.W.; FRANKENA, K.; DE VliegHER, S. Pathogen group specific risk factors at the herd, heifer and quarter level for intramammary infections in early lactating dairy heifers. **Prev. Vet. Med.**, v.99, p.91-101, 2011.
- PIESSENS, V.; SUPRÉ, K.; HEYNDRIKX, M.; HAESBROUCK, F.; VliegHER, S.D.; COILLIE, E.V. Validation of amplified fragment length polymorphism genotyping for species identification of bovine associated coagulase-negative staphylococci. **Journal of Microbiological Methods**. v.80, p.287-294, 2010.
- PIESSENS, V.; VAN COILLIE, E.; VERBIST, B.; SUPRÉ, K.; BRAEM, G.; VAN NUFFEL, A.; DE VUYST, L.; HEYNDRIKX, M.; DE VliegHER, S. Distribution of coagulase-negative *Staphylococcus* species from milk and environment of dairy cows differs between herds. **Journal of Dairy Science**. v.94, p.2933-2944, 2011.
- PITKÄLÄ, A.; HAVERI, M.; PYÖRÄLÄ, S.; MYLLYS, V.; HONKANEN-BUZALSKI, T. Bovine mastitis in Finland 2001 – prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.2433-2441, 2004.
- POCIECHA, J. Z. Influence of *Corynebacterium bovis* on constituents of milk and dynamics of mastitis. **Veterinary Record**, v. 125, p. 628, 1989.
- PYÖRÄLÄ, S., TAPONEN, S. Coagulase-negative staphylococci — emerging mastitis pathogens. **Veterinary Microbiology**, n.134, p.3-8, 2009.
- PYÖRÄLÄ, S.; SYVÄJÄRVI, J. Bovine acute mastitis. Part I. Clinical aspects and parameters of inflammation in mastitis caused by different pathogens. **J. Vet. Med. B.**, v.34, p.573-584, 1987.
- RADOSTITIS, O.M., LESLIE, K.E., FETROW, J. Herd health. **Food Animal Production Medicine**. 2 ed. Saunders, Philadelphia, p.229-276, 1994.
- RAINARD, P.; DUCCELLIEZ, M.; POUTREL, B. The contribution of mammary infections by coagulase-negative staphylococci to the herd bulk milk somatic cell count. **Vet. Res. Commun.**, v.14, p.193-198, 1990.
- RAINARD, P.; POUTREL, B. Dynamics of nonclinical bovine intramammary with major and minor pathogens. **Am. J. Vet. Res.**, v.43, n.12, p.2143-2146, 1982.
- ROBERSON, J.; MIXON, J.; OLIVER, S.; ROHRBACH, B.; HOLLAND, R. Etiologic agents associated with high SCC dairy herds. In: **24th World Buiatrics Congress**, Nice, France, CD, OS, p.19-21, 2006.
- SAMPIMON, O.C.; BARKEMA, H.W.; BERENDS, I.M.G.A.; SOL, J.; LAM, T.J.G.M. Prevalence of intramammary infection in Dutch dairy herds. **Journal of Dairy Research**, v.76, p.129-136, 2009.

SAMPIMON, O.C.; BORNE, B.HP.V.D.; SANTMAN-BERENDS, I.; BARKEMA, H.W.; LAM, T. Effect of coagulase-negative staphylococci on somatic cell count in Dutch dairy herds. **Journal of Dairy Research**, v.77, p.318-324, 2010.

SANTOS, O.C.S.; BARROS, E.M.; BRITO, M.A.V.P.; BASTOS, M.C.F.; SANTOS, K.R.N.S.; MARVAL, M.G. Identification of coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis using RFLP-PCR of the *groEL* gene. **Veterinary Microbiology**, v.130, p.134-140, 2008.

SCHEPERS, A J. et al. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 8, p. 1833-40, ago. 1997.

SCHUKKEN, Y. H. *et al.* Intramammary infections and risk factors for clinical mastitis in herds with low somatic cells counts in bulk milk. **Veterinary Record**, v. 125, p. 393-6, 1989.

SCHUKKEN, Y.H.; BENNETT, G.J.; GONZÁLEZ, R.N.; SCHULTE, H.F.; SANTISTEBAN, C.G.; TIKOFSKY, L.L.; WELCOME, F.L.; ZADOKS, R.N.; ZURAKOWSKI, M.J. Coagulase negative staphylococcal mastitis: Nothing to worry about! **Veterinary Microbiology**, n.134, p.9-14, 2009.

SCHUKKEN, Y.H.; WILSON, D.J.; WELCOME, F.; GARRISON-TIKOFSKY, L.; GONZALEZ, R.N. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. **Veterinary Research**, v.34, n.5, p.579-596. 2003.

SILVA, L.F.P.; ETCHEBARNE, B. E.; NIELSEN, M.S.W.; LIESMAN, J.S.; KIUPEL, M.; VANDERHAAR, M.J. Intramammary infusion of leptin decreases proliferation of mammary epithelial cells in prepuberal heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n.8, p.3034-3044, 2008.

SIMOJOKI, H.; ORRO, T.; TAPONEN, S.; PYÖRÄLÄ, S. Experimental model of bovine clinical mastitis caused by *Staphylococcus chromogenes*. 2007. In: **Proceedings of the Heifer Mastitis Conference 2007**, Ghent, Belgium, June 24-26, pp. 71-72.

SMITH, E.M.; GREEN, L.E.; MEDLEY, G.F.; BIRD, H.E.; FOX, L.K.; SCHUKKEN, Y.H.; KRUIZE, J.V.; BRADLEY, A.J.; ZADOKS, R.N.; DOWSON, C.G. Multilocus sequence typing of intercontinental bovine *Staphylococcus aureus* isolates. **J. Clin. Microbiol.**, v.43, p.4737-4743, 2005.

SORDILLO, L.M.; DOYMAZ, M.Z.; OLIVER, S.P.; DERMODY, J.T. Leucocytic infiltration of bovine mammary parenchymal tissue in response to *Corynebacterium bovis* colonization. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.4, p.1045-1051, 1989.

SOUTO, L. I. M. et al. Relationship between occurrence of mastitis pathogens in dairy cattle herds and raw-milk indicators of hygienic-sanitary quality. **The Journal of dairy research**, v. 75, n. 1, p. 121-7, fev. 2008.

SUPRÉ, K.; HAESEBROUCK, F.; ZADOKS, R.N.; VANECHOUTTE, M.; PIEPERS, S.; DE VliegHER, S. Some coagulase-negative *Staphylococcus* species affect udder health more than others. **Journal of Dairy Science**, v.94, n.5, p.2329-2340, 2011.

TAPONEN, S. **Bovine mastitis caused by coagulase-negative staphylococci**. 2008.63p. Academic dissertation. Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, Walter Hall, Agnes Sjöbergin katu 2, Helsinki.

TAPONEN, S.; KOORT, J.; BJÖRKROTH, J.; SALONIEMI, H.; PYÖRÄLÄ, S. 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.; PYÖRÄLÄ, S. Coagulase-negative staphylococci as a cause of bovine mastitis – Not so different from *Staphylococcus aureus*? **Veterinary Microbiology**, n.134, p.29-36, 2009.

TAPONEN, S.; SIMOJOKI, H.; HAVERI, H.; LARSEN, H.D.; PYÖRÄLÄ, S. Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative staphylococci identified with API or AFLP. **Veterinary Microbiology**, n.115, p.199-207, 2006.

TENHAGEN, B.A.; KOSTER, G.; WALLMANN, J.; HEUWIESER, W. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p.2542-2551, 2006.

THORBERG, B.M.; KUHN, I.; AARESTRUP, F.M.; BRANDSTROM, B.; JONSSON, P.; DANIELSSON-THARN, M.L. Pheno- and genotyping of *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk and human skin. **Vet. Microbiol.** v.115, p.163–172, 2006.

TIMM, C. D.; BERMURDES, R. F.; LADEIRA, S. L.; CRUCIO, B. R.; MELLO, D. F. M. Manejo de la antisepsia post-ordeña en el control de la mastitis por *Corynebacterium bovis*. In: **7º CONGRESO PANAMERICANO DE LA LECHE**, 2000, Havana. Anales del 7º Congreso Panamericano de la Leche. 2000.

TIMMS, L.L.; SCHULTZ, L.H. Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections. **Journal of Dairy Science.**, v.70, p.2648-2657, 1987.

TOMAZI, T. Produção e composição do leite de vacas com mastite causada por *Staphylococcus* coagulase negativa. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012. (Dados não publicados).

TRINIDAD, P.; NICKERSON, S.C.; ADKINSON, R.W. Histopathology of staphylococcal mastitis in unbred dairy heifers. **Journal of Dairy Science.** v.73, p.639-647, 1990b.

TRINIDAD, P.; NICKERSON, S.C.; ALLEY, T.K. 1990a. Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.107-114, 1990a.

VICTÓRIA, C.; DA SILVA, A.V.; ELIAS, A.O.; LANGONI, H. *Corynebacterium bovis* e os padrões de contagem de células somáticas no Brasil. **Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR**, v.8, n.2, p.161-164, 2005.

WATTS, J. L. et al. Identification of *corynebacterium bovis* and other coryneforms isolated from bovine mammary glands. **Journal of dairy science**, v. 83, n. 10, p. 2373-9, out. 2000.

WHITE, L.J.; SCHUKKEN, Y.H.; LAM, T.J.; MEDLEY, G.F.; CHAPPELL, M.J. A multispecies model for the transmission and control of mastitis in dairy cows. **Epidemiol. Infect.**, v.127, p.567–576, 2001.

WILSON, D.J.; GONZÁLEZ, R.N.; DAS, H.H. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: prevalence and effects on somatic cell count and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p.2592-2598, 1997.

WOODWARD, W. D., A. C. S. WARD, L. K. FOX, and L. A. CORBEIL. Teat skin normal flora and colonization with mastitis pathogen inhibitors. **Vet. Microbiol.**, v.17, p.357–365, 1988.

ZADOKS, R.N.; VAN LEEUWEN, W.B.; KREFT, D.; FOX, L.K.; BARKEMA, H.W.; SCHUKKEN, Y.H.; VAN BELKUM, A. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine and human skin, milking-equipment, and bovine milk by phage typing, pulsed-field gel electrophoresis, and binary typing. **J. Clin. Microbiol.**, v.40, p.3894–3902, 2002.

ZAFALON, L. F. *et al.* Influência das bactérias do gênero *Corynebacterium* e *Estafilococcus* coagulase positivos e negativos, sobre a contagem de células somáticas e a produção láctea de quartos mamários com mastite subclínica. **Revista do NAPGAMA**, a. 2, n. 6, p. 4-6, 1999.