

Artigo de Revisão

## Mastites em ruminantes no Brasil<sup>1</sup>

Atzel Candido Acosta<sup>2\*</sup>, Leonildo Bento Galiza da Silva<sup>2</sup>, Elizabeth Sampaio Medeiros<sup>2</sup>, José Wilton Pinheiro-Júnior<sup>2</sup> e Rinaldo Aparecido Mota<sup>2</sup>

**ABSTRACT.**- Acosta A.C., Silva L.B.G., Medeiros E.S., Pinheiro-Júnior J.W. & Mota R.A. 2016. [Mastitis in ruminants in Brazil.] Mastites em ruminantes no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 36(7):565-573. Laboratório de Bacterioses dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brazil. E-mail: [acabad80@gmail.com](mailto:acabad80@gmail.com)

Mastitis is a complex disease and is considered one of the main causes of losses to the global dairy industry. The objective of this review was to compile information for the last ten years of mastitis in ruminants in Brazil. The prevalence of subclinical mastitis was 48.64% in cattle, 30.7% in goats, 31.45% in sheep and 42.2% in the buffalo species, with especial participation of *Staphylococcus* spp. in the etiology. Risk factors associated with the occurrence of mastitis were related to problems in environmental sanitation and handling of animals. The largest percentage of resistance of microorganisms to antimicrobials was for penicillin, ampicillin, amoxicillin and neomycin. The use of molecular tools for diagnosis of mastitis-causing agents in the country is still scarce, making it difficult to obtain a faster, sensitive and specific diagnosis.

INDEX TERMS: Mastitis, etiology, epidemiology, antimicrobial resistance, ruminants.

**RESUMO.**- A mastite é uma doença complexa e considerada uma das principais causas de perdas à indústria leiteira mundial. Objetivou-se com esta revisão compilar informações dos últimos dez anos sobre a mastite em ruminantes no Brasil. A prevalência da mastite subclínica chega a 48,64% na espécie bovina, 30,7% na espécie caprina, 31,45% na espécie ovina e 42,2% na espécie bubalina, destacando-se a etiologia por *Staphylococcus* spp. Os fatores de risco associados à ocorrência de mastite estão relacionados a problemas no saneamento ambiental e ao manejo dos animais. As bactérias isoladas do leite mastítico apresentam maior percentual de resistência a penicilina, ampicilina, amoxicilina e neomicina e a utilização de técnicas moleculares no diagnóstico dos agentes causadores de mastites no país, ainda é escassa o que dificulta a obtenção de um diagnóstico mais rápido, sensível e específico.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Mastite, etiologia, epidemiologia, resistência a antimicrobianos, ruminantes.

## INTRODUÇÃO

Na última década, a produção de leite no Brasil esteve em sintonia com o desenvolvimento econômico do país. Partindo das informações contidas na base de dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE 2000-2014 <http://www.ibge.gov.br/home/>), a tendência desta produção é de se incrementar (Fig.1). Estes níveis de produção permitiram que o Brasil ocupasse no ano 2014 a quinta posição no *ranking* mundial na produção de leite, ficando atrás apenas da União Europeia, Índia, Estados Unidos e China (IBGE 2014).

A quantidade e a qualidade do leite produzido são influenciadas por fatores relacionados com a obtenção, armazenamento e transporte do leite, fatores zootécnicos (manejo, alimentação e potencial genético dos rebanhos), assim como fatores sanitários da glândula mamária e do animal em geral. A mastite é a inflamação mais frequente em animais destinados a produção de leite e a que mais onera a pecuária leiteira (Vlieghe et al. 2012, Paul & Gan-guly 2014, Pereira et al. 2014, Saab et al. 2014).

Apresenta-se na forma clínica quando são evidentes os sinais da inflamação (rubor, aumento da sensibilidade ao tato e presença de grumos ou flocos no leite) e subclínica onde o processo inflamatório necessita de testes de campo como o *California Mastitis Test* (CMT) ou de laboratório como a contagem direta ou eletrônica de células somáticas

<sup>1</sup> Recebido em 2 de julho de 2015.

Aceito para publicação em 6 de abril de 2016.

<sup>2</sup> Laboratório de Bacterioses dos Animais Domésticos, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFR-PE), Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, PE 52171-900, Brasil. \*Autor para correspondência: [acabad80@gmail.com](mailto:acabad80@gmail.com)

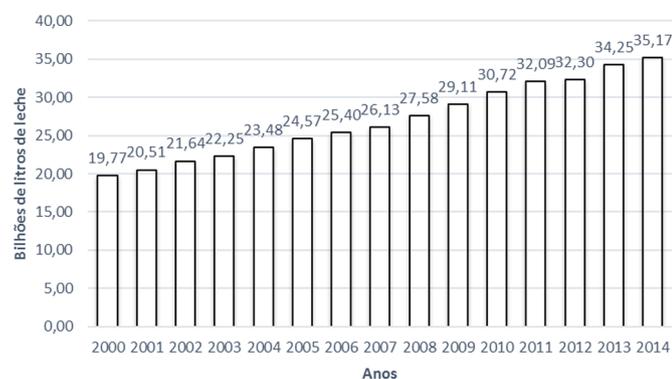


Fig.1. Evolução da produção de leite no Brasil. (Fonte: Adaptado de IBGE)

(CCS) para seu diagnóstico (Pantoja et al. 2009). Além disso, são usadas técnicas microbiológicas como lactocultura e provas bioquímicas para a identificação dos agentes biológicos causadores das mastites (Ebrahimi et al. 2014) e recentemente é frequente a utilização de técnicas moleculares para o diagnóstico desses agentes (Rovai et al. 2014, Zadoks et al. 2014).

É uma doença plurietiológica e multifatorial, considerada uma das principais causas de perdas à indústria leiteira (Vlieghe et al. 2012), pois além dos gastos nos programas de controle e profilaxia (Halasa et al. 2007), a atividade dos microrganismos envolvidos na inflamação e a própria reação inflamatória da glândula mamária faz com que ocorram mudanças na quantidade, qualidade e condições de processamento do leite produzido (Le Maréchal et al. 2011b). As mudanças na qualidade do leite basicamente consistem na diminuição das proteínas, lactose e sólidos não gordurosos (Reis et al. 2013). A doença pode evoluir ocasionalmente para uma infecção sistêmica, o que pode acarretar na morte do animal (Silva & Costa 2001, Le Maréchal et al. 2011a).

Internacionalmente, os aspectos da etiologia, epizootiologia, diagnóstico e estratégias de controle e prevenção da mastite são amplamente abordados e discutidos (Contreras et al. 2007, Vlieghe et al. 2012, Kulkarni & Kaliwal 2013, Paul & Ganguly 2014), assim como os impactos desta doença na qualidade dos produtos lácteos e a tecnologia a ser aplicada no processamento dos mesmos (Vivar-Quintana et al. 2006, Fernandes et al. 2007, Le Maréchal et al. 2011b). No Brasil, nos últimos 10 anos conta-se somente com uma compilação de informação sobre a mastite em pequenos ruminantes (Peixoto et al. 2010b), sendo escassa ou praticamente nula em outras espécies. Desta forma, objetivou-se com esta revisão compilar informações sobre a mastite nas espécies bovina, caprina, ovina e bubalina no Brasil.

### Seleção de artigos

A revisão da literatura foi realizada por meio da identificação de artigos que abordassem a etiologia da mastite em bovinos, caprinos, ovinos e búfalos em diferentes regiões do Brasil. A seleção dos artigos foi realizada com a ferramenta de busca da internet nas seguintes bases de dados: SCOPUS (<http://www.scopus.com/>), PubMed Central (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>) e SciELO (<http://www.scielo.org>),

sendo utilizadas as palavras chaves: microrganismos, mastite e Brasil (*microorganisms, mastitis, Brazil*). Os critérios de seleção utilizados foram os seguintes: (1) artigos publicados em inglês ou português, (2) artigos publicados nos últimos dez anos, (3) artigos com pelo menos três grupos de agentes etiológicos causadores de mastites. Um total de 22 artigos foram selecionados (Quadro 1); estes trabalhos foram realizados em rebanhos criados em quatro das cinco grandes regiões do Brasil (Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-Oeste).

### Patogênese da mastite

A mastite é a doença mais amplamente difundida na indústria leiteira, com prevalências na espécie bovina que variam entre 15,4 e 28,6% (Fontana et al. 2010, Langoni & Troncarelli 2011, Krewer et al. 2013), em pequenos ruminantes de 36,3% (Domingues et al. 2006) e em búfalos de 24,2% (Medeiros et al. 2013). A doença resulta da introdução do microrganismo no canal do teto e o curso clínico dependerá da capacidade do microrganismo de colonizar e multiplicar-se no úbere, do grau de virulência da cepa e da capacidade de resposta do hospedeiro. A multiplicação dos microrganismos e a produção de toxinas danificam o tecido secretor glandular, causando traumatismo físico e irritação química (Kulkarni & Kaliwal 2013).

De uma forma resumida, a patogênese da mastite pode ser dividida em cinco etapas: 1) o microrganismo penetra no canal do teto; 2) multiplica-se usando como substrato o leite; 3) o microrganismo alcança o seio lactífero dos ductos coletores e alvéolos; 4) a multiplicação do microrganismo estimula a atração de leucócitos, originando a formação de edema e abscesso em alguns casos; 5) e muitas vezes na cura, o tecido secretor glandular é substituído por tecido conectivo fibroso (Sordillo & Streicher 2002).

### Mecanismo de defesa do hospedeiro

A glândula mamária é protegida por diferentes mecanismos de defesa que podem ser divididos em dois grupos: a imunidade inata e a imunidade específica ou adquirida. A imunidade inata também conhecida por resposta não específica ou não imune ocorre predominante nas primeiras fases da doença. A resposta não específica é ativada rapidamente no sítio da infecção por numerosos estímulos, mas não é aumentada pela exposição repetida ao mesmo agressor. A imunidade inata é formada pela barreira física conferida pelo esfíncter do teto, a barreira química formada pela queratina e fatores solúveis como as citocinas, além de elementos celulares como macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, células *natural killer* (Oviedo-Boyso et al. 2007). Se a resposta imune inata não conseguir eliminar o patógeno em um curto espaço de tempo, a resposta imune específica é ativada (Sordillo & Streicher 2002), sendo mediada por fatores solúveis específicos como as imunoglobulinas e pela defesa celular conferida por linfócitos T e B.

O termo Contagem de Células Somáticas (CCS) refere-se a todas as células presentes no leite, incluindo as células do sangue como os leucócitos e células do epitélio secretor glandular. A composição das células somáticas no leite varia em relação ao tipo de secreção, sendo no leite bovino de 3% para células polimorfonucleares, 80% macrófagos,

**Quadro 1. Frequência relativa (%) dos microrganismos isolados de animais com mastite clínica e subclínica (A) espécie bovina, (B) espécies caprina e/ou ovina e (C) espécie bubalina**

Grandes regiões e espécies em exploração	<i>Staphylococcus</i> spp.		<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp.	<i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Candida</i> spp.	<i>Prototheca</i> spp.	Gram negativa
	Gênero	SCN <sup>a</sup>							
<b>Nordeste</b>									
A (Ruiz et al. 2011)	32,8		13,9	8,3	37,4	3,4	0,2		4,4
A (Krewer et al. 2013)	49,1		2,1		35,3	1,7		4,6	3,6
B (Coutinho et al. 2006)		57,6	15,2	12	15,2				
B (Bianchini et al. 2010)	84,4		4,4	4,4		4,4			2,2
B (Neves et al. 2010)		83,3	16,7						
B (Peixoto et al. 2010a)	29,5	27,1	25,7	2,9	7,1	2,9			4,8
B (Silva et al. 2011)	90,3		4,9		1,7				1,7
B (Silva et al. 2013)		61,5	3,07		13,9	6,16			9,2
C (Medeiros et al. 2013)	49,4		3,7	1,8	23,2	0,5	0,8		16,5
<b>Sudeste</b>									
A (Ribeiro et al. 2009)	4,3		25,7	25,7		12,9			4,3
A (Souto et al. 2010)	29,7			17,2		36,3			
A (Langoni & Troncarelli 2011)		21,3	16,6	21		31,6	0,9		2,8
A (Costa et al. 2012)	8,7					43,48	29,35	4,34	4,34
B (Domingues et al. 2006)		67,9	9,4	13,2		5,7			3,8
B (Langoni et al. 2006)		55	12,8	10,1		5,5	2,8	6,4	6,4
C (Pizauro et al. 2014)	20,2		0,8	42,8		23,5	7,6		1,7
<b>Sul</b>									
A (Pianta et al. 2007)			15,4	21,3		13,8			3,3
A (Jobim et al. 2010)	30,53			28,15					33,29
A (Mesquita et al. 2012)	14,5		11,1	36,7		7,4	18,5		11,1
A (Saab et al. 2014)		32,9	12,3	31,6		14,2			7,7
B (Pereira et al. 2014)		54,5	11,4	6,7	7		11,4		4,5
<b>Centro-Oeste</b>									
A (Fontana et al. 2010)	1,0	24,0	15,9	19,7		35,6			3,8

<sup>a</sup> SCN = *Staphylococcus* coagulase negativa, <sup>b</sup> SCP = *Staphylococcus* coagulase positiva.

16% linfócitos e 2% de células do epitélio glandular (Sharma et al. 2011). Para cabras, essa composição é de 72,6% de células polimorfonucleares, 14,9% macrófagos, 12,4% linfócitos e 0,2% de células do epitélio glandular (Boulaaba et al. 2011). Em ovelhas, a concentração de células somáticas comporta-se da seguinte forma: 31% de células polimorfonucleares, 57% macrófagos, 8% linfócitos e 2% de células do epitélio glandular (Morgante et al. 1996) e nas búfalas, a concentração de células polimorfonucleares é de 22,48%, macrófagos de 25,82% e 30,8% de linfócitos (Hussain et al. 2012).

O aumento na contagem de células somáticas demonstra a instauração de um processo inflamatório na glândula mamária, sendo esta informação utilizada para o diagnóstico da mastite subclínica (Deb et al. 2013). O aumento da CCS é influenciado por diferentes fatores como o patógeno envolvido na infecção (Djabri et al. 2002, Reis et al. 2011), período do ano, raça, estágio da lactação, volume de produção, número de lactações e problemas nutricionais (De et al. 2011, Sharma et al. 2011).

### Etiologia

Pelas dimensões territoriais do Brasil observam-se diferentes condições climáticas, sistemas de produção e densidade animal por área de exploração, por isso é fácil entender a diversidade de agentes etiológicos causadores da mastite no país. Tendo em vista a divisão territorial em cinco grandes regiões e a porcentagem em que participam na produção do leite nacional (5,4% Norte, 10,5% Nordeste, 35,1% Sudeste, 34,4% Sul e 14,6% Centro-Oeste) (IBGE

2013), chama a atenção que não foram encontrados artigos que abordassem a etiologia da mastite em bovinos, caprinos, ovinos e búfalos na região Norte e somente um artigo na região Centro-Oeste sobre este tema nos últimos 10 anos.

Os agentes etiológicos causadores de mastites são classificados em dois grupos: contagiosos e ambientais. Os agentes contagiosos vivem e se multiplicam sobre ou dentro da glândula mamária e sua transmissão ocorre de animal para animal ou de teto para teto durante a ordenha. Os principais agentes contagiosos são: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma species* e *Corynebacterium bovis* (Bramley & Dodd 1984, Smith, 1983). Os agentes ambientais vivem no meio onde os animais são criados e a infecção das glândulas ocorre no período entre as ordenhas (Oliver et al. 2004). Os agentes ambientais descritos com maior frequência são: *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Streptococcus bovis*, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*, além disso, também incluem bactérias Gram-negativas como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter aerogenes* (Kulkarni & Kaliwal 2013), algas como a *Prototheca zopfii* (Corbellini et al. 2001, Bueno et al. 2006), leveduras (Costa et al. 2012) e fungos (Chahota et al. 2001, Pachauri et al. 2013, Zhou et al. 2013). A mastite por agentes ambientais instala-se quando a imunidade do hospedeiro está comprometida ou quando as condições higiênicas sanitárias não são favoráveis (Kulkarni & Kaliwal 2013).

Os principais grupos de agentes causadores de mastite nas diferentes regiões do Brasil são apresentados no Qua-

dro 1, onde as associações entre grupos de microrganismos não são mostradas. De forma geral observa-se uma elevada ocorrência do gênero *Staphylococcus* spp. nos casos de mastites nas espécies bovina, caprina, ovina e bubalina e na região Sudeste e Centro-Oeste, o gênero *Corynebacterium* também tem uma participação especial.

O gênero *Staphylococcus* divide-se em dois grandes grupos tendo em conta a capacidade do microrganismo em produzir a enzima coagulase que transforma o fibrinogênio em fibrina (Pyörälä & Taponen 2009). Nos últimos anos, os *Staphylococcus* Coagulase Negativa (SCN) são isolados com maior frequência a partir de amostras de animais com mastite em diferentes países (Pyörälä & Taponen, 2009, Schukken et al. 2009, Fessler et al. 2010). O controle da mastite causada por SCN é complexo pela heterogeneidade deste grupo bacteriano, pois atualmente existem mais de 15 espécies de SCN associados a processos inflamatórios na glândula mamária (Zadoks & Watts 2009). Neste aspecto, as pesquisas feitas no Brasil têm como limitante que em poucos trabalhos (Langoni et al. 2006, Fontana et al. 2010, Peixoto et al. 2010a) são identificadas as espécies de SCN causadoras de mastites. A identificação das espécies é feita com estudos fenotípicos ou genotípicos, sendo estes últimos superiores em relação ao grau de discriminação (Ruegg, 2009). Internacionalmente, no grupo de SCN, os microrganismos relatados com maior frequência são: *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus haemolyticus* e *Staphylococcus xylosus* (Honkanen-Buzalski et al. 1994, Thorberg et al. 2006, Thorberg et al. 2009, Waller et al. 2011, Fry et al. 2014). No Brasil, Machado et al. (2008) relataram *S. simulans* como a bactéria mais frequente. Em relação à sensibilidade a antimicrobianos, chama a atenção que estudos realizados no Brasil relatam alta frequência de isolados *Staphylococcus* spp. multirresistentes. Por exemplo, estudos realizados na Bahia e Pernambuco indicam que 65,6% dos isolados (143/218) são multirresistentes a três ou mais antimicrobianos (Krewer et al. 2013); outro estudo realizado no estado de Goiás reporta 100% de resistência a penicilina, oxacilina e ampicilina para isolados de *S. aureus* obtidos de amostras de leite de bovinos com mastites (Fontana et al. 2010).

O grupo de *Staphylococcus* Coagulase Positiva (SCP) de maior importância na etiologia da mastite é formado por *Staphylococcus aureus*, a espécie coagulase-positiva *Staphylococcus intermedius* e variantes coagulase-positivas de *Staphylococcus hyicus* (Vasconcelos et al. 2002). *S. aureus* é o microrganismo coagulase-positivo isolado com maior frequência em amostras de leite de animais com mastite no Brasil, em bovinos (Saeki et al. 2012, Bandeira et al. 2013, Castalani et al. 2013), caprinos e ovinos (Peixoto et al. 2010a) e internacionalmente também é reportado como o microrganismo coagulase-positivo mais frequentemente identificado (Jamali et al. 2014).

*S. aureus* é anaeróbio facultativo, Gram positivo, motilidade negativa, catalase e coagulase positivo; a parede celular é resistente à ação da enzima lisozima e sensível à ação da lisostafina (Le Loir et al. 2003). Um considerável número de estirpes da *S. aureus* tem a capacidade de produzir exo-

toxinas como, por exemplo, enterotoxinas estafilocócicas (Hait et al. 2014, Silveira-Filho et al. 2014), toxinas esfoliativas (Kurt et al. 2013, Otto, 2014), toxina da síndrome de choque tóxico (Kulhankova et al. 2014, Tinelli et al. 2014), alfa e beta hemólise (Berube & Wardenburg 2013, Chua et al. 2014). A infecção por esta bactéria provoca perdas significativas na produção de leite pela permanente destruição das células do epitélio glandular. O tecido funcional (epitélio glandular) é substituído por tecido fibroso que protege a bactéria do mecanismo normal de defesa do hospedeiro, pois provoca uma redução na fagocitose pelos neutrófilos (Barkema et al. 2006).

No gênero *Streptococcus* spp. um dos agentes mais frequentemente isolados em amostras de leite de bovinos com mastite é *S. agalactiae* (Getaneh et al. 2014, Ramírez et al. 2014). São cocos Gram positivos e catalase negativos, não conseguem sobreviver por longos períodos de tempo fora da glândula mamária e por isso sua transmissão ocorre fundamentalmente nos períodos intra-ordenha (Keefe 1997). É considerado um importante patógeno causador de mastite pelo forte efeito na qualidade do leite, os níveis de produção e a contagem de células somáticas (Keefe, 2012). Este microrganismo na maioria dos casos de infecção intramamária é sensível a diferentes antimicrobianos (Gao et al. 2012, Krishnaveni et al. 2014). No Brasil, os *Streptococcus* ambientais mais frequentemente isolados são *S. dysgalactiae* e *S. uberis* (Souto et al. 2010).

O gênero *Corynebacterium* spp. são bacilos Gram positivos, aeróbios ou anaeróbios facultativos e catalase positivo. São considerados patógenos contagiosos causadores de infecção intra-mamária, sendo responsáveis por um aumento considerável na contagem de células somáticas (National Mastitis Council 2004). A espécie lipofílica isolada com maior frequência em animais com mastite clínica ou subclínica é *C. bovis* (Hegazi et al. 2014, Saab et al. 2014); também são relatados com uma considerável frequência, as espécies não lipofílicas *C. amycolatum*, *C. minutissimum*, *C. pseudotuberculosis* e *C. ulcerans* (Hommeiz et al. 1999, National Mastitis Council 2004).

Em rebanhos bovinos no Estado de Minas Gerais, as espécies de *Candida* isoladas em casos de mastite foram: *C. albicans*, *C. catenulata* e *C. glabrata* (Costa et al. 2012); também foram isoladas as espécies *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (Costa et al. 2008). No Rio Grande do Sul foram identificadas as espécies de leveduras e fungos pertencentes os gêneros *Candida*, *Pichia*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Debaryomyces*, *Geotrichum*, *Trichosporon*, *Galactomyces*, *Kluyveromyces*, *Rhodospiridium* (Spanemberg et al. 2008). Em Pernambuco, as espécies de *Candida* isoladas de amostras de leite de vacas com mastites foram *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii* (Coutinho et al. 2012); outra levedura também isolada foi *Trichosporon* sp. Em caprinos no estado de São Paulo foi relatada a ocorrência de *C. albicans* (Langoni et al. 2006). Além da redução da produção leiteira provocado pelas mastites micóticas, as perdas econômicas incrementam-se pela utilização na maioria dos casos de antimicrobianos que não surtem efeito sobre o agente causador da inflamação o que encarece o processo produtivo e aumenta o risco nos consumidores de ingerir

princípios ativos ou metabólitos que favorecem o processo de resistência aos antimicrobianos.

A *Prototheca* spp. é uma alga aclorofilada com afinidade filogenética à *Chlorella* spp. O gênero compreende quatro espécies: *P. zopfii*, *P. moriformes*, *P. wickerhamii* e *P. stagnor*; no Brasil as espécies geralmente associadas às infecções intramamárias são *P. zopfii* e *P. wickerhamii* (Bueno et al. 2006).

O termo coliformes é frequentemente utilizado de forma incorreta para identificar todas as bactérias Gram negativas causadoras da inflamação intramamária (National Mastitis Council 2004). Geralmente são classificados como coliformes *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter aerogenes* (Kulkarni & Kaliwal 2013). No Brasil, já foi relatado um surto de mastite fatal aguda por *Klebsiella pneumoniae* em um rebanho bovino leiteiro no Estado do Rio de Janeiro (Silva & Costa 2001). Outra bactéria Gram negativa também isolada em casos de mastites no Brasil foi *Arcobacter* spp. no Rio Grande do Sul (Pianta et al. 2007).

De acordo com os resultados apresentados no Quadro 1, os gêneros *Staphylococcus* e *Corynebacterium* constituem-se nos principais microrganismos causadores de mastites nas diferentes regiões do país.

### Prevalência da mastite clínica e subclínica

A prevalência da mastite clínica nas espécies estudadas é baixa nas diferentes regiões do Brasil, com frequências que variam na espécie bovina de 0,73% (Langoni et al. 2011) no Sudeste a 2,6% (Krewer et al. 2013) no Nordeste. Na espécie caprina a prevalência da mastite clínica reportada é de 0,15% (Bianchini et al. 2010) e na espécie bubalina 4,7% (Medeiros et al. 2013) ambos estudos realizados na região Nordeste.

Para a mastite subclínica, a prevalência variou de 10% (Costa et al. 2012) a 48,64% (Ribeiro et al. 2009) na espécie bovina sendo os dois estudos realizados na região Sudeste. Na espécie caprina, a prevalência variou de 11,49% (Neves et al. 2010) a 30,7% (Bianchini et al. 2010), ambos estudos realizados na região Nordeste; na espécie ovina, a prevalência variou de 28,5% (Domingues et al. 2006) no Sudeste a 31,45% (Coutinho et al. 2006) no Nordeste. Na espécie bubalina, a prevalência variou de 8,35% (Pizau-ro et al. 2014) na região Sudeste a 42,2% (Medeiros et al. 2013) no Nordeste.

### Resistência aos antimicrobianos

Um aspecto de vital importância no controle da mastite refere-se à resistência dos patógenos aos antimicrobianos, não só pela dificuldade no êxito do tratamento da doença, como também pelo alto risco que representa para a saúde pública. Nas pesquisas compiladas nesta revisão observa-se que a penicilina, ampicilina, amoxicilina e neomicina são os antimicrobianos para aos quais os microrganismos causadores de mastites em ruminantes apresentam maior resistência (Quadro 2) nas diferentes regiões do Brasil. Como exemplo são relatadas as seguintes porcentagens de resistência: região Nordeste: amoxicilina (67,4%), ampicilina (67%) e penicilina (66%) para microrganismos *Staphylococcus* spp. (Krewer et al. 2013) e penicilina (80%), ampicilina (80%) e neomicina (80%) em *S. aureus* (Coutinho et al. 2006). Também existe relato de alta porcentagem de resistência ao ácido nalidíxico (78,26%) nesta região do país em todos os isolados obtidos de casos de mastites caprina e ovina (Peixoto et al. 2010a). Na região Sudeste observa-se resistência em *S. epidermidis*, *S. agalactiae*, *S. aureus* e *C. bovis* isolados de caprinos com mastite nas respectivas porcentagens para os seguintes antimicrobianos: penicilina (61,5; 79; 87,5; 83,4%), ampicilina (65,2; 36,9; 75; 25%) e neomicina (61,5; 47,4; 62,5; 41,7%) (Langoni et al. 2006) e em todos os isolados obtidos de bovinos, à penicilina (53,5%), ampicilina (41,6%) e neomicina (38,6%) (Ribeiro et al. 2009). Na região Centro-Oeste, 100% de *S. aureus* obtidos de vacas com mastites apresentaram resistência para penicilina, oxacilina e ampicilina (Fontana et al. 2010).

### Utilização de ferramentas moleculares no diagnóstico da mastite

Em relação ao diagnóstico dos agentes causadores de mastites, ao nível internacional existe uma tendência crescente de utilização de ferramentas moleculares para o diagnóstico de patógenos, complementando, assim, os resultados obtidos na microbiologia clássica (McDonald et al. 2005, Cremonesi et al. 2006, Yamagishi et al. 2007, Santos et al. 2008, Taponen et al. 2009, Onni et al. 2010, Shome et al. 2011, Ajitkumar et al. 2012, Keane et al. 2013, Rovai et al. 2014, Hiitiö et al. 2015). No Brasil, a utilização das ferramentas moleculares no diagnóstico dos agentes causadores de mastite ainda é escassa; dos 22 trabalhos apresen-

**Quadro 2. Perfil de resistência a antimicrobianos de diferentes grupos de patógenos (A) espécie bovina, (B) espécies caprina e/ou ovina e (C) espécie bubalina**

Grandes regiões e espécies em exploração	% de resistência a diferentes antimicrobianos		
Nordeste			
A (Krewer et al. 2013)	amoxicilina (67,4%)	ampicilina (67%)	penicilina (66%)
B (Coutinho et al. 2006)	penicilina (80%)	ampicilina (80%)	neomicina (80%)
B (Neves et al. 2010)	penicilina (66,67%)	ampicilina (63,89%)	
B (Peixoto et al. 2010a)	ácido nalidíxico (78,26%)	neomicina (43,26%)	amoxicilina (38,51)
Sudeste			
A (Ribeiro et al. 2009)	penicilina (53,5%)	ampicilina (41,6%)	neomicina (38,6%)
B (Domingues et al. 2006)	amoxicilina (79,5)	penicilina (76,8%)	
B (Langoni et al. 2006)	penicilina (87,5%)	ampicilina (75%)	neomicina (62,5%)
C (Pizau-ro et al. 2014)	neomicina (32,5%)	enrofloxacina (28,9%)	penicilina (25,3%)
Centro-Oeste			
A (Fontana et al. 2010)	penicilina (100 %)	oxacilina (100 %)	ampicilina (100 %)

**Quadro 3. Principais fatores de risco associados às mastites (A) espécie bovina, (B) espécies caprina e/ou ovina e (C) espécie bubalina**

Variáveis	A (Mota et al. 2012)	A (Krewer et al. 2013)	B (Pereira et al. 2014)	B (Neves et al. 2010)	B (Peixoto et al. 2012)	C (Medeiros et al. 2011)
Falta de informação dos ordenhadores	X					
Deficiência no pré e pós- dipping	X					X
Falta de lavagem e desinfecção das mãos	X					
Falta de controle de insetos	X					
Não separação das fêmeas doentes	X		X	X		
Sistema de criação		X	X	X		
Não suplementação de alimento		X				
Número de lactâncias		X				X
Tipo de ordenha		X				X
Local da ordenha		X				
Limpeza das instalações e/ou equipamentos		X	X	X		X
Raças em exploração			X		X	
Época do desmame			X			
Não uso de antibiótico na secagem			X			X
A criação animal não constitui a atividade principal da propriedade				X		

tados no Quadro 1 somente dois deles (Pianta et al. 2007, Mesquita et al. 2012) utilizaram esta ferramenta, sendo ambos trabalhos realizados na região Sul do país. A reação em cadeia da polimerase (PCR) apresenta alta especificidade e sensibilidade na detecção do DNA do patógeno causador da doença, além da rapidez do diagnóstico (<6 horas), permitindo a identificação de patógenos que não crescem em técnicas convencionais de cultura ou microrganismos de difícil crescimento (Koskinen et al. 2009).

#### Fatores de risco associados às mastites

De forma geral, os principais fatores de risco associados às mastites nas espécies estudadas foram o sistema de criação empregado, a não separação das fêmeas doentes e problemas na limpeza das instalações e/ou equipamentos de ordenha (Quadro 3). Outros importantes fatores de risco identificados foram a deficiência no pré e pós-*dipping*, o número de lactação, o tipo de ordenha e a não utilização de antibióticos no tratamento de secagem.

Na espécie bovina foram identificados como fatores de risco, a falta de informação dos ordenhadores, a deficiência ou ausência da lavagem e desinfecção das mãos, a falta de controle de insetos (Mota et al. 2012), a não suplementação de alimento e o local onde é realizada a ordenha (Krewer et al. 2013). Em rebanhos de ovelhas e cabras, a raça foi identificada como um fator de risco associado às mastites (Peixoto et al. 2012, Pereira et al. 2014). A época do desmame também foi associada às mastites em ovelhas (Pereira et al. 2014) e o fato de a criação dos animais não constituir a atividade principal da propriedade em rebanhos caprinos (Neves et al. 2010).

Os sistemas intensivo e semi-intensivo favorecem a presença de mastite nos rebanhos, pois a densidade animal por unidade de superfície é maior, o que contribui com a disseminação dos microrganismos. A falta de informação dos ordenhadores também leva a existência dos outros fatores de risco, pois atividades simples como a lavagem e desinfecção das mãos não são realizadas de forma adequada e o ordenhador contribui com a disseminação do microrganismo dentro do rebanho. No caso do pré e pós-*dipping*, além de precisar da solução antisséptica, requer o conhecimento

por parte da pessoa que realiza esta atividade para reduzir a carga microbiana antes da ordenha (pré-*dipping*) e impedir a contaminação do úbere após a ordenha (pós-*dipping*).

#### CONCLUSÕES

O gênero *Staphylococcus* é o principal causador das mastites nas diferentes regiões do Brasil nas quatro espécies estudadas, com maior prevalência do grupo *Staphylococcus* coagulase negativo. A prevalência da mastite subclínica é elevada, sendo a responsável pelas maiores perdas na indústria leiteira. O diagnóstico de patógenos causadores de mastites no Brasil baseia-se fundamentalmente na microbiologia clássica, não sendo usadas ferramentas moleculares que aumenta a rapidez, sensibilidade e especificidade do diagnóstico.

A falta de conhecimento dos ordenhadores em relação à doença, problemas com o saneamento ambiental da área de criação e o manejo inadequado dos animais no período durante a ordenha são os principais fatores de risco identificados e estes devem ser corrigidos para reduzir os casos da doença e otimizar a produção de leite no país. Além disto, a alta resistência das bactérias aos antimicrobianos é um tema de especial interesse na saúde pública, pois os animais infectados constituem fontes de patógenos para quem trabalha diretamente no manejo desses animais e para os consumidores do leite ou derivados indevidamente processados.

**Agradecimentos.** - À FACEPE pela concessão da bolsa de pós-graduação (IBP-0439-5.05/12) e ao CNPq pela aprovação do projeto (442746/2014-8) para manutenção das pesquisas nesta área.

#### REFERÊNCIAS

- Ajitkumar P, Barkema H.W. & De Buck J. 2012. Rapid identification of bovine mastitis pathogens by high-resolution melt analysis of 16S rDNA sequences. *Vet. Microbiol.* 155:332-340.
- Bandeira F.S., Picoli T., Zani J.L., Silva W.P. & Fischer G. 2013. Frequency of *Staphylococcus aureus* from bovine subclinical mastitis cases, in southern Rio Grande do Sul, Brazil. *Arqs Inst. Biológico, São Paulo*, 80:1-6.
- Barkema H.W., Schukken Y.H. & Zadoks R.N. 2006. Invited Review: the role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *J. Dairy Sci.* 89:1877-1895.

- Berube B.J. & Wardenburg J.B. 2013. *Staphylococcus aureus*  $\alpha$ -toxin: nearly a century of intrigue. *Toxins* 5:1140-1166.
- Bianchini S., Silva L.B.G., Silva A.P., Lima J.C.O. & Falcão D.P. 2010. Frequency and etiology of goat mastitis in the region of Cariri paraibano. *Med. Vet.* 4:1-5.
- Boulaaba A., Grabowski N. & Klein G. 2011. Differential cell count of caprine milk by flow cytometry and microscopy. *Small Rumin. Res.* 97:117-123.
- Bramley A.J. & Dodd F.H. 1984. Reviews of the progress of dairy science: mastitis control-progress and prospects. *J. Dairy Res.* 51:481-512.
- Bueno V.F.F., Mesquita A.J. & Carvalho Dias Filho F. 2006. Prototheca zopfii: importante patógeno na etiologia da mastite bovina no Brasil. *Ciênc. Anim. Bras.* 7:273-283.
- Castelani L., Santos A.F.S., Santos Miranda M., Zafalon L.F., Pozzi C.R. & Arcaro J.R.P. 2013. Molecular Typing of mastitis-causing *Staphylococcus aureus* isolated from heifers and cows. *Int. J. Mole. Sci.* 14: 4326-4333.
- Chahota R., Katoch R., Mahajan A. & Verma S. 2001. Clinical bovine mastitis caused by *Geotrichum candidum*. *Vet. Arhiv.* 71:197-201.
- Chua K.Y.L., Monk I.R., Lin Y.H., Seemann T., Tuck K.L., Porter J.L., Stepnell J., Coombs G.W., Davies J.K. & Stinear T.P. 2014. Hyperexpression of alpha-hemolysin explains enhanced virulence of sequence type 93 community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *BMC Microbiol.* 14:31.
- Contreras A., Sierra D., Sánchez A., Corrales J., Marco J., Paape M. & Gonzalo C. 2007. Mastitis in small ruminants. *Small Rumin. Res.* 68:145-153.
- Corbellini L.G., Driemeier D., Cruz C., Dias M.M. & Ferreiro L. 2001. Bovine mastitis due to *Prototheca zopfii*: clinical, epidemiological and pathological aspects in a Brazilian dairy herd. *Trop. Anim. Health Proc.* 33: 463-470.
- Costa G.M., Pereira U.P., Souza-Dias M.A.G. & Silva N. 2012. Yeast mastitis outbreak in a Brazilian dairy herd. *Brazilian J. Vet. Res. Anim. Sci.* 49: 239-243.
- Costa G.M., Silva N., Rosa C.A., Figueiredo H.C.P. & Pádua-Pereira U. 2008. Mastite por leveduras em bovinos leiteiros do Sul do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Ciência Rural* 38:1938-1942.
- Coutinho D.A., Costa J.N., Ribeiro M.G. & Torres J.A. 2006. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana in vitro de bactérias isoladas de ovelhas da raça Santa Inês com mastite subclínica. *Revta Bras. Saúde Prod. Anim.* 7:139-151.
- Coutinho L.C.A., Medeiros E.S., Silveira N.S.S., Silva L.B.G. & Mota R.A. 2012. Eficácia in vitro de desinfetantes utilizados na anti-sepsia dos tetos frente a leveduras isoladas do leite de vaca com mastite. *Pesq. Vet. Bras.* 32:61-65.
- Cremonesi P., Castiglioni B., Malferrari G., Biunno I., Vimercati C., Moroni P., Morandi S. & Luzzana M. 2006. Technical note: improved method for rapid DNA extraction of mastitis pathogens directly from milk. *J. Dairy Sci.* 89:163-169.
- De K., Mukherjee J., Prasad S. & Dang A. 2011. Effect of different physiological stages and managerial practices on milk somatic cell counts of Murrah Buffaloes. *Buff. Bull.* 30:72-99.
- Deb R., Kumar A., Chakraborty S., Verma A.K., Tiwari R., Dhama K., Singh U. & Kumar S. 2013. Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: a review. *Pakistan J. Biol. Sci.* 16:1653-1661.
- Djabri B., Bareille N., Beaudeau F. & Seegers H. 2002. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Vet. Res.* 33:335-357.
- Domingues P.F., Lucheis S.B., Serrão L.S., Fernandes S., Contente A.P.A., Martins E.C.V. & Langoni H. 2006. Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês. *Ars Vet.* 22:146-152.
- Ebrahimi A., Soleimani F., Moatamedi A., Shams N. & Lotfalian S. 2014. Study on some characteristics of *Staphylococci* isolated from sheep sub clinical mastitis milk in Shahrekord, Iran. *Biol. J. Microorganism* 2:57-62.
- Fernandes A.M., Oliveira C.A.F. & Lima C.G. 2007. Effects of somatic cell counts in milk on physical and chemical characteristics of yoghurt. *Int. Dairy J.* 17:111-115.
- Fessler A.T., Billerbeck C., Kadlec K. & Schwarz S. 2010. Identification and characterization of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis. *J. Antimicrob. Chemother.* 65:1576-1582.
- Fontana V.L.D.S., Giannini M.J.S.M., Letfe C.Q.F., Miranda E.T., Almeida A.M.F., Fontana C.A.P., Souza C.M. & Stella A.E. 2010. Etiology of bovine subclinical mastitis, susceptibility of the agents to antimicrobial drugs and detection of the gene  $\beta$ -lactamase in *Staphylococcus aureus*. *Vet. Zootec.* 17:552-559.
- Fry P.R., Middleton J.R., Dufour S., Perry J., Scholl D. & Dohoo I. 2014. Association of coagulase-negative staphylococcal species, mammary quarter milk somatic cell count, and persistence of intramammary infection in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 97:4876-4885.
- Gao J., Yu F.-Q., Luo L.-P., He J.-Z., Hou R.-G., Zhang H.-Q., Li S.-M., Su J.-L. & Han B. 2012. Antibiotic resistance of *Streptococcus agalactiae* from cows with mastitis. *Vet. J.* 194:423-424.
- Getaneh A., Gizat A. & Mesele A. 2014. Incidence rate of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* in subclinical mastitis at smallholder dairy cattle farms in Hawassa, Ethiopia. *Afr. J. Microbiol. Res.* 8:252-256.
- Hait J., Tallent S., Melka D., Keys C. & Bennett R. 2014. Prevalence of enterotoxins and toxin gene profiles of *S. aureus* isolates recovered from a bakery involved in a second staphylococcal food poisoning occurrence. *J. Appl. Microbiol.* 117:866-875.
- Halasa T., Huijps K., Østerås O. & Hogeveen H. 2007. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: a review. *Vet. Quart.* 29:18-31.
- Hegazi A., Abdou A.M. & Allah F.A. 2014. Antimicrobial activity of propolis on the bacterial causes of mastitis. *Life Sci. J.* 11:572-576.
- Hiitiö H., Riva R., Autio T., Pohjanvirta T., Holopainen J., Pyörälä S. & Pelkonen S. 2015. Performance of a real-time PCR assay in routine bovine mastitis diagnostics compared with in-depth conventional culture. *J. Dairy Res.* 82:200-208.
- Hommez J., Devriese L.A., Vaneechoutte M., Riegel P., Butaye P. & Haesebrouck F. 1999. Identification of nonlipophilic corynebacteria isolated from dairy cows with mastitis. *J. Clin. Microbiol.* 37:954-957.
- Honkanen-Buzalski T., Myllys V. & Pyörälä S. 1994. Bovine clinical mastitis due to coagulase-negative *Staphylococci* and their susceptibility to antimicrobials. *J. Vet. Med.* 41:344-350.
- Hussain R., Javed M.T. & Khan A. 2012. Changes in some biochemical parameters and somatic cell counts in the milk of buffalo and cattle suffering from mastitis. *Pak. Vet. J.* 32:418-421.
- IBGE 2013. Produção da Pecuária Municipal. Vol.41. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, p.1-108. Disponível em <ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\_Pecuaria/Producao\_da\_Pecuaria\_Municipal/2013/ppm2013.pdf> Acesso em 27 fev. 2016.
- IBGE 2014. Produção da Pecuária Municipal. Vol.42. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, p.1-39. Disponível em <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm\_2014\_v42\_br.pdf> Acesso em 27 fev. 2016.
- Jamali H., Radmehr B. & Ismail S. 2014. Short communication: Prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 97:2226-2230.
- Jobim M.B., Lopes M.A., Costa G.M. & Demeu F.A. 2010. Pathogens associated with bovine mastitis in dairy herds in the south region of Brazil. *Bolm Indust. Anim.* 67:175-171.
- Keane O.M., Budd K.E., Flynn J. & McCoy F. 2013. Increased detection of mastitis pathogens by real-time PCR compared to bacterial culture. *Vet. Rec.* 175:1-6.
- Keefe G. 2012. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. *Vet. Clin. Food Anim.* 28:203-216.
- Keefe G.P. 1997. *Streptococcus agalactiae* mastitis: a review. *Can. Vet. J.* 38:429-437.
- Koskinen M.T., Holopainen J., Pyörälä S., Bredbacka P., Pitkälä A., Barkema H.W., Bexiga R., Roberson J., Sølverød L., Piccinini R., Kelton D., Lehmusto H., Niskala S. & Salmikivi L. 2009. Analytical specificity and sensitivity of a real-time polymerase chain reaction assay for identification of bovine mastitis pathogens. *J. Dairy Sci.* 92:952-959.
- Krewer C.C., Lacerda I.P.S., Amanso E.S., Cavalcante N.B., Peixoto M.R., Pi-

- nheiro J.W., Costa M.M. & Mota R.A. 2013. Etiology, antimicrobial susceptibility profile of *Staphylococcus* spp. and risk factors associated with bovine mastitis in the states of Bahia and pernambuco. *Pesq. Vet. Bras.* 33:601-606.
- Krishnaveni N., Isloor S., Suryanarayana V., Rathnamma D., Veeregowda B., Nagaraja C. & Sundareshan S. 2014. Antibioqram profile of Group B Streptococci isolated from bovine mastitis cases. *Vet. Clin. Sci.* 2:10-15.
- Kulhankova K., King J. & Salgado-Pabón W. 2014. Staphylococcal toxic shock syndrome: superantigen-mediated enhancement of endotoxin shock and adaptive immune suppression. *Immunol. Res.* 1-6. <link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-1-4939-3344-0.pdf>
- Kulkarni A.G. & Kaliwal B. 2013. Bovine mastitis: a review. *Int. J. Recent Sci. Res.* 4:543-548.
- Kurt K., Rasigade J.-P., Laurent F., Goering R.V., Žemličková H., Machova I., Struelens M.J., Zautner A.E., Holtfreter S. & Bröker B. 2013. Subpopulations of *Staphylococcus aureus* clonal complex 121 are associated with distinct clinical entities. *PLoS One* 8:e58155.
- Langoni H. & Troncarelli M. 2011. The complex etiology on bovine mastitis and the importance of the microbiological diagnostic: animal hygiene and sustainable livestock production. Proc. XVth International Congress of the International Society for Animal Hygiene, Vienna, Austria, 3-7 July 2011, Vol.3. Tribuna EU, p.1357-1358.
- Langoni H., Domingues P.F. & Baldini S. 2006. Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos. *Revta Bras. Ciênc. Vet.* 13:51-54.
- Le Loir Y., Baron F. & Gautier M. 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet. Mol. Res.* 2:63-76.
- Le Maréchal C., Seyffert N., Jardin J., Hernandez D., Jan G., Rault L., Azevedo V., François P., Schrenzel J. & Van de Guchte M. 2011a. Molecular basis of virulence in *Staphylococcus aureus* mastitis. *PLoS One* 6:e27354.
- Le Maréchal C., Thiéry R., Vautor E. & Le Loir Y. 2011b. Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products: a review. *Dairy Sci. Technol.* 91:247-282.
- Machado T.R.O., Correa M. & Marin J. 2008. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative Staphylococci isolated from mastitic cattle in Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 60:278-282.
- McDonald W.L., Fry B.N. & Deighton M.A. 2005. Identification of *Streptococcus* spp. causing bovine mastitis by PCR-RFLP of 16S-23S ribosomal DNA. *Vet. Microbiol.* 111:241-246.
- Medeiros E.S., Freitas M.F., Saukas T.N., Azevedo S.S., Pinheiro Junior J.W., Brandespim D.F., Neto O.L.S. & Mota R.A. 2011. Risk factors associated with buffalo mastitis in the Brazilian Northeast. *Pesq. Vet. Bras.* 31:499-504.
- Medeiros E.S., Freitas M., Pinheiro Júnior J., Saukas T., Krewer C., Santos A., Costa M. & Mota R. 2013. Bubaline mastitis etiology in Northeast of Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 65:1891-1894.
- Mesquita A.Q., Mesquita A.J., Jardim E. A.G.D.V. & Kipnis A.P.J. 2012. Association of TLR4 polymorphisms with subclinical mastitis in Brazilian holsteins. *Braz. J. Microbiol.* 43:692-697.
- Morgante M., Ranucci S., Pauselli M., Beghelli D. & Mencaroni G. 1996. Total and differential cell count by direct microscopic method on ewe milk. *Small Rumin Res.* 21:265-271.
- Mota R.A., Medeiros E.S., Santos M.V., Pinheiro Júnior J.W., Moura A.P.B. & Coutinho L.C.A. 2012. Participação de *Staphylococcus* spp na etiologia das mastites em bovinos leiteiros no estado de pernambuco (Brasil). *Ciênc. Anim. Bras.* 13:124-130.
- National Mastitis Council 2004. Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Udder Infection and Determination of Milk Quality. Verona, USA. 47p.
- Neves P.B., Medeiros E.S., Sá V.V., Camboim E.K., Garino Jr F., Mota R.A. & Azevedo S.S. 2010. Perfil microbiológico, celular e fatores de risco associados à mastite subclínica em cabras no semiárido da Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.* 30:379-384.
- Oliver S.P., Gillespie B., Headrick S., Moorehead H., Lunn P., Dowlen H., Johnson D., Lamar K., Chester S. & Moseley W. 2004. Efficacy of extended ceftiofur intramammary therapy for treatment of subclinical mastitis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:2393-2400.
- Onni T., Sanna G., Cubeddu G.P., Marogna G., Lollai S., Leori G. & Tola S. 2010. Identification of coagulase-negative staphylococci isolated from ovine milk samples by PCR-RFLP of 16S rRNA and gap genes. *Vet. Microbiol.* 144:347-352.
- Otto M. 2014. *Staphylococcus aureus* toxins. *Curr. Opin. Microbiol.* 17:32-37.
- Oviedo-Boyso J., Valdez-Alarcón J.J., Cajero-Juárez M., Ochoa-Zarzosa A., López-Meza J.E., Bravo-Patino A. & Baizabal-Aguirre V.M. 2007. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *J. Infect.* 54:399-409.
- Pachauri S., Varshney P., Dash S.K. & Gupta M.K. 2013. Involvement of fungal species in bovine mastitis in and around Mathura, India. *Vet. World* 6:393-395.
- Pantoja J.C.F., Hulland C. & Ruegg P. 2009. Somatic cell count status across the dry period as a risk factor for the development of clinical mastitis in the subsequent lactation. *J. Dairy Sci.* 92:139-148.
- Paul I. & Ganguly S. 2014. Bovine mastitis, an economically important bacterial infection of udder in cattle: A review. *Indian J. Sci. Res. Technol.* 2:1-2.
- Peixoto R.M., Amanso E., Cavalcante M., Azevedo S., Junior J.P., Mota R. & Costa M. 2012. Comunicação científica fatores de risco para mastite infecciosa em cabras leiteiras criadas no estado da Bahia. *Arq. Inst. Biológico, São Paulo*, 79:101-105.
- Peixoto R.M., França C.A.D., Souza Júnior A.F., Veschi J.L.A. & Costa M.M.D. 2010a. Etiologia e perfil de sensibilidade antimicrobiana dos isolados bacterianos da mastite em pequenos ruminantes e concordância de técnicas empregadas no diagnóstico. *Pesq. Vet. Bras.* 30:735-740.
- Peixoto R.M., Mota R.A. & Costa M.M. 2010b. Small ruminant mastitis in Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 30:754-762.
- Pereira P.F.V., Stotzer E.S., Pretto-Giordano L.G., Müller E.E. & Lisbôa J.A. 2014. Risk factors, etiology and clinical aspects of mastitis in meat ewes of Paraná, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 34:1-10.
- Pianta C., Passos D.T., Hepp D. & Oliveira S.J.D. 2007. Isolation of *Arcobacter* spp from the milk of dairy cows in Brazil. *Ciência Rural* 37:171-174.
- Pizauro L.J.L., Silva D., Santana A., Clemente V., Lara G., Listoni F., Vaz A., Vidal-Martins A., Ribeiro M. & Fagliari J. 2014. Prevalence and etiology of buffalo mastitis and milk somatic cell count in dry and rainy seasons in a buffalo herd from Analândia, São Paulo State, Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 66:1703-1710.
- Pyrölä S. & Taponen S. 2009. Coagulase-negative staphylococci - Emerging mastitis pathogens. *Vet. Microbiol.* 134:3-8.
- Ramírez N.F., Keefe G., Dohoo I., Sánchez J., Arroyave O., Cerón J., Jaramillo M. & Palacio L. 2014. Herd-and cow-level risk factors associated with subclinical mastitis in dairy farms from the High Plains of the northern Antioquia, Colombia. *J. Dairy Sci.* 97:4141-4150.
- Reis C.B.M., Barreiro J.R., Mestieri L., Porcionato M.A.F. & Santos M.V. 2013. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. *BMC Vet. Res.* 9:67.
- Reis C.B.M., Barreiro J., Moreno J., Porcionato M. & Santos M. 2011. Evaluation of somatic cell count thresholds to detect subclinical mastitis in Gyr cows. *J. Dairy Sci.* 94:4406-4412.
- Ribeiro M.G., Geraldo J.S., Langoni H., Lara G.H.B., Siqueira A.K., Salerno T. & Fernandes M.C. 2009. Microrganismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. *Pesq. Vet. Bras.* 29:52-58.
- Rovai M., Caja G., Salama A.A.K., Jubert A., Lázaro B., Lázaro M. & Leitner G. 2014. Identifying the major bacteria causing intramammary infections in individual milk samples of sheep and goats using traditional bacteria culturing and real-time polymerase chain reaction. *J. Dairy Sci.* 97:5393-5400.
- Ruegg P.L. 2009. The quest for the perfect test: phenotypic versus genotypic identification of coagulase-negative staphylococci associated with bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 134:15-19.
- Ruiz A.K., Ponce P., Gomes G., Mota R., Elizabeth S., Lucena E. & Benone S. 2011. Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: Comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. *Revta Salud Anim.* 33:57-64.

- Saab A.B., Zamprogna T.O., Lucas T.M., Martini K.C., Mello P.L., Silva A.V. & Martins L.A. 2014. Prevalence and etiology of bovine mastitis in the Nova Tebas, Parana. *Semina: Ciênc. Agrarias* 35:835-843.
- Saeki E.K., Peixoto E.C.T.M., Matsumoto L.S., Marcusso P.F. & Monteiro R.M. 2012. Mastite bovina por *Staphylococcus aureus*: sensibilidade às drogas antimicrobianas e ao extrato alcoólico de própolis. *Acta Vet. Brasilica* 5:284-290.
- Santos O.C.S., Barros E.M., Brito M.A.V.P., Freire Bastos M.C., Santos K.R.N. & Giambiagi-de Marval M. 2008. Identification of coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis using RFLP-PCR of the groEL gene. *Vet. Microbiol.* 130:134-140.
- Schukken Y.H., González R.N., Tikofsky L.L., Schulte H.F., Santisteban C.G., Welcome F.L., Bennett G.J., Zurakowski M.J. & Zadoks R.N. 2009. CNS mastitis: Nothing to worry about? *Vet. Microbiol.* 134:9-14.
- Sharma N., Singh N. & Bhadwal M. 2011. Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24:429-438.
- Shome B.R., Das Mitra S., Bhuvana M., Krithiga N., Velu D., Shome R., Isloor S., Barbudde S.B. & Rahman H. 2011. Multiplex PCR assay for species identification of bovine mastitis pathogens. *J. Appl. Microbiol.* 111:1349-1356.
- Silva J.G., Alves B.H.L.S., Kung E.S., Nascimento R.B., Fernandes M.F.T.S., Bezerra M.J.G., Sá S.G., Ribeiro M.N. & Mota R.A. 2013. Etiology of mastitis in native goats and sheep born and raised in Brazilian semi-arid biom. *Med. Vet.* 7:26-31.
- Silva M.C.A., Cavalcante M., Almeida M., Barros C., Costa W., Silva N., Alzamora Filho F., Köfer J. & Schobesberger H. 2011. Antimicrobial resistance of bacteria isolated from mastitis milk samples from goats in Brazil: animal hygiene and sustainable livestock production. *Proc. XVth International Congress of the International Society for Animal Hygiene. Vol.3. Vienna, Austria, 3-7 July 2011. Tribun EU, p.1419-1422.*
- Silva N. & Costa G.M. 2001. An outbreak of acute bovine mastitis caused by *Klebsiella pneumoniae* in a dairy herd. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 53:1-5.
- Silveira-Filho V.M., Luz I.S., Campos A.P.F., Silva W.M., Barros M.P.S., Medeiros E.S., Freitas M.F.L., Mota R.A., Sena M.J. & Leal-Balbino T.C. 2014. Antibiotic resistance and molecular analysis of *Staphylococcus aureus* isolated from cow's milk and dairy products in Northeast Brazil. *J. Food Protect.* 77:583-591.
- Smith K.L. 1983. Mastitis control: a discussion. *J. Dairy Sci.* 66:1790-1794.
- Sordillo L.M. & Streicher K.L. 2002. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 7:135-146.
- Souto L.I.M., Minagawa C.Y., Telles E.O., Garbuglio M.A., Amaku M., Melville P.A., Dias R.A., Sakata S.T. & Benites N.R. 2010. Correlation between mastitis occurrence and the count of microorganisms in bulk raw milk of bovine dairy herds in four selective culture media. *J. Dairy Res.* 77:63-70.
- Spanamberg A., Wunder Jr E., Brayer Pereira D.I., Argenta J., Cavallini Sanches E.M., Valente P. & Ferreiro L. 2008. Diversity of yeasts from bovine mastitis in Southern Brazil. *Revta Iberoam. Micol.* 25(3):154-156.
- Taponen S., Salmikivi L., Simojoki H., Koskinen M.T. & Pyörälä S. 2009. Real-time polymerase chain reaction-based identification of bacteria in milk samples from bovine clinical mastitis with no growth in conventional culturing. *J. Dairy Sci.* 92:2610-2617.
- Thorberg B.-M., Danielsson-Tham M.-L., Emanuelson U. & Waller K.P. 2009. Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative staphylococci. *J. Dairy Sci.* 92:4962-4970.
- Thorberg B.-M., Kühn I., Aarestrup F.M., Brändström B., Jonsson P. & Danielsson-Tham M.-L. 2006. Pheno-and genotyping of *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk and human skin. *Vet. Microbiol.* 115:163-172.
- Tinelli M., Monaco M., Maffezzini E., Cerri M.C., Piazza M., Minoli L., Anesi A. & Pantosti A. 2014. *Staphylococcus aureus* toxic shock syndrome toxin-1 endocarditis with muscular metastatic abscesses. *New Microbiol.* 37:113-118.
- Vasconcelos M.A., Magalhães G.M. & Feitosa J.R. 2002. Esquema simplificado para identificação de estafilococos coagulase-positivos isolados de mastite bovina. *Ciência Rural* 32:79-82.
- Vivar-Quintana A., Beneitez De La Mano E. & Revilla I. 2006. Relationship between somatic cell counts and the properties of yoghurt made from ewes' milk. *Int. Dairy J.* 16:262-267.
- Vlieghe S., Fox L.K., Piepers S., McDougall S. & Barkema H.W. 2012. Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease, potential impact, prevention, and control. *J. Dairy Sci.* 95:1025-1040.
- Waller K.P., Aspán A., Nyman A., Persson Y. & Andersson U.G. 2011. CNS species and antimicrobial resistance in clinical and subclinical bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 152:112-116.
- Yamagishi N., Jinkawa Y., Omoe K., Makino S. & Oboshi K. 2007. Sensitive test for screening for *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis by broth cultivation and PCR. *Vet. Rec.* 161:381-383.
- Zadoks R.N. & Watts J.L. 2009. Species identification of coagulase-negative staphylococci: genotyping is superior to phenotyping. *Vet. Microbiol.* 134:20-28.
- Zadoks R.N., Tassi R., Martin E., Holopainen J., McCallum S., Gibbons J. & Ballingall K.T. 2014. Comparison of bacteriological culture and PCR for detection of bacteria in ovine milk-Sheep are not small cows. *J. Dairy Sci.* 97:6326-6333.
- Zhou Y., Ren Y., Fan C., Shao H., Zhang Z., Mao W., Wei C., Ni H., Zhu Z., Hou X., Piao F. & Cui Y. 2013. Survey of mycotic mastitis in dairy cows from Heilongjiang Province, China. *Trop. Anim. Health Proc.* 45:1709-1714.