

# Zapalenia gruczołu mlekowego wywołane przez gronkowce koagulazo-ujemne u krów

EDWARD MALINOWSKI, ANNA KŁOSSOWSKA

Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego  
– Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach, Oddział w Bydgoszczy, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Malinowski E., Kłossowska A.

## Mastitis caused by coagulase-negative staphylococci in cows

### Summary

The purpose of the review is to describe the role of coagulase-negative staphylococci (CNS) as etiological agents of mastitis in cows. Apart from streptococci and coliforms Staphylococci are currently the main etiological agents of udder inflammations. A typical feature that distinguishes more pathogenic from less pathogenic Staphylococcus species is the ability to produce of free coagulase and bound coagulase (clumping factor) through isolates. Strains that produce coagulase (coagulase-positive staphylococci; CPS) are simply called *Staphylococcus aureus* that belong to the major mastitis pathogens. As they are less pathogenic coagulase-negative staphylococci (CNS) have been regarded as minor mastitis pathogens. The prevalence of mastitis caused by CNS definitely increased during last decade and presently these bacteria have become the most common etiological agents of mastitis in many countries. Among CNS, *Staph. chromogenes*, *Staph. hyicus*, *Staph. epidermidis*, *Staph. simulans*, *Staph. warneri*, *Staph. xylosus* and *Staph. sciuri* are most frequently isolated from mastitis. Changes in milk connected with CNS are less intensive if compare to those caused by CPS even in cases of subclinical forms of mastitis. Some CNS species as *Staph. chromogenes* and *Staph. simulans* seem to be more pathogenic because they were more frequently isolated from clinical mastitis. It seems the introduction of the contagious mastitis control program directed to *Staph. aureus* can decrease the intramammary infections by coagulase-negative staphylococci.

**Keywords:** cow, mastitis, coagulase-negative staphylococci

Zapalenie gruczołu mlekowego u krów, które stanowi reakcję na zakażenie, pozostaje ciągle przyczyną poważnych strat w następstwie obniżenia produkcji i pogorszenia jakości mleka oraz kosztów, często nieskutecznych, profilaktyki i terapii (8, 11). W roli czynników etiologicznych *mastitis* występuje około 150 gatunków drobnoustrojów (41). Obecnie głównym problemem są zakażenia i podkliniczne zapalenia spowodowane przez gronkowca złocistego, który należy do pierwszej grupy patogenności (major pathogens) oraz przez grupę gronkowców koagulazo-ujemnych, uważanych za mniej patogenne (minor pathogens) dla gruczołu mlekowego krowy.

Kryterium, które pozwala na zaliczenie gronkowców do bardziej lub mniej patogennych, jest zdolność do wytwarzania koagulazy, występującej w postaci wolnej (free coagulase) lub związanej (clumping factor; bound coagulase) (2, 6). Produkcja koagulazy uważana jest za czynnik wirulencji gronkowców (5, 43). Z tego powodu wśród gronkowców wyróżnia się gatunki bardziej patogenne, koagulazo-dodatnie (coagulase-positive staphylococci; CPS) oraz gronkowce koagulazo-ujemne (coagulase-negative staphylococci;

CNS). Do CPS należą *Staph. aureus*, a także *Staph. intermedius* i niektóre szczepy *Staph. hyicus*. W celu precyzyjnego odróżnienia gronkowca złocistego od gronkowców mniej patogennych stosowane są obecnie metody fenotypowe i genotypowe. Jednak w praktyce laboratoryjnej ciągle pierwszym kryterium, pozwalającym odróżnić gronkowce złociste od pozostałych gatunków jest test próbówkowy na obecność koagulazy wolnej (7, 17, 18, 30, 32, 33).

Gronkowce koagulazo-ujemne izolowane są obecnie od różnego, przeważnie dużego, odsetka krów w większości stad (1, 18, 29, 33, 45). Ich udział w wywoływaniu *mastitis* u krów ma trend narastający (15, 25). W wielu publikacjach wymieniane są jako najczęstszy czynnik etiologiczny *mastitis* (23, 37). Za pomocą API Staph ID 32 zidentyfikowano kilkanaście gatunków (7, 18, 29, 33), które zestawiono w tab. 1. Najczęściej występowały: *Staph. chromogenes*, *Staph. epidermidis*, *Staph. simulans*, *Staph. capitis*, *Staph. warnerii*, *Staph. xylosus*, *Staph. hyicus*, *Staph. haemolyticus* i *Staph. sciuri*.

Te same gatunki rozpoznano również za pomocą metod biologii molekularnej (tab. 2). Badania własne

Tab. 1. Gronkowce koagulazo-ujemne z *mastitis* u krów rozpoznane za pomocą testu API Staph

Gatunki CNS	Autorzy							
	Gillespi i wsp. (7)		Malinowski i wsp. (18)		Sampimon i wsp. (29)		Taponen i wsp. (33)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Staph. chromogenes</i>	185	48,3	16	8,8	47	30,3	28	49,1
<i>Staph. epidermidis</i>	40	10,4	15	8,3	20	12,9	–	–
<i>Staph. capitis</i>	–	–	1	0,6	17	11,0	–	–
<i>Staph. simulans</i>	27	7,0	11	6,1	17	11,0	13	22,8
<i>Staph. warneri</i>	9	2,3	6	3,3	12	7,7	3	5,2
<i>Staph. xylosus</i>	4	1,0	57	31,5	7	4,5	–	–
<i>Staph. haemolyticus</i>	3	0,8	22	12,2	6	3,9	1	1,8
<i>Staph. intermedius</i>	1	0,3	–	–	4	2,6	–	–
<i>Staph. sciuri</i>	2	0,5	21	11,6	3	1,9	–	–
<i>Staph. hyicus</i>	101	26	22	12,2	3	1,9	–	–
<i>Staph. auricularis</i>	–	–	–	–	2	1,3	–	–
<i>Staph. cohnii</i>	–	–	–	–	2	1,3	1	1,8
<i>Staph. hominis</i>	6	1,6	4	2,2	1	0,7	–	–
<i>Staph. saprophyticus</i>	5	1,3	2	1,1	1	0,7	–	–
<i>Staph. lentus</i>	–	–	3	1,7	–	–	–	–
<i>Staph. equorum</i>	–	–	–	–	–	–	1	1,8
Różne CNS	–	–	–	–	13	8,4	–	–
Inne	–	–	1	0,6	–	–	10	17,5
Razem	383	100	181	100	155	100	57	100

Tab. 2. Gronkowce koagulazo-ujemne z *mastitis* u krów rozpoznane metodą genotypowania

Gatunek CNS	Autorzy							
	Kłossowska i wsp. (13)		Rajala-Schultz i wsp. (26)		Santos i wsp. (30)		Taponen i wsp. (33)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Staph. chromogenes</i>	69	34,5	27	71,1	28	51,9	30	52,6
<i>Staph. xylosus</i>	38	19,0	5	13,2	2	3,7	1	1,8
<i>Staph. simulans</i>	36	18,0	–	–	–	–	13	22,8
<i>Staph. warneri</i>	23	11,5	2	5,3	–	–	–	–
<i>Staph. epidermidis</i>	19	9,5	1	2,6	8	14,8	–	–
<i>Staph. saprophyticus</i>	2	1,0	–	–	–	–	–	–
<i>Staph. cohnii</i>	–	–	–	–	1	1,9	2	3,5
<i>Staph. haemolyticus</i>	–	–	–	–	–	–	6	10,5
<i>Staph. capitis</i>	–	–	–	–	3	5,6	–	–
<i>Staph. sciuri</i>	–	–	–	–	2	3,7	–	–
<i>Staph. caprae</i>	–	–	–	–	1	1,9	–	–
<i>Staph. hominis</i>	–	–	–	–	1	1,9	–	–
<i>Staph. hyicus</i>	–	–	2	5,3	1	1,9	–	–
Inne CNS	13	6,5	1	2,6	–	–	5	8,8
<i>Staph. aureus</i>	–	–	–	–	5	9,3	–	–
Razem	200	100	38	100	54	100	57	100

(13), przeprowadzone przy użyciu starterów wykorzystywanych wcześniej przez różnych badaczy, pozwoliły rozpoznać 6 gatunków wśród 200 szczepów CNS wyosobnionych z klinicznych i podklinicznych postaci *mastitis*. Te same oraz inne gatunki za pomocą PCR rozpoznali też inni autorzy (26, 30, 33). Taponen i wsp. (33) zauważyli, że wyniki badań za pomocą PCR w dużym stopniu potwierdzają rozpoznania uzyskane przy użyciu testów API Staph. Z badań przeprowadzonych przez Capurro i wsp. (2), którzy zastosowali sekwencjonowanie genu *tuf* wynika jednak, że metody genotypowe są bardziej odpowiednie dla identyfikacji gronkowców koagulazo-ujemnych, wyizolowanych z *mastitis* u krów. Do podobnego wniosku, po analizie danych piśmiennictwa, doszli też inni autorzy (27, 42).

Gronkowce koagulazo-ujemne stanowią też częsty czynnik etiologiczny zakażeń gruczołu mlekowego cielnych jałówek. W Danii i Nowej Zelandii (28) najczęściej izolowano *Staph. chromogenes*, *Staph. simulans*, *Staph. epidermidis* i *Staph. xylosus*. Natomiast w Polsce występowały: *Staph. hyicus* (16,6%), *Staph. chromogenes* (8,3%), *Staph. simulans* (5,1%), *Staph. sciuri* (3,8%), *Staph. capitis* (2,6%), *Staph. xylosus* (2,2%) oraz kilka innych gatunków (16). Zakażenie ma charakter przewlekły i utrzymuje się aż do porodu (25).

Rozwój zapalenia wymienia wywołanego przez CNS jest następstwem patogenetycznych cech bakterii oraz reaktywności systemu immunologicznego. Drobnoustroje te przebywają na skórze wymienia i strzyków oraz w kanale strzykowym (1, 25, 32, 33). Źródłem *Staph. epidermidis* są także ręce dojarzy (38). Do zakażenia wnętrza gruczołu mlekowego dochodzi wskutek przedostania się drobnoustrojów przez kanał strzykowy (droga galaktogenna), pokonania przez nie humoralnych i komórkowych mechanizmów układu odpornościowego, i namnożenia się wewnątrz ćwiartki. Krowy starsze ulegają infekcji zwykle pod koniec laktacji, nato-

miast jałówki zakażają się najczęściej przed porodem lub bezpośrednio po porodzie (25). Hyvönen i wsp. (12) wykazali, że gatunki takie, jak: *Staph. chromogenes*, *Staph. simulans*, *Staph. epidermidis*, *Staph. haemolyticus* i *Staph. cohnii* posiadają taką samą zdolność do adhezji *in vitro* do komórek nabłonka gruczołu mlekowego jak *Staph. aureus*. Cechują się jednak słabszą inwazyjnością oraz zdolnością do internalizacji tych komórek (12). Duży odsetek CNS wyizolowanych z *mastitis* u krów wytwarza enterotoksyny oraz toksynę szoku toksycznego (14). Niektóre gatunki CNS, tj. *Staph. chromogenes* i *Staph. simulans* uważane są za bardziej patogenne od pozostałych (35, 40). Nie bez znaczenia jest zdolność gronkowców koagulazo-ujemnych (*Staph. epidermidis*, *Staph. chromogenes*, *Staph. hyicus*, *Staph. xylosum*) do sekrecji białek związanych z biofilmem (4).

Gronkowce koagulazo-ujemne posiadają zdolność przełamania naturalnych, lokalnych czynników obronnych (4). Początkowo bakterie oddziałują na zatokę strzyka i ćwiartki oraz dużych przewodów mlekonośnych, czego skutkiem jest *galactophoritis*. Drobnoustroje, które wnika do małych przewodów, lokalizują się następnie w pęcherzykach. Działają za pomocą toksyn, które są przyczyną obrzęku i obumarcia komórek wytwarzających mleko. Białka produkowane przez CNS, uważane za metaloproteazy, działają cytotoksycznie, powodują też hydrolizę kazeiny (46). Obecność drobnoustrojów oraz ich toksyn zostaje rozpoznana przez znajdujące się w mleku humoralne i komórkowe składniki układu obronnego. W ich eliminacji biorą udział nieswoiste mechanizmy i czynniki obronne mleka (fagocytoza, laktoferyna, laktoperoksydaza, lizozym, komplement) oraz swoiste immunoglobuliny: IgA, IgG1, IgG2, IgM (9, 45). Podstawowym mechanizmem obronnym gruczołu mlekowego krowy jest fagocytoza (10, 19, 21). Zniszczenie bakterii oznacza likwidację infekcji. Przeżycie i namnożenie się drobnoustrojów wskazuje na zakażenie. W jego wyniku dochodzi do wytworzenia substancji, które inicjują odpowiedź zapalną. Skutkiem jest m.in. uwolnienie cytokin prozapalnych oraz rekrutacja leukocytów do ogniska infekcji w celu zniszczenia bakterii (45). Leukocyty migrują przez ściany naczyń krwionośnych, aktywnie przemieszczają się przez tkankę wydzielniczą w kierunku powierzchni zajętej przez drobnoustroje, następnie gromadzą się wokół ognisk infekcji (pęcherzyki, przewody, zatoki), po czym przedostają się do mleka. Podczas migracji mogą zostać uwolnione enzymy, które niszczą komórki produkujące mleko lub utrudniają jego syntezę.

Gronkowce koagulazo-ujemne, podobnie jak złociste wywołują zarówno zapalenia podkliniczne, jak też przewlekłe oraz ostre (35), jednak natężenie patologicznych zmian w wymieniu i mleku jest mniej intensywne niż w zapaleniach spowodowanych przez *Staph. aureus* (22, 25, 34). Bakterie te są przyczyną wzrostu liczby komórek somatycznych (LKS) w mleku zbior-

czym, szczególnie w stadach o niskim udziale patogenów zakaźnych (31). Skutkiem zakażenia i zapalenia jest uszkodzenie tkanki wydzielniczej, wzrost zawartości tkanki łącznej, umiarkowany wzrost liczby komórek somatycznych oraz spadek produkcji mleka. Średnia geometryczna LKS, wg niektórych autorów, pozostawała poniżej 500 000/ml (7), a według innych, w ćwiartkach zakażonych przewlekłe utrzymywała się na poziomie 600 000/ml (33). Badania własne wykazały (17), że LKS w próbkach przedmleka z ćwiartek zakażonych CNS wahała się najczęściej w granicach od 100 000 do 500 000/ml. Jedynie w 20% przypadków przekraczała tę liczbę. Wielu autorów stwierdziło też występowanie klinicznych postaci *mastitis* wywołanych przez gronkowce koagulazo-ujemne (13, 17, 27, 35, 40). Najczęściej były one związane z zakażeniem *Staph. chromogenes* i *Staph. simulans* (35, 40) lub *Staph. epidermidis* (13).

Zapalenia wywołane przez CNS są nowym, narastającym problemem. Zakażenia wywołane przez ten sam typ genetyczny (pulsotyp) mogą utrzymywać się przez całą laktację u tej samej krowy, a także przenosić się na wymiona innych krów w stadzie (7). Według niektórych autorów, gronkowce te mogą zachowywać się jak typowe patogeny zakaźne lub środowiskowe (33). Uważa się przy tym, że podstawowy, tj. 5-punktowy program profilaktyki *mastitis*, nie jest wystarczająco skuteczny w ograniczaniu zakażeń wymienia wywołanych przez CNS (35). Z drugiej jednak strony, udowodniono (44), że wprowadzenie rygorystycznego programu, nakierowanego na profilaktykę *Staph. aureus*, przyczyniło się także do spadku odsetka zapaleń wywoływanych przez CNS. Warto przy tym uwzględnić fakt, że u pewnego odsetka krów dochodzi do spontanicznego uwolnienia gruczołu mlekowego od CNS (3, 35).

Metody profilaktyki swoistej nie zostały dotychczas opracowane. Niektórzy autorzy zwracali uwagę na zakażenia CNS u krów poddanych działaniu szczepionek przeciw gronkowcowi złocistemu. Zastosowano np. wakcyne, która zawierała 2 szczepy *Staph. aureus* wyizolowane z klinicznej postaci *mastitis* w tej samej oborze (36). Jałówki grupy doświadczalnej (n = 157) szczepiono dwukrotnie, tj. 5 i 2 tygodnie przed spodziewanym porodem, podskórnie, w okolicy nadwymieniowych węzłów chłonnych. Jałówki kontrolne (n = 164) otrzymały placebo. W pierwszym miesiącu po porodzie stwierdzono CNS w 21,7% ćwiartek grupy doświadczalnej i w 22,3% ćwiartek grupy kontrolnej. Nie wykazano też likwidacji istniejących zakażeń CNS ani zapobiegania nowym infekcjom w porównaniu do grupy kontrolnej w efekcie podania (dwukrotnie, co 14 dni s.c.) krowom będącym w laktacji szczepionki Lysin (20).

Gillespie i wsp. (7) twierdzą, że zapalenia gruczołu mlekowego wywołane przez CNS staną się kolejnym wyzwaniem po eliminacji lub redukcji zakażeń spowodowanych przez gronkowca złocistego i inne

patogeny zaliczone do grupy zakaźnych. Gronkowce koagulazo-ujemne odgrywają również ważną i rosnącą rolę w patogeniezie chorób człowieka. Stanowią, między innymi, czynnik etiologiczny *endocarditis*, *mastitis*, *endophthalmitis*, *peritonitis* oraz zakażeń dróg moczowych (24). Wśród CNS wyizolowanych z produktów mleczarskich, z którymi łączono zatrucia pokarmowe u ludzi, wykazano obecność szczepów posiadających geny odpowiedzialne za produkcję enterotoksyn (39). Upoważnia to do przypuszczenia, że w najbliższym czasie zakażenia i zapalenia gruczołu mlekowego krów spowodowane przez gronkowce koagulazo-ujemne będą przedmiotem coraz szerszego zainteresowania, także z punktu widzenia bezpieczeństwa żywności.

### Piśmiennictwo

- 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. *Vet. Rec.* 2007, 160, 253-257.
- Capurro A., Artursson K., Persson-Waller K., 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. *Vet. Microbiol.* 2009, 124, 327-333.
- Chaffer M., Leitner G., Winkler M., Glickam A., Krifucks O., Ezra E., Saran A.: Coagulase-negative staphylococci and mammary gland infections in cows. *Zentralbl. Veterinarmed.* B 1999, 46, 707-712.
- Cucarella C., Tormo M. A., Ubeda C., Trotonda M. P., Monzon M., Peris C., Amorena B., Lasa I., Penades J. R.: Role of biofilm-associated protein Bap in the pathogenesis of bovine *Staphylococcus aureus*. *Infect. Immun.* 2004, 72, 2177-2185.
- Fijalkowski K., Czernomysy-Furowicz D., Ferlas M.: *Staphylococcus aureus* kontra układ immunologiczny. *Post. Mikrobiol.* 2008, 47, 497-501.
- Garbac K., Goliński J.: Atypowe szczepy gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*) nie posiadające koagulazy lub czynnika zlepnego. *Post. Microbiol.* 2006, 45, 39-43.
- Gillespie B. E., Haedrick S. I., Boonyayatra S., Oliver S. P.: Prevalence and persistence of coagulase-negative *Staphylococcus* species in three research herds. *Vet. Microbiol.* 2009, 134, 65-72.
- Halasa T., Huijps K., Østeras O., Hogeveen H.: Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Vet. Quart.* 2007, 29, 18-31.
- Hamann J., Fehlings K.: Leitlinien zur Bekämpfung der Mastitis des Rindes als Bestandsproblem. Hannover 2002.
- Herbelin C., Poutrel B., Gilbert F. B., Reinard P.: The recruitment and bactericidal activity of neutrophils in milk of cows vaccinated with staphylococcal  $\alpha$ -toxin. *J. Dairy Sci.* 1997, 80, 2025-2034.
- Huijps K., Lam T. J. G. M., Hogeveen H.: Costs of mastitis: facts and perception. *J. Dairy Res.* 2008, 75, 113-120.
- Hyvönen P., Käyhkö S., Taponen S., Wright S., Pyörälä S.: Effect of bovine lactoferrin on the internalization of coagulase-negative staphylococci into bovine epithelial cells under in vitro conditions. *J. Dairy Res.* 2009, 76, 144-151.
- Kłossowska A., Malinowski E.: Identyfikacja metodą PCR gronkowców koagulazo-ujemnych wyizolowanych z wydzieliiny zapalnej gruczołu mlekowego krowy. *Ekologia i technika* 2008, 16, 78-81.
- Kuroishi T., Komine K., Kai K., Kobayashi J., Ohta M., Kamata S., Kumagai K.: Concentrations and specific antibodies to staphylococcal enterotoxin-C and toxic shock syndrome toxin 1 in bovine mammary gland secretions, and inflammatory response to the intramammary inoculation of these toxins. *J. Vet. Med. Sci.* 2003, 65, 899-906.
- Makovec J. A., Ruegg P. L.: Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2001. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 3466-3472.
- Malinowski E., Kłossowska A., Kaczmarowski M., Kuźma K.: Prevalence of intramammary infections in pregnant heifers. *Bull. vet. Inst. Pulawy* 2003, 47, 165-170.
- Malinowski E., Lassa H., Kłossowska A., Markiewicz H., Kaczmarowski M., Smulski S.: Relationship between mastitis agents and somatic cell count in foremilk samples. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2006, 50, 349-352.
- Malinowski E., Lassa H., Kłossowska A., Smulski S., Markiewicz H., Kaczmarowski M.: Etiological agents of dairy cows' mastitis in western part of Poland. *P. J. Vet. Sci.* 2006, 9, 191-194.
- Merle R., Schröder A., Hamann J.: Cell function in the bovine mammary gland: a preliminary study on interdependence of healthy and infected udder quarters. *J. Dairy Res.* 2007, 74, 174-179.
- Middleton J. R., Luby C. D., Adams C. S.: Efficacy of vaccination against staphylococcal mastitis: A review and new data. *Vet. Microbiol.* 2009, 134, 192-198.
- Paape M., Mehrzad J., Zhao X., Detilleux J., Burvenich C.: Defense of bovine mammary gland by polymorphonuclear neutrophil leukocytes. *J. Mammary Gland. Biol. Neoplasia* 2002, 7, 109-120.
- Park K. Y., Koo H. C., Kim S. H., Hwang S. H., Jung W. K., Kim W. K., Shin S., Kim R. T., Park Y. H.: The analysis of milk components and pathogenic bacteria isolated from bovine raw milk in Korea. *J. Dairy Sci.* 2007, 90, 5405-5414.
- Piepers S., De Meulemeester L., de Kruijff A., Opsomer G., Barkema H. W., De Fliether S.: Prevalence and distribution of mastitis pathogens in subclinically infected dairy cows in Flanders, Belgium. *J. Dairy Res.* 2007, 74, 478-483.
- Piette A., Verschraegen G.: Role of coagulase-negative staphylococci in human disease. *Vet. Microbiol.* 2009, 134, 45-54.
- Pyörälä S., Taponen S.: Coagulase-negative staphylococci – emerging mastitis pathogens. *Vet. Microbiol.* 2009, 134, 3-8.
- Rajala-Schultz P. J., Torres A. H., DeGraves F. J., Gebreyes W. A., Patchanee P.: Antimicrobial resistance and genotypic characterization of coagulase-negative staphylococci over the dry period. *Vet. Microbiol.* 2009, 134, 55-63.
- Ruegg P. L.: The quest for the perfect test: Phenotypic versus genotypic identification of coagulase-negative staphylococci associated with bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 2009, 134, 15-19.
- Salmon S. A., Watts J. L., Aarestrup F. M., Pankey J. W., Yancey R. J.: Minimum inhibitory concentrations for selected antimicrobial agents against organisms isolated from the mammary glands of dairy heifers in New Zealand and Denmark. *J. Dairy Sci.* 1998, 81, 570-578.
- Sampimon O. C., Barkema H. W., Berends J. M. G. A., Sol J., Lam T. J. G. M.: Prevalence and herd-level risk factors for intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in Dutch dairy herds. *Vet. Microbiol.* 2009, 134, 37-44.
- Santos O. C., Barros E. M., Brito M. A., Bastos M., dos Santos K. R., Giambiagi-deMarval M.: Identification of coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis using RFLP-PCR of the *groEL* gene. *Vet. Microbiol.* 2008, 130, 134-140.
- Schukken Y. H., Gonzalez R. N., Tikofsky L. L., Schulte H. F., Santisteban C. G., Welcome F. L., Bannett G. J., Zurakowski M. J., Zadoks R. N.: CNS mastitis: Nothing to worry about? *Vet. Microbiol.* 2009, 134, 9-14.
- Taponen S., Björkroth J., Pyörälä S.: Coagulase-negative staphylococci isolated from bovine extramammary sites and intramammary infections in a single dairy herd. *J. Dairy Res.* 2008, 75, 422-429.
- 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. *J. Dairy Sci.* 2007, 90, 3301-3307.
- Taponen S., Pyörälä S.: Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis – Not so different from *Staphylococcus aureus*. *Vet. Microbiol.* 2009, 134, 29-36.
- Taponen S., Simojoki H., Haveri M., 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. *Vet. Microbiol.* 2006, 115, 199-207.
- Tenhagen B. A., Edinger D. B., Baumgärtner B., Kalbe P., Klunder G., Heuwieser W.: Efficacy of a herd-specific vaccine against *Staphylococcus aureus* to prevent post-partum mastitis in dairy heifers. *J. Vet. Med. A* 2001, 48, 601-607.
- 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. *J. Dairy Sci.* 2006, 89, 2542-2551.
- Thornberg B.-M., Kühn I., Aarestrup F. M., Brändström B., Jonsson P., Danielsson-Tham M.-L.: Phenotype and genotyping of *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk and human skin. *Vet. Microbiol.* 2006, 115, 163-172.
- Veras J. V., do Carmo L. S., Tong L. C., Shupp J. W., Cummings C., dos Santos D. A., Pinho Cerqueira M. M. O., Cantini A., Nicoli J. R., Jett M.: A study of the enterotoxigenicity of coagulase-negative and coagulase-positive staphylococcal isolates from food poisoning outbreaks in Minas Gerais, Brazil. *Inter. J. Infect. Dis.* 2008, 12, 410-415.
- Waage S., Mork T., Roros A., Aasland D., Hunshamar A., Odegaard S. A.: Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 1999, 82, 712-719.
- Watts L. J.: Etiological agents of bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 1988, 16, 41-66.
- Zadoks R. N., Watts J. L.: Species identification of coagulase-negative staphylococci: Genotyping is superior to phenotyping. *Vet. Microbiol.* 2009, 134, 20-28.
- Zeconi A., Cesaris L., Liandris E., Dapra V., Piccinini R.: Role of several *Staphylococcus aureus* virulence factors on the inflammatory response in bovine mammary gland. *Microb. Pathog.* 2006, 40, 177-183.
- Zeconi A., Piccinini R., Fox L. K.: Epidemiological study of non-contagious intramammary infections in nine commercial dairy herds following a *Staphylococcus aureus* control programme. *J. Vet. Med. B* 51, 2004, 333, 336.
- Zeconi A., Smith K. L.: Editors IDF position paper on ruminant mammary gland immunity. *IDF International Symposium on Immunology of Ruminant Mammary Gland*. Stresa, Italy 2000, s. 3-120.
- Zhang S., Maddox C.: Cytotoxic activity of coagulase-negative *Staphylococci* in bovine mastitis. *Infect. Immun.* 2000, 68, 1102-1108.

Adres autora: prof. dr hab. Edward Malinowski, ul. Sułkowskiego 50/34, 85-634 Bydgoszcz; e-mail: vetri@logonet.com.pl