

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 21/02/2027.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

Influência de fatores de virulência de *Staphylococcus aureus* nos diferentes escores de gravidade na mastite bovina

LAURA BEATRIZ BORIM DA SILVA

Discente, Biologia Geral e Aplicada IBB-Unesp, Botucatu

VERA LÚCIA MORES RALL

Orientadora, Docente- IBB-Unesp, Botucatu

STÉFANI THAIS ALVES DANTAS

Co orientadora, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Pirassununga

BOTUCATU/SP

2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

Influência de fatores de virulência de *Staphylococcus aureus* nos diferentes escores de gravidade na mastite bovina

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu, para obtenção do título de mestre em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia de Micro-organismos e Imunidade.

Orientadora: Profa. Dr^a. Vera Lúcia Mores Rall

Co orientadora: Dr^a. Stéfani Thais Alves Dantas

BOTUCATU/SP

2025

S586i

Silva, Laura Beatriz Borim da

Influência de fatores de virulência de *Staphylococcus aureus* nos diferentes escores de gravidade na mastite bovina / Laura Beatriz Borim da Silva. -- Botucatu, 2025

85 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu

Orientadora: Vera Lúcia Mores Rall

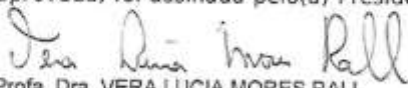
Coorientadora: Stéfani Thais Alves Dantas

1. Mastite bovina. 2. Biofilme. 3. Modulinas. 4. Adesão. 5. Invasão.
I. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE LAURA BEATRIZ BORIM DA SILVA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA GERAL E APLICADA, DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 21 dias do mês de fevereiro do ano de 2025, às 9h, no(a) Sala 07 da Central de Aulas 3, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de LAURA BEATRIZ BORIM DA SILVA, intitulada **Influência de fatores de virulência de *Staphylococcus aureus* nos diferentes escores de gravidade na mastite bovina**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. VERA LUCIA MORES RALL (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Ciências Químicas e Biológicas / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP, Prof. Dr. ARY FERNANDES JÚNIOR (Participação Presencial) do(a) Departamento de Ciências Químicas e Biológicas / Instituto de Biociências de Botucatu - Unesp, Pesquisador Dr. CARLOS HENRIQUE CAMARGO (Participação Presencial) do(a) Centro de Bacteriologia / Instituto Adolfo Lutz. Após a exposição pela mestrande e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: Aprovada

Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.


Profa. Dra. VERA LUCIA MORES RALL

Estudar e compreender a vida, em suas diversas formas e fragilidades, é um ato de amor, resiliência e cuidado com a criação divina. Na jornada do conhecimento, os desafios moldam o caráter e revelam o verdadeiro sentido de servir com empatia, utilizando o saber como instrumento de acolhimento e transformação

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que me abençoou e sustentou em todos os momentos, proporcionando-me oportunidades diárias para me tornar uma pessoa melhor. Cada desafio acadêmico não apenas testou minha capacidade de resiliência, mas também me proporcionou espaço para crescer e aprender. Através de frustrações, críticas e momentos de dúvida, aprendi a valorizar a perseverança e a disciplina, competências importantes para o sucesso em minha carreira. Essas experiências me ensinaram que a evolução pessoal e profissional, muitas vezes, ocorre fora da zona de conforto. Assim, encaro cada obstáculo não como um impedimento, mas como uma oportunidade de crescimento que moldou a profissional que sou hoje.

À minha mãe, Eliana Aparecida Borim da Silva, e ao meu pai, Roggero da Silva Bolda Sbalchiero Rizzato, por todo o suporte desde a graduação até a pós-graduação. Se hoje estou vivendo o meu sonho, é graças a vocês. Eu amo vocês.

Ao meu irmão, Matheus Borim Rizzato da Silva (*in memoriam*), e à minha cunhada, Gisele Gil de Almeida (*in memoriam*), que continuam sendo fontes de inspiração e amor. A honestidade e simplicidade com que viveram permanecem em meu coração como um exemplo a ser seguido. Eu amo vocês.

À Nina (*in memoriam*), Bellatrix e Pepper, minhas queridas companheiras felinas, que me trouxeram amor, conforto e luz, mesmo nos dias mais difíceis.

Ao meu namorado, João Pedro Garcia Cordeiro, pelo amor, carinho e companhia nos dias em que fiquei até mais tarde no departamento e nos finais de semana. Mesmo cansado, após uma semana de trabalho intensa, você escolhia estar ao meu lado para que eu não ficasse sozinha trabalhando. Obrigada por me mostrar o verdadeiro significado do amor e por me fazer sentir amada como nunca antes. Sou imensamente grata por tudo o que você fez e continua fazendo ao longo da minha pós-graduação, por estar ao meu lado nos momentos mais difíceis e por me apoiar em todas as decisões. Obrigada por compartilhar esse sonho comigo e por ser meu porto seguro. Eu te amo.

À minha orientadora, Profa. Dra. Vera Lúcia Mores Rall, que aceitou o desafio de me orientar e acompanhou minha trajetória acadêmica. Agradeço pelos ensinamentos, pela confiança depositada em mim desde o início e pela oportunidade de desenvolver este trabalho sob sua supervisão.

À minha coorientadora, Dra. Stéfani Thais Alves Dantas, pelos ensinamentos e apoio. Sua contribuição durante a execução deste trabalho foi essencial.

Aos meus amigos, em especial, Hecttor Sebastian Baptista, Henrique Orsi, Beatrice Di Virgilio Lopes Souza, Guilherme Frizzarin Ramalhães, Ingrid Miranda Ferraz, Caroline

Rodrigues de Jesus, Karoline Spiasse Leite, Ester Luiza Moraes de Paula, Guilherme Tosta Mendes, Juliana Sinkunas, Leandro Rodrigues de Oliveira e Paulo Vitor Maciel de Lima, obrigada por todo o suporte emocional, ensinamentos, risadas e companhia nos bons e maus momentos.

Ao Departamento de Genética, Microbiologia e Imunologia, pelo apoio, pela troca de conhecimentos e pelos momentos de aprendizado e convivência que enriqueceram minha formação.

À Ivana Giovannetti Castilho, Erika Carolina Bonsaglia Romão, Cassiana Zamonelli e Patrícia Luciane de Souza Ramos, que sempre estiveram ao meu lado, proporcionando um ambiente acolhedor e colaborativo. Agradeço a vocês por serem tão receptivas e generosas, contrastando com as dificuldades enfrentadas em outros aspectos.

Aos professores associados Ary Fernandes Junior e Rodrigo Tavanelli Hernandes, pela parceria e pela generosidade em ceder o uso de equipamentos para a realização desta pesquisa.

À Madalena, pelo carinho e por adoçar meus dias com seus pães de mel.

À professora Ivone Caldeira, responsável por fazer com que eu me apaixonasse pela área que escolhi, obrigada por todo o carinho e ensinamentos desde o ensino fundamental. Ao professor Eduardo Bagagli, pelo exemplo inspirador de um professor apaixonado pela área e pelo respeito a todas as formas de vida. Vocês dois são modelos a serem seguidos, não só por mim, mas por muitos outros.

Aos professores Igor Otávio Minatel, Camila Ferreira Bannwart Castro e Adriana Piccinin, por me inspirarem e motivarem a seguir meus sonhos desde a graduação.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, pelo acolhimento e suporte durante minha trajetória acadêmica.

Ao Instituto de Biociências de Botucatu, por proporcionar um ambiente ideal para desenvolvimento desta pesquisa.

À Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), Campus de Botucatu, pelo espaço, recursos e infraestrutura que foram fundamentais para a realização desta pesquisa.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos que possibilitou a realização desta pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), registro minha gratidão pelo apoio financeiro ao trabalho (2023/05546-3), que foi fundamental para o desenvolvimento desta pesquisa.

A todos os membros da banca – Prof. Dr. Ary Fernandes Junior, Prof. Dr. Márcio Garcia Ribeiro, Profa. Dra. Nathália Cristina Cirone da Silva e Prof. Dr. Carlos Henrique Camargo – obrigada por aceitarem o convite e por suas contribuições que foram importantes para aprimorar este trabalho, tornando-o mais completo e qualificado.

Quero dedicar um momento para reconhecer a mim mesma, por não ter desistido em momentos de dificuldades. Em várias ocasiões, quando enfrentei desafios que pareciam intransponíveis, foi a minha determinação e fé que me mantiveram firme. Agradeço a mim mesma por ter a coragem de continuar, mesmo quando a estrada parecia incerta. Cada passo que dei, mesmo os menores, me trouxeram onde estou hoje.

Essa jornada não é apenas um reflexo do apoio e das bênçãos que recebi, mas também do compromisso que fiz comigo mesma de nunca desistir dos meus sonhos. Aprendi a valorizar a importância de acreditar em meu potencial e de lutar pelas minhas aspirações, mesmo diante das adversidades. Essa força interna me moldou e me preparou para os desafios que ainda estão por vir.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação esquemática sobre o mecanismo de alguns fatores de virulência produzidos por *S. aureus* em infecção intramamária bovina.

Figura 2– Diagrama esquemático do sistema regulatório *agr* de *S. aureus*. O operon *agr* é composto por duas unidades transcricionais, RNAII e RNAIII, dirigidas pelos promotores P2 e P3, respectivamente. RNAII, um operon com quatro genes (*agrBDCA*), codifica *AgrB*, que processa e exporta *AgrD*, o precursor do PIA. Em níveis limiares de PIA, *AgrC* é autofosforilada e fosforila *AgrA*, que ativa a expressão de RNAIII, aumentando a secreção de toxinas de *S. aureus*.

LISTA DE QUADROS

Quadro 01- Oligonucleotídeos e suas propriedades utilizados na detecção de genes que codificam a produção de enterotoxinas, em isolados de *Staphylococcus aureus*, obtidos a partir de leite de vacas com mastite clínica e subclínica.

Quadro 02- Oligonucleotídeos e suas propriedades utilizados na detecção de genes que codificam a produção de leucocidinas, modulinas, esfoliatinas e hemolisinas em isolados de *Staphylococcus aureus*, obtidos a partir de leite de vacas com mastite clínica e subclínica.

Quadro 03- Oligonucleotídeos e suas propriedades utilizados na detecção de genes que codificam a produção de biofilme, obtidos a partir de leite de vacas com mastite clínica e subclínica.

Quadro 04- Oligonucleotídeos e suas propriedades utilizados na detecção genes de tipagem molecular dos grupos *agr*, obtidos a partir de leite de vacas com mastite clínica e subclínica.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Frequências relativas e absolutas dos genes que codificam enterotoxinas de *S. aureus* obtidos do leite de vacas com mastite clínica e subclínica.

Tabela 2- Perfis genéticos encontrados, considerando-se o tipo de mastite e a presença dos genes das enterotoxinas, em isolados de *S. aureus*, obtidos a partir de leite de vacas com mastite.

Tabela 3- Frequências relativas e absolutas dos genes que codificam biofilme de *S. aureus* obtidos do leite de vacas com mastite clínica e subclínica.

Tabela 4- Perfis genéticos encontrados, considerando-se o tipo de mastite e a presença dos genes formadores de biofilme, em isolados de *S. aureus*, obtidos a partir de leite de vacas com mastite.

Tabela 5- Frequências relativas e absolutas dos genes que codificam leucocidinas de *S. aureus* obtidos do leite de vacas com mastite clínica e subclínica.

Tabela 6- Perfis genéticos encontrados, considerando-se o tipo de mastite e a presença dos genes das leucocidinas, em isolados de *S. aureus*, obtidos a partir de leite de vacas com mastite.

Tabela 7- Frequências relativas e absolutas dos genes que codificam modulinas de *S. aureus* obtidos do leite de vacas com mastite clínica e subclínica.

Tabela 8- Perfis genéticos encontrados, considerando-se o tipo de mastite e a presença dos genes das modulinas, em isolados de *S. aureus*, obtidos a partir de leite de vacas com mastite.

Tabela 9- Frequências relativas e absolutas dos genes que codificam hemolisinas de *S. aureus* obtidos do leite de vacas com mastite clínica e subclínica.

Tabela 10- Perfis genéticos encontrados, considerando-se o tipo de mastite e a presença dos genes das hemolisinas, em isolados de *S. aureus*, obtidos a partir de leite de vacas com mastite.

Tabela 11- Frequências relativas e absolutas dos genes que codificam acessório regulador (*agr*) de *S. aureus* obtidos do leite de vacas com mastite clínica e subclínica.

Tabela 12- Perfis genéticos encontrados, considerando-se o tipo de mastite e a presença dos genes que codificam a produção de enterotoxinas, hemolisinas, leucocidinas, modulinas de biofilme, em isolados de *S. aureus*, obtidos a partir de leite de vacas com mastite.

Tabela 13- Frequência da associação entre os genes *icaA*, *icaD* e *bap*, em relação os isolados de *S. aureus* produtores ou não de biofilme, obtidos de amostras de leite de vacas com mastite clínica e subclínica.

Tabela 14- Média dos testes de adesão e invasão de *S. aureus* em células MAC-T, com dois isolados de cada gravidade, selecionado em cada perfil genético envolvidos na produção de biofilme.

Tabela 15- Relação entre os perfis genéticos de MSCRAMMs e perfis genéticos de biofilme em *S. aureus* isolados de leite de vacas com mastite clínica.

RESUMO

A mastite é uma inflamação da glândula mamária, causada principalmente por bactérias. *Staphylococcus aureus* é um dos principais patógenos associados a essa doença, que pode causar infecções subclínica ou clínicas, com escores de leve, moderada ou grave. As principais estratégias para a persistência da bactéria no úbere envolvem a formação de biofilme e invasão das células epiteliais da glândula mamária. Além disso, a produção de superantígenos, modulinas e leucocidinas parecem desempenhar papel relevante no desenvolvimento da doença. O objetivo deste estudo foi investigar a relação da presença de genes que codificam os principais fatores de virulência de *S. aureus*, como produção de enterotoxinas, hemolisinas, leucocidinas, modulinas e biofilme com o escore de gravidade da mastite bovina. Foram utilizados 103 isolados, obtidos de leite de vacas com mastite subclínica e 101, de origem clínica (71 de gravidade clínica leve, 28 na moderada e duas graves). A pesquisa desses fatores de virulência foi realizada por testes de reação em cadeia da polimerase (PCR). Os isolados de *S. aureus* apresentaram grande plasticidade genética, sem a identificação de um marcador genético específico associado ao desenvolvimento de mastite clínica. No entanto, a tríade genética *seh+selw+selx* foi encontrada em 42,7% dos isolados clínicos e esteve ausente nos isolados de mastite subclínica, sugerindo um potencial biomarcador que necessita de mais estudos para validação. A prevalência significativa de genes codificadores de enterotoxinas, leucocidinas, modulinas e hemolisinas reforça seu papel na patogênese da mastite. Além disso, a produção de biofilme por isolados subclínicos, mesmo sem os principais genes conhecidos, indica a participação de outros genes. Diferentes perfis genéticos de biofilme não influenciaram a adesão e invasão dos isolados, sendo as proteínas MSCRAMMs as principais responsáveis por esses processos. O reconhecimento dessas variações genéticas pode contribuir para uma melhor compreensão das manifestações clínicas da mastite bovina e auxiliar no desenvolvimento de estratégias para controle e prevenção da doença, minimizando impactos econômicos na pecuária leiteira.

Palavras-Chave: Mastite bovina contagiosa; Biofilme; Modulinas; Patogenicidade; MAC-T; Adesão; Invasão.

ABSTRACT

Mastitis is an inflammation of the mammary gland, primarily caused by bacteria. *Staphylococcus aureus* is one of the main pathogens associated with this disease, which can lead to subclinical or clinical infections, classified as mild, moderate, or severe. The main strategies for bacterial persistence in the udder involve biofilm formation and invasion of mammary gland epithelial cells. Additionally, the production of superantigens, modulins, and leukocidins appears to play a significant role in disease development. The aim of this study was to investigate the relationship between the presence of genes encoding the main virulence factors of *S. aureus*, such as enterotoxin, hemolysin, leukocidin, modulin, and biofilm production, and the severity score of bovine mastitis. A total of 103 isolates were obtained from the milk of cows with subclinical mastitis, and 101 isolates were from clinical cases (71 classified as mild, 28 as moderate, and two as severe). The detection of these virulence factors was performed using polymerase chain reaction (PCR) assays. The *S. aureus* isolates exhibited high genetic plasticity, with no specific genetic marker identified as being associated with the development of clinical mastitis. However, the genetic triad *seh+selw+selx* was found in 42.7% of clinical isolates and was absent in subclinical mastitis isolates, suggesting a potential biomarker that requires further studies for validation. The significant prevalence of genes encoding enterotoxins, leukocidins, modulins, and hemolysins reinforces their role in mastitis pathogenesis. Furthermore, biofilm production by subclinical isolates, despite the absence of major known biofilm-associated genes, suggests the involvement of other genetic factors. Different biofilm genetic profiles did not influence the adhesion and invasion capabilities of the isolates, with MSCRAMM proteins being the main mediators of these processes. Recognizing these genetic variations may contribute to a better understanding of the clinical manifestations of bovine mastitis and aid in the development of strategies for disease control and prevention, thereby minimizing economic losses in the dairy industry.

Keywords: Contagious bovine mastitis; Biofilm; Modulins; Pathogenicity; MAC-T; Adhesion; Invasion.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	14
1.1. MASTITE BOVINA	14
1.2. STAPHYLOCOCCUS AUREUS	15
1.2.1 PATOGENICIDADE	16
1.2.1.1. ENTEROTOXINAS ESTAFILOCÓCICAS (STAPHYLOCOCCAL ENTEROTOXINS - SES)	17
1.2.1.2. LEUCOCIDINAS	19
1.2.1.3. HEMOLISINAS	22
1.2.1.4. ESFOLIATINAS	23
1.2.1.5. BIOFILME	24
1.2.1.6. MODULINAS SOLÚVEIS EM FENOL	24
1.2.1.7. ADESÃO E INVASÃO	25
1.2.2. REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DOS FATORES DE VIRULÊNCIA	26
2. OBJETIVOS	31
3. MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1. ORIGEM DOS ISOLADOS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS	32
3.2. REISOLAMENTO E CONFIRMAÇÃO DA ESPÉCIE S. AUREUS	32
3.3. REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)	33
3.4. TESTE DE PRODUÇÃO DE BIOFILME IN VITRO	40
3.5. TESTE DE ADESÃO DE S. AUREUS EM CÉLULAS DE EPITÉLIO MAMÁRIO BOVINO (MAC-T)	40
3.6. TESTE DE INVASÃO DE S. AUREUS EM MAC-T	41
3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
4. RESULTADOS	43
5. DISCUSSÃO	64
6. CONCLUSÃO	72

1. INTRODUÇÃO

1.1. Mastite bovina

A mastite bovina é uma das doenças mais prevalentes em vacas leiteiras afetando a qualidade e a quantidade do leite produzido (AKERS; NICKERSON, 2011; HOGEVEEN; VAN, 2017), pois frequentemente causa danos irreversíveis aos tecidos glandulares produtores de leite (SHARMA; JEONG, 2013), com a redução da quantidade de cálcio e fósforo no leite (TOZZETTI et al., 2008). Essa doença resulta em perdas globais anuais estimadas em cerca de 35 bilhões de dólares (SATHIYABARATHI et al., 2016), pois levam a redução da área funcional do teto e, muitas vezes, à perda do teto, além do descarte precoce de animais, reposição de fêmeas, gastos no tratamento e honorários veterinários, bem como, afeta o bem-estar animal (GONÇALVES et al., 2018),

Staphylococcus aureus é um dos principais agentes infecciosos na mastite bovina (ROLLIN; DHUYVETTER; OVERTON, 2015; BOBBO et al., 2017). Além dos efeitos negativos na produção leiteira, a infecção por essa bactéria também é uma preocupante zoonose, uma vez que isolados com potencial toxigênico podem afetar os humanos, pelo consumo de leite e derivados. Portanto, é fundamental entender os fatores de virulência, estruturas e mecanismos que essa bactéria pode apresentar, resultando em persistência bem-sucedido no hospedeiro (VAN LOO et al., 2007).

Quanto à forma de manifestação, a mastite pode ser classificada em subclínica (MS) ou clínica (MC). O primeiro tipo é caracterizado por infecções intramamárias sem sinais clínicos (CONSTABLE et al., 2016), embora altere a composição do leite (GONÇALVES et al., 2018). Nesse caso, a doença somente é detectada por testes como o California Mastitis Test (CMT) (SCHALM; NOORLANDER, 1957) ou pela contagem de células somáticas (CCS) (PETERS et al., 2015).

Na mastite clínica ocorrem sinais evidentes como edema do úbere e a presença de dor e rubor. As alterações no leite também são visíveis, sendo quantitativas (de redução no volume à ausência) e qualitativas (mudanças na aparência e na composição) (PETERS et al., 2015). O monitoramento da gravidade dos casos clínicos é um conceito atual e de grande valor em programas de controle da mastite. As variações na gravidade clínica classificam a doença em escores 1 (leve), com alterações visíveis somente no leite (grumos e pus); 2 (moderado) com as alterações físicas no leite e sinais inflamatórios da glândula mamária como hiperemia, congestão, edema e dor à apalpação e 3 (grave), com as alterações no leite e na glândula

mamária já descritas e também no estado geral do animal (febre, anorexia, desidratação, taquicardia, dificuldade respiratória, diminuição dos movimentos ruminais, prostração, decúbito e morte). Em geral, de 50 a 70% dos casos de MC são de gravidade leve, 20 a 40% moderada e 5 a 15% graves (RIBEIRO et al., 2016).

1.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus sp. são bactérias Gram-positivas que pertencem à família Staphylococcaceae, presentes na microbiota de animais e humanos. São imóveis, anaeróbicas facultativas, com diâmetro entre 0,5 e 1,5 μm e, quando observadas ao microscópio, apresentam-se sob a forma de “cachos de uva”. Esse gênero é dividido em dois grupos, pela habilidade ou não de produção da coagulase em tubo: os estafilococos coagulase-positiva (ECP), que compreende a espécie *S. aureus* e os estafilococos coagulase-negativa (ECN), que são patógenos oportunistas e pertencem a microbiota das mucosas, pele e conjuntiva (FOSTER; GEOGHEGAN, 2015).

S. aureus é um dos principais patógenos causadores de mastite em rebanhos leiteiros, além de representar uma grande participação em casos de intoxicação alimentar em humanos (EWIDA; AL-HOSARY, 2020). A capacidade do patógeno de causar diferentes doenças depende da expressão de vários fatores de virulência que, agindo em conjunto, possibilitam ao micro-organismo evadir do sistema imune e se adaptar aos diferentes nichos, além de apresentar resistência aos antimicrobianos. Assim, a diversidade genética de isolados de *S. aureus* influencia o desenvolvimento de doenças em hospedeiros humanos e em animais (TUCHSCHERR et al., 2007).

A infecção por *S. aureus* pode ocorrer através de manipuladores portadores e também pode se propagar entre as vacas durante a ordenha pelos equipamentos, requerendo uma abordagem cooperativa a fim de reduzir disseminação para os animais saudáveis (GOMES; HENRIQUES, 2016; MCMILLAN et al., 2016).

Diversas interações intra e inter-relacionadas entre a vaca, o ambiente e *S. aureus* podem influenciar a duração e a gravidade da mastite em vacas lactantes (RAINARD et al., 2018). Sommerhäuser et al. (2003) observaram que os métodos tradicionais de controle de *S. aureus* foram ineficazes, uma vez que alguns isolados desse patógeno apresentavam características semelhantes às dos patógenos ambientais da mastite. O conceito de Saúde Única (*One Health*) destaca a interconexão entre a saúde humana, animal e ambiental. Quatro áreas principais influenciam as condições sanitárias de um território: o ambiente, questões sociais, aspectos

6. CONCLUSÃO

Os isolados de *S. aureus* apresentaram grande plasticidade genética, sem que ainda exista um marcador genético, cuja presença poderia alertar para uma maior possibilidade de desenvolvimento de mastite clínica. Entretanto, 42,7% dos isolados clínicos apresentaram a tríade genética *seh+selw+selx*, que esteve ausente em todos os isolados de mastite subclínica e que pode vir a ser considerado um possível biomarcador. Mas devido à ausência de dados mais concretos na literatura, mais estudos são necessários para validar esse biomarcador.

A prevalência estatisticamente significativa dos *seg*, *seh*, *sei*, *seo*, *selu1*, *selu2*, *selw* e *selx* (codificadores de enterotoxinas), *lukMF*, *lukED*, *lukAB*, *hlgC* (leucocidinas), *psmA*, *psmB* e *hld* (modulinas), *hla* e *hly* (hemolisinas) em isolados de mastite clínica e subclínica sugere um papel importante na patogênese da mastite, independentemente do sistema imunológico do hospedeiro.

Ocorreu a produção de biofilme por vários isolados de mastite subclínica, mesmo na ausência dos três principais genes pesquisados, sugerindo que outros genes devem estar envolvidos nessa produção. Por outro lado, diferentes perfis envolvendo os genes responsáveis pela produção de biofilme parecem não influenciar na capacidade de adesão e invasão dos isolados, sendo as proteínas das MSCRAMMs, as principais responsáveis por esse papel.

O reconhecimento das variações genéticas entre isolados de *S. aureus* pode vir a favorecer uma melhor compreensão das manifestações clínicas da mastite bovina. No entanto, mais estudos são necessários para oferecer novas perspectivas sobre a complexidade genética e implicações, visando melhorar a saúde do gado leiteiro, proteger a saúde humana e minimizar perdas econômicas significativas no setor pecuário.

REFERÊNCIAS

- AARESTRUP, F. M. et al. Frequency of α - and β -haemolysin in *Staphylococcus aureus* of bovine and human origin. **APMIS** **1999**, v. 7, p. 425–430, 1999.
- AKERS, R. M.; NICKERSON, S. C. Mastitis and its impact on structure and function in the ruminant mammary gland. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 16, n. 4, p. 275-289, 2011.
- AKINDOLIRE, M. A. et al. Detection of antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* from milk: A public health implication. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 12, n. 9, p. 10254-10275, 2015.
- ALONZO III, F. et al. CCR5 is a receptor for *Staphylococcus aureus* leukotoxin ED. **Nature**, v. 493, p. 51-55, 2013.
- ALONZO III, F. et al. *Staphylococcus aureus* leucocidin ED contributes to systemic infection by targeting neutrophils and promoting bacterial growth in vivo. **Molecular Microbiology**, v. 83, n. 2, p. 423–435, 2012.
- ALONZO III, F.; TORRES, V. J. The bicomponent pore-forming leucocidins of *Staphylococcus aureus*. **Microbiology and Molecular Biol. Reviews**, v. 78, n. 2, p. 199-230, 2014.
- AMAN, M. J. et al. Structural model of the pre-pore ring-like structure of Panton-Valentine leukocidin: providing dimensionality to biophysical and mutational data. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 28, n. 1, p. 1–12, 2010.
- ARVIDSON, S.; TEGMARK, K. Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 291, n. 2, p. 159–170, 2001.
- AUNG, M. S. et al. Prevalence and genetic characteristics of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus argenteus* isolates harboring Panton-Valentine leukocidin, enterotoxins, and TSST-1 genes from food handlers in Myanmar. **Toxins**, v. 9, n. 8, 2017.
- AUNG, M. S. et al. Prevalence and genetic diversity of Staphylococcal enterotoxin (-Like) genes *sey*, *selw*, *selx*, *selz*, *sel26* and *sel27* in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Toxins**, v. 12, n. 5, 2020.
- AUNG, M. S. et al. Virulence factors and genetic characteristics of methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* isolates in Myanmar. **Microbial drug Resistance**, v. 17, n. 4, p. 525–535, 2011.
- AUNG, M.S. et al. Molecular epidemiological characterization of *Staphylococcus argenteus* clinical isolates in Japan: identification of three clones (ST1223, ST2198, and ST2550) and a novel Staphylocoagulase genotype XV. **Microorganisms**, v. 7, 389, 2019.
- BADARAU, A. et al. Structure-function analysis of heterodimer formation, oligomerization, and receptor binding of the *Staphylococcus aureus* bi-component toxin LukGH. **Journal of Biological Chemistry**, v. 290, n. 1, p. 142-156, 2015.
- BALABAN, N.; NOVICK, R. P. Translation of RNAIII, the *Staphylococcus aureus* *agr* regulatory RNA molecule, can be activated by a 3'-end deletion. **FEMS Microbiology Letters**, v. 133, n. 1-2, p. 155–161, 1995.
- BALASUBRAMANIAN, D. et al. *Staphylococcus aureus* Coordinates leukocidin expression and pathogenesis by sensing metabolic fluxes via RpiRc. **mBio** v. 7, n. 3, p. 00818-00816, 2016.
- BARRETTO, E. S. S. Doenças transmitidas por alimentos: *Staphylococcus aureus*. **Boletim de Divulgação Técnica e Científica**, n. 7, 2000.
- BECKER, K. et al. Rapid and specific detection of toxigenic *Staphylococcus aureus*: use of two multiplex PCR enzyme immunoassays for amplification and hybridization of staphylococcal enterotoxin Genes, exfoliative toxin genes, and toxic shock syndrome toxin 1 Gene. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 9, p. 2548-2553, 1998.

- BERUBE, B. J.; WARDENBURG, J. B. *Staphylococcus aureus* α -toxin: nearly a century of intrigue. **Toxins**, v. 5, n. 6, p. 1140-1166, 2013.
- BHUTTO, A. L.; MURRAY, R. D.; WOLDEHIWET, Z. California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. **Research in Veterinary Science**, v. 92, n. 1, p. 13–17, 2012.
- BISSONG, M. E. A.; ATEBA, C. N. Genotypic and phenotypic evaluation of biofilm production and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from milk, North West Province, South Africa. **Antibiotics**, v. 9, n. 4, p. 156, 2020.
- BLAIOTTA, G. et al. Biotyping of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* by enterotoxin gene cluster (egc) polymorphism and spa typing analyses. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 9, p. 6117–6123, 2006.
- BOBBO, T. et al. Associations between pathogen-specific cases of subclinical mastitis and milk yield, quality, protein composition, and cheese-making traits in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p. 4868–4883, 2017.
- BOLES, B. R.; HORSWILL, A. R. Agr-mediated dispersal of *Staphylococcus aureus* biofilms. **PLoS pathogens**, v. 4, n. 4, p. e1000052, 2008.
- BOLES, B. R.; HORSWILL, A. R. Staphylococcal biofilm disassembly. **Trends in Microbiology**, v. 19, n. 9, p. 449-455, 2011.
- BONSAGLIA, E. C. R. et al. Molecular epidemiology of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) isolated from milk of cows with subclinical mastitis. **Microbial Pathogenesis**, v. 124, p. 130-135, 2018.
- BROUILLETTE, E. et al. The fibronectin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* may promote mammary gland colonization in a lactating mouse model of mastitis. **Infection and Immunity**, v. 71, n. 4, p. 2292–2295, 2003.
- BURKE, F. M. et al. Fibronectin-binding protein B variation in *Staphylococcus aureus*. **BMC Microbiol**, v. 10, 2010.
- BURNSIDE, K. et al. Regulation of hemolysin expression and virulence of *Staphylococcus aureus* by a serine/threonine kinase and phosphatase. **PLoS One**, v. 5, n. 6, 2010.
- BUZZOLA, F. R. et al. Differential abilities of capsulated and noncapsulated *Staphylococcus aureus* isolates from diverse *agr* groups to invade mammary epithelial cells. **Infection and Immunity**, v. 75, n. 2, 2007.
- CAMPOS, B. et al. Diversity and pathogenesis of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis: current understanding and future perspectives. **BMC Veterinary Research**, v. 18, n. 115, 2022.
- CARNEIRO, C. R. W. et al. Identification of enolase as a laminin-binding protein on the surface of *Staphylococcus aureus*. **Microbes and Infection**, v. 6, n. 6, p. 604-608, 2004.
- CASSAT, J. E. et al. A secreted bacterial protease tailors the *Staphylococcus aureus* virulence repertoire to modulate bone remodeling during osteomyelitis. **Cell Host & Microbe**, v. 13, n. 6, p. 759–772, 2013.
- CASTILHO, I. G. et al. Host-pathogen interactions in bovine mammary epithelial cells and HeLa cells by *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 8, p. 6414–6421, 2017.
- CHERAGHI, S. et al. Analysis of virulence genes and accessory gene regulator (*agr*) types among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in Iran. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 10, p. 315-320, 2017.
- CHEUNG, A. L. et al. Regulation of exoprotein expression in *Staphylococcus aureus* by a locus (*sar*) distinct from *agr*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 89, n. 14, p. 6462–6466, 1992.

- CHEUNG, G. Y. C; DUONG, A. C.; OTTO, M. Direct and synergistic hemolysis caused by *Staphylococcus* phenol-soluble modulins: implications for diagnosis and pathogenesis. **Microbes and Infection**, v. 14, n. 4, p. 380-386, 2012.
- CIEZA M. Y. R. et al. Staphylococcal Enterotoxins: description and importance in food. **Pathogens**, v. 13, n. 8, p. 676, 2024.
- CIFRIAN, E. et al. Effect of staphylococcal β toxin on the cytotoxicity, proliferation and adherence of *Staphylococcus aureus* to bovine mammary epithelial cells. **Veterinary Microbiology**, v. 48, n. 3-4, p. 187-198, 1996.
- CONSTABLE, P. D. et al. **Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats**. 11th edn., Saunders Ltd., Philadelphia, 2016. 2.278p.
- CRL-AR (Community Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance). 2009. **Multiplex PCR for the detection of the *mecA* gene and the identification of *Staphylococcus aureus***. National Food Institute. Technical University of Denmark, Copenhagen, Denmark.
- CUCARELLA, C. et al. Bap, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation. **Journal of Bacteriology**, v. 183, p. 2888–2896, 2001.
- CUCARELLA, C. et al. Role of Biofilm-associated protein bap in the pathogenesis of bovine *Staphylococcus aureus*. **Infection and Immunity**, v. 72, n. 4, p. 2177-2185, 2004.
- DANTAS, S.T.A. et al. Diversity of *Staphylococcus aureus* enterotoxin genes and its potential impact on severity of mastitis in dairy cows. **Microbial Pathogenesis**, v. 198, 107119, 2025.
- DARWISH, S. F.; ASFOUR, H. A. Investigation of biofilm forming ability in Staphylococci causing bovine mastitis using phenotypic and genotypic assays. **The Scientific World Journal**, e:378492, 2013.
- DATE, S. V. et al. Global gene expression of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 during human and mouse infection. **The Journal of infectious diseases**, v. 209, n. 10, p. 1542–1550, 2014.
- DELEO, F. R. et al. Molecular differentiation of historic phage-type 80/81 and contemporary epidemic *Staphylococcus aureus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 44, p. 18091–18096, 2011.
- DEPLANCHE, M. et al. *Staphylococcus aureus* phenol-soluble modulins impair interleukin expression in bovine mammary epithelial cells. **Infection and Immunity**, v. 84, n. 6, p. 1682-1692, 2016.
- DINGES, M. M.; ORWIN, P. M.; SCHLIEVERT, P. M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 1, p. 16-34, 2000.
- DOWNER, R. et al. The elastin-binding protein of *Staphylococcus aureus* (EbpS) is expressed at the cell surface as an integral membrane protein and not as a cell wall-associated protein. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 1, p. 243-250, 2002.
- DOZOIS, A. et al. Prevalence and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among skin and soft tissue infections in an emergency department in Guyana. **Emergency Medicine Journal**, v. 32, n. 10, p. 800–803, 2015.
- DUMONT, A. L. et al. Characterization of a new cytotoxin that contributes to *Staphylococcus aureus* pathogenesis. **Molecular Microbiology**, v. 79, n. 3, p. 814-825, 2011.
- DUMONT, A. L. et al. Identification of a crucial residue required for *Staphylococcus aureus* LukAB cytotoxicity and receptor recognition. **Infection and Immunity**, v. 82, n. 3, 2014.
- DUMONT, A. L. et al. *Staphylococcus aureus* elaborates Leukocidin AB to mediate escape from within Human neutrophils. **Infection and Immunity**, v. 81, n. 5, 2013a.
- DUMONT, A. L. et al. *Staphylococcus aureus* LukAB cytotoxin kills human neutrophils by targeting the CD11b subunit of the integrin Mac-1. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 26, p. 10794-10799, 2013b.

- DUNMAN, P. M. et al. Transcription profiling-based identification of *Staphylococcus aureus* genes regulated by the *agr* and/or *sarA* loci. **Journal of Bacteriology**, v. 183, n. 24, p. 7341–7353, 2001.
- EWIDA, R. M.; AL-HOSARY, A. A. T. Prevalence of enterotoxins and other virulence genes of *Staphylococcus aureus* caused subclinical mastitis in dairy cows. **Veterinary World**, v. 13, n. 6, p. 1193-1198, 2020.
- FABRES-KLEIN, M. H. et al. An association between milk and slime increases biofilm production by bovine *Staphylococcus aureus*. **BMC veterinary research**, v. 11, p. 1-8, 2015.
- FERNÁNDEZ, M. M. et al. Binding of natural variants of staphylococcal superantigens SEG and SEI to TCR and MHC class II molecule. **Molecular Immunology**, v. 43, n. 7, p. 927-938, 2006.
- FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 607 p.
- FOSTER, T. J. et al. Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 49-62, 2014.
- FOSTER, T. J.; GEOGHEGAN, J. A. Chapter 37 - *Staphylococcus aureus*. **Molecular Medical Microbiology (Second Edition)**, v. 2, p. 655-674, 2015.
- FOWLER, T. et al. Cellular invasion by *Staphylococcus aureus* involves a fibronectin bridge between the bacterial fibronectin-binding MSCRAMMs and host cell β 1 integrins. **European Journal of Cell Biology**, v. 79, n. 10, p. 672-679, 2000.
- FRASER, J. D.; PROFT, T. The bacterial superantigen and superantigen-like proteins. **Immunological Reviews**, v. 225, n. 1, p. 226–243, 2008.
- FRAUNHOLZ, M.; SINHA, B. Intracellular *Staphylococcus aureus*: live-in and let die. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 2, p. 43, 2012.
- FROMAGEAU, A. et al. Purified *Staphylococcus aureus* leukotoxin LukM/F' does not trigger inflammation in the bovine mammary gland. **Microbial Pathogenesis**, v. 51, n. 6, P. 396-401, 2011.
- FUEYO, J. M. et al. Cytotoxin and pyrogenic toxin superantigen gene profiles of *Staphylococcus aureus* associated with subclinical mastitis in dairy cows and relationships with macrorestriction genomic profiles. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 3, p. 1278–1284, 2005.
- FURSOVA, K. et al. Virulence factors and phylogeny of *Staphylococcus aureus* associated with bovine mastitis in Russia based on genome sequences. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 135, 2020.
- FURSOVA, K. K. et al. Exotoxin diversity of *Staphylococcus aureus* isolated from milk of cows with subclinical mastitis in Central Russia. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4325–4331, 2018.
- GALLAGHER, C. A. et al. Health promotion and harm reduction attributes in One Health literature: A scoping review, **One Health**. v. 13. 2021.
- GASKILL, M. E.; KHAN, S. A. Regulation of the enterotoxin B gene in *Staphylococcus aureus*. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 263, n. 13, p. 6276–6280, 1988.
- GILLASPY, A. F.; IANDOLO, J. J. **Staphylococcus**. In: Encyclopedia of Microbiology (Third Edition). 3. ed. New York: Academic Press, 2009. p. 293-303.
- GOGOI-TIWARI J. et al. Relative distribution of virulence-associated factors among Australian bovine *Staphylococcus aureus* isolates: potential relevance to development of an effective bovine mastitis vaccine. **Virulence**, v. 6, p. 419–23, 2015.
- GOMES, F.; HENRIQUES, M. Control of bovine mastitis: old and recent therapeutic approaches. **Current Microbiology**, v. 72, n. 4, p. 377-382, 2016.

- GONÇALVES, J. L. et al. Bovine subclinical mastitis reduces milk yield and economic return. **Livestock Science**, v. 210, p. 25-32, 2018.
- GRAVET, A. et al. Characterization of a novel structural member, LukE-LukD, of the bi-component staphylococcal leucotoxins family. **FEBS Letters**, v. 436, n. 2, p. 202-208, 1998.
- GRUNERT, T. et al. Distinct phenotypic traits of *Staphylococcus aureus* are associated with persistent, contagious bovine intramammary infections. **Nature**, v. 8, n. 15968, 2018.
- HAVERI, M. et al. Virulence genes of bovine *Staphylococcus aureus* from persistent and nonpersistent intramammary infections with different clinical characteristics. **Journal of Applied Microbiology**, v.103, p. 993–1000, 2007.
- HENNEKINNE, J. A. et al. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, n. 4, p. 815-836, 2012.
- HENSEN, S. M. et al. Use of bovine primary mammary epithelial cells for the comparison of adherence and invasion ability of *Staphylococcus aureus* strains. **Journal of Dairy Science**, v. 8, n. 3, p. 418-429, 2000.
- HILDEBRAND, A.; BHAKDI, M. P. *Staphylococcus aureus* alpha-toxin. Dual mechanism of binding to target cells. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 266, n. 26, p. 17195–17200, 1991.
- HISATSUNE, J. et al. Complete genome sequence of systemically disseminated sequence type 8 staphylococcal cassette chromosome mec Type IV1 community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Genome Announcements**, v. 5, n. 35, e00852-17, 2017.
- HOEKSTRA, J. et al. Genomic analysis of European bovine *Staphylococcus aureus* from clinical versus subclinical mastitis. **Scientific Reports**, v. 10, n. 18172, 2020.
- HOEKSTRA, J. et al. High production of LukMF' in *Staphylococcus aureus* field strains is associated with clinical bovine mastitis. **Toxins**, v. 10, n. 5, e:200, 2018.
- HOGVEEN, H.; VAN, M. D. V. Assessing the economic impact of an endemic disease: the case of mastitis. **Scientific & Technical Review**. v. 36, n. 1, p. 217-226, 2017.
- HU, D. L.; NAKANE, A. Mechanisms of staphylococcal enterotoxin-induced emesis. **European Journal of Pharmacology**, v. 722, p. 95–107. 2014.
- IBRAHIM, E. S. et al. Molecular characterization of genes responsible for biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic cows. **Veterinary World**, v. 15, n. 1, p. 205, 2022.
- INDRAWATTANA, N. et al. *Staphylococcus aureus* clinical isolates: antibiotic susceptibility, molecular characteristics, and ability to form biofilm. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.
- JARRAUD, S. et al. Exfoliatin-producing strains define a fourth *agr* specificity group in *Staphylococcus aureus*. **Journal of Bacteriology**, v. 182, n. 22, p. 6517–6522, 2000.
- JARRAUD, S. et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, *agr* groups (alleles), and human disease **Infection and Immunity**, v. 70, n. 2, p. 631–641, 2002.
- JIA-ZHONG, G. et al. Relationship of Somatic Cell Count with milk yield and composition in chineholstein population. **Agricultural Sciences in China**, v. 9, n. 10, p. 1492-1496, 2010.
- JOHNSON, W. M. et al. Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, p. 426-430, 1991.
- JOO, H. S. et al. Mechanism of gene regulation by a *Staphylococcus aureus* toxin. **MBio**, v. 7, n. 5, 2016.
- JOSSE, J.; LAURENT, F.; DIOT, A. Staphylococcal adhesion and host cell invasion: fibronectin-binding and other mechanisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017.

- KANEKO, J.; MURAMOTO, K.; KAMIO, Y. Gene of LukF-PV-like component of Panton-Valentine Leukocidin in *Staphylococcus aureus* P83 is linked with lukM. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 61, n. 3, p. 541–544, 1997.
- KHORAMROOZ, S. S. et al. Detection of biofilm related genes, classical enterotoxin genes and agr typing among *Staphylococcus aureus* isolated from bovine with subclinical mastitis in southwest of Iran. **Microbial Pathogenesis**, v. 97, p. 45–51, 2016.
- KIELIAN, T. et al. Diminished virulence of an alpha-toxin mutant of *Staphylococcus aureus* in experimental brain abscesses. **Infection and Immunity**, v. 69, n. 11, p. 6902–6911, 2001.
- KIM, K. H. et al. *Staphylococcus aureus* induces IL-1 β expression through the activation of MAP kinases and AP-1, CRE and NF- κ B transcription factors in the bovine mammary gland epithelial cells. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 34, n. 4, p. 347–354, 2011.
- KLEIN, R.C. et al. *Staphylococcus aureus* of bovine origin: Genetic diversity, prevalence, and the expression of adhesin-encoding genes. **Veterinary Microbiology**, v. 160, p. 183–188, 2012.
- KLIBI, A. et al. Molecular characterization and clonal diversity of methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* isolates of milk of cows with clinical mastitis in Tunisia. **Microbial Drug Resistance**, v. 24, n. 8, p. 1210–1216, 2018.
- KOENIG, R. L. et al. *Staphylococcus aureus* agrA binding to the RNAIII-agr regulatory region. **Journal of Bacteriology**, v. 186, n. 22, p. 7549–7555, 2004.
- KONG, C.; NEOH, H. M.; NATHAN, S. Targeting *Staphylococcus aureus* toxins: a potential form of anti-virulence therapy. **Toxins**, v. 8, n. 71, p. 1–21, 2016.
- KREISWIRTH, B. N. et al. The toxic shock syndrome exotoxin structural gene is not detectably transmitted by a prophage. **Nature**, v. 305, n. 5936, p. 709–712, 1983.
- KUEHNERT M. J. et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001–2002. **Journal of Infection Disease**, v. 193, p. 172–179, 2006.
- LARSEN, H. D. et al. Geographical variation in the presence of genes encoding superantigenic exotoxins and beta-hemolysin among *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Europe and USA. **Veterinary Microbiology**, v. 85, n. 1, p. 61–67, 2002.
- LETERTRE, C. et al. Identification of a new putative enterotoxin SEU encoded by the egc cluster of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, p. 38–43, 2003.
- LI, C. et al. UFL1 Alleviates lipopolysaccharide-induced cell damage and inflammation via regulation of the TLR4/NF- κ B pathway in bovine mammary epithelial cells. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, e6505373, 2019.
- LI, T. et al. Molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis between 2014 and 2015. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, e127, 2017.
- LINA, G. et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. **Clinical Infectious Diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 29, n. 5, p. 1128–1132, 1990.
- LINA, G. et al. Standard nomenclature for the superantigens expressed by *Staphylococcus*. **Journal of Infectious Diseases**, v. 189, n. 12, p. 2334–2336, 2004.
- LINA, G. et al. Transmembrane topology and histidine protein kinase activity of AgrC, the agr signal receptor in *Staphylococcus aureus*. **Molecular Microbiology**, v. 28, n. 3, p. 655–662, 1998.
- LIU, C. et al. Molecular characteristics and virulence factors in methicillin-susceptible, resistant, and heterogeneous vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* from central-southern China. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 48, n. 5, p. 490–496, 2015.

- LIU, Y. et al. Staphylococcal enterotoxin H induced apoptosis of bovine mammary epithelial cells *in vitro*. **Toxins**, v. 6, n. 12, p. 3552-3567, 2014.
- LÖFFLER, B. et al. *Staphylococcus aureus* persistence in non-professional phagocytes. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 304, n. 2, p. 170-176, 2014.
- MAGRO, G. et al. Virulence genes of *S. aureus* from dairy cow mastitis and contagiousness risk. **Toxins**, v. 9, n. 6, 2017.
- MALACHOWA, N. et al. Contribution of *Staphylococcus aureus* coagulases and clumping factor A to abscess formation in a rabbit model of skin and soft tissue infection. **Plos One**, v. 11, n. 6, 2016.
- MARTINS, R. P. et al. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 181-187, 2010.
- MCADOW, M. et al. Preventing *Staphylococcus aureus* sepsis through the Inhibition of Its agglutination in blood. **Plos Pathogens**, v. 7, n. 10, e1002307, 2011.
- MCCARTHY, A. J.; LINDSAY, J. A. *Staphylococcus aureus* innate immune evasion is lineage-specific: a bioinformatics study. **Infection, genetics and evolution: journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases**, v. 19, p. 7–14, 2013.
- MCMILLAN, K. et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from raw milk sources in Victoria, Australia. **BMC Microbiology**, v. 16, n. 169, 2016.
- MEHROTRA, M. et al. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 8, p. 1032–1035, 2000.
- MELCHIOR, M. B. et al. Biofilm formation and genotyping of *Staphylococcus aureus* bovine mastitis isolates: Evidence for lack of penicillin-resistance in Agr-type II strains. **Veterinary Microbiology**, v. 137, n. 1–2, p. 83-89, 2009.
- MONECKE, S. et al. Microarray based study on virulence-associated genes and resistance determinants of *Staphylococcus aureus* isolates from cattle. **Veterinary Microbiology**, v. 125, n. 1-2, p. 128-140, 2007.
- MONISTERO, V. et al. *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in eight countries: genotypes, detection of genes encoding different toxins and other virulence genes. **Toxins**, v. 10, n. 6, e247, 2018.
- MORINAGA, N.; KAIHOU, Y.; NODA, M. Purification, cloning and characterization of variant LukE-LukD with strong leukocidal activity of staphylococcal bi-component leukotoxin family. **Microbiology and Immunology**, v. 47, n. 1, p. 81-90, 2003.
- MULLER, E. E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. **Anais do II Sul-Leite: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil**, p. 206-2017, 2002.
- NASHEV, D. et al. Distribution of virulence genes of *Staphylococcus aureus* isolated from stable nasal carriers. **FEMS Microbiology Letters**, v. 233, p. 45-52, 2004.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL. 1999. **Laboratory Handbook on Bovine Mastitis**. National Mastitis Council.
- NAUSHAD, S. et al. Genomic analysis of bovine *Staphylococcus aureus* isolates from milk To elucidate diversity and determine the distributions of antimicrobial and virulence genes and their association with mastitis. **mSystems**, v. 5, n. 4, e00063-20, 2020.
- NESARAJ, J. et al. Genomic epidemiology of bovine mastitis-causing *Staphylococcus aureus* in New Zealand. **Veterinary Microbiology**, v. 282, e:109750, 2023.
- NODA, M. et al. Crystallization and properties of staphylococcal leukocidin. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 633, n. 1, p. 33–44, 1980.
- NOVICK, R. P. et al. Synthesis of staphylococcal virulence factors is controlled by a regulatory RNA molecule. **The EMBO Journal**, v. 12, n. 10, p. 3967–3975, 1993.

- NOVICK, R. P. et al. The *agr* P2 operon: an autocatalytic sensory transduction system in *Staphylococcus aureus*. **Molecular & General Genetics**, v. 248, n. 4, p. 446–458, 1995.
- OLIVEIRA, D.; BORGES, A.; SIMÕES, M. *Staphylococcus aureus* toxins and their molecular activity in infectious diseases. **Toxins**, v. 10, n. 6, 2018.
- OMOE, K. et al. Comprehensive analysis of classical and newly described staphylococcal superantigenic toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolates. **Fems Microbiology Letters**, v. 256, p. 191–198, 2005.
- OMOE, K. et al. Detection of *seg*, *seh* and *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolate harboring *seg*, *seh* or *sei* genes. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, p. 857–862, 2002.
- ONO, H. K. et al. Identification and characterization of a novel Staphylococcal emetic toxin. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 20, p. 7034–40, 2015.
- ONO, H. K. et al. Identification and characterization of two novel Staphylococcal enterotoxins, types S and T. **Infection and Immunity**, v. 76, n. 11, p. 4999–5005, 2008.
- OSTYN, A. et al. First evidence of a food poisoning outbreak due to staphylococcal enterotoxin type E, France, 2009. **Euro Surveillance: Bulletin Européen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin**, v. 15, n. 13, 2010.
- PALES, A. P.; SANTOS, K. J. G.; FIGUEIRAS, E. A. et al. A importância da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total para a melhoria da qualidade do leite no Brasil. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v. 1, n. 2, p. 162–173, 2005.
- PANTOJA, J. C. F. et al. Somatic cell count status across the dry period as a risk factor for the development of clinical mastitis in the subsequent lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 139–148, 2009.
- PEACOCK, S. J. et al. Virulent combinations of adhesin and toxin genes in natural populations of *Staphylococcus aureus*. **Infection and Immunity**, v. 70, n. 9, p. 4987–4996, 2002.
- PEDERSEN, R. R. et al. Biofilm research in bovine mastitis. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, p. 656810, 2021.
- PEREYRA, E. A. L. et al. Detection of *Staphylococcus aureus* adhesion and biofilm-producing genes and their expression during internalization in bovine mammary epithelial cells. **Veterinary Microbiology**, v. 183, p. 69–77, 2016.
- PERIASAMY, S. et al. How *Staphylococcus aureus* biofilms develop their characteristic structure. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 4, p. 1281–1286, 2012.
- PESCHEL, A.; OTTO, M. Phenol-soluble modulins and staphylococcal infection. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 10, p. 667–673, 2013.
- PETERS, M.; SILVEIRA, I. D.; FISCHER, V. Impact of subclinical and clinical mastitis on sensitivity to pain of dairy cows. **Animal**, v. 9, n. 12, p. 2024–2028, 2015.
- PINZÓN-SÁNCHEZ, C.; RUEGG, P. L. Risk factors associated with short-term post-treatment outcomes of clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 3397–3410, 2011.
- POWERS, M. E. et al. Synergistic action of *Staphylococcus aureus* alpha-toxin on platelets and myeloid lineage cells contributes to lethal sepsis. **Cell Host & Microbe**, v. 17, n. 6, p. 775–787, 2015.
- PRESTES, N. C.; LANDIM-ALVARENGA, F. C. **Obstetrícia Veterinária**, Rio de Janeiro, 2006. p. 97–99.
- QUECK, S. Y. et al. RNAIII-independent target gene control by the *agr* quorum-sensing system: insight into the evolution of virulence regulation in *Staphylococcus aureus*. **Molecular Cell**, v. 32, n. 1, p. 150–158, 2008.
- RAINARD, P. et al. Knowledge gaps and research priorities in *Staphylococcus aureus* mastitis control. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 65, n. 1, p. 149–165, 2018.

- RECSEI, P. et al. Regulation of exoprotein gene expression in *Staphylococcus aureus* by agar. **Molecular & General Genetics**, v. 202, n. 1, p. 58–61, 1986.
- REN, Q. et al. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolates from subclinical bovine mastitis in southern Xinjiang, China. **Journal of Dairy Science**, v. 103, p. 3368–80, 2020.
- REYES-ROBLES, T. et al. Exploiting dominant-negative toxins to combat *Staphylococcus aureus* pathogenesis. **EMBO Rep**, v. 17, n. 5, p. 428–440, 2016.
- REYES-ROBLES, T. et al. *Staphylococcus aureus* leukotoxin ED targets the chemokine receptors CXCR1 and CXCR2 to kill leukocytes and promote infection. **Cell Host Microbe**, v. 14, n. 4, p. 453–459, 2013.
- RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. **Doenças Infecciosas em animais de produção e de companhia**. 1. ed. 2016, São Paulo, ROCA, p. 1154–1205.
- ROLLIN, E.; DHUYVETTER, K. C.; OVERTON, M. W. The cost of clinical mastitis in the first 30 days of lactation: an economic modeling tool. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 122, n. 3, p. 257–264, 2015.
- ROSSI, B. F. et al. Association between the accessory gene regulator (*agr*) group and the severity of bovine mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 3, p. 3564–3568, 2021.
- ROSSI, B. F. et al. Genotyping of longterm persistent *Staphylococcus aureus* in bovine subclinical mastitis. **Microbial Pathogenesis**, v. 132, p. 45–50, 2019.
- ROUX, A. et al. CodY-mediated regulation of the *Staphylococcus aureus* *agr* system integrates nutritional and population density signals. **Journal of Bacteriology**, v. 196, v. 6, p. 1184–1196, 2014.
- SABINI, L. et al. Effect of *Staphylococcus* toxins isolated from dairy cow milk on Vero cell monolayers. **Revista Latinoamericana de Microbiologia**, v. 43, n. 1, p. 13–18, 2001.
- SACCO, S. C. et al. Capacity of two *Staphylococcus aureus* strains with different adaptation genotypes to persist and induce damage in bovine mammary epithelial cells and to activate macrophages. **Microbial Pathogenesis**, v. 142, 2020.
- SALASIA, S. I. O. et al. Genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from bovines, humans, and food in Indonesia. **The Journal of Veterinary Science**, v. 12, n. 4, p. 353–361, 2011.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Principais agentes causadores da mastite. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1. ed. Barueri: Manole, 2007. Cap. 3.
- SATHIYABARATHI, M. et al. Infrared thermography: A potential noninvasive tool to monitor udder health status in dairy cows. **Veterinary World**, v. 9, n. 10, p. 1075–1081, 2016.
- SATO, H. et al. A new type of staphylococcal exfoliative toxin from a *Staphylococcus aureus* strain isolated from a horse with phlegmon. **Infection and Immunity**, v. 62, n. 9, p. 3780–3785, 1994.
- SCALI, F. et al. Which are important targets in development of *S. aureus* mastitis vaccine? **Research in Veterinary Science**, v. 100, p. 88–89, 2015.
- SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 130, p. 199–204, 1957.
- SCHLOTTER, K. et al. Leukocidin genes lukF-P83 and lukM are associated with *Staphylococcus aureus* clonal complexes 151, 479 and 133 isolated from bovine udder infections in Thuringia, Germany. **Veterinary Research**, v. 43, n. 42, 2012.
- SCHMIDT, T. et al. Molecular Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis and close human contacts in South African Dairy Herds: genetic diversity and inter-species host transmission. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 2017.

- SCHUBERTH, H. J. et al. Characterization of leukocytotoxic and superantigen-like factors produced by *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cows with mastitis. **Veterinary Microbiology**, v. 82, n. 2, p. 187-199, 2001.
- SEALS, D. F.; COURTNEIDGE, S. A. The ADAMs family of metalloproteases: multidomain proteins with multiple functions. **Genes & Development**, v. 17, p. 7-30, 2003.
- SHALLCROSS, L. J et al. The role of the Panton-Valentine leucocidin toxin in staphylococcal disease: a systematic review and meta-analysis. **Lancet Infectious Disease**, v. 13, p. 43–54, 2013.
- SHARMA, N.; JEONG, D. K. Stem cell research: a novel boulevard towards improved bovine mastitis management. **International Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 8, p. 818–829, 2013.
- SHEET, O. H. et al. Characterisation of *mecA* gene negative *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis milk from Northern Germany. **Folia Microbiologica**, v. 64, p. 845-855, 2019.
- SHOPSIN, B. et al. Prevalence of *agr* specificity groups among *Staphylococcus aureus* strains colonizing children and their guardians. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 456–459, 2003.
- SHUKLA, S. K. et al. Virulence genes and genotypic associations in nasal carriage, community-associated methicillin-susceptible and methicillin-resistant USA400 *Staphylococcus aureus* isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 10, p. 3582-3592, 2010.
- SILVA, E. R.; CARMO, L. S.; SILVA, N. Detection of the enterotoxins A, B, and C genes in *Staphylococcus aureus* from goat and bovine mastitis in Brazilian dairy herds. **Veterinary Microbiology**, v. 106, n. 1-2, p. 103-107, 2005.
- SILVEIRA-FILHO, V. M. et al. Antibiotic resistance and molecular analysis of *Staphylococcus aureus* isolated from cow's milk and dairy products in northeast Brazil. **Journal of Food Protection**, v. 77, n. 4, p. 583-591, 2014.
- SIMOJOKI, H. et al. Is the biofilm formation and slime producing ability of coagulase-negative Staphylococci associated with the persistence and severity of intramammary infection? **Veterinary Microbiology**, v. 158, n. 3-4, p. 344-352, 2012.
- SIVAKUMAR, R. et al. Genome sequencing and comparative genomic analysis of bovine mastitis-associated *Staphylococcus aureus* strains from India. **BMC genomics**, v. 24, n. 1, p. 44, 2023.
- SMYTH, D. S. et al. Superantigen genes encoded by the *egc* cluster and SaPI_{bov} are predominant among *Staphylococcus aureus* isolates from cows, goats, sheep, rabbits and poultry. **Journal of Medical Microbiology**, v. 54, n. pt 4, p. 401–411, 2005.
- SOMERVILLE, G. A. **Staphylococcus: genetics and physiology**. Norfolk: Caister Academic Press, 2016. 390 p. ISBN 978-1-910190-49-4.
- SOMMERHÄUSER, J. et al. The epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections from subclinical mastitis in dairy cows during a control programme. **Veterinary Microbiology**, v. 96, n. 1, p. 91-102, 2003.
- SPAAN, A. N. et al. *Staphylococcus aureus* targets the duffy antigen receptor for chemokines (DARC) to lyse erythrocytes. **Cell Host & Microbe**, v. 18, n. 3, p. 363-370, 2015.
- SPAAN, A. N. et al. The staphylococcal toxins γ -haemolysin AB and CB differentially target phagocytes by employing specific chemokine receptors. **Nature Communications**, v. 11, n. 5, 2014.
- SPAAN, A. N.; VAN STRIJP, J. A. G.; TORRES, V. J. Leukocidins: Staphylococcal bi-component pore-forming toxins find their receptors. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, p. 435–447, 2017.

- SPAULDING, A. R. et al. Staphylococcal and streptococcal superantigen exotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 3, p. 422–447, 2013.
- SPOOR, L. E. et al. Recombination-mediated remodelling of host-pathogen interactions during *Staphylococcus aureus* niche adaptation. **Microbial Genomics**, v. 1, n. 4, e000036, 2015.
- STAALI, L.; DIDIER A. COLIN. Bi-component HlgC/HlgB and HlgA/HlgB γ -hemolysins from *S. aureus*: Modulation of Ca²⁺ channels activity through a differential mechanism. **Toxicon: official journal of the International Society on Toxinology**, v. 201, p. 74-85, 2021.
- STEPANOVIĆ, S. et al. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. **Journal of Microbiological Methods**, v. 40, n. 2, p. 175-179, 2000.
- SUN, F. et al. In the *Staphylococcus aureus* two-component system *sae*, the response regulator *saeR* binds to a direct repeat sequence and DNA binding requires phosphorylation by the sensor kinase *saeS*. **Journal of Bacteriology**, v. 192, n. 8, p. 2111-2127 2010.
- SUREWAARD, B. G. J et al. Inactivation of staphylococcal phenol soluble modulins by serum lipoprotein particles. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 3, p. e1002606, 2012.
- SUREWAARD, B. G. J. et al. Staphylococcal alpha-phenol soluble modulins contribute to neutrophil lysis after phagocytosis. **Cellular Microbiology**, v. 15, n. 8, p. 1427-1437, 2013.
- SUZUKI, Y. et al. A novel staphylococcal enterotoxin SE02 involved in a staphylococcal food poisoning outbreak that occurred in Tokyo in 2004. **Food Microbiology**, v. 92, 2020.
- TAM, K.; TORRES, V. J. *Staphylococcus aureus* secreted toxins and extracellular enzymes. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 2, 2019.
- TAN, X. et al. Transcriptome analysis of the biofilm formed by methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. **Scientific reports**, v. 5, n. 1, p. 11997, 2015.
- THOENDEL, M.; HORSWILL, A. R. Identification of *Staphylococcus aureus* AgrD residues required for autoinducing peptide biosynthesis. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 284, n. 33, p. 21828–21838, 2009.
- THOMAS, A. et al. Prevalence and distribution of multilocus sequence types of *Staphylococcus aureus* isolated from bulk tank milk and cows with mastitis in Pennsylvania. **PloS one**, v. 16, n. 3, e0248528, 2021.
- THOMAS, D. Y. et al. Staphylococcal enterotoxin-like toxins U2 and V, two new staphylococcal superantigens arising from recombination within the enterotoxin gene cluster. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 8, p. 4724–4734, 2006.
- THOMPSON, T. A.; BROWN, P. D. Association between the *agr* locus and the presence of virulence genes and pathogenesis in *Staphylococcus aureus* using a *Caenorhabditis elegans* model. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 54, p. 72-76, 2017.
- TORMO, M. A. et al. Bap-dependent biofilm formation by pathogenic species of *Staphylococcus*: evidence of horizontal gene transfer? **Microbiology**, v. 151, pt 7, p. 2465-2475, 2005.
- TOZZETTI, D. S. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas – Revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 10, 2008.
- TRILLA, A. One world, one health: the novel coronavirus COVID-19 epidemic. **Medicina Clínica**, v. 154, n. 5, p. 175-177, 2020.
- TUCHSCHERR, L. P. N. et al. Characterization of a new variant of IS257 that has displaced the capsule genes within bovine isolates of *Staphylococcus aureus*. **Infection and Immunity**, v. 75, n. 11, 2007.
- TUFFS, S. W. et al. Manipulation of innate and adaptive immunity by Staphylococcal superantigens. **Pathogens**, v. 7, n. 2, 2018.
- TUFFS, S. W. et al. The *Staphylococcus aureus* superantigen SEIX is a bifunctional toxin that inhibits neutrophil function. **PLoS Pathogens**, v. 13, n. 9, e1006461, 2017.

- VALOTTEAU, C. Single-cell and single-molecule analysis unravels the multifunctionality of the *Staphylococcus aureus* collagen-binding protein Cna. **ACS Nano**, v. 11, n. 2, 2017.
- VAN LOO, I. et al. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of animal origin in humans. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 12, p. 1834–1839, 2007.
- VASUDEVAN, P. et al. Phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *Staphylococcus aureus* for biofilm formation. **Veterinary Microbiology**, v. 92, p. 179–185, 2003.
- VAUGHN, J. M. et al. Genetic diversity and virulence characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from cases of bovine mastitis. **Microbial Pathogenesis**, v. 144, e104171, 2020.
- VENTURA, C. L. et al. Identification of a novel *Staphylococcus aureus* two-component leukotoxin using cell surface proteomics, **Plos One**, v. 5, n. 7, e11634, 2010.
- VON EIFF, C. et al. Prevalence of genes encoding for members of the staphylococcal leukotoxin family among clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 49, n. 3, p. 157-162, 2004.
- VOYICH, J. M. et al. The SaeR/S gene regulatory system is essential for innate immune evasion by *Staphylococcus aureus*. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 199, n. 11, p. 1698–1706, 2009.
- VRIELING, M. et al. Bovine *Staphylococcus aureus* secretes the leukocidin LukMF' to kill migrating neutrophils through CCR1. **mBio**, v. 6, n. 3, e00335, 2015.
- VRIELING, M. et al. LukMF' is the major secreted leukocidin of bovine *Staphylococcus aureus* and is produced in vivo during bovine mastitis. **Scientific Reports**, v. 6, n. 37759, 2016.
- WANG, D. et al. Antimicrobial susceptibility, virulence genes, and randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Staphylococcus aureus* recovered from bovine mastitis in Ningxia, China. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 12, p. 9560-9569, 2016.
- WANG, R. et al. Identification of novel cytolytic peptides as key virulence determinants for community-associated MRSA. **Nature Medicine**, v. 13, p. 1510-1514, 2007.
- WANG, X. et al. Study on the hemolysin phenotype and the genotype distribution of *Staphylococcus aureus* caused bovine mastitis in Shandong dairy farms. **The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v. 9, n. 4, p. 416-421, 2011.
- WILSON, G. J. et al. A novel core genome-encoded superantigen contributes to lethality of community-associated MRSA necrotizing pneumonia. **PLoS Pathogens**, v. 7, n. 10, e1002271, 2011.
- WILSON, G. J. et al. Bovine *Staphylococcus aureus* superantigens stimulate the entire T cell repertoire of cattle. **Infection and Immunity**, v. 86, n. 11, 2018.
- WOODIN, A. M. Purification of the two components of leucocidin from *Staphylococcus aureus*. **Biochemical Journal**, v. 75, n. 1, p. 158–165, 1960.
- WU, S. et al. A Review of the methods for detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxins. **Toxins**, v. 8, n. 7, p. 176, 2016.
- XU, J. et al. The diversities of staphylococcal species, virulence and antibiotic resistance genes in the subclinical mastitis milk from a single Chinese cow herd. **Microbial Pathogenesis**, v. 88, p. 29-38, 2015.
- YAMADA, T. et al. Leukotoxin family genes in *Staphylococcus aureus* isolated from domestic animals and prevalence of lukM–lukF-PV genes by bacteriophages in bovine isolates. **Veterinary microbiology**, v. 110, n. 1-2, p. 97-103, 2005.
- YAMASHITA, D. et al. Molecular basis of transmembrane beta-barrel formation of staphylococcal pore-forming toxins. **Nature Communications**, v. 5, n. 4897, 2014.
- YAMASHITA, K. et al. Crystal structure of the octameric pore of staphylococcal γ -hemolysin reveals the β -barrel pore formation mechanism by two components. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 42, p. 17314-17319, 2011.

- YANG, J. et al. Baicalin attenuates Panton–Valentine Leukocidin (PVL)-induced cytoskeleton rearrangement via regulating the RhoA/ROCK/LIMK and PI3K/AKT/GSK-3 β pathways in bovine mammary epithelial cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 19, p. 14520, 2023.
- YANG, X. et al. Accessory gene regulator (*agr*) dysfunction was unusual in *Staphylococcus aureus* isolated from Chinese children. **BMC Microbiology**, v. 19, n. 95, 2019.
- YOONG, P.; TORRES, V. J. The effects of *Staphylococcus aureus* leukotoxins on the host: cell lysis and beyond. **Current Opinion in Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 63–69, 2013.
- ZAATOUT, N. et al. *Staphylococcus aureus* persistence properties associated with bovine mastitis and alternative therapeutic modalities. **Journal of Applied Microbiology**, v. 129, p. 1102-1119, 2020.
- ZHANG, L. et al. Virulence gene profiles: alpha-hemolysin and clonal diversity in *Staphylococcus aureus* isolates from bovine clinical mastitis in China. **BMC Veterinary Research**, v. 14, p. 1-12, 2018.
- ZHAO, Y. et al. Staphylococcal enterotoxin M induced inflammation and impairment of bovine mammary epithelial cells. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 9, p. 8350-8359, 2020.
- ZHU, Z. et al. Molecular characteristics and pathogenicity of *Staphylococcus aureus* exotoxins. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 1, 2023.
- ZMANTAR, T. et al. Detection by PCR of adhesins genes and slime production in clinical *Staphylococcus aureus*. **Journal of Basic Microbiology**, v. 48, n. 4, p. 308-314, 2008.
- ZUNIGA, E. et al. Occurrence of genes coding for MSCRAMM and biofilm-associated protein Bap in *Staphylococcus spp.* isolated from bovine subclinical mastitis and relationship with somatic cell counts. **Microbial Pathogenesis**, v. 89, p. 1-6, 2015.