

Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print

ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet11218

<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 639.09:618.19-002]:636.2.034.082.32

Characteristics of bacterial contamination of the mammary gland secretion of lactating cows with subclinical mastitis

A. M. Pasternak¹, V. I. Koshevoy^{1✉}, S. V. Naumenko¹, M. L. Radzykhovskiy², P. M. Skliarov³

¹State Biotechnological University, Kharkiv, Ukraine

²National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

³Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Article info

Received 11.09.2023

Received in revised form

11.10.2023

Accepted 12.10.2023

State Biotechnological University,
Kharkiv, Alchevskyykh Str., 44,
61002, Ukraine.
Tel.: +38-063-075-75-40
E-mail:
vsevolod_koshevoy@yahoo.com

National University of Life
and Environmental Sciences of
Ukraine, Heroiv Oborony Str., 15,
Kyiv, 03041, Ukraine.

Dnipro State Agrarian and
Economic University,
Sergiy Efremov Str., 25,
Dnipro, 49600, Ukraine.

Pasternak, A. M., Koshevoy, V. I., Naumenko, S. V., Radzykhovskiy, M. L., & Skliarov, P. M. (2023). Characteristics of bacterial contamination of the mammary gland secretion of lactating cows with subclinical mastitis. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 25(112), 113–117. doi: 10.32718/nvlvet11218

Subclinical mastitis (SCM) in lactating cows is a common disease characterized by a change in the composition of mammary gland secretion, especially due to an increase in number of somatic cells in it over a long period of time. Etiologically, this disease arises as a result of the pathogenic effect of mixed infections caused mainly by bacteria of *Staphylococcus* and *Streptococcus* genera. It should be noted that due to high prevalence, reduction of milk yield and changes in the physical and chemical properties of milk of cows, SCM is a more important problem than clinical forms of mastitis. Thus, the aim of the work was to determine the main causative agents of SCM in lactating cows and their resistance to antibiotics in order to justify the feasibility of using alternative means in the schemes of therapy and prevention of this disease. During the bacteriological examination of mammary gland secretion, streptococci were differentiated by morphological and cultural-biochemical properties, and the pathogenicity of staphylococci was determined by the ability to coagulate rabbit blood plasma in the conditions of the testing laboratory of Smartbiolab LLC (Kharkov) in 2019–2021. Subclinical mastitis in lactating cows was determined using a sample with 5 % dimastine and a thermographic study. Before taking milk samples, the udders were wiped with 70 % alcohol, and the milk was expressed in sterile tubes. The samples were transported in plastic boxes with cooling elements (at a temperature of 8–10 °C) and were examined no later than 4 hours after the moment of selection. The results of research in selected samples *Streptococcus* spp., which has β -hemolytic properties, was found in 42.9 % of samples, *E. coli* with hemolytic properties in 28.6 %, and *Staphylococcus haemolyticus* and *Staphylococcus aureus* in 14.2 % each. The detected pathogens were characterized by the following indicators of antibiotic resistance: *E. coli* isolates were insensitive to 8 antibiotics (ampicillin, penicillin, streptomycin, neomycin, spectinomycin, spiramycin, lincomycin, chloramphenicol), and *Streptococcus* spp. (penicillin, amoxicillin, amoxicillin + clavulonic acid, streptomycin, norfloxacin, gatifloxacin, lincomycin) and *Staphylococcus aureus* (ampicillin, penicillin, amoxicillin, streptomycin, oxytetracycline, ceftiofur and lincomycin) up to 7, respectively.

Key words: cows, subclinical mastitis, lactation period, alternative means of therapy, streptococci, staphylococci, escherichia, antibiotic resistance.

Особливості бактеріальної контамінації секрету молочної залози корів лактаційного періоду за субклінічного маститу

A. M. Пастернак¹, В. І. Кошевой^{1✉}, С. В. Науменко¹, М. Л. Радзиховський², П. М. Склярів³

¹Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна

²Національний університет біоресурсів і природокористування, м. Київ, Україна

³Дніпровський державний аграрно-економічний університет, м. Дніпро, Україна

Субклінічний мастит (СКМ) у корів лактаційного періоду є поширеним захворюванням, що характеризується зміною складу секрету молочної залози, особливо за рахунок підвищення у ньому кількості соматичних клітин протягом тривалого періоду. Етіологічно дана хвороба виникає внаслідок хвороботворної дії змішаних інфекцій, викликаних переважно бактеріями родів *Staphylococcus* і *Streptococcus*. Зазначимо, що через велику поширеність, зниження надоїв і зміни фізико-хімічних властивостей молока корів СКМ є більш важливою проблемою, ніж клінічні форми маститу. Таким чином, метою роботи було визначення основних збудників СКМ у корів лактаційного періоду та їх стійкості до антибіотичних засобів для обґрунтування доцільності застосування альтернативних засобів у схемах терапії і профілактики даного захворювання. За бактеріологічного дослідження секрету молочної залози проводили диференціацію стрептококів за морфологічними та культурально-біохімічними властивостями, визначали патогенність стафілококів за здатністю коагулювати плазму крові кролика в умовах випробувальної лабораторії ТОВ “Смартбіолаб” (м. Харків) у 2019–2021 рр. Субклінічний мастит у корів лактаційного періоду визначали за допомогою проби з 5 % димастином та термографічним дослідженням. Перед відбором проб молока дійки протирали 70 % спиртом, а молоко зціджували у стерильні пробірки. Проби транспортували в пластикових боксах з охолоджуючими елементами (за температури 8–10 °C) та досліджували не пізніше ніж через 4 години з моменту відбору. Результатами досліджень у відібраних зразках було виявлено у 42,9 % проб *Streptococcus spp.*, що володіє β -гемолітичними властивостями, у 28,6 % – *E. coli*, що володіє гемолітичними властивостями, і по 14,2 % – *Staphylococcus haemolyticus* та *Staphylococcus aureus*. Виявлені збудники характеризувалися такими показниками стійкості до антибіотичних засобів: ізоляти *E. coli* були нечутливими до 8 антибіотиків (ампіцилін, пеніцилін, стрептоміцин, неоміцин, спектиноміцин, спіраміцин, лінкомицин, левоміцетин (хлорамфенікол), а *Streptococcus spp.* (пеніцилін, амоксицилін, амоксицилін + клавулонова кислота, стрептоміцин, норфлораксацин, гатифлораксацин, лінкомицин) та *Staphylococcus aureus* (ампіцилін, пеніцилін, амоксицилін, стрептоміцин, окситетрациклін, цефтіофур та лінкомицин) до 7 відповідно.

Ключові слова: корови, субклінічний мастит, лактаційний період, альтернативні засоби терапії, стрептококи, стафілококи, ешерихії, антибіотикорезистентність.

Вступ

Концепція “Єдине здоров’я” сприяє інтегрованій оцінці здоров’я людини, тварин і навколишнього середовища з метою прискорення прогресу на благо всіх видів, таким чином мастит як поширене захворювання з наслідками для добробуту є ідеальним об’єктом для підходу One Health (Hughes & Watson, 2018; Pace et al., 2022). Враховуючи це, особливого значення набуває субклінічний мастит (СКМ), що характеризується зміною складу молока та високою кількістю соматичних клітин протягом тривалого періоду, часто спричинений бактеріальною інфекцією (Kirsanova et al., 2019; Chen et al., 2022). Скринінг у польових умовах виявив поширеність СКМ у 55 % досліджених корів, що був наслідком змішаних інфекцій, викликаних переважно *Staphylococcus sp.* і *Streptococcus sp.* (Sharma et al., 2023). Стурбованість дослідників викликає нещодавно висунута гіпотеза, що імуносупресія внаслідок захворювання або носійства вірусу лейкозу великої рогатої худоби також сприяє СКМ (Nakada et al., 2023).

Субклінічна форма захворювання через велику поширеність, зниження надоїв і зміни фізико-хімічних властивостей молока є більш важливою, ніж клінічні форми маститу (Rahman et al., 2016). Є суперечливі дані щодо взаємозв’язку СКМ з розвитком неплідності у корів лактаційного періоду (Dahl et al., 2017). За даними Ranasinghe et al. (2021), за СКМ у корів зменшується ефективність штучного осіменіння, а тривалість днів періоду від отелення до наступного осіменіння була довшою порівняно і даними контролю (79 і 64 дні відповідно). Натомість Villa-Arcila et al. (2017) показано, що СКМ, діагностований у перший місяць після отелення, не впливав на тривалість періоду до наступного осіменіння. Також доведено, що вплив СКМ на можливе виникнення неплідності є вищим у корів старшого віку (Dahl et al., 2020).

Стада, які доїли за допомогою автоматичної системи доїння, мали в середньому на 6,9 % вищу захворюваність на СКМ, а зразки секрету молочної залози, що були відібрані для бактеріологічного дослідження,

також показали динаміку зростання захворюваності на мастит корів-первісток із великою варіацією захворюваності на різних фермах (Santman-Berends et al., 2012). Високопродуктивні корови внаслідок інтенсивного обміну речовин є більш схильними до захворювання на мастит. Так, у 3,1 % корів виявлено клінічний мастит у перші 60 днів після отелення, при цьому ймовірність клінічного маститу була більшою для корів, які виробляли >15 л/день під час останнього стадного тесту попередньої лактації, ніж для корів, які виробляли <10 л/день (McDougall et al., 2022). Таким чином, актуальним науковим завданням є виявлення маститу на субклінічній стадії та його своєчасне лікування.

Основними етіологічними чинниками маститу у корів є різні представники бактеріального походження, а успішна боротьба з мікробним фактором неможлива без урахування їх біологічних властивостей та підбору лікувальних препаратів, що мають високу антимікробну активність.

Мета дослідження

Тому метою наших досліджень було визначення основних збудників субклінічного маститу у корів лактаційного періоду та їхньої стійкості до антибіотичних засобів для обґрунтування доцільності застосування альтернативних засобів у схемах терапії і профілактики даного захворювання.

Матеріал і методи дослідження

Для досягнення поставленої мети провели бактеріологічне дослідження секрету молочної залози хворих на субклінічний мастит корів ТОВ СВК “Восток” в умовах випробувальної лабораторії ТОВ “Смартбіолаб” (м. Харків) у 2019–2021 рр.

Субклінічний мастит у корів лактаційного періоду визначали за допомогою проби з 5 % димастином та термографічним дослідженням (Pasternak et al., 2017). Її проводили на молочно-контрольних пластинках. При цьому вранці перед черговим доїнням після ста-

ранного обмивання, обтирання дійок і видалення з них перших порцій молока з кожної частки вимені здювали по 50–100 мл молока у стерильні склянки, закупорювали і відправляли у лабораторію. Перед відбором проб молока дійки протирали 70 % спиртом, а молоко здіджували у стерильні пробірки. Проби транспортували в пластикових боксах з охолоджуючими елементами (за температури 8–10 °С) та досліджували не пізніше ніж через 4 години з моменту відбору.

Мікрофлору досліджуваних проб молока перевіряли на чутливість до антибіотиків за допомогою диск-дифузійного методу на середовищі Мюллера–Хінтона. Для виявлення чутливості мікроорганізмів використовували антибіотики різних поколінь пеніцилінового ряду (Ампіцилін, Пеніцилін, Амоксицилін, Амоксицилін + клавулонова кислота, Клоксацилін), аміноглікозиди (Гентаміцин, Стрептоміцин, Канаміцин, Неоміцин, Спектиноміцин), макролід (Тілозин, Азитроміцин, Спіраміцин), тетрацикліни (Доксацикліну гідрохлорид та Окситетрациклін), похідні хінолону (Енрафлораксацин, Офлораксацин, Норфлораксацин, Гатифлораксацин, Ципрофлораксацин, Марбофлораксацин) та різних груп (Цефтіюфури, Лінкоміцин, Левоміцетин (Хлорамфенікол), Поліміксин, Ко-Тримаксазол, Енрафлораксацин + Сульфаметоксазол, Енрафлораксацин + Ципрофлораксацин).

Наші дослідження включали вивчення: цукролітичних та гемолітичних властивостей, утворення ферментів декарбоксилаз, оксидаз, каталази, плазмокоагулази, перетворення нітратів у нітрити тощо. Проводили пересіви на елективні середовища, такі як сольовий агар, агар Ендо, кров'яний агар, строкатий ряд Гісса. За допомогою специфічних сироваток проводили підтвердження ідентифікації мікроорганізмів (Radzikhovskiy et al., 2023).

Результати та їх обговорення

Відомо, що сучасні вимоги до терапії хвороб бактеріального генезу потребують постійного підвищення рівня безпечності для зменшення загрози антибіотикорезистентності особливо небезпечних бактеріальних агентів і уникнення поширення умовнопатогенної мікрофлори (Sachuk et al., 2019). Результати бактеріологічних досліджень молока наведено на [рисунку 1](#).

Як свідчать одержані дані, у 42,9 % проб було виявлено *Streptococcus* spp., що володіє β-гемолітичними властивостями, у 28,6 % – *E. coli*, що володіє гемолітичними властивостями і по 14,2 % – *Staphylococcus haemolyticus* та *Staphylococcus aureus*. Отримані дані узгоджуються з результатами [Heikkilä et al. \(2018\)](#), що визначили участь двох основних збудників СКМ – *Staphylococcus aureus* та незолотисті стафілококки. Цими ж авторами було оцінено ступінь втрати молочної продуктивності, викликаної *Staphylococcus aureus* – діагностований до піку лактації СКМ викликав зменшення молочної продуктивності на 7,1 % (2,3 кг/добу), тимчасом як діагностований

між 54 і 120 днями лише 4,3 % (1,4 кг/день). Крім виявлених нами збудників, є дані про участь в етіології СКМ у корів лактаційного періоду *Streptococcus uberis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus* species, *Corynebacterium* species, *Enterobacter* species, *Micrococcus* species, *Pseudomonas* species тощо (Villa-Arcila et al., 2017; Girma & Tamir, 2022).

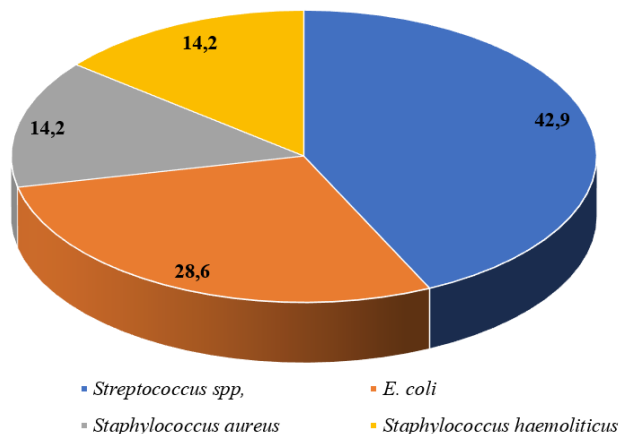


Рис. 1. Поширеність виділених збудників субклінічного маститу у корів лактаційного періоду, %

Крім цього, визначили чутливість мікрофлори до антибактеріальних препаратів ([табл. 1](#)).

Staphylococcus aureus є поширеним патогеном, що часто викликає стійкі інтрамаммарні інфекції у молочних корів і володіє вираженою резистентністю до антимікробних препаратів, в тому числі за рахунок можливого біоплівкоутворення (Veh et al., 2015). Проведеними нами дослідженнями показано, що виділена мікрофлора переважно виявляла невисоку чутливість до антибактеріальних препаратів. Так, ізоляти *Staphylococcus haemolyticus* були нечутливими – 48,3 % або мали помірну чутливість до антибіотика – 44,8 %.

Ізоляти *E. coli* були нечутливими до 8 антибіотиків (ампіцилін, пеніцилін, стрептоміцин, неоміцин, спектиноміцин, спіраміцин, лінкоміцин, левоміцетин (хлорамфенікол), а *Streptococcus* spp. (пеніцилін, амоксицилін, амоксицилін + клавулонова кислота, стрептоміцин, норфлораксацин, гатифлораксацин, лінкоміцин) та *Staphylococcus aureus* (ампіцилін, пеніцилін, амоксицилін, стрептоміцин, окситетрациклін, цефтіюфури та лінкоміцин) до 7.

Для ефективного контролю субклінічного маститу у стадах молочних корів необхідні рання діагностика та належне лікування, а також впровадження відповідних заходів профілактики (Girma & Tamir, 2022). [Rahman et al. \(2016\)](#) стверджують, що найбільш ефективними у терапії СКМ в овець є хлорамфенікол, ципрофлораксацин і неоміцин. Збудники, виділені нами з секрету молочної залози корів, хворих на СКМ були нечутливими до даних антибіотичних засобів, що обумовлює застосування альтернативних препаратів.

Таблиця 1
Чутливість мікрофлори до антибактеріальних препаратів

Антибіотики (вказані назви діючих речовин)	Чутливість ізолятів			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus haemoliticus</i>
Пеніциліни	Ампіцилін	–	+	–
	Пеніцилін	–	–	–
	Амоксицилін	–	–	+
	Амоксицилін + клавулонова кислота	+	–	+
	Клоксацилін	+	+	+
Аміноглікозиди	Гентаміцин	+	+	+
	Стрептоміцин	–	–	–
	Канаміцин	+	+	+
	Неоміцин	+	+	–
	Спектиноміцин	+	+	–
Макроліди	Тілозин	+	+	+
	Азитроміцин	+	+	+
	Спіраміцин	+	+	–
Тетрацикліни	Доксацикліну гідрохлорид	+	+	+
	Окситетрациклін	–	+	+
Похідні хінолону	Енрафлораксацин	+	+	+
	Офлораксацин	+	+	+
	Норфлораксацин	+	–	+
	Гатифлораксацин	+	–	+
	Ципрофлораксацин	+	+	+
	Марбофлораксацин	+	+	+
Різні групи	Цефтіофур	–	+	+
	Лінкоміцин	–	–	–
	Левоміцетин (Хлорамфенікол)	+	+	–
	Поліміксин	+	+	+
	Ко-Тримаксазол	+	+	+
	Енрафлораксацин + Сульфаметоксазол	+	+	+
	Енрафлораксацин + Ципрофлораксацин	+	+	+

Примітка: “+” – ізолят чутливий до антибіотика; “±” – ізолят помірно чутливий до антибіотика; “–” – ізолят нечутливий до антибіотика

Отже, можливість використання озонвмісних препаратів як альтернативи антибактеріальним засобам підтверджено виділеними збудниками з секрету молочної залози корів лактаційного періоду за субклінічного маститу (*Streptococcus spp.*, *Staphylococcus haemoliticus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*), адже озон і препарати на його основі володіють антимікробними властивостями щодо вищенаведених збудників. Крім того, використання ефективних і безпечних засобів лікування корів за субклінічного маститу призводить до зменшення економічних витрат внаслідок зниження репродуктивної здатності, обумовленої розвитком СКМ, адже він знижує фертильність лактуючих корів – подібно до клінічного маститу (Schrick et al., 2001; Sinha et al., 2014; Sachuk et al., 2020).

Висновки

Досліджені проби секрету молочної залози корів за субклінічного маститу характеризувалися такими показниками бактеріальної контамінації:

1. *Streptococcus spp.*, що володіє β-гемолітичними властивостями, було виявлено у 42,9 % проб, крім того, було ідентифіковано *E. coli*, що володіє гемолітичними властивостями (28,6 %), *Staphylococcus*

haemoliticus (14,2 %) та *Staphylococcus aureus* (14,2 %).

2. Виділені ізоляти володіли низькою чутливістю до антимікробних засобів – нечутливими були 48,3 % *Staphylococcus haemoliticus*, тимчасом як *Streptococcus spp.* та *Staphylococcus aureus* були резистентними до 7, а *E. coli* – до 8 антибіотиків.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Bates, A. J., King, C., Dhar, M., Fitzpatrick, C., & Laven, R. A. (2022). Retention of internal teat sealants over the dry period and their efficacy in reducing clinical and subclinical mastitis at calving. *Journal of dairy science*, 105(6), 5449–5461. DOI: 10.3168/jds.2021-21585.
- Chen, X., Chen, Y., Zhang, W., Chen, S., Wen, X., Ran, X., Wang, H., Zhao, J., Qi, Y., & Xue, N. (2022). Prevalence of subclinical mastitis among dairy cattle and associated risks factors in China during 2012–2021: A systematic review and meta-analysis. *Research in veterinary science*, 148, 65–73. DOI: 10.1016/j.rvsc.2022.04.007.

- Dahl, M. O., De Vries, A., Galvão, K. N., Maunsell, F. P., Risco, C. A., & Hernandez, J. A. (2020). Combined effect of mastitis and parity on pregnancy loss in lactating Holstein cows. *Theriogenology*, 143, 57–63. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2019.12.002.
- Dahl, M. O., Maunsell, F. P., De Vries, A., Galvao, K. N., Risco, C. A., & Hernandez, J. A. (2017). Evidence that mastitis can cause pregnancy loss in dairy cows: A systematic review of observational studies. *Journal of dairy science*, 100(10), 8322–8329. DOI: 10.3168/jds.2017-12711.
- Girma, A., & Tamir, D. (2022). Prevalence of Bovine Mastitis and Its Associated Risk Factors among Dairy Cows in Ethiopia during 2005-2022: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Veterinary medicine international*, 2022, 7775197. DOI: 10.1155/2022/7775197.
- Heikkilä, A. M., Liski, E., Pyörälä, S., & Taponen, S. (2018). Pathogen-specific production losses in bovine mastitis. *Journal of dairy science*, 101(10), 9493–9504. DOI: 10.3168/jds.2018-14824.
- Hughes, K., & Watson, C. J. (2018). The Mammary Microenvironment in Mastitis in Humans, Dairy Ruminants, Rabbits and Rodents: A One Health Focus. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 23(1-2), 27–41. DOI: 10.1007/s10911-018-9395-1.
- Kirsanova, E., Heringstad, B., Lewandowska-Sabat, A., & Olsaker, I. (2019). Alternative subclinical mastitis traits for genetic evaluation in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 102(6), 5323–5329. DOI: 10.3168/jds.2018-16104.
- McDougall, S., Williamson, J., Gohary, K., & Lacy-Hulbert, J. (2022). Risk factors for clinical or subclinical mastitis following infusion of internal teat sealant alone at the end of lactation in cows with low somatic cell counts. *New Zealand veterinary journal*, 70(2), 79–87. DOI: 10.1080/00480169.2021.1977200.
- Nakada, S., Fujimoto, Y., Kohara, J., & Makita, K. (2023). Economic losses associated with mastitis due to bovine leukemia virus infection. *Journal of dairy science*, 106(1), 576–588. DOI: 10.3168/jds.2021-21722.
- Pace, R. M., Pace, C. D. W., Fehrenkamp, B. D., Price, W. J., Lewis, M., Williams, J. E., McGuire, M. A., & McGuire, M. K. (2022). Sodium and Potassium Concentrations and Somatic Cell Count of Human Milk Produced in the First Six Weeks Postpartum and Their Suitability as Biomarkers of Clinical and Subclinical Mastitis. *Nutrients*, 14(22), 4708. DOI: 10.3390/nu14224708.
- Pasternak, A., Skliarov, P., & Zhigalova, O. (2017). Thermographic diagnosis of mastitis and its control at the microscopic level. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, 19(82), 159–165. URL: <https://nvlvet.com.ua/index.php/journal/article/view/1357>.
- Radzikhovskiy, N., Dyshkant, O., Vygovska, L., Kulishenko, O., & Davydenko, P. (2023). Traditional methods of diagnosing infectious mastitis in cattle. *Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology*, 24(1), 157–162. DOI: 10.36359/scivp.2023-24-1.21.
- Rahman, B., Ownagh, A., Mardani, K., & Farrokhi Ardebili, F. (2016). Prevalence and molecular characterization of staphylococci isolated from sheep with subclinical mastitis in West-Azerbaijan province, Iran. *Veterinary research forum: an international quarterly journal*, 7(2), 155–162. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4959344>.
- Ranasinghe, R. M. S. B. K., Deshapriya, R. M. C., Abeygunawardana, D. I., Rahularaj, R., & Dematawewa, C. M. B. (2021). Subclinical mastitis in dairy cows in major milk-producing areas of Sri Lanka: Prevalence, associated risk factors, and effects on reproduction. *Journal of dairy science*, 104(12), 12900–12911. DOI: 10.3168/jds.2021-20223.
- Sachuk, R. M., Stravsky, Y. S., Shevchenko, A. M., Katsaraba, O. A., Kostyshyn, Y. Y., & Zhyhalyuk, S. V. (2019). Distribution, etiology and prevention of subclinical mastitis in cows. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 2(2), 18–21. DOI: 10.32718/ujvas2-2.04.
- Sachuk, R. M., Stravsky, Ya. S., Shevchenko, A. M., Katsaraba, O. A., & Zhigalyuk S. V. (2020). Efficacy of udder hygiene products of ‘Forticept’ line in the prevention of Subclinical mastitis in cows. *Journal for Veterinary Medicine, Biotechnology and Biosafety*, 6(1), 5–10. DOI: 10.36016/JVMBBS-2020-6-1-1.
- Santman-Berends, I. M., Olde Riekerink, R. G., Sampimon, O. C., van Schaik, G., & Lam, T. J. (2012). Incidence of subclinical mastitis in Dutch dairy heifers in the first 100 days in lactation and associated risk factors. *Journal of dairy science*, 95(5), 2476–2484. DOI: 10.3168/jds.2011-4766.
- Schrick, F. N., Hockett, M. E., Saxton, A. M., Lewis, M. J., Dowlan, H. H., & Oliver, S. P. (2001). Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *Journal of dairy science*, 84(6), 1407–1412. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(01)70172-5.
- Sharma, D., Kaniamuthan, S., Manimaran, A., Kumaresan, A., Sivaram, M., Rajendran, D., Wankhade, P. R., Sejian, V., & Banu, S. (2023). Seasonal, physiological and bacteriological risk factors for subclinical mastitis in dairy cows maintained under different farming conditions. *The Journal of dairy research*, 90(2), 164–172. DOI: 10.1017/S0022029923000389.
- Sinha, M. K., Thombare, N. N., & Mondal, B. (2014). Subclinical mastitis in dairy animals: incidence, economics, and predisposing factors. *The Scientific World Journal*, 2014, 523984. DOI: 10.1155/2014/523984.
- Veh, K. A., Klein, R. C., Ster, C., Keefe, G., Lacasse, P., Scholl, D., Roy, J. P., Haine, D., Dufour, S., Talbot, B. G., Ribon, A. O., & Malouin, F. (2015). Genotypic and phenotypic characterization of *Staphylococcus aureus* causing persistent and nonpersistent subclinical bovine intramammary infections during lactation or the dry period. *Journal of dairy science*, 98(1), 155–168. DOI: 10.3168/jds.2014-8044.
- Villa-Arcila, N. A., Sanchez, J., Ratto, M. H., Rodriguez-Lecompte, J. C., Duque-Madrid, P. C., Sanchez-Arias, S., & Ceballos-Marquez, A. (2017). The association between subclinical mastitis around calving and reproductive performance in grazing dairy cows. *Animal reproduction science*, 185, 109–117. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2017.08.010.