



PAMEL L. RUEGG

Doctora en Medicina Veterinaria, Universidad Estatal de Michigan.

Magíster en Medicina Veterinaria Preventiva, Universidad de California.

Profesora y presidente del Departamento de Ciencia Animal, Universidad Estatal de Michigan.

Estados Unidos

TRADUCCIÓN

Alexis Rodríguez Roldán

Médico Veterinario y Especialista en Producción Animal

Promotor Mejoramiento y Calidad de Leche Colanta

NUEVAS ESTRATEGIAS PARA CONTROLAR LA MASTITIS

Resumen

La adopción generalizada de prácticas de ordeño estandarizadas, el uso integral de la terapia con antibióticos para el secado de las vacas y la identificación y descarte de las vacas con infección crónica han resultado en la erradicación casi total de la mastitis causada por *Streptococcus agalactiae* y el control exitoso de *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, en los últimos años, el tamaño de las granjas lecheras ha aumentado y las prácticas de manejo se han intensificado, lo que resulta en una mayor densidad de animales y una mayor exposición a los patógenos de la mastitis ambiental. Como se ha controlado la mastitis contagiosa, los recuentos de células somáticas en los tanques de almacenamiento de leche en finca han disminuido, pero, a medida que el tratamiento se intensificó, la tasa de mastitis clínica aumentó debido a una mayor exposición a patógenos ambientales. El control de la mastitis ambiental se basa en mejorar la higiene para reducir la exposición y la identificación de las vacas que tienen un mayor riesgo de infección. La mastitis se detecta con base en la observación de la inflamación que ocurre después de la infección intramamaria, los signos clínicos que se observan son inespecíficos y no pueden utilizarse para identificar el tipo de bacteria que ha causado la infección. Para identificar la causa de la mastitis se deben tomar y cultivar muestras de leche de las vacas afectadas. La identificación del agente que causa la infección intramamaria es esencial para garantizar la adopción de estrategias preventivas apropiadas y que los antibióticos se usen de manera responsable. Se han descrito los principios del uso responsable de antibióticos y solo del 30 al 50% de las vacas afectadas con mastitis clínica se beneficiaría de la terapia con antibióticos.

A medida que evolucionan las prácticas de manejo en fincas, la exposición a los patógenos de la mastitis también cambia y es importante adaptar las prácticas de control de la mastitis para satisfacer las necesidades actuales.

Palabras claves: mastitis, factores de riesgo, antibióticos

Abstract

Widespread adoption of standardized milking practices, comprehensive use of antibiotic dry cow therapy and identification and culling of chronically infected cows have resulted in near eradication of mastitis caused by *Streptococcus agalactiae* and successful control of *Staphylococcus aureus*. However in recent years, dairy farm size has increased and management practices have intensified, resulting in greater animal densities and increased exposure to environmental mastitis pathogens. As contagious mastitis has been controlled, bulk tank somatic cell counts have dropped, but as management has intensified, the rate of clinical mastitis has increased due to increased exposure to environmental pathogens. Control of environmental mastitis is based on improving hygiene to reduce exposure and identification of cows who are at increased risk of infection. Mastitis is detected based on observation of inflammation that occurs subsequent to intramammary infection, the clinical signs that are observed are non-specific and cannot be used to identify the type of bacteria that has caused the infection. To identify the cause of mastitis, milk samples from affected cows must be cultured. Identification of the agent causing intramammary infection is essential to ensure that appropriate preventive strategies are adopted and that antibiotics are used responsibly. Principles of responsible antibiotic usage have been described and only 30-50% of cows affected with clinical mastitis will benefit from antibiotic therapy. As farm practices evolve, exposure to mastitis pathogens also changes and it is important to adapt mastitis control practices to meet current needs.

Keywords: Mastitis, Risk Factors, Antibiotics.

Introducción

La reducción de la mastitis siempre ha sido una prioridad importante de los productores lecheros y el manejo de la salud de la ubre se ha visto influenciado por la evolución continua de la estructura del hato lechero. De acuerdo con el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), en este país más del 60% de la leche se produce en fincas que tienen más de 500 vacas en ordeño y los rápidos cambios en la estructura del hato han sido acompañados por cambios en cómo se presenta la mastitis. Como los hatos se han vuelto más jóvenes y la estabulación y el manejo se han intensificado, la distribución de las bacterias que causan la mastitis ha cambiado. Las fincas más grandes tienen una mayor adopción de prácticas de manejo modernas que reducen la transmisión de infecciones subclínicas (Rodrigues *et al.*, 2005, Rowbotham y Ruegg, 2015). Estas mejoras han contribuido al control de *Staphylococcus aureus* (*Staph. Aureus*), acercan a la erradicación de *Streptococcus agalactiae* (*Strep. Agalactiae*) y han dado lugar a grandes disminuciones en los Recuentos de Células Somáticas del tanque de leche en finca (Figura 1).

Si bien estos cambios han dado como resultado una reducción del RCS (Recuento de Somáticas) en tanques en finca, la mastitis sigue siendo un desafío importante para muchas fincas lecheras y las pérdidas asociadas a la mastitis pueden tener un impacto considerable en la rentabilidad de la finca. La disminución de la producción de leche en las glándulas mamarias afectadas es la principal pérdida económica asociada con la mastitis, pero las pérdidas también incluyen leche descartada, menor valor de la leche para industrialización, aumento de animales de descarte para sacrificio (Caraviello *et al.*, 2005), aumento del trabajo, disminución de la

eficiencia reproductiva y acceso reducido a mercados de exportación que requieren leche con bajo RCS. Algunos autores han estimado que la disminución de la producción de leche representa el 66% del total de pérdidas, mientras que el 34% restante está representado en los otros factores. Los hatos con un recuento de células somáticas en tanque mayor de 150,000 células/ml se asocian con una menor productividad por vaca, vida útil más corta de leche fluida y disminución en el rendimiento de productos como el queso (Ma *et al.*, 2000, Ott & Novak, 2001).

Las pérdidas en la producción pueden medirse también en la leche de tanques de acopio: por cada incremento de 100.000 células somáticas por encima de 200.000, se pierde aproximadamente el 2% de la producción de leche (Keefe, 2010). Se estima que el rendimiento individual de la leche de vaca disminuye de 0.5 a 0.6 kg/día duplicándose en leches con RCS por encima de 50,000 células/ml (Wiggans & Shook, 1987). Sin embargo, se ha reportado que la magnitud de la disminución de la leche en relación con el aumento de RCS es mayor al final de la lactancia y en las vacas más viejas, así como también las vacas con RCS mayores de 800,000 células/ml puede perder entre 2,0 y 2,5 kg de leche por día en comparación con un RCS de 50,000 células/ml. Las vacas con RCS que crónicamente aumentan a causa de Infecciones Intramamarias (IIM) a menudo son sacrificadas prematuramente como consecuencia de la disminución de la producción de leche. El costo del descarte para sacrificio prematuro depende del valor recibido por la vaca, los precios de mercado de las vacas y las novillas de reemplazo y el valor potencial de la novilla de reemplazo. Las vacas con RCS promedio mayor a 700,000/ml tuvieron el doble de probabilidades de ser descartadas para sacrificio que las vacas con RCS inferior a 250,000/ml, especialmente en hatos con RCST (Recuento de Células Somáticas en Tanque) bajo.

Las vacas que no se descartan pueden separarse o requerir el uso de procedimientos de ordeño que aumentan los costos de mano de obra. Por ejemplo, las vacas con IIM crónica causadas por *Staphylococcus aureus* o *Mycoplasma* pueden necesitar ser aisladas del hato y ordeñadas de últimas. La incidencia de mastitis clínica promedia entre el 15 y el 25% de las lactancias, aunque algunos hatos pueden tener tasas más altas, hasta de un 45% (Ruegg, 2017). Las estimaciones de producción de leche perdida a partir de un caso de mastitis clínica durante un período completo de lactancia varían de 110 a 552 kg, dependiendo del número de parto y la etapa de lactancia cuando se produjo el caso.

La mastitis clínica también ocasiona pérdidas económicas adicionales más allá de la producción de leche. El aumento del número de animales y los cambios en los tipos de explotación y alojamiento de las vacas lecheras (Ericsson Unnerstad *et al.*, 2009) han aumentado la exposición potencial a bacterias ambientales que a menudo causan mastitis clínica leve (en lugar de enfermedad subclínica crónica), estudios a nivel nacional en los Estados Unidos indican que la tasa de mastitis clínica presenta un aumento constante (Figura 1). Mientras que algunos hatos aun luchan contra la mastitis causada por *Staph aureus*, la mayoría de las mastitis clínicas son causadas por bacterias que provienen de las camas (en estabulaciones) u otras fuentes ambientales (Oliveira *et al.*, 2013). Para continuar progresando en la reducción de la mastitis, se debe comprender cómo los cambios en el manejo de los animales han afectado la exposición a los patógenos de la mastitis. El propósito de este documento es proporcionar una actualización sobre los conceptos actuales de prevención y manejo de la mastitis bovina a medida que el manejo del hato ha cambiado.

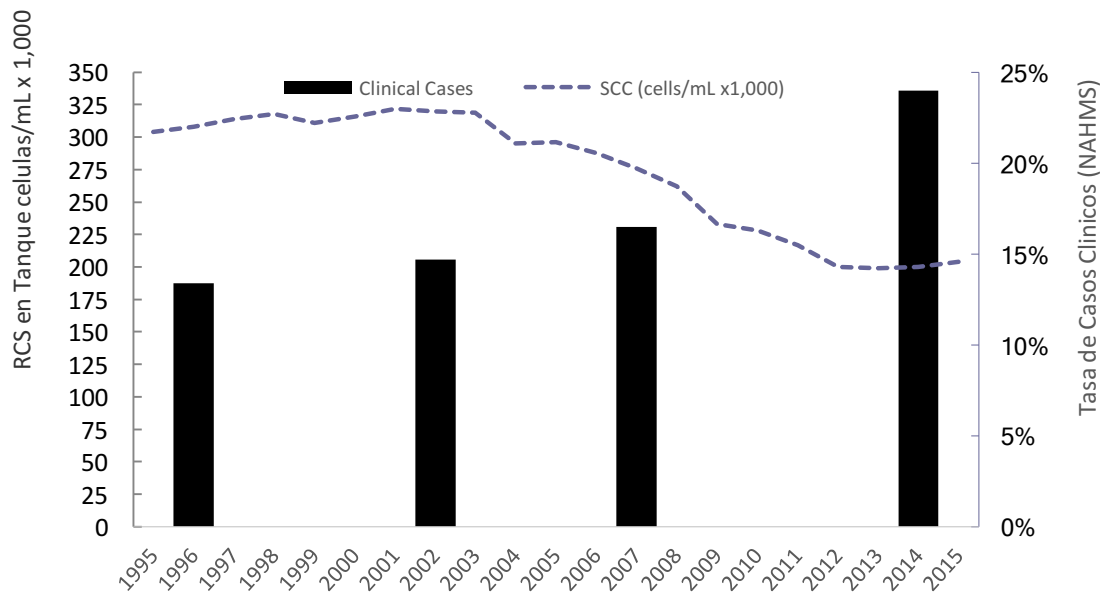


Figura 1: RCS en tanque y tasa de casos clínicos en hatos lecheros en U.S.

Definiciones y detección de mastitis

Casi todas las mastitis son causadas por organismos patógenos, principalmente bacterias, pero también pueden incluir levaduras, hongos y algas. La mastitis comienza con la invasión por un patógeno, seguido de un breve período de latencia y luego la progresión a estados subclínicos o clínicos o la resolución de la infección como resultado de la respuesta inmune de las vacas. La detección de mastitis casi nunca se basa en la identificación del momento preciso de la infección, sino que se basa en la observación de la inflamación resultante. Por lo tanto, el reconocimiento de la mastitis depende de las características del patógeno, de cómo responde el sistema inmune de la vaca y la intensidad y precisión de los métodos de detección.

La mastitis subclínica se caracteriza por una inflamación que, generalmente, se detecta mediante el conteo de células inflamatorias en la leche. Por definición, la leche obtenida de los cuartos de las glándulas mamarias de las vacas con mastitis subclínica parece ser visualmente normal, pero contiene un número anormal de células somáticas, con o sin presencia detectable de bacterias patógenas. En la mayoría de los casos, un RCS mayor a 250,000 células/ml se considera indicativo de una inflamación causada por mastitis subclínica. Cuando las vacas no son examinadas rutinariamente para detectar CS (Células Somáticas) individuales, los veterinarios no pueden determinar las características epidemiológicas importantes de las infecciones subclínicas (como la prevalencia o la incidencia) que son necesarias para implementar los programas de control de la mastitis.

El manejo de la mastitis requiere el uso de sistemas precisos de detección y registro para presentaciones subclínicas y clínicas de la enfermedad. Sin el uso de las pruebas rutinarias de RCS, las estrategias de manejo efectivas para controlar la mastitis subclínica son extremadamente limitadas. En muchas fincas, tanto las personas como los sistemas de detección automatizados pasan por alto los signos sutiles de la mastitis clínica. La mastitis clínica se define como la producción de leche anormal (con o sin síntomas secundarios), pero su definición varía mucho entre los trabajadores en finca. En fincas grandes, la detección de mastitis generalmente depende del entrenamiento y las habilidades de observación del personal de ordeño.

El uso de definiciones de casos estandarizados para la mastitis clínica es útil para monitorear la intensidad y precisión de la detección. El uso de una escala de tres puntos basada en la magnitud de los signos clínicos es práctico, intuitivo, simple de registrar y puede ser una forma importante de evaluar la intensidad de detección (Pinzón-Sánchez *et al.*, 2011). Con este sistema, se asigna un puntaje de severidad de mastitis de 1 (leve) cuando la leche anormal es el único síntoma, 2 (moderado) cuando la leche anormal se acompaña de síntomas localizados de la ubre (como hinchazón o enrojecimiento) y 3 (grave) cuando se observan síntomas sistémicos como fiebre, anorexia, estasis del rumen o una gran disminución en la producción de leche. Investigaciones ha indicado consistentemente que la gravedad de la mastitis clínica es aproximadamente 50% leve, 35% moderada y 15% grave (Pinzón-Sánchez *et al.*, 2011, Oliveira *et al.*, 2013). Si no se examina la leche cruda, aproximadamente el 50% de los casos no se detectarán y si la proporción de

casos severos excede el 15% es una señal de que se debe investigar la frecuencia con la que se realiza la detección y la clasificación del caso.

Diagnóstico de la etiología

La mastitis es causada por la infección intramamaria (IIM) causada por bacterias y los programas de tratamiento y control apropiados se basan en la comprensión del agente etiológico. Hasta hace poco, *Staph aureus* y *Strep ag.* causaban la mayoría de las IIM, pero en los modernos hatos lecheros de las regiones desarrolladas estos patógenos han sido controlados. Hoy en día, la mastitis subclínica es causada principalmente por organismos Gram-positivos (como estreptococos ambientales o Estafilococos Coagulasa Negativa –SCN–), mientras que la mayor proporción de muestras de leche de los casos clínicos son negativas para cultivo o Gram-negativas. De 741 casos de mastitis clínica cultivada en 52 rebaños lecheros de Wisconsin, en el diagnóstico más común no hubo crecimiento bacteriano (27% de los casos) y *Escherichia coli* (*E. coli*) (23% de los casos); los estreptococos se aislaron de alrededor del 13% de los casos clínicos y un 17% de los casos fueron causados por una variedad de organismos oportunistas (Oliveira *et al.*, 2013). Si bien los signos clínicos indican la presencia de algunos patógenos, la detección de mastitis se basa en la observación de signos de inflamación no específicos y sin el cultivo es imposible diagnosticar la causa. Por lo tanto, en las fincas lecheras modernas, se recomienda un mayor uso del cultivo de la leche para dirigir los programas de control de la mastitis. Cuando los resultados de los cultivos de leche están estrechamente relacionados con las decisiones de tratamiento, el valor de realizar cultivo microbiológico de leche de vacas con mastitis clínica es claramente evidente para los propietarios de los hatos.

Epidemiología de la mastitis en las fincas lecheras modernas

En una finca típica, aproximadamente el 50% de las muestras de leche tomadas para cultivo de vacas con mastitis subclínica y del 25 al 40% de las muestras de leche obtenidas de vacas con mastitis clínica son microbiológicamente negativas. La razón por la cual los casos son negativos para cultivo varía según la presentación del caso. Los casos crónicos subclínicos (con RCS persistentemente alto) tienen una fuerte evidencia de inflamación en curso que probablemente sea el resultado de la IIM. Estos casos a menudo son falsos negativos porque la respuesta inflamatoria ha reducido con éxito la cantidad de organismos por debajo del límite de detección normal. El cultivo repetido de muestras de leche de un cuarto es útil para llegar a un diagnóstico para algunos de estos casos.

En contraste, en hatos que tienen problemas de mastitis ambiental, muchos casos clínicos no severos son causados por patógenos oportunistas que han sido eliminados con éxito por una respuesta inmune localizada. Los síntomas clínicos se observan después de que el sistema inmune ha respondido y aproximadamente el 75-80% de estos casos pueden curarse espontáneamente de la IIM, antes de la detección de los síntomas. La única forma de determinar si los síntomas de la mastitis leve y moderada se acompañan de una infección activa (y, por lo tanto, se beneficiarían de la terapia antimicrobiana) es realizar un análisis microbiológico.

En las fincas de todo el mundo, el RCST en finca ha disminuido, pero la capacidad de mantener un RCST bajo no siempre indica que la mastitis esté controlada. Incluso cuando el RCST es menor a 250,000 células/ml, alrededor del 15-20% de las vacas tienen valores mensuales de RCS que exceden las 250,000 células/ml e indican que al menos un cuarto de la glándula mamaria está afectado por mastitis subclínica. La detección precisa, el registro de mastitis clínica y una revisión de las estrategias de manejo utilizadas para reducir el RCST (como el uso de ordeñadora individual de cuartos o el secado de cuartos crónicamente afectados) son necesarios para determinar la magnitud de los desafíos de mastitis en las granjas lecheras. Un estudio de grandes hatos lecheros de Wisconsin con RCST de alrededor de 220,000 células/ml indicó que había aproximadamente 40 tratamientos clínicos de mastitis por 100 vacas lactantes por año, con un rango de 6 a 90 tratamientos por 100 vacas por año (Oliveira *et al.*, 2013). A pesar del RCST bajo, algunos de estas fincas tenían evidencia de problemas considerables de mastitis. Mientras que el hato promedio perdió venta de leche por descarte aproximadamente del 1.8% al día (por los tratamientos), la cantidad máxima de leche descartada fue de 6.7%. Del mismo modo, la proporción promedio de vacas en ordeño con menos de cuatro cuartos fue del 4,7%, sin embargo, una finca informó que el 30% de las vacas tenía al menos un cuarto sin funcionar. La evolución a una mastitis clínica (en lugar de la enfermedad subclínica) es principalmente una respuesta a las exposiciones cambiantes a los patógenos.

Según su reservorio primario y el modo más probable de transmisión, los patógenos de la mastitis a menudo se caracterizan como “contagiosos” o “ambientales”. Usando esta clasificación, la ubre de las vacas con infecciones subclínicas sirve como el reservorio primario de patógenos contagiosos. La transmisión de patógenos contagiosos (como *Staph aureus*) ocurre cuando los pezones de vacas sanas están expuestos a organismos en la leche que fueron eliminados de las ubres infectadas. El punto de exposición más común es generalmente la presencia de bacterias en las gotas de leche en las superficies de contacto con los pezones (como las pezoneras de ordeño o goteos de leche en las superficies de las camas o donde descansan las vacas). En los Estados Unidos, los patógenos de mastitis contagiosa comúnmente incluyen *Staph aureus* y *Mycoplasma bovis*. Sin embargo, la transmisión a través de una “ruta contagiosa” es posible para cualquier microorganismo que pueda causar mastitis subclínica persistente y arrojar suficientes colonias de bacterias en la leche para establecer una dosis infecciosa. Por lo tanto, las infecciones subclínicas crónicas con organismos como *Prototheca zopfii* o *Klebsiella spp* también pueden resultar en una transmisión contagiosa entre las vacas.

En la mayoría de las regiones productoras de leche desarrolladas, los programas de salud de las ubres se centran cada vez más en la mastitis causada por patógenos ambientales. El término “patógeno ambiental” se refiere a la mastitis causada por bacterias oportunistas que a menudo residen en el área donde están las vacas. Los patógenos comunes incluyen bacterias Gram-negativas (como *E. coli* y *Klebsiella spp.*) y bacterias Gram-positivas (como *Streptococcus Uberis*). Los patógenos oportunistas suelen estar menos adaptados a la supervivencia en la ubre y una IIM a menudo desencadena una

inflamación suficiente para dar como resultado signos clínicos leves o moderados visualmente aparentes. Los materiales utilizados para las camas donde descansan las vacas en estabulación y la humedad o el estiércol en los pasillos de los animales son reservorios comunes y el control de la mastitis ambiental se basa en la reducción de la exposición de los pezones de las vacas más susceptibles.

La duración de la infección con patógenos ambientales varía entre patógenos (Smith *et al.*, 1985) y puede asociarse con el grado de adaptación del huésped al patógeno. Algunos patógenos ambientales (como la mayoría de *E. coli*) son verdaderamente oportunistas y la respuesta inmune generalmente es exitosa en la eliminación de estos patógenos después de un breve periodo de enfermedad clínica leve. Otros patógenos ambientales (como muchas IIM causadas por *Streptococci* o *Klebsiella spp.*) parecen haberse adaptado más al huésped y pueden presentarse como casos clínicos leves que parecen resolverse cuando en realidad el caso ha vuelto a un estado subclínico. El control de la mastitis causada por patógenos ambientales puede ser más complejo que el control de la mastitis causada por bacterias generalmente consideradas como contagiosas. Los materiales de cama, la humedad, el lodo y el estiércol en las áreas de alojamiento o estadía de las vacas son reservorios comunes para estos patógenos y su control requiere la reducción de la exposición de los pezones de las vacas más susceptibles.

Impacto de la mastitis en el rendimiento reproductivo

Es bien conocido que la ocurrencia de mastitis se asocia con un rendimiento reproductivo disminuido que incluye reducciones en la frecuencia del estro natural (Moore *et al.*, 1991; Barker *et al.*, 1998; Schrick *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2004), tasas de concepción reducidas (Barker *et al.*, 1998; Schrick *et al.*, 2001; Chebel *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2004; Ahmadzadeh *et al.*, 2009) y aumento de pérdidas de preñez (Hudson *et al.*, 2012). El periodo en que ocurre la mastitis es importante en relación con el impacto sobre la fertilidad (Barker *et al.*, 1998; Schrick *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2004; Hertl *et al.*, 2010; Hudson *et al.*, 2012). El impacto de la mastitis se ha examinado en los periodos anteriores a la IA (Inseminación Artificial), entre la IA y el primer diagnóstico de preñez y después del primer examen de preñez. La mayoría de los estudios indican que el periodo más crítico es inmediatamente antes y después del servicio. La aparición de mastitis subclínica (Schrick *et al.*, 2001; Lavon *et al.*, 2011a; Lavon *et al.*, 2011b; Hudson *et al.*, 2012; Fuenzalida *et al.*, 2015) y mastitis clínica (Moore *et al.*, 1991; Santos *et al.*, 2004) se han asociado con desempeño reproductivo reducido. Las asociaciones negativas de mastitis con el desempeño reproductivo parecen ser una consecuencia de la magnitud de la respuesta inmune después del IIM.

Schrick *et al.* (2001) encontraron que las vacas con mastitis subclínica o clínica antes de la concepción aumentaron los días abiertos al primer servicio y el número de servicios por concepción en comparación con las vacas sanas. La progresión de los síntomas desde un estado subclínico a uno clínico

durante el intervalo entre la primera inseminación y el examen de preñez tuvo un profundo impacto en el rendimiento reproductivo y dio como resultado una fertilidad reducida (Schrick *et al.*, 2001). Se ha demostrado que un aumento de RCS antes o después de la IA tiene una fuerte asociación con un rendimiento reproductivo disminuido, pero el efecto aumenta a medida que aumenta el RCS (Lavon *et al.*, 2011a; Hudson *et al.*, 2012). Para las vacas afectadas por mastitis subclínica, Hudson *et al.* (2012) observaron que la probabilidad de una IA que conduce a una preñez disminuyó en 18% para las vacas con RCS entre 200,000 y 399,000 células/ml (de 1 a 30 días después de la IA), mientras que la probabilidad disminuyó en casi 26% cuando el RCS excedió 399,000 células/ml. Por lo tanto, parece que la magnitud de la inflamación se asocia con disminución en la fertilidad y los investigadores han cuestionado si los efectos sobre la reproducción difieren entre los agentes etiológicos de la mastitis.

Se han informado resultados contradictorios sobre las asociaciones entre la mastitis clínica causada por patógenos Gram-positivos o Gram-negativos y el rendimiento reproductivo, pero la mayoría de los estudios se han visto confundidos por la falta de registro de la gravedad de los síntomas. Aproximadamente el 30% de las mastitis clínicas causadas por patógenos Gram-negativos son graves, mientras que una proporción mucho más pequeña de casos Gram-positivos da como resultado signos clínicos graves. El efecto combinado de severidad y tipo de patógeno ha sido investigado. Nosotros (Fuenzalida *et al.*, 2015) registramos 3.144 vacas lecheras en un estudio prospectivo para determinar las asociaciones entre ocurrencia y gravedad de la mastitis durante un Período de Riesgo Reproductivo (PRR), desde tres días antes hasta 32 días después de la inseminación artificial en preñez por IA al

primer servicio. Las vacas lecheras se clasificaron según la ocurrencia de uno o más eventos de mastitis durante y antes del PRR: 1) sanas, 2) mastitis antes de PRR, 3) mastitis subclínica durante PRR, 4) mastitis subclínica crónica, 5) mastitis clínica durante PRR, o 6) mastitis clínica crónica. Los casos de mastitis clínica se categorizaron según la etiología (Gram-negativa, Gram-positiva y sin crecimiento) y la gravedad (leve, moderada o grave). Todas las vacas fueron servidas usando IA a tiempo fijo y los resultados de los servicios estuvieron altamente asociados con la ocurrencia de mastitis.

En comparación con las vacas sanas, las probabilidades de preñez se redujeron en un 40%, 30% y 20% para las vacas con mastitis clínica crónica, mastitis clínica o mastitis subclínica durante el PRR, respectivamente. En comparación con las vacas sanas, las probabilidades de preñez se redujeron para las vacas que experimentaron casos leves, moderados o severos de mastitis clínica durante el PRR. Las probabilidades de preñez para las vacas con mastitis clínica causada por bacterias Gram-negativas o Gram-positivas durante el PRR fueron de 0,47 y 0,59, respectivamente. Sin embargo, la ocurrencia de mastitis clínica que resultó en un crecimiento de bacterias en muestras de leche cultivadas no se asoció con reducciones en preñez a la primera IA. Independiente de la etiología, los casos microbiológicamente positivos de mastitis clínica con síntomas moderados o graves se asociaron con reducciones sustanciales de preñez en la primera IA. La etiología, la gravedad y el momento de la mastitis clínica se asociaron con una disminución en la probabilidad de preñez en la primera IA. La gravedad del caso era más importante que la etiología; sin embargo, independientemente de la etiología, los casos microbiológicamente negativos no se asociaron con una menor probabilidad de preñez.

Este estudio refuerza aún más el papel perjudicial de la inflamación en el desempeño reproductivo. La exposición reducida a los patógenos de la mastitis combinada con estrategias de manejo que resultan en una función inmune óptima para eliminar las IIM, cuando ocurren, es fundamental para garantizar programas de mejoramiento exitosos.

Factores de riesgo para la infección intramamaria (IIM)

Factores de riesgo ambiental

El manejo del estiércol reciclado, el tipo de cama y el mantenimiento del establo y los lugares donde se alojan las vacas tienen un impacto significativo en la exposición de los pezones a los patógenos de la mastitis. Si bien muchos materiales de cama tienen inicialmente poblaciones bacterianas relativamente bajas, la materia orgánica en algunos lechos contiene nutrientes que favorecen el crecimiento bacteriano y esto da como resultado la exposición de los pezones a una gran variedad de posibles patógenos de la mastitis. Esto es especialmente cierto en el caso del estiércol reciclado, que es muy rico en nutrientes que favorecen el crecimiento de organismos fecales. Un estudio reciente de fincas lecheras de Wisconsin evidenció menor producción de leche, mayor RCS, más vacas tratadas y una mayor proporción de vacas con cuartos no funcionales en hatos que usaban camas de estiércol en comparación con hatos que usaban arena (Rowbotham & Ruegg, 2015). El número de bacterias Gram-negativas (a menudo asociadas con infecciones de duración más corta y aparición de mastitis clínica) es mayor en los materiales de cama orgánica (como los

sólidos de estiércol reciclados) en comparación con la nueva cama de arena. Sin embargo, la cantidad de bacterias Gram-positivas oportunistas (a menudo asociadas con infecciones subclínicas de mayor duración) puede ser una arena reciclada bastante importante y la IIM con estos organismos puede contribuir al aumento de RCS en tanque.

El número de bacterias recuperadas de la piel de los pezones es típicamente 2-3 unidades logarítmicas (100 a 1000 veces) menos que las encontradas en las camas, lo que indica un riesgo potencialmente mayor de IIM para cuartos expuestos a camas que contienen mayores cantidades de bacterias. Se ha demostrado una relación lineal entre la exposición a las bacterias en la cama y la tasa de mastitis clínica por Gram-negativos, pero esa asociación fue relativamente débil y los autores del estudio advirtieron que menos del 16% de variación en la tasa de mastitis clínica podría atribuirse a diferencias en conteo bacteriano presente en la cama para las vacas (Hogan *et al.*, 1989). La exposición a bacterias por sí sola no necesariamente resulta en IIM. Para todas las enfermedades infecciosas, la exposición a un agente patógeno es necesaria para la infección, pero la mastitis es una enfermedad multifactorial y se necesitan otros factores de riesgo para que la exposición produzca mastitis. Los factores que influyen en el riesgo de infección con patógenos oportunistas incluyen factores de manejo tales como diseño y uso de establos, manejo de camas (incluyendo tamaño de partículas y contenido de humedad y materia orgánica), adecuación de los procedimientos de ordeño y suavidad de ordeño. Los factores importantes a nivel de la vaca incluyen las características anatómicas de la ubre y los pezones. Si bien la exposición es importante, el riesgo de IIM también se ve influenciado por la

capacidad de la vaca para montar una respuesta inmune efectiva y rápida después de que las bacterias han penetrado en el orificio del pezón.

Factores de riesgo a nivel de la vaca

La reducción del riesgo de IIM oportunista se basa en la reducción de la exposición a patógenos potenciales, pero el riesgo de desarrollar mastitis no es igual entre los animales porque diferentes grupos de ganado tienen diferentes habilidades para restringir la infección. La capacidad de resistir y responder a la infección está influenciada por ambas etapas de la lactancia y el número de partos. En comparación con los animales más viejos, las vacas en primera y segunda lactancia tienen un riesgo reducido de desarrollar mastitis clínica causada por patógenos oportunistas (Zadoks *et al.*, 2001; Pantoja *et al.*, 2009; Pinzón-Sánchez & Ruegg, 2011). La etapa de lactancia es también un factor de riesgo para el desarrollo de mastitis clínica y su aparición desproporcionada en la lactancia temprana es un sello distintivo de que es causada por bacterias ambientales (Oliveira *et al.*, 2013). Está bien documentado que la filtración o goteo de leche, la alta producción diaria de leche y la reducción de las capacidades inmunológicas se asocian con un mayor riesgo de mastitis clínica (Schukken *et al.*, 1990) y todas estas características son más comunes en la lactancia temprana. Si bien la exposición a patógenos ambientales oportunistas puede ocurrir durante todo el ciclo de lactancia, las vacas que inician lactancia son menos capaces de resistir la exposición a los microorganismos debido a la supresión inmune innata.

Cambios en los conceptos del control de mastitis

Las características anatómicas de la ubre y del pezón son factores de riesgo conocidos para la IIM. Las vacas con ubres más grandes tienen mayor riesgo de IIM que las vacas con calificación de higiene de ubre que indican ubres más sucias (puntajes 3 o 4 en una escala de 4 puntos) (Barkema *et al.*, 1999, Schreiner & Ruegg, 2003). Las ubres se ensucian como consecuencia de una serie de decisiones de manejo rutinarias. Los factores de riesgo para “ubres sucias” se evaluaron en 79 granjas lecheras comerciales de Wisconsin (Salgado & Ruegg, datos no publicados). Las granjas incluían 11,200 vacas en lactancia alojadas en dos tipos de instalaciones: libres (n = 51 rebaños) y estabulados (n = 28). No hubo diferencia en la proporción de puntaje de higiene de la ubre limpia (77%) según el tipo de instalación. Para animales estabulados, el riesgo de ubres sucias aumentó 1.5 veces cuando los puestos se limpiaron menos de dos veces por día, 4.5 veces cuando las camas fueron calificadas como sucias y más de 10 veces cuando una gran proporción de las vacas tenía estiércol libre. Para los animales alojados en establos libres, el riesgo de ubres sucias aumentó 1.8 veces cuando los lechos orgánicos no se reponían a diario, 4 veces cuando las camas se clasificaban como “sucias”, más de 10 veces cuando una gran proporción de las vacas tenía estiércol suelto, 2.5 veces cuando las vacas tenían acceso a actividades al aire libre y más de 10 veces a medida que los establos estaban cada vez más hacinados o con mayor número de animales. Estos datos refuerzan el papel de la administración adecuada de las instalaciones y la comodidad de las vacas en la reducción del riesgo de mastitis ambiental.

En las fincas modernas de ganado lechero, la mayoría de los antibióticos se administran para tratar animales enfermos, pero algunos se usan para la prevención de enfermedades durante periodos de alto riesgo. Casi todas las fincas lecheras convencionales informan algún uso regular de antibióticos (Zwald *et al.*, 2004; Oliveira, 2012). En los Estados Unidos, en 2007, alrededor del 7%, 3%, 7% y 16% de las vacas lecheras adultas fueron tratadas por infecciones de las patas, neumonía, metritis o mastitis, respectivamente (USDA, 2009). Cuando se resumen los tratamientos con antibióticos, la investigación ha demostrado que cada vaca adulta recibe aproximadamente cinco dosis diarias durante el año (Pol & Ruegg, 2007; Saini *et al.*, 2012). En un estudio reciente de grandes fincas lecheras en Wisconsin (Oliveira & Ruegg, 2014), una proporción dramáticamente mayor de animales fueron tratados por mastitis (40 tratamientos/100 vacas/año) en comparación con los trastornos reproductivos (13 tratamientos/100 vacas/año), enfermedad respiratoria (4 tratamientos/100 vacas/año), cojera (5 tratamientos/100 vacas/año) o problemas digestivos (2 tratamientos/100 vacas/año) (datos no presentados en el estudio original). Estos datos indican que los esfuerzos para reducir el uso de antibióticos en las fincas lecheras deben estar dirigidos a la prevención y el tratamiento apropiado de la mastitis. Se deben considerar varios principios importantes antes de usar antibióticos para el tratamiento de la mastitis.

Los antibióticos no deben usarse para vacas que es poco probable que se beneficien. Las vacas que tienen un diagnóstico previo de mastitis causada por un patógeno refractario (*Mycoplasma*

bovis, *Staph aureus*, *Prototheca*, *Serratia*, entre otros) no deben recibir antibióticos ya que es poco probable que sean eficaces. Del mismo modo, es inusual que la terapia con antibióticos sea efectiva para vacas que tienen síntomas crónicos de mastitis (más de tres casos de mastitis clínica durante la lactancia actual o más de cuatro meses de RCS superiores a 200,000 células/ml). En estos casos, la leche anormal debe desecharse hasta que vuelva a la normalidad (por lo general, alrededor de 4-6 días) y se debe realizar “observación vigilante” (observación frecuente del comportamiento y los síntomas de las vacas) para detectar las raras instancias donde progresa la gravedad del caso.

La leche anormal es una indicación visible de que el sistema inmune de la vaca ha respondido a una infección. Gran parte del uso de antibióticos asociado con la mastitis no puede justificarse porque las bacterias infecciosas a menudo desaparecen antes de que se detecte la inflamación o la mastitis es causada por un tipo de bacteria que es poco probable que responda a los tipos de medicamentos que están disponibles. En la mayoría de los hatos lecheros modernos, la mastitis clínica es causada por un grupo diverso de patógenos oportunistas y al menos el 20-25% de las muestras de leche son negativas al cultivo en el momento en que se detecta el caso. Dependiendo de factores de virulencia específicos, los organismos infectan diferentes lugares en la ubre, tienen diferentes habilidades para causar enfermedad en la vaca y difieren en la tasa esperada de curación bacteriológica espontánea. Por lo tanto, la identificación del tipo de bacteria que causa la infección es importante para seleccionar adecuadamente un antibiótico (si es necesario) y determinar la mejor duración de la terapia. Además, se sabe que muchas características

de la vaca influyen en la probabilidad de respuestas inmunitarias exitosas y curación después de infecciones intramamarias (Burvenich *et al.*, 2003; Pinzón-Sánchez y Ruegg, 2011). El número de partos, la etapa de lactancia y los antecedentes de casos anteriores de mastitis clínica o subclínica son factores que deben considerarse antes de usar un antibiótico para tratar un caso de mastitis clínica.

Criterios para el uso justificable de antibióticos

1. El uso de antibióticos debe ser guiado por veterinarios. En la mayoría de las fincas, muchos tratamientos de mastitis implican el uso de drogas en forma extraetiqueta. El uso de drogas fuera de recomendación debe ser supervisado por un veterinario local que participe activamente en el trabajo con la finca de forma regular. Para mantener la confianza del consumidor, los productores de leche deben trabajar estrechamente con sus veterinarios locales para entregar protocolos de tratamiento que cumplan con las regulaciones de la Administración de Alimentos y Medicamentos del Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos (FDA por sus siglas en inglés) y cumplan con los principios generales del uso adecuado de antibióticos (Weese *et al.*, 2013).

2. Los antibióticos solo deben usarse cuando existe una probabilidad razonable de que haya una infección bacteriana. Este criterio no se puede cumplir para la mayoría del 25-40% de los casos de mastitis clínica que son negativos al cultivo cuando se detectan y se deben considerar formas alternativas de manejar estos casos. Cuando sea posible, se recomienda el uso de metodologías de cultivo rápido para identificar la infección intramamaria activa.

3. Los antibióticos de espectro estrecho que son menos críticos para tratar enfermedades humanas se deben usar como primera opción. La Organización Mundial de la Salud ha clasificado los antibióticos en función de su importancia para tratar enfermedades humanas (Anonymous, 2012). La mayoría de los productos de aplicación intramamaria (IIM) disponibles en los Estados Unidos no son medicamentos de alta prioridad para el tratamiento de enfermedades humanas y solo el Ceftiofur (una cefalosporina de tercera generación) figura como de alta prioridad y de importancia crítica para el uso humano. Dependiendo de la susceptibilidad intrínseca de las bacterias, los antibióticos se clasifican como de espectro estrecho o amplio. Los fármacos de espectro estrecho suelen ser activos contra bacterias Gram-positivas o Gram-negativas, mientras que los fármacos de amplio espectro tienen actividad contra ambos tipos de organismos. Cuando es posible, se prefieren los fármacos de espectro estrecho, ya que tienen menos posibilidades de selección para la resistencia y generalmente son menos críticos para las necesidades de salud humana (Weese *et al.*, 2013). La mayoría de los productos para aplicación intramamaria aprobados se consideran de espectro estrecho y el uso del espectro más amplio debe reservarse para los casos que pueden beneficiarse con su utilización.

4. Los antibióticos deben usarse durante el menor tiempo posible. En general, la duración del tratamiento con antibióticos debe ser lo más corta posible para minimizar las pérdidas económicas asociadas con el descarte de la leche y, al mismo tiempo, maximizar la probabilidad de lograr la curación bacteriológica (Pinzón-Sánchez *et al.*, 2011). La duración adecuada del tratamiento con antibióticos para mastitis clínica no está bien definida y varía según la etiología. Diferentes patógenos

tienen diferentes habilidades para infectar el tejido de la glándula mamaria. Algunos patógenos infectan preferentemente las superficies superficiales de la mucosa, mientras que otros patógenos tienen la capacidad de infiltrar profundamente el tejido secretor de la glándula mamaria. Existe considerable evidencia de que la terapia antibiótica de duración prolongada aumenta la cura bacteriana de los patógenos invasores como *Staph. Aureus* y algunos *Streptococci spp.* ambientales (Oliver *et al.*, 2004a; Oliver *et al.*, 2004b). Sin embargo, ninguna investigación ha indicado que la terapia de duración prolongada mejore los resultados clínicos de la mastitis causada por patógenos no invasivos (como SCN o la mayoría de *E. coli*). El uso de terapia de duración extendida para tratar este tipo de patógenos aumenta significativamente los costos sin mejorar los resultados económicos (Pinzón-Sánchez *et al.*, 2011). Para la mastitis causada por patógenos invasores, la duración de la terapia debe extenderse, pero para otras etiologías se recomienda una duración corta. Cuando se considera la terapia prolongada, los veterinarios deben asegurarse de que los trabajadores en la finca puedan utilizar los antibióticos de manera higiénica, ya que el tratamiento prolongado con productos para uso intramamario se asocia con un mayor riesgo de infección por patógenos oportunistas presentes en la piel del pezón o en las manos del encargado de colocar el antibiótico.

5. Las características de las vacas afectadas deben revisarse antes de administrar los antibióticos. El objetivo de los antibióticos es ayudar a la respuesta inmune de la vaca a eliminar con éxito la IIM y se sabe que muchas características de la vaca influyen en la probabilidad de una respuesta inmune exitosa (Burvenich *et al.*, 2003). Por lo tanto, se debe realizar una evaluación de la capacidad de la vaca

para desarrollar una respuesta inmune como parte del examen médico. Las características relacionadas con una respuesta inmune saludable incluyen la edad, el estadio de la lactancia, el balance energético negativo, el historial de tratamientos previos y factores ambientales (como el estrés por calor). Los bovinos mayores (más de tres partos) a menudo tienen peores respuestas al tratamiento en comparación con el ganado más joven (Hektoen *et al.*, 2004, McDougall *et al.*, 2007a, McDougall *et al.*, 2007b). Un historial de RCS crónicamente aumentado también se asocia con un peor pronóstico después de la terapia de mastitis (Bradley & Green, 2009; Pinzon-Sánchez & Ruegg, 2011). Se sabe que las vacas en el periodo inmediatamente posterior al parto están inmunosuprimidas y que el estrés por calor puede reducir la capacidad de la vaca para responder a una IIM (do Amaral *et al.*, 2011). Antes de la administración de antibióticos, los granjeros deben revisar el historial médico de la vaca y evaluar si tiene factores de riesgo que indiquen que los antibióticos pueden ser beneficiosos. Por ejemplo, productos intramamarios de corta duración se pueden considerar para mastitis clínicas en vacas más viejas y valiosas que tienen mastitis Gram-negativa no severa en el período inmediatamente posterior al parto. Por el contrario, se puede considerar la “espera vigilante” para mastitis clínica que ocurre en vacas más viejas que tienen una larga historia de casos repetidos no severos.

6. Se debe evitar el uso de medicamentos fuera de prescripción. Con el uso extraetiqueta de productos intramamarios la duración o los intervalos de dosificación pueden diferir de los que se enuncian explícitamente en la etiqueta del producto. Estas desviaciones de las pautas de la etiqueta son comunes para el tratamiento de la mastitis y pueden ser justificables para algunos medicamentos, pero

deben realizarse bajo supervisión veterinaria. El uso de antibióticos por vía parenteral para tratar la mastitis no es inusual (Raymond *et al.*, 2006; Pol & Ruegg, 2007; USDA, 2009, Oliveira & Ruegg, 2014) pero debe restringirse a casos justificables, como las vacas afectadas con mastitis severa.

Conclusión

La mastitis sigue siendo la enfermedad más frecuente y costosa de las vacas lecheras y es la razón más común por la que los antimicrobianos se administran a las vacas lecheras adultas. En las granjas lecheras modernas, la mastitis es causada por un grupo cada vez más diverso de patógenos. La separación entre organismos “contagiosos” y “ambientales” no es completa y muchos organismos pueden transmitirse de cualquier manera. Los sistemas de detección para la mastitis deben incluir métodos para detectar enfermedades clínicas y subclínicas, así como también deben incluir la calificación de severidad de los casos clínicos. No es posible determinar la etiología sin examen microbiológico de muestras de leche recolectadas asépticamente. Para controlar la mastitis y utilizar los tratamientos adecuados, se debe determinar el tipo de bacteria que causa la enfermedad.

La industria láctea mundial continúa cambiando rápidamente y para garantizar la producción continua de leche de alta calidad, las estrategias de control de la mastitis también deben progresar.

Referencias

- Ahmadzadeh, A., Frago, F., Shaffii, B., Dalton, J.C., Price, W.J. & McGuire, M.A. (2009). Effect of clinical mastitis and other diseases on reproductive performance of Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 112(3-4), 273-282.
- Anonymous. (2012). Critically important antimicrobials for human health - 3rd rev.
- Barkema, H. W., Schukken, Y. H., Lam, T. J. G. M., Beiboer, M. L., Benedictus, G. & Brand, A. (1999). Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 82(8), 1643-1654.
- Barker, A. R., Schrick, F. N., Lewis, M. J., Dowlen, H. H. & Oliver, S. P. (1998). Influence of clinical mastitis during early lactation on reproductive performance of Jersey cows. *Journal of Dairy Science*, 81(5), 1285-1290.
- Bradley, A. J. & Green M. J. (2009). Factors affecting cure when treating bovine clinical mastitis with cephalosporin-based intramammary preparations. *Journal of Dairy Science*, 92(5), 1941-1953.
- Burvenich, C., Van Merris, V., Mehrzad, J., Diez-Fraile, A. & Duchateau, L. (2003). Severity of E. coli mastitis is mainly determined by cow factors. *Vet. Res.*, 34(5), 521-564.
- Caraviello, D. Z., Weigel, K. A., Shook, G. E. & Ruegg, P. L. (2005). Assessment of the impact of somatic cell count on functional longevity in Holstein and Jersey Cattle using survival analysis methodology. *Journal of Dairy Science*, 88(2), 804-811.
- Chebel, R. C., Santos, J. E. P., Reynolds, J. P., Cerri, R. L. A., Juchem, a S. O. & Overton, M. (2004). Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 84(3-4), 239-255
- Do Amaral, B. C., Connor, E. E., Tao, S., Hayen, M. J., Bubolz, J. W. & Dahl. G. E. (2011). Heat stress abatement during the dry period influences metabolic gene expression and improves immune status in the transition period of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94(1), 86-96.
- Ericson Unnerstad, H.E., Lindberg, A., Waller, K.P., Ekman, T., Artursson, K., Nilsson-Ost, M. & Bengtsson, B. (2009). Microbial aetiology of acute clinical mastitis and agent-specific risk factors. *Vet. Microbiol.*, 137(1-2), 90-97.
- Fuenzalida, M. J., Fricke, P. M. & Ruegg, P. L. (2015). The association between occurrence and severity of subclinical and clinical mastitis on pregnancies per artificial insemination at first service of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 98(6), 3791-3805.
- Hektoen, L., Odegaard, S. A., Loken, T. & Larsen, S. (2004). Evaluation of stratification factors and score-scales in clinical trials of treatment of clinical mastitis in dairy cows. *Journal of Veterinary Medicine A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine* 51(4):196-202.

- Hertl, J. A., Grohn, Y. T., Leach, J. D. G., Bar, D., Bennett, G. J., Gonzalez, R. N., Rauch, B. J., Welcome, F. L., Tauer, L. W. & Schukken, Y. H. (2010). Effects of clinical mastitis caused by gram-positive and gram-negative bacteria and other organisms on the probability of conception in New York State Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(4), 1551-1560.
- Hogan, J. S., Smith, K. L., Hoblet, K. H., Todhunter, D. A., Schoenberger, P. S., Hueston, W. D., Pritchard, D. E., Bowman, G. L., Heider, L. E. & Brockett, B. L. (1989). Bacterial counts in bedding materials used on nine commercial dairies. *Journal of Dairy Science*, 72(1), 250-258.
- Hudson, C. D., Bradley, A. J., Breen, J. E. & Green, M. J. (2012). Associations between udder health and reproductive performance in United Kingdom dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95(7), 3683-3697.
- Lavon, Y., Leitner, G., Klipper, E., Moallem, U., Meidan, R. & Wolfenson, D. (2011a). Subclinical, chronic intramammary infection lowers steroid concentrations and gene expression in bovine preovulatory follicles. *Domest. Anim. Endocrin.*, 40(2), 98-109.
- Lavon, Y., Leitner, G., Moallem, U., Klipper, E., Voet, H., Jacoby, S., Glick, G., Meidan, R. & Wolfenson, D. (2011b). Immediate and carryover effects of Gram-negative and Gram-positive toxin-induced mastitis on follicular function in dairy cows. *Theriogenology*, 76(5), 942-953.
- Ma, Y., Ryan, C., Barbano, D. M. Galton, D.M., Rudan, M.A. & Boor, K.J. (2000). Effects of somatic cell Count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. *Supplement Journal of Dairy Science*, 83(2), 264-274.
- McDougall, S., Arthur, D. G., Bryan, M. A., Vermunt, J. J. & Weir, A. M. (2007). Clinical and bacteriological response to treatment of clinical mastitis with one of three intramammary antibiotics. *N. Z. Vet. J.*, 55(4), 161-170.
- McDougall, S., Agnew, K. E., Cursons, R., Hou, X.X. & Compton, C. R. (2007). Parenteral treatment of clinical mastitis with tylosin base or penethamate hydriodide in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 90(2):779-789.
- Moore, D. A., Cullor, J. S., Bondurant, R.H. & Sischo, W.M. (1991). Preliminary Field Evidence for the Association of Clinical Mastitis with Altered Interestrus Intervals in Dairy-Cattle. *Theriogenology*, 36(2), 257-265.
- Oliveira L., Rodrigues A.C.O., Hlland, C. et al. (2011). Toxin production, toxin genes and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* recovered from cases of bovine subclinical mastitis. *Am. J. Vet Res.*, 72, 1361-1368.
- Oliveira, L. & Ruegg, P. L. (2014). Treatments of clinical mastitis occurring in cows on 51 large dairy herds in Wisconsin. *Journal of Dairy Science*, 97, 5426-5436.
- Oliveira, L., Hlland, C. & Ruegg, P. L. (2013). Characterization of clinical mastitis occurring in cows on 50 large dairy herds in Wisconsin. *Journal of Dairy Science*, 96, 7538-7549.

- Oliver, S. P., Gillespie, B. E., Headrick, S. J., Moorehead, H., Lunn, P., Dowlen, H.H., Johnson, D.L., Lamar, K.C., Chester, S.T. & Moseley, W.M. (2004b). Efficacy of extended ceftiofur intramammary therapy for treatment of subclinical mastitis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87(8), 2393-2400.
- Oliver, S. P., Almeida, R. A., Gillespie, B. E., Headrick, S. J., Moorehead, H., Lunn, P., Dowlen, H.H., Johnson, D.L., Lamar, K.C., Chester, S.T. & Moseley, W.M. (2004a). Extended ceftiofur therapy for treatment of experimentally-induced *Streptococcus uberis* mastitis in lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 87(10), 3322-3329.
- Ott, S. L. & Novak, P. R. (2001). Association of herd productivity and bulk-tank somatic cell counts in US dairy herds in 1996. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 218(8), 1325-1330.
- Pantoja, J. C. F., Hullahand, C. & Ruegg, P. L. (2009). 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*, 92(1):139-148.
- Pantoja, J.C.F., Hullahand, C. & Ruegg, P.L. (2009). Dynamics of somatic cell counts and intramammary infections across subsequent lactations. *Prev. Vet. Med.* 90, 43-54.
- Pinzón-Sánchez, C. & Ruegg P.L. (2011). Risk factors associated with short-term post-treatment outcomes of clinical mastitis. 2011; *Journal of Dairy Science*, 94, 3397-3410.
- Pinzón-Sánchez, C., Cabrera, V. E. & Ruegg, P. L. (2011). Decision tree analysis of treatment strategies for mild and moderate cases of clinical mastitis occurring in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 94(4), 1873-1892.
- Pol, M. & Ruegg, P. L. (2007). Treatment practices and quantification of antimicrobial drug usage in conventional and organic dairy farms in Wisconsin. *Journal of Dairy Science*, 90(1), 249-261.
- Raymond, M. J., Wohrle, R. D. & Call, V. (2006). Assessment and promotion of judicious antibiotic use on dairy farms in Washington state. *Journal of Dairy Science*, 89 (8), 3228-3240.
- Rodrigues, A. C., D. Z. Caraviello, and P. L. Ruegg. (2005). *Management of Wisconsin dairy herds enrolled in milk quality teams*. *J Dairy Sci* 88(7):2660-2671.
- World Health Organization. (2012). *Critically important antimicrobials for human health*. (3^a rev.)