

Ynte H. Schukken



DIAGNÓSTICO de mastitis en hatos LECHEROS

Ynte H. Schukken

Ph.D en Ciencia Animal -
Universidad de
Utrecht, Holanda.
M.Sc. Universidad
de Cornell - Estados Unidos.

Médico Veterinario -
Universidad de Utrecht,
Holanda.

Director de Calidad de los
Servicios de Producción de
Leche y Profesor de
Epidemiología y Salud del Hato,
Facultad de Medicina
Veterinaria, Universidad de
Cornell, Estados Unidos.

yschukken@cornell.edu
Estados Unidos

Ellen Schmitt-Van de Leemput
Paolo Moroni
Frank Welcome
Abhijit Gurjar
Mike Zurakowski
Carmen Gutierrez
Clinique Vétérinaire Haute Mayenne,
Mayenne, France.

Alejandro Ceballos
Instituto de Biotecnología Agrope-
cuaria, Universidad de Caldas,
Manizales, Colombia.

Ruth N. Zadoks
Moredun Research Institute, UK.
Universidad de Cornell, Estados
Unidos.

Nota: Traducción del texto original en inglés por Alejandro Ceballos M. Instituto de Biotecnología Agropecuaria, Universidad de Caldas. Manizales, Colombia.

Resumen

Los microorganismos causantes de mastitis se han clasificado tradicionalmente en contagiosos y ambientales. La distinción entre ambos grupos está basada en su comportamiento en los hatos lecheros. El patrón contagioso está caracterizado por la transmisión de vaca a vaca, mientras que el patrón ambiental está caracterizado por una transmisión del medioambiente a la vaca. Los patógenos contagiosos están típicamente más adaptados a la vaca y causan infecciones persistentes que no son usualmente severas. Los patógenos ambientales están considerados como

oportunistas, ellos causan infecciones transitorias pero clínicamente más severas. En esta presentación se discutirá la modificación de la clasificación tradicional entre especies bacterianas contagiosas y ambientales.

Muchas especies bacterianas tienen una gran variación genética y dentro de las especies existen cepas con sus propias características de infección y epidemiologías en la glándula mamaria del bovino y dentro del hato. Además, el manejo del hato juega un papel primordial para determinar si una infección intramamaria (IIM) puede resultar en múltiples infecciones en vacas susceptibles. Por consiguiente, se discute si la mastitis, contagiosa o ambiental, tiene el comportamiento característico que puede ser observado en la mayoría de las especies bacterianas. Para distinguir entre mastitis contagiosa y ambiental es necesario hacer una completa evaluación del hato. Para llegar a un diagnóstico adecuado es esencial el análisis de la información del hato y una valoración completa del riesgo y del perfil de las infecciones.

Abstract

Mastitis causing microorganisms are classically divided into contagious and environmental species. The distinction between these two types of microorganisms is their behavior in dairy herds. Contagious behavior is characterized by cow-to-cow transmission, whereas environmental behavior is

characterized by environment-to-ow transmission. The contagious microorganisms are typically more cow-adapted and cause persistent infections that are typically not clinically severe. Environmental organisms are considered opportunistic organisms that typically cause a transient but a more clinically severe case of mastitis. In this presentation we will discuss the disappearing distinction between contagious and environmental bacterial species. Many bacterial species have a large genetic variation and within a species many strains exist that have very different infection characteristics in the bovine mammary gland and epidemiological characteristics within a herd. Moreover, farm management plays a crucial role in determining whether an intramammary infection (IMI) will be able to result in multiple infections in susceptible herd mates. We therefore argue that contagious or environmental mastitis is a behavioral characteristic that may be observed in most bacterial species.

To distinguish between contagious and environmental mastitis, a more complete herd diagnosis is necessary. To come to the appropriate herd diagnosis, analysis of herd data, a full risk assessment and an evaluation of the IMI infection profile is essential.

Introducción

Muchos textos y cursos introductorios sobre mastitis dividen las causas de IIM en microorganismos contagiosos y ambientales (por ejemplo, vea la siguiente página en www.nmconline.org/articles/contagioso.htm). Los patógenos contagiosos clásicos son *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Mycoplasma spp.* El mayor reservorio para estos patógenos es la ubre infectada. Las infecciones se diseminan entre las vacas o entre los cuartos en el momento del ordeño por medio de los equipos contaminados, las manos del ordeñador o utensilios (por ejemplo: trapos y baldes) que son compartidos y usados en más de una vaca. Las infecciones tienden a ser persistentes (larga duración) y subclínicas con episodios clínicos intermitentes. La mastitis contagiosa está típicamente asociada con una disminución en la producción de leche y un incremento en el recuento de células somáticas (RCS) del tanque. Debido a que la transmisión de vaca a vaca es la fuente primaria de nuevas IIM, las prácticas de manejo deben recibir la atención de los programas de prevención para mastitis contagiosa, incluyendo procedimientos de ordeño, particularmente la desinfección de los pezones después del ordeño, la segregación

de las vacas infectadas, los tratamientos durante la lactancia y el secado, y los protocolos de descarte de las vacas con mastitis crónicas.

Los patógenos más comúnmente clasificados como ambientales son los coliformes y las especies de *Streptococcus* diferentes al *Streptococcus agalactiae*. La fuente primaria de los patógenos ambientales son los alrededores donde vive la vaca. La mastitis ambiental es más a menudo clínica que subclínica y está asociada con una infección a corto plazo que puede resultar en una pérdida sustancial de la producción de leche y aún la muerte. Las infecciones ambientales se originan a menudo en el período seco y son independientes de la presencia de otras vacas infectadas con el mismo patógeno. La mastitis ambiental ocurre a menudo en lecherías con un bajo RCS en el tanque. La implicación que tiene la fuente ambiental es que las prácticas de manejo en los programas de prevención deben enfocarse a mejorar la higiene en el ambiente de la vaca y optimizar su sistema inmune.

La implicación que tienen los patrones de transmisión contagiosa es que muchas de las IIM son debidas a la misma cepa bacteriana. En contraste, es más probable que en el

patrón ambiental cada IIM esté asociada con su propia cepa bien sea de coliformes o estreptococos (Zadoks and Schukken, 2006). No obstante, una sola fuente epidémica puede ser de origen ambiental, tal como se describió recientemente en una serie de brotes dentro de un hato causados por *Serratia marcescens*, debido a la contaminación del desinfectante para pezones (Schukken et al., 2012). Con el avance de los métodos de tipificación molecular para la identificación de bacterias al nivel de subespecies, la diferenciación entre brotes de IIM clonales y no clonales en lecherías se ha convertido en una herramienta factible de implementar en las evaluaciones rutinarias de brotes de mastitis (los brotes clonales se refieren a infecciones producidas por la misma cepa de bacterias dentro de una especie, mientras que los brotes no clonales son causados por diferentes cepas dentro de la misma especie bacteriana).

Con la disponibilidad de técnicas de diagnóstico cada vez más precisas, la distinción clásica entre mastitis contagiosa y ambiental parece que está desapareciendo. Una evaluación más detallada de los brotes causados por especies bacterianas clasificadas ordinariamente como ambientales muestra que estos brotes pueden tener características de patógenos contagiosos. Un ejemplo de esto es la ocurrencia de un brote de mastitis por

Klebsiella spp. en una lechería. Las especies de *Klebsiella* aisladas de la leche, heces y medio ambiente fueron comparadas usando la tipificación de DNA por amplificación aleatoria (RAPD-PCR). El primer brote de mastitis fue causado por una única cepa de *Klebsiella pneumoniae*, que fue detectada en la leche de ocho vacas. La misma cepa también fue aislada de las pezoneras de la máquina de ordeño después del ordeño de las vacas infectadas y de la cama en el establo donde ocurrió el brote (Munoz et al., 2007). La predominancia de una cepa única indicaría la transmisión contagiosa del organismo o la exposición de varias vacas a una única fuente ambiental (Zadoks and Schukken, 2006).

Cuando los autores implementaron los métodos de intervención dirigidos a la prevención de la transmisión, vía el equipo de ordeño y con un mejoramiento general de la higiene en el ambiente de las vacas, no hubo nuevos casos con la cepa inicial que se observó.

Un segundo brote de mastitis por *Klebsiella spp.*, que ocurrió varios meses después en la misma explotación, fue causado por múltiples cepas como fue evidenciado por la presencia de múltiples tipos de RAPD, lo que hizo descartar la transmisión contagiosa

e indicó que las infecciones oportunistas que se originaron del ambiente fueron la causa del problema (Munoz et al., 2007).

La técnica RAPD y otros medios de tipificación han mostrado ser útiles en distinguir los brotes clonales de los no clonales en mastitis por patógenos Gram-positivos y Gram-negativos (Sommerhauser et al., 2003; Munoz et al., 2007; Schmitt-Van de Leemput et al., 2011; Schukken et al., 2011).

La esencia de este ejemplo es que algunas cepas bacterianas, dentro de las diferentes especies, llegan a exhibir patrones de infección contagiosos mientras que otras cepas muestran patrones de transmisión ambiental. La consecuencia de este hallazgo es que se necesita pensar en la definición clásica basada en mastitis contagiosa y ambiental. La situación real es que cualquier especie bacteriana puede estar asociada con patrones de transmisión, bien sea contagioso o ambiental en una lechería determinada (Zadoks et al., 2011). La consecuencia es que el programa de control óptimo para las IIM en una lechería específica no depende, entonces, de la especie que causa las infecciones, sino del patrón de transmisión de las cepas bacterianas causantes de las mismas.

Se argumenta que el patrón de transmisión de las bacterias que causan IIM puede ser evaluado usando las siguientes tres formas de evaluación disponibles en el hato: 1) un análisis de los datos del RCS y mastitis clínica, 2) un completo estudio de los principales factores de riesgo reportados en la literatura y 3) el perfil de la IIM, basándose en los resultados del cultivo y tipificación de las cepas de bacterias presentes en el hato. Con el uso de estos tres componentes en la evaluación del hato puede lograrse el diagnóstico de mastitis contagiosa o ambiental. En este trabajo se describen los tres componentes básicos y claves para la investigación de casos de mastitis en hatos lecheros.

1. Análisis de los datos

El análisis de los datos del hato es un importante primer paso en el diagnóstico de los patrones de transmisión. Preferiblemente, los datos individuales del RCS y la ocurrencia de mastitis clínica deben estar disponibles para el análisis. Con esta información pueden obtenerse probablemente los patrones de transmisión. Características importantes de un patrón de transmisión contagioso son la duración prolongada de las IIM, una elevación relativa del RCS en el tanque, la ocurrencia de múltiples casos de mastitis en un solo cuarto, una elevación del RCS en los meses previos a la ocurrencia de la mastitis

clínica y una correlación positiva entre la prevalencia de infecciones existentes (crónicas) y el riesgo de nuevas infecciones con el mismo patógeno.

Las características más importantes del patrón de transmisión ambiental son la duración relativamente corta de las IIM, un bajo RCS del tanque, una alta incidencia de casos clínicos sin la presencia concomitante de IIM de larga duración, bajo RCS individual antes de la ocurrencia del caso clínico, una alta incidencia de IIM y signos clínicos inmediatamente después del parto, y la ausencia de una correlación entre la prevalencia de infecciones existentes (crónicas) y el riesgo de nuevas infecciones.

La mayoría de las características de las infecciones men-

cionadas pueden ser evaluadas a partir de los datos disponibles en muchas lecherías. Particularmente, el RCS individual es de alto valor. En la **Figura 1** se muestra el riesgo de curación para un elevado RCS. En este hato, el riesgo de curación promedio es 25%. Esto implica que, en promedio, la duración de la infección en este hato, que es igual a $1/\text{riesgo de curación}$, es 4 ($1/0,25$) períodos de medición del RCS o aproximadamente 120 días (4 meses). Esto es una larga duración para el RCS, e implica ciertamente que la probabilidad de transmisión contagiosa en dicho hato es alta.

En muchos hatos sin transmisión contagiosa, el riesgo de curación es superior al 50%, indicando en promedio una duración del RCS elevado por debajo de dos meses ($1/0,50$).

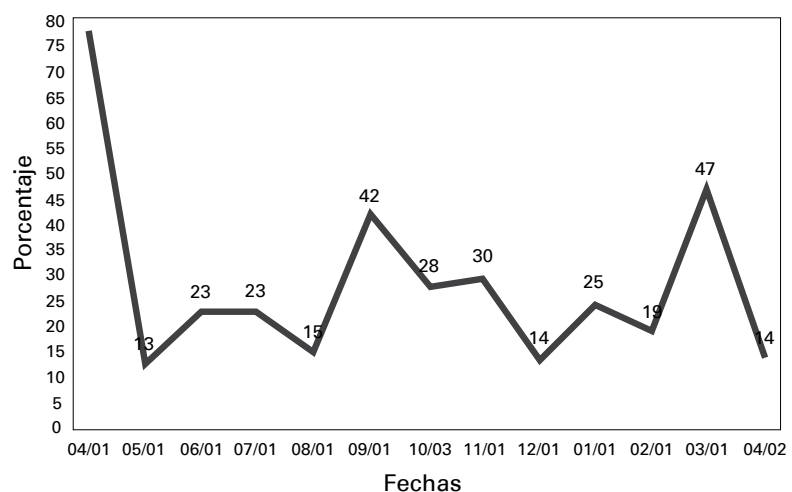


Figura 1. Tasa de curación por mes para el elevado RCS. Se asume un elevado RCS a un punto de corte de 200.000 células por mililitro.

Otro análisis importante, para entender el patrón de transmisión de las infecciones, es el análisis de regresión entre el porcentaje de vacas con una nueva elevación del RCS según el día del test (control lechero) y el porcentaje de vacas con elevación crónica del RCS también según el mismo día del test o control lechero. La ecuación de la regresión sería entonces:

% de nuevas elevaciones del RCS = intercepto + β x % elevaciones crónicas en el RCS + error.

Dos ejemplos de estas regresiones se muestran en la **Figura 2**, donde uno de los hatos muestra claramente un patrón de infección contagioso y el segundo hato muestra un patrón de infección ambiental.

2. Valoración del riesgo

La segunda fuente de información para hacer el diagnóstico, a nivel del hato, del patrón predominante de infección es la valoración

cuidadosa de los factores de riesgo en la lechería. Recientemente hemos desarrollado una herramienta de evaluación del riesgo que está basada en los factores de riesgo para mastitis que han sido identificados en la literatura. Una fuente valiosa en este trabajo ha sido una revisión reciente hecha por Dufour et al. (2011).

El análisis de riesgo en sanidad mamaria incluye seis categorías entre las cuales están: bioseguridad, procedimientos de ordeño, evaluación del equipo de ordeño, tratamiento de las IIM, higiene de las vacas e instalaciones y, finalmente, manejo de la susceptibilidad. En cada una de estas categorías se usa, para la evaluación, una combinación de preguntas estilo cuestionario, con las observaciones y las mediciones hechas en campo. Las respuestas están estandarizadas de forma tal que son ingresadas en un sistema de puntaje que al final entrega una calificación. Para cada una de las seis categorías, un puntaje general basado en la opinión del asesor es incluido también.

Esto último es de valor para los productores, ya que muchos de ellos son conscientes de los factores de riesgo claves en los programas de sanidad mamaria y en muchos hatos están practicándose las mejores medi-

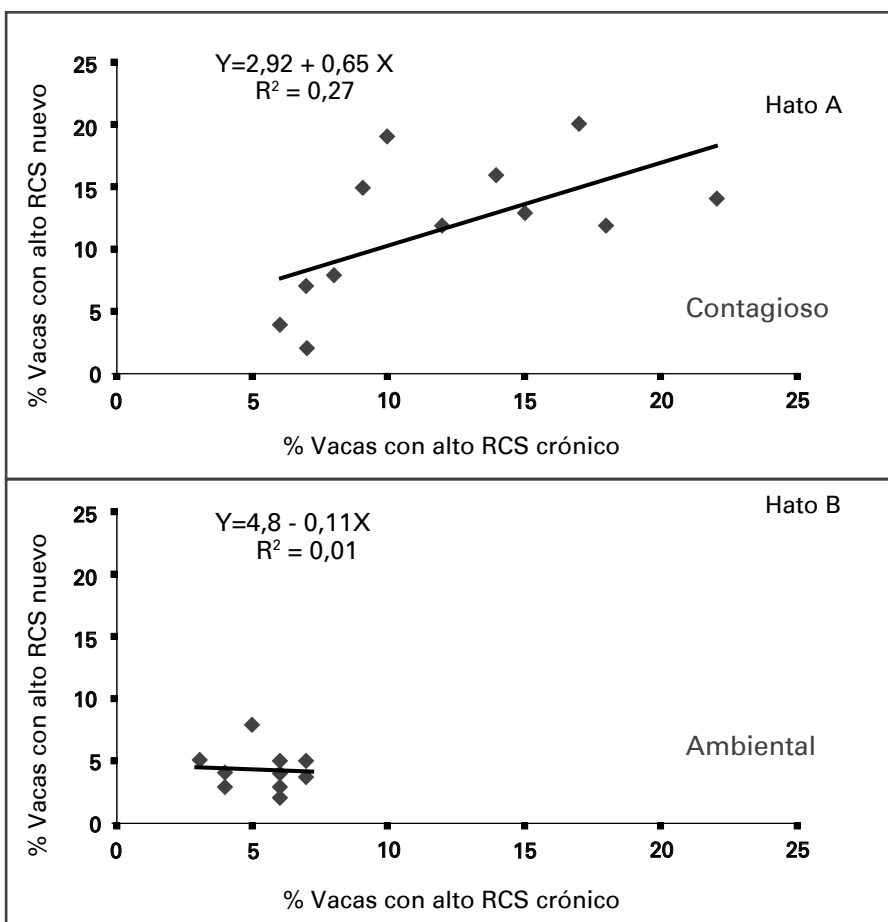


Figura 2.

Análisis de regresión del porcentaje de vacas con nuevas elevaciones del RCS sobre el porcentaje de vacas con elevaciones crónicas del RCS para los mismos días en control lechero. El Hato A muestra una correlación positiva entre las infecciones crónicas y las nuevas infecciones, lo que es indicativo de un patrón de infección contagioso. El Hato B muestra una correlación negativa entre las infecciones crónicas y las nuevas, indicando un patrón de transmisión ambiental.

das de manejo identificadas para programas de sanidad mamaria. Sin embargo, la calidad actual en la implementación de las mejores prácticas de manejo, difiere sustancialmente entre hatos. Por ejemplo, muchos hatos indican estar utilizando la desinfección de pezones después del ordeño; sin embargo, en muchos de ellas la calidad de la cobertura del pezón con el desinfectante es relativamente pobre. De aquí que, aunque en el hato se aplique una norma conocida para el control de mastitis, el puntaje asignado por el asesor para el factor procedimientos de ordeño será relativamente bajo en hatos con una pobre ejecución de estas prácticas de manejo.

En la **Tabla 1** se muestra un ejemplo del puntaje para valoración del riesgo. El resultado final de la valoración del riesgo es un puntaje total (71% en este ejemplo) y otros específicos para cada uno de las seis áreas de riesgo. El puntaje es proporcional, de tal forma que 100% es

un puntaje perfecto (bajo riesgo) y 0% es extremadamente bajo (alto riesgo de mastitis). Una codificación con color es entregada para una rápida evaluación del riesgo en el hato. En el ejemplo que se presenta en la **Tabla 1**, el hato tiene dos áreas de riesgo: la bioseguridad y el equipo de ordeño. Los problemas de bioseguridad en esta finca fueron la compra de animales de reemplazo sin tener un plan para la evaluación de patógenos mamarios que pudieran ingresar al hato.

El perfil de riesgo para el equipo de ordeño consistió de una alteración en la fase D del ordeño, en un número determinado de los pulsadores, debido a la obstrucción del orificio para la entrada de aire y la ausencia de un plan para las visitas de mantenimiento regular del equipo. Como puede observarse, el hato tiene un alto riesgo para patrones de infección contagiosa.

3. Perfil de las Infecciones

El perfil de infección del hato consiste en la distribución de los microorganismos identificados como causantes de las IIM y en las características específicas de las bacterias. La distribución de las especies bacterianas involucradas en las IIM es la primera indicación del patrón de infección predominante en el hato. Por ejemplo, si muchas especies están involucradas, esto sugiere un problema ambiental, como se indicó en la introducción. Sin embargo, la presencia de cualquier especie bacteriana en forma individual no es información suficiente para hacer un diagnóstico de hato sobre el patrón de transmisión de las infecciones.

El hallazgo de un animal positivo a *Strep. agalactiae* no necesariamente implica un problema de mastitis contagiosa, mientras que muchos casos clínicos causados por *Klebsiella spp.* no necesariamente implican que haya un problema ambiental de mastitis (Zadoks et al., 2011).

Los métodos de diagnóstico molecular pueden ayudar a identificar cepas particulares de patógenos causantes de mastitis distinguiendo entre los patrones de infección clonal y no clonal (Zadoks & Schukken, 2006). Los mismos métodos de diag-

Categoría de riesgo	Puntaje	Patrón de infección	Aspectos clave
Bioseguridad	31%	Contagioso	Compra de animales sin analizar
Procedimientos de ordeño	82%	Contagioso	Excelente procedimiento en sellado de pezones
Equipo de ordeño	55%	Contagioso	Fase D corta, no hay plan para mantenimiento
Tratamientos	70%	Ambos	Buenas prácticas ganaderas, no hay protocolo de tratamiento para mastitis subclínica
Higiene/Instalaciones	69%	Ambiental	Puntaje moderado para la higiene
Manejo de la susceptibilidad	82%	Ambiental	Buena nutrición, plan de mejoramiento
Riesgo general para el hato	71%		Resumen general del puntaje

Tabla 1.

Resultado del análisis de los factores de riesgo para mastitis en un hato lechero.

nóstico molecular pueden ser también usados para identificar la persistencia de infección en el cuarto a través del tiempo. Las IIM persistentes son más probables que se diseminen entre los cuartos de la misma vaca o entre diferentes vacas y muestren un patrón de transmisión contagiosa. Por consiguiente, la identificación de IIM persistentes o cepas que tiene más capacidad de causar infección persistente, es de gran importancia.

Haveri et al. (2007) evaluaron los genes de virulencia en *Staph. aureus* que fueron identificados en infecciones intramamarias persistentes y no persistentes. Los autores se propusieron evaluar si existía una posible relación entre el perfil genético y la persistencia de infección, los signos clínicos, el tipo clonal determinado mediante electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) y la resistencia antimicrobiana. Las cepas portadoras del gen codificador de PTSAg fueron comunes entre los tipos PFGE predominantes y en las IIM persistentes.

Las cepas portadoras de los genes *sed*, *sej*, y *blaZ*, a menudo en combinación con resistencia a la penicilina, se encontraron en conexión con las IIM persistentes. El hallazgo de que las cepas de *Staph. aureus* causan IIM persistentes pueden ser identificadas basándose en el mapeo genético y puede ser usado para el

diagnóstico de cepas específicas. Finalmente, tal diagnóstico de cepas específicas necesitaría estar en conexión con intervenciones específicas por parte del productor.

Otra aplicación importante del diagnóstico molecular es la diferenciación de patrones de transmisión de la infección clonales y no clonales. Entregamos un ejemplo de ambos patrones.

La Figura 3 muestra un brote clonal de IIM causado por *Strep. uberis* en un hato en el estado de New York. Lo que significa que el brote de mastitis fue causado por la misma cepa bacteriana dentro de la especie *Strep. uberis*. Este hato tuvo un brote inicial de mastitis clínica con predominancia de *Strep. uberis* aislado de los casos clínicos. El análisis de los datos y la valoración del riesgo en el hato apuntaron

hacia un elevado riesgo de transmisión, particularmente durante el ordeño. Las vacas identificadas como infectadas no fueron separadas de las vacas sanas y la desinfección post ordeño fue hecha con un sistema de rociado (aerosol) con una pobre cobertura del pezón con el desinfectante. Las mediciones dinámicas en el equipo de ordeño mostraron que había una alta fluctuación del vacío en la punta del pezón. Este problema fue causado por una baja reserva efectiva relativa al tamaño de la sala de ordeño. En este hato, el análisis de datos, la valoración del riesgo y el perfil de infección llevaron hacia el diagnóstico de un tipo de transmisión contagiosa.

La Figura 4 muestra un patrón no clonal de aislamientos de *Staph. aureus* en una lechería. Lo anterior significa que el brote de mastitis fue cau-

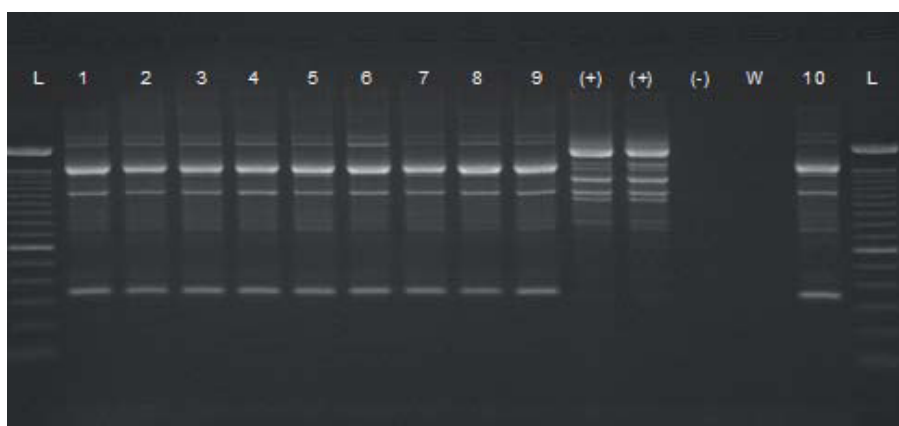


Figura 3. RAPD gel que muestra un brote clonal de *Streptococcus uberis* en 10 vacas, en un hato en el estado de New York. Los aislamientos de *Strep. uberis* de los casos de mastitis en el hato están en las líneas 1-10. Las líneas codificadas con (+), (-) y L son los controles positivos y negativos y la escalera de DNA, respectivamente. W es un control negativo con agua únicamente.

sado por diferentes cepas dentro de la especie de *Staph. aureus*. Los aislamientos provienen de una lechería con un bajo RCS en el tanque, con una duración de la infección de aproximadamente dos meses, un bajo riesgo de infección (cercano al 5%), y casos de mastitis clínica principalmente después del parto. En el hato hay un excelente manejo, según lo revela el puntaje de valoración del riesgo (85%), ya que ninguno de los seis puntos de análisis tiene un puntaje por debajo de 75%. El perfil de infección mostró una gran variedad de especies bacterianas causantes las IIM, sin una especie única como predominante. Entre las especies bacterianas hubo relativamente un mayor número de aislamientos de *Staph. aureus*, y dada la clásica conexión entre el *Staph. aureus* y la transmisión contagiosa, el propietario estaba preocupado acerca de un potencial brote de mastitis causado por este patógeno. La identificación molecular de los gérmenes aislados mostró un patrón de infección no clonal y, posteriormente, se confirmó el diagnóstico de que el hato apuntaba hacia un patrón ambiental en la transmisión de la infección.

Discusión y conclusiones

El diagnóstico, en el ámbito del hato, para los casos de mastitis contagiosa o ambiental solamente puede hacerse con

certeza cuando las tres fuentes de información son estudiadas y analizadas en detalle. Las fuentes de información incluyen datos sobre la sanidad de la ubre, una cuidadosa valoración de los factores de riesgo para la salud de la ubre y el perfil de las IIM del hato. Una detallada descripción de los brotes de infección, de múltiples clases de bacterias, ha dejado en evidencia que cualquier especie puede mostrar características de patrones de transmisión contagiosa o ambiental. En consecuencia, la simple identificación de las especies bacterianas que hay en el hato no es suficiente para un diagnóstico de los patrones de transmisión de la infección en el mismo. Diferentes brotes clonales de patógenos Gram-negativos, considerados ordinariamente como ambientales, y no clonales causados por bac-

terias Gram-positivas, clásicamente consideradas como contagiosas, fueron descritos.

Basados en el diagnóstico en el ámbito del hato, los programas de prevención específicos pueden ser sugeridos al productor. El programa a elegir dependerá de las fuentes y rutas de transmisión de las especies dominantes, causantes de las IIM en el hato. En la situación de un patrón de infección contagioso, los procedimientos de ordeño óptimos, el mantenimiento del equipo de ordeño ajustado a los estándares ISO, la segregación, la aplicación de las normas de bioseguridad, los tratamientos dirigidos y el descarte de los animales infectados crónicamente son recomendables. En la situación de patrones de infección ambientales, los factores de riesgo como la higiene de los animales y de la punta



Figura 4. RAPD gel que muestra un patrón no clonal para *Staph. aureus* en 12 vacas en una lechería en el estado de New York. Los aislados de las vacas con mastitis por *Staph. aureus* en este hato están en las líneas identificadas con las letras A hasta la K. Las líneas codificadas con L y W son la escalera del DNA y un control negativo con agua, respectivamente.

del pezón, la calidad de las instalaciones, el tratamiento de los animales afectados y el manejo de la susceptibilidad de los animales requieren ser evaluados y optimizados. Ya que cada uno de estos programas de control es potencialmente costoso, es esencial que se haga inicialmente un correcto diagnóstico del hato.

Aquí hemos descrito que el patrón contagioso o ambiental es un diagnóstico del hato y no una característica de las especies bacterianas.

Referencias

- Dufour, S., Fréchette, A., Barke-
ma, H.W., Mussell, A. & Scholl,
D.T. (2011). Effect of udder health
management practices on herd
somatic cell count. *Journal Dairy
Science*, 94, 563-579.
- Haveri, M., Roslöf, A., Rantala, L.
& Pyörälä, S. (2007). Virulence
genes of bovine *Staphylococcus
aureus* from persistent and non-
persistent intramammary infec-
tions with different clinical cha-
racteristics. *J Appl Microbiol.*,
10, 993-1000.
- Munoz, M.A., Welcome, F.L.,
Schukken, Y.H. & Zadoks, R.N.
(2007). Molecular epidemiology
of two *Klebsiella pneumoniae*
mastitis outbreaks on a dairy
farm in New York State. *J. Clin.
Microbiol.*, 45, 3964-3971.
- National Mastitis Council - NMC
(2012). *Contagioso mastitis fact
sheet*. Extraído el 25 marzo de
2012 de:
[www.nmconline.org/articles/co
ntagioso.htm](http://www.nmconline.org/articles/co
ntagioso.htm).
- Schmitt-Van de Leemput, E.,
Alain, M., Guidarini, C.,
Schukken, Y.H. & Zadoks, R.N.
(2011). *Identification of the
transmission route of Strep-
toccus uberis in a dairy herd:
Are dynamic measurement
and genotyping useful techni-
ques?* Ponencia presentada
en Proceedings of the Euro-
pean Buiatrics meeting, Mar-
seille, France.
- Schukken Y.H., Bennett G.J.,
Zurakowski M.J., Sharkey
H.L., Rauch B.J., Thomas M.J.,
Ceglowski, B., Saltman, R.L.,
Belomestnykh, N. & Zadoks,
R.N. (2011). Randomized clini-
cal trial to evaluate the efficacy of
a 5-day ceftiofur hydrochloride
intramammary treatment on
nonsevere gram-negative
clinical mastitis. *Journal Dairy
Science*, 94, 6203-6215.
- Schukken, Y.H., Chuff, M.,
Moroni, P., Gurjar, A.A., Wel-
come, F.L. & Zadoks, R.N.
(2012). *The 'Other' Gram-
Negative bacteria: Klebsiella,
Serratia and more*. Vet Clinics
North America.
- Sommerhäuser, J., Kloppert,
B., Wolter, W., Zschöck, M.,
Sobiraj, A. & Failing, K. (2003).
The epidemiology of *Staphylo-
coccus aureus* infections from
subclinical mastitis in dairy
vacas during a control
programme. *Vet. Microbiol.*,
96, 91-102.
- Zadoks, R.N. & Schukken,
Y.H. (2006). Use of molecular
epidemiology in veterinary
practice. *Vet. Clin. North Am.
Food Anim. Pract.*, 22, 229-
261.
- Zadoks, R.N., Middleton, J.R.,
McDougall, S., Katholm, J., &
Schukken, Y.H. (2011). Mole-
cular epidemiology of masti-
tis pathogens of dairy cattle
and comparative relevance
to humans. *J. Mammary
Gland Biol. Neoplasia*, 16,
357-72.