

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**  
**ANTONIO NARRO**  
**UNIDAD LAGUNA**  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**Infección intramamaria en bovinos lecheros**  
***Staphylococcus aureus***

Por:

**Gilberto Galván Fajardo**

**MONOGRAFÍA**

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Torreón, Coahuila, México  
Junio 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**Infección intramamaria en bovinos lecheros**  
***Staphylococcus aureus***

Por:

**Gilberto Galván Fajardo**

**MONOGRAFÍA**


Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Aprobada por:

  
MC. Aracely Zuñiga Serrano  
Presidente

  
IZ. Jorge Horacio Borunda Ramos  
Vocal

  
Dra. María Guadalupe de la Fuente Salcido  
Vocal

  
MC. José Luis Francisco Sandoval Elias  
Vocal

  
MC. José Luis Francisco Sandoval Elias  
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México  
Junio 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**Infección intramamaria en bovinos lecheros**

***Staphylococcus aureus***

Por:

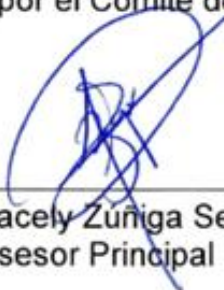
**Gilberto Galván Fajardo**

**MONOGRAFÍA**


Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Aprobada por el Comité de Asesoría:



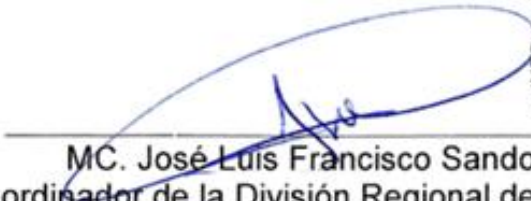
MC. Aracely Zúñiga Serrano  
Asesor Principal



IZ. Jorge Horacio Burunda Ramos  
Coasesor



Dra. María Guadalupe de la Fuente Salcido



MC. José Luis Francisco Sandoval  
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México  
Junio 2024

# Índice

|   |     |
|---|-----|
| Índice.....   | i   |
| Resumen.....  | iii |
| Introducción.....                                   | 1   |
| 1. Glándula mamaria.....                            | 2   |
| 2. Mastitis por estafilococos.....                  | 2   |
| 3. Etiología y Características bacteriológicas..... | 3   |
| 4. Transmisión.....                                 | 4   |
| 5. Patogenia.....                                   | 5   |
| 5.1. Mastitis.....                                  | 5   |
| 5.2. Factores de aglutinación.....                  | 7   |
| 5.3. Proteína familiar A ( <i>SarA</i> ).....       | 8   |
| 5.4. Factor del complemento <i>C4</i> .....         | 9   |
| 5.5. Leucocidina <i>LukF-P83/LukM</i> .....         | 9   |
| 6. Diagnóstico.....                                 | 9   |
| 7. Tratamiento.....                                 | 10  |
| 7.1. Antimicrobianos y Resistencia.....             | 12  |
| 7.1.1. Penicilina.....                              | 13  |
| 7.1.2. Meticilina.....                              | 13  |
| 7.1.3. Tetraciclina.....                            | 14  |
| 7.1.4. Trimetoprim.....                             | 14  |
| 7.1.5. Estreptomina y Lincosamida.....              | 14  |
| 7.1.6. Linezolid.....                               | 14  |
| 7.1.7. Lisostafina.....                             | 15  |
| 7.2. Ácido úsnico.....                              | 15  |
| 7.3. Aditivos alimenticios.....                     | 15  |
| 8. Prevención.....                                  | 16  |
| 8.1. Prácticas de manejo.....                       | 16  |
| 8.2. Vacunación.....                                | 16  |

|                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| 9. Zoonosis.....                    | 18 |
| 9.1. Endoftalmitis.....             | 18 |
| 9.2. Intoxicación alimenticia ..... | 19 |
| 10. Literatura citada.....          | 21 |

## Resumen

*Staphylococcus aureus* suele afectar a un amplio rango de hospederos incluyendo al hombre, animales de compañía, animales de granja y aves de corral. La mastitis es la enfermedad más prevalente reportada en el ganado lechero, además de ser la segunda causa de muerte y la razón de mayor peso para el sacrificio de las vacas. La mastitis ocasionada por *S. aureus* puede ir desde una infección local leve hasta la mastitis gangrenosa fulminante. A pesar del uso de los mejores tratamientos, los rangos de curación no superan el 50%. La leche es un alimento de alto contenido nutricional; sin embargo, representa un gran riesgo de salud para sus consumidores debido a la presencia de patógenos zoonóticos. Los microorganismos patógenos presentes en la leche pueden provenir directamente de animales afectados con mastitis infecciosa, un problema altamente prevalente en la industria de producción lechera.

**Palabras clave:** *Staphylococcus aureus*, Mastitis, Factores de virulencia, Tratamiento, Zoonosis

## Abstract:

*Staphylococcus aureus* usually affect a wide range of hosts including humans, companion animals, livestock and poultry. Mastitis is the most prevalent disease reported in dairy cattle, besides being the second leading cause of death and the most significant reason for the slaughter of cows. Mastitis caused by *S. aureus* can range from mild local infection to fulminant gangrenous mastitis. Despite the use of the best treatments, cure ranges do not exceed 50%. Milk is a food of high nutritional content; however, represents a major health risk to consumers due to the presence of zoonotic pathogens. Pathogens in milk may come directly from animals affected with infectious mastitis, a highly prevalent in the dairy industry problem.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, Mastitis, Virulence factors, Treatment, Zoonoses

## Introducción

*Staphylococcus aureus* suele afectar a un amplio rango de hospederos incluyendo al hombre, animales de compañía (perros, gatos y caballos), animales de granja (cabras, cerdos y vacas); así como a aves de corral (pollos y pavos) (Xue *et al.*, 2011).

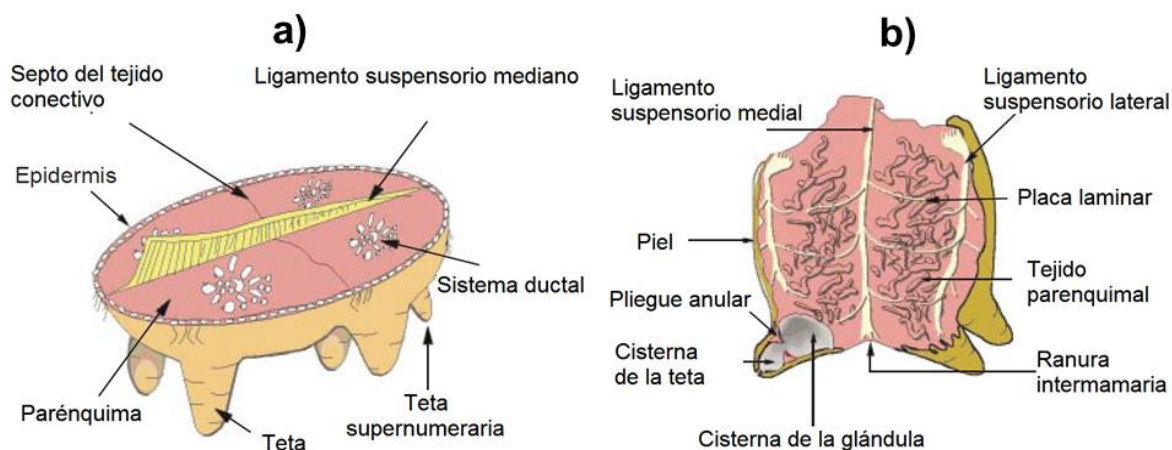
Las infecciones estafilocócicas son de gran importancia en medicina humana y veterinaria. *S. aureus* es un residente o colonizador de la piel y las mucosas (Pantosti, 2012) y también es uno de los agentes etiológicos más comúnmente encontrados en la mastitis bovina (Schlotter *et al.*, 2012).

De acuerdo con el Sistema Nacional de Monitoreo de Salud Animal (NAHMS, por sus siglas en inglés) la mastitis es la enfermedad más prevalente reportada en el ganado lechero, además de ser la segunda causa de muerte y la razón de mayor peso para el sacrificio de las vacas (Rowson *et al.*, 2011).

A pesar de los avances en cuanto al manejo, prevención y tratamiento, se reporta un 26% de morbilidad en los establos lecheros de los Estados Unidos a causa de la mastitis, haciendo de esta la más prevalente y costosa enfermedad en el ganado lechero; así mismo, se encontró que el patógeno contagioso más prevalente en el 43% de los tanques muestreados fue *S. aureus*. Dependiendo del estado de lactancia, costo de reemplazos, servicios veterinarios y el precio de la leche, se calcula que el costo derivado de la mastitis representa el 6% del valor de la producción. Se estima que entre el 70 – 80% de esta pérdida se debe a las infecciones intramamarias sub-clínicas ocasionadas por microorganismos como el *S.aureus* (Walker *et al.*, 2011).

## 1. La glándula mamaria

La glándula mamaria se desarrolló en todas las especies de mamíferos para alimentar a los jóvenes recién nacidos. En los animales lecheros, como la vaca, a través de la selección genética, la glándula mamaria o ubre (figura 1) rinde ahora mucho más leche de la que un ternero puede consumir y cantidades mucho mayores para las cuales el órgano original fue diseñado para producir. Desde un punto de vista económico, la vaca lechera es el más importante productor de leche de los animales; sin embargo, una mayor producción de leche impone tensiones no naturales en la ubre bovina, aumentando el riesgo de mastitis (Nickerson y Akers, 2002).



**Figura 1.** Diagrama modificado en el que puede observarse la anatomía macroscópica de la ubre (Nickerson y Akers, 2002).

## 2. Mastitis por estafilococos

De acuerdo con la clasificación de enfermedades en el ganado lechero, la mastitis ocupa el primer lugar, esto basado en pérdidas económicas. *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* son los dos mayores patógenos causantes de este padecimiento. La mastitis por *E. coli* tiene una presentación clínica y es de corta duración (10 días); en contraste, la ocasionada por *S. aureus* puede tener diferentes grados de severidad que puede ir desde una infección local leve hasta la mastitis gangrenosa fulminante, que incluye la presentación de signos nerviosos (Gilbert *et al.*, 2013).

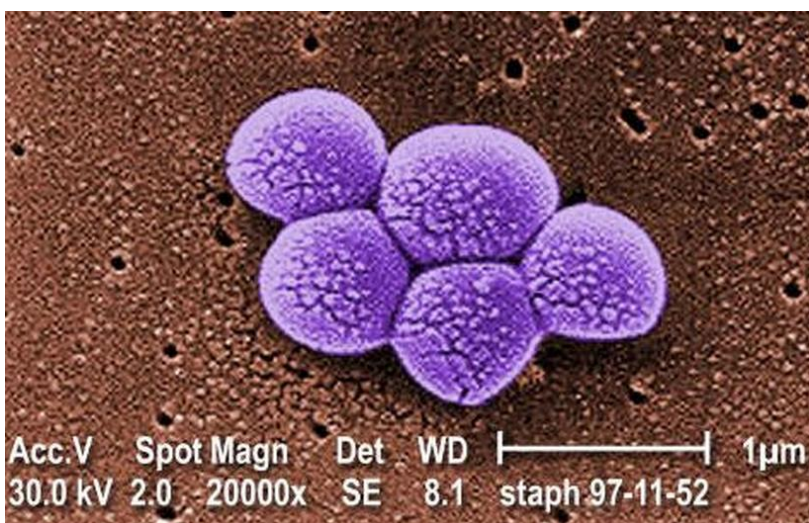


En el ganado bovino lechero, *Staphylococcus aureus* está implicada principalmente en infecciones intramamarias en la etapa de lactancia. *S. aureus* representa el 25 – 30% de estas infecciones. Aunque a menudo suelen ser subclínicas, las infecciones causan pérdidas económicas considerables, en particular las pérdidas de leche, que varían entre un 10 – 25% del rendimiento total según la intensidad de inflamación y la etapa de lactancia (Gyles *et al.*, 2010).

Los fracasos del tratamiento (no causados por la resistencia adquirida a los antimicrobianos) son particularmente altos en vacas multíparas con más de un cuarto infectado. Las recurrencias son frecuentes, y el sacrificio es comúnmente la única solución. La mastitis por *S. aureus* puede ser clínica o subclínica, en su forma clínica, la enfermedad puede variar de una forma hiperaguda severa a una forma muy leve sin signos generales de infección. La forma hiperaguda o gangrenosa puede resultar en una enfermedad general grave. Si el tratamiento de la infección aguda no se realiza correctamente, la reacción se vuelve crónica. Esta reacción también puede ocurrir crónica subclínica (Gyles *et al.*, 2010).

### **3. Etiología y Características bacteriológicas**

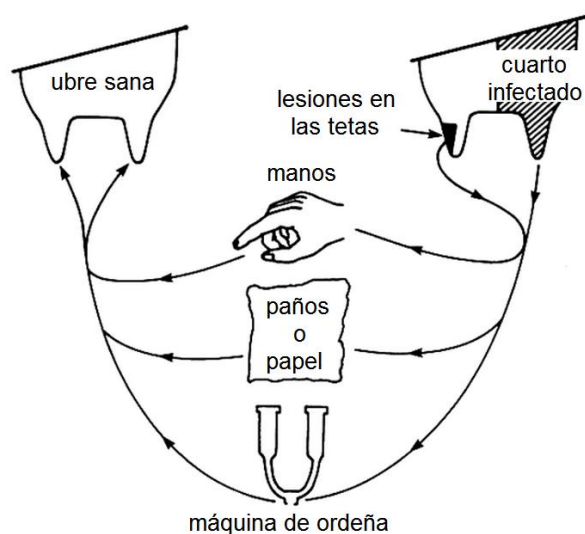
*S. aureus* (figura 2) es una bacteria Gram-positiva en forma de coco (0,5 - 1,5  $\mu$  m de diámetro) pueden encontrarse solos, en pares, tétradas, cadenas cortas (tres o cuatro células) o acinos irregulares. Se conocen más de 50 especies y subespecies, y nuevos taxones y nombres siguen siendo descritos (Gyles *et al.*, 2010). Es una bacteria altamente adaptativa y versátil (Xue *et al.*, 2011), es una especie comensal que coloniza la mucosa y la piel adyacente al ojo (Suzuki *et al.*, 2011) y puede sobrevivir durante largo periodos de tiempo en el polvo (van Cleef *et al.*, 2011). Tiene la capacidad de adquirir hierro, un nutriente esencial para la bacteria, a partir de la lisis de los eritrocitos la cual es producida por una hemolisina, la hemolisina es liberada y se une a un receptor de la bacteria (Pantosti, 2012).



**Figura 2.** Micrografía electrónica en la que se puede observar a *S. aureus* (CDC, 2013).

#### 4. Transmisión

El principal nicho y mayor reservorio de *S. aureus* es la fosa nasal del ser humano y el segundo lugar, lo pudieran ocupar las vacas (Sakwinska *et al.*, 2011a). La transmisión del microorganismo ocurre principalmente durante la ordeña a través del contacto con equipo de ordeña, así como con la ropa y/o las manos de los ordeñadores contaminados (figura 3)(Regassa *et al.*, 2010; Sakwinska *et al.*, 2011b).



**Figura 3.** Propagación de las bacterias causantes de mastitis (FAO, 1989).

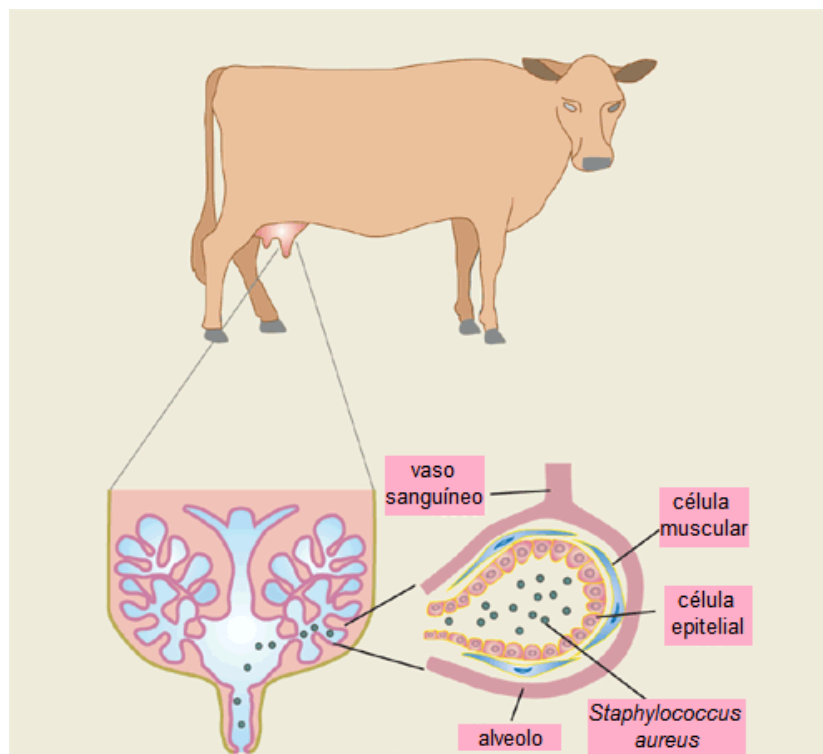
## 5. Patogenia

*S. aureus* se adapta a diferentes hospederos animales mediante mecanismos determinados genéticamente, los cuales apenas empiezan a ser comprendidos. En algunos casos la especificidad de hospedero es determinada por una afinidad selectiva de ciertos receptores de la bacteria hacia las proteínas de su hospedero predilecto. Cuando *S. aureus* logra invadir al hospedero, tiene la capacidad de causar una gran variedad de infecciones, las cuales pueden ir desde una ligera infección en la piel hasta una infección invasiva que pone en riesgo la vida del hospedero (Pantosti, 2012).

### 5.1. Mastitis

La mastitis bovina es la inflamación de la glándula mamaria, generalmente es ocasionada por patógenos tales como *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* y *Staphylococcus aureus* (Zadoks y Fitzpatrick, 2009) e implica grandes pérdidas económicas debidas a los altos costos de tratamiento, pérdidas por sacrificio, muertes y disminución de la producción de leche (Yang *et al.*, 2012). En el ganado bovino lechero, *S. aureus* es el responsable de una tercera parte de los casos de mastitis subclínica (Sakwinska *et al.*, 2011b).

Aunque el *S. aureus* es una habitante natural de la piel y mucosas de los bovinos, este puede llegar a infectar el tejido de la glándula mamaria (figura 4), provocando mastitis (Stutz *et al.*, 2011). *S. aureus* puede provocar mastitis clínica, pero con mayor frecuencia es causa de infecciones sub-clínicas, las cuales tienden a llegar a ser crónicas y difíciles de erradicar mediante terapias antimicrobianas convencionales (Chen *et al.*, 2012).



**Figura 4.** Diagrama modificado, en el que se puede observar que el estafilococo entra a través del canal de la teta y utilizar la leche como un nutriente para su multiplicación y como vehículo para diseminarse por los ductos y los alveolos (Rainard, 2005).

Algunos estafilococos que sobreviven dentro de los neutrófilos forman colonias variantes o formas L, las cuales invaden las células epiteliales mamarias formando micro abscesos produciendo fibrosis, lo cual contribuye a la pobre respuesta en los procesos crónicos (Barkema *et al.*, 2006).

La frecuente incapacidad tanto de los antibióticos como de la respuesta inmune para prevenir la infección y destruir al patógeno en el medio ambiente intramamario explica porque la mastitis bovina constituye uno de los mayores retos en las establos lecheros (Chen *et al.*, 2012).

Existe variación en las cepas de *S. aureus* que ocasionan la mastitis dentro de un establo y entre los establos, esto tiene importantes consecuencias al momento de comparar la curación de los animales en un mismo establo y también durante un experimento, esto puede tener importantes consecuencias al momento de determinar la curación (Barkema *et al.*, 2006).

Estudios de epidemiología molecular sugieren que las diversas cepas de *S. aureus* difieren en cuanto a su capacidad para causar infección intramamaria (Schlotter *et al.*, 2012).

Se ha encontrado que existen diferentes factores de virulencia tales como la producción de enzimas y toxinas, incluyendo exotoxinas tales como las enterotoxinas estafilocócicas (SE, por sus siglas en inglés), las toxinas causantes del síndrome de choque tóxico (TSST, por sus siglas en inglés), exoenzimas, adhesinas, coagulasas, leucocidinas, así como otros numerosos componentes asociados a la célula, los cuales contribuyen de manera directa en causar la infección o facilitar la penetración tisular (cuadro 1) (Chen *et al.*, 2012; Schlotter *et al.*, 2012).

**Cuadro 1.** Ejemplos de adhesinas y sus receptores (Schaechter y Lederberg, 2004).

| Organismo             | Adhesina        | Receptor       | Forma del receptor <sup>a</sup> | Enfermedades asociadas   |
|-----------------------|-----------------|----------------|---------------------------------|--|
| <i>Staphylococcus</i> | FnbA, FnbB      | Fibronectina   | ECM                             | Lesiones en la piel, faringitis, neumonía, endocarditis, síndrome de choque tóxico, intoxicación alimenticia |
|                       | Can             | Colágeno       | ECM                             |  |
|                       | Protein A (Spa) | von Willebrand | GP                              |  |
|                       | ClfA            | Fibrinógeno    | ECM                             |  |
|                       | EbpS            | Elastina       | ECM                             |  |

<sup>a</sup>P, interacción proteína-proteína; GP, interacción con glicoproteínas; GL, glicolípidos; ECM, proteínas de matriz extracelular

## 5.2. Factores de aglutinación

La unión del estafilococo con las células epiteliales del canal de la tetilla depende de la interacción de las proteínas de superficie, tales como los factores de aglutinación *ClfA* y *ClfB* y las proteínas de unión a la fibronectina *FnbA* y *FnbB* con la fibronectina y el fibrinógeno del hospedero localizado tanto en la membrana, como alrededor de las células mioepiteliales y los fibroblastos (Stutz *et al.*, 2011).

Otros factores que desempeñan un papel importante en la adhesión del estafilococo son el determinante de superficie regulado por el hierro *IsdA* y las proteínas repetidoras de ácido aspártico-serina *SdrC* y *SdrD*. Se ha demostrado también que las proteínas *ClfA-B* y *FnbA-B*, se involucradas en la evasión de la respuesta del sistema inmune del hospedero dirigido contra el patógeno. Basado en la habilidad de unir el fibrinógeno sobre la pared bacteriana, esto inhibe la deposición o el acceso de las opsoninas hacia el patógeno (Stutz *et al.*, 2011).

Además, se ha demostrado que el *ClfA* impide la fagocitosis por los macrófagos y se une y activa al factor regulador del complemento I, y de esta manera, inactiva el componente central del complemento *C3b*. Otras proteínas de superficie involucradas en la evasión del sistema inmune son las proteínas *SpA* y *IsdH*. La proteína *SpA* que se une a la inmunoglobulina G, tiene la capacidad de encapsular la superficie del *S. aureus* con moléculas incorrectamente orientadas hacia las IgG, lo cual previene la fagocitosis y la vía del complemento clásica (Stutz *et al.*, 2011).

El grado de la severidad de la infección puede variar, dependiendo del tipo de cepa (Chen *et al.*, 2012). Los signos clínicos generalmente incluyen dolor y calentamiento del cuarto afectado, generalmente la leche presenta coágulos o puede apreciarse un líquido acuoso (Barkema *et al.*, 2006).

### **5.3. Proteína familiar A (*SarA*)**

La adhesión, los niveles de invasión y la habilidad intracelular del *S. aureus* para inducir apoptosis dependen de la fase del crecimiento bacteriano y se encuentran sujetos a regulación mediante la vía del gen regulador accesorio (*agr*) de proteína familiar A (*SarA*). El *SarA* regula la expresión de *clfB* y *fnbA-B* durante la fase de crecimiento exponencial; donde, el *agr* regula la expresión de *spa* y *fnbA-B* en la fase de crecimiento postexponencial. Aunque el *clfA* se transcribe durante todo el ciclo de crecimiento, este gen es altamente expresado en la fase de crecimiento

postexponencial. Adicionalmente, el *agr* y *SarA* regulan la expresión de cuatro hemolisinas (alfa a delta) (Stutz *et al.*, 2011).

#### **5.4. Factor del complemento C4**

El *C4* es un componente de los factores del complemento y desempeña un papel importante en las defensas del hospedero. En bovinos, existe una copia del gen *C4*, conocido como *C4A*. Este componente muestra una asociación significativa con la susceptibilidad a las infecciones intramamarias, lo cual implica que el gen *C4A* y la resistencia a la mastitis tienen una posible relación (Yang *et al.*, 2012).

#### **5.5. Leucocidina *LukF-P83/LukM***

Los resultados obtenidos en algunas investigaciones sugieren que la leucocidina *LukF-P83/LukM* desempeña un papel esencial en la patogénesis de la mastitis estafilocócica. Esta leucocidina es un biocomponente encontrado en la mayoría de los aislamientos de *S. aureus* obtenidos de muestras de leche de bovinos, y los genes que codifican este compuesto parecen ser exclusivamente portados por cepas asociadas a mastitis en rumiantes. Este compuesto contiene dos factores, conocidos como S y F, los cuales como toxinas citolíticas produciendo poros oligoméricos en las membranas de los fagocitos. Esta leucotoxina afecta también a los neutrófilos y parece tener influencia en la severidad de la infección (Schlotter *et al.*, 2012).

## **6. Diagnóstico**

La identificación y clasificación de los aislamientos de *S. aureus* es una práctica común en los laboratorios y es importante epidemiológicamente hablando para determinar las colonias y las prevalencias de los aislamientos, así como para dar un seguimiento a los brotes (Hall y Ji, 2012).

El diagnóstico de la infección intramamaria depende de la recolección de la muestra, su manejo, método de cultivo, así como del criterio para la interpretación de los resultados del mismo (Barkema *et al.*, 2006).

Las muestras pueden ser recolectadas pre- o post-ordeña, el tiempo de recolección parece no afectar el resultado, siempre que la muestra se mantenga refrigerada. El congelamiento, la pre-incubación y la centrifugación parecen afectar la sensibilidad (Barkema *et al.*, 2006).

De acuerdo con algunos estudios, se han utilizado inóculos con un volumen de 10, 50 y 100µL con una gran sensibilidad. Para aumentar la sensibilidad se pueden tomar múltiples muestras consecutivas debido a que el *S. aureus* suele desecharse de manera intermitente (Barkema *et al.*, 2006).

Para el diagnóstico de la infección intramamaria, también puede considerarse los resultados de la prueba de California, el CCS y el número de UFC (Barkema *et al.*, 2006).

## **7. Tratamiento**

A nivel general, la terapia antimicrobiana es la manera más común de tratar la mastitis en el ganado bovino lechero. Desafortunadamente, a pesar del uso de los mejores tratamientos antimicrobianos posibles, los rangos de curación no superan el 50%. La resistencia antimicrobiana es posiblemente una de las razones en las fallas al tratamiento (Saini *et al.*, 2011).

La emergencia de microorganismos resistentes a los antibióticos en las unidades de producción animal es de gran interés para la salud pública. La utilización de agentes antimicrobianos en los establos lecheros es una de las mayores preocupaciones para la emergencia de patógenos bacterianos con potencial zoonótico (Haran *et al.*, 2012).



En algunos países, los antibióticos suelen ser utilizados en los establos para tratar infecciones prevalentes, tal como la mastitis sub-clínica y como medida preventiva durante la terapia de la vaca seca (Barkema *et al.*, 2006; Haran *et al.*, 2012), esto con el interés de mantener bajos los conteos de células somáticas en tanque (Barkema *et al.*, 2006).

Los rangos de curación de mastitis subclínica oscilan entre el 4 – 92% de éxito. El régimen de tratamiento, las condiciones de la vaca y el patógeno (cuadro 2) son factores que tienen un fuerte impacto sobre la probabilidad de curación (Barkema *et al.*, 2006).

**Cuadro 2.** Factores relacionados con la vaca, el patógeno y el porcentaje de curación en tratamientos experimentales de mastitis subclínica ocasionada por *S. aureus* durante la lactancia o el periodo seco (Barkema *et al.*, 2006).

|                                | Estudio                       |                               |                               |                              |                          |                          |                          |
|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                                | Deluyker <i>et al.</i> , 2005 | Deluyker <i>et al.</i> , 2005 | Dingwell <i>et al.</i> , 2003 | Osteras <i>et al.</i> , 1999 | Sol <i>et al.</i> , 1994 | Sol <i>et al.</i> , 1997 | Sol <i>et al.</i> , 2000 |
| Etapa de lactancia             | Lactancia                     | Lactancia                     | Seca                          | Seca                         | Seca                     | Lactancia                | Lactancia                |
| Manifestación clínica          | Subclínica                    | CCS alto                      | NA                            | NA                           | NA                       | Subclínica               | Clínica                  |
| Factores de la vaca            |                               |                               |                               |                              |                          |                          |                          |
| Parición DEL                   | Disminución <sup>3,S</sup>    | Disminución <sup>S</sup>      | NS                            | Disminución <sup>S</sup>     | Disminución <sup>S</sup> | Disminución <sup>S</sup> | Disminución <sup>N</sup> |
| Cuartos traseros vs delanteros | Aumento <sup>S</sup>          | NS                            | NA                            | NA                           | NA                       | Aumento <sup>S</sup>     | Disminución <sup>N</sup> |
| CCS # de muestras positivas    | NR                            | Disminución <sup>S</sup>      | Disminución <sup>S</sup>      | Disminución <sup>S</sup>     | Disminución <sup>S</sup> | Disminución <sup>S</sup> | NS                       |
| # de UFC                       | NR                            | Disminución <sup>S</sup>      | Disminución <sup>S</sup>      | Disminución <sup>S</sup>     | Disminución <sup>S</sup> | Disminución <sup>S</sup> | Disminución <sup>N</sup> |
| # de cuartos                   | Disminución <sup>S</sup>      | NR                            | Disminución <sup>S</sup>      | NR                           | NR                       | NR                       | NR                       |
| Factores del patógeno          |                               |                               |                               |                              |                          |                          |                          |
| Resistente a la penicilina     | NR                            | NR                            | NR                            | Disminución <sup>S</sup>     | NR                       | Disminución <sup>N</sup> | Disminución <sup>S</sup> |
| Factor del tratamiento         |                               |                               |                               |                              |                          |                          |                          |
| Duración                       | Aumento <sup>S</sup>          | Aumento <sup>S</sup>          | NA                            | NA                           | NA                       | NA                       | Aumento <sup>S</sup>     |

<sup>1</sup>NA = No aplicable; NS = No significativo y diferencias numéricas en el porcentaje de curación = <10%; NR = No reportado

<sup>2</sup>Los resultados con altos CCS no son específicos para *S. aureus*, pero no hubo diferencias entre las especies de patógenos (Deluyker *et al.*, 2005). Los factores nivel-cuarto que fueron probados en los modelos de mastitis por Sol *et al.* (1994, 1997 y 2000) no se incluyeron en el modelo de infección pero sí en el modelo de CCS de Deluyker *et al.* (2005). Los resultados del CCS de Deluyker *et al.* (2005) fueron incluidos para seguir una comparación entre estudios.

<sup>3</sup>Cambios en los porcentajes de curación con aumento en el factor de riesgo en cuanto a hospedero, patógeno o tratamiento. Solo se incluyen diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ) y diferencias numéricas con una diferencia en el porcentaje de curación > 10%. Los factores de curación con significancia estadística están marcados con una S, y los que tuvieron diferencias numéricas están marcados con una N.

<sup>4</sup>Los periodos en los que se presentó la mastitis fueron diferentes, para la mastitis clínica (todos los niveles < 100 DEL) y para la mastitis sub-clínica (< 100 DEL, 101 – 200 DEL, > 200 DEL).

Los CCS altos se han asociado a una baja probabilidad de curación. La infección en los cuartos traseros tiene una menor probabilidad de curación que los cuartos delanteros (Barkema *et al.*, 2006).

### 7.1. Antimicrobianos y Resistencia

Una razón obvia para la respuesta al tratamiento, es la resistencia de la cepa de *S. aureus* al tratamiento. La elección del tratamiento debería basarse en la sensibilidad antimicrobiana de la cepa. Cuando se traten infecciones sub-clínicas, el tratamiento debería instaurarse hasta conocer la susceptibilidad de la cepa. La selección de los antibióticos en base a la susceptibilidad *in vitro*, no es garantía de los resultados *in vivo* (Barkema *et al.*, 2006).

*S. aureus* tiene la habilidad característica de desarrollar rápidamente resistencia a cualquier antibiótico (cuadro 3) que pueda ser utilizado (Pantosti, 2012). En adición a los genes de resistencia, las islas de patogenicidad pueden albergar genes de virulencia, por ejemplo genes que producen biopelículas (Barkema *et al.*, 2006).

**Cuadro 3.** Resistencia de *S. aureus* a diferentes antimicrobianos (n=36) (Regassa *et al.*, 2010).

| Antimicrobiano             | Resistente | Intermedio | Susceptible |
|----------------------------|------------|------------|-------------|
|                            | No(%)      | No(%)      | No(%)       |
| Amoxicilina                | 13 (36.1)  | 10 (27.8)  | 13 (36.1)   |
| Gentamicina                | 0 (0)      | 3 (8.3)    | 33 (91.7)   |
| Estreptomina               | 2 (5.6)    | 3 (8.3)    | 31 (86.1)   |
| Penicilina                 | 34 (94.4)  | 0 (0)      | 2 (5.6)     |
| Cloramfenicol              | 0 (0)      | 0 (0)      | 36 (100)    |
| Kanamicina                 | 0 (0)      | 4 (11.1)   | 32 (88.9)   |
| Trimetoprim-Sulfametoxazol | 21 (58.3)  | 14 (38.9)  | 1 (2.8)     |
| Polimixina B               | 0 (0)      | 13 (36.1)  | 23 (63.9)   |
| Media                      | 9 (25.0)   | 6 (16.7)   | 21 (58.3)   |

Un paso importante en el establecimiento de un protocolo de tratamiento adecuado, sería evaluar la susceptibilidad de los patógenos presentes en la ubre a nivel de cada establo (Saini *et al.*, 2011).

### 7.1.1. Penicilina

La resistencia a la penicilina (cuadro 4) es por mucho la más frecuente frente al *S. aureus*. Otra clase de antibióticos utilizados incluye los macrólidos (eritromicina, espiramicina, tilmicosina), lincosamidas (pirilmicina), enrofloxacina (no permitida en EE.UU. y Europa) o amoxicilina-ácido clavulánico. La resistencia de *S. aureus* a los macrólidos es un 14 – 17% más baja con respecto a la penicilina (Barkema *et al.*, 2006).

**Cuadro 4.** Respuesta de la mastitis por *S. aureus* sensible y resistente a la penicilina durante la lactancia (Barkema *et al.*, 2006).

| Manifestación | Sensibilidad – Penicilina |                       | Resistencia – Penicilina        |                       |
|---------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------------|-----------------------|
|               | Compuesto                 | Curación <sup>1</sup> | Compuesto                       | Curación <sup>1</sup> |
| Subclínica    | Varios                    | 34% (21/61)           | Varios                          | 24% (20/80)           |
| Subclínica    | Penicilina G              | 48.9 - 56.5%          | Penicilina G                    | 8.7 - 14.3%           |
|               | Ioduro de Penetamato      | 62.7 - 68.8%          | Ioduro de Penetamato            | 12.5 - 7.7%           |
|               |                           |                       | Meticilina                      | 24.4 - 32.4%          |
|               |                           |                       | Tameticilina                    | 20.0 - 48.6%          |
| Clínica       | Penicilina G              | 43% (43/99)           | Espiramicina o Enrofloxacina    | 20% (11/56)           |
| Clínica       | Varios                    | 59% (60/103)          | Varios                          | 41% (23/56)           |
| Clínica       | Penicilina G +            | 75.6% (65/86)         | Amoxicilina + Ácido clavulánico |                       |
|               | Neomicina                 | 56.1% (23/41)         | o Espiramicina                  | 29.2% (7/24)          |
|               | o Penicilina G            |                       |                                 | 33.3% (5/15)          |

### 7.1.2. Meticilina

Es bien conocida la resistencia de *S. aureus* a la meticilina, esto se reportó por primera vez Inglaterra en 1961 y marcó la aparición del *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM o MRSA, *por sus siglas en inglés*)(Pantosti, 2012; Shore *et al.*, 2011).

El SARM presente en muestras de leche provenientes de vacas con mastitis se aisló por primera vez en Bélgica en 1972 (Pantosti, 2012). La resistencia a este fármaco se debe a la aparición del gen *MecA* que codifica una nueva proteína, llamada PBP2a, la cual pertenece a la familia de las enzimas necesarias para la construcción de la pared celular (Pantosti, 2012; Shore *et al.*, 2011). La PBP2a tiene una muy baja afinidad por los antibióticos  $\beta$ -lactámicos y confiere resistencia a la meticilina y a otros  $\beta$ -lactámicos (Pantosti, 2012).

### **7.1.3. Tetraciclina**

El SARM suele tener también una característica resistencia a la tetraciclina. Se cree que uso intensivo de este tipo de antibióticos en la industria porcícola ha favorecido a la emergencia de este clon. En un estudio se demostró que la adición de tetraciclina en el alimento de los animales contribuyó al aumento en la cantidad de células bacterianas en la cavidad nasal de los cerdos, aunque no se demostró un efecto sobre la transmisión del agente (Pantosti, 2012).

### **7.1.4. Trimetoprim**

Han sido encontradas cepas de SARM que han desarrollado resistencia frente al trimetoprim, el gen que contribuye a este proceso se conoce como *dfpK* (Pantosti, 2012).

### **7.1.5. Estreptomicina y Lincosamida**

El gen *vga(C)* ha sido identificado como el responsable de la resistencia a estos antibióticos (Pantosti, 2012).

### **7.1.6. Linezolid**

La linezolid se considera “última opción” en antibióticos para hacer frente a las infecciones serias ocasionadas por bacterias Gram-positivas resistentes a los antibióticos; sin embargo, se ha encontrado que el gen *cfz* tiene la capacidad de conferir resistencia frente a diferentes clases de antibióticos, incluyendo a la linezolid (Pantosti, 2012).

### **7.1.7. Lisostafina**

En un estudio se demostró que la lisostafina posee una actividad extremadamente alta contra una variedad de cepas de *S. aureus*, incluyendo cepas de SARM (Satishkumar *et al.*, 2011).

### **7.2. Ácido úsnico**

El ácido úsnico es un metabolito extraído del líquen *Usneaundulata* Stirton (Usneaaceae). Los líquenes han sido utilizados con propósitos medicinales desde la antigüedad. Este líquen crece sobre la corteza de los árboles en los bosques húmedos de Hogsback en el Este del Cabo Provincia en África del sur. El ácido úsnico posee actividad antimicrobiana, antiviral, antiprotozoaria, analgésica y antiinflamatoria y ha sido utilizado para tratar las infecciones mamarias en el ganado y posee actividad frente a *S. aureus* (Sultana y Afolayan, 2011).

### **7.3. Aditivos alimenticios**

En el mercado podemos encontrar aditivos alimenticios los cuales poseen efectos inmunomoduladores. Wang *et al.*, 2009, examinaron los efectos de un aditivo sobre la función de los neutrófilos de ganado lechero en el periparto. Los resultados revelaron que el aditivo altera la función de los neutrófilos reduciendo la incidencia de enfermedades infecciosas, incluyendo la mastitis en el ganado lechero (Rowson *et al.*, 2011).

## 8. Prevención

### 8.1. Prácticas de manejo

La infección intramamaria por *S. aureus* puede reducirse implementando programas de control. En 1960 se desarrolló un programa conocido como el programa de los 5 puntos; posteriormente, fue extendido a 10 puntos. Dicho programa incluye prácticas efectivas de manejo para el control de la mastitis ocasionada por cualquier patógeno (Barkema *et al.*, 2006).

Para establecer un programa exitoso para el control de mastitis es importante identificar las vacas y vaquillas infectadas con *S. aureus* de manera inmediata y establecer un manejo que nos permita reducir la diseminación del patógeno. Aspectos importantes a considerar en el plan de manejo de la mastitis por *S. aureus* incluye: procedimientos de ordeña apropiados, utilización de desinfectantes locales post-ordeña, medidas de bioseguridad para prevenir la entrada de nuevos patógenos y segregación o sacrificio de los animales con infección crónica. Esto resulta particularmente importante debido a que algunos productores no están dispuestos a sacrificar a los animales infectados (Barkema *et al.*, 2006).

### 8.2. Vacunación

Debido a que la presencia de residuos de antibióticos en la leche afecta la seguridad de los alimentos, existe una fuerte presión regulatoria para justificar la utilización de antimicrobianos en el control de la mastitis. Desde este punto de vista, las vacunas deberían de ser una aproximación lógica y prometedora para prevenir la mastitis bovina (Xu *et al.*, 2011).

Se ha encontrado que la proteína *ClfA* de *S. aureus*, la cual es una adhesina con un factor de virulencia crítico en casi todas las cepas de la bacteria, induce protección contra la mastitis en ratones y vacas (Xu *et al.*, 2011).

Varios estudios se han enfocado en toxinas producidas por el *S. aureus* que pueden ser utilizadas como blancos para la vacunación. La enterotoxinas estafilocócicas son superantígenos bacterianos que desempeñan un papel importante en el establecimiento y mantenimiento de la infección (Chen *et al.*, 2012).

La inmunización con enterotoxina estafilocócica A (SEA), B (SEB) o TSST-1 mutante o recombinante se ha observado que neutraliza los anticuerpos contra la cepa salvaje SE e induce protección en ratones, conejos y monos contra el choque letal inducido por esta cepa (Chen *et al.*, 2012).

Por su parte, Huet *et al.*, han estudiado la enterotoxina C (SEC) con doble mutación con actividad superantigénica y ofrece protección en ratones frente al desafío con *S. aureus* posterior a su administración intranasal (Chen *et al.*, 2012).

Otros grupos han estudiado en vacas lecheras la acción de la enterotoxina C recombinante y encontraron que el ganado vacunado obtuvo un número más bajo en el CCS y menor grado de infección intramamaria que el grupo no vacunado (Chen *et al.*, 2012).

Las vacunas modernas, basadas en subunidades de patógenos, tales como las proteínas purificadas, son a menudo incapaces de provocar una respuesta inmune fuerte (Chen *et al.*, 2012).

Uno de los más importantes desafíos en el campo es la selección de adyuvantes efectivos. Un adyuvante eficaz debe aumentar la respuesta inmune específica, favorecer la protección a través de la estimulación de los tipos de inmunidad óptimos y tener bajos niveles de efectos adversos (Chen *et al.*, 2012).

Los poliésteres biodegradables y biocompatibles, tales como el ácido poliláctico (PLGA) son uno de los candidatos más viables para el

desarrollo de vacunas en micro-esferas, una de sus mayores habilidades es la liberación de los antígenos durante un muy largo periodo de tiempo; lo cual, permitiría el desarrollo de vacunas de dosis única que liberen los antígenos cada vez que se requiera de un refuerzo (Chen *et al.*, 2012).

## **9. Zoonosis**

La leche es un alimento de alto contenido nutricional; sin embargo, representa un gran riesgo de salud para sus consumidores debido a la presencia de patógenos zoonóticos. Los microorganismos patógenos presentes en la leche pueden provenir directamente de animales afectados con mastitis infecciosa, un problema altamente prevalente en la industria de producción lechera. La mastitis por estafilococos es el problema más común y con mayores implicaciones económicas en la industria lechera a nivel mundial (Regassa *et al.*, 2010).

En el ser humano, *S. aureus* es causa de padecimientos que van desde una ligera infección de la piel y tejidos blandos hasta infecciones que ponen en riesgo la vida, tales como una neumonía necrotizante, endocarditis meningitis, osteomielitis y choque tóxico (Hall y Ji, 2012; Xue *et al.*, 2011).

### **9.1. Endoftalmitis**

*S. aureus* es una especie comensal que coloniza la mucosa y la piel adyacente al ojo. La endoftalmitis es una infección ocular severa, caracterizada por inflamación masiva y daño tisular causado por la infección bacteriana. La endoftalmitis bacteriana estafilocócica puede ocurrir posterior a una cirugía ocular, trauma o por diseminación hematógena (Suzuki *et al.*, 2011).



## 9.2. Intoxicación alimenticia

*S. aureus* es una bacteria que causa problemas de salud en el ganado; sin embargo, esta bacteria también es causante de infecciones en el ser humano (Weinert *et al.*, 2012). De hecho, *S. aureus* ocupa el tercer lugar como causa de enfermedades de origen alimenticio a nivel mundial (Haran *et al.*, 2012). Mediante análisis genéticos ha quedado demostrado que las cepas que ocasionan enfermedad en el ganado han tenido una evolución debido a los cruzamientos entre infecciones ganado-humano, lo cual da origen al desarrollo de zoonosis (Weinert *et al.*, 2012).

La contaminación de productos destinados a la alimentación representan un gran problema, con un amplio potencial de diseminación entre la población general. En un estudio realizado en Holanda se encontró que el 11% de unas muestras de carne de un mercado se encontraban contaminadas con *S. aureus* resistente a la meticilina. En otro estudio llevado a cabo en Italia se detectaron quesos tipo mozzarella contaminados con el agente (Pantosti, 2012). La leche contaminada y sus sub-productos frecuentemente se ven incriminados en infecciones por estafilococos de origen alimenticio (Haran *et al.*, 2012).

Uno de los principales y más importantes problemas en la salud pública en el mundo entero es la diseminación del *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), las cuales son bacterias multiresistentes, las cuales se han detectado en lugares en los cuales se ejerce la práctica veterinaria alrededor de todo el mundo, desarrollando un problema de transmisión entre humanos y animales, lo cual da como resultado de vital importancia el llevar a cabo monitoreos para detectar la presencia y el nivel de resistencia microbiana en los animales (Aquino Gde *et al.*, 2012).

Se cree que la alta prevalencia de portadores de SARM entre los trabajadores de granjas y veterinarios puede ser resultado de la contaminación repetida y no de una colonización real. En los establos con presencia de animales positivos a SARM, se han encontrado altas concentraciones de microorganismos en el polvo

de las instalaciones, y es bien conocido que *S. aureus* puede sobrevivir durante largo periodos de tiempo en el polvo. Los trabajadores de esos lugares inhalan partículas de polvo contaminadas con el patógeno, estas partículas pueden persistir durante horas o días sin que se presente una colonización real en las células epiteliales. Está confirmado que la colonización persistente ocurre solo en el 20% de las personas, el 60% son portadores intermitentes y el 20% restante son no portadores (van Cleef *et al.*, 2011).

## 10. Literatura citada

- Aquino Gde, V., R. P. Maluta y F. A. de Avila. 2012. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococci* on a farm: staff can harbour MRS when animals do not. *Zoonoses Public Health* 59: 1-3.
- Barkema, H. W., Y. H. Schukken y R. N. Zadoks. 2006. Invited Review: The Role of Cow, Pathogen, and Treatment Regimen in the Therapeutic Success of Bovine *Staphylococcus aureus* Mastitis. *J Dairy Sci* 89: 1877–1895.
- CDC. 2013. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Infections. <http://www.cdc.gov/mrsa/community/photos/photo-mrsa-13.html> Accessed Julio 07 de 2014.
- Chen, L., S. Li, Z. Wang, R. Chang, J. Su y B. Han. 2012. Protective effect of recombinant staphylococcal enterotoxin A entrapped in polylactic-co-glycolic acid microspheres against *Staphylococcus aureus* infection. *Vet Res* 43: 20.
- FAO. 1989. Milking milk production hygiene and udder health. Accessed Julio 07 de 2014.
- Gilbert, F. B., P. Cunha, K. Jensen, E. J. Glass, G. Foucras, C. Robert-Granie, R. Rupp y P. Rainard. 2013. Differential response of bovine mammary epithelial cells to *Staphylococcus aureus* or *Escherichia coli* agonists of the innate immune system. *Vet Res* 44: 40.
- Gyles, C. L., J. F. Prescott, J. G. Songer y C. O. Thoen. 2010. *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. 4th ed ed. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA. pp.
- Hall, J. W. y Y. Ji. 2012. Identification of predominant SNPs as a novel method for genotyping bovine *Staphylococcus aureus* isolates. *Virulence* 3: 98-102.
- Haran, K. P., S. M. Godden, D. Boxrud, S. Jawahir, J. B. Bender y S. Sreevatsan. 2012. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, isolated from bulk tank milk from Minnesota dairy farms. *J Clin Microbiol* 50: 688-695.
- Nickerson, S. C. y R. M. Akers. 2002. Mamary gland. [http://www.extranet.elsevier.com/homepage\\_about/mrwd/dair/Sample%20article%201.pdf](http://www.extranet.elsevier.com/homepage_about/mrwd/dair/Sample%20article%201.pdf) Accessed Julio 07 de 2014 2014.
- Pantosti, A. 2012. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Associated with Animals and Its Relevance to Human Health. *Front Microbiol* 3: 127.
- Rainard, P. 2005. Tackling mastitis in dairy cows. *Nat Biotechnol* 23: 430-432.
- Regassa, A., M. Abera, B. Demie, K. Aragaw y F. Regassa. 2010. Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitic milk and their drug resistance patterns in Adama town, Ethiopia. *J Vet Med Anim Health* 2: 29-34.
- Rowson, A. D., Y. Q. Wang, E. Aalseth, N. E. Forsberg y S. B. Puntenney. 2011. Effects of an immunomodulatory feed additive on the development of mastitis in a mouse infection model using four bovine-origin isolates. *Animal* 5: 220-229.
- Saini, V., R. G. Riekerink, J. T. McClure y H. W. Barkema. 2011. Diagnostic accuracy assessment of Sensititre and agar disk diffusion for determining antimicrobial resistance profiles of bovine clinical mastitis pathogens. *J Clin Microbiol* 49: 1568-1577.

- Sakwinska, O., M. Giddey, M. Moreillon, D. Morisset, A. Waldvogel y P. Moreillon. 2011a. *Staphylococcus aureus* host range and human-bovine host shift. *Appl Environ Microbiol* 77: 5908-5915.
- Sakwinska, O., D. Morisset, J. Y. Madec, A. Waldvogel, P. Moreillon y M. Haenni. 2011b. Link between genotype and antimicrobial resistance in bovine mastitis-related *Staphylococcus aureus* strains, determined by comparing Swiss and French isolates from the Rhone Valley. *Appl Environ Microbiol* 77: 3428-3432.
- Satishkumar, R., S. Sankar, Y. Yurko, A. Lincourt, J. Shipp, B. T. Heniford y A. Vertegel. 2011. Evaluation of the antimicrobial activity of lysostaphin-coated hernia repair meshes. *Antimicrob Agents Chemother* 55: 4379-4385.
- Schaechter, M. y J. Lederberg. 2004. *The Desk Encyclopedia of Microbiology*. Elsevier Academic Press, San Diego, USA. pp.
- Schlotter, K., R. Ehricht, H. Hotzel, S. Monecke, M. Pfeffer y K. Donat. 2012. Leukocidin genes lukF-P83 and lukM are associated with *Staphylococcus aureus* clonal complexes 151, 479 and 133 isolated from bovine udder infections in Thuringia, Germany. *Vet Res* 43: 42.
- Shore, A. C., E. C. Deasy, P. Slickers, G. Brennan, B. O'Connell, S. Monecke, R. Ehricht y D. C. Coleman. 2011. Detection of staphylococcal cassette chromosome mec type XI carrying highly divergent mecA, mecI, mecR1, blaZ, and ccr genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 55: 3765-3773.
- Stutz, K., R. Stephan y T. Tasara. 2011. SpA, ClfA, and FnbA genetic variations lead to Staphaurex test-negative phenotypes in bovine mastitis *Staphylococcus aureus* isolates. *J Clin Microbiol* 49: 638-646.
- Sultana, N. y A. J. Afolayan. 2011. A new depsidone and antibacterial activities of compounds from *Usnea undulata* Stirton. *J Asian Nat Prod Res* 13: 1158-1164.
- Suzuki, T., J. Campbell, J. G. Swoboda, S. Walker y M. S. Gilmore. 2011. Role of wall teichoic acids in *Staphylococcus aureus* endophthalmitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52: 3187-3192.
- van Cleef, B. A., H. Graveland, A. P. Haenen, A. W. van de Giessen, D. Heederik, J. A. Wagenaar y J. A. Kluytmans. 2011. Persistence of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in field workers after short-term occupational exposure to pigs and veal calves. *J Clin Microbiol* 49: 1030-1033.
- Walker, J. B., P. J. Rajala-Schultz, W. L. Walker, J. L. Mathews, W. A. Gebreyes y F. J. DeGraves. 2011. Variation in daily shedding patterns of *Staphylococcus aureus* in naturally occurring intramammary infections. *J Vet Diagn Invest* 23: 1114-1122.
- Weinert, L. A., J. J. Welch, M. A. Suchard, P. Lemey, A. Rambaut y J. R. Fitzgerald. 2012. Molecular dating of human-to-bovid host jumps by *Staphylococcus aureus* reveals an association with the spread of domestication. *Biol Lett*.
- Xu, H., C. Hu, R. Gong, Y. Chen, N. Ren, G. Xiao, Q. Xie, M. Zhang, Q. Liu, A. Guo y H. Chen. 2011. Evaluation of a novel chimeric B cell epitope-based

- vaccine against mastitis induced by either *Streptococcus agalactiae* or *Staphylococcus aureus* in mice. *Clin Vaccine Immunol* 18: 893-900.
- Xue, H., H. Lu y X. Zhao. 2011. Sequence diversities of serine-aspartate repeat genes among *Staphylococcus aureus* isolates from different hosts presumably by horizontal gene transfer. *PLoS One* 6: e20332.
- Yang, Y., J. M. Huang, Z. H. Ju, Q. L. Li, L. Zhou, R. L. Li, J. B. Li, F. X. Shi, J. F. Zhong y C. F. Wang. 2012. Increased expression of a novel splice variant of the complement component 4 (C4A) gene in mastitis-infected dairy cattle. *Genet Mol Res* 11.
- Zadoks, R. y J. Fitzpatrick. 2009. Changing trends in mastitis. *Ir Vet J* 62 Suppl 4: S59-70.