



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

MICROBIOTA DE LA LECHE CRUDA DE BOVINOS INFECTADOS CON MASTITIS SUBCLÍNICA ANALIZADOS MEDIANTE SECUENCIACIÓN DEL GEN 16S rRNA

Mabel Coronado Vélez

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Ciencia Animal

Palmira, Colombia

2019

MICROBIOTA DE LA LECHE CRUDA DE BOVINOS INFECTADOS CON MASTITIS SUBCLÍNICA ANALIZADOS MEDIANTE SECUENCIACIÓN DEL GEN 16S rRNA

Mabel Coronado Vélez

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Doctora en Ciencias Agrarias

Director:

PhD., Jaime Eduardo Muñoz Flórez

Codirectora:

PhD., Luz Ángela Álvarez Franco

Línea de Investigación:

Producción Animal Tropical

Grupo de Investigación:

Diversidad Biológica

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Ciencia Animal

Palmira, Colombia

2019

Dedicado a...

A Dios:

Por guiarme por el camino correcto y darme la sabiduría necesaria para desarrollar mi trabajo.

A mi madre:

Por darme la vida y su amor incondicional, brindándome su ayuda y apoyo desinteresado. Gracias por ser mi maestra y formarme como persona. Especialmente por siempre creer en mí.

A mi esposo:

Por su compañía, por ser mi bastón y mi fortaleza, por motivarme a seguir adelante, ¡Gracias por tu amor!

Agradecimientos

El autor da los más sinceros agradecimientos a COLCIENCIAS y la Universidad Nacional de Colombia por la financiación de sus estudios, a través de las becas asignadas a los programas doctorales de la Universidad Nacional de Colombia en el marco de la convocatoria 617 de 2013.

Al laboratorio de biología molecular y el grupo de investigación en diversidad biológica, especialmente al profesor Jaime Eduardo Muñoz Flórez y la profesora Luz Ángela Álvarez Franco por la dirección de este trabajo, por la confianza puesta en mí y el apoyo brindado a lo largo del doctorado.

Al laboratorio de Microbiología Marina de la Pontificia Universidad Católica de Chile y al profesor Rodrigo de la Iglesia, por recibirme como estudiante de intercambio. Particularmente agradezco a Benjamín Glasner por la capacitación en metagenómica brindada.

A Orson Mestanza, por su paciencia y colaboración en los análisis bioinformáticos.

Al Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (IBVF), centro mixto del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y la Universidad de Sevilla, especialmente al profesor Francisco José Romero Campero, por recibirme como estudiante pasante y colaborar en los análisis estadísticos.

Resumen

La metagenómica del gen 16S rRNA se ha convertido en una herramienta eficiente para caracterizar las comunidades bacterianas de la leche cruda infectada por mastitis bovina dado que las técnicas dependientes de cultivo no permiten recuperar todos los microorganismos causantes de la enfermedad. En esta investigación se usó la secuenciación de próxima generación (NGS) Illumina MiSeq de la región hipervariable V4 del gen 16S rRNA para identificar la composición bacteriana de la leche cruda de bovinos infectados con mastitis subclínica. El estudio se desarrolló en el departamento del Valle del Cauca y las muestras se tomaron en tres hatos con diferentes niveles tecnológicos. El análisis bioinformático se desarrolló con el software Mothur V1.35.1 usando la base de datos SILVA como referencia, se alinearon 5.318.994 secuencias con longitud media de 272 pb, se obtuvieron 1.975.322 secuencias únicas y finalmente se obtuvieron los filotipos asignados a nivel género. Los perfiles filogenéticos revelaron que independiente del nivel tecnológico los cuatro filos dominantes fueron: Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria y Bacteroidetes. Se detectaron alrededor de 394 géneros con abundancia variable donde *Pseudomonas* y *Acinetobacter* fueron los géneros predominantes en hatos de nivel tecnológico alto y medio, contrario a esto en el hato de nivel tecnológico bajo predominó el género *Staphylococcus*. El microbioma central mostró que los taxones bacterianos compartidos por todas las muestras fueron en orden descendente: *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Delftia*, *Stenotrophomonas*. También se identificaron microorganismos patogénicos importantes como el género *Escherichia-Shigella*. Esta investigación permitió identificar y comparar en las muestras de leche bacterias patógenas asociados a la mastitis subclínica. Los hallazgos de este estudio pueden ayudar a formular estrategias para la prevención y el tratamiento de la mastitis pues se identificó de manera precisa las bacterias causales de la enfermedad y por consiguiente reducir las pérdidas económicas que incurrir por ello.

Palabras clave: (Mastitis, 16S rRNA, NGS, Illumina MiSeq, diversidad bacteriana).

Abstract

Metagenomics has become an efficient tool to characterize the bacterial communities of raw milk infected by bovine mastitis since culture-dependent techniques do not allow recovering of all the microorganisms that cause the disease. In this research, the next-generation sequencing (NGS) of Illumina MiSeq was used to identify the bacterial composition of raw milk from cattle infected with subclinical mastitis using the hypervariable V4 region of the 16S rRNA gene. The study took place in the department of Valle del Cauca and the samples were taken in three dairy herds with different technological development. The bioinformatic analysis was developed with Mothur V1.35.1 using the SILVA database as a reference. 5,318,994 sequences with an average length of 272 bp were aligned, and 1,975,322 unique sequences were obtained. Finally, the assigned phylotype were obtained at the genus level. The phylogenetic profiles revealed that, regardless of the technological development, the four dominant phyla were: Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria and Bacteroidetes. About 394 genera were identified with variable abundance where *Pseudomonas* and *Acinetobacter* were the predominant genera in dairy herds of high and medium technological development. On the contrary, at the dairy herd of low technological development, the genus *Staphylococcus* was the predominated one. The core microbiome showed that the bacterial taxa shared by all the samples were in descending order as follows: *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Delftia*, *Stenotrophomonas*. In addition, important pathogenic microorganisms such as the genus *Escherichia-Shigella* were also identified. This research allowed to identify and compare pathogenic bacteria associated with subclinical mastitis in milk samples. The findings of this study can help to formulate strategies for the prevention and treatment of mastitis since the causal bacteria of the disease were precisely identified and, consequently, the economic losses incurred were reduced.

Keywords: (Mastitis, 16S rRNA, NGS, Illumina MiSeq, bacterial diversity)

Contenido

	Pág.
Resumen	IX
Abstract.....	X
Lista de figuras	XIV
Lista de tablas	XVI
Lista de símbolos y abreviaturas.....	XVII
Introducción.....	1
<u>CAPÍTULO 1. PRINCIPALES ASPECTOS DE LA LECHE CRUDA.....</u>	6
1.1 LA LECHE BOVINA	7
1.2 DIVERSIDAD MICROBIANA.....	8
1.3 ANATOMÍA DE LA UBRE Y EL PEZÓN	10
1.4 MECANISMOS DE DEFENSA DE LA GLÁNDULA MAMARIA	12
1.5 MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE CRUDA	19
<u>CAPÍTULO 2. LA MASTITIS BOVINA</u>	24
2.1 CLASIFICACIÓN DE LA MASTITIS	26
2.1.1 MASTITIS CLÍNICA.....	27
2.1.2 MASTITIS SUBCLÍNICA	27
2.1.3 MASTITIS CONTAGIOSA	27
2.1.4 MASTITIS AMBIENTAL	28
2.2 PATOGÉNESIS DE LA MASTITIS.....	29
2.3 IMPACTO DE LA MASTITIS	31
2.4 EFECTO DE LA MASTITIS EN LA ECONOMÍA	32

CAPÍTULO 3. METAGENÓMICA 16S APLICADA AL ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN MICROBIANA DE LA LECHE 36

3.1	MÉTODOS DE SECUENCIACIÓN DE PRÓXIMA GENERACIÓN (NEXT-GENERATIONS SEQUENCING).....	38
3.1.1	TECNOLOGÍA DE SECUENCIACIÓN ILLUMINA.....	39
3.2	METAGENÓMICA: UNA TÉCNICA INDEPENDIENTE DE CULTIVO	44
3.3	METAGENÓMICA 16S (PROFILING)	46
3.3.1	SECUENCIACIÓN DEL GEN 16S RRNA	46
3.4	BIOINFORMÁTICA APLICADA AL ANÁLISIS DE DATOS METAGENÓMICOS DEL GEN 16S RRNA	50
3.5	MOTHUR.....	55
3.6	MEDIDAS DE DIVERSIDAD	56
3.6.1	DIVERSIDAD ALFA (α)	57
3.6.2	DIVERSIDAD BETA (β)	57

CAPÍTULO 4. METODOLOGÍA.....59

4.1	DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE MUESTREO	60
4.2	DISEÑO DEL MUESTREO.....	62
4.3	DETERMINACIÓN DE DIVERSIDAD MICROBIANA	64
4.3.1	EXTRACCIÓN DE ADN	64
4.3.2	EXTRACCIÓN DE ADN MEDIANTE EL KIT POWERFOOD® MICROBIAL DNA ISOLATION.....	64
4.3.3	CUANTIFICACIÓN DE PUREZA Y DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN DEL ADN	65
4.3.4	AMPLIFICACIÓN POR PCR DE LA REGIÓN 16S _r RNA.....	65
4.3.5	SECUENCIACIÓN DE LA REGIÓN HIPERVARIABLE V4 DEL GEN 16S RRNA	65
4.4	ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO.....	67
4.4.1	GENERACIÓN DEL REPORTE DE CALIDAD DE LAS SECUENCIAS.....	67
4.4.2	ANÁLISIS CON MOTHR	69
4.4.3	ANÁLISIS DE DIVERSIDAD MICROBIANA.....	70
4.4.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	71

CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....75

5.1	RENDIMIENTO Y PUREZA DEL ADN EXTRAÍDO DE LA LECHE CRUDA MEDIANTE EL KIT POWERFOOD MICROBIAL DNA ISOLATION.....	76
5.1.1	CALIDAD DEL ADN EXTRAÍDO.....	76

5.1.2	AMPLIFICACIÓN DEL GEN 16S Y LA REGIÓN HIPERVARIABLE V4 DEL GEN 16S rRNA.....	78
5.2	RESULTADOS ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO.....	80
5.2.1	CALIDAD DE LAS SECUENCIAS.....	80
5.2.2	ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO CON EL SOFTWARE MOTHUR.....	82
5.3	ESTRUCTURA DE LA COMUNIDAD BACTERIANA	83
5.3.1	PERFIL DE ABUNDANCIA A NIVEL DE FILUM.....	83
5.3.2	FILOS QUE PRESENTARON DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS RESPECTO A LA ABUNDANCIA ENTRE LOS TRES HATOS ESTUDIADOS	88
5.3.3	PERFIL DE ABUNDANCIA A NIVEL DE GÉNERO.....	91
5.3.4	GÉNEROS QUE PRESENTARON DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS RESPECTO A LA ABUNDANCIA GENERAL DE TODAS LAS MUESTRAS	104
5.4	PERFIL DE DIVERSIDAD TAXONÓMICA.....	107
5.4.1	PERFIL DE DIVERSIDAD ALFA Y PRUEBA DE SIGNIFICANCIA	107
5.4.2	PERFIL DE DIVERSIDAD BETA Y PRUEBA DE SIGNIFICANCIA	110
5.4.3	CORE MICROBIOME (MICROBIOMA CENTRAL)	113
5.5	ANÁLISIS DE AGRUPAMIENTO	114
<u>CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</u>		120
6.1	CONCLUSIONES	121
6.2	RECOMENDACIONES.....	123
	Anexo A: Protocolo de extracción de ADN (kit PowerFood® Microbial DNA Isolation)	124
	Anexo B: Perfil de abundancia a nivel de género, basado en la abundancia actual	125
	Anexo C: Diagramas de cajas de los géneros menos abundantes que presentaron diferencias significativas entre hatos	135
	Anexo D: Core Microbiome a nivel de filum (Tabla de prevalencia)	146
	Anexo E: Core Microbiome a nivel de género (Tabla de prevalencia)	147
	Bibliografía	150

Lista de figuras

	Pág.
FIGURA 1-1: PRIMER ÁRBOL FILOGENÉTICO UNIVERSAL DETERMINADO A PARTIR DE LA COMPARACIÓN DE SECUENCIAS DE RRNA	9
FIGURA 1-2: ÁRBOL FILOGENÉTICO UNIVERSAL EN FORMA ENRAIZADA, MOSTRANDO LOS TRES DOMINIOS.....	10
FIGURA 1-3. ANATOMÍA DE LA UBRE BOVINA.....	11
FIGURA 1-4. ANATOMÍA DEL PEZÓN.....	11
FIGURA 2-1. INVASIÓN BACTERIANA DE LA GLÁNDULA MAMARIA	30
FIGURA 3-1. FLUJO DE TRABAJO DE ILLUMINA.....	40
FIGURA 3-2. RIBOSOMA BACTERIANO	47
FIGURA 3-3. REGIONES VARIABLES DEL GEN 16S RRNA DE ESCHERICHIA COLI	48
FIGURA 3-4. REGIONES HIPERVARIABLES Y CONSERVADAS DEL GEN 16S RRNA	49
FIGURA 3-5. DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO DE CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	51
FIGURA 3-6. RESUMEN DEL FLUJO DE TRABAJO DE QIIME Y MOTHUR.....	54
FIGURA 4-1. PUNTOS DE MUESTREO	62
FIGURA 4-2. DISEÑO PARA ILLUMINA DE LOS CEBADORES QUE AMPLIFICAN LA REGIÓN HIPERVARIABLE V4 DEL GEN 16S RARN	66
FIGURA 4-3. RESUMEN DEL TAMAÑO DE LAS BIBLIOTECAS	71
FIGURA 5-1. ADN BACTERIANO DE MUESTRAS DE LECHE MASTÍTICA.....	79
FIGURA 5-2. PCR DEL GEN 16S RRNA	79
FIGURA 5-3. GEL DE AGAROSA AMPLIFICANDO LA REGIÓN HIPERVARIABLE V4 DEL GEN 16S RRNA	80
FIGURA 5-4. MEDIA DE LOS PUNTAJES DE CALIDAD DE LAS SECUENCIAS CRUDAS.....	81
FIGURA 5-5. DISTRIBUCIÓN DE LA LONGITUD DE LAS SECUENCIAS CRUDAS	81
FIGURA 5-6. MEDIA DE LOS PUNTAJES DE CALIDAD DE LAS SECUENCIAS LIMPIAS	82

FIGURA 5-7. DISTRIBUCIÓN DE LA LONGITUD DE LAS SECUENCIAS LIMPIAS	82
FIGURA 5-8. ABUNDANCIA A NIVEL DE FILUM	84
FIGURA 5-9. ABUNDANCIA A NIVEL DE FILUM POR HATOS	85
FIGURA 5-10. DIAGRAMAS DE CAJAS DE LOS FILOS MÁS ABUNDANTES QUE MOSTRARON DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE HATOS	88
FIGURA 5-11. DIAGRAMAS DE CAJAS DE LOS FILOS MENOS ABUNDANTES QUE MOSTRARON DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE HATOS	90
FIGURA 5-12. ABUNDANCIA A NIVEL DE GÉNERO.....	92
FIGURA 5-13. DIAGRAMAS DE CAJAS DE LOS GÉNEROS MÁS ABUNDANTES QUE PRESENTARON DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE HATOS	105
FIGURA 5-14. ÍNDICE DE CHAO 1 PARA CADA MUESTRA (P-VALUE: 0.25311)	108
FIGURA 5-15. DIAGRAMA DE CAJAS PARA CADA GRUPO SEGÚN EL ÍNDICE DE CHAO 1	108
FIGURA 5-16. DIVERSIDAD ALFA USANDO LA MEDIDA DE DIVERSIDAD DE SHANNON PARA CADA MUESTRA (P-VALUE: 0.01082)	109
FIGURA 5-17. DIAGRAMA DE CAJAS PARA CADA GRUPO SEGÚN EL ÍNDICE DE SHANNON	109
FIGURA 5-18A. GRÁFICO PCOA (BRAY CURTIS) 2D DE LA DIVERSIDAD BETA A NIVEL DE FILUM	111
FIGURA 5-19. CORE MICROBIOME A NIVEL DE FILUM	113
FIGURA 5-20. CORE MICROBIOME A NIVEL DE GÉNERO.....	114
FIGURA 5-21. DENDOGRAMA	116
FIGURA 5-22. FILUM MÁS ABUNDANTES EN MUESTRAS DE LECHE MASTÍTICA DEL HATO G, QUE EVIDENCIARON UNA DISIMILITUD CON LOS DEMÁS HATOS.....	118
FIGURA 5-23. GÉNEROS MÁS ABUNDANTES EN MUESTRAS DE LECHE MASTÍTICA DEL HATO G, QUE EVIDENCIARON UNA DISIMILITUD CON LOS DEMÁS HATOS	119

Lista de tablas

	Pág.
TABLA 1-1. COMPOSICIÓN APROXIMADA DE LA LECHE BOVINA CRUDA	7
TABLA 1-2. RESUMEN DE LAS DEFENSAS CELULARES DE LA GLÁNDULA MAMARIA	15
TABLA 1-3. CAMBIOS EN LAS CONCENTRACIONES DE LACTOFERRINA EN LA GLÁNDULA MAMARIA (MG/ML)	16
TABLA 1-4. RESUMEN DE LA DEFENSA SOLUBLE DE LA GLÁNDULA MAMARIA	18
TABLA 1-5. EFECTOS DE LAS CITOQUINAS EN LAS RESPUESTAS INMUNITARIAS E INFLAMATORIAS DE LA GLÁNDULA MAMARIA.....	19
TABLA 2-1. RESUMEN DE DIVERSAS ESTIMACIONES DE PÉRDIDAS ECONÓMICAS CAUSADAS POR MASTITIS (€/PROMEDIO DE VACAS EN EL HATO/AÑO O VACA/AÑO)	34
TABLA 3-1. CARACTERÍSTICAS DE LOS ENFOQUES ÓMICOS DISPONIBLES PARA ESTUDIAR COMUNIDADES MICROBIANAS	46
TABLA 3-2. CARACTERÍSTICAS DE LOS SOFTWARES PREEXISTENTES QUE SE HAN INTEGRADO EN MOTHUR	55
TABLA 3-3. ÍNDICES PARA DETERMINAR LA DIVERSIDAD BETA	58
TABLA 4-1. INFORMACIÓN GENERAL DE LAS ZONAS DE MUESTREO	61
TABLA 4-2. CEBADORES DE LA REGIÓN HIPERVARIABLE V4 DEL GEN 16S RARN	66
TABLA 4-3. PROBABILIDAD DE ERROR SEGÚN EL PUNTAJE DE PHRED.....	67
TABLA 5-1. VALORES DE RENDIMIENTO Y PUREZA DEL ADN BACTERIANO OBTENIDO.....	76
TABLA 5-2. PERFIL DE ABUNDANCIA A NIVEL DE FILUM, BASADO EN LA SUMATORIA (ABUNDANCIA ACTUAL) Y ABUNDANCIA PROMEDIO (AM)	84
TABLA 5-3. VALORES PROMEDIO DE RIQUEZA BASADOS EN EL ÍNDICE DE CHAO1 Y DE DIVERSIDAD BASADOS EN EL ÍNDICE DE SHANNON PARA CADA HATO	107

Lista de símbolos y abreviaturas

Símbolos con letras latinas

Símbolo	Término
<i>Kcal</i>	Kilocaloría-Unidad de energía térmica
<i>P/P</i>	Porcentaje peso a peso
<i>mol</i>	Peso atómico de una molécula de una sustancia química en gramos
<i>g</i>	Gramo – medida de masa
L	Litro – unidad de volumen
mg	Miligramo – unidad de masa
ml	Mililitro – unidad de volumen
ha	Hectárea – medida de superficie
g	Gravedades – medida intuitiva de aceleración
ng	Nanogramos – unidad de medida de masa
nm	Nanómetro – unidad de longitud
VOL	Volúmenes
pb	Pares de bases

Símbolos con letras griegas

Símbolo	Término
α - β	Alfa – Beta
μ g	Microgramo – unidad de masa
μ m	Micrómetro – unidad de longitud
μ l	Microlitro – unidad de volumen

Abreviaturas

Abreviatura	Término
CMT	Prueba de california para mastitis (del inglés <i>California mastitis test</i>)
CCS	Conteo de Células Somáticas
rRNA	Ácido nucleico ribosomal (del inglés <i>Ribosomal ribonucleic acid</i>)
NGS	Secuenciación de próxima generación (del inglés <i>Next-generation sequencing</i>)
NaCl	Cloruro de sodio
MFGM	Del inglés (<i>Milk fat globule membrane</i>)
AGL	Ácidos grasos libres
LDL	Lipoproteínas de baja densidad (del inglés <i>Low density lipoproteins</i>)
HDL	Lipoproteínas de alta densidad (del inglés <i>High density lipoproteins</i>)
LUCA	Ultimo ancestro común universal
rRNA	Ácido ribonucleico ribosomal
LAB	Bacteria ácido láctica, por sus siglas en inglés (del inglés <i>Lactic acid bacteria</i>)
MHC	Complejo Principal de Histocompatibilidad
NK	Células asesinas naturales (del inglés <i>natural killer</i>)
Ig	Inmunoglobulinas
LF	Lactoferrina
LP	Lactoperoxidasa
SCN ⁻	Tiocianato
OSCN ⁻	Hipotiocianato
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
PMN	Neutrófilos polimorfonucleados
CS	Células somáticas
CE	Conductividad eléctrica de la leche
IMI	Infección intramamaria
APPs	Proteínas de fase aguda
WGS	Secuenciación del genoma completo (del inglés <i>Whole Genome Sequencing</i>)
OTU	Unidad taxonómica operacional (del inglés <i>Operational taxonomic unit</i>)
QIIME	(<i>Quantitative Insights Into Microbial Ecology</i>)
MG-RAST	(<i>Metagenomics - Rapid Annotation using Subsystems Technology</i>)

Lista de símbolos y abreviaturas

Abreviatura	Término
RDP	<i>(Ribosomal Database Project)</i>
QC	Análisis de calidad (del inglés <i>quality control</i>)
ENA	Encuesta nacional agropecuaria
IQR	Rango intercuartil (del inglés <i>interquartile range</i>)
SNC	Staphylococcus coagulasa negativos
SPC	Staphylococcus coagulasa positivos
PCoA	Análisis de coordenadas principales
ANOSIM	Análisis de similaridad
NAST	<i>(Nearest alignment space termination)</i>
NT	Nivel tecnológico
NTA	Nivel tecnológico alto
NTM	Nivel tecnológico medio
NTB	Nivel tecnológico bajo
SBS	Secuenciación por síntesis (del inglés <i>Sequencing by synthesis</i>)
dNTP	Desoxirribonucleótido trifosfato

Bibliografía

- Addis, M. F., Tanca, A., Uzzau, S., Oikonomou, G., Bicalho, R. C., & Moroni, P. (2016). The bovine milk microbiota: insights and perspectives from -omics studies. *Mol. BioSyst.*, *12*(8), 2359–2372. <https://doi.org/10.1039/C6MB00217J>
- Agudelo, D. A., & Bedoya, O. (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. *Revista Lasallista de Investigación*, *2*(1), 38–42.
- Alais, C. (1988). *Ciencia de la leche. Principios de tecnica lechera*.
- Alany, R. G., Bhattarai, S., Pranatharthiharan, S., & Devarajan, P. V. (2013). Intramammary Delivery Technologies for Cattle Mastitis Treatment. In M. J. Rathbone & A. McDowell (Eds.), *Long Acting Animal Health Drug Products* (pp. 295–327). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4439-8>
- Amann, R. I., Ludwig, W., Schleifer, K. H., Amann, R. I., & Ludwig, W. (1995). Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation . *Phylogenetic Identification and In Situ Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation*, *59*(1), 143–169.
- Andrews, S. (2014). FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data. Retrieved from <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>.
- Angelidis, A. S. (2015). *Dairy Microbiology. A practical approach*. (P. Papademas, Ed.) (CRC Press). Limassol, Cyprus.
- Bafort, F., Parisi, O., Perraudin, J. P., & Jijakli, M. H. (2014). Mode of Action of Lactoperoxidase as Related to Its Antimicrobial Activity: A Review. *Enzyme Research*, *2014*(Article ID 517164), 13. <https://doi.org/10.1155/2014/517164>
- Balvočiute, M., & Huson, D. H. (2017). SILVA, RDP, Greengenes, NCBI and OTT - how do these taxonomies compare? *BMC Genomics*, *18*(Suppl 2), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3501-4>
- Bar, D., Tauer, L. W., Bennett, G., González, R. N., Hertl, J. A., Schukken, Y. H., ... Gröhn, Y. T. (2008). The Cost of Generic Clinical Mastitis in Dairy Cows as Estimated by Using Dynamic Programming. *Journal of Dairy Science*, *91*(6), 2205–2214.

- <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0573>
- Barlow, J., Rauch, B., Welcome, F., Kim, S. G., Dubovi, E., & Schukken, Y. (2008). Association between *Coxiella burnetii* shedding in milk and subclinical mastitis in dairy cattle. *Veterinary Research, 39*(3), 1–9. <https://doi.org/10.1051/vetres:2007060>
- Bedolla, C., y Ponce De León, M. (2008). Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera - Economic causalities inflicted by the bovine mastitis in the milk industry). *Revista Electrónica de Veterinaria, 9*(4), 1–26.
- Bhatt, V. D., Ahir, V. B., Koringa, P. G., Jakhesara, S. J., Rank, D. N., Nauriyal, D. S., ... Joshi, C. G. (2012). Milk microbiome signatures of subclinical mastitis-affected cattle analysed by shotgun sequencing. *Journal of Applied Microbiology, 112*(4), 639–650. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05244.x>
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics, 30*(15), 2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- Bradley, A. J., Leach, K. A., Breen, J. E., Green, L. E., & Green, M. J. (2007). Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Veterinary Record, 160*(8), 253–258. <https://doi.org/10.1136/vr.160.8.253>
- Braem, G., De Vliegher, S., Verbist, B., Heyndrickx, M., Leroy, F., & De Vuyst, L. (2012). Culture-independent exploration of the teat apex microbiota of dairy cows reveals a wide bacterial species diversity. *Veterinary Microbiology, 157*(3–4), 383–390. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.12.031>
- Bray, R. J., & Curtis, J. T. (1957). An ordination of the upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological Monographs, 27*(4), 325–349. <https://doi.org/10.2307/1942268>
- Brettar, I., Christen, R., & Höfle, M. G. (2002). *Rheinheimera baltica* gen. nov., sp. nov., a blue-coloured bacterium isolated from the central Baltic Sea, 52, 1851–1857.
- Brettar, I., Christen, R., & Höfle, M. G. (2006). *Rheinheimera perlucida* sp. nov., a marine bacterium of the Gammaproteobacteria isolated from surface water of the central Baltic Sea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 56*(9), 2177–2183. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64172-0>
- Calderón, A., & Rodríguez, V. (2008). Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 21*, 582–589. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-

06902008000400006&nrm=iso

- Cañizares, J., Blanca, J., & Ziarsolo, P. (2015). SECUENCIACIÓN DE SANGER. Retrieved from file:///Users/mabel/Documents/nuevos artículos españa/capitulo 4/SECUENCIACIÓN DE SANGER — Bioinformatics at COMAV 0.1 documentation.webarchive
- Caporaso, G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., Turnbaugh, P. J., ... Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *108*(Supplement_1), 4516–4522. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000080107>
- Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., ... Knight, R. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Publishing Group*, *7*(5), 335–336. <https://doi.org/10.1038/nmeth0510-335>
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. a, Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N., ... Knight, R. (2012). Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME Journal*, *6*(8), 1621–1624. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.8>
- Chambers, J. V. (2002). *The Microbiology of Raw Milk. Dairy Microbiology* (Vol. 1). <https://doi.org/10.1201/b17297-2>
- Chao, A. (1984). Nonparametric Estimation of the Number of Classes in a Population Author. *Scanadinavian Journal of Statistics*, *11*(4), 265–270. <https://doi.org/10.1214/aoms/1177729949>
- Chao, A., & Yang, M. C. K. (1993). Stopping rule and estimation for recapture debugging with unequal detection rates. *Biometrika*, *80*(1), 193–201. <https://doi.org/10.1093/biomet/80.1.193>
- Chen, W. M., Lin, C. Y., Young, C. C., & Sheu, S. Y. (2010). Rheinheimera aquatica sp. nov., antimicrobial activity-producing bacterium isolated from freshwater culture pond. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *20*(10), 1386–1392. <https://doi.org/10.4014/jmb.1004.04048>
- Chen, W. M., Yang, S. H., Young, C. C., & Sheu, S. Y. (2013). Rheinheimera tilapiae sp. nov., isolated from a freshwater culture pond. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *63*(PART4), 1457–1463. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.043836-0>
- Clarridge, J. E. (2004). Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, *17*(4), 840–

862. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.840>
- Cole, J. R., Wang, Q., Fish, J. A., Chai, B., McGarrell, D. M., Sun, Y., ... Tiedje, J. M. (2014). Ribosomal Database Project: Data and tools for high throughput rRNA analysis. *Nucleic Acids Research*, 42(D1), 633–642. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1244>
- Coppola, S., Blaiotta, G., & Ercolini, D. (2008). Dairy Products. In L. Cocolin & D. Ercolini (Eds.), *Molecular Techniques in the Microbial Ecology of Fermented Foods* (1st ed., pp. 31–90). New York, NY: Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-0-387-74520-6_2
- Cremonesi, P., Castiglioni, B., Malferrari, G., Biunno, I., Vimercati, C., Moroni, P., ... Luzzana, M. (2006). Technical Note: Improved Method for Rapid DNA Extraction of Mastitis Pathogens Directly from Milk. *Journal of Dairy Science*, 89(1), 163–169. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72080-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72080-X)
- Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). (2013). Resultados Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA) para el Departamento del Valle del Cauca. Retrieved from https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/enda/ena/Presentacion_Valle_2012.pdf
- DeSantis, T. Z., Hugenholtz, P., Larsen, N., Rojas, M., Brodie, E. L., Keller, K., ... Andersen, G. L. (2006). Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(7), 5069–5072. <https://doi.org/10.1128/AEM.03006-05>
- Dhariwal, A., Chong, J., Habib, S., King, I. L., Agellon, L. B., & Xia, J. (2017). MicrobiomeAnalyst: A web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data. *Nucleic Acids Research*, 45(W1), W180–W188. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx295>
- Doughari, H. J., Ndakidemi, P. A., Human, I. S., & Benade, S. (2011). The Ecology, Biology and Pathogenesis of *Acinetobacter* spp.: An Overview. *Microbes and Environments*, 26(2), 101–112. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME10179>
- Earth Microbiome Project. (2016). 16S Illumina Amplicon Protocol. Retrieved from <http://www.earthmicrobiome.org/protocols-and-standards/16s/>
- Edgar, R. C., Haas, B. J., Clemente, J. C., Quince, C., & Knight, R. (2011). UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*, 27(16), 2194–2200. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr381>
- El-Metwally, S., Ouda, O. M., & Helmy, M. (2014a). First- and Next-Generations Sequencing Methods Abstract. In *Next Generation Sequencing Technologies and Challenges in Sequence Assembly* (SpringerBr, Vol. 7, pp. 29–36). Springer, New York, NY.

- <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0715-1>
- El-Metwally, S., Ouda, O. M., & Helmy, M. (2014b). Next-Generation Sequencing Platforms. In *Next Generation Sequencing Technologies and Challenges in Sequence Assembly* (SpringerBr, Vol. 7, pp. 37–44). Springer, New York, NY. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0715-1>
- Ewels, P., Magnusson, M., Lundin, S., & Käller, M. (2016). MultiQC: Summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinformatics*, *32*(19), 3047–3048. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw354>
- Falentin, H., Rault, L., Nicolas, A., Bouchard, D. S., Lassalas, J., Lambertson, P., ... Even, S. (2016). Bovine teat microbiome analysis revealed reduced alpha diversity and significant changes in taxonomic profiles in quarters with a history of mastitis. *Frontiers in Microbiology*, *7*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00480>
- FEDEGAN. (2017). Parámetros para definir el nivel tecnológico en una unidad ganadera | Fedegan. Retrieved February 25, 2019, from <https://www.fedegan.org.co/noticias/parametros-para-definir-el-nivel-tecnologico-en-una-unidad-ganadera>
- Federhen, S. (2012). The NCBI Taxonomy. *Nucleic Acids Res.*, *40*(D1), D136–D143. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr1178>
- Fox, L. K., & Gay, J. M. (1993). Contagious mastitis. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, *9*(3), 475–487. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30615-0](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30615-0)
- Franz, S., Floek, M., & Hofmann-Parisot, M. (2009). Ultrasonography of the Bovine Udder and Teat. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, *25*(3), 669–685. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2009.07.007>
- Fukushima, M., Kakinuma, K., & Kawaguchi, R. (2002). Phylogenetic analysis of Salmonella, Shigella, and Escherichia coli strains on the basis of the gyrB gene sequence. *Journal of Clinical Microbiology*, *40*(8), 2779–2785. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.8.2779>
- George, L. W., Divers, T. J., Ducharme, N., & Welcome, F. L. (2008). Diseases of the Teats and Udder. In *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle* (Second Edi, pp. 327–394). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-141603137-6.50011-9>
- Girija, D., Deepa, K., Xavier, F., Antony, I., & Shidhi, P. R. (2013). Analysis of cow dung microbiota-A metagenomic approach. *Indian Journal of Biotechnology*, *12*(3), 372–378. <https://doi.org/Analysis>.
- Glöckner, F. O., Yilmaz, P., Quast, C., Gerken, J., Beccati, A., Ciuprina, A., ... Ludwig, W. (2017).

- 25 years of serving the community with ribosomal RNA gene reference databases and tools. *Journal of Biotechnology*, 261(February), 169–176. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.06.1198>
- Gonçalves, J. L., Kamphuis, C., Martins, C. M. M. R., Barreiro, J. R., Tomazi, T., & Gameiro, A. H. (2018). Bovine subclinical mastitis reduces milk yield and economic return. *Livestock Science*, 210(January), 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.01.016>
- González-Chávez, S. A., Arévalo-Gallegos, S., & Rascón-Cruz, Q. (2009). Lactoferrin: structure, function and applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33(4). <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.07.020>
- Götz, F., Bannerman, T., & Schleifer, K.-H. (2006). The Genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In *The Prokaryotes* (pp. 5–75). https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_1
- Grady, L. O., & Doherty, M. (2009). Focus on Bovine Mastitis : Knowledge into Practice Editors. *Irish Veterinary Journal*, 62(4), 258. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-62-4-258>
- Greif, G. (2015). *Métodos de secuenciación de ácidos nucleicos*. Montevideo. <https://doi.org/10.1128/JB.00693-15>
- Guamán, L., Zapata, S., Serrano, M., & Trueba, G. (2016). Characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional Ecuadorian fermented foods. *Avances En Ciencias e Ingeniería*, 6(1). <https://doi.org/10.18272/aci.v6i1.155>
- Gurung, M., Nam, H. M., Tamang, M. D., Chae, M. H., Jang, G. C., Jung, S. C., & Lim, S. K. (2013). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* from raw bulk tank milk in Korea. *Journal of Dairy Science*, 96(4), 1997–2002. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5965>
- Hagnestam-Nielsen, C., & Østergaard, S. (2009). Economic impact of clinical mastitis in a dairy herd assessed by stochastic simulation using different methods to model yield losses. *Animal*, 3(2), 315–328. <https://doi.org/10.1017/S1751731108003352>
- Halasa, T., Huijps, K., Østerås, O., & Hogeveen, H. (2007). Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Veterinary Quarterly*, 29(1), 18–31. <https://doi.org/10.1080/01652176.2007.9695224>
- Halasa, T., Nielen, M., Huirne, R. B. M., & Hogeveen, H. (2009). Stochastic bio-economic model of bovine intramammary infection. *Livestock Science*, 124(1–3), 295–305. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.02.019>
- Halpern, M., Senderovich, Y., & Snir, S. (2007). *Rheinheimera chironomi* sp. nov., isolated from a chironomid (Diptera; Chironomidae) egg mass. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(8), 1872–1875. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.64927-0>

- Hamann, J. (2010). Mastitis and raw milk quality, safety and yield. In *Improving the Safety and Quality of Milk* (Vol. 1, pp. 246–263). Germany: Woodhead Publishing Limited.
<https://doi.org/10.1533/9781845699420.3.246>
- Hao, Y., Pei, Z., & Brown, S. M. (2017). Bioinformatics in Microbiome Analysis. In C. Harwood (Ed.), *Methods in Microbiology* (1st ed., Vol. 44, pp. 1–18). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/bs.mim.2017.08.002>
- Hardie, J. M., & Whiley, R. A. (1995). The genus *Streptococcus*. In B. J. B. Wood & W. H. Holzapfel (Eds.), *The genera of lactic acid bacteria* (pp. 55–124). Boston: Springer US.
https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5817-0_4
- Haug, A., Høstmark, A. T., & Harstad, O. M. (2007). Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids in Health and Disease*, 6(1), 25. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-6-25>
- Health, C. A. (n.d.). Protecting Cows from Mastitis. Retrieved from <https://www.cast-animal-health.com/animal-health-marketing/?ref=yt>
- Heltshe, J. F., & Forrester, N. E. (1983). Estimating Species Richness Using the Jackknife Procedure. *Biometrics*, 39(1), 1. <https://doi.org/10.2307/2530802>
- Heyneman, R., Burvenich, C., & Vercauteren, R. (1990). Interaction between the respiratory burst activity of neutrophil leukocytes and experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in cows. *Journal of Dairy Science*, 73(4), 985–994.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78756-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78756-5)
- Hill, B., Smythe, B., Lindsay, D., & Shepherd, J. (2012). Microbiology of raw milk in New Zealand. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2), 305–308.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.031>
- Hoffman, S., Batz, M., & Morris, G. (2012). Annual Cost of Illness and Quality-Adjusted Life Year Losses in the United States Due to 14 Foodborne Pathogens. *Journal of Food Protection*, 75(7), 1292–1302. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-11-417>
- Hogan, J. S., & National Mastitis Council. (1999). *Laboratory handbook on bovine mastitis*. (W. : N. M. C. Madison, Ed.).
- Hogan, J. S., Smith, K. L., Hoblet, K. H., Schoenberger, P. S., Todhunter, D. a., Hueston, W. D., ... Conrad, H. R. (1989). Field Survey of Clinical Mastitis in Low Somatic Cell Count Herds. *Journal of Dairy Science*, 72(6), 1547–1556. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79266-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79266-3)
- Hogeveen, H., Huijps, K., & Lam, T. J. G. M. (2011). Economic aspects of mastitis: New developments. *New Zealand Veterinary Journal*, 59(1), 16–23.

- <https://doi.org/10.1080/00480169.2011.547165>
- Hosseinzadeh, S., & Dastmalchi Saei, H. (2014). Staphylococcal species associated with bovine mastitis in the North West of Iran: Emerging of coagulase-negative staphylococci. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 2(1), 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2014.02.001>
- Huijps, K., Lam, T. J. G. M., & Hogeveen, H. (2008). Costs of mastitis: Facts and perception. *Journal of Dairy Research*, 75(1), 113–120. <https://doi.org/10.1017/S0022029907002932>
- Huxley, J. N., Green, M. J., Green, L. E., & Bradley, A. J. (2002). Evaluation of the Efficacy of an Internal Teat Sealer During the Dry Period. *Journal of Dairy Science*, 85(3), 551–561. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74108-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74108-8)
- ICA-Instituto Colombiano Agropecuario. (2017). Censo Pecuario Nacional - 2017. Retrieved from <https://www.ica.gov.co/Areas/Pecuaria/Servicios/Epidemiologia-Veterinaria/Censos-2016/Censo-2017.aspx>
- Illumina. (2010). Illumina sequencing technology. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(03\)00189-6](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(03)00189-6)
- Illumina. (2017). An Introduction to Next-Generation Sequencing Technology. *Developmental Biology*, 276(2), 391–402. <https://doi.org/Pub No. 770-2012-008>
- Illumina, I. (2011). *Quality Scores for Next-Generation Sequencing*. San Diego, USA. Retrieved from https://www.illumina.com/documents/products/technotes/technote_Q-Scores.pdf
- Izard, J., & Rivera, M. C. (Eds.). (2015). Steps in Metagenomics: Let's Avoid Garbage in and Garbage Out. In *Metagenomics for Microbiology* (Academic p, pp. 1–23). Oxford: Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-410472-3.00001-4>.
- Izquierdo, P. (2015). *Comparación de estrategias metagenómicas en muestras ambientales de biofilms*. Universitat Politècnica de València (UPV) Escuela.
- Jany, J.-L., & Barbier, G. (2008). Culture-independent methods for identifying microbial communities in cheese. *Food Microbiology*, 25(7), 839–848. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.06.003>
- Jovel, J., Patterson, J., Wang, W., Hotte, N., O'Keefe, S., Mitchel, T., ... Wong, G. K. S. (2016). Characterization of the gut microbiome using 16S or shotgun metagenomics. *Frontiers in Microbiology*, 7(APR), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00459>
- Jünemann, S., Kleinbölting, N., Jaenicke, S., Henke, C., Hassa, J., Nelkner, J., ... Stoye, J. (2017). Bioinformatics for NGS-based metagenomics and the application to biogas research. *Journal of Biotechnology*, 261, 10–23. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.08.012>

- Kable, M. E., Srisengfa, Y., Laird, M., Zaragoza, J., McLeod, J., Heidenreich, J., & Marco, M. L. (2016). The core and seasonal microbiota of raw bovine milk in tanker trucks and the impact of transfer to a milk processing facility. *MBio*, 7(4), 1–13. <https://doi.org/10.1128/mBio.00836-16>
- Keenan, T. W., & Patton, S. (1995). *Handbook of Milk Composition Chapter 2*. (R. G. Jensen, Ed.), *Handbook of Milk Composition*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384430-9.50004-4>
- Kerstens, K., De Vos, P., Gillis, M., Swings, J., Vandamme, P., & Stackebrandt, E. (2006). Introduction to the Proteobacteria. In *The Prokaryotes* (Third Edit, pp. 3–37). New York, NY: Springer, New York, NY. https://doi.org/DOI: 10.1007/0-387-30745-1_1
- Koivula, M., Pitkälä, A., Pyörälä, S., & Mäntysaari, E. A. (2007). Distribution of bacteria and seasonal and regional effects in a new database for mastitis pathogens in Finland. *Acta Agriculturae Scandinavica A: Animal Sciences*, 57(2), 89–96. <https://doi.org/10.1080/09064700701488941>
- Kolbert, C. P., & Persing, D. H. (1999). Ribosomal DNA sequencing as a tool for identification of bacterial pathogens. *Current Opinion in Microbiology*, 2(3), 299–305. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(99\)80052-6](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(99)80052-6)
- Koonin, E. (2010). The Two Empires and Three Domains of Life in the Postgenomic Age. Retrieved from <https://www.nature.com/scitable/topicpage/the-two-empires-and-three-domains-of-14432998>
- Kuang, Y., Tani, K., Synnott, A. J., Ohshima, K., Higuchi, H., Nagahata, H., & Tanji, Y. (2009). Characterization of bacterial population of raw milk from bovine mastitis by culture-independent PCR–DGGE method. *Biochemical Engineering Journal*, 45(1), 76–81. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.02.010>
- Kumar, A., Bajaj, A., Kumar, R. M., Kaur, G., Kaur, N., Singh, N. K., ... Mayilraj, S. (2015). Taxonomic description and genome sequence of *Rheinheimera mesophila* sp. nov., isolated from an industrial waste site. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(10), 3666–3673. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000471>
- Lafarge, V., Ogier, J., Girard, V., Maladen, V., Leveau, J., & Gruss, A. (2004). Raw Cow Milk Bacterial Population Shifts Attributable to Refrigeration Raw Cow Milk Bacterial Population Shifts Attributable to Refrigeration. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(9), 5644–5650. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.9.5644>
- Li, H. J., Zhang, X. Y., Zhang, Y. J., Zhou, M. Y., Gao, Z. M., Chen, X. L., ... Zhang, Y. Z. (2011). *Rheinheimera nanhaiensis* sp. nov., isolated from marine sediments, and emended

- description of the genus *Rheinheimera* Brettar et al. 2002 emend. Merchant et al. 2007. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(5), 1016–1022. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.019281-0>
- Li, N., Richoux, R., Boutinaud, M., Martin, P., & Gagnaire, V. (2014). Role of somatic cells on dairy processes and products: A review. *Dairy Science and Technology*, 94(6), 517–538. <https://doi.org/10.1007/s13594-014-0176-3>
- Li, N., Wang, Y., You, C., Ren, J., Chen, W., Zheng, H., & Liu, Z. (2018). Variation in Raw Milk Microbiota Throughout 12 Months and the Impact of Weather Conditions. *Scientific Reports*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20862-8>
- Li, Z., Wright, A., Yang, Y., Si, H., & Li, G. (2017). Unique Bacteria Community Composition and Co-occurrence in the Milk of Different Ruminants. *Scientific Reports*, 7(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep40950>
- Lima, S. F., Teixeira, A. G. V., Lima, F. S., Ganda, E. K., Higgins, C. H., Oikonomou, G., & Bicalho, R. C. (2017). The bovine colostrum microbiome and its association with clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 100(4), 3031–3042. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11604>
- Lindmark Månsson, H. (2008). Fatty acids in bovine milk fat. *Food & Nutrition Research*, 52(1), 1821. <https://doi.org/10.3402/fnr.v52i0.1821>
- LiPuma, J. J. L., Currie, B. J., Peacock, S. J., & Vandamme, P. A. R. (2011). *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Ralstonia*, *Cupriavidus*, *Pandoraea*, *Brevundimonas*, *Comamonas*, *Delftia* and *Acidovorax*. In J. Versalovic, K. Carroll, G. Funke, J. Jorgensen, M. Landry, & D. Warnock (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (10th ed., pp. 692–713). ASM Press. <https://doi.org/doi:10.1128/9781555816728.ch41>
- Liu, Y., Jiang, J. T., Xu, C. J., Liu, Y. H., Song, X. F., Li, H., & Liu, Z. P. (2012). *Rheinheimera longhuensis* sp. nov., isolated from a slightly alkaline lake, and emended description of genus *Rheinheimera* Brettar et al. 2002. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(12), 2927–2933. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.036020-0>
- Liu, Z., Desantis, T. Z., Andersen, G. L., & Knight, R. (2008). Accurate taxonomy assignments from 16S rRNA sequences produced by highly parallel pyrosequencers. *Nucleic Acids Research*, 36(18), 1–11. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn491>
- Lozupone, C. A., & Knight, R. (2009). Species Divergence and the Measurement of Microbial Diversity. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(4), 557–578. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00111.x.Species>
- Lozupone, C., & Knight, R. (2005). UniFrac : a New Phylogenetic Method for Comparing

- Microbial Communities UniFrac : a New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12), 8228–8235. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8228>
- Lüthje, P., & Schwarz, S. (2006). Antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci from bovine subclinical mastitis with particular reference to macrolide-lincosamide resistance phenotypes and genotypes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 57(5), 966–969. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl061>
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., & Brock, T. D. (2006). *Brock biology of microorganisms*. (Upper Saddle River, NJ: Pearson Prentice Hall., Ed.) (11th ed.).
- Mardanov, A. V., Kadnikov, V. V., & Ravin, N. V. (2017). Metagenomics: A Paradigm Shift in Microbiology. In M. Nagarajan (Ed.), *Metagenomics: Perspectives, Methods, and Applications* (pp. 1–13). Moscow, Russia: Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102268-9.00001-X>
- Martinez, B. C. (1982). *Estadística apuntes y 600 problemas resueltos, 300 problemas por resolver*. (Ecoe, Ed.) (2nd ed.). Retrieved from <https://books.google.com.co/books?id=qnORvgAACAAJ>
- McInerney, J. P., Howe, K. S., & Schepers, J. A. (1992). A framework for the economic analysis of disease in farm livestock. *Preventive Veterinary Medicine*, 13(2), 137–154. [https://doi.org/10.1016/0167-5877\(92\)90098-Z](https://doi.org/10.1016/0167-5877(92)90098-Z)
- McInnis, E. A., Kalanetra, K. M., Mills, D. A., & Maga, E. A. (2015). Analysis of raw goat milk microbiota: Impact of stage of lactation and lysozyme on microbial diversity. *Food Microbiology*, 46, 121–131. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.07.021>
- McNeill, R. M., Defoor, W. M., Goller, C. C., & Ott, L. E. (2015). Delftia spp . Elicit a Pro-inflammatory Response in Monocytes. *Journal of Young Investigators*, 29(6), 41–48.
- Meglia, G. E., & Mata, H. T. (2001). MECANISMOS ESPECÍFICOS E INESPECÍFICOS DE DEFENSA, CON REFERENCIA A LA GLÁNDULA MAMARIA DE LOS BOVINOS PRODUCTORES DE LECHE. (Spanish). *Specific and Unspecific Mechanisms of Defence, with Reference to the Mammary Gland of Dairy Cattle. (English)*, 29–40. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=20018784&lang=es&site=ehost-live>
- Merchant, M. M., Welsh, A. K., & McLean, R. J. C. (2007). Rheinheimera texasensis sp. nov., a halointolerant freshwater oligotroph. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(10), 2376–2380. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.65045-0>

- Mojica, J. A., & Jaramillo, D. A. (2014). prevalencia de mastitis subclínica en sistemas de producción bovina doble propósito de la vereda matepiña del municipio de Arauca. *Revista Sistemas Productivos Agroecologicos*, 5(2), 126–142.
- Mulon, P. Y. (2016). Surgical Management of the Teat and the Udder. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 32(3), 813–832. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2016.05.013>
- Nam, H. M., Lim, S. K., Kang, H. M., Kim, J. M., Moon, J. S., Jang, K. C., ... Jung, S. C. (2009). Prevalence and antimicrobial susceptibility of gram-negative bacteria isolated from bovine mastitis between 2003 and 2008 in Korea. *Journal of Dairy Science*, 92(5), 2020–2026. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1739>
- National Mastitis Council (U.S.), & Oliver, S. P. (2004). *Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality* (4th ed.). Verona, Wis :NMC. Retrieved from <https://trove.nla.gov.au/work/35636994>
- Needleman, S. B., & Wunsch, C. D. (1970). A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins. *Journal of Molecular Biology*, 48(3), 443–453. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(70\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0022-2836(70)90057-4)
- Nickerson, S. . . (1987). Resistance mechanisms of the bovine udder: new implications for mastitis control at the teat end. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1(191), 1484–1488.
- Nilakanta, H., Drews, K. L., Firrell, S., Foulkes, M. A., & Jablonski, K. A. (2014). A review of software for analyzing molecular Sequences. *BMC Research Notes*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-830>
- O’Sullivan, O., & Cotter, P. D. (2017). *Microbiota of Raw Milk and Raw Milk Cheeses. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology: Fourth Edition* (Fourth Edi, Vol. 1). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00012-0>
- Ohnishi, M., Sawada, T., Marumo, K., Harada, K., Hirose, K., Shimizu, A., ... Kato, H. (2012). Antimicrobial susceptibility and genetic relatedness of bovine *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from a mastitis outbreak. *Letters in Applied Microbiology*, 54(6), 572–576. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2012.03246.x>
- Ordoñez, J. A., Otero, A., Núñez, M., & Campos, J. (2005). Opinión del Comité científico de la AESA sobre una cuestión en relación con la utilización del sistema CATALIX® (basado en la activación del sistema lactoperoxidasa) como tratamiento higienizante de frutas y hortalizas para su comercialización como produ. *Revista Del Comité Científico de La AESA*,

- 3, 19–33.
- Østerås, O. (2006). MASTITIS EPIDEMIOLOGY PRACTICAL APPROACHES AND APPLICATIONS. In *WORLD BUIATRICS CONGRESS* (pp. 1–14). France.
- Pal, M., Lemun, D., & Bilata, T. (2017). Isolation, Identification and Antibiogram of Bacterial Pathogens from Bovine Subclinical Mastitis in Asella, Ethiopia. *International Journal of Livestock Research*, 7(8), 62–70. <https://doi.org/10.5455/ijlr.20170524115206>
- Park, S., Park, J.-M., Won, S.-M., Jung, Y.-T., & Yoon, J.-H. (2014). Rheinheimera arenilitoris sp. nov., isolated from seashore sand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(Pt 11), 3749–3754. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.067504-0>
- Pexara, A., Solomakos, N., & Govaris, A. (2018). Q fever and prevalence of Coxiella burnetii in milk. *Trends in Food Science and Technology*, 71(September 2017), 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.004>
- Pham, C. T. N. (2006). Neutrophil serine proteases: Specific regulators of inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 6(7), 541–550. <https://doi.org/10.1038/nri1841>
- Plummer, E., Twin, J., Bulach, D. M., Garland, S. M., & Tabrizi, S. N. (2015). A Comparison of Three Bioinformatics Pipelines for the Analysis of Preterm Gut Microbiota using 16S rRNA Gene Sequencing Data. *Journal of Proteomics & Bioinformatics*, 8(12), 283–291. <https://doi.org/10.4172/jpb.1000381>
- Pyörälä, S., & Taponen, S. (2009). Coagulase-negative staphylococci-Emerging mastitis pathogens. *Veterinary Microbiology*, 134(1–2), 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.015>
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., ... Glöckner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), 590–596. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
- Quigley, L., O’Sullivan, O., Beresford, T. P., Paul Ross, R., Fitzgerald, G. F., & Cotter, P. D. (2012). A comparison of methods used to extract bacterial DNA from raw milk and raw milk cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 113(1), 96–105. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05294.x>
- Quigley, L., O’Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T., Ross, R. P., Fitzgerald, G., & Cotter, P. (2013). The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 664–698. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12030>
- Quince, C., Walker, A. W., Simpson, J. T., Loman, N. J., & Segata, N. (2017). Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nature Biotechnology*, 35(9), 833–844.

- <https://doi.org/10.1038/nbt.3935>
- Raats, D., Offek, M., Minz, D., & Halpern, M. (2011). Molecular analysis of bacterial communities in raw cow milk and the impact of refrigeration on its structure and dynamics. *Food Microbiology*, 28(3), 465–471. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.10.009>
- Rall, V. L. M., Miranda, E. S., Castilho, I. G., Camargo, C. H., Langoni, H., Guimarães, F. F., ... Fernandes Júnior, A. (2014). Diversity of Staphylococcus species and prevalence of enterotoxin genes isolated from milk of healthy cows and cows with subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 97(2), 829–837. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7226>
- Ramírez, N., Arroyave Henao, O., Cerón-Muñoz, M., Jaramillo, M., Cerón, J., & Palacio, L. G. (2011). Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, (22), 31–42. Retrieved from <http://revistas.lasalle.edu.co/index.php/mv/article/view/562>
- Rasolofo, E. A., St-Gelais, D., LaPointe, G., & Roy, D. (2010). Molecular analysis of bacterial population structure and dynamics during cold storage of untreated and treated milk. *International Journal of Food Microbiology*, 138(1–2), 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.008>
- Reginensi, S., González, M. J., Olivera, J. A., Infante, I., Juliano, P., & Bermúdez, J. (2014). *Microorganismos termodúricos en la leche causantes de defectos en la producción quesera*. Montevideo.
- Ricotta, C. (2017). Of beta diversity, variance, evenness, and dissimilarity. *Ecology and Evolution*, 7(13), 4835–4843. <https://doi.org/10.1002/ece3.2980>
- Rinaldi, M., Li, R. W., & Capuco, A. V. (2010). Mastitis associated transcriptomic disruptions in cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 138(4), 267–279. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2010.10.005>
- Rodicio, M., & Mendoza, M. del C. (2004). Identificación bacteriana mediante secuenciación de l ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*, 22(4), 238–245. Retrieved from https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0ahUKEwisolyq7JjbAhWnB5oKHY-_B2YQFgg7MAE&url=http%3A%2F%2Fwww.elsevier.es%2Fes-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-13059055-S300&usg=AOvVaw3vE4NH9cCQH9Gzb8lyX7gH
- Rodríguez-Franco, D. A., Vázquez-Moreno, L., & Ramos-Clamont Montfort, G. (2005). Actividad antimicrobiana de la lactoferrina: Mecanismos y aplicaciones clínicas potenciales *Revista*

- Latinoamericana de Microbiología Actividad antimicrobiana de la lactoferrina: Mecanismos y aplicaciones clínicas potenciales, 47, 102–108. Retrieved from http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2005/mi05-3_4g.pdf
- Rollin, E., Dhuyvetter, K. C., & Overton, M. W. (2015). The cost of clinical mastitis in the first 30 days of lactation: An economic modeling tool. *Preventive Veterinary Medicine, 122*(3), 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.11.006>
- Romanenko, L. A., Uchino, M., Falsen, E., Zhukova, N. V., Mikhailov, V. V., & Uchimura, T. (2003). *Rheinheimera pacifica* sp. nov., a novel halotolerant bacterium isolated from deep sea water of the Pacific. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 53*(6), 1973–1977. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02252-0>
- Rupp, R., Boichard, D., Bertrand, C., & Bazin, S. (2000). Bilan national des numérations cellulaires dans le lait des différentes races bovines laitières Françaises. *INRA Productions Animales, 13*(4), 257–267.
- Ryu, S. H., Chung, B. S., Park, M., Lee, S. S., Lee, S. S., & Jeon, C. O. (2008). *Rheinheimera soli* sp. nov., a gammaproteobacterium isolated from soil in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 58*(10), 2271–2274. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65489-0>
- Schloss, P. D., & Handelsman, J. (2005). Introducing DOTUR, a Computer Program for Defining Operational Taxonomic Units and Estimating Species Richness. *Applied and Environmental Microbiology, 71*(3), 1501–1506. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.3.1501>
- Schloss, P. D., & Handelsman, J. (2006a). Introducing SONS, a tool for operational taxonomic unit-based comparisons of microbial community memberships and structures. *Applied and Environmental Microbiology, 72*(10), 6773–6779. <https://doi.org/10.1128/AEM.00474-06>
- Schloss, P. D., & Handelsman, J. (2006b). Introducing TreeClimber, a Test To Compare Microbial Community Structures. *Applied and Environmental Microbiology, 72*(4), 2379–2384. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.4.2379>
- Schloss, P. D., Larget, B. R., Handelsman, J., & Madison, W. (2004). Integration of Microbial Ecology and Statistics: a Test To Compare Gene Libraries, *70*(9), 5485–5492. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.9.5485>
- Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., ... Weber, C. F. (2009). Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-

- supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 7537–7541. <https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09>
- Serrano, J. (2016). Anatomía de la ubre y fisiología del ordeño.
- Shannon, C. E., & Weaver, W. (1949). The Mathematical Theory of Communication. *The Mathematical Theory of Communication*, 27(4), 117. <https://doi.org/10.2307/3611062>
- Simpson, E. H. (1949). Measurement of diversity [16]. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/163688a0>
- Singleton, D. R., Furlong, M., Rathbun, S. R., & Whitman, W. B. (2001). Environmental Samples Gene Sequence Libraries from Quantitative Comparisons of 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(9), 4374–4376. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.9.4374-4376.2001>
- Smith, K. L., & Hogan, J. S. (1993). Environmental mastitis. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 9(3), 489–498. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30616-2](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30616-2)
- Sordillo, L. M., & Streicher, K. L. (2002). Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 7(2), 135–146. <https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2005.10.017>
- Streit, W. R., & Schmitz, R. A. (2004). Metagenomics - The key to the uncultured microbes. *Current Opinion in Microbiology*, 7(5), 492–498. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.08.002>
- Suarez, C., Ratering, S., Geissler-Plaum, R., & Schnell, S. (2014). *Rheinheimera hassiensis* sp. nov. and *Rheinheimera muenzenbergensis* sp. nov., two species from the rhizosphere of *Hordeum secalinum*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(PART 4), 1202–1209. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.061200-0>
- Suzuki, H., Lefébure, T., Bitar, P. P., & Stanhope, M. J. (2012). Comparative genomic analysis of the genus *Staphylococcus* including *Staphylococcus aureus* and its newly described sister species *Staphylococcus simiae*. *BMC Genomics*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-38>
- Swings, J., Lambert, B., Kersters, K., & Holmes, B. (2006). The Genera *Phyllobacterium* and *Ochrobactrum*. In *The Prokaryotes* (pp. 747–750). <https://doi.org/10.1007/0-387-30745-1>
- 1
- Taponen, S., Salmikivi, L., Simojoki, H., Koskinen, M. T., & Pyörälä, S. (2009). Real-time polymerase chain reaction-based identification of bacteria in milk samples from bovine

- clinical mastitis with no growth in conventional culturing. *Journal of Dairy Science*, 92(6), 2610–2617. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1729>
- Taponen, S., Simojoki, H., Haveri, M., Larsen, H. D., & Pyörälä, S. (2006). Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative staphylococci identified with API or AFLP. *Veterinary Microbiology*, 115(1–3), 199–207. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.02.001>
- Te Giffel, M. C., & Wells-Bennik, M. H. J. (2010). Good hygienic practice in milk production and processing. In *Improving the Safety and Quality of Milk* (Vol. 1, pp. 179–193). Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9781845699420.2.179>
- Teperino, M. (2015). Rutina de ordeñe ¿Qué hacer después de retirar las pezoneras? Retrieved April 25, 2018, from <http://agrotemario.com/noticia/12666/rutina-de-ordene-que-hacer-despues-de-retirar-las-pezoneras>
- Thirumalapura, N. R., & Walker, D. H. (2014). Ehrlichia. In *Molecular Medical Microbiology: Second Edition* (Vol. 3, pp. 2011–2032). Texas, USA: Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00109-8>
- Towner, K. (2006). The Genus Acinetobacter. In *The Prokaryotes* (Third edit, pp. 746–758). New York, NY: Springer, New York, NY.
- Treece, J. M., Morse, G. E., & Levy, C. (1966). Lipid Analyses of Bovine Teat Canal Keratin. *Journal of Dairy Science*, 49(10), 1240–1244. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(66\)88062-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(66)88062-1)
- Turk, R., Koledic, M., Macesic, N., Benic, M., Dobranic, V., Duricic, D., ... Samardzija, M. (2017). The role of oxidative stress and inflammatory response in the pathogenesis of mastitis in dairy cows. *Mljekarstvo*, 67(2), 91–101. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2017.0201>
- van der Kolk, J. H., Endimiani, A., Graubner, C., Gerber, V., & Perreten, V. (2018). Acinetobacter in Veterinary Medicine with emphasis on *A. baumannii*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.08.011>
- Vásquez, J. F. (2012). *Pérdidas económicas asociadas a la mastitis clínica*. Medellín.
- Verdier-Metz, I., Gagne, G., Bornes, S., Monsallier, F., Veisseire, P., Delbès-Paus, C., & Montel, M. (2012). Cow teat skin, a potential source of diverse microbial populations for cheese production. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(2), 326–333. <https://doi.org/10.1128/AEM.06229-11>
- Viguiet, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K., & O’Kennedy, R. (2009). Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends in Biotechnology*, 27(8), 486–493.

- <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.05.004>
- Villarreal, H., Álvarez, M., Córdoba, S., Escobar, F., Fagua, G., Gast, F., ... Umaña, A. M. (2006). *Manual de métodos para el desarrollo de inventarios de biodiversidad*. (C. M. Villa, Ed.), *Programa de Inventarios de Biodiversidad. Instituto de Investigación de recursos biológicos Alexander Von Humboldt* (Segunda ed). Bogotá. Retrieved from <http://cdam.minam.gob.pe:8080/handle/123456789/764>
- Wang, Q., Garrity, G. M., Tiedje, J. M., & Cole, J. R. (2007). Naïve Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(16), 5261–5267. <https://doi.org/10.1128/AEM.00062-07>
- Wang, R., Zhou, Y., Cao, S., Wang, Y., Zhang, J., & Deng, H.-W. (2016). Metagenomic Profiling, Interaction of Genomics with Meta-genomics. In X. Wang, C. Baumgartner, D. C. Shields, H.-W. Deng, & J. S. Beckmann (Eds.), *Application of Clinical Bioinformatics* (Vol. 9, pp. 241–267). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7543-4_9
- Wattiaux, M. A. (2005). Mastitis: la enfermedad y su transmisión. In *Esenciales lecheras* (pp. 89–92). Wisconsin-Madison: Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera. Retrieved from <https://federated.kb.wisc.edu/images/group226/52749/19-25/23Mastitislafenfermedadysutransmision.pdf>
- Watts, J. L. (1988). Etiological agents of bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, 16(1), 41–66. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(88\)90126-5](https://doi.org/10.1016/0378-1135(88)90126-5)
- Watts, J. L. (1990). Bovine Mastitis. In *Diagnostic Procedure in Veterinary Bacteriology and Mycology* (5th ed., pp. 469–478). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-161775-2.50038-4>
- Whittaker, R. H. (1960). Vegetation of the Siskiyou Mountains , Oregon and California. *Ecological Monographs*, 30(3), 279–338. <https://doi.org/10.2307/1943563>
- Wilson, I. G. (1997). Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(10), 3741–3751.
- Wisplinghoff, H., & Seifert, H. (2017). Pseudomonas spp., Acinetobacter spp. and miscellaneous Gram-negative bacilli. In *Infectious Diseases: Fourth Edition* (Fourth Edi, Vol. 2, pp. 1579–1599). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-04579-7.00170-2>
- Woese, C. R. (1987). Bacterial evolution. *Microbiological Reviews*, 51(2), 221–271. Retrieved from

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2439888><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC373105>
- Woese, C. R. (2000). Interpreting the universal phylogenetic tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(15), 8392–8396. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.15.8392>
- Woese, C. R., & Fox, G. E. (1977). Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(11), 5088–5090. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.11.5088>
- Woese, C. R., Kandler, O., & Wheelis, M. L. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(12), 4576–4579. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.12.4576>
- Wu, S.-J., & Kado, C. I. (2004). Preparation of milk samples for PCR analysis using a rapid filtration technique. *Journal of Applied Microbiology*, 96(6), 1342–1346. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02259.x>
- Yarza, P., Yilmaz, P., Pruesse, E., Glöckner, F. O., Ludwig, W., Schleifer, K. H., ... Rosselló-Móra, R. (2014). Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. *Nature Reviews Microbiology*, 12(9), 635–645. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3330>
- Yoon, J. H., Park, S. E., Kang, S. J., & Oh, T. K. (2007). *Rheinheimera aquimaris* sp. nov., isolated from seawater of the East Sea in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(7), 1386–1390. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.64898-0>
- Zhang, R., Huo, W., Zhu, W., & Mao, S. (2015). Characterization of bacterial community of raw milk from dairy cows during subacute ruminal acidosis challenge by high-throughput sequencing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(5), 1072–1079. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6800>
- Zhang, X., Sun, L., Qiu, F., McLean, R. J. C., Jiang, R., & Song, W. (2008). *Rheinheimera tangshanensis* sp. nov., a rice root-associated bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(10), 2420–2424. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65605-0>
- Zhao, X., & Lacasse, P. (2008). Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. *Journal of Animal Science*, 86(13 Suppl), 57–65. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0302>
- Zhong, Z. P., Liu, Y., Liu, L. Z., Wang, F., Zhou, Y. G., & Liu, Z. P. (2014). *Rheinheimera tuosuensis* sp. nov., isolated from a saline lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary*

Microbiology, 64(PART 4), 1142–1148. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.056473-0>