

ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE MASTITIS COMO APOYO PARA PRESERVAR UN REBAÑO BOVINO EN LOS LLANOS CENTRALES, VENEZUELA

Florio-Luis de Pineda J.^{1*}, Pineda M.², Polanco M.³,
Mendoza J.³, Díaz N.³, Florio-Luis G.⁴

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), República Bolivariana de Venezuela.

*jazflorio2011@gmail.com.

²Doctorado Biotecnología Agrícola, Escuela Socialista de Agricultura Tropical (ESAT), República Bolivariana de Venezuela.

³Empresa Socialista Ganadera Santos Luzardo, C.A. (ESGSL) Estado Barinas, República Bolivariana de Venezuela.

⁴Técnico de Campo.

RESUMEN

La Mastitis Subclínica es un problema sanitario y de manejo en rebaños bovinos de ordeño. Genera reducción de la producción de leche, desmejora la calidad de leche y daña la ubre ameritando descartar la vaca del rebaño. Se diseñó un programa de prevención y control de la mastitis a la medida de las condiciones propias del rebaño de una unidad de producción de ganadería doble propósito en San Carlos, estado Cojedes. El manejo incluye animales mestizos Pardo Suizo – Cebú y Carora, bajo pastoreo rotacional, ordeño mecánico dos veces al día, suplementación estratégica en el ordeño, manejo sanitario preventivo y curativo. Se viene implementando este programa desde Agosto 2014 mediante un equipo multidisciplinario (investigadores, profesionales y ordeñadores). Se presentó una incidencia de mastitis subclínica de 86,0% (en Agosto, 2014), ameritando realizar algunas acciones: diagnóstico *in situ* del sistema de ordeño y de la mastitis subclínica a través de prueba de CMT, de la metodología de limpieza y desinfección; toma de muestras de leche, revisión y análisis de registros productivos y sanitarios, determinar factores de riesgo, evaluación microbiológica de la leche y antibiograma, tratamiento farmacológico en función del antibiograma, implementación de correctivos de limpieza y manejo de animales, formación a profesionales y ordeñadores. Se logró reducir las vacas afectadas a 21,68% en Octubre, 2014. 54,5% respondió rápidamente al tratamiento en su primera fase, y las restantes están mejorando progresivamente a través de la disminución del número de cuartos afectados por mastitis y/o disminución en el nivel de la mastitis subclínica.

Palabras clave: Calidad de Leche; Vacas doble propósito; Mestizaje Pardo Suizo – Cebu; Raza Carora; Antibiograma.

STRATEGIES OF PREVENTION AND CONTROL OF MASTITIS IN SUPPORT TO PRESERVE A CATTLE HERD IN THE CENTRAL PLAINS, VENEZUELA

ABSTRACT

Subclinical Mastitis is a health and cattle management in milking herds problem. Generates reduced milk production, milk quality deterioration and damages the udder resulting in animal discard. A program for prevention and control of mastitis was designed to attend the conditions in a dual purpose system of production unit in San Carlos, Cojedes state. The management includes Brown Swiss crossbred animals and Carora cows, under rotational grazing, mechanized milking twice a day, strategic supplementation at milking, preventive and curative health management. It is being implemented the program from August 2014 through a multidisciplinary team (researchers and workers of the farms). An incidence of subclinical mastitis was 86.0% (in August 2014), meriting perform some actions: diagnosis *in situ* of milking system and subclinical mastitis by CMT test, diagnosis of the methodology of cleaning and disinfection; milk sampling, review and analysis of production and health records, identify risk factors, microbiological testing of milk and antibiogram (laboratory testing for the sensitivity of an isolated bacterial strain to different antibiotics), drug therapy based on antibiogram, implementation of corrective cleaning and handling of animals, training professionals and milkers. Affected cows were reduced to 21.68% in October 2014. 54.5% responded quickly to treatment in the first phase, and the remaining are gradually improving through the decreasing number of teats affected by mastitis and / or decrease in the level of subclinical mastitis.

Keywords: Milk quality; Dual purpose cows; Brown Swiss crossbred; Carora bovine breed; Antibiogram.

INTRODUCCIÓN

En la selección de vacas lecheras, uno de los componentes de importancia a evaluar son los niveles de producción de leche. En este sentido, existen una serie de factores que inciden positiva o negativamente sobre la producción láctea, tales como: nutrición y alimentación, salud animal, manejo integral, reproducción, condiciones agroclimáticas, grupo racial, edad, entre otros. En vista de esta situación y considerando posibles factores de riesgo que se presentan en un momento dado (las condiciones no adecuadas del Sistema de Ordeño Mecánico, antecedente en la finca del descarte de vacas con cuartos atrofiados por mastitis, entre otros), se hace necesario realizar el diagnóstico de Mastitis Subclínica a

través de una prueba fácil, económica, rápida y práctica de campo denominada CMT (por sus siglas en inglés California Mastitis Test).

De igual forma, la calidad de la leche es la expresión concreta de la prevención de enfermedades y el bienestar animal. Para lo cual se debe hablar de calidad de la leche en lugar de un enfoque exclusivamente productivista, y sobre todo incorporar al consumidor como una parte fundamental en el esquema de calidad. La calidad es determinada por las características físico-químicas y bacteriológicas que determinan la composición de los productos (González *et al.*, 2010; Cervantes *et al.*, 2013). Básicamente, los indicadores adoptados para determinar la calidad de la leche son: 1. Composición (grasa y sólidos totales); 2. Calidad higiénica (conteo bacteriano / mastitis subclínica y clínica); 3. Calidad sanitaria (Conteo celular somático) y 4. Inhibidores, Antibióticos y Adulteración (INTA, 2005).

La Mastitis es la inflamación de la glándula mamaria caracterizada por un incremento del recuento de células somáticas (RCS) en la leche y por cambios patológicos en los tejidos mamaros. Es producida por diferentes tipos de agresiones incluyendo agentes infecciosos, traumas físicos e irritantes (Bedolla y Ponce, 2008; Castillo *et al.*, 2009).

La mastitis bovina puede clasificarse de acuerdo al grado de la inflamación y a las lesiones locales e implicaciones sistémicas en la vaca. En términos generales; se clasifica en Mastitis Subclínica y Mastitis Clínica. La mastitis subclínica corresponde al proceso inflamatorio de una o más glándulas mamaras, el cual no es posible de reconocer según la apariencia del sistema mamario y según las características organolépticas de la leche. Este estado encuentra en evolución y puede alcanzar la condición clínica; aunque una proporción de estos casos son recuperados por los mecanismos de defensa del animal; incluyendo los elementos locales y sistémicos. La gelificación ligera (+), moderada (++) y fuerte (+++) y muy fuerte (aguda) equivale a una pérdida en la capacidad de la síntesis láctea de 8, 12, 18 y 25 % respectivamente. Esto se traduce una reducción en la producción de leche en el cuarto mamario afectado que va a depender de la ubicación (anterior, posterior), estado lactacional y del potencial lechero propiamente. Por otro lado, el efecto negativo total dependerá de la duración del proceso inflamatorio propio.

Otros de los cambios que resultan de la influencia de la mastitis subclínica son un aumento en el contenido de enzimas como la lipasa, iones (sodio, cloro) y la disminución del calcio, fósforo y potasio; así como una disminución en la producción de cuajo y el rendimiento de grasa. También produce incremento en la acidez de la leche, que si esta se destina a producción de leche pasteurizada por lo general es rechazada porque esta acidez produce cuajado durante la pasteurización y otras veces disminuye la vida útil del producto final.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de mastitis subclínica en un rebaño de ganadería doble propósito y los factores de riesgos presentes que influyen sobre la misma e implementar unas estrategias de prevención y control de la mastitis subclínica a fin de dar apoyo a la preservación del rebaño bovino.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó diagnóstico de mastitis subclínica por medio de la prueba California Mastitis Test (CMT) a todas las vacas en ordeño con frecuencia aproximada de cada 15 días en la unidad de producción ubicada en San Carlos, edo. Cojedes, Venezuela durante un período de cuatro meses (Julio – Octubre, 2014).

Las vacas son de mestizaje Pardo Suizo (MPS, 1/4, F1, 5/8 y 3/4) y Carora (Ca, desde F1 hasta algunas puras), ordeñadas 02 veces por día mediante sistema de ordeño mecánico con pastoreo rotacional y suplementación en el ordeño con alimento balanceado comercial y sales minerales *ad libitum* a nivel de campo.

La Unidad de producción presenta 02 estaciones: sequía que va desde Noviembre hasta Abril y período de lluvias que va desde Mayo hasta Octubre. En general este es el comportamiento de las lluvias salvo posibles modificaciones debido al Cambio Climático. Esta situación climática incide notablemente sobre la presencia de mastitis subclínica en mayor proporción en los meses de lluvia. Suelos franco arcillosos y pendiente plana. Hay algunas áreas de los potreros que presentan acumulación de agua por fallas en el drenaje así como fallas de drenaje en los corrales de espera o aparte para el ordeño.

Para la prueba de CMT se utilizó una Paleta de CMT y 2 cc., del reactivo DETEK. por compartimiento de la paleta, es decir 8 cc. por animal. El procedimiento de diagnóstico de Mastitis Subclínica a través de la Prueba de CMT se hizo de acuerdo a la metodología establecida por Blowey y Edmonson (1995); Bedolla *et al.*, (2007).

Signos Visuales de Mastitis Subclínica al aplicar prueba de CMT:

- No hay mastitis: La mezcla no presenta ninguna anomalía (-).
- Nivel 1: La mezcla presenta unos filamentos (+).
- Nivel 2: La mezcla presenta una consistencia gelatinosa leve (+ +).
- Nivel 3: La mezcla presenta una consistencia gelatinosa gruesa (+ + +).
- Cuartos perdidos (infuncionales) se denotan con (0).

Prevalencia de Mastitis Subclínica para vacas afectadas.

Para determinar la prevalencia de mastitis subclínica de vacas (que tenga al menos un cuarto afectado), se consideró la siguiente fórmula (Santivañez *et al.*, 2013):

Prevalencia (P) = (Nº de Vacas con Cuartos afectados / Nº Total de Vacas Muestreadas) * 100

Se diseñaron diversas planillas para la evaluación de la condición de mastitis en la unidad de producción:

1. Planilla en físico de CMT la cual incluyó identificación del animal y los cuartos de la vaca para colocarle la información resultante del CMT (-, +, ++, +++, 0)

2. Planilla en Digital para evaluar de forma más completa cada animal en cada una de las Pruebas de CMT. La información contenida en esta planilla a nivel de cada columna es:

- Primera Columna: Número Correlativo de los animales evaluados.
- Segunda Columna: Identificación del Animal
- Tercera Columna: Grupo racial (Raza, mestizaje o cruzamiento).
- Cuarta Columna: Condición Corporal (C.C.) medido a través de número de costillas visibles.
- Columnas Quinta – Sexta – Séptima – Octava: Los cuartos de la ubre y su relación con los pocillos de la paleta de CMT.
- Novena Columna: Cuartos afectados de cada animal
- Décima Columna: Cuartos Atrofiados (puede ser por lesión o un caso de mastitis anterior)
- Décima Primera Columna: Fecha de último parto.
- Décima Segunda Columna: Tiempo de Lactancia en días.
- Décima Tercera Columna: Condición reproductiva del animal (vacía, preñada y tiempo aproximado de preñez). Esta información es importante para determinar tiempo óptimo del secado de las vacas y poder decidir que tratamiento aplicar entre otros
- Décima Cuarta Columna: En esta columna se coloca cualquier observación que se considere importante.

3. Planilla en Digital para seguimiento y evaluación cronológica de cada vaca en los diagnósticos de CMT. De esta manera se hace más fácil el seguimiento y control.

Estimación de Factores de Riesgo.

Para determinar los factores de riesgo asociados a la mastitis subclínica en el rebaño bajo estudio se realizó un diagnóstico *in situ* aplicando encuesta que contempla diversos aspectos: Sistema de Ordeño, Manejo del becerro, Higiene y Limpieza del Ordeño, Calidad de Leche, Frecuencia de Ordeño, Uso y destino de la leche, Composición racial del rebaño, tipo de manejo sanitario (preventivo y curativo) con énfasis en mastitis subclínica, manejo alimenticio, limpieza y mantenimiento de las instalaciones, antecedentes de mastitis en la unidad de producción, registros que se llevan en la unidad de producción, rotación de potreros, entre otra información de interés. Así mismo, se realizaron varias visitas a la unidad de producción. Posteriormente se compararon los aspectos más

resaltantes del diagnóstico con lo reportado en la literatura como factores de riesgo. La toma de datos y la recolección de información se realizaron antes, durante y después del ordeño.

Para realizar la toma de muestra de leche para el cultivo y el antibiograma se realizó la siguiente metodología de acuerdo a indicaciones de la Dra. Delida Barboza (Médico Veterinaria y Analista de Laboratorio de Diagnóstico Zoonosario y Directora General del Laboratorio SERV-LAB, C.A):

- Toma de muestras en envases nuevos y limpios de muestras de orina (que tengan tapa de rosca)
- Previo a la toma de la muestra: lavar con abundante agua la ubre y el pezón y secar ambos con toallines absorbentes. Se lava toda la ubre por cuanto llegaban al ordeño con bosta y barro fresco.
- Toma de muestras a animales negativos así como reactores a pruebas de CMT (+, ++, +++ y grumos).
- Toma de muestras de un chorrito de leche de los cuartos de la ubre.
- Identificar cada envase con el número de identificación de la vaca.
- Envolver con papel envoplast cada frasco a fin de evitar que se abra o se pueda contaminar la muestra.
- Mantener cada muestra en condiciones higiénicas y de refrigeración.
- Refrigeración óptima máximo 48 horas. En estas muestras se cultivó dentro de las 24 horas post toma.
- Tomar la muestra de leche el mismo día que se hizo el diagnóstico de mastitis subclínica (simultáneamente a prueba de CMT).
- Tomar muestras en animales que no se hayan tratado recientemente con antibiótico (antes de los 4 – 5 días), en caso tal indicar el tratamiento aplicado, porque se podría utilizar el cultivo para evaluar efectividad de dicho tratamiento.
- Las muestras con una reacción de CMT mayor o igual a T (trazas), se cultivaron en el laboratorio con el fin de identificar los microorganismos patógenos de acuerdo con procedimientos estandarizados (National Mastitis Council, 1987).

Este análisis permitió al Laboratorio evaluar el comportamiento microbiano (crecimiento) a nueve (9) principios activos distintos, en base a: los de uso más común según la farmacología comercial venezolana, reportes de la literatura (Ruiz *et al.*, 2011; Minst *et al.*, 2012) y en base a los antibacterianos utilizados con anterioridad en el tratamiento de mastitis subclínica en la unidad de producción bajo estudio. Los antecedentes con el tratamiento de antibacterianos en la unidad de producción, se logró realizando junto con el médico veterinario y el personal, una base de datos donde se incluyó: Productos aplicados, principio activo, dosis

utilizada, Laboratorio fabricante, Presentación del producto, fecha de aplicación y a cuáles animales se aplicó

El estudio de la sensibilidad a antimicrobianos de las diferentes bacterias aisladas en muestras biológicas tiene 2 objetivos fundamentales: guiar al clínico en la elección del mejor tratamiento individual, y monitorizar la evolución de la resistencia bacteriana con objeto de revisar el espectro del antimicrobiano y poder actualizar los tratamientos empíricos (Sham, 1996). El antibiograma, mide la sensibilidad de una bacteria frente a diferentes antimicrobianos *in vitro* y a partir de estos resultados predice la eficacia *in vivo* (Cercenado y Saavedra, 2009).

Para analizar las diferencias en las prevalencias de Mastitis subclínicas, se utilizó la prueba de comparación de proporciones empleando el programa SPSS v. 9.0 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Pruebas de CMT

En la Tabla I se muestran algunos resultados de proporción de vacas afectadas por mastitis subclínicas en diversas pruebas de CMT realizadas. Se aprecia como en la primera prueba de CMT (03/07/14) se presentaba 51,09 % de vacas afectadas y aplicando tratamiento farmacológico y algunas medidas de higiene (lavado de pezones, sellado de pezones, limpieza y drenaje se logró reducir a 38,07% en 12 días. No obstante, con el ingreso de nuevas vacas al ordeño, es decir, vacas que parieron y posterior a fase de calostro y estar amamantando becerros aprox. 1 mes entraban al ordeño; se incrementó la cantidad de vacas afectadas por mastitis subclínica.

Esta situación hacía suponer que las vacas de nuevo ingreso con mastitis podrían estar presentando problemas de mastitis asociada a mal manejo del secado en la lactancia anterior, coincidiendo con lo reportado por Ruegg, (2002) y Boscan *et al.*, (2009); y/o una vaca que desarrolló mastitis en la fase de amamanto (desde el parto hasta 1 mes aproximadamente que entra formalmente al ordeño).

En el mes de Agosto, con los picos de lluvia y la situación antes descrita se presentó una proporción de 86,67% de vacas afectadas por mastitis subclínica.

Nuevamente se realizó tratamiento y prácticas adicionales de manejo logrando bajar la proporción de vacas afectadas a 36,49%. No obstante, debido a que aún se mantenían vacas con mastitis a pesar de haber recibido tratamiento y se presentaban algunas reincidentes, se decidió realizar toma de muestras de leche para cultivo y antibiograma el 24/09/14.

En fecha 17/10/14 posterior a la aplicación del tratamiento según antibiograma se logró obtener un 21,68% de vacas afectadas por mastitis. 52,94 % de las vacas

anteriormente con mastitis (diversos estados) respondieron al tratamiento selectivo en base a cultivo y antibiograma.

Se evidenciaron algunas vacas con presencia de sangre en la leche lo que puede ser debida a: laceración interna del pezón o de la cisterna de la ubre, presencia de patógenos, algún problema fisiológico, entre otros. Otras muestras presentaron una coloración oscura de la leche lo que puede ser debida a: presencia de grasa, presencia de calostro en vez de leche, presencia de patógenos o presencia de sangre en mayor o menor grado, entre otros.

Tabla I. Proporción de vacas afectadas por mastitis subclínicas en diversas pruebas de CMT realizadas en la Unidad de Producción (*Proportion of cows affected by subclinical mastitis in various CMT tests performed on the production unit*)

Fecha	Pruebas de CMT REALIZADAS EN EL 2014						
	03/07	15/07	09/08	29/08	11/09	24/09	17/10
Vacas en el ordeño	92	91	80	98	81	74	95
Proporción (%) de Vacas del ordeño afectadas por Mastitis Subclínica	51,09 ^c	32,61 ^d	32,61 ^d	86,96 ^a	63,44 ^b	36,49 ^d	21,68 ^e
Proporción (%) de Vacas (de ingreso nuevo) afectadas por Mastitis Subclínica	NI	5,46	54,06	NI	NI	NI	NI
Proporción Total de vacas afectadas (%)	51,09	38,07	86,67	86,96	63,44	36,49	21,68

Superíndices diferentes dentro de fila, indican diferencia estadística ($p < 0.05$)

NI: No hubo ingreso de vacas nuevas

La prevalencia de mastitis subclínica reportada inicialmente en este estudio son superiores a lo reportado por otros autores: Novoa, 2003 en Cuba con ordeño mecanizado (62,2%), Castillo *et al.*, 2009 en Venezuela con ordeño mecanizado (36,2% pero sólo considerando pezones afectados con 2 o más cruces), Cuayla, 2010 en Colombia con ordeño mecanizado (62,3%), Ramírez *et al.*, 2011 en Colombia con ordeño mecanizado (54,8%), Ruiz *et al.*, 2011 en Brasil con ordeño mecanizado (31,7%), Santivañez *et al.*, 2013 en Colombia con ordeño manual (65,55 – 72,25%), Gómez *et al.*, 2015 en Perú (72,3% incluyendo trazas y 65,6% sin incluir trazas). Esta variabilidad en resultados de prevalencia de mastitis se debe a el tipo de ordeño utilizado (manual versus mecanizado), el tipo de animal

utilizado (principalmente el grupo racial) y el nivel de mastitis en los cuartos que se consideran para la determinación de la prevalencia (todos incluyendo trazas versus sin incluir trazas o aquellos con dos o más cruces, es decir mastitis subclínica nivel 2), entre otros.

2. *Factores de Riesgo asociados a la Mastitis Subclínica que se presentan en la Unidad de Producción:*

Falta de mantenimiento y reparaciones del equipo de ordeño. Necesidad de cambio de pezoneras y mangueras. Esta situación favorece a acumulación de leche y microorganismos. Falla en la limpieza de los equipos e implementos de ordeño: Cuando no se utilizan los productos adecuados (alcalinos y ácidos) o no se utilizan de la manera adecuada.

Fallas de vacío en el equipo de Ordeño. Poca presión de vacío deja leche en la ubre. Una presión de vacío muy alta lastima el conducto del pezón, desgarrar el esfínter del pezón y lastima alveolos lácteos. Ambas condiciones son factores de riesgo para mastitis subclínica.

Cambios bruscos en el sistema de ordeño. Cuando falla la luz y no se presenta planta eléctrica o generador eléctrico o no se cuenta con equipos de ordeño con motores a combustible, hay que ordeñar a mano, y este nunca es tan efectivo como el ordeño mecánico sobre todo cuando las vacas están acostumbradas a este. Rodríguez *et al.*, (2002) y Ruiz *et al.*, (2011) indican que los rebaños de ordeño mecánico tuvieron mayor prevalencia de mastitis subclínica, tanto para el diagnóstico por CMT, como para Conteo de Células Somáticas y/o cultivo bacteriológico, atribuible al factor limpieza, al ambiente propicio para multiplicación de microorganismos entre otros.

Exceso de Humedad en el Entorno: En época de lluvias hay incremento de humedad en los potreros donde las vacas pasan la noche. Esto facilita que patógeno se metan a la ubre vía pezón. Acumulación de: barro, lodo, aguas estancadas y excretas en los corrales de espera, vaquera, sala de ordeño y corrales de trabajo, principalmente por mal drenaje de las instalaciones o falta de limpieza. Esta acumulación de aguas estancadas o excretas favorece a la aparición de patógenos que afectan la salud humana y animal. En pezones y ubre en contacto con estiércol, residuos fecales o aguas estancadas se promueve la presencia de bacterias coliformes que generan mastitis difíciles de erradicar (Riet-Correa *et al.*, 2001; Bannerman *et al.*, 2003; Radostits *et al.*, 2007; Ribeiro *et al.*, 2008 y Universidad de Minesota, 2014).

Ordeño no higiénico por parte de los ordeñadores.

Falta o Falla de sellado de pezones post ordeño. El uso de sustancias yodadas como sellador ayuda a evitar la entrada de microorganismos por el esfínter de pezón después del ordeño. No utilizar si posterior al ordeño la vaca va a

amamantar un becerro. Se debe tener precaución de que la solución yodada no esté muy concentrada debido a que el yodo es una sustancia irritante que lacera el tejido sobre todo en animales despigmentados a nivel de pezones. Esta irritación o yagas puede generar infecciones. El lavado de manos y el sellado fueron factores asociados a protección contra la mastitis ya que presentaron una Relación de Prevalencia de 0,58 y 0,74 respectivamente, indicando valores menores de uno una disminución en el riesgo de padecer mastitis (Ramírez *et al.*, 2011), mientras que Santivañez *et al.*, 2013 reportaron una relación de prevalencia de 2,096 para falta de higiene del ordeño, con énfasis en ausencia de higiene de la mano de los ordeñadores y del lugar de ordeño. Así mismo, Ramírez *et al.* (2011), reportan que el porcentaje relativamente alto de vacas y de cuartos afectados con mastitis hallado en la zona podría estar relacionado con algunas deficiencias en la rutina de ordeño (como la falta de higiene del ordeñador), ya que el 77,3% de los ordeñadores no se lavaban las manos al momento del ordeño, y con deficiencias en la práctica del pre sellado y el sellado, rutinas importantes en la prevención de la mastitis bovina (Philpot y Nickerson, 1991). Solís (2007), indica que los procedimientos de higiene durante el ordeño como el lavado de manos, entre otros (lavado de la ubre y pezones, uso de desinfectantes, secado con toallas desechables individuales antes de cada ordeño, higiene de la unidad de ordeño y utensilios, y desinfección o sellado de los pezones con materiales que tengan la capacidad desbloquear y/o inhibir el crecimiento y desarrollo microbiano), previenen la transmisión de microorganismos a través del ordeñador a las vacas, disminuyendo la población microbiana sobre la piel del pezón.

Cuando hay animales con problemas para apoyar. Esta situación favorece a la retención de leche en la ubre. Los problemas para apoyar pueden ser debidos a múltiples factores: necesidad de uso de becerro, falta de alimento, uso anterior de oxitocina y ya no, alimento distinto al de costumbre, exceso de ruido, presencia de perros u otros animales en la sala de ordeño, uso de agua fría para lavar la ubre, hembras de primer parto que por falta de acostumbramiento al ordeño, pudieran estar reteniendo leche, siendo factor de riesgo para la mastitis-subclínica; existencia de animales con componente racial de predominancia cebuina (*Bos indicus*), los cuales pudieran estar necesitando apoyo del becerro, por lo cual como condición natural pueden estar reteniendo leche, siendo un factor de riesgo. Hay vacas de ordeño que pudieran estar dejando leche de reserva a sus becerros. En caso de presentarse este tipo de animal se pueden considerar algunos aspectos: dejarlas como nodriza, ordeñarlas de último con apoyo del becerro o si son pocas destinarlas para cría del becerro a toda leche o sacarla del sistema.

Puede haber un componente genético de resistencia o susceptibilidad, de allí que algunos animales podrían estar siendo reincidentes. Para definir mejor esto, hay

que ver registros de diagnóstico de mastitis anteriormente y hacer otras evaluaciones de seguimiento así como la utilización de herramientas moleculares para estos estudios. Aunque las infecciones por mastitis se deben en su mayoría al manejo higiénico y sanitario (preventivo y curativo), Oltenacu y Broom (2010) han demostrado la capacidad de transmitir a su descendencia la cualidad de padecer o no la enfermedad.

Resistencia a antibióticos debido a la utilización del mismo principio activo para mastitis y otras dolencias de manera reiterada o con una aplicación o dosis errada, se puede generar resistencia de los patógenos a uno o varios principios activos de los antibióticos. Esto puede ser debido a escasa o nula asesoría de un médico veterinario, deficiencia de fármacos en la finca o en el mercado comercial. La resistencia de las bacterias a los antibacterianos puede ser debido a: 1) resistencia natural o intrínseca donde el microorganismo por sus características estructurales carece de sensibilidad a los medicamentos, siendo esta resistencia transmitida de forma vertical durante la replicación; 2) resistencia adquirida, debido a que la bacteria muta su ADN perdiendo sensibilidad a los antimicrobianos. Para *Pseudomonas aeruginosa*, se ha demostrado que buena parte de la resistencia desarrollada no se debe a contacto con antibióticos sino a un proceso adaptivo, lo que demuestra que la presión generada por el uso adecuado o no de los antibacterianos, no es el único factor desencadenante del desarrollo de resistencia a nivel mundial (Cabrera *et al.*, 2007; Warnes *et al.*, 2012)

Presencia de mastitis subclínica debido a patógenos poco comunes. A nivel mundial hay una incidencia de mastitis debido a *E. coli* la cual es difícil de controlar. Para conocer los patógenos presente hay que realizar análisis microbiológico de la leche y posterior antibiograma.

Vacas que se fueron a secado con mastitis subclínica o sin un proceso efectivo de secado. En la etapa de secado o pre parto, el canal de pezón es más corto, disminuyendo la barrera física entre los patógenos externos y el interior de la ubre. A medida que se aproxima el parto, el sistema inmune de la vaca se deprime, reduciendo la habilidad de la ubre para luchar contra los patógenos. Por tal motivo, es fundamental realizar un proceso de secado adecuado y garantizando que las vacas vayan a secado completamente negativas a mastitis y en el período pre parto se mantengan en condiciones higiénicas (Ruegg, 2002; Boscan *et al.*, 2009).

3. Cultivo de Leche y Antibiograma

En vista de que persistía la problemática de mastitis subclínica a pesar del tratamiento farmacológico aplicado se decidió realizar cultivo de leche y antibiograma.

Resultados del Cultivo de Leche

De las 29 vacas muestreadas (todas las que se presentaron positivas en la prueba de CMT de ese día y algunas con resultados de CMT negativo ese día tomadas al azar: a) 19 resultaron ser positivas a CMT (en diferentes grados, principalmente +++, ++ y grumos) y con presencia de uno o más patógenos en la ubre, representando el 65,52 %.; b) 5 resultaron negativas a CMT y sin evidencia de patógenos al realizar el cultivo, representando 17,24%; c) 5 resultaron positivas a CMT (un cuarto afectado) y sin evidencia de patógenos al realizar el cultivo, representando 17,24 %. Esto pudiese explicarse debido a que esta reacción positiva podría ser debido a efecto del reactivo de CMT con la composición físico química de la leche (calostro próximo a fecha de parto o vaca próximo a secarse). En vista de los valores de asociación entre pruebas de CMT y los Cultivos (79,31%) se puede establecer que la técnica de diagnóstico de CMT se realizó de manera adecuada.

De 29 muestras de leche, la proporción de los patógenos presentes fue de: 2 de 29 *Escherichia coli* (6,90%), 3 de 29 *Klebsiella* spp. (10,34%), 6 de 29 *Streptococcus agalactiae* (20,7%), 4 de 29 *Staphylococcus aureus* (13,79 %) y 4 de 29 *Pseudomonas* spp. (13,79 %).

En este trabajo el patógeno que se presentó en mayor proporción en el aislamiento de leche fue *Streptococcus agalactiae* (20,7%), coincidiendo con lo reportado por otros autores (Ramírez *et al.*, 2001; Rodríguez *et al.*, 2002; Rodríguez, 2006. Ramírez *et al.*, 2011 reportaron 34,0%, mientras que en el estudio de Trujillo *et al.*, (2011) *Streptococcus dysgalactiae* fue la bacteria más común y se aisló en 29.5% de los cultivos y 37,82 incluyendo las tres cepas de Streptococcus presentes (*S. dysgalactiae*, *S. agalactiae* y *S. uberis*).

En la mastitis producida por *Streptococcus agalactiae*, se presentan formas clínicas y subclínicas. Es común la formación de fibrina en los cuartos o pezones afectados, lo que hace que se vayan endureciendo (formación de tejido cicatrizal). Se puede diseminar rápidamente y persiste durante largo tiempo en mangueras y pezoneras que no mantienen una desinfección adecuada; así como en las ubres y heridas. De igual forma, la poca higiene del ordeño por parte de los ordeñadores puede ser una fuente importante de diseminación de estas bacterias (Calderon y Rodríguez, 2008; UNAM, 2012).

Se encontraron patógenos coliformes *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp., por lo que se concluye el contacto de pezones y ubre con estiércol y aguas estancadas con residuos fecales, coincidiendo con lo reportado por diversos estudios (Riet-Correa *et al.*, 2001; Bannerman *et al.*, 2003; Radostits *et al.*, 2007; Ribeiro *et al.*, 2008 y Universidad de Minesota, 2014). De hecho, los problemas de drenaje presentes en los corrales de aparte pre ordeño y de descanso post ordeño son un claro ejemplo

de este riesgo. Así mismo, aguas estancadas en época de lluvias en algunas caminerías que deben transitar las vacas para dirigirse post ordeño a algunos potreros.

La importancia de las mastitis por *Klebsiella* spp. y otros patógenos coliformes radica en su capacidad para producir mastitis clínicas hiperagudas y situaciones de mastitis crónicas inclusive pudiendo generar la muerte; al igual que los costos por descenso en la producción lechera y lo complejo de su tratamiento (Radostits *et al.*, 2007; Ribeiro *et al.*, 2008; Zadoks, 2014; Motta *et al.*, 2014).

La tasa de infecciones intramamarias por coliformes es alrededor de cuatro veces más frecuente durante el período seco que durante la lactancia. La tasa es marcadamente más alta durante las primeras dos semanas del período seco, así como también durante las dos semanas antes del parto. En cada período seco sucesivo la tasa de infecciones intramamarias se incrementa. Esto explica porque algunas vacas o novillas iniciando su lactancia pudieran presentaron problemas de mastitis. Es vital el tratamiento de vaca seca así como las condiciones de higiene durante el secado de los animales (NMC, 1987).

La mastitis causada por *Pseudomonas* spp., son una de las más agresivas de combatir (Britten, 2003; SERV- LAB, 2014). Estos patógenos pueden permanecer en estado latente y ocasionar mastitis del tipo agudo y crónico. Por lo general resisten a los tratamientos que se aplican a los *Streptococcus* spp. (UNAM, 2012).

La mastitis causada por *Staphylococcus aureus* es difícil de controlar con sólo recurrir al tratamiento. El control exitoso se logra mediante medidas preventivas. En aquellos animales con infección crónica el descarte del rebaño es lo más recomendado si no responden a tratamiento aplicado. Es menor la respuesta a tratamiento en la medida que sea la reincidencia (UNAM, 2012).

Diversos estudios han reportado *Staphylococcus* spp., en las muestras de leche de vacas con mastitis subclínica: Ferraro *et al.*, 1999 en Venezuela (28,4%), Calvino y Tirante, 2005 durante 25 años en Argentina (entre 17 y 54%), Corpoica en Colombia, 2007 (37,4%), Calderón y Rodríguez, 2008 (29,09%), Ramírez *et al.*, 2009 en Colombia (13%), Ruiz *et al.*, 2011 en Brasil con ordeño manual y mecanizado (32,8%), Trujillo *et al.*, 2011 en Colombia (41,67%), Restrepo *et al.*, 2012 en Colombia (30,23% para *S. aureus* y 41,86% para *Staphylococcus* spp). Los autores sugieren que la mayor prevalencia del género *Staphylococcus* spp., puede ser atribuida a la persistencia del agente en la glándula mamaria, sobre todo si existen heridas o no se hace un tratamiento adecuado localizado. En el caso específico del estudio de Castillo *et al.*, (2009) el 100% de las muestras presentó *S. aureus*, sin embargo, estas muestras fueron obtenidas de los tanques de leche en la finca y no de muestras individuales de cada vaca afectada por mastitis subclínica.

Resultados de Antibiograma

Según la Tabla II, se denota que los antibacterianos o quimioterapéuticos más efectivo in vitro contra los patógenos encontrados en las muestras fueron las penicilinas sintéticas (Amoxicilina y Ampicilina), las cuales combaten a los gérmenes Gram positivos y negativos, ya que son de amplio espectro, además de las Quinolonas como son la Norfloxacin y Ciprofloxacina.

Tabla II. Quimioterapéuticos evaluados en el antibiograma (Chemotherapics evaluated by susceptibility testing).

Quimioterapeuticos	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomona</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella</i> spp.
Penicilina	R	R	R	R	R
Amoxicilina	S	S	S	S	S
Ampicilina	S	S	S	S	S
Lincomicina	S	S	R	S	S
Gentamicina	R	S	R	R	R
Norfloxacin	S	S	S	S	S
Ciprofloxacina	S	S	S	S	S
Florfenicol	S	R	R	S	S
Ceftiofur	R	R	R	R	R

Fuente: Antibiograma SERV – LAB, C.A. 2014

Los microorganismos implicados, causantes de mastitis bovina en el rebaño estudiado, mostraron resistencia in vitro a la Penicilina y al Ceftiofur, principalmente debido al uso anterior de estos de manera reiterada en el rebaño generando así resistencia, la cual es una de las causas de alta prevalencia de la mastitis subclínica tal como lo reportan diversos autores (Ruiz *et al.*, 2011; Minst *et al.*, 2012).

El patrón de sensibilidad exhibido por los patógenos comúnmente aislados en los diversos estudios va a depender de la cepa, medios de cultivo utilizados que no permitieron el crecimiento de los patógenos presentes, uso de antibacterianos no reportados por el productor, infecciones por microorganismos como *S. aureus* que pueden sobrevivir intracelularmente en células polimorfonucleares (PMN) o concentración de la bacteria por debajo del límite de detección del método

bacteriológico (Zecconi *et al.*, 1997; Owens *et al.*, 1999; Ruiz *et al.*, 2011; Minst *et al.*, 2012).

Para las muestras verdaderas positivas al CMT y negativas al cultivo, las explicaciones son variadas, entre ellas: mastitis de etiología traumática o tóxica, cambios químicos de la leche (hormonas, calostro, entre otros), condiciones poco higiénicas del pezón al momento de la prueba, entre otras razones.

De los 9 antimicrobianos evaluados, tanto *S. agalactiae*, *E. coli*, *S. aureus* y *Klebsiella* spp., fueron resistentes a 3 de ellos (33,33%), mientras que *Pseudomonas* spp., fue resistente a 5 de ellos (55,55%).

En función al Cultivo de Leche y Antibiograma se debería aplicar tratamiento (parenteral e intramamario) específico para cada vaca, de acuerdo a lo que arrojan evaluaciones. Esta estrategia es compleja para adquisición de fármacos, su aplicación y seguimiento; por lo que un método más sencillo de tratamiento (parenteral e intramamario) es considerar aquellos principios activos que puedan ser de efectividad común para todos los patógenos aislados en las evaluaciones, para lo que se hace necesario la revisión de las recomendaciones del laboratorio, junto con la asesoría del médico veterinario que atienda el caso y las indicaciones del laboratorio farmacéutico para cada caso.

CONCLUSIONES

La prevalencia de mastitis subclínica llegó a ser de aproximadamente el 86% debido a la interacción de problemas sanitarios y de manejo del ordeño; disminuyendo hasta 21,68% gracias a unas estrategias correctivas sencillas de prevención y control de la mastitis.

La realización del cultivo de leche y antibiograma fue decisivo para el tratamiento de la mastitis subclínica debido a que dio resultados tangibles (reduciendo significativamente la incidencia de mastitis), al permitir utilizar un tratamiento adecuado en función de la sensibilidad mostrada por los patógenos a un principio activo específico.

En vista de los valores de asociación entre pruebas de CMT y los Cultivos de Leche se puede establecer de que la técnica de diagnóstico de CMT se está realizando adecuadamente.

El trabajo de análisis de productos farmacológicos utilizados para control de mastitis subclínica junto con la información resultante del antibiograma, demostró que por una aplicación inadecuada de fármacos se fue generando resistencia de algunos patógenos, lo que fue agudizando el problema de control de la mastitis subclínica.

El antibiograma es una herramienta muy útil en la decisión de los tratamientos frente a mastitis bovinas, si se diseña, realiza e interpreta de forma correcta.

Los antibacterianos o quimioterapéuticos más efectivos *in vitro* contra los patógenos fueron Amoxicilina, Ampicilina, Norfloxacin y Ciprofloxacina.

Los microorganismos implicados, causantes de mastitis bovina en el rebaño estudiado, mostraron resistencia *in vitro* a la Penicilina y al Ceftiofur, principalmente debido al uso anterior de manera reiterada en el rebaño generando así resistencia.

Las estrategias de prevención de mastitis subclínica aplicadas en el rebaño de ordeño bajo estudio fueron: realización de Prueba de CMT cada 15 días y al menos 10 - 14 días posterior al tratamiento con antibacteriano; evaluación clínica de los animales; evaluación de registros de producción de leche, diagnósticos de mastitis, entre otros; realizar cultivo de leche y antibiograma; limpieza e higiene del ordeño de forma diaria; vigilar el sistema de apoyo de las vacas (natural con becerro o artificial a través de alimento); colocar en el ordeño de últimas las vacas que presentan mastitis subclínica; ordeñar a mano las vacas con mastitis subclínica, formación de ordeñadores en relación a higiene del ordeño y pruebas de CMT, revisar presión de vacío, aplicar los fármacos recomendados según cultivo de leche y antibiograma, entre otras

Un Programa de prevención y control de mastitis amerita dedicación y perseverancia así como un trabajo sistematizado, que se puede realizar de manera sencilla con trabajo de campo y laboratorio junto con la evaluación cronológica de registros y las pruebas de CMT que permita hacer seguimiento.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro más cordial agradecimiento a la Empresa Socialista Ganadera Santos Luzardo, C.A., por el apoyo brindado; a los trabajadores y trabajadoras de la unidad de producción; a la Dra. Delida Barboza (Médico Veterinaria y Analista de Laboratorio de Diagnóstico Zoonosológico y Directora General del Laboratorio SERV-LAB, C.A.) y todo el equipo de SERV – LAB, C.A. (Cagua, estado Aragua, Venezuela), por su apoyo en el diagnóstico de laboratorio (cultivo de leche), realización de antibiograma y algunas evaluaciones sanitarias y a la Dra. Rita Tamasaukas.

BIBLIOGRAFÍA

- Bannerman D., Paape M., Hare W., Sohn E. 2003. Increased levels of LPS-binding protein in bovine blood and milk following bacterial lipopolysaccharide challenge. *J. Dairy Sci.*, Vol. 86, pp.3128–3137.
- Bedolla C., Castañeda V. y Wolter W. 2007. Métodos de detección de la mastitis bovina. *REDVET. Revista electrónica de Veterinaria*. ISSN 1695-7504. Volumen VIII Número 9. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf>

- Bedolla C. y Ponce M. 2008. Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. Rev. Electrónica de Veterinaria (Esp.) 9(4): 1-26. Disponible en: <http://issuu.com/veterinaria.org/docs/redvet040408?e=1016819/3412763>
- Blowey R. y Edmonson P. 1995. Mastitis control in dairy herds. UK: Farming Press Books.
- Britten A. 2003. El agua contaminada puede conducir a brotes de mastitis Publicado en: HOARD'S DAIRYMAN EN ESPAÑOL:
<http://www.ganytec.com.mx/biblioteca/PDFS/EL%20AGUA%20CONTAMINADA%20PUEDE%20CONDUCIR%20A%20BROTOS%20DE%20MASTITIS.pdf>
- Boscan J., Villaroel R., Oviedo A., Sánchez A., Pino D., García D., Hernández L. y Pérez M. 2009. Bacterias patógenas potenciales al inicio del período seco de vacas doble propósito con mastitis subclínicas. Rev. Científica. V. 19, N° 3. pp: 277 – 283.
- Cabrera C., Gómez R., Zúñiga A. 2007. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. Colombia Médica 38 (2): 149-158.
- Calderón A. y 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 (4), 582-589
- Calvinho L., Tirante L. 2005. Prevalencia de microorganismos patógenos de mastitis bovina y evolución del estado de salud de la glándula mamaria en Argentina en los últimos 25 años. Rev. FAVE Sección Cs. Vet.; 4:29-40.
- Castillo M., Suñiaga J., Rojas G., Hernández J., Caamaño J., Urbina A. y Tovar L. 2009. Estudio de prevalencia de mastitis subclínica en la zona alta del estado Mérida. Rev. Agricultura Andina (Ven.) 16: 39-48. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/30234/1/articulo3.pdf>
- Cercenado E. y Saavedra J. 2009. El Antibiograma. Interpretación del antibiograma, conceptos generales. An Pediatr Contin. 7 (4): 214 – 217. Disponible en: <http://www.apcontinuada.com/es/el-antibioigrama-interpretacion-delantibiograma/articulo/80000504/>
- Cervantes F., Cesín A. y Mamani I. 2013. La calidad estándar de la leche en el estado de Hidalgo, México. Rev. Mexicana de Ciencias Pecuarias (México) 4(1): 75-86. Disponible en: <http://www.tecnicapecuaria.org.mx/trabajos/201301105678.pdf>
- Corpoica. 2007. Prevalencia de los principales microorganismos causantes de mastitis en vacas lecheras del Centro del Valle del Cauca en los años 2003 a 2006. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos59/microorganismos-mastitis-vacas-lecheras/microorganismos-mastitis-vacaslecheras3.shtml>
- Cuayla E. 2010. Prevalencia de Mastitis subclínica bovina en las secciones C, D y E en establos inscritos en el comité zonal de productividad lechera, distrito de Majes, departamento de Arequipa. Perú: Universidad Católica de Santa María, Tesis (Medicina Veterinaria y Zootecnia).
- Ferraro L., Scaramelli A., Troya H. 1999. Prevalencia de la mastitis subclínica bovina en Venezuela y evaluación de la prueba de mastitis de California (CMT) como prueba diagnóstica. Revista Científica FCV-LUZ; IX (2):81-90.

- González G., Molina B. y Coca R. 2010. Calidad de la leche cruda. Primer Foro sobre Ganadería Lechera de la Zona Alta de Veracruz. México. 10 p. Disponible en:
<http://www.uv.mx/agronomia/documents/CALIDADDELALECHECRUDA.pdf>
- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). 2005. Calidad de Leche. Proyecto Regional de Producción de Leche Sustentable. Capacitación en Producción Lechera. Centro Regional Córdoba. Módulo IV. 12p
- Minst K., Martlbauer E., Miller T. y Meyer C. 2012. Short communication: Streptococcus species isolated from mastitis milk samples in Germany and their resistance to antimicrobial agents. J. Dairy Sci. 95: 6957–6962
<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-5852>.
- Motta R., Ribeiro M., Paes A., Motta I., Link A. y Bussolaro V. 2014. A fatal case of mastitis caused by *Klebsiella pneumoniae* in bovine. Journal of Agricultural Economics and Development Vol. 3(4), pp. 057-060.
- National Mastitis Council. 1987. Laboratory and Field Handbook on Bovine mastitis. pp. 25-147.
- NMC. 1987. Una Práctica Mirada a las mastitis ambientales. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian. 9(10). F342 http://www.nmconline.org/transl/envmast_sp.pdf
- Novoa R. 2003. Evaluación epizootiológica y económica de la mastitis bovina en rebaños lecheros especializados de la provincia de Cienfuegos. Cuba: Universidad Agraria de la Habana “Fructuoso Rodríguez Pérez”, Tesis (Máster en Ciencias, Especialidad de Medicina Preventiva Veterinaria). 116 p.
- Oltenu P. y Broom D. 2010. The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows. Animal Welfare 19: 39-49.
- Owens W., Nickerson S., Ray C. 1999. Efficacy of parenterally or intramammarily administered tilmicosin or ceftiofur against *Staphylococcus aureus* mastitis during lactation. J Dairy Sci. 82:645-647. <http://download.journals.elsevierhealth.com/pdfs/journals/0022-0302/PIIS0022030299752793.pdf>
- Philpot N. y Nickerson S. 1991. Mastitis Prevention by Hygiene (pp. 53-60). In Mastitis: Counter Attack a Strategy to combat mastitis. Babson Bros Co.
- Radostits O., Gay C., Hinchliff K. and Constable P. 2007. (Eds). Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats. 10. ed. Philadelphia: Saunders, 2007. Pp: 673-762.
- Ribeiro M., Motta R., Paes A., Allendorf S., Salerno T., Siqueira A., Fernandes M., Lara G. 2008. Mastite bovina hiperaguda causada por *Klebsiella pneumoniae*. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 60(2). Belo Horizonte.
- Riet-Correa F., Schild A., Mendez M., Lemos R. 2001. Doenças de Ruminantes e Equinos. 2 ed. São Paulo: Livraria Varela, Vol. II, 574 p.
- Ramírez N., Gaviria G., Arroyave O., Sierra B. y Benjumea J. 2001. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 14 (1), 76-87.
- Ramírez N., Gaviria G., Arroyave O., Sierra B., Benjumea J. 2009. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias; 14:76-87.
- Ramírez N., Cerón J., Jaramillo M., Arroyave O. y Palacio L. 2010. Diagnóstico de mastitis en el norte de Antioquia. pp. 69-78. Memorias VII Seminario Internacional competitividad en carne y leche. Medellín, octubre 21 y 22.

- Ramírez N., Arroyave O., Cerón M., Jaramillo M., Cerón J. y Palacio L. 2011. Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia, Colombia. Rev. Med. Vet.: N° 22 pp: 31-42.
- Restrepo J., Ortiz L., Cardona X. y Olivera M. 2012. Evaluación de la sensibilidad y especificidad del diagnóstico molecular del *Staphylococcus aureus* en leche de vacas afectadas por mastitis. Biosalud, Volumen 11 No. 2, julio - diciembre, 2012. págs. 40 - 51
- Rodríguez G., Contreras D. y Ordóñez M. 2002. Caracterización de la mastitis bovina en el Valle de Ubaté. Revista de Medicina Veterinaria, 2 (4), 57-66.
- Rodríguez G. 2006. Comportamiento de la mastitis bovina y su impacto económico en algunos hatos de la Sabana de Bogotá, Colombia. Revista de Medicina Veterinaria, 12, 35-55.
- Ruegg P. 2002. Control de la Mastitis. Novedades Lácteas – Ordeño y Calidad de la Leche N° 405. Instituto Babcock. Universidad de Wisconsin.
http://babcock.wisc.edu/sites/default/files/documents/productdownload/du_405.es_.pdf
- Ruiz A., Ponce P., Gomes G., Mota R., Sampaio E., Lucena E. y Benone S. 2011. Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. Rev. Salud Animal 33(1): 57 – 64.
- Santivañez C., Gómez O., Cárdenas A., Escobedo M., Bustinza R. y Sánchez J. 2013. Prevalencia y factores asociados a la mastitis subclínica bovina en los Andes peruanos. Revista Veterinaria y Zootecnia Vol. 7 No.2. Pp: 92 - 104
- Sham D. 1996. The role of clinical microbiology in the control and surveillance of antimicrobial resistance. ASM News. 62:25-9.
- Solís M. 2007. Utilización de la solución hipertónica (agua de mar) en el tratamiento de la mastitis bovina en la finca “Guadalupeana”, del municipio de Nagarote, Departamento de León. Managua, Nicaragua: Universidad Nacional Agraria. Tesis (Médico Veterinario). 65 p.
- Trujillo C., Gallego A., Ramírez N. y Palacio, L. 2011. Prevalencia de mastitis en siete hatos lecheros del oriente antioqueño. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 24, 11-18.
<http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/view/522>.
- Universidad de Minesota. 2014. *Klebsiella* Mastitis.
http://www.vdl.umn.edu/prod/groups/cvm/@pub/@cvm/@vdl/documents/content/cvm_content_474080.pdf
- UNAM. 2012. Mastitis Bovina. Facultad de Medicina Veterinaria. Pp: 176 – 181.
http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/e_bovina/04MastitisBovina.pdf
- Warnes S., Highmore C., Keevil W. 2012. Horizontal Transfer of Antibiotic Resistance Genes on Abiotic Touch Surfaces: Implications for Public Health. Bio. Nov-Dec: 3(6).
- Zadoks, R. 2014. Nuevos conceptos en la Mastitis causadas por *Klebsiella*. Revista Cría y Salud. N° 19. Enero, 2014. pp: 62 – 64.
http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/19/cys_19_nuevos_conceptos_mastitis.pdf
- Zecconi A., Piccinini R., Zeponi A., Rufo G. 1997. Recovery of *Staphylococcus aureus* from centrifuged quarter milk samples. J. Dairy Sci; 80:3058-3063. <http://download.journals.elsevierhealth.com/pdfs/journals/0022-0302/PIIS0022030297762738.pdf>