

PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA BOVINA Y SU ETIOLOGÍA INFECCIOSA EN FINCAS LECHERAS DEL ALTIPLANO BOYACENSE (COLOMBIA)

Bovine Subclinical Mastitis Prevalence and its Infectious Etiology on Dairy Boyaca Highlands Farms (Colombia)

Roy José Andrade-Becerra¹, Zonia Elizabeth Caro-Carvajal² y Alix Eugenia Dallos-Baez³

Profesor Titular. PhD. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Laboratorio de Microbiología Veterinaria. UPTC Tunja, Boyacá Colombia, Grupo de Investigación GIDIMEVETZ. royjandrade@yahoo.com;

²Estudiante Escuela Medicina Veterinaria y Zootecnia. UPTC. Grupo de Investigación GIDIMEVETZ, Tunja (Boyacá-Colombia) zelizabeth-92@hotmail.com . ³ Bacterióloga. MSc. UPTC.

RESUMEN

La mastitis bovina es la enfermedad del ganado lechero que mayores pérdidas económicas causa al productor y a la industria lechera, ya que provoca disminución en la producción láctea y deterioro en la calidad de la leche. El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de los diferentes agentes etiológicos infecciosos causantes de mastitis en fincas especializadas en la producción de leche en el Altiplano Boyacense- Colombia. Se escogieron 30 fincas especializadas en la producción de leche, ubicadas entre los 2300 y los 2800 msnm. Todas las fincas contaban con ordeño mecánico y dos ordeños por día. La base genética del ganado 100% Holstein Friesian y el principal recurso forrajero fue el pasto kikuyu (*Pennisetum clandestinum*). En total se evaluaron 5396 cuartos, en 1349 vacas en ordeño, por medio de la prueba California Mastitis Test (CMT), durante tres años. Los casos de mastitis subclínica se presentaron en el 3,25% de las vacas lactantes. Con los exámenes bacteriológicos rutinarios durante los tres años se aislaron principalmente: *Streptococcus agalactiae* (9,7%); otros *Streptococcus* (4,1%); *Staphylococcus aureus* (8,3%); otros *Staphylococcus* Coagulasa Positiva (0,55%); *Staphylococcus* Coagulasa Negativa (0,46%); *Actinomyces piogenes* (1,3%); Levaduras (0,7%); *Escherichia coli* (0,6%); *Corynebacterium* (0,6%); mixtos Strep.+ Staphy. (0,8%) Otras mixtas (4,5%) *Acholeplasma* (1,4%) y *Mycoplasmas* spp. (2,2%). Estos dos últimos reportados por primera vez en Colombia.

Palabras clave: Mastitis, vacas de leche, agentes infecciosos.

ABSTRACT

Bovine Mastitis is a responsible for the most economic lost to dairy producers and the milk industry, because it decreases the production of milk and deteriorates the quality. The objective of the present study was to determine the prevalence on different etiological infectious agents, which are fault of causing mastitis on milky specialized farms in the Boyacense Highlands-Colombia. In this project, the researchers took into account 30 milky livestock farms, located between 2300 and 2800 meters over the sea level. Every farm uses a mechanical milking and had two milky gatherings by day. One hundred percent of the cattle were Holstein Friesian and their main food source was kikuyu Grass (*Pennisetum clandestinum*). This study took a time of three years. In that term, a total of 5,396 quarters were evaluated in 1,349 milking cows through California Mastitis Test (CMT). Subclinical mastitis was presented in 3.25% of lactating cows. The main bacteria isolated with bacteriological routine examinations, over the three years of the study, were: *Streptococcus agalactiae* (9.7%); others *Streptococcus* (4.1%); *Staphylococcus aureus* (8.3%); others such as: *Staphylococcus* positive coagulase (0.55%); *Staphylococcus* negative coagulase (0.46%); *Actinomyces pyogenes* (1.3%); yeast (0.7%); *Escherichia coli* (0.6%); *Corynebacterium* (0.6%); mixed additives Strep.+ Staphy. (0.8%) Other mixed additives (4.5%) *Acholeplasma* (1.4%) and *Mycoplasmas* spp (2.2%). The last two were reported for the first time in Colombia.

Key words: Mastitis, dairy cows, infectious agents.

INTRODUCCIÓN

En las explotaciones intensivas para ganadería de leche, las enfermedades de la ubre representan indiscutiblemente un gran problema [1]. Las pérdidas económicas por disminución en la producción de leche, disminución en las ganancias por producción de leche de mala calidad y el impacto en los problemas reproductivos en fincas dedicadas a la producción de leche requieren hatos sanos con parámetros óptimos de producción de leche.

Por lo tanto, la lucha contra la mastitis posee en forma particular frente a otras enfermedades, una alta importancia. Por eso se deben desarrollar programas de sanidad de ubre donde se tengan presente los impactos económicos de los diferentes agentes etiológicos.

Cuando se establecen fincas con alta concentración de animales de leche, esto conduce a un uso eficiente de la tecnología implementada y se aprovecha el capital humano, sin embargo, se aumentan los riesgos en la producción [2]. Esto sucede especialmente cuando en el proceso de producción no se tienen en cuenta las exigencias de la salud animal.

El origen de las enfermedades y su propagación tienen un efecto importante sobre la salud de los animales así como representa un gran error en el proceso de producción, por lo mismo se deben buscar y encontrar la causa para corregirla. El objetivo básico de cada programa de salud de ubre debe ser por lo tanto, la prevención de una nueva infección, se debe prestar especial interés a la compra incontrolada y adicional de animales, sin los debidos exámenes de sanidad.

Con base en su etiología infecciosa, la mastitis se divide en contagiosa y ambiental [18]. La mastitis contagiosa es causada por microorganismos como: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Mycoplasma* spp; y sus reservorios son la glándula mamaria y la leche de vacas (*Bos primigenius taurus*) infectadas. Su transmisión puede ocurrir en el momento del ordeño por prácticas como el uso compartido de toallas para lavar y secar ubres o por medio de las manos contaminadas de los ordeñadores o por el uso de pezoneras no desinfectadas entre vacas en los ordeños mecánicos [3, 18]. La mastitis ambiental es producida por gérmenes Gram-negativos, habitantes normales del ambiente como: *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp, *Pseudomonas* spp y *Proteus* spp y algunas bacterias Gram-positivas como: *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae* [26].

Dentro del grupo de *Staphylococcus* coagulasa positivo (SCP), el más importante fue *Staphylococcus aureus*, su importancia radica en que no es un patógeno obligado de la ubre, se puede encontrar también en las lesiones de la piel de los pezones, en las manos de los ordeñadores, en las camas, en los equipos de ordeño y dependiendo de las prácticas de manejo este agente etiológico puede alcanzar el conducto del pezón, produciendo una reacción inflamatoria. El

género *Staphylococcus* comprende 36 especies, nueve de las cuales contienen subdivisiones: la mayoría de estas especies son coagulasa negativa, con excepción de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* y *Staphylococcus hyicus* [14].

Los *Staphylococcus* coagulasa negativo (SCN) comprenden el *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus warnery* y *Staphylococcus epidermidis*, que hacen parte de la flora normal de la piel de los pezones y usualmente pueden ocasionar formas subclínicas de mastitis [8, 21, 28].

Otros organismos causantes de mastitis contagiosa es el *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasmas* spp., y *Corynebacterium bovis*: la transmisión de estos microorganismos sucede durante el ordeño. *Streptococcus agalactiae* es un patógeno obligado de la ubre, que se localiza en la parte superficial de los tejidos y es ampliamente sensible a los antibióticos, lo que hace fácil su control e incluso su erradicación [25]. Dentro del grupo de *Mycoplasma* se encuentra *M. bovis* y el *M. californicum* como los microorganismos más importantes en mastitis clínicas, que pasan a formas crónicas de recurrencias periódicas. Estos agentes también han sido aislados de las mucosas y de secreciones del tracto reproductivo y urinario [19, 24].

Las mastitis ambientales son producidas por *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae*, que ocasionan mastitis leves y moderadas. Estos dos microorganismos se han aislado de las heces, de los genitales externos, de las ubres y de lesiones de la piel de los pezones de las vacas [1, 3, 5]. Los coliformes como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* y *Corynebacterium pyogenes*, también causan mastitis ambientales y son habitantes normales del tracto digestivo de los animales o se encuentran en el suelo [18].

Las infecciones por mycoplasma en la glándula mamaria conllevan fácil y repetidamente a enfermedades de transmisión existentes en el pasado. Debido a la destrucción y atrofia del parénquima de la glándula, las pérdidas económicas son irrecuperables. La leche producida por estos animales es segregada y los exámenes bacteriológicos siempre serán positivos. Esto afecta las posibilidades financieras de los propietarios y entorpece la organización de la finca.

En la literatura se insiste con respeto a las mastitis por mycoplasma por que existen factores predisponentes que se repiten [17]. En una finca de ganado lechero, las infecciones por mycoplasma sobrecargan los problemas infecciosos, por lo tanto las medidas tomadas no se deben limitar al daño de la ubre. En la infección se debe trabajar la higiene, las medidas preventivas, el ordeño, el manejo de los animales y prestar especial atención al área donde se realizan las diferentes labores. Una contaminación en animales de cría donde el germen se elimina por la ubre, lo mejor es eliminar esos animales. También los problemas metabólicos y las deficiencias alimenticias son factores predisponentes de infección.

Debido a que las estrategias de control difieren para patógenos contagiosos y ambientales, el objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de los diferentes agentes etiológicos causantes de mastitis en fincas especializadas en la producción de leche en el altiplano boyacense.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Mediante un muestreo probabilístico de conveniencia y por medio de un estudio descriptivo longitudinal retrospectivo entre los años 2010 a 2012 [13] se escogieron 30 fincas especializadas en la producción de leche, ubicadas entre los 2300 y los 2800 msnm, con temperaturas anuales promedios de 13°C y pluviosidades entre 800 y 1200 mm/año [11]. Todas las fincas contaban con ordeño mecánico y dos ordeños por día. La base genética del ganado 100% Holstein Friesian y el principal recurso forrajero fue el pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*).

Se tomaron 1349 vacas de leche, en total 5396 cuartos. La producción de leche promedio estaba en 4500 L/vaca/año y el número de células somáticas en el tanque de leche en promedio fue de 380.000 cel/mL.

Exámenes bacteriológicos

A partir de 2010 hasta 2012 se ejecutaron pruebas de California Mastitis Test (CMT). De todos los cuartos positivos (CMT mayor o igual a 2+) se tomaron muestras de leche en bolsas de plástico nuevas y estériles (Whirl-pak), previa limpieza y desinfección de la punta del pezón se siguió el procedimiento descrito por National Mastitis Council [14]. Lavado de pezones, secado y desinfección con solución jabonosa, luego se enjuagó con agua estéril y se secó con gasa estéril, se desinfectó con solución yodada. Una vez finalizada la asepsia, se descartó el primer chorro de leche y se recolectó en bolsas de plástico nuevas y estériles (Whirl-pak). Las muestras recolectadas fueron mantenidas y transportadas en cavas refrigeradas hasta su llegada al laboratorio para su análisis.

Las muestras fueron tomadas por el veterinario y transportadas al laboratorio de Microbiología de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia en Tunja. El laboratorio de Microbiología procede en el diagnóstico rutinario así como con el aislamiento de microorganismos no comunes siguiendo la metodología propuesta en el Laboratory Handbook on Bovine Mastitis, del Consejo Nacional de la Mastitis de los Estados Unidos [15].

Tipificación bacteriana

Las muestras de leche fueron sembradas en agar base (sangre de ovino (*Ovis orientalis aries*), para determinar tipo de hemólisis) y agar MacConkey (Enterobacterias y diferenciar tipo de fermentación) e incubadas por 24 a 48 horas. Luego del crecimiento se realizó coloración de Gram, para su clasificación en Gram-positivas y Gram-negativas, al mismo tiempo morfología,

cocos o bacilos. A los cocos Gram-positivos se les realizaron prueba de catalasa y se diferenciaron como coagulasa positivos y negativos. Luego se llevó la colonia a un sistema comercial ID32 STAPH, para identificar y confirmar género y especie, así se diferenció *Staphylococcus aureus* de otros *Staphylococcus* coagulasa positivo. A los *Streptococcus* se les efectuó Monofosfato de Adenosina Cíclico (CAMP), hidrólisis de esculina, hipurato e inulina y crecimiento en NaCl. A los bacilos Gram negativos se les sometió a las pruebas de oxidasa, indol, triple azúcar, Rojo De Metilo-Voges Proskauer (RM-VP), Agar Lisina descarboxilasa (LIA), urea y citrato. Para el aislamiento de micoplasmas se sembró 0,01 mL de cada muestra individual en placas con medio sólido de Hayflick modificado [7] mediante el empleo de asa de platino. Las placas se incubaron a 37°C en cámara húmeda con 10% de CO² durante 10 días, luego de aislados se sometieron a sensibilidad a la digitonina para la diferenciación del género *Acholeplasma* [28], fermentación de la glucosa [20], hidrólisis de la arginina [7], reducción del tetrazolium [28] y detección de la producción de film & spot [10]. La caracterización inmunológica de micoplasma se hizo por inmunofluorescencia indirecta [12].

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se registraron en la base de datos con la ayuda del ordenador dBASE 5.0., y fueron analizados estadísticamente mediante el programa SPSS para Windows versión 17. Se utilizó estadística descriptiva [27]. Los resultados del análisis estadístico fueron interpretados con un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En total se evaluaron 5396 cuartos, en 1349 vacas en ordeño, por medio de la prueba CMT, durante tres años. En promedio se encontró que para el primer año, el 3,39% fueron positivos al CMT, para el segundo año 3,28% y para el tercer año el 3,08%, indicando como va disminuyendo la mastitis subclínica al ir implementando medidas de control.

De la TABLA II, se señala que los meses de épocas de lluvias fue donde se incrementan los casos de mastitis subclínicas, para el caso del Altiplano entre abril-mayo y septiembre-noviembre, a excepción del año 2010, donde las lluvias no fueron lo acostumbrado en estación por el fenómeno de la Niña. Frente a otros estudios de prevalencia de mastitis subclínica con CMT, estos datos son bajos en comparación a países subdesarrollados [4, 29], pero frente a países desarrollados son muy similares [1, 6].

De los cuartos positivos al CMT fueron aislados 419 microorganismos involucrados en la patogénesis de la mastitis bovina durante los tres años de estudio. En la Tabla II se observa como a través de los años, el *Staphylococcus aureus*, que es un microorganismo contagioso va creciendo como causa de mastitis, en el primer año representa un 7,4%, en el

TABLA I
**NÚMERO DE CUARTOS QUE PRESENTARON MASTITIS SUBCLÍNICA EN ALTO GRADO DURANTE
 LOS DIFERENTES MESES DEL AÑO Y SU CORRESPONDIENTE PORCENTAJE.**

	Ener	Febr	Marz	Abri	May	Juni	Juli	Agos	Sept	Oct	Novi	Dici
2010	167	146	189	194	221	189	194	200	194	189	151	162
	3,1%	2,7%	3,5%	3,6%	4,1%	3,5%	3,6%	3,7%	3,6%	3,5%	2,8%	3,0%
2011	210	178	173	173	178	167	124	103	151	178	151	104
	3,9%	3,3%	3,2%	3,2%	3,3%	3,1%	2,3%	2,4%	2,8%	3,3%	2,8%	2,6%
2012	130	104	183	156	232	178	167	162	146	124	156	221
	2,4%	2,6%	3,4%	2,9%	4,3%	3,3%	3,1%	3,0%	2,7%	2,3%	2,9%	4,1%

TABLA II
**RESULTADOS DE LOS EXÁMENES BACTERIOLÓGICOS EN VACAS CON MASTITIS
 Y SU DISTRIBUCIÓN PROPORCIONAL.**

Años muestreo	2010	2011	2012			
Número total de pruebas	352	231	643			
No mostró crecimiento	175	49,7%	152	65,8%	480	74,7%
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	4	1,1%	5	2,2%	3	0,5%
<i>Strept. agalactiae</i>	34	9,7%	21	9,1%	67	10,4%
otros Streptococcus	14	4,0%	18	7,8%	3	0,5%
<i>Staphylococcus aureus</i>	26	7,4%	16	6,9%	69	10,7%
Otros Staphylococcus CP	2	0,6%	1	0,5%	0	0,0%
<i>Staphylococcus CN</i>	5	1,4%	0	0,0%	0	0,0%
<i>Staph. aureus</i> + <i>Strept. aga</i>	3	0,9%	2	0,9%	3	0,5%
levaduras	3	0,9%	2	0,9%	1	0,2%
<i>E. coli</i>	3	0,9%	2	0,9%	0	0,0%
<i>Corynebacterium bovis</i>	0	0,0%	0	0,0%	2	0,3%
Acholeplasma	10	2,8%	0	0,0%	9	1,4%
<i>M. californicum</i>	5	1,4%	6	2,6%	3	0,5%
<i>M. alcalescens</i>	30	8,5%	1	0,4%	0	0,0%
Otras mixtas	38	10,8%	5	2,2%	3	0,5%

segundo año un 6,9% y en el tercer año un 10,7%, en promedio (8,33%), este valor es bajo comparado con otros países. En Venezuela, estado Zulia se halló en el 17% de los casos [29]. En los países nórdicos, el *S. aureus* fue aislado entre el 30 y el 40% de los casos subclínicos. En general en los países industrializados el *S. aureus* es el patógeno contagioso más aislado de casos de mastitis en vacas lecheras [16, 30].

Los porcentajes de otros *Staphylococcus coagulasa* positivos (diferentes al *Staph. aureus*), son del 0,6% para el primer año, el 0,5% para el segundo año y en el tercer año del 0,0%. En otros estudios en Colombia, en el altiplano cundiboyacense, la prevalencia en un solo año fue de 4,04% [4], valor superior al reportado en este trabajo. Para el Valle de Ubaté [6] en Colombia fue del 0,15%, mientras que en Venezuela fue del 23% [29].

Para el caso de *Streptococcus agalactiae*, en el primer año fue de 9,7%, en el segundo año del 9,1 y en el tercer año del 10,4%. Se considera que es un porcentaje bajo a lo reportado por Rodríguez 50% [23], y del 35,4% para Contreras y Ordoñez [6] o en Venezuela con el 26% [29]. Países como Israel han erradicado este microorganismo con prácticas como el aislamiento en grupos de portadores, tratamientos con dosis de penicilinas y seguimiento bacteriológico [25]. En Finlandia, Suecia y Noruega, el *Strept. agalactiae* es un microorganismo poco común con prevalencias menores al 1% [19] debido a procedimientos estrictos en los programas nacionales de control de la mastitis.

Para diversos autores [22, 28], *Corynebacterium bovis* es un habitante normal del conducto del pezón, de donde se aísla sin estar asociado a mastitis pero se considera que está

relacionado a un sellado deficiente de pezones, ya sea por mal manejo del producto de la eyeción de la ubre o por la técnica que se emplea para ser extraída. *C. bovis* se aisló apenas en el último año con el 0,3%; mientras Calderón y Rodríguez [4]; reportaron un aislamiento del 8,44% cuyo valor es muy superior a lo obtenido por Gómez y col. [8], para la misma zona donde obtuvieron el 2,5% que sigue siendo un valor alto si se compara con los resultados que arrojó este estudio.

Estos estudios permiten afirmar que la mastitis por microorganismos contagiosos es la principal problemática en sistemas especializados en la producción de leche.

Los microorganismos de origen ambiental como *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae* representaron el 4% para el primer año, el 7,8% para el segundo año y apenas el 0,5% para el tercer año, es posible que estos patógenos estén disminuyendo debido a las buenas prácticas de prevención y control de la mastitis [5, 18].

Se consideró que Infecciones mixtas como *Staph. aureus* + *Strep. Agalactie* mostraron valores ligeramente inferiores a lo reportado por Calderón y Rodríguez [4] con 1,9%; medianamente inferiores a lo reportado por Rodríguez con el 5% [23], y muy inferiores a los resultados obtenidos por Andrade con el 81,4% [2]; ya que para el primer año su representación fue del 0,9%, para el segundo año fue de 0,9%, y de 0,5% para el tercer año.

En vacas resistentes a terapia por mastitis se encontró como agente etiológico *Mycoplasma* en cuartos ordeñados por primera vez en enero de 2010. *M. californicum* [11] represento el 1,4% para el año 2010, en 2011 aumentó con el 2,6% y para el año 2012 logró disminuir al 0,5%. *M. alcalescens* con el 8,5% para el año 2010, disminuyó significativamente para el año 2011 con el 0,4% y en el año 2012 su representación desapareció 0,0%. No se encontró *M. bovis* que es en realidad el mycoplasma patógeno de real importancia ya que produce grandes pérdidas [9]. Se considera que este es el primer reporte científico de aislamiento de *Mycoplasma* en Colombia.

Para el año 2010 el 49,7% de las muestras aisladas no mostraron crecimiento bacteriano, cifra que aumento en el año 2011 con un porcentaje del 65,8 y continuó incrementando para el año final del estudio con el 74,7%, otros trabajos como el de Calderón y Rodríguez [4] reflejaron que no se obtuvieron crecimientos en el 15% de las muestras que resultaron positivas a mastitis subclínicas mediante la prueba CMT, probablemente este tipo de variaciones se debió tanto a tratamientos sistémicos como intramamarios no reportados en las vacas.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados se encuentra que las bacterias contagiosas prevalecen sobre las ambientales. La principal problemática en los sistemas especializados en la producción de leche en el altiplano boyacense radica en la mastitis

causada por microorganismos contagiosos tales como *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus* que a través de los años ha venido aumentando. Para otros agentes tales como *M. californicum* y *M. alcalescens* que son reportados por primera vez en Colombia se observo que la enfermedad que producen es más leve; en algunos casos las vacas mostraron signos y síntomas de la enfermedad pero esta desapareció tras realizar una correcta rutina de ordeño y un escurrido constante, estos agentes no resultaron ser tan agresivos y destructivos para los tejidos en comparación a lo reportado por la literatura para el caso de *M. bovis*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ANDRADE, R.; PULIDO, M.; RODRIGUEZ, C. Mastitis por agentes ambientales. En: **Sanidad de Ubre, Calidad de leche** 1era Ed. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC). Tunja. Colombia. Pp 169. 2012.
- [2] ANDRADE, R.; CELY, G. Detección de mastitis subclínica a nivel de campo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Trabajo de Grado. Pp 96. 1996.
- [3] BLOWEY, R; EDMONSON, P. Mastitis. En: **Control de la mastitis en granjas de vacunos de leche**. Guía práctica e ilustrada. Zaragoza. España: Acribia; Pp 208. 2009.
- [4] CALDERON, A; RODRIGUEZ, V. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). **Rev. Colomb. Cien. Pec.** 21:582-589. 2008.
- [5] CULLOR, J. The control, treatment, and prevention of the various types of bovine mastitis. **Vet. Med.** 6: 566-579. 2010.
- [6] FREUNDT, E. Film and spot production. En: S. Razin and J.G. Tully (Eds). **Methods in Mycoplasmaology**. Academic Press Inc. New York. Vol. 1. Pp 373-378. 2011.
- [7] GENTILLINI, E.; DENAMILE, G.; GODALY, M. Mastitis bovina: tipificación del genero *Staphylococcus*. **Vet. Arg.** 14: 566-569. 2010.
- [8] GOMEZ, L.; PINILLA, R.; JARAMILLO, E. Diagnóstico y control de mastitis bovina en la region de Umbita (Boyacá). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Bogota. Trabajo de Grado. Pp 116. 2009.
- [9] JASPER, D. Epidemiological observation on mycoplasma mastitis. **Cornell Vet.** 64: 498. 2010.
- [10] INFANTE, M.; AGUADO, J.; EDUARD, J. Mastitis outbreak due to *Mycoplasma californicum* and *Mycoplasma canadense* in a commercial dairy herd in the state of Jalisco, México. **Rev Lat Micro.** 41(3):117-20. 2010.

- [11] INSTITUTO DE HIDROLOGIA Y METEOROLOGIA Y ESTUDIOS AMBIENTALES DE COLOMBIA (IDEAM). Sistema de información ambiental. 2013 <http://www.ideam.gov.co>. 03/05/2013.
- [12] MARKEY, B.; LEONARD, F.; ARCHAMBAULT, M.; EL-SEVIET, M. Mastitis clínica. **Clinics Veterinary Microbiology**. 2nd Ed. New York, United States. Pp 77. 2013.
- [13] MARTIN, S.; MEEK, A. Enfermedades infecciosas y epizootiología. **Epidemiología veterinaria. Principios y métodos**. Zaragoza. España; Acribia. Pp 384. 2010.
- [14] NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Procedures for the collection of milk samples. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection. 3th. Ed. Pp 5-7. 2009.
- [15] NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Laboratory handbook on bovine mastitis. 2nd Printing. Verona. USA. 2013.
- [16] OSTERAS, O.; MARTIN, S. Possible risk factors associated with penicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* from bovine subclinical mastitis nearly lactation. **J. Dairy Sci.** 2: 345-356. 2009.
- [17] PFUTNER, H.; GAREISS, E.; GENTSCH, U.; RICHTER, A. Vorkommen und Bekämpfung von *Mp. Californicum* und *Mp. Bovigenitalium-Mastitiden* in einer Milchproduktionsanlage. **Monatshefte Vet. Med.** 41:382-385. 2010.
- [18] PHILPOT, N.; NICKERSON, S. Agentes patógenos. En: **Ganando la lucha contra la mastitis**. Naperville, USA y Oelde, Germany. Pp 32. 2012.
- [19] PITKALA, A.; HAVERI, M.; PYORALA, S.; MYLLYS, V.; HONKANEN-BUZALSKI, T. Bovine mastitis in Finland prevalence distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. **J. Dairy Sci.** 92: 231-245. 2010.
- [20] RAZIN, S.; CIRILLO, P. Sugar fermentation. En: S. Razin and J.G. Tully. (Eds). **Methods in Mycoplasmaology**. Academic Press Inc. New York. Vol 1. Pp 243-256. 2011.
- [21] RAINARD, P.; POUTREL, B. Predicting the probability of quarter from somatic cell concentration. **Am. J. Vet. Res.** 44: 346-354. 2011.
- [22] REBHUM, W.; GUARD, C.; RICHARD, C. Disease of dairy cattle. Lea and Febiger. Pp 122. 2006.
- [23] RODRIGUEZ, G. La mastitis bovina y el potencial para su control en la Sabana de Bogotá. Colombia. Ica-Gtz, Proyecto Colombo-Alemán. Bogotá. Colombia. . Pp 98. 2008.
- [24] SANDHOLM, M.; KAARTINEN, L.; PYYORALA, S. The bovine udder and mastitis. **Mastitis Epidemiology**. Faculty of Veterinary Medicine. University of Helsinki. Helsinki. Pp143-148. 2010.
- [25] SARGEANT, J.; LESLIE, K.; SHIRLE, J.; PULKRABEK, B.; LIM, G. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California mastitis test for identifying intramammary infection in early lactation. **J. Dairy Sci.** 48: 1212-1423. 2010.
- [26] SMITH, K; HOGAN, J. Environmental mastitis. **Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.** 9: 489-498. 2011.
- [27] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS). User's Guide Statistics, Cary, North Caroline. Version 9.0. 2012.
- [28] TULLY, J. Test for digitonin sensitivity and sterol requirement. En: S. Razin and J.G. Tully. (Eds). **Methods in Mycoplasmaology**, Academic Press Inc. New York. Vol. 1. Pp 333-335. 2011.
- [29] VALERO, K.; VALBUJENA, E.; CHACON, F.; OLIVARES, Y.; CASTRO, G.; BRÍÑEZ, W. Patógenos contagiosos y ambientales aislados de cuartos mamarios con mastitis subclínica de alto riesgo en tres fincas del estado de Zulia. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XX (5): 498-505. 2010.
- [30] WILMINK, J.; SCHUKKEN, Y.; SCHEPERS, A., Estimation of variance components somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. **J. Dairy Sci.** 61: 662-666. 2010.