

Artículo científico

Prevalencia de mastitis subclínica y microorganismos asociados a esta

Prevalence of subclinical mastitis and associated microorganisms

Flavia García-Sánchez, Tania Sánchez-Santana, Onel López-Vigoa y Miguel Ángel Benítez- Álvarez
Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey, Universidad de Matanzas, Ministerio de Educación Superior
Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba
flavia.garcía@ihatuey.cu

Resumen

El estudio se realizó en una lechería de la Empresa Pecuaria Genética Los Naranjos, en el municipio Caimito –provincia Artemisa, Cuba–, con el objetivo de evaluar la prevalencia de mastitis subclínica y los microorganismos asociados a ella. Se tomaron muestras de leche a cada animal (10 mL), en frascos estériles, para la determinación del porcentaje de grasa y de los contenidos de proteína, lactosa y sólidos totales (ST). Asimismo, se realizó un diagnóstico de la enfermedad mediante la prueba de California, con conteo de células somáticas, y se determinaron los agentes microbiológicos causantes de esta patología. Se encontró una elevada prevalencia en el rebaño (60 %) durante abril y mayo, así como un índice significativamente superior ($p < 0,001$) en mayo con respecto a marzo. Los principales agentes etiológicos causantes de la elevada prevalencia de mastitis subclínica en el rebaño en abril y mayo fueron *Staphylococcus aureus* y *Enterobacter* spp. El 50 % de los animales mostraron conteos de células somáticas superiores a 200 000 células/mL. No se encontraron diferencias significativas entre el conteo de microorganismos y los coliformes totales durante el período evaluado. Se concluye que la patología tuvo alta prevalencia en el rebaño y que predominaron los agentes etiológicos contagiosos, con una frecuencia del 50 %. La leche tuvo una buena calidad nutricional; sin embargo, presentó altos conteos de células somáticas, que traen consigo una mala calidad higiénico-sanitaria.

Palabras clave: Bovinae, células, producción lechera.

Abstract

The study was conducted in a dairy farm of the Genetic Animal Husbandry Enterprise Los Naranjos, in the Caimito municipality –Artemisa province, Cuba–, in order to evaluate the prevalence of subclinical mastitis and the associated microorganisms. Milk samples were taken from each animal (10 mL), in sterile flasks, for the determination of the fat percentage and the contents of protein, lactose and total solids (TS). Likewise, a diagnosis was made of the disease through the California test, with count of somatic cells, and the microbiological agents that cause this pathology were determined. A high prevalence was found in the herd (60 %) during April and May, as well as a significantly higher index ($p < 0,001$) in May with regards to March. The main etiological causative agents of the high prevalence of subclinical mastitis in the herd in April and May were *Staphylococcus aureus* and *Enterobacter* spp. From the animals, 50 % showed counts of somatic cells higher than 200 000 cells/mL. No significant differences were found between the count of microorganisms and total coliforms during the evaluated period. It is concluded that the pathology had high prevalence in the herd and that the contagious etiological agents prevailed, with a 50 % frequency. The milk had good nutritional quality; however, it showed high counts of somatic cells, which bring about bad hygienic-sanitary quality.

Keywords: Bovinae, cells, milk production.

Introducción

La mastitis subclínica es una enfermedad con elevada prevalencia en el ganado lechero, y es una de las patologías más importantes que afectan la industria láctea y ocasionan pérdidas económicas a los productores de leche en el mundo. Por ello, se ha reconocido durante algún tiempo como el padecimiento más costoso en los hatos lecheros (Calderón y Rodríguez, 2008; Ruiz-Gil *et al.*, 2016).

Según Ponce *et al.* (2010), la mastitis subclínica no conlleva cambios visibles en la leche o en la

ubre, y se caracteriza por reducción en la producción, alteración en la composición de la leche y presencia de componentes inflamatorios en esta.

La etiología de la mastitis puede ser infecciosa, traumática o tóxica. Las bacterias causantes pueden ser patógenos mayores o menores de la glándula mamaria. Los patógenos mayores incluyen *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Actinomyces pyogenes*, y otras bacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. y *Enterobacter* spp.

Los patógenos menores incluyen *Mycoplasma* ssp., *Pasteurella* ssp., *Nocardia* ssp., *Listeria* ssp. y algunos hongos y levaduras, entre otros (Ericsson *et al.*, 2009; Trujillo *et al.*, 2011).

Según Ruiz-Gil (2016), reducir la prevalencia de la mastitis es una de las tareas importantes en la ganadería cubana, y se recomienda investigar las pérdidas económicas asociadas a la enfermedad. De ahí que el objetivo del estudio fuera evaluar la prevalencia de mastitis subclínica en las vacas y determinar los microorganismos asociados a esta en un rebaño bovino.

Materiales y Métodos

Localización de la unidad. El estudio se realizó en una unidad de la Empresa Pecuaria Genética Los Naranjos, en el municipio Caimito –provincia Artemisa, Cuba–, durante el período marzo-mayo de 2016.

Suelo. El suelo se clasifica como Ferralítico Rojo (Hernández-Jiménez *et al.*, 2015).

Animales. La unidad contaba con 57 animales Holstein clínicamente sanos, de los cuales el 66,7 % eran vacas para garantizar el fin productivo; el 16,0 % se encontraban en ordeño y el 38,3 % estaban secas, y se distribuyeron en dos grupos (uno de ordeño y otro de animales secos). El sistema empleado para ambos grupos fue el pastoreo continuo.

Manejo y alimentación del rebaño. La vaquería tenía un área total de 32 ha, de las cuales 26 ha estaban destinadas a pastos, 3 ha a *Cenchrus purpureus* y 1 ha a *Saccharum officinarum*.

Las vacas pastoreaban de 6:00 a.m. a 10:30 a.m.; después se llevaban hacia las naves de sombra, donde se les suministraba forraje y permanecían hasta la hora del ordeño (3:00 p.m.). Al finalizar el ordeño se trasladaban hacia un área próxima a la unidad, donde se mantenían hasta las 6:00 p.m.; después se llevaban a la nave de sombra hasta el próximo ordeño (de 4:00 a 5:00 a.m.).

En la unidad se les ofrecía concentrado comercial y forraje (*C. purpureus*); la cantidad de alimento suministrado dependía de la categoría y estado productivo del animal. En el caso del grupo de ordeño se le ofreció concentrado a razón de 0,450 kg⁻¹ kg de leche, además de 33 kg de forraje troceado por animal.

En la composición florística del pastizal predominaron: *Dichanthium annulatum* (24,4 %), *Paspalum notatum* (44,5 %), *Megathyrus maximus* (14,7 %) y un 16,4 % de plantas arvenses.

Toma de muestras e inspección de los animales.

Se realizó la inspección de la ubre y de la rutina de ordeño. A cada animal se le tomaron muestras de leche (10 mL), en frascos estériles; estas fueron trasladadas, en un termo con hielo, al laboratorio del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria – Mayabeque, Cuba– para la determinación de la calidad de la leche, el diagnóstico de mastitis subclínica y el diagnóstico microbiológico.

Mediciones experimentales

Calidad de la leche. Las muestras se obtuvieron del total de vacas en ordeño en los primeros 150 días de lactancia. Se determinó el porcentaje de grasa, el contenido de proteína, la lactosa y los sólidos totales (ST) por el método infrarrojo (FIL-141: B, 1997), por medio del MilkoScan 104 A/S Foss Electric, según lo descrito por Kent-Ruiz *et al.* (2014).

Diagnóstico de mastitis subclínica. Se realizó la Prueba de California para Mastitis (CMT, del inglés California Mastitis Test), la cual se empleó como método cualitativo; y se determinó el contenido de células somáticas presentes en la leche, según la metodología descrita por Gómez-Quispe *et al.* (2014), como método cuantitativo.

Basado en los resultados del CMT se determinó un índice de mastitis subclínica, donde: negativo: 1; trazas: 2, +: 3, ++: 4 y +++: 5 (Gómez-Quispe, 2014), el cual se utilizó para el análisis de los datos.

Se calculó la prevalencia de mastitis subclínica mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{Número de animales positivos}}{\text{Número de animales muestreados}} \times 100$$

Diagnóstico microbiológico. Se siguió el procedimiento descrito por Kent-Ruiz (2014), el cual se describe a continuación:

Se tomó 0,1 mL de cada muestra, se sembró en Agar Sangre (base de agar Columbia suplementado con sangre de oveja defibrinada al 5 %), y se incubó a 37 °C por un período de 48-72 h. El aislamiento fue válido cuando se encontraron más de tres colonias idénticas por muestra, y se consideraron contaminadas las muestras cuando aparecieron más de tres tipos de colonias.

Los cultivos puros fueron probados por: catalasa, oxidasa y tinción de Gram para un diagnóstico presuntivo hasta el nivel de género: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, entre otros. Para la identificación de *Corynebacterium* se utilizó el

crecimiento diferencial en Tryptic Soy Agar (TSA) y TSA suplementado con 1 % de las especies Tween 80.

Para *Staphylococcus* la diferenciación de especie fue apoyada por la coagulasa y la prueba de Voges-Proskauer, y se dividió en *S. aureus*, *Staphylococcus* coagulasa positiva (CPS) y *Staphylococcus* coagulasa negativa (CNS) si los resultados fueron positivo-positivo, positivo-negativo y negativo-negativo/positivo para ambas pruebas, respectivamente. Para la identificación de *Streptococcus* hasta especie se utilizó el medio Edward siguiendo las indicaciones del fabricante.

Las células somáticas se contaron en el equipo Minor Fossomatic (Foss, Hillerød, Dinamarca).

Procesamiento estadístico. Las variables calidad de la leche, microorganismos totales y coliformes totales se procesaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de clasificación simple, para determinar las diferencias entre los meses de muestreo; las medias fueron comparadas mediante la d-índice de Duncan (1955) para un 5 % de significación, después de verificarse que cumplían con la normalidad (prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov) y la homogeneidad de varianza (prueba mediante el test de Levene), con el empleo del paquete estadístico SAS®. A las células somáticas y a los agentes etiológicos se les realizó un análisis de frecuencia.

Resultados y Discusión

La calidad de la leche durante el periodo estudiado aparece en la tabla 1. No se encontraron diferencias significativas para los porcentajes de grasa, proteína, lactosa, sólidos totales y sólidos no grasos.

Los valores de grasa fueron similares a los obtenidos por Hernández y Ponce (2000) para este racial (3,78 %), pero es válido precisar que estos autores calcularon los indicadores físico-químicos de la leche de vacas Holstein-Friesian en sistemas silvopastoriles; mientras que los valores de proteína fueron similares a los reportados por Peraza-González *et al.* (2015).

En la tabla 2 aparece la prevalencia e índice de mastitis subclínica en el periodo marzo-mayo. La mayor prevalencia ocurrió en mayo (60 % de los animales). Hubo diferencia significativa para el índice de mastitis subclínica; los mayores valores se hallaron en mayo (2,6) y los menores en marzo (1,2).

La prevalencia de mastitis subclínica en abril y mayo fue superior a la hallada por Ruiz *et al.* (2011) en Brasil: entre 39,3 y 54,8 % para CMT en un sistema de ordeño mecanizado.

En un estudio realizado en Cienfuegos, Cuba, se informó que entre los principales factores que provocaban la aparición de esta enfermedad se encontraban el resbalamiento de las pezoneras y el escurrido incorrecto de la ubre, así como otros

Tabla 1. Calidad nutricional de la leche durante el periodo evaluado.

Indicador (%)	Marzo		Abril		Mayo		Sig.
	Media (± EE)	CV (%)	Media (± EE)	CV (%)	Media (± EE)	CV (%)	
Grasa	3,5 (± 0,193)	20,5	3,5 (± 0,260)	19,5	3,6 (± 0,246)	21,6	
Proteína	3,0 (± 0,061)	7,9	3,0 (± 0,097)	8,6	3,2 (± 0,134)	13,4	
Lactosa	4,3 (± 0,089)	7,8	3,7 (± 0,341)	24,4	4,1 (± 0,268)	20,8	NS
ST	11,5 (± 0,270)	8,8	11,1 (± 0,512)	12,3	11,7 (± 0,230)	6,2	
SNG	8,0 (± 0,127)	5,9	7,4 (± 0,385)	13,7	8,1 (± 0,290)	11,4	

ST: sólidos totales, SNG: sólidos no grasos.

Tabla 2. Prevalencia de mastitis subclínica durante el estudio.

Prueba de California, CMT	Prevalencia (%)		
	Marzo	Abril	Mayo
Negativo	80	50	40
Trazas	20	10	20
+	-	-	30
++	-	20	-
+++	-	30	10
Índice de CMT	1,20 (0,1333) ^b	1,90 (0,4333) ^{ab}	2,60 (0,4761) ^a

a, b: Letras diferentes en una misma fila difieren a $P < 0,05$

relacionados con las prácticas de manejo, principalmente con la rutina de ordeño, y los dependientes del animal, fundamentalmente los días y cantidad de lactancia (Novoa *et al.*, 2005).

En este sentido, en la valoración de la unidad se pudo apreciar que no se cumplía con la rutina de ordeño, lo cual es una de las principales causas en la prevalencia de esta enfermedad. Además, no se realizaba la antisepsia final del pezón y ello constituye una puerta de entrada de microorganismos.

A su vez, los valores hallados en esta investigación son inferiores a los reportados por Bonifaz y Colango (2016) en la comunidad de Paquiestancia cantón Cayambe, Ecuador, a partir de un estudio epidemiológico de prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de campo California Mastitis Test. Se encontró que, de los cuartos muestreados, el 64 % estaba afectado por algún grado de mastitis.

Santivañez-Ballón *et al.* (2013) plantearon que las vacas Holstein, de tres a cuatro años y sin higiene en el ordeño, tienen un 74 % de probabilidad de padecer de mastitis subclínica.

A similar conclusión arribaron Vidales-Curequia *et al.* (2017), quienes determinaron la influencia del racial y coincidieron en que Holstein fue la raza con mayor prevalencia de mastitis subclínica, al compararla con diferentes cruces.

Otra de las formas de determinar la mastitis subclínica es a través del recuento de células somáticas. El principal factor que determina la elevación de las células somáticas en la leche es la mastitis (McDougall *et al.*, 2009; Green *et al.*, 2014).

En la fig.1 se muestra el número de células somáticas. Los conteos superiores a 200 000 por mililitro (para el 50 % de los animales muestreados) significan un alto porcentaje de mastitis subclínica en el rebaño (aproximadamente el 50 % del total de animales), lo cual trae consigo considerables pérdidas en producción de leche (Fonseca-Sánchez, 2015).

En la tabla 3 aparece el conteo de microorganismos y coliformes totales. No hubo diferencias significativas entre abril y mayo para ninguno de los indicadores evaluados.

El conteo de microorganismos fue de $3,24 \times 10^5$ UFC/mL en los dos meses que duró el estudio, valor que se considera alto; la leche se clasifica como de mala calidad cuando dicho conteo supera los 300×10^3 UFC/mL (Calderón *et al.*, 2006). Los coliformes totales alcanzaron $2,30 \times 10^3$ y $< 10^3$ UFC/mL para abril y mayo, respectivamente; y aunque no se encontraron diferencias estadísticas, estos valores se consideran altos en la leche de buena calidad.

La presencia de coliformes es un indicador del grado de contaminación fecal que, en el caso de la

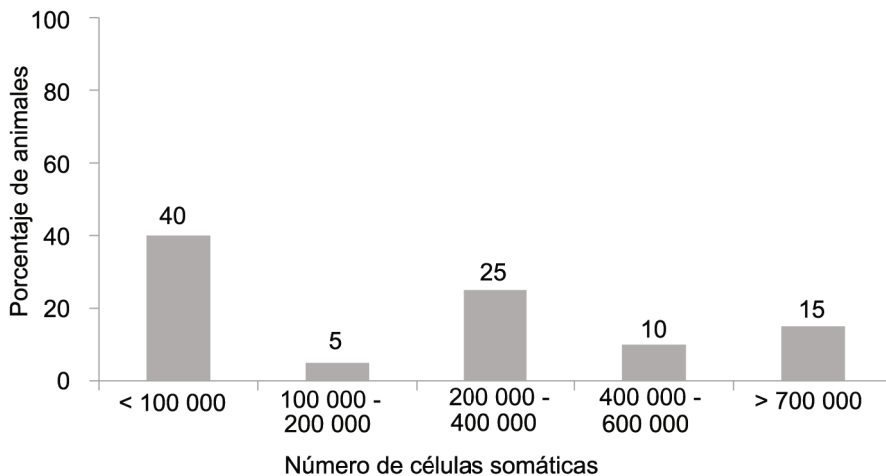


Figura 1. Conteo de células somáticas.

Tabla 3. Conteo de microorganismos y coliformes totales.

Mes	Microorganismos totales UFC/mL $\times 10^5$ (\pm ES)	Coliformes totales UFC/mL (\pm ES)
Abril	3,24 (\pm 1,399)	2,30 (\pm 0,7394) $\times 10^3$
Mayo	3,24 (\pm 1,115)	$< 10^3$
Sign.	NS	NS

leche, se convierte en un evaluador del grado de limpieza de las manos del ordeñador, de la limpieza y desinfección de los pezones y las pezoneras (Calderón, 2006). Se afirma que se pueden encontrar más de 1 000 coliformes/mL, y los valores hallados en abril están por encima de esta cantidad.

Para disminuir estos valores se deben fomentar buenas prácticas ganaderas, como la implementación de prácticas higiénicas que garanticen pezones limpios, secos y sanos, que es la primera norma para obtener leche de buena calidad bacteriológica.

Los microorganismos aislados con mayor frecuencia se muestran en la tabla 4. El patógeno más frecuente fue *S. coagulasa* negativa, con 50,0 y 53,3 % para abril y mayo, respectivamente; seguido de *Enterobacter* spp. con 28,6 y 26,7 % en abril y mayo, respectivamente. Los valores de *S. coagulasa* negativa superan los encontrados en Boyacá (14,5 %) por Hernández-Jiménez (2015) y Hernández *et al.* (2016).

Según Yera-Pompa y Ramírez (2016), la presencia de enterobacterias en un rebaño lechero puede estar asociada a que se trata de gérmenes que provienen del tracto intestinal de los animales y se pueden encontrar en el estiércol, el suelo y el agua, lo que indica deficiencias en la higiene del ambiente donde se ubican las hembras en ordeño.

La mastitis subclínica bovina, según el agente etiológico, se clasifica en contagiosa y ambiental; en el caso del presente estudio predominó la producida por agentes contagiosos, cuyo principal reservorio es la glándula mamaria bovina (infectada). Esta mastitis puede controlarse mediante buenas prácticas de ordeño y tratamientos de secado.

Sin embargo, los resultados de este estudio difieren de lo informado por Aguilar-Aldrete *et al.* (2014) al evaluar la prevalencia y los patógenos aso-

ciados a mastitis subclínica en vacas productoras de leche en la región Ciénega del estado de Jalisco –México–, ya que el análisis microbiológico mostró que el 100 % de las muestras tuvieron presencia de *S. aureus* y *Salmonella* spp.

En este sentido, Karimuribo *et al.* (2008) señalaron que el predominio de patógenos contagiosos podría ser correlacionado con el tipo de ordeño y/o con una mala higiene de este. Similar comportamiento se obtuvo en Brasil, donde predominaron los microorganismos *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Micrococcus* spp. y *Streptococcus* spp. (Ruiz *et al.*, 2011).

Se concluye que la mastitis subclínica presentó alta prevalencia y que predominaron los agentes etiológicos contagiosos, entre ellos *S. coagulasa* negativa con frecuencia del 50 %.

La leche tuvo una buena calidad nutricional; sin embargo, mostró altos conteos de células somáticas, lo que trae consigo una mala calidad higiénico-sanitaria.

Referencias bibliográficas

- Aguilar-Aldrete, A.; Bañuelos-Pineda, J.; Pimienta-Barrios, E.; Aguilar-Flores, A. & Torres-Morán, P. Prevalencia de mastitis subclínica en la región Ciénega del estado de Jalisco. *Abanico Vet.* 4 (1):24-31, 2014.
- Bonifaz, Nancy & Colango, F. Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en Paquiestancia, Ecuador. *La Granja. Revista de Ciencias de la Vida.* 24 (2):43-52, 2016.
- Calderón, A.; García, F. & Martínez, Gloria. Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. *Revista MVZ Córdoba.* 11 (1):725-737, 2006.
- Calderón, A. & Rodríguez, Virginia C. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche

Tabla 4. Frecuencia de microorganismos durante el estudio.

Microorganismo	Abril		Mayo	
	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	-	-	1	6,67
<i>Strepococcus</i> spp.	2	14,29	1	6,67
<i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa negativa	7	50,00	8	53,33
<i>Enterobacter</i> spp.	4	28,57	4	26,67
<i>Corynebacterirum bovis</i>	1	5,88		
<i>Shigella</i> spp.	1	5,88		
<i>Escherichia coli</i>			1	6,67
Total	14	100	15	100

- en el altiplano cundiboyacense (Colombia). *Rev. Colom. Cienc. Pecu.* 21 (4):582-589, 2008.
- Duncan, D. B. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics.* 11 (1):1-42, 1955.
- Ericsson, H.; Lindberg, A.; Persson, K.; Ekman, T.; Artursson, K.; Nilsson, O. M. *et al.* Microbial aetiology of acute clinical mastitis and agent-specific risk factors. *Vet. Microbiol.* 137 (1-2):90-97, 2009.
- Fonseca-Sánchez, L. S. *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación de agente etiológico, en el centro de acopio de la leche de la comunidad el Chaupi, Cachambe, Ecuador 2014.* Tesis previa a la obtención del título de Ingeniería Agropecuario. Quito: Universidad Politécnica Salesiana, 2015.
- Giannechini, R.; Concha, C.; Delucci, I.; Gil, J.; Salvarey, L. & Rivero, R. Mastitis bovina, reconocimiento de los patógenos y su resistencia antimicrobiana en la Cuenca Lechera del Sur de Uruguay. *Veterinaria (Montevideo).* 50 (196):4-32, 2014.
- Gómez-Quispe, O. E.; Santivañez-Ballón, C. S.; Arauco-Villar, F.; Espezua-Flores, O. H. & Manrique-Meza, J. Criterios de interpretación para California Mastitis Test en el diagnóstico de mastitis subclínica en bovinos. *Rev. investig. vet. Perú.* 26 (1):86-95, 2014.
- Green, M. J.; Bradley, A. J.; Newton, H. & Browne, W. J. Seasonal variation of bulk milk somatic cell counts in UK dairy herds: Investigations of the summer rise. *Prev. Vet. Med.* 74 (4):293-308, 2014.
- Hernández, Jenny C.; Angarita, Maritza; Benavides, D. A. & Prada, C. F. Agentes etiológicos de mastitis bovina en municipios con importante producción lechera del departamento de Boyacá. *Revista investigación en salud universidad de Boyacá.* 2 (2). <http://revistasdigitales.uniboyaca.edu.co/index.php/rs/article/view/135>. [07/07/2017], 2016.
- Hernández, R. & Ponce, P. *Study of milk quality in Holstein Friesian and their crossings under silvopastoral systems in Cuba.* Conference Small scale milk collection and processing in developing countries. Rome: FAO. Livestock Products Team, Animal Production Service, 2000.
- Hernández-Jiménez, A.; Pérez-Jiménez, J. M.; Bosch-Infante, D. & Castro-Speck, N. *Clasificación de los suelos de Cuba.* Mayabeque, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Instituto de Suelos, Ediciones INCA, 2015.
- Karimuribo, E. D.; Fitzpatrick, J. L.; Swai, E. S.; Bell, C.; Bryant, M. J.; Ogden, N. H. *et al.* Prevalence of subclinical mastitis and associated risk factors in smallholder dairy cows in Tanzania. *Vet. Rec.* 163 (1):16-21, 2008.
- Kent-Ruiz, A.; Peña, J.; González, Dayaimi & Ponce, P. Prevalence, somatic cell count and etiology of bovine mastitis in Cuban herds from Mayabeque province using hand and machine milking. *Rev. Salud Anim.* 36 (1):7-13, 2014.
- McDougall, S.; Parker, K.; Heuer, C. & Compton, C. W. A review of prevention and control of heifer mastitis via non-antibiotic strategies. *Vet. Microbiol.* 134 (1-2):177-185, 2009.
- Novoa, R.; Armenteros, Mabelin; Abeledo, María A.; Casanovas, E.; Valera, R.; Caballero, C. *et al.* Factores de riesgo asociados a la prevalencia de mastitis clínica y subclínica. *Rev. Salud Anim.* 27 (2):84-88, 2005.
- Peraza-González, Breidys; Pérez-Hernández, Anisley & Mohar-Hernández, F. Efecto de la alimentación con *Moringa oleifera* en la dieta de vacas lecheras. *Rev. Ing. Agríc.* 5 (4):40-45, 2015.
- Ponce, P.; Ribot, A.; Capdevila, J. Z. & Villoch, Alejandra. *Manual aprendiendo de la leche PRO-CAL.* San José de las Lajas, Cuba: CENSA, MINAG, 2010.
- Ruiz-Gil, A. K.; Peña-Rodríguez, J. & Remón-Díaz, Dianys. Mastitis bovina en Cuba. *Rev. Prod. Anim.* 28 (2-3):39-50, 2016.
- Ruiz, A. K.; Ponce, P.; Gomes, G.; Mota, R. A.; Sampaio, Elizabeth; Lucena, E. R. *et al.* Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. *Rev. Salud Anim.* 33 (1):57-64, 2011.
- Santivañez-Ballón, Crish S.; Gómez-Quispe, O. E.; Cárdenas-Villanueva, L. A.; Escobedo-Enríquez, M. H.; Bustinza-Cardenas, R. H. & Peá-Sánchez, J. Prevalencia y factores asociados a la mastitis subclínica bovina en los Andes peruanos. *Veterinaria y Zootecnia.* 7 (2):92-104, 2013.
- Trujillo, C. M.; Gallego, A. F.; Ramírez, N. & Palacio, L. G. Prevalencia de mastitis en siete hatos lecheros del oriente antioqueño. *Rev. Colom. Cienc. Pecu.* 24 (1):11-18, 2011.
- Vidales-Curequia, Caterine; Cruz-Amaya, J. M. & González-Herrera, L. G. Asociación del orden de parto y del componente racial con la prevalencia de mastitis clínica en un hato lechero especializado ubicado en el trópico alto de Colombia. *Rev. Med. Vet.* 34 (supl. 1):23-30. <https://revistas.lasalle.edu.co/index.php/mv/article/view/4252/3167>. [07/07/2017], 2017.
- Yera-Pompa, Graciela & Ramírez, W. La prevalencia de mastitis clínica en vacas mestizas Holstein x Cebú. *REDVET Rev. Electrón. vet.* 17 (3). <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030316.html>. [07/07/2017], 2016.