



SECCION ARTICULOS ORIGINALES
REVISTA DEL CENTRO DE ESTUDIOS EN SALUD
2003 VOL 1 N° 4: 19-25

AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE MICROORGANISMOS CAUSANTES DE MASTITIS SUBCLINICA Y SU SENSIBILIDAD A ANTIBIOTICOS EN HATOS LECHEROS DEL SUROCCIDENTE

Héctor Fabio Valencia Ríos¹ Henry Jurado Gámez² Carmen Helena Morán Timarán³

Recibido Marzo 21- 03 Enviado para modificaciones Mayo 23 - 03 Aceptado Julio 25 - 03

RESUMEN

La investigación se realizó en hatos lecheros del suroccidente de Pasto. Los objetivos del trabajo fueron aislar e identificar los microorganismos causantes de mastitis subclínica y determinar su sensibilidad a diferentes tipos de antibióticos previamente seleccionados. Se tomaron muestras de leche en 120 vacas escogidas al azar en diez hatos visitados, utilizando el reactivo California Mastitis Test (CMT). De las primeras 63 vacas positivas, se tomaron aproximadamente 20 centímetros cúbicos de leche en tubos estériles y se llevaron al laboratorio para aislar e identificar los microorganismos causantes de mastitis subclínica y posteriormente establecer su sensibilidad a los siguientes antibióticos: Eritromicina®, Ofloxacilina, Trimetoprim-sulfa, Cloranfenicol y Penicilina. La investigación se realizó durante los meses de abril y Mayo de 1.999. Los microorganismos con mayor prevalencia para la presente investigación fueron: *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, mientras que la mayor sensibilidad se presentó a los antibióticos Ofloxacilina, Kanamicina y Eritromicina. La importancia de detectar tempranamente la presencia de mastitis subclínica radica en que se pueden implementar medidas preventivas y de esta manera, evitar que los microorganismos presentes en la leche puedan afectar la salud de los consumidores, especialmente los niños y adultos de mayor edad, sobretodo en lo referente a las patologías gastrointestinales, además de constituirse igualmente en focos de infección para la población cuando la disposición de excretas y desechos no se efectúa convenientemente.

PALABRAS CLAVES Mastitis subclínica, Hatos lecheros, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*.

INTRODUCCION

El departamento de Nariño y concretamente el Municipio de Pasto, basan su actividad económica en el sector pecuario y dentro de éste, la producción de leche ocupa un lugar preponderante.

Sin embargo, varios factores inciden negativamente en la prosperidad de esta industria, uno de ellos, es la mastitis considerada como la causa principal en la depresión de la cantidad y calidad de la leche, debido a la susceptibilidad de la glándula mamaria a adquirir infecciones que producen alteraciones tanto en su tejido como en las características fisicoquímicas y bacteriológicas de la leche.

Entre los factores que más inciden en las enormes pérdidas económicas producidas por la mastitis están:

- No existe un diagnóstico preciso y oportuno con relación a los signos clínicos y subclínicos de la mastitis, lo que determina bajas en la producción lechera y pérdida parcial o total de la glándula mamaria de los animales en la producción.
- No se realizan las pruebas de laboratorio tanto microbiológicas como bioquímicas para la identificación de los microorganismos responsables de la mastitis

¹ MVZ. Esp. Microbiología. Profesor Facultad Ciencias Pecuarias Universidad de Nariño
E-mail valenciarhf@hotmail.com

² MSc. Microbiología. Profesor Facultad Ciencias Pecuarias Universidad de Nariño
E-mail henryjugam@hotmail.com

³ Bacterióloga Instituto de los Seguros Sociales. Pasto. E-mail carmenhelena@hotmail.com

subclínica en los hatos lecheros del Municipio de Pasto, con el objeto de formular una quimioterapia efectiva y económica.

Hazard⁽¹⁾ afirma que, la palabra mastitis etimológicamente deriva del griego: "mastos" que significa pechos, e "itis" inflamación de..., en otras palabras, la mastitis es una inflamación de la ubre.

Blood y otros⁽²⁾ establecen que el término mastitis se refiere a la inflamación de la glándula mamaria independiente de la causa. Se caracteriza por alteraciones físicas, químicas, y casi siempre bacteriológicas de la leche y por modificaciones patológicas del tejido glandular. Además, considera que es práctico definir la mastitis como una enfermedad caracterizada por la presencia de cantidad de leucocitos en la leche procedente de las glándulas enfermas, resaltan también que la enfermedad se define según la cantidad de cloro y sodio en la leche, la conductividad eléctrica y la cantidad de seroalbúmina en ella.

Para Nickerson⁽³⁾, la mastitis es una inflamación de la ubre que tiene lugar cuando las bacterias pasan a través de los conductos de los pezones y lesionan los tejidos productores de leche, dando lugar a una movilización de glóbulos blancos de la sangre a la leche y una disminución en la producción láctea.

Según Rodríguez⁽⁴⁾, se han relacionado muchos agentes infecciosos como causa de la mastitis, siendo los más comunes *Staphylococcus Aureus*, *Streptococcus Agalactiae* y *Escherichia coli* llegando a ser una causa significativa en el ganado estabulado, principalmente en los países con variaciones climáticas pronunciadas.

Según Alais⁽⁵⁾, los gérmenes causantes de la mastitis en orden decreciente son: *Streptococcus Agalactiae*, *Streptococcus Uberis*, *Streptococcus Dysgalactiae*, *Streptococcus Zooepidemicus*, *Staphylococcus* y diversos gérmenes como algunas enterobacterias (*E. coli*, *Klebsiella*), *Corynebacterium Pyogenes*, *Pseudomonas*

Blodd y otros⁽⁶⁾, afirman que las pruebas indirectas para detectar mastitis a nivel de campo han quedado restringidas enteramente a la determinación del número de leucocitos aproximado en la muestra. La prueba de California para la mastitis es la más frecuentemente usada, siendo su mayor eficiencia en operarios hábiles. La prueba refleja con exactitud el número de leucocitos de la leche. Después de mezclar la leche con el reactivo en un recipiente, los resultados se leen como negativos, indicios

o reacción 1,2 o 3 según la cantidad de formación de gel en la muestra.

Igualmente la prueba de California para mastitis tiene la ventaja de poder utilizar leche total de una vaca, muestras contenidas en recipientes individuales o mezclas totales de leche, así como muestras de cuartos glandulares independientes. Un grado 1 de reacción en la leche sugiere la presencia de mastitis, mientras que un grado 2 o 3 constituye una situación grave. Se ha observado que los resultados de la prueba de CMT de grados N (normal), I (indicios), 1,2 y 3 equivalen a recuentos celulares promedios de 100.000, 300.000, 900.000 y 2.700.000 y 8.100 respectivamente.

MATERIALES Y METODOS

De acuerdo con los datos estadísticos obtenidos, la región Suroccidental del Municipio de Pasto cuenta con 750 hatos lecheros con una población de 5.600 cabezas, de las cuales 2.800 son vacas en producción que de acuerdo al índice de prevalencia (20%) se calcula que 560 vacas son positivas a la mastitis subclínica. Los hatos se seleccionaron aleatoriamente durante el periodo comprendido de abril y mayo de 1999, lo mismo que el número de vacas a muestrear de acuerdo al diseño estadístico empleado para este estudio.

La información que se recolectó mediante observación directa, se registró y anotó en los anexos diseñados para el estudio, una vez seleccionadas las vacas de un hato se tomaron las muestras y se adicionó el reactivo California Mastitis Test (CMT), las muestras positivas se llevaron al laboratorio para las siembras respectivas en los medios de cultivos primarios, posteriormente a la incubación 24 y 28 horas se hicieron las lecturas correspondientes y se procedió a efectuar las pruebas bioquímicas para identificar los microorganismos presentes en la siembra. La sensibilidad de los microorganismos encontrados se determinó midiendo el halo de inhibición de los sensibilizados impregnados los antibióticos seleccionados para el presente estudio.

Para la identificación del género *Staphylococcus* las muestras fueron cultivadas en agar sangre donde se desarrollan como colonias grandes, elevadas y opacas. De igual manera, las pruebas realizadas para una mejor identificación fueron:

- La prueba de la catalasa en donde el *Staphylococcus* descompone el peróxido de hidrógeno.

- Prueba de la coagulasa, es una de las pruebas más antiguas, considerada como uno de los mejores criterios para la identificación de este género ya que al haber la formación de coágulo se interpreta como una prueba positiva para *Staphylococcus aureus* y en caso negativo se reporta como *Staphylococcus epidermidis*

- Prueba del agar manita salada, en donde después del tiempo de incubación, si se presenta en la fermentación de este agar un viraje del medio de rojo a amarillo, se considera positivo para *Staphylococcus aureus* y negativo para *Staphylococcus epidermidis*.

Para la identificación del género *Streptococcus*, luego de la incubación en agar sangre en donde las colonias se caracterizan por un color blanquecino y con ausencia de hemólisis, se les practicó las siguientes pruebas:

- Prueba de la catalasa, en donde la interpretación fue negativa, es decir, no hubo descomposición del peróxido del hidrógeno.

- Prueba de la bilis esculina, en donde se considera positiva cuando hay ennegrecimiento del medio y por tanto se reporta como *Enterococcus* y en caso contrario como *Streptococcus grupo viridans*

- Prueba de la tolerancia al NaCl al 6.5%, en donde un viraje del medio a amarillo se considera como un

crecimiento positivo para *Enterococcus* y ausencia de crecimiento como *Streptococcus grupo viridans*.

Para la identificación de *Escherichia coli* las muestras se cultivan en agar MacConkey y agar sangre, incubadas a 37 grados centígrados por 24 horas. Las colonias en estos medios con características semejantes a las de *Escherichia coli*, fueron identificadas como pertenecientes a la especie en estudio, con base en las pruebas de fermentación de la lactosa, producción de indol, reacciones de rojo de metilo y voges proskauer, utilización de citrato, producción de ureasa y de gas sulfhídrico. Las lecturas se hacen después de 24 y 72 horas de incubación a 37 grados centígrados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los microorganismos aislados e identificados como causantes de mastitis subclínica en los hatos lecheros del sur occidente del municipio de Pasto durante los meses de abril y mayo de 1999 fueron en su orden los siguientes: *Staphylococcus aureus* con el 44,44% seguido por *Staphylococcus epidermidis* con el 39,68%, *Enterococcus* con 9,52%, *Escherichia coli* con 4,76% y *Streptococcus grupo viridans* con el 1,59%, en 63 casos positivos analizados. (Tabla 1)

Tabla 1. Aislamiento e identificación de microorganismos causantes de mastitis subclínica en hatos lecheros del suroccidente del Municipio de Pasto. Abril y Mayo de 1999

Microorganismo	Nº. Casos positivos	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	28	44,44
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	25	39,68
<i>Enterococcus</i>	6	9,52
<i>Escherichia coli</i>	3	4,76
<i>Streptococcus grupo viridans</i>	1	1,59
TOTAL	63	100%

Fuente. Esta investigación.

Estos resultados coinciden con los reportados por el ICA⁽⁷⁾ en 1.990 en la sabana de Bogotá y por de Los Ríos y Portilla⁽⁸⁾ en 1.987 en las sabanas de Túquerres, Guachucal y Cumbal (Nariño), los cuales encontraron como principales agentes causantes de mastitis a: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* y *Enterococcus*.

Según el manual práctico de alimentos de Norteamérica⁽⁹⁾, describe a las bacterias Gramnegativas como menos frecuentes en relación con las Grampositivas, confirmando el hecho de que estos microorganismos son causantes de muchas toxiinfecciones alimentarias en los humanos, en especial en los niños y adultos mayores.

Susceptibilidad a los antibióticos

1. *Staphylococcus Aureus* aislado e identificado en 28 casos de las 63 muestras positivas encontradas, presentó una susceptibilidad de 100% a Ofloxacilina (10Mg) y Trimetoprim-sulfa (25 Mg.) 92,8%, o sea, 26 casos susceptibles a la Kanamicina (30 Mg.), 78,5% para 22 casos

sensibles a Eritromicina (15Mg.) y 60,7% para 17 casos sensibles a la Penicilina G (10UI). (Tabla 2).

Este resultado coincide con lo afirmado por Biberstein⁽¹⁰⁾ y Nicolet⁽¹¹⁾ entre los medicamentos de elección para el control de *Staphylococcus* se encuentran la Ofloxacilina, asociaciones Sulfa-Trimetoprim y la Eritromicina y en menor grado la Penicilina resistente a la Penicilinasas.

Tabla 2. Susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a los antibióticos en hatos lecheros del suroccidente de Pasto. Abril y Mayo de 2001

Antibiótico	No. de Cepas Sensibles	% Sensibilidad	Por Halo Inhibidor M.m.	No. de cepas Resistentes	% Resistencia
Ofloxacilina 10 Mg.	28	100	40	0	0
Trimetoprim sulfa (TX) 25 Mg.	28	100	36	0	0
Kanamicina 30 Mg.	26	93	37	2	7
Eritromicina 15 Mg.	22	79	40	6	21
Penicilina G 10 UI	17	61	41	11	39

2. *Staphylococcus epidermidis* la muestra de sensibilidad determinó los siguientes resultados en los 25 casos encontrados: 100% de sensibilidad frente a Ofloxacilina,

Kanamicina y Eritromicina, el 88%, es decir, 22 casos para Sulfa Trimetoprim (STX) y 56% a Penicilina G (10UI). (Tabla 3)

Tabla 3. Susceptibilidad de *Staphylococcus epidermidis* a los antibióticos en hatos lecheros del suroccidente de Pasto. Abril y Mayo de 1999

Antibiótico	No. De Cepas Sensibles	% Sensibilidad	Por Halo Inhibidor m.m.	No. De cepas Resistentes	% Resistencia
Ofloxacilina 10 Mg.	25	100	40	0	0
Trimetoprim sulfa (TX) 25 Mg.	22	88	39	3	12
Kanamicina 30 Mg.	25	100	38	0	0
Eritromicina 15 Mg.	25	100	39	0	0
Penicilina G 10 UI	14	56	41	11	44

Fuente. Esta investigación

Al igual que en *Staphylococcus aureus* estos resultados coinciden con los reportados por Ordóñez⁽¹²⁾ y Oliver⁽¹³⁾ para el control de las mastitis por *Staphylococcus*.

3. Para *Enterococcus* se encontraron seis casos positivos con una sensibilidad de 100% a los antibióticos usados. Sin embargo, la mayor sensibilidad se presentó frente a la Ofloxacilina y Eritromicina, en grado intermedio Kanamicina y Penicilina y en menor grado a Sulfa-Trimetoprim (STX), lo cual está relacionado a lo expresado en la tabla de susceptibilidad de agentes antimicrobianos. (Tabla 4).

De acuerdo a las recomendaciones de Andrade⁽¹⁴⁾ el antibiótico de elección es la Penicilina seguido por los macrólidos entre ellos la Eritromicina empleada en el presente estudio.

En cuanto a la Ofloxacilina (quinolona) no se tiene un reporte comparativo a su efectividad tal como se presentó en el estudio. Con la Kanamicina es importante adelantar otras investigaciones para confirmar su grado de sensibilidad frente a *Streptococcus*.

Tabla 4. Sensibilidad de *Enterococcus* a los antibióticos en hatos lecheros del suroccidente de Pasto. Abril y Mayo de 1999

Antibiótico	No. de muestras obtenidas	% Sensibilidad.	Por halo Inhibidor m.m.	No. de cepas resistentes	% Resistencia
Ofloxacilina 10 Mg.	6	100	41	0	0
Kanamicina 30 Mg	6	100	34	0	0
Trimetoprin sulfa (TX) 25 Mg	6	100	23	0	0
Eritromicina 15 Mg.	6	100	41	0	0
Penicilina G 10 UI	6	100	33	0	0

Fuente. Esta investigación.

4. El *Streptococcus grupo viridans* se aisló en un solo caso de los 63 analizados, aunque no amerita un análisis estadístico, si se estableció que es sensible en su orden a Ofloxacilina, Eritromicina, Sulfa- trimetoprim (STX), Kanamicina, y resistente a Penicilina G. (Tabla 5).

Aunque Cotrino⁽¹⁵⁾ reporta sensibilidad del *Streptococcus grupo viridans* a la Penicilina G y la Ampicilina, en el presente estudio se encontró resistencia a la Penicilina G, probablemente se debe a una cepa resistente, lo que amerita posteriores estudios para establecer su grado de sensibilidad a este antibiótico en la región.

Tabla 5. Sensibilidad de *Streptococcus viridans* a los antibióticos en hatos lecheros del suroccidente de Pasto. Abril y Mayo de 1999

Antibiótico	No. De muestras obtenidas	% Sensibilidad	Por halo inhibidor m.m.	No. de cepas resistentes	% Resistencia
Ofloxacilina 10 Mg.	1	100	38	0	0
Kanamicina 30 Mg.	1	100	30	0	0
Sulfa-Trimetoprim STX 25Mg.	1	100	32	0	0
Eritromicina 15 Mg.	1	100	34	0	0
Penicilina 10 UI.	1	-	12	0	0

Fuente. Esta investigación.

5. *L. Escherichia coli* se aisló en 3 casos de los 63 analizados y se estableció sensibilidad a Cloranfenicol, Ofloxacilina, Kanamicina, y Trimetoprim-sulfa. (Tabla 6).

Bringe⁽¹⁶⁾, Koneman y otros⁽¹⁷⁾ y Sears⁽¹⁸⁾, reportan que la mastitis es de presentación esporádica y que las cepas contaminantes proceden del medio ambiente contaminado,

lo que coincide con el resultado obtenido en el presente trabajo (3 casos). En cuanto a la sensibilidad se reporta una buena efectividad del Cloranfenicol y medianamente a la Sulfa-Trimetoprim.

No se encontraron reportes a Kanamicina y Ofraxocilina por ser antibióticos de reciente uso en medicina veterinaria.

Tabla 6. Sensibilidad de *Escherichia coli* a los antibióticos en hatos lecheros del suroccidente de Pasto. Abril y Mayo de 1999

Antibiótico	No. De Muestras Obtenidas	% Sensibilidad	Por halo Inhibidor m.m.	No de cepas Resistentes	% Resistencia
Ofloxacilina 10 Mg.	3	100	43	0	0
Kanamicina 30 Mg.	3	100	41	0	0
Sulfa-Trimetoprim 25Mg.	3	100	44	0	0
Cloranfenicol	3	100	41	0	0
Eritromicina 15 Mg.	-	-	-	-	-
Penicilina 10 UI.	-	-	-	-	-

Fuente. Esta investigación.

Prueba de Duncan

Posteriormente se procedió a realizar comparaciones entre los diferentes antibióticos empleados para cada uno de los microorganismos identificados, utilizando la prueba de Duncan para determinar si existe o no diferencia entre ellos. Se considera que hay diferencias significativas cuando el valor p de la prueba es menor a 0.05. Los resultados de esta prueba fueron obtenidos utilizando el paquete estadístico STAGRAPHS versión 5.

1. *Staphylococcus aureus* Comparando los antibióticos Ofloxacilina y Eritromicina; Ofloxacilina y Penicilina; Kanamicina y Penicilina, Trimetoprim-sulfa y Eritromicina; Penicilina y Trimetoprim-sulfa, se encontró diferencias estadísticamente significativas.

2. *Staphylococcus epidermidis*. Comparando los antibióticos Ofloxacilina y Penicilina, Kanamicina y Penicilina, Trimetoprim-sulfa y Penicilina, Eritromicina y Penicilina, se encontró diferencias estadísticamente significativas.

3. *Enterococcus*. Comparando los antibióticos

Ofloxacilina y Kanamicina, Ofloxacilina y Trimetoprim-sulfa, Ofloxacilina y Penicilina, Kanamicina y Trimetoprim-sulfa, Kanamicina y Eritromicina, Trimetoprim-sulfa y Eritromicina, Trimetoprim-sulfa y Penicilina, Eritromicina y Penicilina, se encontró diferencias estadísticamente significativas.

4. *Streptococcus grupo viridans*. Debido a que se presentó un solo caso no permite realizar un análisis estadístico.

CONCLUSIONES

1. En la investigación se encontró que el microorganismo de mayor prevalencia fue *Staphylococcus aureus* seguido por *Staphylococcus epidermidis*, debido a la falta de higiene y desinfección de los pezones de la vaca, manos y utensilios utilizados por los ordeñadores, que facilitan la entrada de gérmenes a través del conducto del pezón con el consiguiente compromiso de la glándula mamaria.

Otra circunstancia a la que se puede atribuir el mayor grado de prevalencia del *Staphylococcus epidermidis* es

que éste hace parte de la flora normal de la piel. En menor grado se encontraron en las 63 muestras analizadas los siguientes microorganismos: *Enterococcus*, *Streptococcus* grupo *viridans* y *Escherichia coli*. Esto indica que existen deficientes condiciones higiénicas además de una posible contaminación con heces fecales.

2. En cuanto a la sensibilidad para *Staphylococcus aureus* en la presente investigación se estableció una mayor sensibilidad in-vitro a la Ofloxacilina, Trimetoprim-sulfa, seguido por la Kanamicina, igualmente se encontró un alto grado de resistencia a la Penicilina, probablemente por ser el antibiótico más usado en las ganaderías de la zona.

3. En referencia a la susceptibilidad al *Staphylococcus epidermidis* se reporta un mayor grado de sensibilidad a la Ofloxacilina, Kanamicina, Eritromicina y en menor grado a Trimetoprim-sulfa y Penicilina, lo que amerita una serie de estudios posteriores.

4. Por todo lo anteriormente mencionado, los estudios microbiológicos en la leche, bien sea a nivel de parámetros de calidad, como de enfermedades relacionadas, como es el caso de la mastitis subclínica, son de vital importancia para la salud del consumidor y del animal mismo, puesto que la leche constituye un alimento imprescindible en la dieta, por su alto contenido de proteínas, energía, vitaminas y minerales de fácil digestión y, recordando que una de las causas de desnutrición infantil en nuestro país es el bajo consumo en los primeros años de vida. Por otro lado, la mala calidad de la leche y sus derivados están ocasionando problemas de salud al consumidor lo cual incide en su bajo consumo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- HAZARD, T. S. Qué es la mastitis y cómo prevenirla. Investigación y progreso agropecuario. Carillanca, Chile 5 (1): 15-18. Ene. - Mar., 1986.
- BLOOD, D.C., RADOSTITS, O. M. y HENDERSON, J. A. Medicina Veterinaria. Trad. por Colchero. México, Interamericana, 1986: 491 - 537
- NICKERSON, S. Control de la mastitis. Rev. Agricultura de las Américas. Singapur. 37 (3): 6 - 14. May. - Jun., 1988
- RODRÍGUEZ, G. La mastitis bovina y el potencia para el control en la Sabana Bogotá, Colombia. Tesis Ph.D. Reading, Inglaterra, Universidad de Read Departamento de Agricultura y Horticultura, 1987: 82
- ALAIS, Ch. Ciencia de la leche. Principios de la técnica lechera. Trad. por A. Lacasa. México, Continental, 1980: 594
- BLOOD, D.C., RADOSTITS, O. M. y HENDERSON, J. A. Medicina Veterinaria. Trad. por Colchero. México, Interamericana, 1986: 491 - 537
- ICA. Revista Semestral. Febrero, 1.997. No. 15
- DE LOS RÍOS, J. I. y PORTILLA, H. Incidencia de mastitis bovina de la Sabana de Guachucal y Cumbal. Tesis Zoot. Universidad de Nariño, Facultad de Zootecnia, 1980: 83
- MANUAL PRACTICO DE ALIMENTOS DE NORTEAMÉRICA. Washington. Vol 1 M.J, 1998
- BIBERSTEIN, E. Tratado microbiológico veterinario. Trad. por Ramis. España, Acribia S.A. 1.997:167 - 173.
- NICOLET, J. Compendio de bacteriología médica veterinaria Trad. Por Romero Muñoz España. Acribia 1.986: 121 - 124.
- ORDOÑEZ, M. Generalidades de las pruebas de susceptibilidad a agentes antimicrobianos y su control de calidad. Instituto de Microbiología. Septiembre 1993.
- OLIVER, E. Fisiopatología de la Mastitis. Rev. Colombiana de Ciencias Pecuarias. Bogotá, 1.995, 6: 63 - 65.
- ANDRADE, C. Detección de mastitis subclínica a nivel de campo por medio de conductividad eléctrica. (Colombia) Revista Nacional de Zootecnia. Bogotá, 4 (19): 10-15 Ene. - Feb., 1987
- COTRINO, V. J. Pérdidas económicas por mastitis bovina. (Colombia) Colombiana de Ciencias Pecuarias. Bogotá. 6: 81 - 85. 1986.
- BRINGE, A. Ordeño regulado para el control de mastitis. Industrias Lácteas. Chicago 28 (5):36 - 45 Sep. - Oct., 1979
- KONEMAN, ALLEN, DOWELL, SOMMER. Diagnóstico Microbiológico. Ed. Panamericana. Buenos Aires, Argentina, 1.987:39
- SEARS, Ph. Combinación perfecta para el control de mastitis. Manual Técnico Upjohn. 1.996:10

