

## **Efecto de la mastitis clínica y subclínica sobre la concentración plasmática de metabolitos, proteínas totales y albúmina en hembras bovinas**

Aleidy J. Aranguren Parra\*, Aura A. López Ortega, Carmen A. Mendoza y Norka Delgado

<sup>1</sup>Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Decanato de Ciencias Veterinarias, Unidad Investigación Ciencias Funcionales Dr. H. Moussatché. Barquisimeto, Lara, Venezuela. \*Correo electrónico: aleara71@gmail.com

---

### **RESUMEN**

En la actualidad la mastitis es considerada, en el ámbito agropecuario, como una de las enfermedades más costosas debido a las pérdidas económicas que desde el punto de vista productivo genera. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la mastitis clínica y subclínica en hembras bovinas lecheras, sobre algunos parámetros metabólicos plasmáticos. Se utilizaron 30 vacas mestizas Holstein de una finca lechera comercial, ubicada en Quibor, Lara, Venezuela, sometidas a las mismas condiciones de manejo, distribuidas en tres grupos de 10 animales cada uno: vacas sanas, con mastitis subclínica y con mastitis clínica. La concentración de glucosa, colesterol total y sus fracciones Col-HDL y Col-LDL, triglicéridos, proteínas totales y albúmina se cuantificaron por kits comerciales. En ambos tipos de mastitis hubo un aumento altamente significativo ( $P < 0,002$ ) sobre la glucosa plasmática, probablemente por menor utilización o por movilización desde los reservorios endógenos. Los triglicéridos no se modificaron, pero el colesterol total presentó una disminución altamente significativa. En la fracción Col-HDL de las vacas con mastitis clínica se observó una disminución altamente significativa. Por otra parte, hubo un aumento altamente significativo de las proteínas totales en ambos grupos ( $P < 0,001$ ); sin embargo, la modificación de sus fracciones (albúmina y globulinas) fue diferente en cada tipo de mastitis.

*Palabras clave:* mastitis, glucosa plasmática, proteínas totales, colesterol total, hembras bovinas.

---

### **Effect of clinic and subclinic mastitis on the plasmatic concentration of metabolites, total protein, and albumen in bovine females**

#### **ABSTRACT**

At present time, mastitis is considered, in the farming scope, one of the most expensive diseases due to the economic losses from the productive point of view. The objective of this study was to evaluate the effect of the clinical and subclinical mastitis in milk bovine females on some plasmatic metabolic parameters. Thirty racially mixed cows Holstein were used from a commercial milk farm which is located in Quibor, Lara, Venezuela, managed under the same conditions and distributed in three groups of 10 animals each: healthy cows, with subclinical mastitis, and clinical mastitis. The concentrations of glucose, total cholesterol, and its fractions Col-HDL and Col-LDL, triglycerides, proteins, and albumen were quantified by commercial kits. In both types of mastitis there was a highly significant increase ( $P < 0,002$ ) on the plasmatic glucose, probably by smaller use or mobilization from the endogenous reservoirs. The triglycerides were not modified, but total cholesterol showed a significant decrease. The Col-HDL fraction from cows with clinical mastitis, it was observed a significant decrease. On the other hand, there was a highly significant increment of total proteins in both groups ( $P < 0,001$ ); however, the modification of its fractions (albumen and globulins) were different in each type from mastitis

*Keywords:* mastitis, plasmatic glucose, total proteins, total cholesterol, bovine females.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la mastitis es considerada como una de las enfermedades más costosas, debido a la disminución en la producción de leche que ocasiona (desde 4 hasta 30%) y el incremento en los costos de producción por los medicamentos utilizados, que desde el punto de vista económico genera una gran pérdida en la explotación lechera (Belloda y Ponce, 2008). La reducción en producción de leche es el mayor gasto asociado con la mastitis subclínica y un costo importante también está asociado con la mastitis clínica (Shim *et al.*, 2004).

Se estima que un tercio de la población de todas las vacas lecheras está afectada por alguna de las formas de mastitis, en uno o más cuartos (Philpot y Nickerson, 1992). Por otra parte es importante señalar que en climas tropicales, los sistemas de producción de leche de tipo intensivo con ganadería especializada se ven muy limitados por las condiciones agroecológicas predominantes (Holmann *et al.*, 1990; Vaccaro *et al.*, 1990; Madalena, 2002). Por tal motivo, los animales en este tipo de ganaderías tienden a sufrir constante estrés, lo cual los hace más susceptibles a ciertas enfermedades, entre éstas, la mastitis. Se ha comprobado que los patógenos productores de mastitis pueden colonizar la glándula mamaria de novillas tanto en los períodos de parto como en el postparto, situación preocupante ya que son animales que desde el inicio de la lactancia ingresan afectados por mastitis subclínica al rebaño productor (Zambrano y Castillo, 2005).

En toda finca lechera, la vaca constituye el elemento más importante y su glándula mamaria, órgano encargado de producir leche, es vital mantenerla sana. Con frecuencia las vacas se encuentran expuestas a una serie de factores que afectan no solamente al tejido glandular mamario, sino también al organismo animal en general, de tal manera que ante la inflamación de la glándula mamaria o mastitis, se hace necesario estudiar la influencia de la mastitis tanto de tipo subclínico como clínico, sobre algunos parámetros metabólicos plasmáticos en el animal, en los primeros 100 días de lactancia.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la mastitis clínica de tipo agudo y subclínica sobre la concentración plasmática de metabolitos, proteínas totales y albúmina en bovinos hembras mestizas Holstein.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización, población y muestra

La investigación fue realizada en una finca comercial, ubicada en el caserío Morón del Municipio Jiménez, del estado Lara, Venezuela, localizada a 9° 55' 11" N y 69° 37' 39" O y una altitud de 682 msnm. El clima es cálido, característico de bosque muy seco premontano, de acuerdo a la clasificación de Holdridge (Ewel, 1976). Con una temperatura media anual de 25,3°C con amplitud desde 24,2°C hasta 26,4°C y una precipitación media anual de 409,5 mm distribuida bimodalmente: el 40% en los meses de marzo a junio y 32,5% entre septiembre y noviembre. La evaporación promedio anual es de 2.794 mm lo que establece un balance hídrico negativo a lo largo del año y da a la zona un carácter extremadamente árido, con suelos erosionados en forma natural, con una vegetación autóctona conformada por plantas cactáceas columnares, arbustivas, esféricas y trepadoras.

Se utilizaron vacas mestizas  $\frac{3}{4}$  Holstein del plantel bovino indicado, que se encontraban en los primeros 100 días de lactancia y cuyo historial indicaba uno o dos partos y una condición corporal de tres, cuya determinación se realizó de acuerdo al diagrama de flujo de la calificación de condición corporal (CCC) en el ganado lechero, según Edmonson (1989).

### Manejo de los animales

Todas las vacas del ensayo fueron sometidas al mismo manejo alimenticio y sanitario, en un sistema de producción de tipo intensivo característico de la finca. Se realizó el ordeño mecánico distribuido en tres sesiones diarias, realizados de 0:00 a 6:00 am, de 8 am a 2 pm y el último de 4 a 10 pm; el destete es total al momento de nacer el becerro. Las vacas recibieron alimento cinco veces al día en una ración total mixta (concentrado más silo de maíz, semilla de algodón, entre otros).

Los animales se distribuyeron en tres grupos: 1) Grupo control: mediante un muestreo aleatorio simple, se seleccionaron al azar 10 vacas, negativas a la prueba California de mastitis (CMT) y sin signos clínicos de mastitis. 2) Grupo con mastitis subclínica: constituido por 10 vacas que presentaron un CMT con positividad de 2 y 3 cruces y sin signos clínicos de mastitis y 3) Grupo con mastitis clínica de tipo agudo:

formado por 10 vacas con signos clínicos de mastitis y alteración física de la leche evidenciada por la prueba de fondo negro. Para completar el diagnóstico, se procedió a practicar el examen clínico general del animal para evidenciar alteraciones sistémicas, así como también se examinó en busca de lesiones a nivel de la glándula mamaria.

### Cuantificación de parámetros sanguíneos

Para la determinación de los parámetros metabólicos plasmáticos, a los animales sin ayuno, entre 7:00 y 10:00 am, se les extrajo una muestra de sangre de aproximadamente 5 mL de la vena coccígea con aguja de 18 x 22 mm, la cual se recibió en tubos Vacutainer con anticoagulante EDTA-Na<sub>4</sub> al 1%. Las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 20 min en una centrifuga Clay Adams (modelo 21152, Sparks, MD, USA). Separados los plasmas se trasladaron en una cava con gel frío, a la Unidad de Investigación en Ciencias Funcionales “Dr. H. Moussatché” del Decanato de Ciencias Veterinarias de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado y mantenidos a 4°C hasta el momento de la cuantificación de los parámetros sanguíneos. Todo el proceso se efectuó en un tiempo máximo de 4 horas post-obtención de la muestra. Todas las lecturas espectrofotométricas se efectuaron en un equipo Genesys 5 (Rochester, NY, USA).

Las muestras de sangre en el caso de mastitis clínica fueron tomadas el primer día que manifestaron signos clínicos de la enfermedad y alteración física de la leche (presencia de grumos), detectada mediante la prueba de fondo negro, la cual se llevó a cabo en todas las vacas antes de ser ordeñadas. La muestra de sangre se extrajo antes de la aplicación de algún tipo de medicamento o del tratamiento que se emplea normalmente en la finca. En el caso de vacas con mastitis subclínica y los controles, las muestras de sangre se tomaron en vacas positivas 2 y 3 y negativas a la prueba CMT, respectivamente, al momento de aplicar la prueba.

La concentración de glucosa se cuantificó a través del método enzimático correspondiente al sistema Glucosa oxidasa/Glucosa peroxidasa, diseñado por Trinder (1969) y evaluado por Lott y Turner (1975). Se utilizó kit Ultralab (Caracas, Venezuela) y la absorbancia se leyó a 510 nm.

Los triglicéridos se cuantificaron mediante método enzimático de acuerdo a Patton *et al.* (1982), con la utilización de kit de Qualitest (Caracas, Venezuela) con un patrón de 200 mg/dL de trioleína y la lectura de absorbancia fue a 500 nm. El colesterol total y sus fracciones contenidas en Col-LDL y Col-HDL se determinaron por método enzimático según Allain *et al.* (1974) a través de kit Colestat de Wiener Lab (Rosario, Argentina) con un patrón de colesterol de 200 mg/dL y la lectura de la absorbancia fue a 510 nm. Las proteínas totales y albúmina se determinaron por método colorimétrico de Rojkin *et al.* (1974) mediante kit Proti de Wiener Lab (Rosario, Argentina) que utiliza como patrón, respectivamente, una solución de 4.6 g/dL de proteínas totales y de 2,9 g/dL de albúmina. La lectura fue realizada a una absorbancia de 540 nm y 625 nm, respectivamente. La concentración de globulinas se obtuvo por diferencia de las dos anteriores.

### Análisis microbiológico

Las muestras de leche proveniente de los cuartos afectados, de las vacas positivas a mastitis subclínica y clínica, fueron tomadas de manera aséptica en recipientes estériles y se enviaron al Laboratorio de Microbiología del Departamento de Aseguramiento de la Calidad de la Organización “El Tunal CA” para determinar los microorganismos presentes, mediante la técnica de siembra por agotamiento en agar sangre (Brooks *et al.*, 2000).

### Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el programa SPSS versión 10.0 para Windows, se les aplicó prueba descriptiva y otra de comparación múltiple mediante la prueba de Tukey, con un nivel de significancia del 95%. Los resultados son la media  $\pm$  error estándar (EE) de la media y están expresados en mg/dL, excepto en las proteínas que están en g/dL.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Glucosa

Este parámetro mostró un incremento altamente significativo ( $P < 0,001$ ) en el grupo de vacas con mastitis subclínica ( $52,8 \pm 2,4$  mg/dL), así como en el grupo de animales con mastitis clínica ( $54,0 \pm$

3,8 mg/dL) ( $P < 0,002$ ) en comparación con el nivel presentado por el grupo control ( $32,4 \pm 4,4$  mg/dL). Sin embargo, entre los dos grupos con mastitis no se observó diferencias estadísticas, tal como se muestra en la Figura 1a.

Las endotoxinas o lipopolisacáridos bacterianos inducen una inflamación aguda en el huésped, las citoquinas liberadas así como otros mediadores, también estimulan el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal resultando en un aumento de la producción de cortisol (De Lucas, 2007). Los animales con mastitis sufren un proceso de estrés, ocasionado por el estado inflamatorio que está presentando la glándula mamaria, donde posiblemente se incrementen los niveles de cortisol y catecolaminas, las cuales tienen un efecto anti-insulínico. Por otra parte, el incremento de la glucosa encontrado en este trabajo podría deberse a una disminución de la captación de la glucosa circulante y específicamente en el tejido mamario donde el proceso inflamatorio conlleva a la pérdida de las funciones celulares, lo que se traduce en disminución en la captación de glucosa y por ende, disminución de la síntesis de lactosa, en concordancia con nuestra hipótesis. Hill y Hill (1988) describen que el aumento de la glucosa sanguínea respondería a movilización de reservas metabólicas endógenas con inducción de anorexia, lo cual ha sido descrito en los estados de enfermedad y lesión.

### Triglicéridos

En esta investigación se obtuvo (Figura 1b) que la concentración plasmática de triglicéridos no se modificó en ninguno de los dos tipos de mastitis estudiadas ( $33,1 \pm 2,5$  y  $33,8 \pm 7,3$ ) al compararla con las vacas sanas ( $32,4 \pm 4,4$ ) ni tampoco entre sí, lo que indicaría que los factores metabólicos que determinan la concentración sanguínea de triglicéridos, no estarían influenciados por la mastitis.

### Colesterol total y sus fracciones

Los resultados obtenidos muestran que la concentración de este lípido presentó una disminución altamente significativa en el grupo de vacas mestizas Holstein con mastitis ( $193,9 \pm 10,1$ ) al compararlos con el control ( $217,4 \pm 12,1$ ), como se observa en la Figura 2a. Aranda *et al.* (2002) han encontrado un aumento de los ácidos grasos libres circulantes y una disminución de la concentración sanguínea de colesterol y ambos parámetros serían indicadores de riesgo de enfermedades reproductivas (metritis, mastitis, retención de placenta) en vacas lecheras. Sin embargo, la explicación de esta correlación aun no se ha estudiado.

En las fracciones de colesterol contenidas en las lipoproteínas de alta y baja densidad, se estableció una disminución estadística altamente significativa ( $P < 0,01$ ) del Col-HDL plasmático en las vacas

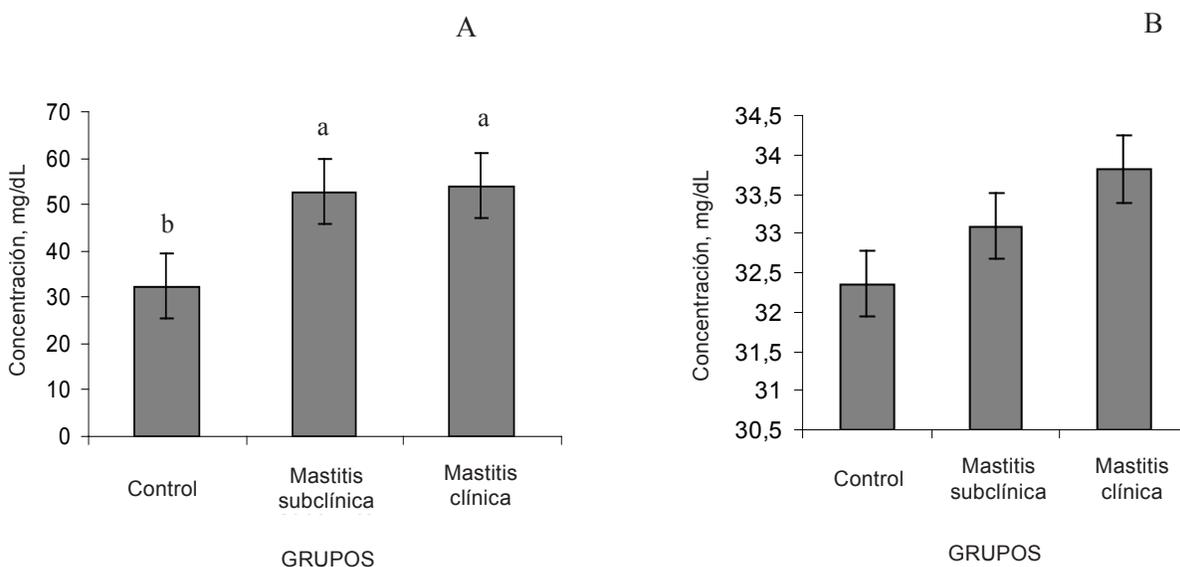


Figura 1. Concentración plasmática de (A) glucosa y (B) triglicéridos en vacas mestizas Holstein con y sin mastitis. Letras indican diferencias ( $P < 0,001$ ) con respecto al valor control. Barras indican error estándar de la media.

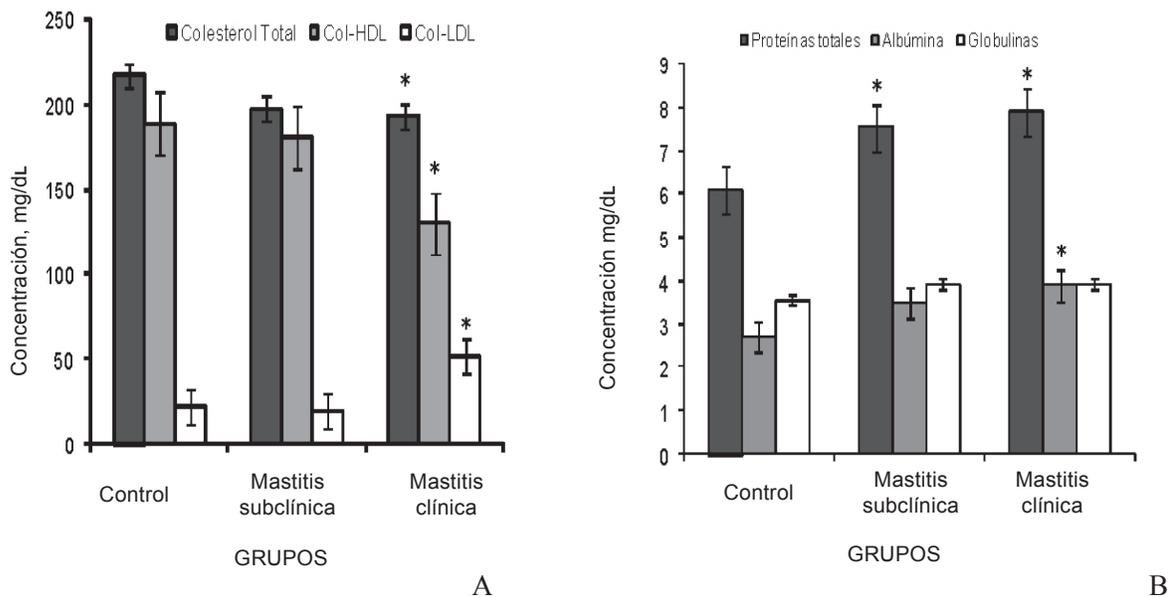


Figura 2. Concentración plasmática de (A) colesterol total y sus fracciones y (B) proteínas totales y sus fracciones en vacas mestizas Holstein con y sin mastitis. Letras indican diferencias ( $P < 0,05$ ) con respecto al valor control. Barras indican error estándar de la media.

que presentaban mastitis clínica ( $130,1 \pm 10,5$ ) en comparación con el grupo control ( $189,1 \pm 21,3$ ), no así en las vacas mestizas Holstein afectadas de la forma subclínica ( $180,6 \pm 20,3$ ) de mastitis, las cuales mostraron una concentración plasmática de Col-HDL sin diferencias estadísticas con las controles.

Por otra parte, en cuanto a la fracción de las LDL, sólo el grupo con mastitis clínica ( $51,9 \pm 10,0$ ) mostró un aumento significativo ( $P < 0,02$ ), tanto con respecto al valor de las vacas controles ( $22,0 \pm 5,5$ ), como con el grupo de animales con mastitis subclínica ( $19,3 \pm 8,3$ ;  $P < 0,04$ ).

### Proteínas totales y sus fracciones

Se observó que las vacas lactantes sanas presentaron los siguientes valores de proteínas totales (g/dL):  $6,1 \pm 0,2$ , albúmina:  $2,7 \pm 0,2$  y globulinas:  $3,6 \pm 0,4$  (Figura 2b). De acuerdo a The Merck Veterinary Manual (1998), los valores normales de proteínas sanguíneas, para hembras bovinas lecheras, se pueden encontrar entre los siguientes rangos (g/dL): de 6,16 a 8,22 para las proteínas totales; de 2,75 a 3,94 para albúmina y de 2,89 a 4,86 para las globulinas. Los valores obtenidos en este estudio se pueden catalogar como normales; por otra parte, en el grupo de animales

con mastitis subclínica, las proteínas totales sufrieron un incremento altamente significativo ( $7,53 \pm 0,19$ ) al compararla con el grupo de animales sanos, mientras que los valores de albúmina y globulinas en este grupo no presentaron diferencias significativas con respecto al grupo de animales sanos. En el grupo de animales con mastitis clínica se pudo apreciar un incremento altamente significativo ( $7,90 \pm 0,29$ ) en las proteínas totales al compararlo con el grupo de animales sanos, por su parte la albúmina se incremento de forma significativa ( $3,90 \pm 0,31$ ) en este grupo

Al analizar los grupos con mastitis, los valores se orientaron de diferente manera. En las vacas lactantes con mastitis subclínica, las proteínas totales aumentaron ( $P < 0,001$ ) y se ubicaron en una posición referencial media, la igual que la fracción de albúmina ( $3,50 \pm 0,47$  g/dL), pero las globulinas ( $3,93 \pm 0,48$  g/dL) alcanzaron el límite superior. Por su parte, el grupo lactante con mastitis clínica presentó también una elevación de las proteínas totales ( $P < 0,001$ ) con una posición en el rango superior, mientras que la albúmina alcanzó una ubicación referencial media y las globulinas ( $3,93 \pm 0,41$  g/dL) a igual que el grupo con mastitis subclínica, obtuvo el límite de referencia máximo.

Estos resultados mostrados en la Figura 2b, coinciden con lo establecido por Morales (1999), quien demuestra que el efecto de la mastitis sobre el porcentaje de proteína total láctea es pequeño, sin embargo, altera drásticamente la composición proteica de la leche, con disminución de las fracciones de: caseína,  $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactoalbúmina, esto unido a un aumento de las proteínas séricas.

### Análisis microbiológico

Se observó que en las vacas con mastitis de tipo subclínico, 70% de las muestras no presentaron crecimiento microbiano hasta las 72 h y en el 30% restante, *Streptococcus agalactiae* (20%) fue el más frecuentemente aislado y en menor proporción (10%), *Staphylococcus* (coagulasa negativo).

Diferente fue el resultado obtenido en las muestras de leche provenientes de las vacas con mastitis clínica. El 100% de ellas presentaron crecimiento microbiano, donde la mayor cuantía estuvo representada, a igual que en la mastitis subclínica, por *Streptococcus agalactiae* (60%) y las menores proporciones se repartieron en partes iguales (20% cada uno) entre *Staphylococcus* (coagulasa negativo) y *Escherichia coli*, microorganismo que no fue aislado en la mastitis subclínica.

### CONCLUSIONES

En este estudio se estableció que tanto la mastitis subclínica como la clínica inducen cambios en los parámetros plasmáticos estudiados a excepción de los triglicéridos. Los niveles de proteínas totales y de albúmina se vieron incrementados significativamente en el grupo de vacas que presentaban mastitis subclínica y clínica. Por otra parte, se evidenció un incremento en las globulinas en el grupo de vacas con mastitis, que no alcanzó la significancia estadística, lo cual correspondería a la respuesta del organismo ante la presencia de un agente infeccioso.

Los niveles de glucosa plasmática se incrementan significativamente tanto en animales con mastitis subclínica como animales con mastitis clínica, quizás debido a la condición de estrés que presenta el organismo animal, causado por estado inflamatorio de la glándula mamaria, donde posiblemente se encuentren aumentados el cortisol y catecolaminas, las cuales tienen un efecto anti-insulínico y así como también exista una disminución de la captación de

la glucosa circulante y específicamente en el tejido mamario en donde el proceso inflamatorio conlleva a la pérdida de las funciones celulares lo que se traduce en disminución en la captación de glucosa, lo que induciría menos síntesis de lactosa y en consecuencia una disminuida producción láctea.

El colesterol total disminuyó en las vacas con mastitis subclínica y clínica lo cual se relacionaría en forma inversa al riesgo de enfermedades reproductivas. La fracción lipoproteína Col-HDL disminuyó en los animales del grupo de mastitis clínica, lo cual ha sido asociado con afecciones podales, mastitis y problemas reproductivos.

### AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen al concejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado por haber financiado este proyecto y a la organización El Tunal C.A. por su apoyo en la realización de este estudio.

### LITERATURA CITADA

- Allain C.C., L.S. Poon, C.S.G. Chan, W. Richmond y P.C. Fu. 1974. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.* 20: 470-475
- Aranda M.V., N. Brave y R. Casagrande. 2002. Colesterol en bovinos. Sitio Argentino de Producción Animal. Disponible en: [http://produccionbovina.com/informacion\\_tecnica/carne\\_y\\_subproductos/26-colesterol\\_en\\_bovinos.htm](http://produccionbovina.com/informacion_tecnica/carne_y_subproductos/26-colesterol_en_bovinos.htm)
- Arave C.W., R.H. Miller y R.C. Lamb. 1975. Genetic and environmental effects on serum cholesterol of dairy cattle of various ages. *J Dairy Sci.*, 58(3): 423-427.
- Belloda C.C y M.E. Ponce de León. 2008. Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. *Rev. Elect. Vet.*, 9(4): 1695-7504.
- Brooks G., J. Butel y S. Morse 2000. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. Ed. Manual Moderno, Cd. de México, México..
- Edmonson A.J., I.J. Lean, L.D. Weaver, T. Farver y G. Webster. 1989. A body condition scoring chart

- for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 72(1): 68-78.
- Ewel J.J., M. Arnold y J.P. Tosi. 1976. Zonas de Vida de Venezuela. 2<sup>da</sup> ed. Ministerio de Agricultura y Cría. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Editorial Sucre, Caracas, Venezuela.
- Hill A.G. y G.L. Hill. 1998. Metabolic response to severe injury. *Br. J. Surg.*, 85: 884-890.
- Holmann F., R.W. Blake, M.V. Hahn, R. Barker, R.A. Milligan, P.A. Oltenacu y T.L. Satanton. 1990. Comparative profitability of purebred and crossbred Holstein herds in Venezuela. *J. Dairy Sci.*, 73: 2190 – 2205
- Lott J.A. y K. Turner. 1975. Evaluation of Trinder's glucose oxidase method for measuring glucose in serum and urine. *Clin. Chem.*, 21: 1754-1760
- Madalena F.E. 2002. Cruces entre razas bovinas para la producción económica de leche. *En* González Stagnaro C., E. Soto Belloso y L. Ramírez Iglesia (Eds.) Avances de la Ganadería de Doble Propósito. Fundación GIRARZ. Maracaibo, Venezuela. pp. 55-67.
- Morales M.S. 1999. Factores que afectan la composición de la leche. *Tecno Vet*: 1: marzo. Disponible en [http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet\\_articulo/0,1409,SCID%253D9670%2526ISID%253D459,00.html](http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D9670%2526ISID%253D459,00.html) [Enero 5, 2005].
- Patton J.G., D.M. Dinh y S.J. Mao. 1982. Phospholipid enhances triglyceride quantitation using an enzyme kit methods. *Clin Chim Acta*, 118(1): 125-128.
- Philpot W.N. y S.C. Nickerson. 1992. Mastitis: El Contra Ataque. Babson Brothers Co. Baton Rouge, EUA.
- Rojkin M.L., D.E. Olguin, M.C. Mariani, G.A. Drappo y C.P. Sosa. 1974. Proteínas totales del suero: causas mas frecuentes de error en la reacción de Biuret. Nuevo reactivo cuproalcalino estable. *Bioq. del Atlántico*, 5: 1163-1193.
- Shim E.H, R.D. Shanks y D.E. Morin. 2004. Milk loss and treatment cost associated with two treatment protocols for clinical mastitis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 87: 2702-2708
- Merck. 1998. The Merck Veterinary Manual. 8<sup>va</sup> ed. Merck & Co. Whitehouse Station, EUA.
- Trinder P. 1969. Determination of glucose in blood using glucose oxidase. *Ann. Clin. Biochem.*, 6: 24-27
- Vaccaro L., R. Cardozo, R. Vaccaro y M. Benezra. 1990. Vida útil en sistemas intensivos de producción de leche en el trópico. Hembras Holstein Friesian importadas y nacidas localmente. Univ. Central Ven, Fac. Agronomía. Maracay, Venezuela.
- Zambrano W. y O. Castillo. 2005. Infecciones por patógenos de la mastitis en ubres de novillas lechera antes y después del parto. *Gaceta Cien. Vet.*, 11(1): 5-13.