

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
UNAN - LEON**



ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA.

**Tesis para optar a Título de:
LICENCIADO EN MEDICINA VETERINARIA**

**ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO DE LA MASTITIS SUBCLINICA BOVINA EN
CUATRO HATOS LECHEROS DEL DEPARTAMENTO DE LEON, E
IDENTIFICACION Y SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DE LOS
AGENTES ETIOLOGICOS IMPLICADOS.**

AUTORES:

Br. Róger Francisco Berríos Aráuz.

Br. Alan Enrique Peralta Ramírez.

TUTOR:

Dr. Migdonio Quintanilla.

09 de Febrero del 2004

INDICE:	Páginas.
I.- INTRODUCCIÓN.....	1.
II.- ANTECEDENTES.....	3.
III.- JUSTIFICACIÓN.....	4.
IV.- OBJETIVOS.....	5.
V.- MATERIAL Y METODO.....	6.
VI.- RECUERDO ANATOMOFISIOLOGICO DE LA GLÁNDULA MAMARIA DE LOS BOVINOS.....	11.
VII.- DEFINICIÓN.....	14.
VIII.- CLASIFICACIÓN.....	15.
IX.- SINONIMIA.....	16.
X.- ETIOLOGÍA.....	17.
XI.- EPIDEMIOLOGÍA.....	34.
XII:- PATOGENIA.....	41.
XIII.- SÍNTOMAS.....	48.
XIV.- DIAGNOSTICO.....	52.
XV.- LESIONES.....	64.
XVI.- TRATAMIENTO.....	65.
XVII.- CONTROL Y PROFILAXIS.....	70.
XVIII.- MASTITIS Y SALUD PÚBLICA.....	77.
XIX.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	80.
XX.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	84.
XXI.- BIBLIOGRAFÍA.....	85.
XXII.- ANEXOS.....	89.

I.- INTRODUCCION

La leche constituye un alimento de importancia universal por su riqueza en proteínas de alto valor biológico: su aporte de energía y de minerales osteotróficos hacen de ella una parte esencial de la dieta del ser humano. Además, la leche proporciona un excelente medio de cultivo para microorganismos provenientes del animal, del hombre o del medio ambiente si las normas higiénicas no se cumplen. Esto constituye un riesgo potencial para los consumidores ya que pudieran estar expuestos a agentes patógenos o sus toxinas al ingerir leche o productos lácteos contaminados.

La mastitis es una reacción inflamatoria de los tejidos secretores o conductores de la leche en la glándula mamaria como respuesta a una infección bacteriana y en menor proporción por irritación o trauma. Caracterizada por síntomas clínicos locales y algunas veces sistémicos, así como cambios en la composición, cantidad y la calidad de la leche producida por la glándula afectada. Existen diferentes tipos de mastitis según cómo se clasifique el proceso, el más utilizado es según la sintomatología, teniendo así: mastitis clínicas y mastitis subclínica, siendo ésta última objeto de nuestro estudio por tener mayores repercusiones para la producción de leche.

Las consecuencias de la mastitis bovina clínica y en especial la subclínica comprenden diferentes niveles:

1. - Industria láctea
2. - Productor
3. - Animal.
4. - Consumidor.

Por todas estas razones la Mastitis Bovina ha constituido motivo de atención durante muchos años de científicos y productores alrededor del mundo. Los problemas

de seguridad alimentaria relacionada con la mastitis son y deberían de ser de mayor preocupación en aquellos países como Nicaragua que producen cantidades grandes de queso, de leche cruda y otros derivados ya sea para la exportación o para el consumo local. Además desde el punto de vista económico, la mastitis genera pérdidas importantes tanto directas como indirectas en el sector lácteo.

La higienización de la leche no es la solución para el problema, sino que más eficaz debe ser el saneamiento de los hatos mediante campañas de prevención, lucha y control de la enfermedad conjugado con las buenas prácticas de ordeño.

II.-ANTECEDENTES

En Nicaragua no existen datos actualizados sobre la situación de la mastitis subclínica, ni sobre los agentes etiológicos involucrados. Se han realizados estudios para evaluar la prevalencia de mastitis en hatos lecheros del departamento de Estelí, Boaco, Managua y Chontales, pero los resultados no son de fácil acceso.

Toda la información escrita que se conoce sobre mastitis bovina es por estudios y por fuentes bibliográficas hechos en otros países. En ellos se describe ampliamente la enfermedad, descripción que sin duda puede extrapolarse a nuestro contexto, pero es necesario estudiar la enfermedad en los hatos nicaragüenses si se desea saber cuál es la mejor manera de enfrentar el problema y cómo solucionarlo.

III.- JUSTIFICACION

Nuestro estudio pretende hacer una descripción de la mastitis subclínica en cuatro hatos lecheros del departamento de León, a sí mismo se identificarán los agentes microbiológicos considerados como causantes de la enfermedad y se determinará su sensibilidad antibacteriana in Vitro con el fin de generar una fuente de información, tener una base para la toma de decisiones en lo concerniente al control, prevención y terapia más adecuada en éstos hatos y señalar el potencial zoonótico de los microorganismos aislados.

IV.-OBJETIVOS

IV.1.-GENERALES:

- Conocer la situación de la mastitis subclínica en cuatro hatos lecheros del departamento de León.
- Identificar y determinar la sensibilidad antimicrobiana in Vitro de los agentes causantes de mastitis subclínica en estos rebaños.

IV.2.-ESPECIFICOS

- Conocer la prevalencia de mastitis subclínica mediante el uso del Test de California para Mastitis en cuatro hatos lecheros del departamento de León.
- Establecer la posible relación entre características de los animales en producción y condiciones de ordeño con la presentación de la enfermedad en los hatos objeto de estudio.
- Aislar, identificar y determinar la sensibilidad antimicrobiana de los agentes implicados en los casos de mastitis subclínica.
- Señalar el riesgo zoonótico que representan los microorganismos identificados.
- Recomendar las medidas adecuadas que se deben aplicar para el control y prevención de la enfermedad en estas granjas.

V.- MATERIAL Y METODOS

1.-MATERIALES

1. a.-Test de California para mastitis (CMT).

- Reactivo para CMT: Alquil-aril sulfonato de sodio y púrpura de bromocresol.
- Paleta plástica con 4 pocillos.

1. b.-Toma muestras para diagnóstico bacteriológico.

- Tubos de ensayo estériles.
- Gradilla metálica.
- Alcohol a 70 %.
- Servilletas desechables.
- Guantes de látex.
- Termo con refrigerante.

1. c.-Cultivo bacteriológico.

- Medios de cultivo: Agar agar, Agar sangre, Agar MacConkey.
- Placas petri estériles.
- Asa de siembra.
- Solución salina estéril.
- Tinción de Gram.
- Agua destilada
- Mechero.
- Sensidiscos, principio activo: penicilina. eritromicina, trimetoprim-sulfa, gentamicina, ceftriaxone, oxacilina, tetraciclina
- Estufa de incubación.
- Esterilizador.

2.- METODO.

El estudio realizado es observacional de tipo transversal, por que pretende visualizar la situación de la mastitis en un determinado grupo de animales, en un momento y lugar específicos.

Se seleccionaron 4 granjas ubicadas en el departamento de León dedicadas a la producción semintensiva de leche donde se ordeña de forma manual y dos veces. El total de vacas en lactación en estas fincas es de 191 vacas distribuidas por granja y se expresan en la siguiente tabla

Tabla 1.

GRANJA	NUMERO ANIMALES	PORCENTAJE
1	93	48.69
2	41	21.46
3	34	17.80
4	23	12.04
Total	191	99.99

La selección de las granjas se realizó por conveniencia, lo cual es válido para el tipo de estudio realizado. Los criterios por las cuales se eligieron estas explotaciones fueron el carácter semintensivo que poseen y por razones de logística.

2. a.-Variables

Cuadro 1

Resultado CMT	Número de partos	Agentes etiológicos.
Raza	Higiene previa al ordeño	Sensibilidad antimicrobiana in Vitro
Nivel de producción	Sellado post-ordeño del pezón.	
Etapa de lactación.	Higiene durante el ordeño	
Edad de la vaca		

2. b.-RECOLECCION DE DATOS

En cada finca se levantó una encuesta epidemiológica con el fin de identificar la presencia o no de los principales factores son considerados importantes para la presentación de la mastitis bovina.

El diagnóstico de subclínica se realizó mediante el Test de California para Mastitis (CMT), el cual se efectuó de la siguiente manera:

- a) Descarte de los primeros chorros de leche.
- b) Recolección aproximadamente 2-3 ml de leche de cada cuarto en la paleta plástica de cuatro pocillos, uno por cuarto.
- c) Mezcla de cada muestra de leche con el mismo volumen de reactivo y agitar suavemente en forma circular durante unos segundos.
- d) Observar la reacción.

La interpretación de la prueba fue ^{6,15}

Tabla 2

Interpretación	Reacción	Recuento celular correspondiente (CEL. /ML)
Negativo	Sin evidencia	0 -200 000
Trazas	Precipitación leve	150 000 – 500 000
1+	Mezcla ligeramente espesa	400 000 -1 500 000
2+	Mezcla espesa	800 000 – 5000 000
3+	Formación de pico central	Mas de 5 000 000

Todos aquellas vacas en las cuales al menos un cuarto resulta positivo al CMT fueron diagnosticadas con mastitis subclínica. Una vez diagnosticada se tomo una muestra de leche de los cuartos afectados para realizar el cultivo bacteriológico correspondiente con el fin de identificar y determinar la sensibilidad antibacteriana del microorganismo implicado. La toma y envío de muestras para el examen microbiológico se realizo siguiendo el protocolo²⁴ que se detalla a continuación.

- Momento del muestreo: Durante el ordeño

- Limpieza del pezón:

Si está sucio. Debe evitarse mojar el resto de la ubre y se ayudara con la mano para retirar la suciedad pegada al pezón. Después secarlo completamente con una toalla individual desechable para evitar que se escurra agua al tubo donde se recolectará la muestra. La piel y el orificio del pezón se desinfectarán con alcohol al 70% en orden, primero los pezones más alejados y luego los más cercanos de la posición de donde se toman las muestras para evitar recontaminar los pezones ya desinfectados.

- Recolección:

Realizarla en tubos estériles debidamente identificados con el número correspondiente a la ganadería, a la vaca, cuarto de la ubre y fecha. Descartar los primeros chorros de leche, mantener el tubo de recolección inclinado para evitar la entrada de partículas de polvo contaminadas; tomar primero muestras de los pezones más cercanos y luego de los más alejados y cerrar el tubo de inmediato.

- Transporte.

Transportar los tubos hasta el laboratorio en forma refrigerada para evitar la multiplicación de microorganismos. Cuando las muestras no se pueden enviar con rapidez (durante las 24 horas del muestreo y hasta un límite de 48 horas manteniéndolas a una temperatura que no exceda los 5° C) éstas se podrán congelar hasta el momento del envío, en tal caso en un periodo máximo de 3 semanas.

2. c.-EXAMEN MICROBIOLOGICO

Se efectuó en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad Ciencias Medicas de La UNAN-León.

3.-ANALISIS DE DATOS

El análisis de los datos se realizó de forma descriptiva mediante:

- Análisis de la encuesta.
- Tablas de frecuencia.

VI.- RECUERDO ANATOMOFISIOLOGICO DE LA GLÁNDULA MAMARIA DE LOS BOVINOS.

1.-Anatomía de la Glándula Mamaria.

1. a.-Generalidades:

Las mamas, llamadas popularmente ubre está compuesta por cuatro cuartos o glándulas mamarias, ésta se mantiene suspendida por debajo de la pelvis y parte caudal del abdomen en la región inguinal. La base de cada glándula es algo cóncava e inclinada oblicua, ventral y cranealmente para adaptarse a la pared abdominal, a la cual está unida por medio del aparato suspensor que se extiende caudalmente y está unido a la sínfisis pelviana por medio de una fuerte placa de tejido tendinoso (tendón sinficial) que se une al tendón prepubiano y la porción ventral de la sínfisis. El aparato suspensor está formado por cuatro láminas de tejido, dos láminas elásticas mediales (ligamento suspensorium uberis) que unen la superficie plana medial de cada glándula separándolas entre sí y dos láminas laterales que surgen del tendón superficial caudal de la ubre que alcanzan el suelo abdominal, divergen y pasan lateralmente al anillo inguinal superficial extendiéndose centralmente sobre la ubre y dividiéndose en dos capas: la superficial que se une a la piel y se refleja sobre la ubre a la cara medial del muslo y la profunda que se une a la superficie lateral convexa de la ubre por numerosas láminas situadas dentro de la glándula relacionada caudalmente con los nódulos linfáticos supramamarios y grasa.²⁷

Existen dos tejidos principales que componen la glándula mamaria y son el tejido glandular o secretor que produce la leche y el tejido conectivo y graso que protegen y dan soporte al tejido glandular y a los vasos sanguíneos que lo nutren. Mediante técnicas histológicas especiales podemos diferenciar los alvéolos y los conductos lácteos, los alvéolos son saquitos muy pequeños (0.1- 0.2 mm) en forma de pera y su cavidad externa se proyecta al sistema evacuador de la glándula mediante un conducto propio que desemboca en uno de mayor diámetro (al grupo de alvéolos vecinos que

desembocan en un conducto común se les denomina acinos) formando anchos conductos lactíferos convergentes a la cisterna de la ubre o de la leche o seno galactóforo en la parte inferior de la glándula por encima del pezón²⁴. Los conductos lactíferos poseen luz irregular alternando secciones anchas con otras más estrechas, los sistemas conductores de la leche de cada cuarto son independientes sin conexión entre ellos. La cisterna de la leche o seno galactóforo se comunica a través de una constricción por un reborde mucoso que se proyecta hacia adentro y al centro alrededor de la base del pezón con la cisterna del pezón, este pliegue está formado en la submucosa por un anillo venoso de variada prominencia llamado anillo cricoides.²⁴

Los pezones son estructuras cilíndricas con un promedio de 7 - 8 cm de longitud cuya parte inferior del conducto, esto es la salida, es estrecha y esta cerrada por un esfínter de musculatura lisa y tejido elástico formando el canal del pezón²⁷, el revestimiento blanco del canal del pezón esta marcado por varias crestas longitudinales finas que irradian de la apertura interna y forman la Roseta de Fúrstenberg que contribuye al mantenimiento de la leche en la cisterna del pezón.²⁴

1. b.-Vascularización

La Vascularización de la ubre esta dado por las arterias que derivan de la Arteria pudenda externa y Arteria perineal ²⁷ estas se ramifican en el interior de la ubre formando capilares que circundan los alvéolos, al pasar los capilares la sangre viaja a los pequeños vasos venosos cuyas ramificaciones aumentan de diámetro hasta reunirse en la base de la ubre formando el circulo o anillo venoso desembocando en dos formas la vena púdica externa paralela a la arteria en el canal inguinal y la vena subcutánea abdominal o vena de la leche²⁴. Los vasos linfáticos son numerosos y pasan principalmente a los ganglios linfáticos supramamarios localizados sobre y hacia el lado de la parte caudal de la ubre ²⁴.

1. c.-Inervación

La inervación de la ubre es proporcionada por los Nervios lumbares I y II, el Nervio Espermático externo y Nervios Perineales.²⁷

2.-Fisiología de la Lactación

La lactación puede dividirse en dos fases:^{10, 24}

- La secreción o lactogénesis que comienza durante el último tercio de la gestación que no es más que la síntesis de constituyentes lácteos por las células alveolares y el paso de ellos a la luz alveolar.

- La eyección láctea o lactopoyésis de forma inactiva desde la luz alveolar hacia los vasos recolectores y cisternas de la ubre y el pezón, de forma activa por reflejo neurohumoral.

La actividad de secreción láctea de las células epiteliales alveolares esta controlada por hormonas. La galactopoyésis (mantenimiento de la producción de leche durante la lactancia) está influenciado por hormonas de la parte anterior de la glándula pituitaria en la base del cerebro regulado por los impulsos nerviosos provenientes de la estimulación por succión del pezón ya sea por el ternero u ordeño manual o mecánico. Las principales hormonas relacionadas con la producción y eyección de leche son:

- Prolactina.
- Oxitocina
- Hormonas del Crecimiento.
- Hormonas Tirotróficas.
- Hormonas adrenocorticotróficas (adrenalina y corticosteroides)

La reducción de la producción de leche está relacionado con la disminución de la presencia de hormonas tirotróficas y hormonas del crecimiento

VII- DEFINICION

El término deriva del griego “mastos” ubre e “itis” inflamación. “Es una reacción inflamatoria de los tejidos secretores de la glándula mamaria , como respuesta a un agente microbiano o a una acción traumática, caracterizada por alteraciones físicas, químicas y casi siempre bacteriológicas de la leche, además por la presencia de una cantidad significativamente aumentada de leucocitos en la leche procedente de las glándulas afectadas”.^{7, 21, 24}

VIII.-CLASIFICACIÓN.

Cuadro 2

Según su sintomatología					
CLÍNICA - AGUDA. - HIPERAGUDA.			SUBCLÍNICA -SUBAGUDA -CRONICAS		
Según su epidemiología					
MAMITIS MEDIOAMBIENTALES		MASTITIS CONTAGIOSAS		MASTITIS POR AGENTES OPORTUNISTAS	
Según su etiología					
TRAUMÁTICAS - FISICAS - QUIMICAS			MICROBIOLÓGICA - BACTERIANAS - FÚNGICAS		
Según su anatomía patológica					
Galactoforitis y mamitis catarrales purulentas agudas y crónicas.	Mamitis Maligna Aguda (Mamitis Acuta Gravis)	Mamitis hemorragia- necrótica aguda:	Mamitis Purulenta – Abscedativa Crónica.	Mamitis intersticial no purulenta.	Mamitis Granulomatosa.
Otra clasificación					
Mamitis por retención			Mamitis a frigore		

IX.-SINONIMIA

- Mastitis.
- Mamitis
- Mamilitis.
- Hinchazón de la ubre.

X.- ETIOLOGIA

La mastitis es causada principalmente por microorganismos y en menor proporción por irritación o trauma²³. Puede ser producida por más de 100 especies de bacterias. Las vías de entrada es el orificio del pezón, aunque en la tuberculosis es por vía hematógica, al igual que la causada por enterobacterias secundaria a infecciones puerperales^{24, 25}. La mayor parte de las mastitis bovinas son causadas por estreptococos y estafilococos²⁵. Los microorganismos causantes de mastitis pueden ser clasificados como:

A.-*Microorganismos contagiosos:* ^{1, 7, 21, 24}

Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Streptococcus dysgalactiae, Micoplasmas spp, Corynebacterium spp. Todos ellos colonizan la glándula mamaria y pueden ser propagados por diferentes mecanismos tanto directos como indirectos. Además son las principales causantes de infecciones subclínicas.

B.-*Microorganismos ambientales:* ^{1, 7, 21, 24}

Coliformes principalmente. Todos aquellos habitan en el medio que rodea al animal y si las condiciones son favorecedoras colonizan la glándula mamaria.

C.-*Microorganismos oportunistas:* estafilococos coagulasa negativa.

D.-Otros agentes causantes de mastitis:

Pasteurella spp, Bacillus cereus, Mycobacterium tuberculosis, Criptococcus neoformans, entre otros.

De acuerdo a su naturaleza biológica los agentes causantes de la mastitis pueden ser:

- -Bacterias: *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomona aeruginosa*, *Serratia marcescens*, spp, *Arcanobacterium pyogenes*, *Enterococcus spp*, *Staphylococcus spp*.
- - Hongos: *Prototheca spp*.
- - Levaduras: *Nocardia spp*, *Candida spp*.

1.-STAPHYLOCOCCUS SPP.

Las mastitis causadas por este género son de distribución mundial. Son los agentes más importantes productores de mastitis subclínica y también participan como causantes de mastitis clínica²⁴. En el cuadro 3 se detallan los miembros de la familia *Micrococaceae* en la cual se incluye el género *Staphylococcus*.

. Familia *Micrococaceae*

Cuadro 3

Familia	Genero	Especie	Coagulasa
<i>Micrococaceae</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus</i> <i>S. intermedius</i> <i>S. hyicus</i>	+
		<i>S. chromogenes</i> <i>S. haemolyticus</i> <i>S. homnis</i> <i>S. simulans</i> <i>Otros</i>	-
	<i>Micrococcus</i>	<i>M. roseus</i> <i>M. varians</i>	
	<i>Planococcus</i> <i>Stomatococcus</i>		

Los estafilococos coagulasa positivos se consideran patógenos significativos para los animales domésticos, de éstos, sólo *S. aureus* es causante de mastitis bovina. Mientras que los estafilococos coagulasa negativos se consideran patógenos oportunistas de la ubre. Algunos estafilococos pueden sobrevivir intracelularmente en fagocitos, pero su multiplicación es limitada; sin embargo son capaces de perdurar más tiempo que las células fagocíticas y multiplicarse una vez que hallan sido liberados.^{13, 25}

1. a.-HABITOS Y ECOLOGIA.

Las especies de estafilococos son parte de la flora normal de la superficie externa del cuerpo. Los animales muestran escasa o nula resistencia frente a la colonización por estafilococos, pero tienen un alto grado de resistencia a la invasión en profundidad y a la enfermedad progresiva.

1. b.-CARACTERISTICAS CELULARES, DE CULTIVO Y BIOQUIMICAS

1. b.1.-Características celulares.

Cocos gram positivos. Las células se disponen en agrupaciones en forma de racimos con 0.5-1.2 μm de diámetro, no esporulados e inmóviles, anaerobios facultativos y crecen en agar sangre a 37⁰ C.^{5,25}

1. b.2.-Características del cultivo.

No son muy exigentes y crecen en los medios comunes que contienen peptonas y extractos de carne, pero crecen mejor si el medio contiene sangre, ácido nicotínico, tiamina y biotina. Son adecuados: Agar manitol sal (medio selectivo y diferencial), Chapman Stone, Staphylococcus 110, Agar sangre, entre otros. La prueba bioquímica de Catalasa es positiva para todo el género. Las pruebas de coagulasa, crecimiento en manitol, acetoína y trealosa así como la producción de pigmento y el patrón de hemólisis, son pruebas para identificación de especies.²⁰

Las colonias de estafilococos son grandes, convexas, opacas y pueden ser blancas o amarillas. Muchos estafilococos coagulasa positivos son hemolíticos, produciendo una zona de hemólisis completa o una zona de hemólisis doble. Los estafilococos coagulasa negativo normalmente no son hemolíticos²⁵

1. b.3.-Características bioquímicas.

- Catalasa positiva, Metabolismo fermentativo, oxidasa negativos

1. c.-Especies de interés

1. c.1.-*Staphylococcus aureus*.

Es un microorganismo contagioso habitante de la piel y mucosa de animales y hombres, produce mastitis en todos los animales domésticos. También causan pioderma, artritis, metritis, epidermitis e infección del tracto urinario.^{1, 23, 24,30} En bovinos la mastitis que produce puede manifestarse como hiperaguda, aguda y crónica. Siendo esta última la más común tomando carácter de subclínica que puede convertirse en aguda. Con el tiempo este tipo de mastitis produce fibrosis de la glándula afectada^{1, 7 21,24}. Los principales antígenos y factores de virulencia de *S. aureus* se muestran en el cuadro^{8, 25}. *Staphylococcus aureus* invade células epiteliales mamarias, endoteliales fibroblastos. Las bacterias se encuentran envueltas en vacuolas cubiertas de membrana en el citoplasma de las células epiteliales mamarias. Puede escapar del fagosoma hacia el citoplasma e inducir apoptosis.²⁸

Antígenos		Factores de virulencia					
CHOOS	Proteína	Componentes de superficie*		Exotoxinas			
Ácido teicoico de ribitol	A	Cápsula	Antígeno de pared celular	Hemolisinas α^1 β^2 γ	Leucotoxina	Enterotoxina	Toxinas exfoliativas
		Enzima Extracelulares					
		Hialuronidasas	Nucleasas	Fibrolisina Estafiloquinasa ³ 1	Lipasas y Esterasas	Coagulasa	Lisosimas

*Antifagocítica

1 Hemólisis completa

2 Hemólisis incompleta

3 Activador del sistema plaquetario.

1. c.2.-Staphylococcus coagulasa negativos.

Son patógenos oportunistas de la glándula mamaria. Forman parte de la flora normal de la piel del pezón y del orificio externo del canal secretor. De estas especies de estafilococos: *S. xylois*, *S. warneri*, y *S. simulans* originan mastitis subclínica con disminución de la producción y aumento de los RCS de las glándulas afectadas.^{23, 24}

Pruebas de diferenciación para la familia Micrococaceae²⁴

Cuadro 5

Pruebas	<i>S. aureus</i>	<i>S. Coagulasa Negativos.</i>	<i>Micrococcus</i>
Gram	+	+	+
Coagulasa	+	-	-
Fermentación glucosa.	+	+	-
Fermentación manitol.	+	-	-

Otras características bioquímicas diferenciales de las especies de estafilococos se citan en anexo 1

2.-STREPTOCOCCUS SPP.

La clasificación de los Streptococcus se hace en 20 grupos, basados en pruebas de precipitación de antígenos de pared celular, que son carbohidratos C extraíbles grupo-específicos y se designan de A a H y de K a V (clasificación de Lancefield). La clasificación de las especies de interés productoras de mastitis se representa en el cuadro 6 ^{8, 25}

Hábitat y clasificación de las especies de estreptococos causantes de mastitis.

Cuadro 6.

ESPECIE	HABITAT	CLASIFICACION LANCENFIELD	HEMOLISIS
S. agalactiae	Patógeno obligado de la glándula mamaria	B	β^a
S. dysgalactiae	Glándula mamaria, tonsilas, piel de pezón y medio ambiente	C	α
S. uberis	Medio ambiente, labios, patas y piel de la ubre	Ninguna ⁽¹⁾	$\alpha^{(a)}$
Enterococcus E. faecalis E. faecum	Heces fecales	D ^b	α

a. Existen excepciones ,1. Grupo viridans. b. Enterococcus faecalis y E. faecum (anteriormente pertenecientes al género Streptococcus) incluida dentro del grupo D. En la actualidad pertenecen al género Enterococcus.

2. a.-HABITAT Y ECOLOGIA.

Los estreptococos forman parte de la flora normal de la piel y membranas mucosas, aparato genital y sistema respiratorio de los animales domésticos y el hombre. Muchas especies son específicas del hospedador y tienen un rango de hospedadores muy limitado. Anteriormente se incluían en este género a los Enterococos que forman parte de la flora intestinal. ^{8,25}

Son cocos gram positivos, se agrupan formando parejas, cadenas o aislados, anaerobios facultativos, homofermentativos, catalasa y oxidasa negativos. Se consideran agentes de gran importancia causantes de mastitis. En el género se incluyen especies clasificadas como contagiosos y medioambientales ²⁴. Las especies contagiosas son *S. agalactiae* y *S. dysgalactiae*. Mientras que las ambientales son: *S. dysgalactiae* (que también es considerado como microorganismo contagioso) *S. uberis* y algunos *Enterococcus*.

2. b.- CARACTERÍSTICAS CELULARES DE CULTIVO Y BIOQUÍMICAS.

2. b.1.- Características celulares.

Cocos gram positivos. Las células se disponen en pares o cadenas, esféricos u ovoides de 0.8-1 μm de diámetro, inmóviles excepto algunos del grupo²⁵

2. b.2.-Características del cultivo.

Anaerobios facultativo. El mejor crecimiento inicial se consigue en condiciones microaerófilas. Crecimiento en agar sangre a 37° C; las colonias son pequeñas, transparentes o semiopacas. ²⁵ Son adecuados el agar sangre que permite diferenciar *Streptococcus* β hemolítico y no hemolítico (grupo viridians), agar sangre/ CAM-esculina y agar sangre con azida de sodio. Las colonias con 24 hrs. de incubación a 37° C en aerobiosis o anaerobiosis son de 1 a 2 mm de diámetro, en forma de gotas de rocío. Pruebas de asimilación de carbohidratos, crecimiento en NaCl 6.5% e hidrólisis del hipurato de sodio son útiles para la identificación de especies. No producen pigmento con excepción de algunas especies de los grupos B y D ²⁰.

2. b.3.-Pruebas complementarias de identificación

La seroaglutinación se lleva a cabo mediante pruebas de precipitación para determinar el serogrupo de Lancefield.

2. b.4.-Características bioquímicas:

Catalasa negativa con mecanismo fermentativo. Todas las especies son organismos homofermentativos, que producen ácido láctico a partir de glucosa.

Otras características de las especies de estreptococos y su diferenciación se citan en anexos 2,3

2. c.-Especies de interés

2. c.1.-*S. agalactiae*

Es un agente contagioso, patógeno obligado de la glándula mamaria aunque puede sobrevivir por corto tiempo en el medio ambiente y en las manos de los ordeñadores, causa principalmente mastitis subclínica con aumento de los Recuentos Celulares Somáticos. Las mastitis que produce son de tipo crónico y recurrente aunque pueden producir signos clínicos leve. Es posible erradicar esta bacteria de un hato empleando el tratamiento Blitz.^{21, 23,24}

2. c.2.-*S. dysgalactia*

Habita en la glándula mamaria, es contagioso pero también puede sobrevivir en el medio ambiente; por tal razón se incluye en los grupos contagiosos y medioambientales. Es menos contagioso que *S. agalactiae* pero su virulencia es similar. La mastitis puede ser mas aguda que por otros *Streptococcus*. Se le encuentra como contaminante en mastitis por *A. pyogenes* y *S. aureus*.^{7, 21,24}

2. c.3.-*S. uberis*

Después de los coliformes es de los agentes ambientales mas importantes causantes de mastitis.²⁴

2.c.4. Enterococos, antes llamados estreptococos fecales.³⁰

Pueden causar mastitis de forma oportunista, la incidencia es reducida pero de difícil tratamiento por ser resistentes a los antibióticos. Las especies de interés son *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecum*²⁴

Factores de virulencia de los *Streptococcus*.

cuadro 7.

Factores	Ubicación	Función
Ac. hialurónico	Cápsula	Antifagocítica
Proteína M	Pared	Antifagocítica
Ac. Lipoteicoico	Pared	Adherente.Inducción del FNT
Estreptolisina O Y S	Extracelular	Hemólisis β .Lisis cels. sanguineas plaquetas
Estreptoquinasa A y B	Extracelular	Lisis coágulos Diseminación
Estreptodornasa	Extracelular	Desoxirribonucleasa
Hialuronidasa	Extracelular	Diseminación
Exotoxina pirógena	Extracelular	

Antígenos presentes en los Streptococcus.

Cuadro 8.

Agentes	Antígenos Capsulares	Antígenos de Pared			
		¹ Carbohidratos ^(b) (compuesto C)	Proteínas		
			M ^(a)	T	R
<i>S. agalactiae</i>	-	+	+	+	+
<i>S. dysgalactiae</i>	+	+	+	+	+
<i>S. uberis</i>	-	-	+	+	+
<i>E. faecalis</i>	+	+	+	+	+
<i>E. faecum</i>	+	+	+	+	+

1. Base para la clasificación de Lancefield. a. Induce anticuerpos protectores b. Induce anticuerpos no protectores

Las infecciones estreptocócicas primarias incluyen enfermedades del tracto respiratorio, reproductor, del cordón umbilical, de la piel y de la glándula mamaria.²⁵ Además de la mastitis bovina, estos estreptococos han sido relacionados con procesos patológicos en el hombre^{21, 24,30}.

3.- COLIFORMES

Son causantes de mastitis endotóxica. La mayor parte de las mastitis clínicas son causadas por bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*. Las especies de mayor relevancia son: *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* y *Citrobacter spp.* Otras especies de menor importancia son *Pseudomona aureoginosa* y *Serratia marcescens*. Todos son clasificados como patógenos medioambientales²⁴. Las vacas en los primeros meses de lactación son las que con mayor frecuencia sufren infección de la mama por coliformes. El principal factor de virulencia de los coliformes es una endotoxina que elaboran a partir de los lipopolisacáridos, que son parte de la membrana bacteriana. Es producido durante la multiplicación de la bacteria y liberada con su muerte. Los efectos de endotoxinas se traducen en inflamación aguda de la glándula que puede conducir a sepsis y shock séptico.^{1, 7,8, 21,25} De todas estas bacterias *E. coli* es la mas frecuente y la mas estudiada, por lo que nos referiremos a ella. Las características de las demás Enterobacterias causantes de mastitis bovina y su diferenciación se describen en Anexo 4 y 5.

CAPACIDAD ZOOTICA DE LAS ENTEROBACTERIAS²⁵

Cuadro 9

Género	Enfermedad intestinal		Enfermedad extraintestinal	
	Animales domésticos	Hombre	Animales domésticos	Hombre
<i>Citrobacter</i>	-		+	+
<i>Edwarseiella</i>	-		+	+
<i>Enterobacter</i>	-		++	+
<i>Escherichia</i>	+	+	+++	+
<i>Klebsiella</i>	-		++	+
<i>Morganella</i>	-		+	+
<i>Proteus</i>	-		++	+
<i>Providencia</i>	-			+
<i>Salmonella</i>	+	+		+
<i>Serratia</i>	-			+
<i>Shigella</i>	-	+		+
<i>Yersinia</i>	-	+		+

3. a.-Especies de interés

3. a. 1.-*Escherichia coli*

Son bacilos cortos facultativos, móviles y Gram negativos. Se distinguen varios serotipos basados en la presencia de antígenos somáticos (O), cápsulares (K) y flagelares (F). Se considera patógeno oportunista en infecciones de vías urinarias y respiratorias, mastitis, onfalitis y otros procesos infecciosos.²⁰

3. a. 1. 1.-Hábitat: Tracto intestinal de animales y hombre.

3. a.1.2.-Factores de virulencia

Producción de enterotoxinas: ST, LT. Pili o fimbria (K1 y K5) y Endotoxina. Los genes traT, cnf2, cnf1, aer, f17, sfa, pap, afa8D y afa8E han sido detectados en cepas de *E. coli* aisladas a partir de muestras de leche en casos clínicos de mastitis bovina y son considerados genes que codifican 9 diferentes factores de virulencia.¹²

3. a.1.3.-Características de cultivo y bioquímicas.

Como el resto de las enterobacterias, no son exigentes pero es adecuado el uso de medios selectivos y diferenciales como: agar McConkey, eosina azul de metileno y ENDO entre otros; en el segundo las colonias presentan un característico verde con brillo metálico que lo distingue como fermentador rápido de la lactosa, característica que comparte con dos géneros más de enterobacterias: *Enterobacter* y *Klebsiella*.^{20, 25}

3. a.1.4.-Pruebas complementarias de identificación

La capacidad de producción de enterotoxinas puede evaluarse con las siguientes pruebas: Inoculación en segmento ligado de intestino de lechones (LT y ST); Inoculación de ratones lactantes para determinación de ST; efecto citopático en cultivos

celulares de las líneas CHO y VERO (LT); aglutinación serológica: diferentes cepas de *E. coli* aisladas de diversos procesos patológicos pueden serotipificarse mediante antisueros de referencia y fagotipificación

4.-MICOPLASMA

4.1.-Características generales

Son microorganismos que carecen de pared celular, pleomórficos, no móviles, facultativos ^{1, 25}. Causan epidemias de mastitis aguda que se convierte subsiguientemente en mastitis crónica donde pueden haber exacerbaciones agudas intermitentes o evolucionar a mastitis subclínica^{7,21}. Este tipo de mastitis resulta ser bacteriológicamente negativa por los métodos comunes de laboratorio aun cuando se observan más de un cuarto afectado en la misma vaca, aparición repentina y resistencia a la terapia antimicrobiana²⁴. Además, pueden presentarse en el rebaño otras enfermedades causadas por micoplasmas.

Características de los micoplasmas causantes de mastitis bovina.

Cuadro 10

Especies	Otras enfermedades	Factores de virulencia	Cultivo / identificación		
			Requerimientos	Características	Identificación
<i>M. bovis</i> <i>M. dispar</i> <i>M. bovirhinis</i> <i>M. bovigenitalium</i> <i>M. canadiense</i> <i>M. alkalescens</i> <i>M. californicum</i>	Trastornos respiratorios, reproductivos, articulares	Galactono de la cápsula. Hemolisinas. Exotoxinas. Producción de HO y NH	Colesterol. Extracto de levadura. Vitaminas. Penicilina. Acetato de talio.	Colonias en forma de huevos estrellados, pleomórficos.	Pruebas bioquímicas Inhibición del crecimiento. Inhibición del metabolismo.

5.-ARCANOBACTERIUM PYOGENES

Arcanobacterium pyogenes (*Actinomyces pyogenes*, *Corynebactrium pyogenes*).

Ampliamente distribuido en el ambiente húmedo, lodoso o arenoso, en lesiones, tonsilas, membranas mucosas y tracto genital. Es aislado frecuentemente de la piel, abscesos, heridas y diversos tejidos de la vaca. Produce mastitis en vaca secas por lo que es causante de la llamada mastitis de verano^{7, 21}. La mayoría de las infecciones aparecen en el periodo seco, después de que la ubre ha sido secada durante 2 meses o más. Incrementan su incidencia los ambientes sucios húmedos. Puede ser propagado por moscas o su picadura en el extremo del pezón de la mosca *Hydrotea irritans*, así como los materiales contaminados de las camas durante el período seco de la glándula mamaria²⁴.

A. pyogenes también ha sido aislado de úlceras en piernas de niños; infecciones cutáneas complicadas con septicemia, endocarditis, otitis media, mastoiditis, peritonitis ya abscesos intrabdominales; osteomielitis, artritis sépticas, neumonía, cistitis y vulvovaginitis ulcerosa en humanos³⁰.

Diferenciación de *A. pyogenes*

Cuadro 11

Especies de interés	Tipo de agente	Diferenciación					
		Hemólisis	Catalasa	Ureasa	Crecimiento en CINA 9%	Hidrólisis de agar con suero de caballo	Hidrólisis de caseína
<i>Arcanobacterium pyogenes</i> .	Ambiental	+ α	-	-	-	+	+
<i>Corynebacterium bovis</i>	Contagioso	-	-	+	+	+	-

5. a.-Medios de cultivos y pruebas bioquímicas importantes

El crecimiento es favorecido por la adición de sangre y suero, son adecuados agar y caldo sangre. Es necesario incubar 48 hrs. Para distinguirlas de las colonias de estreptococos, se presentan grisáceas, cremosas, húmedas, translúcidas, opacas o pigmentadas, con hemólisis alfa. Es catalasa negativa.²⁰

6.-OTROS AGENTES CAUSANTES DE MASTITIS.

Los agentes que se mencionan a continuación son considerados de menor prevalencia, pero cuando se presentan en las explotaciones bovinas pueden provocar graves daños por el tipo de mastitis que producen. Sus características se detallan en el cuadro 12

Otras agentes causantes de mastitis bovina.

Cuadro12.

AGENTE	TIPO DE MASTITIS	CARACTERISTICAS	HABITAT	FACTORES DE VIRULENCIA	OTROS PROCESOS PATOLOGICOS	MEDIOS DE CULTIVO
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Mastitis severa y crónica. Brotes relacionados con agua y trapos contaminados. Los antibióticos no reducen la infección.	Gram negativos Coco bacilos Aerobios y móviles	Saprófitos del suelo.	LPS, Proteasas, hemolisinas, lecitinas, entero toxinas, Linazas, Exotoxina A	Abscesos e infecciones purulentas. Enteritis y neumonías en cerdos.	Agar sangre (hemólisis B.
<i>Pasteurella spp.</i> <i>P. multocida</i> <i>Manhemia haemolitica</i>	Mastitis clínica aguda o crónica. Puede transmitirse por el amamantamiento de terneros.	Gram negativos. Coco bacilos No móviles Poseen cápsula. No esporulados. Oxidasa +	Distribución mundial. Comensales de membranas y mucosas de Tracto respiratorio superior y digestiva de mamíferos y aves. Invasores oportunista	Endotoxina (LPS). Cápsula citotóxica.	Procesos respiratorios, septicémicos. En todas las especies.	Medios enriquecidos con agar sangre o suero. 24-48hrs. A 37 ^o C.
<i>Bacillus cereus</i>	Mastitis hemorrágica o gangrenosa que puede estar acompañada de toxemia.	Bacilos rectos. Gram positivos Aerobios estrictos o microaerófilos. Esporulados	Saprófitos del aire, suelo y agua.	Cápsula Proteica Antifagocítica Exotoxina Factor letal.	Intoxicación alimentaria todas las especies. Abortos en bovinos.	Crecimiento en los medios ordinarios. 24hrs. A 37 C

(Continuación)

Cuadro 12.

AGENTE	TIPO DE MASTITIS	CARACTERISTICAS	HABITAT	FACTORES DE VIRULENCIA	OTROS PROCESOS PATOLOGICOS	MEDIOS DE CULTIVO
<i>Mycobacterium</i> <i>spp.</i> <i>M. bovis</i> <i>M. tuberculosis</i> <i>M. lacticola.</i> <i>M. fortuitum.</i> <i>M. smegmatis</i>	Mastitis granulomatosa, induración e hipertrofia de la parte superior de la ubre, agrandamiento e induración de los ganglios supramamarios	Bacilos ácido alcohol resistente. No móviles Pared celular con abundante peptidoglicano, lípidos y polisacáridos.	Medioambiente, saprofitos del suelo. Animales infectados	Factor de acordonamiento . (6,6 Dimicoliitrealosa)Sulfolípidos (Trealosa,2-sulfato) Micobactinas	Tuberculosis bovina, humana y en otras especies. Mastitis asociada con tuberculosis pulmonar.	Requieren lípidos Medio selectivo: Lowenstein- Jensen. Stonebick- Leslie. No crecen en agar sangre 37° C lento. Catalasa positivo Metabolismo positivo. Identificación: Acumulación de niacina, reducción de nitratos, de Tween 80 y reacción de arilsulfatasa
<i>Ureaplasma diversum</i>		Pleomórficos, Gram negativos , inmóviles, 0.3 –0.8 µm.	Mucosas de la boca, tracto respiratorio y urogenital.		Infecciones respiratorias y urogenitales en bovinos.	Similar a Micoplasmas, Colonias más pequeñas.
<i>Criptococcus neoformans</i>	Mastitis aguda. Relacionada con infusiones intramamarias contaminadas.	Levadura, células redondeadas	Polvo, lodo, excremento de palomas desecado	Cápsula antifagocítica e inmunosupresora.	Afección del sistema nervioso en todas las especies, incluyendo el hombre.	Agar sangre Agar Sabraud 37° C ,Ureasa positivos No asimila glucosa, melibiosa y nitritos.

(continuación)

Cuadro 12

AGENTE	TIPO DE MASTITIS	CARACTERISTICAS	HABITAT	FACTORES DE VIRULENCIA	OTROS PROCESOS PATOLOGICOS	MEDIOS DE CULTIVO.
<i>Prototeca zopfii</i>	Mastitis piogranulomatosa relacionada con raciones e infusiones intramamarias contaminadas	Algas carentes de clorofila. 8-25µm	Ubicuitarios del medio natural. Accidentalmente patógenas.		Disentería, trastornos de SNC y oculares	Saburoud a 25 ⁰ -37 ⁰ C. Tinción Romanoski.
<i>Nocardia asteroides</i> <i>Nocardia farcinica</i>	Mastitis purulenta granulomatosa por tratamiento intramamario.	Actinomicetos aerobios. Forma cocobacilar o filamentosa	Saprófitos del medioambiente	Ácidos micólicos Súper oxido dismutasa Lípidos de superficie.	Procesos supurados y piogranulomatosos generalizados entonos las especies domésticas mamíferos, aves, peces y el hombre.	Saboroud a 10 ⁰ -50 ⁰ C. Aerobios estrictos. Catalasa positiva Hidrólisis de la urea.
<i>Serratia marcescens</i>	Mastitis leve. Puede contaminar antisépticos para uso en el postordeño.	Gram negativa	Tracto intestinal de animales. Tierra y agua contaminados	Ver mastitis por coliformes	Ver mastitis por coliformes	Ver mastitis por coliformes

XI.-EPIDEMIOLOGIA

1.-Fuentes de los agentes causantes de mastitis.

Las fuentes de bacterias que causan mastitis contagiosa está en la piel de la ubre y del pezón (canal y pezón), principalmente heridas y lesiones virales (costras y Ulceras); en la ubre infectada (conductos y cisternas de la glándula) en los tractos urogenital, respiratorio, digestivo, articulaciones, abscesos, tonsilas membranas mucosas, leche proveniente de glándulas infectadas como alimento para terneras, maquinas de ordeño^{1, 7, 21, 24}. Las fuentes de bacterias que causan mastitis medioambiental son: camas húmedas y piso sucios, heces fecales, tierra del corral, agua y alimentos contaminados, tuberías, estanques, abrevaderos, arroyos, salas y utensilios de ordeño contaminados, ropa y mano de ordeñadores; plantas, graneros, y áreas de estancia, e insectos, moscas principalmente^{1, 21, 24} en los períodos de mayor reproducción que en nuestro medio coincide con la época lluviosa.

2.-Mecanismos de transmisión.

2.1.-Directo:

Es muy rara y se dá. Por el contacto estrecho entre animales infectados. La mastitis generalmente se extiende de la vaca a la vaca durante el ordeño^{1, 7, 21, 24};sin embargo a partir del tracto respiratorio la *Pasteurella*, *M. tuberculosis* podrían transportarse a la ubre vía torrente sanguíneo o sistema linfático bajo condiciones favorecedoras^{7,16}.

2.2.-Indirecto:

Las infecciones en general se transmiten por fómites contaminado al momento del ordeño, manos de ordeñadores, maquinas de ordeño, pezoneras sin desinfectar entre vaca y vaca, toallas para secar la ubre de uso múltiple. Medicamentos de frasco ámpula para tratamiento intramamario contaminados, cánulas y jeringas, y es muy

probable que la vía aerógena también este implicada (Medio ambiente sucio. Las lesiones en pezón y agrietamiento de la piel del pezón favorecen la colonización, vectores como moscas (por mordedura de la piel de pezón y contacto)^{1, 7, 21, 24}

3.-Morbilidad y Mortalidad.

Estudios realizados en diferentes países muestran que la morbilidad es cerca de 40% en vacas lecheras y la tasa de infección de cuartos de la ubre cerca del 25%. Independientemente de la causa la mortalidad a causa de mastitis subclínica es muy escasa⁶. Se han reportado prevalencias de mastitis subclínica del 72.2%,39.7% y 52%; y en ganado de doble propósito en el trópico³ los cuales son particularmente altos en especial en aquellos hatos en los cuales no se implementa programas para el control de la mastitis.

4.-Factores predisponentes y favorecedores:

4. a- Dependientes del hospedador:

La mayoría de las infecciones intramamarias medioambientales ocurren durante el periodo activo de la involución después de secar la glándula, y durante la lactación temprana, sin embargo, la nueva infección intramamaria puede ocurrir en cualquier momento²¹.

4. a.1- Susceptibilidad de la vaca que guarda relación con:

4. a.1.1.- Fase de lactancia^{21, 24}.

El periodo de involución activa: durante el periodo de secado dentro de las primeras dos semanas pueden ocurrir situaciones que predisponen a la glándula mamaria. La presión ejercida en la glándula por acumulo de leche ocurre 2 a 3 días después que el ordeño se suspende puede causar que el canal del pezón se ensanche

y el esfínter del pezón se dilate, permitiendo la entrada de bacterias en la glándula. Así mismo los fagocitos están envueltos en los componentes de la leche (la grasa, caseína), dificultando la fagocitosis.

4. a.1.2. -El Periodo de Periparto:

El periodo anterior a y después del parto coincide con la formación del calostro que predispone la glándula a padecer mastitis. Las vacas recién paridas están más expuestas porque los neutrófilos actúan con mayor lentitud que en las vacas en mitad de la lactación más aun si hay enfermedades concomitantes como: hipocalcemia, hígado graso o retención de placenta que alteran el mecanismo de defensa de la glándula mamaria ²¹; las vacas de rebaño con recuentos celulares somáticos bajos presentan la incidencia máxima de mastitis clínica en los primeros 30 días de lactación, los rebaños con recuentos celulares somáticos bajos e incidencia baja de mastitis contagiosa están más expuestos a mastitis por coliforme y viceversa ^{4, 24}. Las altas concentraciones de neutrófilos intramamarios aumentan los recuentos celulares somáticos previniendo la mastitis por coliformes por medio de fagocitosis rápida, antes de que se repliquen en el cuarterón infectado ²¹

4. a.1.3.- Factores coadyuvantes en vacas paridas:

El edema de la ubre, ordeño incompleto y el volumen de fluido en la glándula aumenta la presión intramamaria, la dilatación del canal del pezón y a veces el goteo de calostro o leche entre ordeños permitiendo la entrada de bacterias en la cisterna del pezón de la glándula ^{7, 21}.

4. a.1.4.-Fase de lactancia.

Las vacas en la lactación temprana metabólicamente están sometidas a tensión fisiológica. Esto puede comprometer la resistencia a la enfermedad y producir casos

clínicos o subclínicos originados por la infección intramamaria adquirida durante el periodo seco o en el momento del parto. Después de cuatro periodos de lactancia la susceptibilidad aumenta, a si como la lactancia prolongada relacionada con el grado de desgaste y el amamantamiento de terneros grandes ^{7, 21}.

4. a.1.5.-Frecuencia de ordeño, volumen y rapidez del flujo.

A mayor frecuencia de ordeño menor probabilidad de penetración bacteriana en el canal del pezón, reduce los síntomas de mastitis clínica y se realizan ordeños más completos²⁴. En vaquillas de primera lactación, el porcentaje de infección se incrementara con el aumento en la rapidez de flujo de leche lo cual es una característica hereditaria ².

4. a.2.-Factores Genéticos y hereditarios:

4. a.2.1.-Raza

Las razas mayores productoras de leche son más susceptibles a mastitis. La correlación genética entre producción láctea y mastitis es 0.4% indicando que la selección de vacas para elevar la producción, también seleccionara mayor susceptibilidad a la mastitis². El incremento de la producción de leche acarrea una dilución de los factores de defensa y es posible la aparición de mastitis dado que se ha roto el equilibrio entre flora y resistencia.

4. a.2.2.-Forma de los pezones y puntas.

La forma de los pezones y punta del pezón (pezones muy largos y gruesos o muy cortos), pezones accesorios, tono del esfínter del pezón, diámetro del pezón; los pezones puntiagudos tienen más hiperqueratosis y lesiones, los pezones compuestos aplanados tienden a tener menos infección ^{7, 21, 24}.

4. b.-Factores dependientes del medio ambiente y entorno del hospedador

4. b.1.-Factores relacionados con el manejo.

La introducción de nuevos animales a la explotación (vacas adultas, incluso vaquillas) es fuente de problemas de mastitis en muchos casos si no se toman las medidas adecuadas. La crianza deficiente de las terneras para reemplazo, el hacinamiento y el mamado entre terneras son factores que pueden diseminar organismos (por ej. *Staphylococcus aureus*) a los pezones y ubres de otras becerras lo que puede causar mastitis o un cuarto improductivo, La leche de vacas que padecen mastitis tiene escaso valor nutricional y no es recomendable alimentar terneras de reemplazo con leche mastíticas^{17, 21, 24}.

La mastitis a veces se ha asociado a alimentación con cantidades de concentrado alto en energía, exceso de minerales y estrógenos que acompaña la lactación temprana, donde se practica y altas concentraciones de granos antes del parto. Deficiencias nutricionales de vitaminas, minerales, proteína y energía aumentan la severidad de la infección, o los Recuentos de células somáticas. El Selenio y vitamina E Protegen el tejido mamario de daños oxidativas y aumenta la función fagocítica. Otros nutrientes como el B-caroteno (alto en el forraje fresco), Zinc, Cobre, el Cobalto también son necesarios para aumentar la capacidad de defensa de la glándula mamaria. Elevados niveles de cetonas en sangre reducen la capacidad de la ubre para combatir las bacterias por medio de la fagocitosis. Asimismo disminuye la capacidad de los leucocitos de la ubre para reclutar más glóbulos blancos durante la infección^{7,21}.

La presencia de factores de stress o tensión. El ambiente húmedo y cálido junto con radiación solar, hacinamiento, insectos, escasa ventilación están asociados a mayor incidencia de mastitis y disminución de la producción láctea. La temperatura óptima debería de ser de 25° C o menos.

4. b.2.-Actividades relacionadas con el ordeño.

Son multifactoriales y van muy unidas unas con otras de tal forma que es casi imposible delimitar sus espectros de acción, entre estas podemos citar la higiene personal, manos y ropa sucia, Higiene de la Vaca: ausencia o lavado inadecuado de la ubre y pezones antes del ordeño, ausencia o secado incorrecto, higiene en la sala de ordeño: no lavar y desinfectar la sala de ordeño adecuadamente y los materiales a implementar (baldes, pichingas etc.); técnicas de ordeño inapropiado (manual o mecánico)^{7,17,21,24}. En el ordeño manual la manipulación brusca del pezón; dispersión bacteriana dentro de la glándula mamaria ocasionado por el desplazamiento del contenido líquido de la cisterna del pezón hacia la cisterna de la ubre al extraer los primeros chorritos de leche o por el comienzo de ordeño mecánico que presiona o empuja la leche en forma ascendente entre las cisternas^{7,21,24}. Equipo de ordeño mecánico defectuoso o mal empleado que sobreponen la resistencia del canal del pezón frente a la invasión bacteriana. No usar selladores para pezones o utilizarlos de manera incorrecta después del ordeño sellado.

4. c.-Factores determinantes del hospedador

Grietas o lesiones en la piel del pezón en especial del orificio producidas por mecanismos físicos (frío, humedad y viento), químicos (desinfectantes de pezones mal empleados) y traumáticos (Sobreordeño, manipulación brusca en ordeño manual), o infecciosos al dañar la piel de pezones pueden causar: necrosis, fibrosis, cicatrices, desprendimientos, todo esto reduce la posibilidad de ordeño y desecho, y alojar microorganismos que pueden causar mastitis ^{7,21,24}. Verrugas en pezones (etiología vírica); daño al revestimiento queratínico, eversión y erosión del esfínter del pezón,

4. d.-Factores determinantes del agente

4. d 1.-Características Bacterianas.

Están determinadas por la capacidad del microorganismo de sobrevivir en el medio inmediato de la vaca, es decir su resistencia a influencias ambientales, incluyendo procedimientos de limpieza y desinfección, el grado de patogenicidad (deben penetrar la glándula, adherirse al tejido, reproducirse y establecer una reacción mastítica), resistencia al tratamiento antibiótico, el número de organismos en la glándula y la presencia de otros factores de virulencia son, entre otras, las principales características ⁷.

XII.-PATOGENIA

Dentro de los mecanismos involucrados en la resistencia a las infecciones intramamarias se han identificado varios niveles ².

1.-Defensas inespecíficas.

La primera línea de defensa contra la infección de la glándula mamaria consiste en aquellas barreras del huésped contra las cuales se enfrenta el patógeno al momento de la infección: barreras epiteliales, ausencia de receptores, mucus, lisozimas, lactoferrina, defensinas, etc. Incluye también aquellos mecanismos inmunológicos innatos, no específicos como: fagocitosis por neutrofilos y macrófagos; células Natural Killer, sistema del complemento, interferón α , β , etc.

1 .a.-Barreras físicas

- El pezón y el canal del pezón.
- La Forma del pezón.
- El Esfínter del pezón.
- Queratina: Es como una malla de sustancia, formada de las células epiteliales de descamación más los ácidos grasos más las proteínas catiónicas.
- El Diámetro de Canal de pezón.
- El Rosetón de Fürstenberg.

1. b.-Monocitos/macrófagos

Ambos son los mononucleares (núcleo no segmentado) y son fagocíticos. Estas células reciben el nombre de monocitos, que se encuentran en la sangre. Una vez que los monocitos salen de la sangre y entran en el tejido se llaman los macrófago. Los macrófago tienen como función principal la fagocitosis de desechos y de agentes que ingresan al interior de la ubre.

1. c.- Granulocitos.

Estos son: Neutrófilos (Polimorfonucleares –PMN-), basòfilos, y eosinòfilos. Todos tienen gránulos que contienen enzimas hidrolíticas. Los granulocitos son fagocíticos (ingieren y destruyen el material extraño). Durante mastitis o involución de la glándula, los PMN son las primeras células que entran en el tejido mamario. Son considerados la "segunda línea de defensa" en la glándula mamaria. Cabe señalar que los polimorfonucleares sanguíneos sufren mayor grado de apoptosis espontánea en lactación temprana que en aquellas vacas a mitad de la lactación²⁸.

1. d.-Complemento y lactoferrina.

El complemento generalmente es bajo en la leche bovina y es dependiente de la fase de lactancia y del estado patológico de la glándula. Lactoferrina (LF) es una proteína hierro-obligatoria y mantiene su capacidad hierro-obligatoria incluso al Ph ácido. LF se sintetiza en las células del epitelio secretor, se encuentra en la leche. También se halla en los gránulos secundarios de los PMNs. La lactoferrina liga el hierro necesario para el crecimiento de bacterias. LF comité por el hierro con el citrato y se refuerza por el bicarbonato el cual aumenta en la leche durante la mastitis. La LF aumenta en la glándula involucionada, y disminuye en las proximidades del parto, etapa en la cual el citrato aumenta ²¹.

1. f.-Lisosimas y lactoperoxidasas

Los niveles bajos de estas enzimas en la leche predispone a la mastitis .La lactoperoxidasa puede oxidar el tiocianato de la membrana celular hipotiocianato en algunas bacterias, lo cual es letal ²¹.

2.- Defensas específicas:

Son las que se desencadenan después de la exposición a un antígeno específico: entre estos tenemos activación, proliferación y diferenciación de linfocitos T y B, producción de inmunoglobulinas, linfocinas: MIF, interleucinas, interferón y

La infección subclínica recurrente puede resultar consecuente con existencia intracelular de bacterias protegidas de las defensas del hospedador y del efecto de los antibióticos²⁸.

3.- FACTORES QUE AFECTAN LA HABILIDAD DE LA GLÁNDULA MAMARIA PARA RESISTIR LA INFECCIÓN

1. Algunos leucocitos pueden ser demasiado viejos para ser eficaces, sobre todo en los primeros momentos de la infección.

2.- Cuando hay una concentración grande de Polimorfonucleares de la sangre en la glándula puede que algunos sean demasiado inmaduros.

3.- Algunos PMN ingerirán las bacterias pero no las matarán, la bacteria estará protegida su interior y será una fuente de infección crónica.

4.- Los lípidos y el suero de leche pueden bloquear los receptores de inmunoglobulinas (receptores Fc.) en los leucocitos.

5.- Los glóbulos y micelos de caseína, pueden ser ingeridos por los Polimorfonucleares, provocando que la célula se redondee volviéndose ineficaz para fagocitar bacterias.

6.- El obstáculo de receptores de Fc. puede producir degranulación extra de las enzimas hidrolíticas los leucocitos y su descarga en el tejido, aumentando la severidad de la inflamación.

7.- El Oxígeno se necesita para el sistema microbicida oxígeno-dependiente que es parte de la fagocitosis, pero la concentración de oxígeno en la leche es baja comparada con la sangre.

8.- Los fagocitos requiere de mucha energía. La glucosa es la fuente primaria de esa energía, pero la leche es baja en glucosa y los fagocitos son incapaces de utilizar la lactosa.

9.- La leche es relativamente baja en opsoninas como las inmunoglobulinas y complemento.

10.- La leche de vaca no tiene lisosimas comparada con la de otras especies domesticas.

11.- Algunas bacterias, como los *Staphylococcus aureus*, resisten intracelularmente dentro de los leucocitos. Esto les permite continuar viviendo en la glándula, protegidos de los mecanismos de defensa inmunológicos, inducir apoptosis, y ser capaces de re-infectar ^{13, 21, 25, 28} otras células.

12.- Las vacas en el periodo del parto, vacas con deficiencia de vitamina E o de selenio tienen disminuida la habilidad fagocítica o bactericida de los PMNs.

Una vez conocidos los mecanismos de defensa de la glándula mamaria y los factores que producen alteración en estos mecanismos podemos describir la patogenia de la mastitis en tres etapas ⁷:

1.- **INVASIÓN:** Es la etapa en la cual los microorganismos pasan del exterior de la ubre a la leche que se encuentra en el conducto glandular.

2.- **INFECCIÓN:** Es la etapa en la que los gérmenes se multiplican rápidamente e invaden el tejido mamario. Después puede establecerse una población bacteriana en el conducto glandular y, utilizando esta residencia como base, puede ocurrir una serie de multiplicaciones y diseminaciones en el tejido mamario en dependencia de la susceptibilidad del animal.

3.- **INFLAMACION:** Etapa en la cual aparece mastitis clínica y aumenta el recuento de leucocitos en la leche ordeñada.

4.- FASE DE INVASIÓN.

Las tres vías más importantes de penetración de los gérmenes a la glándula mamaria: galactógena, hematógena y linfógena, relacionada con la contaminación ascendente a través del conducto galactógeno. La vía principal y más frecuente de penetración de microorganismos en la mama es el canal del pezón (vía galactógena). En la vía hematógena están incluidas las mamitis metastásicas con infecciones uterinas, tuberculosas, colibacilares que a su vez pueden ser linfógenas ¹⁶.

Los factores predisponentes influyen en la frecuencia y la facilidad de la invasión. Así pues, en términos generales la fase de invasión está condicionada por ⁷:

1. La presencia y densidad de población de las bacterias causales en el medio
2. La frecuencia de infección del cuarto glandular y el grado de contaminación de la piel de los pezones se utiliza con frecuencia como índice de este factor.
3. Frecuencia con que los pezones de la vaca, especialmente los ápices se hallan contaminado con estas bacterias depende en gran medida de la eficacia de la higiene del ordeño.
4. Grado de lesión de los pezones que facilita la entrada de las bacterias en el conducto glandular.

Contribuyen en forma importante al desarrollo de este factor:

1. El diseño de la máquina de ordeño, la adaptación, la conservación y el uso apropiado de la misma, el posible reflujo de leche hacia la ubre desde la copa de ordeño durante la aparición, en el caso de ordeño mecánico;.
2. El peso y edad del ternero en ordeño manual y cuanto se amamanta.
3. La técnica de ordeño manual.
4. Estado de los potreros (arbustos, cercas, etc.), infecciones víricas que afectan a la ubre.
5. Tono del esfínter de los pezones. Especialmente en el período posterior al ordeño cuando dicho esfínter se encuentra más relajado. La debilidad del esfínter facilita la invasión.

5.- FASE DE INFECCIÓN.

Depende del tipo de bacteria implicada, determinado por su capacidad para multiplicarse en leche, adherirse al epitelio mamario y de su virulencia.

6.- FASE DE INFLAMACIÓN.

1. Las bacterias al entrar en la glándula y multiplicarse inducen galactoforítis discoloidalismo inflamatorio local, descamación celular, obstrucción de los conductos, trombosis vascular, edema, lesiones que definen la sintomatología de la mamitis aguda^{7,16}.
2. Se produce vasodilatación, aumentando el flujo de sangre hacia la glándula mamaria.
3. Se aumenta la permeabilidad vascular. Los productos inflamatorios como las prostaglandinas, los leucotrienos, proteasas, y metabolitos de oxígeno tóxico aumentan la permeabilidad capilar en la glándula.
4. La inflamación ocurre debido a la filtración de fluido en el tejido.
5. Los fagocitos dejan los vasos sanguíneos y entran en el tejido (diapédesis). Inicialmente neutrófilos y luego, los macrófago.

6. Ocurre la fagocitosis y destrucción de las bacterias.
7. La mayor excreción de carbonato por la glándula mamílica hace que la leche sea alcalina en términos generales, haciéndose al mismo tiempo más sensible a la coagulación por el calor, mientras se altera totalmente su dotación enzimática dando como resultados graves problemas económicos ¹⁶. La reparación del tejido ocurre después que las bacterias se han destruido. Sin embargo, el tejido secretor pueden ser temporalmente o permanentemente destruidos (por efecto de la cicatrización). Los estreptococos causan poco cambio patológico en la célula secretora, en tanto que los estafilococos causan cambios degenerativos macroscópicos.

La susceptibilidad de los tejidos mamarios a las bacterias varían desde gran resistencia por la presencia de un anticuerpo tisular hasta hipersensibilidad como resultado de una infección previa. Dadas las dificultades encontradas para el control de la enfermedad, vale la pena examinar cualquier factor capaz de disminuir la gravedad de la respuesta a la infección que en definitiva son las manifestaciones clínicas.

XIII.-SINTOMAS

1.-Manifestaciones Clínicas.

Según la resistencia del tejido mamario y la virulencia de las bacterias invasoras, puede observarse todos los grados de variación en los signos, desde comienzos graduales por fibrosis, pasando por inflamación aguda si reacción general, hasta toxemia grave con signos manifiestos ⁷. Generalmente es imposible establecer una diferenciación clínica entre los diferentes tipos bacteriológicos de mastitis ^{7,21}. De forma general los cuadros clínicos con que se presenta la mastitis bovina son:

1. a.-Mastitis Aguda:

Inflamación intensa sin reacción general grave. Los síntomas pueden variar de acuerdo al agente implicado, Incluyen: dureza del cuarterón afectado, hinchazón, fiebre, malestar general, inapetencia y la secreción anormal ²⁴.

1. b.-Mastitis hiperaguda o sobreaguda

La inflamación intensa en uno de los cuartos con reacción general manifiesta. Incluye todos los síntomas de la forma aguda, además de endotoxemia, caracterizada por: fiebre, éstasis de panza, taquicardia, taquipnea, diarrea, deshidratación, decúbito, complicaciones sistémicas, músculoesqueléticas, laminítis, hipocalcemias, hipocaliemias, shock acompañado de acidosis láctica, insuficiencia renal y hepática, predisposición a metritis y neumonía ^{7,21,23}.

1 .c.-Mastitis Subaguda o subclínica.

Inflamación leve con anormalidades persistentes en la leche. Puede haber o no signos benignos e inespecíficos: leche anormal, forma de coágulos, copos, Secreción acuosa que se observan en la placa de ordeño y principalmente resultados positivos al CMT, elevado RSC ^{7,24}.

1. d.-Mastitis Crónica

Ataques recurrentes de inflamación con poco cambio en la leche, cuarterón duro o hinchado, agalaxia e infarto de cuarterón.

2.- SINTOMAS DEACUERDO AL AGENTE ETIOLOGICO IMPLICADO

2. a.- MASTITIS POR MICROORGANISMOS CONTAGIOS

2. a.1.- *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Infección subclínica, benigna e inespecífica:

- Leche anormal (coágulos, copos, secreción acuosa)
- Positivo a prueba de placas y CMT.

La forma de la secreción no es patognomónica de la etiología.

2. a.2.- *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*

Rara vez se observan síntomas sistémicos que pueden incluir fiebre en un inicio y acceso intermitente. Coloniza la superficie epitelial y produce una mastitis subclínica o signos clínicos intermitentes ^{7, 21,24}. Anomalías en los primeros chorros de leche durante el ordeño sobre placas o por evaluación por CMT. Causa una inflamación que bloquea los conductos, disminuye la producción de leche, aumenta el conteo de células somáticas. Tiene pocas enzimas / toxinas y es muy sensible al tratamiento antibiótico.

2. a.3.- *STREPTOCOCCUS DYSGALACTIAE*

Los signos son inespecíficos.

- Subclínica: se sospecha cuando previo al ordeño se observan chorros de leche con coágulos y copos o se descubre un CMT positivo.
- Clínica: fiebre ligera, cuarterón hinchado, caliente y pastoso con secreción anormal.

2. a.4.- MICOPLASMAS.

Las infecciones suceden durante el ordeño y las vacas portadoras constituyen el reservorio del microorganismo. En las infecciones subclínicas se produce una reducción insignificante de la producción, pueden aparecer días después de la infección en vacas en diferentes estadios de lactancia presentando los síntomas típicos de inflamación de la ubre, la secreción primero puede ser acuosa y tener copos (material arenoso), pero en muchos casos no se observa alteración. Al cabo de varios días se pueden convertir en materia de color tostado parecido al suero con coágulos, copos con pus y/o hojuelas en el líquido seroso.

2. b.- MICROORGANISMOS MEDIOAMBIENTALES

2. b.1.- *STREPTOCOCCUS UBERIS* Y OTRAS ESPECIES DE *STREPTOCOCCUS* (NO AGALACTIAE)

Las mastitis agudas por *S. uberis* producen hinchazón, edema, dureza del cuarterón afectado también fiebre, malestar y grados variables de inapetencia, secreción acuosa con coágulos y copos.

2 .b.2.- ESTAFILOCOCOS COAGULASA NEGATIVOS.

Dentro de los signos que encontramos en las mastitis por *S. coagulasa negativa* están la disminución de la producción, pruebas de CMT positivas, aumento de los recuentos celulares somáticos, las novillas que paren con mastitis se sospecha que el agente es un estreptococo coagulasa negativo o *S. aureus*

2. b.3.-*ARCANOBACTERIUM PYOGENES*

Este microorganismo se encuentra con frecuencia en las lesiones de donde penetra a la glándula mamaria principalmente de vacas seca. Produce infecciones sumamente purulentas y abscedación de las glándulas afectadas. Estas glándulas no

son productivas en el futuro e inclusive las vacas infectadas pueden abortar por las toxinas y la fiebre en los casos agudos ²¹.

2. b.4.-*PSEUDOMONA SPP Y SERRATIA SSP*

Es típico en los signos clínicos el cuarterón hinchado difusamente pastoso o ligeramente duro al tacto por el edema y la inflamación, fiebre abatidas y con apetito disminuido, mastitis crónica de 1 – 3 semanas que no responde a terapia, la secreción varía de ligeramente acuosa a leche con coágulos o copos pueden cambiar de aspecto de un día a otro. En las mastitis causada por *Serratia*: La recuperación generalmente es espontánea es espontánea. Muchas de las infecciones suceden en la primera mitad del periodo seco

2. b.5.-LEVADURAS Y ALGAS

Las infecciones con *Nocardia spp* y *Candida spp* usualmente son de presentación repentina con hinchazón de la ubre y falta de respuesta a una terapia convencional. Algunos casos, especialmente los provocados por *Candida* son subclínicos. En las mastitis causadas por *Prototheca spp*, *P. zopfii*, *P. wickerhamii*, *P. trispora*: Las secreciones van desde acuosa a hasta pus puro con glándulas hinchadas, duras carnosas o colapsadas. Los recuentos celulares somáticos son de mediano a alto, donde el tratamiento aplicado no mejora la secreción. El alga *Prototheca zopfii* produce infecciones clínicas y subclínicas.

XIV.-DIAGNOSTICO

El diagnostico de la mastitis bovina comprende:

- a. Clínicos: Basados en los hallazgos de la exploración clínicas.
- b. Epidemiológico.
- c. Bioquímico: Basados en las alteraciones producidas por los gérmenes en la leche incluye métodos:
- d. Microbiológico.

Pruebas bioquímicas para el diagnóstico de mastitis.

Cuadro 13.

Test de Catalasa.	Método de la cápsula.
Pruebas calorimétricas.	Determinación de cloruros.
Test de California.	Determinación de ph
Conductividad eléctrica.	Valoración de NAGasa.
Determinación de la capacidad de síntesis del epitelio mamario.	Presencia de proteínas plasmáticas. (Albúmina).

- e. Citológicos:
 - Recuento celular directo.
 - Recuento celular indirecto:

Recuento de células somáticas comprende métodos:

- DIRECTOS:
 - Ópticos.
 - Electrónicos.
- INDIRECTOS:
 - Test de California para Mastitis (CMT).
 - Test de Wisconsin.
 - Prueba de catalasa.
 - De Whiteside.

- De la antimorfina de Negretti o la Clásica.

f. Bacteriológicos: cultivo y aislamiento de los agentes implicados.

1-CLÍNICO.

Abarca la exploración clínica del animal, de la glándula y de la leche.

1. a.- Exploración.

Se basan en anamnesis, inspección, palpación, percusión, insuflación y examen de la secreción láctea ¹⁵.

1. a.1.- INSPECCIÓN.

Ha de observarse detenidamente la glándula mamaria por delante, detrás, de abajo hacia arriba, para apreciar desituación, deformaciones con especial atención en:

- Ubres excesivas colgantes.
- Asimetría de las mamas.
- Pezones divergentes.
- Pezones supernumerarios.
- Estado de la piel que recubre ubres y pezones:
 1. Edema en relación con el parto.
 2. Pisotones.
 3. Laceraciones, escoriaciones o heridas.
 4. Picadura y mordeduras.
 5. Lesiones de la máquina de ordeño.
 6. Exposición a condiciones climáticas extremas.
 7. Cambios de piel.
- Anchura y uniformidad.
- Simetría.

- Espacio entre los pezones.
- Tunelización correcta del conducto galactóforo con tono moderado del esfínter.

1. a.2.- PALPACIÓN.

Debe ser el núcleo de los programas de control, puede no ser necesaria en los cuartos con mastitis aguda o con mastitis crónica activa pero es muy útil para identificar zonas de fibrosis ²¹.

1. a.3.- PERCUSIÓN.

La percusión es un medio auxiliar de exploración que permite descubrir algunos focos como abscesos, quistes y enfisema.

1. a.4.- INSUFLACIÓN.

Consiste en inyectar aire a través del pezón este método es capaz de descubrir estenosis del conducto galactóforo e imperforación de cisterna.

1. a.5.- EXAMEN DE LECHE.

Es de máximo interés que la leche se ha de obtener a partir del ordeño, que en si, significa un test para valorar las condiciones funcionales de la glándula mamaria. La apreciación del volumen total del ordeño debe de valorarse aisladamente midiendo la producción en cada cuarterón. El análisis cualitativo de la leche debe tomarse también por separado de cada cuarterón para apreciar en ella alteraciones objetivas de color, aspecto, densidad y olor ²¹.

1. a.5.1.- ANÁLISIS FÍSICO DE LA LECHE

Aunque para observar las características organolépticas no es necesario guardar medidas especiales a la hora de recoger la leche, se limpia la mama con un paño impregnado en solución antiséptica, se desecha los primeros chorros, procurando que no caigan al suelo y se deposita las muestras en tubos estériles.

1. a.5.2.-PLACA O COPA DE ORDEÑO DE SUPERFICIE NEGRA:

Tiene un valor inestimable para descubrir las secreciones anormales en los chorros de leche previos al ordeño especialmente en mastitis por coliformes. Para el examen apropiado se emplea una copa con fondo oscuro que permita la identificación de cambios de color por la presencia de coágulos copos o pus ²¹. Los copos al final del ordeño suelen indicar tuberculosis mamaria ⁷. Puede haber variación entre cada cuarto de la glándula en una vaca que si son notables justifican la sospecha de infección.

1. a.5.3.- CANTIDAD DE LECHE

Un signo precoz de enfermedad es la disminución de la producción láctea. Existen enfermedades en las que esta disminución es menor, pero en la mayoría de ellas (febres, digestivas, intoxicaciones), la disminución de la producción láctea es clara.

1. a.5.4.- COLOR DE LA LECHE

Los cambios de color son indicativos de procesos patológicos- salvo algunas excepciones- en el interior de la glándula mamaria ¹⁵.

Estos cambios pueden ser:

- Leche clara azulada. Característica de la leche acuosa.
- Leche amarilla. Leche calostrada, ingestión de plantas ricas en caroteno, en ictericias, glosopeda, carbunco y mastitis
- Leche roja. Por la presencia de sangre: Ej: postparto, infección por Serratia.

- Leche azul. Ingestión de ciertas plantas o por presencia de gérmenes (*Pseudomona*)

1. a.5.5.- CONSISTENCIA

- Licuada. Disminución de la cantidad de grasa por alimentación o mastitis.
- Turbia y con coágulos. Al final de la lactación y en mastitis
- Mucosa y filamentosa. Mastitis por *Micrococcus* y *Diplococcus*
- Limosa o caseosa. Enfermedades febriles y digestivas

1. a.5.6.- OLOR

- Olor a acetona en las Cetosis.
- Olor desagradable en muchas mamitis.
- Olor amargo en procesos febriles (menos caseína y lactosa) o en ictericias.

1. a.5.7.- SABOR

- Sabor salado. En mastitis
- Sabor a rancio. Alta carga estrogénica

2.- Epidemiológico.

Se basa en los datos proporcionado por el propietario de la granja y las observaciones realizadas en la misma para identificar la distribución de la enfermedad, los factores de riesgos, los mecanismos de transmisión y las fuentes de infección presentes en la explotación que al final, junto con los hallazgos proporcionados por las pruebas diagnosticas servirán para orientar las medidas terapéuticas y profilácticas para curar, controlar y prevenir la mastitis ⁷.

3.-Bioquímico.

3. a.-Determinación de pH en leche.

El pH identificado en el calostro es de 6.4, en tanto que en la leche es de 6.5-6.8, cantidad que a media lactación es de 6.6-6.7, y al final de 6.8 o mayor ²¹. La leche de glándulas mamaria afectadas por mastitis, presenta Ph alcalino; aproximadamente al ph del plasma 7.4 ^{6, 7, 21,24}. Este aumento del ph se atribuye a la disminución de la lactosa e incremento de sales que pasan de la sangre a la leche. Los cambios en Ph por mastitis son mínimos por lo que el diagnóstico es de poco valor ²¹.

3. b.- Detección de albúmina sérica.

Se puede realizar por difusión en agar donde se encuentran anticuerpos contra la albúmina sérica ²⁴. Las muestras de leche junto con los negativos y positivos se coloca en pocillos realizados en el Agar luego de un período de incubación de 2 días se observa una difusión del precipitado formado por la albúmina y el anticuerpo en el Agar acorde con la cantidad de albúmina presente en la muestra de leche.

3. c.- Cambio en la composición de leche y conductividad eléctrica.

La evaluación de la conductividad eléctrica como un método para la detección de mastitis se basa en el aumento de sodio y cloro y la disminución de potasio presentes en la leche cuando existe una alteración de la glándula mamaria, provocándose entonces un aumento en la conductividad ^{6, 7, 21,24}. Este método diagnostica mastitis antes de que existan alteraciones visibles en la leche. Los métodos de conductividad tienen la ventaja sobre otros procedimientos de diagnóstico, porque la información que se obtiene es inmediata, logrando hacerlo muy práctico y automatizado.

3. d.- Determinación de cloro en leche.

En la leche la relación lactosa: cloro, es influenciada por:

- a) estado lactacional

b) presentación de mastitis.

En casos de mastitis el contenido de cloro en la leche tiende a incrementarse en proporción a la lactosa, lo que ocasiona en la leche un sabor ligeramente salado ⁶. En el calostro, el contenido de cloro es elevado, pero disminuye rápidamente a medida que el calostro es substituido por leche. Para determinar el contenido de cloruros en leche, se ha desarrollado un método químico que se basa en una prueba de titulación que consiste en cambio de color en la leche al agregar nitrato de plata (0.1N), en presencia de dicromato de potasio como indicador.

3. e.- Identificación de componentes intracelulares en leche debido al daño celular mediante la medición de la actividad de enzimas.

La N-acetil- β -d-glucosaminidasa (NAGasa) aumenta su actividad y es liberada por neutrófilos en los procesos inflamatorios de la ubre ^{6,24}.

3. f.- Disminución de la capacidad de síntesis del epitelio mamaria.

La síntesis de caseína y lactosa disminuye en las vacas con mastitis, por lo tanto pueden utilizarse como indicadores de inflamación de la ubre, pero no es común su uso ²⁴.

4.- Citológico.

Los recuentos de células somáticas (RCS) o determinación indirecta no son fundamentos apropiados del diagnóstico absoluto de un determinado agente causante de mastitis ni de la terapia subsiguiente ²¹. Existe relación entre el número de RCS de vacas con infecciones crónicas debido a una diversidad de microorganismos contagiosos y los números de RCS de vacas que han curado de una diversidad de causas de mastitis por tanto no todas las vacas con elevado valor de RCS padecen infecciones, ni todos los cuartos infectados clínicamente pueden tener valores de RCS

elevados. La diferencia clara entre infecciones antiguas se determina cuando se evalúa la incidencia de un determinado agente causante de mastitis en un rebaño, teniendo en cuenta que una persistencia indica tratamiento ineficaz y que nuevas infecciones indican un control deficiente ²¹.

4. a.-Recuentos de células somáticas.

Las bacterias y su multiplicación dan origen a la inflamación de la ubre y la respuesta inmune de la glándula con la llegada de leucocitos (neutrófilos, linfocitos, y macrófagos) los neutrófilos son los responsables de los RCS altos en leche de ubres con mastitis ²⁴. El 98% de células somáticas que se encuentran en la leche provienen de células blancas que llegan en respuesta a la invasión bacteriana de la ubre, y el resto lo constituyen células epiteliales descamadas ²⁹. Recuentos celulares en leche pueden realizarse por cuarterón o a partir de tanques colectivos de recolección ⁷.

Relación entre RCS medida en la leche de tanque a granel, pérdida de la producción y prevalencia de mastitis subclínica en el hato. Cuadro 14

Conteo de células somáticas.	Cuartos infectados (%)	Perdida de producción (%)	Mastitis Subclínica.
< 200000	6%	0 – 5	Cerca de cero
200000 – 500000	16%	6 – 9	Unos pocos casos
500000 – 1000000	32%	10 – 18	Diseminada
> 1000000	48%	19 – 39	Epidémica

Los recuento celulares por glándula o cuartos individuales.

Los conteos celulares de vacas individuales en las que no se diferencia entre leucocitos y células epiteliales se deben de emplearse de la siguiente manera: establecer un umbral de 400 000cel/ml para identificar los cuartos afectados ⁷. Los resultados positivos indicaran el estado de la mastitis en una vaca durante cierto tiempo. Muchos son los factores que influyen la cantidad de células somáticas presentes en la leche, pero el principal, como se mencionó anteriormente, es la

infección ^{7, 21,24}. Por esta razón se ha ideado un método de puntuación lineal para la mejora del rebaño lechero y por los servicios de control de mastitis ²¹.

Los factores que podrían afectar el RCS son.

- La cantidad de cuarto o vacas afectadas.
- Edad de la Vaca: A medida que aumenta día edad de las vacas se elevan los promedios de células somáticas sin embargo la edad no es un factor que “per se” influye en el RC, lo que si hace la edad de la vaca es aumentar la reacción de la glándula al agente infeccioso y por esta razón se detecta recuentos aumentados en ejemplares de mayor edad ^{15,24}.
- Días en lactación: En las vacas en etapa temprana y tardía de la lactancia se registran recuentos celulares que afectan por igual a los cuatro cuartos glandulares fenómeno realmente excepcional en la mastitis ⁷. El RCS puede sufrir ligeras variaciones según el periodo de lactario en que se encuentran las vacas ¹⁵; el RCS promedio disminuye cuando llega al segundo o tercer mes de lactación y aumenta a medida que continúa esa etapa es inversa a la curva de lactación (correlación negativa) que registra el pico máximo entre los dos y tres meses de lactación ²⁴. Las vacas que se encuentran cerca del final de la lactancia también muestran cuentas celulares mayores debido a la descamación del epitelio mamario ²⁴.
- Variación diurna: Los RCS son mayores en el ordeño de la tarde que el de la mañana por las diferencias de horas transcurridas entre el ordeño de la mañana y el de la tarde si es un lapso menor que entre la tarde y la mañana; a menos horas menos la producción láctea por tanto mayor es la concentración de células por ml ²⁴. En casos de mastitis crónica los recuentos más altos corresponden al inicio del ordeño ⁷.
- Variación fisiológica: Hay variaciones en ciertos días del mes en el recuento individual debido a procesos fisiológicos; Ejemplo: la vaca en celo y en las de parto reciente existe un aumento de RCS ^{15, 21,24}.

- Estación del año: El calor afecta negativamente la producción láctea en verano disminuye la producción de leche y aumento de RCS por efecto de concentración ²⁴.
- Aspectos técnicos: Diferencias en cuanto al método utilizado o cuando las muestras se toman en distintos momentos de un mismo ordeño o por la subjetividad de las pruebas indirectas ²⁴.
- Stress: Puede provocar aumento transitorio de células somáticas de la leche ²⁴.
- El RCS también es elevado en las secreciones de las vacas cuya producción ha disminuido súbitamente debido a una enfermedad, por ejemplo reticuloperitonitis traumática ²¹.
- El ordeño a mano aumenta la cuenta celular en leche sin que intervenga la mastitis ⁷.

Relación de las puntuaciones lineales con los recuentos somáticos reales.

Cuadro 15

Puntuación lineal	Promedio RSC	Puntuación lineal	Promedio RSC
0	12 500	5	400 000
1	25 000	6	800 000
2	50 000	7	1 600 000
3	100 000	8	3 200 000
4	200 000	9	6 400 000

Las puntuaciones lineales inferiores a 4 indican una probabilidad de infección de menos del 10% mientras que una puntuación lineal superior a 5 indica una probabilidad de infección con causas de mastitis contagiosa de mas del 95%, aunque cuando se trata de patógenos ambientales la exactitud de la correspondencia no es tan grande .

4 .a.1.-California Mastitis Test. (CMT)

Las pruebas indirectas para la identificación de mastitis han quedado casi enteramente restringidas a la determinación de la cantidad de ADN y pronto del número aproximado de leucocitos en la muestra. La prueba de California para mastitis es la

usada con mayor frecuencia. Refleja con exactitud el número total de leucocitos y de polimorfonucleares en leche ⁷. Desarrollado en la década de años 50 por Noorlander y Schalm en California, la prueba consiste en agregar un detergente (Alquil-aril-sulfonato de sodio) a la muestra de leche causando la liberación de ADN de las células presente y este se convierte en combinación con agentes proteicos de la leche en una gelatina; entre mayor es la presencia de células libera mayor concentración de ADN por lo que aumenta la respuesta de y la formación de gelatina. Los resultados se leen como Negativos, Traza, 1+, 2+ y 3+ según la cantidad de gel ^{6,7,15,21,24}.

4 .a.2.-Prueba de Wisconsin para mastitis

La prueba de Wisconsin para mastitis es la segunda técnica más utilizada para el diagnóstico de la mastitis subclínica; el reactivo utilizado es el mismo que el de la prueba de California para mastitis diluido en proporción de 1:1 usando agua destilada ⁶.

Cuadro 16

INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA DE WISCONSIN MODIFICADA	
MI en tubo	Células por ml de leche
0.0 – 1.0	0 – 100000
1.1 – 1.5	100000 – 500000
1.6 – 1.8	500000 – 700000
1.9 – 2.0	700000 – 1000000
2.1 – 2.5	1000000 – 1700000
2.6 – 3.0	1700000 – 2500000
3.1 – 6.0	+ 2500000

5.- Bacteriológico.

5. a.- Cultivo bacteriológico de la leche.

El cultivo de muestras de leche es el método estándar de examen para descubrir mastitis. Debe efectuarse con muestras de cada cuarto individual o de muestras

compuestas que incluyen leche de los cuatro cuartos. Se prefieren las muestras individuales.

Se pueden realizar en leche del tanque o en muestras individuales, estos últimos deben de ser la base para la instauración de la terapia. Han sido recomendadas muchos cultivos diferentes para la leche de mezcla del tanque pero probablemente, los más importantes son: el recuento normal en placa (SPC), el recuento pasteurizado de laboratorio (LPC), el cultivo de micoplasma, el recuento de coliformes, y los cultivos individuales para otras formas contagiosas de mastitis²¹.

Puede darse el caso que en una misma muestra de leche se presenten RCS elevados y el cultivo resulta negativo, situación que puede deberse a¹⁵:

- Que el número de bacterias en la muestra sea mínimo o que el medio de cultivo utilizado sea inadecuado.
- Que el aumento del RCS sea debido a daño físico o químico de la ubre.
- Infección endotóxica.
- Infección eliminada, pero curación no completa.
- Todos aquellos factores que pueden aumentar en el RCS.

También se puede presentar la situación en la que los RCS resultan bajos y el cultivo positivo, que podría ser debido a¹⁵:

- Infección localizada en el canal del pezón.
- Muestra contaminada.
- Infección leve o gérmenes poco patógenos.

En anexo 5 se muestran los medios de cultivos y test microbiológicos indicados para el aislamiento e identificación de microorganismos causantes de mastitis

XV.-LESIONES

Las lesiones de la mastitis infecciosa pueden resumirse así: Lesiones vasculares (flebitis, trombosis), linfáticas en la fase aguda; descamación celular y obstrucción de los conductos galactóforos, descamación y bloqueo de las células acinosas, necrosis del tejido parenquimatoso, intersticial, etc. En las formas subagudas y particularmente en las crónicas glándulas mamarias se manifiestan particular tendencia a lesiones infiltrativas (tejido conjuntivo de acción bloqueante que terminan en reacciones nodulares, formaciones quísticas, etc.^{9,16} .

XVI.-TRATAMIENTO

1.- CONSIDERACIONES GENERALES PARA EL TRATAMIENTO DE MASTITIS.

Por razón de las diferencias geográficas que influyen en la población bacteriana, por los modelos de resistencia de los organismos existentes en cada granja y por otros muchos factores es imposible recomendar un tratamiento antimicrobiano sin antes obtener los resultados de los cultivos y pruebas de sensibilidad correspondiente a los aislamientos de cada granja para determinar la mejor terapia antibiótica.

La razón de la terapia antimastitica es: ²⁴.

- 1.- Aliviar los síntomas de enfermedad.
- 2.- Disminuir las pérdidas por menor producción de leche.
- 3.- Impedir el deterioro en la calidad de la leche.
- 4.- Impedir el impacto negativo para la salud e la ubre.
- 5.- Eliminar el patógeno causante.
- 6.- Prevenir la nueva infección intramamaria.

El tratamiento esta orientado a ayudar a las defensas del huésped a eliminar los patógenos invasores y reducir la consecuencia fisiopatológicas sin reducir las defensas del huésped. La terapia antimicrobiana se debe instaurar siempre que se este seguro de la eficacia terapéutica, relación costo beneficio elevado y que la leche y carne estén libre de residuos²³. Algunos autores consideran que no tiene beneficio el tratamiento de bovinos con mastitis subclínica o clínica producida por bacterias Gram. Negativas y que el tratamiento de mastitis por *Staphylococcus aureus* en vacas lactantes con frecuencia es ineficaz^{1, 7, 21,24}. Si se decide establecer una terapia se debe tomar en cuenta que el fármaco elegido para uso intramamario debe poseer las siguientes características farmacológicas^{21, 23,24}:

- 1.- Ser una base débil.
- 2.- Debe unirse poco a las proteínas plasmáticas.

3.- Ser soluble en lípidos.

4.- Poseer actividad antimicrobiana contra patógenos (etiología de mastitis) en las secreciones inflamatorias.

5.- Debe alcanzar concentraciones adecuadas para eliminar el patógeno específico sin dejar residuos ni infecciones subclínicas.

Los antibióticos intramamarios como la ampicilina tienen una distribución considerable. La cloxacilina, cefalotina, ceftiofur poseen una distribución limitada en la glándula mamaria.²¹ Además de los antimicrobianos, los agentes antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos ayudan al tratamiento bloqueando la liberación de aminas vasoactivas, también tienen efectos sobre la lipoxigenasa y ciclooxigenasa evitando la producción de prostaglandinas y leucotrienos lo que permite que los síntomas de la inflamación disminuyan y que el dolor sea inhibido^{21, 23, 24}.

1 .a.-Selección antimicrobiana.

Si se decide utilizar antibióticos para el tratamiento de la mastitis clínica o subclínica de una vaca individual o de la explotación deben de considerarse otros factores tales como²⁴:

- Certificar que el diagnóstico garantice el tratamiento más adecuado contra el patógeno en particular, considerando su susceptibilidad in Vitro a la droga elegida.

- Debe conocerse la compatibilidad de las diferentes drogas con la leche: su efectividad antibacteriana en presencia de inmunoglobulinas, leucocitos polimorfonucleares, macrófagos, componentes del complemento, citosina y los factores antibacterianos inespecíficos de la leche: lactoferrina, lactoperoxidasa y lisosima. En el anexo 7 se muestran la capacidad de distribución en la glándula mamaria de diferentes fármacos antimicrobianos.

- La formulación apropiada, la vía de administración y la dosis deben asegurar el mantenimiento de la concentración inhibitoria mínima por el periodo requerido.

- Los posibles efectos secundarios deben preverse durante y después del tratamiento.

- Se respetarán los tiempos de supresión para evitar residuos de los fármacos en la leche o carne.

- Siempre se debe asegurar que es el método de tratamiento a emplear sea de óptima relación costo-beneficio.

Considerando que las pruebas de sensibilidad in Vitro tienen una pobre correlación con el resultado del tratamiento en el campo es necesario acumular información sobre la susceptibilidad antimicrobiana encontrada en cada ganadería. Así mismo, es necesario mantener buenos registros sobre los resultados de los tratamientos.

La mastitis subclínica no representa peligro inmediato de la pérdida de la función glandular o de la vida del animal, como se menciono anteriormente el tratamiento debe hacerse valorando los costos del antibiótico y las utilidades logradas por producción compensada ²³. Como norma general las vacas en fase temprana de lactancia con recuentos celulares arriba de 400 000/ml deberán tratarse durante la lactancia, aunque es en gran parte inefectivo. Aquellos animales en fase tardía no deberán tratarse sino hasta el periodo de secado⁷.

En antecedentes de mastitis crónica y fibrosis graves lo más recomendable es el descarte del animal.^{7, 21, 23,24}

2.-Tratamiento de la mastitis subclínica.

2. a.-Tratamiento relámpago o BLITZ:

Consiste en tratar al hato completo o una parte, con infusiones de antibióticos para reducir prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en el hato, es muy efectivo ya que es un parásito obligado de la ubre. La mayoría de los *Streptococcus* son sensibles in Vitro a los antibióticos especialmente a penicilinas. Los estudios indican que virtualmente el 100% de las cepas y grupo G son sensibles a la penicilina, pero solo un 63% de los enterococos son sensibles a ella. Sin embargo a pesar de ello algunas infecciones Estreptocócicas son refractarias a la terapia^{23,24, 29}.

Así pues la penicilina es la más recomendada para el tratamiento BLITZ o general contra el *Streptococcus agalactiae*. El tratamiento IM de infecciones por *S. aureus* es difícil debido a que con frecuencia producen abscesos profundamente en el tejido mamario y el antibiótico no llega en cantidades suficientes²³.

2. b.-Tratamiento en el secado

El tratamiento en el secado con productos IMM de persistencia prolongada puede eliminar IMM por *Staphylococcus aureus* y prevenir la infección durante la primera mitad del periodo seco¹⁴. La Infusión IMM de antibióticos de liberación lenta en el secado cura cerca del 50% de mastitis por *Staphylococcus aureus* y 80% de *Streptococcus* ambientales (*S. Uberis*, *S. Dysgalactiae*). Un cuarto tratado y curado producirá del 90% de su potencial durante la nueva lactación. Si el cuarto permanece infectado o es infectado en el secado, ese cuarto producirá solo el 60 – 70% de su potencial o incluso menos. Generalmente, el tratamiento al secado es la forma más efectiva de curar las mastitis subclínicas existentes²³.

Debido a resistencia a la penicilina de cepas de *Staphylococcus aureus* el tratamiento actual se basa en drogas modernas como penicilina sintética y cefalosporina. El aumento del nivel de células somáticas en leche, aumento del número de cuartos infectados en la vaca, la cantidad de lactaciones y cuando la infección se localiza en cuartos posteriores disminuye la posibilidad de curación bacteriológica total de la vaca infectada con *Staphylococcus aureus* y aumenta la susceptibilidad a reinfección durante el próximo periodo de lactación^{23,24}.

Alternativas de tratamiento para mastitis.

Tratamientos homeopático que consiste en sustancia que a dosis tóxica puedes causar una serie de síntomas clínicos en individuos sanos y dosis homeopática se puede utilizar para curar individuos con los mismos signos.²⁴ Otras alternativas son bacteriocinas y citoquinas

XVII.-CONTROL Y PROFILAXIS

La solución del problema de la mastitis consiste en el saneamiento de los hatos mediante campañas de prevención, lucha y erradicación de las enfermedades y buenas prácticas de ordeño ¹⁶. La prevención de las nuevas infecciones posee un beneficio mayor que el intentar curar los casos clínicos ya que las infecciones existentes que son tratados pueden ser curadas con éxito limitado ²⁹. Una característica común de los patógenos contagiosos es su habilidad para colonizar y crecer en la piel y conducto del pezón. Esta habilidad probablemente contribuye a su naturaleza contagiosa y altas tasas de prevalencia en manadas donde falten los métodos del manejo eficaces.²²

El "Plan de los Cinco Puntos" ^{7, 22,24, 29} desarrollado hace cuarenta años en el REINO UNIDO ha sido responsable de la reducción de patógenos contagiosos en muchos países dedicados a la producción intensiva de leche, éstos son:

1. Desinfección del pezón post-ordeño.
2. Terapia de todas las vacas secas.
3. Terapia de casos clínicos durante la lactación.
4. Mantenimiento apropiado de la máquina ordeñando o rutina de ordeño adecuada.
5. Selección y descarte de los casos crónicos.

Los principios básicos son reducir las infecciones nuevas durante el ordeño y reducir el reservorio de los agentes patógenos en la lechería. A continuación describiremos aquellos aspectos considerados importantes para lograr el control y la prevención de la mastitis bovina que incluyen también el Plan de los Cinco Puntos.

1.- Establecer Metas para la Salud de la Ubre

- Recuentos de Células Somáticas bajas.
- Prevenir lesiones del pezón y darle un manejo adecuado a las ya existentes.

- Remoción de pezones accesorios.

2.- Mantener un ambiente (corrales, salas de estancia y ordeño) limpio y cómodo

- Control de stress.
- Evitar el hacinamiento

3.- Procedimientos y técnicas de Ordeño apropiados.

- Adecuada higiene del ordeño

4.- Mantenimiento apropiado y Uso del Equipo de Ordeño

5.- Registros adecuados de la manada

6.- Manejo apropiada de los casos de mastitis clínica durante la lactación además de proporcionar una alimentación y Suplementación adecuada

7.- Manejo eficaz de la vaca seca.

- Tratamiento al secado de todos los cuartos

8.- Mantener un programa de Bioseguridad para Patógenos Contagiosos y estado sanitario de la ubre; una política de descarte de vacas crónicamente Infectadas, prevención de mastitis en vaquillas, así como una estrategia para tratar vaquillas en diferentes fases antes del primer parto. A las vaquillas infectadas con *S. aureus* al parto tratarlas aproximadamente 2 -3 meses antes de la fecha esperada de parto con

productos de secado, si padecen otros tipos de infección antes del parto, tratar 1 vez 7 – 10 días antes de la fecha esperada de parto, con un producto para vacas lactantes. La vacunación frente a mastitis por *Staphylococcus aureus* es una alternativa lógica para su control. Sin embargo, su eficacia es limitada.

CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE EL ORDEÑO

Se debe prestar mucha atención y cuidado en:

1. Higiene del ambiente, o lugar donde se practique.
2. Higiene del animal, para evitar contaminación de la leche.
3. Higiene del ordeñador.
4. Higiene del material de ordeño.

RELACIÓN ENTRE ORDEÑO MECÁNICO Y ENFERMEDADES DE LA UBRE.

1.- Diseño, instalación y operación de la maquina ordeñadora apropiada, los puntos a considerar para conseguirlo son los siguientes:

- Proveer un vacío estable a nivel del pezón mediante un control adecuado de reserva de vacío y el diámetro apropiado de la tubería.
- Aumentar la estabilidad de la pezonera permitiendo el libre flujo de leche y aire con mínima turbulencia.
- Una efectiva pulsación que mantiene la integridad del canal y del esfínter del pezón.
- Uso de válvulas de una sola dirección en el colector o en el tubo corto de la leche para impedir el flujo inverso.
- Uso de colectores de mayor volumen.

2.- Rutina de ordeño: ordeñar la vaca en el menor tiempo posible con mínimo daño a los pezones, menor manipulación y ordeñar de último las vacas con mastitis.

3.- Preordeño: La evacuación de la leche retenida antes del ordeño en la cisterna del pezón no tiene efecto en la calidad de la leche ordeñada a continuación o en la posibilidad de nuevas infecciones IMM, la manipulación de pezones y la diseminación de patógenos y contaminación del extremo del pezón.

4.- Preparación de la ubre incluye lavado y secado de pezones y parte baja de la ubre.

5.- Evitar el Sobreordeño: La distribución del peso de la unidad de ordeño entre los cuartos de la ubre junto con una relación adecuada entre el tamaño de ganadería y el número de unidades de ordeño aseguran un mínimo sobreordeño.

6.- Retirado de las pezoneras: debe ser de forma pausada permitiendo la entrada de la presión atmosférica eliminando el vacío.

7.- Desinfección de los pezones.

8.- Enjuague de unidad de ordeño entre vacas: realizado por enjuague de flujo reverso de agua potable a través del tubo largo de leche reforzado con una solución desinfectante como complemento.

9.- Chequeo del instrumental de ordeño: Realizarlo cada 6 meses.

Pasos de una correcta rutina de ordeño:

- Desplazamiento tranquilo y cuidadoso de las vacas.
- Usar agua potable (tibia) para lavar los pezones por lo menos durante 15 segundos, se pueden usar detergentes de ser necesarios.
- Secar inmediatamente los pezones después de lavados con toallas individuales preferiblemente desechables.

- Examinar el esfínter del pezón y palpar las glándulas para facilitar descubrimiento temprano de casos clínicos.
- Examinar los primeros chorros de leche con el fin de observar cualquier anomalía y descartar leche con alto contenido bacteriano.

En casos de alta incidencia de mastitis por agentes ambientales, la desinfección de pezones previos al ordeño, (pre-dipping) puede ser útil. Aplicar el desinfectante del pezón de tal manera que cubra toda la piel durante por lo menos 30 segundos.

- Realizar el ordeño de tal manera que no se lesione el pezón.
- Al terminar el ordeño, desinfectar el pezón usando un sellador de pezones.

Existen varios tipos de selladores de pezones con diferente principio activo tales como: Iodóforos, sales cuaternarias de amonio, clorhexidina, hipoclorito de sodio, entre otros. Un sellador da buenos resultados cuando presenta ciertas características^{21, 24,26} como:

- Reducir al mínimo el número de microorganismos en el conducto galactóforo.
- No alterar química o físicamente a la leche.
- Perdurar hasta el siguiente ordeño (mínimo 8 horas).
- Proteger la mucosa del pezón, darle elasticidad y evitar la irritación por sequedad.
- Ser repelente a moscas y otros parásitos externos.
- No alterarse al contacto con materia orgánica, ni ser removido por malezas o pastos altos

Sin embargo, ésta medida preventiva no se aplica en los sistemas de doble propósito, donde después del ordeño, el ternero es alimentado con diferentes formas de amamantamiento restringido. Al respecto, se sabe que la saliva del ternero posee elementos que pueden actuar como inhibidores bacterianos. El uso adecuado de una

solución desinfectante después del amamantamiento del ternero, para el sellado de pezones tiene alto margen de confiabilidad como medida de control para la mastitis clínica y subclínica en los hatos en sistemas de doble propósito en el trópico ²⁶. El Ordeño preparto de las vacas una o dos veces al día durante aproximadamente 2 semanas antes de la fecha de parto puede reducir las nuevas infecciones, la incidencia de mastitis clínica y la incidencia de edema de la ubre ¹⁴.

Exigencias de desinfectantes para la piel de pezones.

- Efectividad comprobada en la reducción de la incidencia de nuevas infecciones IMM con microorganismos patógenos de la ubre.
- Uso seguro y sin peligro para animales y operador.
- Producido bajo reglas de buenos procedimientos de manufactura y producción.

Productos Desinfectantes.

Yodóforos, compuestos clorados, clorhexidina con emolientes y excipientes dermatológicos como lanolina y flureina para aumentar la tolerancia de la piel al uso continuado del producto y evitar el secado y formación de fisuras en la piel; compuestos de amonio cuaternario, glutaraldehido, Dodecilbenceno lineal-ácido sulfónico, Ácido cloral, dióxido de cloro. Las causas en el fallo de la eficacia de los agentes higienizantes empleados puede deberse a:

- Dilución exagerada de los detergentes desinfectantes.
- Falta de suficiente tiempo de contacto con superficies sucias.

Detergentes.

Composiciones más comunes en la formulación de detergentes:

Álcalis inorgánicos como:

- Carbonato de sodio (sosa de lavar)
- Hidróxido de sodio (sosa cáustica)

- Fosfato trisódico.

- Silicato de sodio.

Agentes de actividad de superficie:

Agentes humectantes aniónicos y no iónicos aumenta y facilita el contacto con superficie a tratar.

Agentes secuestrantes (ablanda agua):

Polifosfatos.

Ácido Etilendiamino tetraacético.

Ácidos como: ácidos fosfórico, Ac. Nitritico, Ac. Sulfúrico.

Desinfectantes:

Individuales o combinados con detergentes como el Hipoclorito sódico a concentraciones de 7 – 12% de cloro disponible hasta 2% de hidróxido de sodio libre. Compuestos liberadores de cloro como Sales de di o triácidos cloroisocianúrico y diclorodimetil hidantoína

Compuestos de amonio cuaternario:

- yodóforos, que combinados con ácidos aumentar su actividad bactericida.

XVIII.-MASTITIS Y SALUD PÚBLICA

CONSIDERACIONES DE SALUD PÚBLICA.

Desde el punto de vista sanitario la mastitis séptica siempre origina leche contaminada lo cual constituye un riesgo potencial para la población pudiera ya que pudiera estar expuesta al consumo de leche contaminada con antibióticos o incluso ingerir leche llena de agentes patógenos o sus toxinas si las condiciones sanitarias que implica la producción de leche no son cumplidas ²⁴.

Las contaminaciones de la secreción láctea por diferentes gérmenes como *Brucella ssp.* estreptococos, estafilococos, colibacilos, representan en función al carácter patógeno de estos agentes un grave peligro para la salud pública al extremo que ciertas endocarditis, nefritis, tonsilitis, amigdalitis, estomatitis, enteritis, etc. son causadas por estos gérmenes ¹⁶.

La tuberculosis, brucelosis, parálisis infantil son enfermedades relacionadas con el consumo de leche contaminada¹⁶. También es frecuente encontrar residuos antibióticos en la leche procedente de animales tratados por mastitis representan productos en cierto modo tóxico para el consumidor o generar resistencia antimicrobiana por la exposición continua a estos fármacos.

Organismo	Modos de infección de la ubre	Signos	Diagnostico	Tratamiento y control.
<i>Salmonella dublin</i>	Contaminación ambiental por heces de vacas portadoras muy probable. Posible resultado de	Generalmente subclínico y crónicos (= 6 meses) Los esteroides pueden producir la exacerbación clínica aguda.	ELISA. Cultivar leche y heces.	Ninguno. Se deben identificar y eliminar selectivamente Prohibir el consumo de leche fresca.
<i>Salmonella typhimurium</i> y otras <i>Salmonella</i> spp. de los tipos B, C y E.	Contaminación ambiental por heces de vacas infectadas o portadoras y diseminación septicémica a la ubre.	Generalmente subclínicos. La diseminación puede ser persistente o intermitente. fiebre, diarrea más o menos sangre en heces.	Cultivar leche y heces	Prohibir el consumo de leche fresca. El control puede resultar difícil debido a la contaminación general del ambiente.
<i>Listeria monocytogenes</i>	Diseminación septicémica a la ubre. Posible contaminación ambiental por heces .	Signos nerviosos. Abortos. Subclínicos.	Cultivo	Prohibir el consumo de leche fresca. Intervención reguladora
<i>Brucella abortus</i>	Diseminación septicémica a la ubre	Abortos, infertilidad en todos los mamíferos. Mastitis clínica o subclínica	Serología. Cultivo	Prohibir el consumo de leche fresca. Intervención reguladora.
<i>M. tuberculosis</i> , <i>M.bovis</i> <i>Mparatuberculosis</i>	Tuberculosis mamaria. Eliminación por leche	Mastitis crónica. Tuberculosis humano, enfermedad de Crohn.	Cultivo	Erradicación de los hatos.
<i>Campilobacter jejuni</i>	Infección sin causar mastitis. Contaminación de la leche por heces	Mastitis (experimental). Enteritis en humano	Cultivo	Higiene en el ordeño.

	fecales			
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ídem	Enteritis, pseudoapendicitis y artritis en humanos	ídem	Ídem
<i>Staphylococcus spp</i>	Contagioso o ambiental.	M. clínica o subclínica. Infecciones diversas en todos los mamíferos. Intoxicación alimentaria (enterotoxinas)	Cultivo. Cultivo de leche de mezcla.	evitar la refrigeración insuficiente o la conservación prolongada. pasteurización No consumir leche fresca.
<i>Coliformes</i>	Ambiental	Mastitis clínica o subclínica. intoxicación alimentaria	Cultivo	Higienización de explotaciones.
<i>Streptococcus ssp</i>	Contagioso o medioambientales	M. Clínica o subclínica. Bacteremia, endocarditis, meningitis neonatal en el humano	ídem	Ídem
<i>Nocardia asteroide</i>	Frascos multidosis, jeringas, o cánula contaminados IMM. Ambiental.	Mastitis aguda. benigna o subclínicas.	Cultivo	El tratamiento rara vez es eficaz. Identificaron y eliminación selectiva de las vacas infectadas. No consumir leche fresca.
<i>Criptococcus neoformas</i>	Productos contaminados	Mastitis aguda	Cultivo, frotis, biopsia de ubre	Eliminar vacas afectadas. No consumir leche fresca.

XIX.-RESULTADOS Y DISCUSION

En las cuatro fincas se valoró la higiene previa, durante y después de ordeño como buena (3), aceptable (2), regular (1) y mala (0). Además de evaluar si utilizan desinfectante como sellador post-ordeño y si el ordeño es asistido (Si= 1, No= 0) considerados como factores que influyen en la presentación de mastitis, según referencias bibliográficas descritas en el texto, encontrando lo siguiente.

FACTOR	FINCA			
	1	2	3	4
Previa	2	2	2	2
Durante	2	0	0	0
Después	1	0	1	0
Sellado	1	0	1	0
Ordeño asist.	0	1	0	0
Puntuación	5	3	3	2

Si se compara estos datos con los resultados del CMT se observará que las fincas con menor puntuación presentan una mayor frecuencia de mastitis subclínica.

Los resultados obtenidos reflejan que de 191 animales estudiados el 54%(104) (Gráfica 1) presento al menos un cuarto reactivo a CMT, siendo ésta la prevalencia de mastitis subclínica . Esta tasa es similar a la encontrada por Ávila et al en explotaciones bovinas de doble propósito en el trópico húmedo y en la mencionada por Rebhun como existente en aquellos rebaños donde no se toman las medidas adecuadas para el control de la mastitis subclínica. La distribución por finca fue:

CMT	Fincas				Totales	Porcentajes
	(1)	(2)	(3)	(4)		
Positivas	4	16	15	69	104	54%
Negativas	19	25	19	24	87	46%
Totales	23	41	34	93	191	100%

Al comparar los hatos individualmente se observan variaciones significativas. El mayor porcentaje de CMT positivo se observó en las finca 3 y 4 (74% y 44%) mientras que en las fincas 1 y 2 los porcentajes fueron menores (17% y 39%).(Grafica 2)

La distribución de la reacción a CMT por cuartos se muestra tabla 3, (Gráficas 3 y 4)

CUARTOS	FINCAS				TOTAL	PORCENTAJE
	1	2	3	4		
DD	2	4	7	39	52	23.64%
DI	2	9	7	48	66	30.00%
TD	1	6	1	37	45	20.45%
TI	1	9	6	41	57	25.91%
						100.00%
Cuartos Positivos	6	28	21	165	220	28.8%
Cuartos Negativos	83	136	115	206	540	70.70%
Cuarto improductivo	3	0	0	1	4	0.5%
Total de cuartos evaluados	92	164	136	372	764	100.00%

De un total de 764 cuartos evaluados, 540 (70.7%) resultaron negativas, distribuidos por cada cuarto; 374 (28.80%) positivos y 4 (0.5%) improductivos.

La distribución porcentual de los individuos analizados en cuanto a la edad, muestra que el 78% se encuentra en los grupos etéreos de 3 a 8 años, el restante 22 % comprende edades de 9 hasta 17 años. Al valor cada grupo individualmente, se observó mayor porcentaje de mastitis en las edades de 9 a mas años (71% aproximadamente) (Gráfica 6, y 7). En cuanto al número de lactancia, la mayoría de las animales se encuentran entre la primera y sexta siendo esto el 95% de la población, también se observó mayor prevalencia de mastitis subclínica en el grupo de 7 a más lactaciones (Gráficas 8,9 y 10). Del grupo analizado solamente un 9% está por encima de los niveles permisibles de lactación en cuanto a meses que en condiciones de explotación debes ser aproximadamente diez y junto con las que se encuentran en 10 meses de lactancia suman 16% (Gráfico 12), encontrándose que a partir del cuarto mes hasta más de 10 meses de lactación una media de 62,5 % de vacas positivas a mastitis

subclínica (Gráficos 11). Estos tres factores son mencionados por Rebhun, Saran, Chaffer y Blood como factores predisponentes de la mastitis subclínica, coincidiendo en que a medida que aumentan, aumenta la presentación de mastitis.

El 61 % de los especímenes observados en las cuatro fincas objeto de estudio, se encuentra entre los 9 y 14 litros de leche producida por día con la práctica de doble ordeño. Se puede observar relación entre nivel de producción con el aumento mastitis subclínica (Gráficas 13 y 14). En cuanto a niveles de producción y presencia de mastitis, se obtienen datos congruentes con los expresados por Saran y Chaffer et al, encontrándose que en la medida que aumente la producción en esa misma medida se elevan los niveles de mastitis.

La mayor proporción de mastitis entre grupos raciales estudiados esta muy marcada en aquellos que tienen influencia de razas europeas lo que coincide con diferentes autores que consideran que la mayor prevalencia de mastitis se presentara en razas con altos niveles de producción; siendo los grupos pardo-brahmán y holstein-brahmán: Representando estos grupos en términos porcentuales 60 %. De la población estudiada. (Graficas 15 y 16)

Los agentes patógenos mas frecuentemente encontrados son en orden descendente *Estafilococos aureus* (62%), *Estafilococos coagulasa negativa* (37%) *Estreptococos spp* (6%) y *E. coli* (1%). Se observó crecimiento en el 57% de los cultivos (Grafica 15 y 16). La razón por la que estas muestras, a pesar de haber sido positivas a CMT pudo deberse a: que sea en falso positivo al CMT, que se hallan utilizados los medios de cultivo inapropiados (muy poco probable), que exista poca o nula eliminación del agente, que el microorganismo no este distribuido uniformemente en la muestra tomada o que halla ocurrido infección, se haya eliminado al agente y la inflamación este remitiendo.

Todos los microorganismos aislados son considerados productores de mastitis clínica y subclínica. Según Saran, Rebhun, Blood, Blanco y Aguado además los resultados coinciden con estos autores en lo concerniente a que *S. aureus* es el principal causante de mastitis subclínica. *S. aureus* es un agente contagioso. *Streptococcus* spp incluye géneros contagiosos y ambientales, los cuales no pudieron ser determinados. Los *Staphylococcus* coagulasa negativa son considerados patógenos oportunistas. *E. coli* es causante de mastitis clínica principalmente, aunque ocasionalmente de mastitis subclínica y en vista a que su hábitat primario es el tracto digestivo, pudiera estar indicada la realización de un segundo cultivo para descartar contaminación de la primera muestra. Todas estas bacterias representan un riesgo potencial para la salud del hombre, aunque el consumo de leche contaminada relacionándose con trastornos digestivos, no se puede descartar la posibilidad de que el consumo de leche o sus derivados especialmente frescos, sean fuente de infección para el ser humano provocando alteraciones patológicas asociados con los agentes identificados. Se evaluó la sensibilidad antimicrobiana únicamente en los *Staphylococcus aureus* aislados y *E. coli* (Gráficas 17 y 18) por insuficientes recursos económicos en el laboratorio. De las cepas de *S. aureus* identificadas son resistentes el 30% a la Tetraciclina y el 15% a la penicilina, son sensibles del 98% al 100% de las cepas a los demás antibióticos evaluados. En el caso de la *E. coli* aislada, presentó resistencia frente a todos los antibióticos evaluados a excepción de ceftriaxone.

XX.-CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

- 1.- La prevalencia de mastitis subclínica en los cuatro hatos estudiados es de 54% considerada como alta.
- 2.- Los factores que son predisponentes observados tienen relación con la tasa de prevalencia, mereciendo mayor atención aquellos relacionados con el manejo.
- 3.- Se logró aislar microorganismos causantes de mastitis y determinar la sensibilidad antimicrobiana del al menos todas las cepas de dos especies encontradas.
- 4.- Todos los microorganismos encontrados han sido relacionados con procesos patológicos en el ser humano, por lo que la leche podría ser una fuente de infección.
- 5.- En todas las granjas se debe establecer un programa integral para el control y prevención de la mastitis que incluya diagnóstico oportuno, mejora de las condiciones de ordeño y de manejo, tratamiento adecuado y selección.
- 6.-El tratamiento de infecciones por *S. aureus* indicado para estas granjas debe ser aquel que in vitro presente mejor capacidad para inhibir crecimiento en 24 horas, aunque esto en condiciones de campo y debido a la fisiología del animal podría tener variaciones.

La penicilina y tetraciclina es recomendable excluirlas como alternativas de tratamiento, según nuestros datos. En la mastitis por otros microorganismos se debe valorar la etapa de lactación en que se encuentra la vaca y tratar hasta el secado aquellas vacas que se encuentran en la mitad o final de la lactación.

XXI.- BIBLIOGRAFIA:

1. AGUADO SOLÍS, J (2001). Características de los diferentes agentes etiológicos causantes de mastitis bovina. III Congreso nacional de mastitis y calidad de la leche. León Guanajuato, México.
2. ALONSO, R (2001). Genética de la resistencia o susceptibilidad a Mastitis. III Congreso nacional de mastitis y calidad de la leche. León, Guanajuato (México).
3. AVILA, TS, GUTIERREZ CAJ, SANCHEZ, GHI, CANIZAL JE, TORRES VS. (2001). Prevalencia de mastitis y glándulas improductivas en hatos pequeños en la cuenca lechera de Xochimilco, Mexico, D.F, (México)
4. BEAUDEAU F ET AL (2002). Riesgo de mastitis clínica en rebaños con elevada proporción de bajos RCS individuales. [http: /www.solomamitis.com](http://www.solomamitis.com).
5. BIBERSTEIN E., ZEE Y.(1990) Tratado de microbiología veterinaria. Acribia S A. Zaragoza (España) 17:157-161; 19:167-173; 20:175-182; 43:359; 44:367-371; 45:382-383,390-391.
6. BLANCO, M (2001). Diagnóstico de la mastitis subclínica bovina. III Congreso nacional de mastitis y calidad de la leche. León Guanajuato (México).
7. BLOOD (1986). Medicina veterinaria. Interamericana 6^{ta} ed. México, DF. (México) **15**:491-546.
8. CARTER, G. R (1986). Fundamentos de bacteriología y micología veterinaria. Acribia S.A. Zaragoza, (España). **9**:127-133; **10**:135-137; **15**:161-164; **17**:171-182; **25**:219-225; **26**:229-234; **28**:246; **30**:255-260.

9. DAHME E., WEISS (E)(1989) Anatomía patológica espacial veterinaria. .Acribia S A Zaragoza. (España) 10:285-289.
10. GARCIA SACRISTAN A., (1996) Fisiología Veterinaria, MCGraw-Hill-Interamericana. (España)
11. GODDEN S M ET AL (2002). Efectos del momento del muestreo y la manipulación de las muestras en la detección de *Staphylococcus aureus* en la leche de cuarterones con mastitis subclínica. [http:// www.solomamitis.com](http://www.solomamitis.com).
12. KAIPANEN T, ET AL (2002). Factores de virulencia de Escherichia coli aislados de mastitis clínicas. Marzo [http: / www.solomamitis.com](http://www.solomamitis.com).
13. KERRO D O, VAN DIJK KE, NEDERBRAGT, H (2003.). Factores implicados en la patogénesis temprana de la mastitis bovina por *Staphylococcus aureus*. [http: / www.solomamitis.com](http://www.solomamitis.com).
14. KIRK, JHON H (2001). Tratamiento de las vaquillas con antibióticos antes del parto. III Congreso nacional de mastitis y calidad de la leche. León Guanajuato (México).
15. PASTOR, JOAQUÍN (1999). Propedéutica y Biopatología clínica. Mira (España).15:306-317.
16. PEREZ, F Y PEREZ (1970) Fisiopatología y clínica de la glándula mamaria. Científica Medica. (España).
17. PHILPOT, NELSON W (2001). Relación entre el manejo del hato y la mastitis. III Congreso nacional de mastitis y calidad de la leche. León Guanajuato (México).

18. PICCININI R, ZACCONI A (2002). Relaciones entre plásmidos aislados de *Staphylococcus aureus*, leucocitos de leche y resistencia antimicrobiana. Marzo. [http:// www.solomamitis.com](http://www.solomamitis.com).
19. PRITCHARD D E (2003). Alimentación de la vaca seca en transición y mastitis. Abril [http:// www.solomamitis.com](http://www.solomamitis.com).
20. Q.B.P. M. en C. Ma. Eugenia Velasco Zebadúa MVZ. Alberto Yamasaki Maza (México).
21. REBHUN C WILLIAM (1999). Enfermedades del ganado vacuno lechero. Acribia S A, Zaragoza (España)**VIII**: 362 - 399
22. Reunión Anual del Consejo Nacional de Mastitis (2003). [http:// www.conline.or](http://www.conline.or)
23. RUIZ, SH (2001). Terapia de la mastitis. III Congreso nacional de mastitis y calidad de la leche. León, Guanajuato (México).
24. SARAN A. – CHAFER (2000). Mastitis y calidad de la leche. Intermedica, Buenos Aires, (Argentina). **2**:9; **3**:11- 25; **4**:27-29; **5**:33,41-47; **6**:49-60; **8**:73-84; **9**:89-97; **10**:99-107; **13**:133-137.
25. SCANLAN CH. M. (1991). Introducción a la bacteriología Veterinaria. Acriba S A .Zaragoza. (España).**7**:73-77; **8**:79-85; **9**:87-90; **10**:93-95;. **27**:133-135; 45:199-201; **46**:205-206.
26. SIERRA, V.; MARÍN, M; PÉREZ, RH Y RODRÍGUEZ S. C (2001). Utilización de selladores en el control de la mastitis en sistemas de doble propósito. III Congreso nacional de mastitis y calidad de la leche León Guanajuato (México).

27. SISSON S., GROSMAN (2000) Anatomía de los animales domésticos. Manson SA.V ed.
28. VAN OOSTVELD K, VANGROENWEGHE F, DOSOGNE H, BURVENICH C (2002). Los polimorfonucleares sanguíneos sufren mayor grado de apoptosis en lactación temprana. [http:// www.solomamitis.com](http://www.solomamitis.com) .
29. WATTIAUX, A (2001). Mastitis: prevención y control. III Congreso nacional de mastitis y calidad de la leche. León Guanajuato (México).
30. KONEMAH H.; ALLEN S.; JANDA W.; SCHREKENBERGER P.; WINN W. (2001) Diagnostico microbiológico 5 ed. Intermedica (Uruguay). **11**:532-555; **12**:564-586; **13**:664-665.

ANEXOS

ANEXOS1.

Características diferenciales de los Staphylococcus y los micrococos.

	S. aureus	S. epidermidis	S. intermedius	S. hyicus	S. saprophyticus	Micrococos
Coagulasa	+	-	+	V ¹	-	-
Hemolisis (β)	+	V	+	-	-	-
Pigmento	+	V	-	-	V	V
Maltosa	A ²	A	V	-	A	-
PAB	+ ⁺	+	+	-	NT ⁴	NT
Manitol	A	-	V	-	V	-
DNAsa	+	-	V	+	-	-
Novobiocina	S ⁵	S	S	S	R ⁶	S
Glucosa (O-F)	F ⁷	F	F	F	-	O ⁸

+ El 90% de las cepas, o mas, positivas; -, 90% de las cepas negativas.

¹ Reacciones variables. ² Acido. ³ Agar base purpura (producción de acido). ⁴ No probado. ⁵ Sensible. ⁶ Resistente. ⁷ Fermentacion.

⁸ Oxidacion.

Anexo 2

Características diferenciales de los Streptococcus aislados de infecciones intramamarias.

Microorganismos	Grupo de Lancefield	Prueba CAMP	Hidrólisis de:		Producción de acido en caldo con		Reduccion de LAM ♣ al 0.1%
			Esculina ♡	Hipurato sodico	Inulina	Refinosa	
<i>Str. agalactiae.</i>	B	+	-	+	-	-	-
<i>Str. dysgalactiae.</i>	C	-	♦	-	-	-	-
<i>Str. uberis.</i>	E/Neg ≠	-/+	+	+	+	-	-
Enterococos ♣	D	-	+	♦	-/+	-/+	+
<i>Str. bovis.</i>	D	-	+	-	♦	+	-
Especies de Streptococcus	G	-	+	-	-	-	-

♡ Prueba realizada en el medio basico de DIFCO Agar-sangre.triptosa con un 5% de sangre desfibrinada o con un 5% de suero, 0.05 de Esculina y 0.01 de citrato ferrico.

♣ Leche Azul de Metilo. ≠ Extractos de algunas cepas de *S. uberis* reaccionan con sueros anti-streptococcus del grupo E, pero no inducen la formación de anticuerpos frente a *Streptococcus* del grupo E en el conejo.

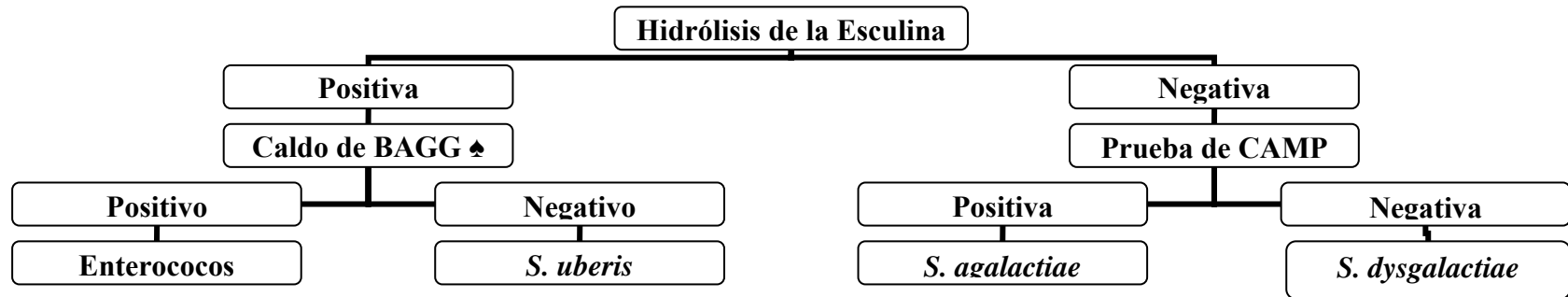
♣ *Str. faecalis* y *Str. faecum*.

♦ algunas cepas positivas; algunas negativas. -/+ La mayoría de las cepas negativas

♣ Caldo glicerina-glucosa- azida tamponado..

ANEXO 3

Identificación presuntiva de los principales Streptococcus en muestras de leche.



Anexo 4.- Diferenciación de los principales generos y de algunas especies de Enterobacteriaceae.

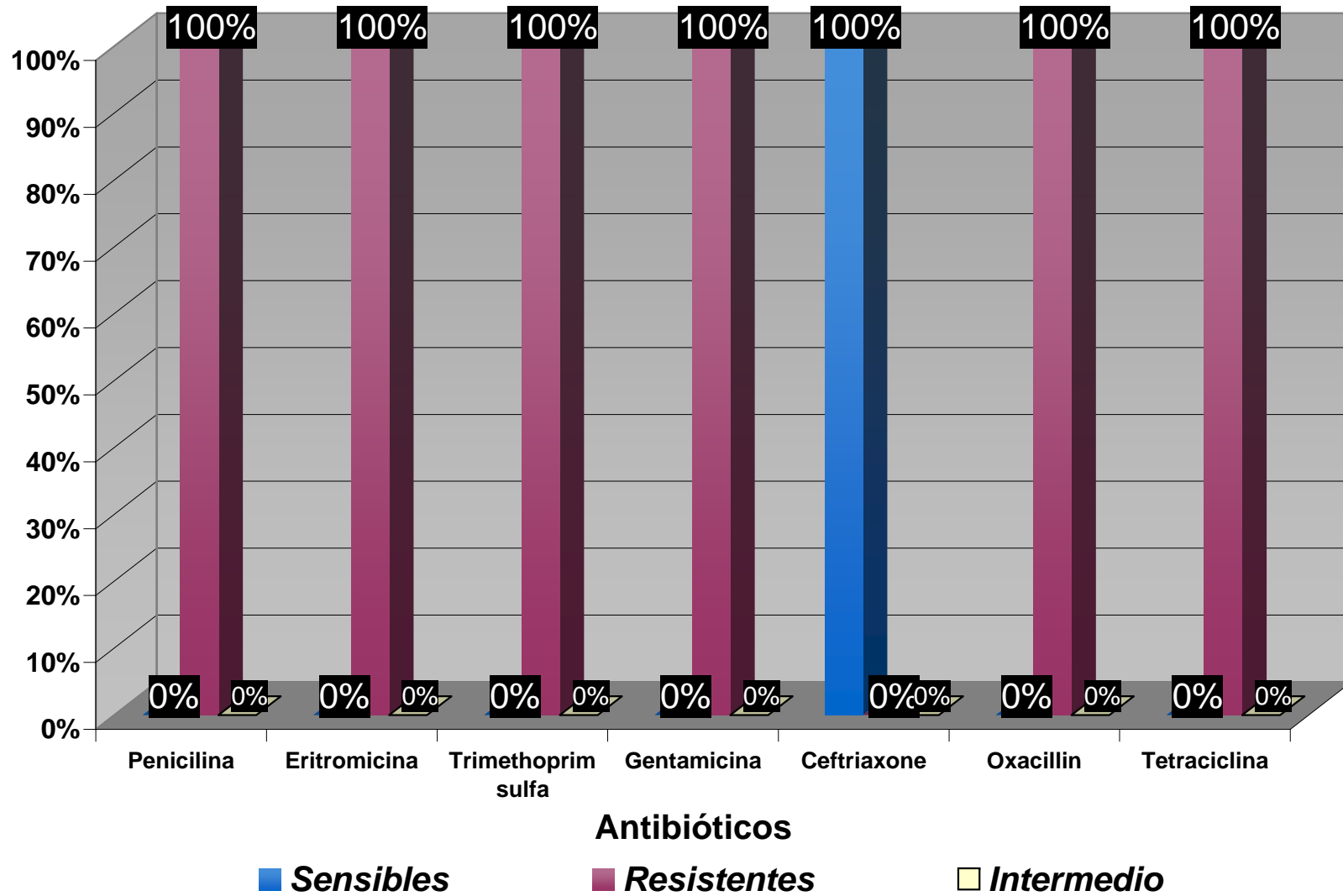
Prueba	Escherichia	Shigella	Salmonella	Arizona	Citrobacter	Klebsiella	Enterobacter cloacae	Enterobacter aerogenes	Hafnia	Serratia	Proteus vulgaris	Proteus mirabilis	Providencia
Indol	+	-/+	-	-	-	-/+	-	-	-	-	+	-	+
Rojo Metilo	+	+	+	+	+	-	-	-	+/-	-/+	+	+	+
Voges-Proskauer	-	-	-	-	-	+	+	+	+/-	+	-/+	-/+	-
Citrato de Simon	-	-	d	+	+	+	+	+	+/-	+	d	+	+
Gas H ² S (TSI)	-	-	+	+	+/-	-	-	-	-	-	+	+	-
Ureasa	-	-	-	-	dw	+w	+w-	-	-	dw	+	+	-
Movilidad	+/-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Lisina	d	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-
Ornitina	d	d	+	+	d	-	+	+	+	+	-	+	-
Fenilalanina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Gas de glucosa	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+	-
Lactosa	+	-	-	d	d	+	+	+	-/+	-/+	-	-	-
Sacarosa	d	-	-	-	d	+	+	+	d	d	+	d	d

Clave: (+) Positivo(a) en el 90% de los aislamientos; (-) Negativo(a) en el 90% de los aislamientos; (d) Positivo(a) tardío(a) (de 3 – 5 días); (w) Reacción débil; (+/-) Positividad inferior al 90%; (-/+) Negatividad inferior al 90%

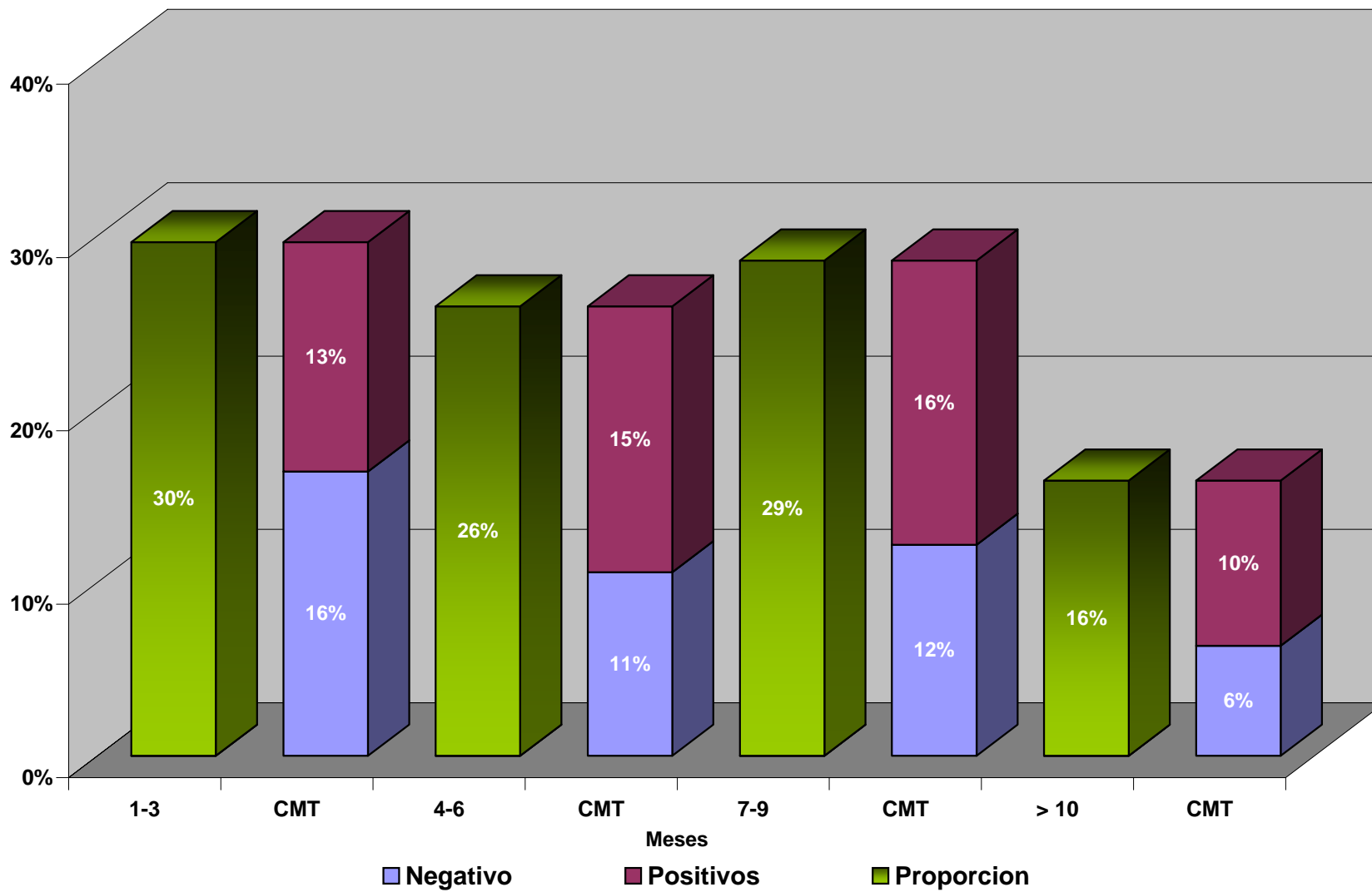
Anexo 5.-**Medios de cultivos y test confirmatorios.**

General		Tinción de Gram KOH Catalasa Oxidasa
Especificos	Streptococcus	Fermentación de carbohidratos Serologia (Lancefield) Test de hipurato de sodio Reaccion CAMP Reaccion de hemolisina β
	Staphylococcus	Test de coagulasa
	Gram negativos	MacConkey Triple azucar hierro EMB Citrato de Simmons Gelatina Motilidad
Miscelaneos		Dependiendo de cada microorganismo

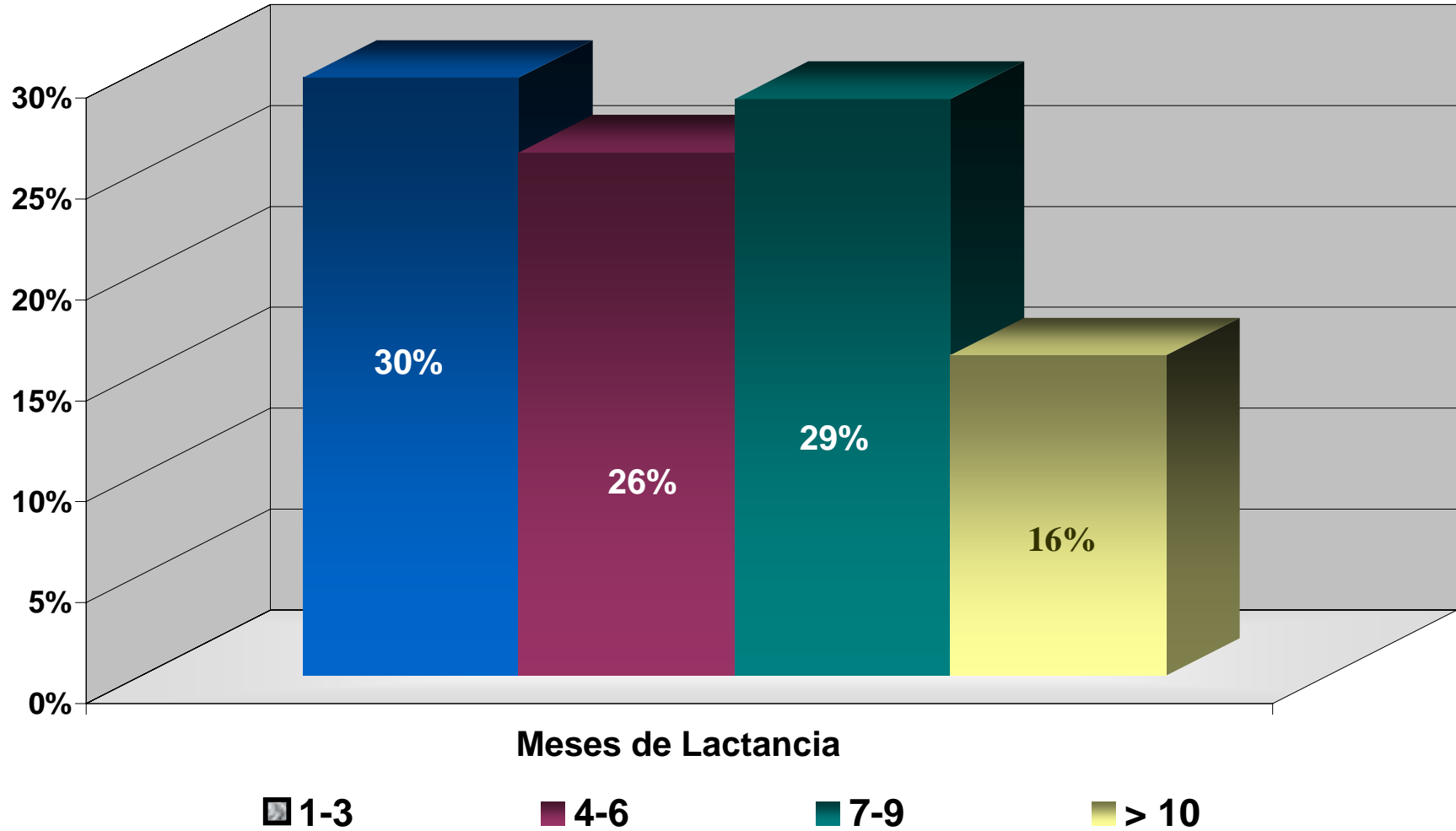
Gráfica 20.- Sensibilidad de *E. coli*



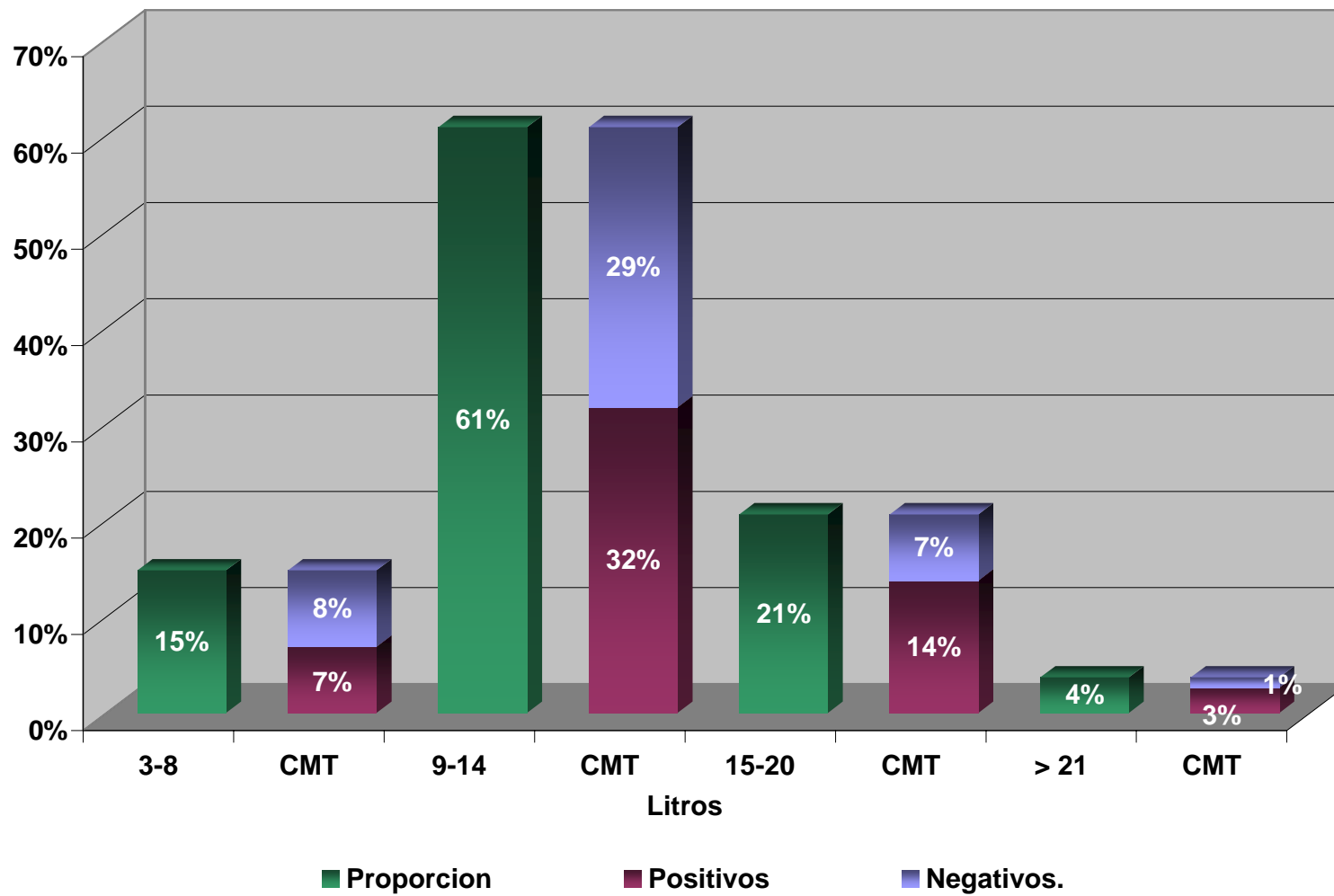
Gráfica 12.- Distribución de los meses de lactancia y Reacción al CMT



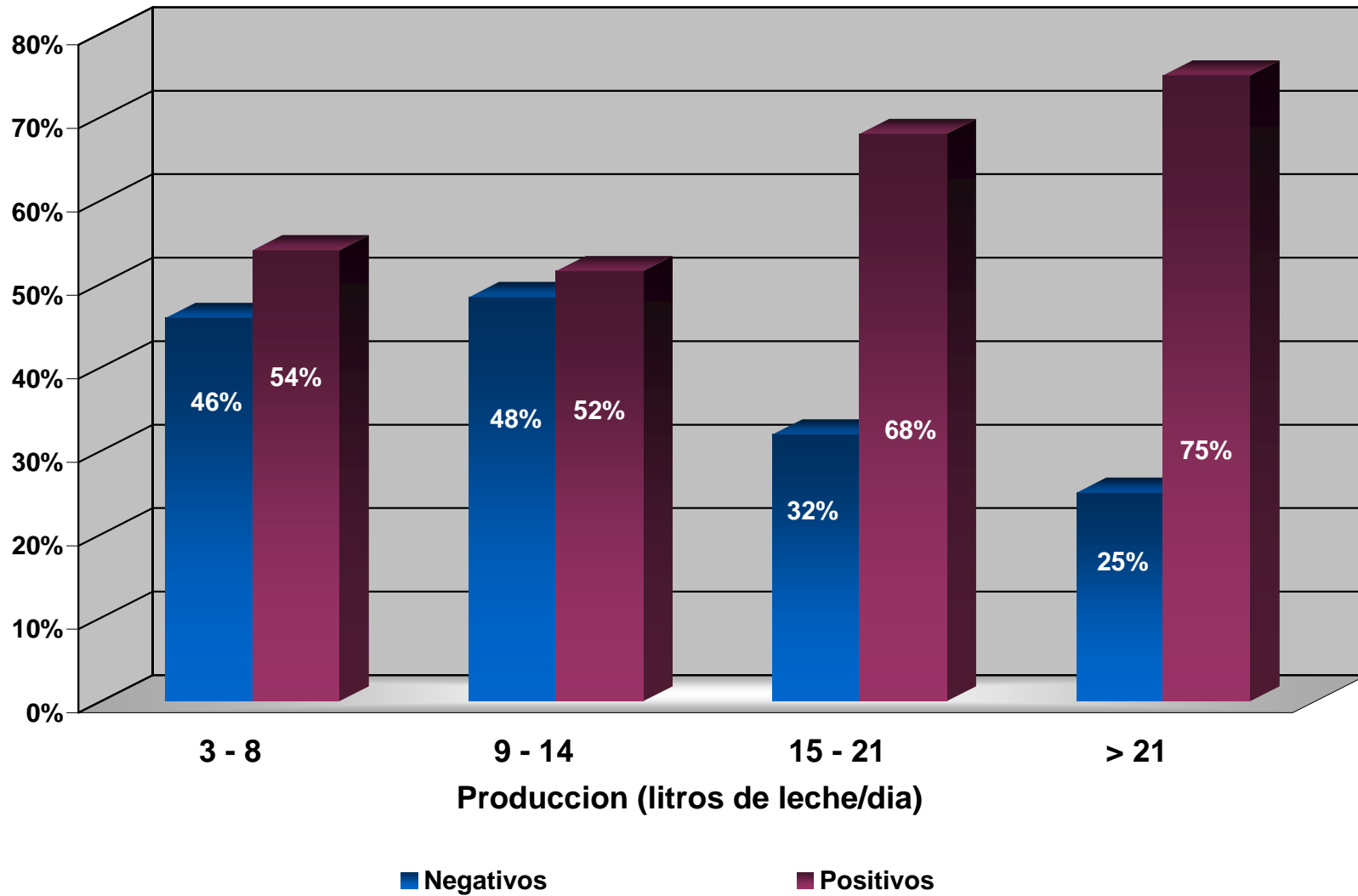
Gráfica 12.1.- Distribución de los Meses de Lactancia en que se encuentran las Vacas Estudiadas.



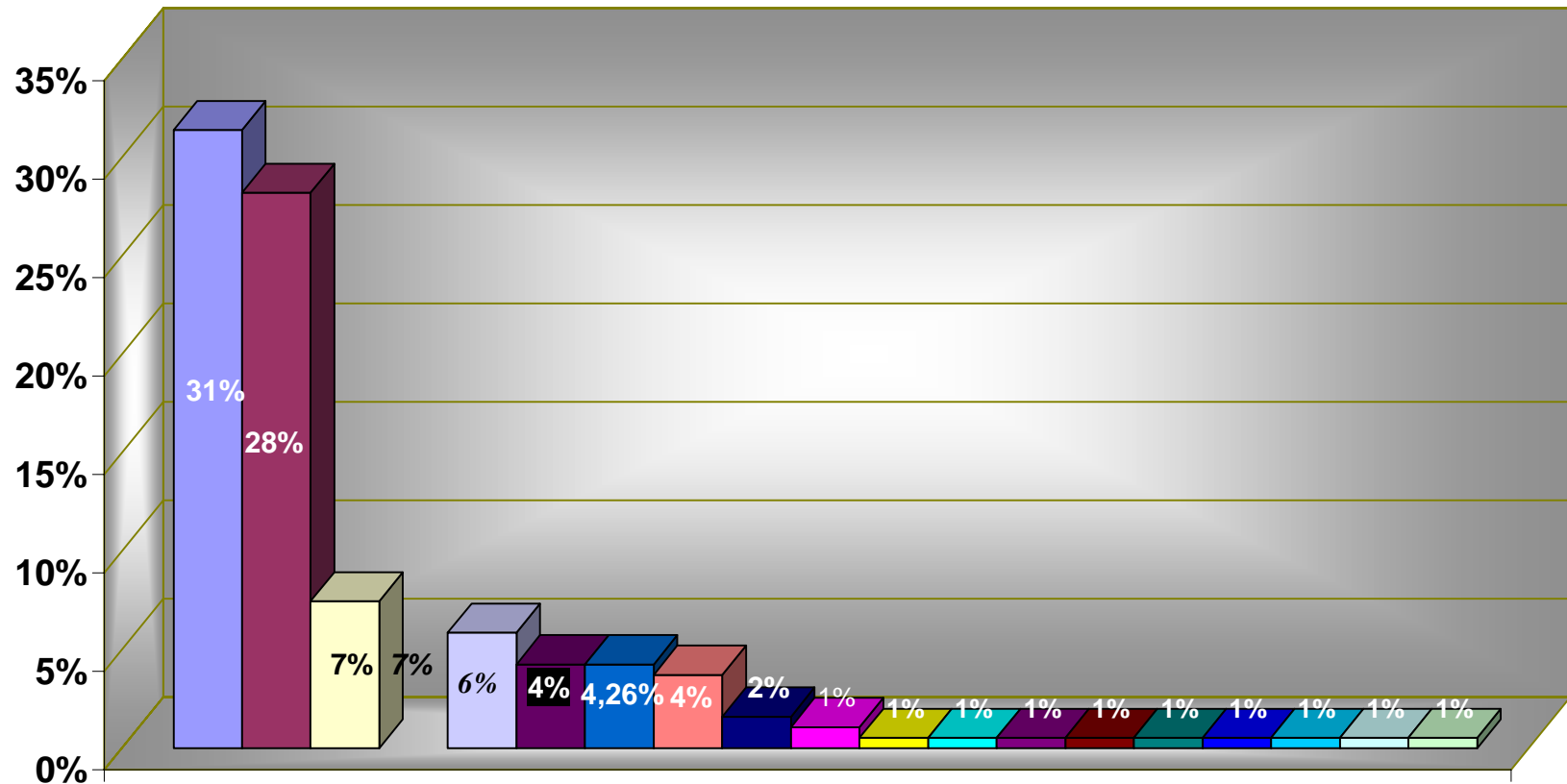
Grafica 13.- Distribución de la producción de leche y reacción a CMT (Lts de leche/día)



Gráfica 14.- Relación de Mastitis - Producción



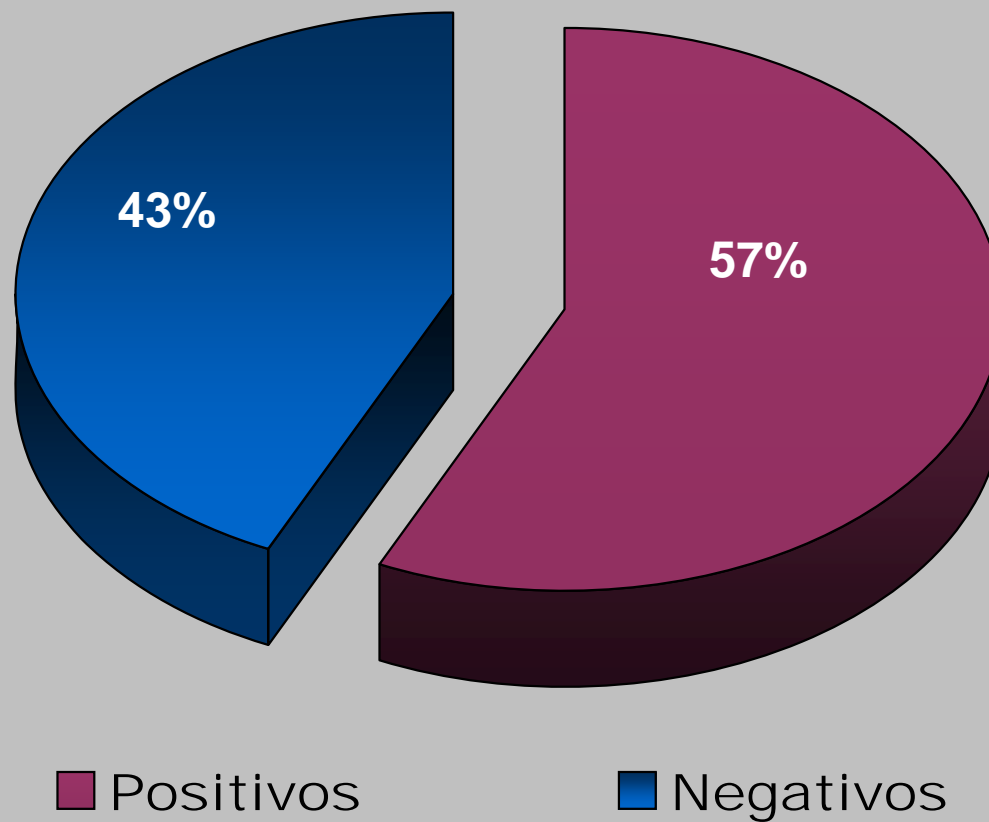
Gráfica 15.- Distribución de Razas en los hatos estudiados



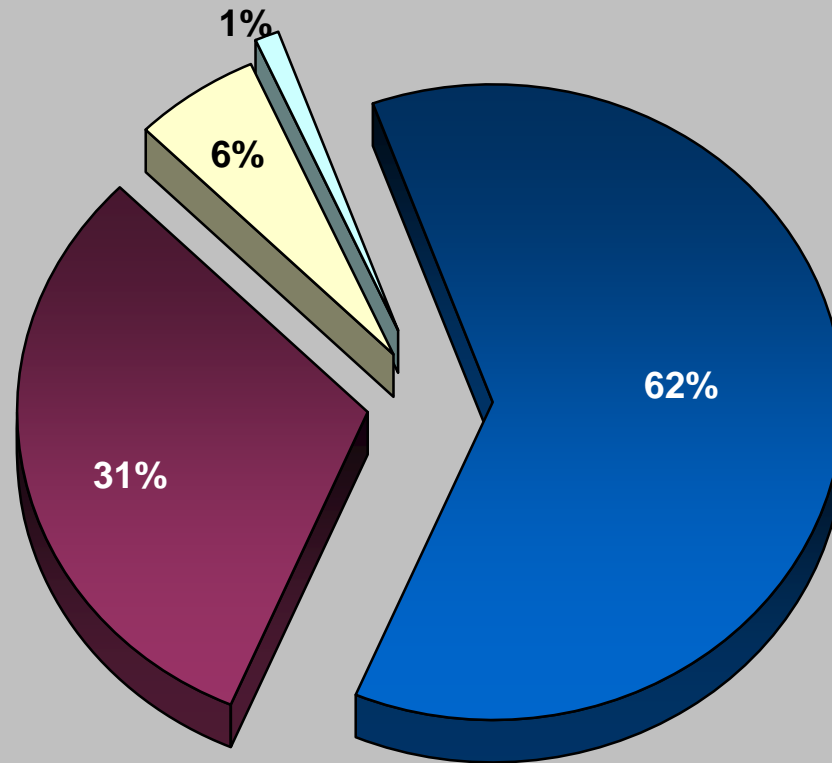
Razas

- | | | | | | | | |
|-------|---------|-----|--------|-------|-----|-------|---------|
| P/Br | H/Br | H | P/H/Br | P | J | H/P | Gr/H |
| Gr/P | S/B | Br | H/J | J/P/H | P/J | Gr/Br | Gr/Br/H |
| Gs/Br | Gs/P/Br | S/P | | | | | |

Gráfico 17.- Resultado de Cultivo Microbiológico



Gráfica 18.- Microorganismos aislados



- **Staphylococcus aureus**
- **Staphylococcus Coagulasa Negativos**
- **Streptococcus spp**
- **Escherichia coli**