

2 E. No. 46

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



MASTITIS BOVINA, SU ETIOLOGIA Y SU IMPORTANCIA

TRABAJO MONOGRAFICO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

PRESENTA

ARGELIA HERNANDEZ ESPINOZA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	<u>Pág.</u>
CAPITULO I: Introducción.....	1
CAPITULO II: Generalidades.....	4
2.1 Anatomía y Fisiología de la Glándula Mamaria.....	8
2.2 Clasificaciones de la Mastitis.....	17
2.3 Factores de Resistencia de la Glándula Mamaria de Bovinos.....	34
2.4 Substancias Antibacterianas de la leche cruda.....	40
2.5 Inmunidad en Mastitis.....	42
CAPITULO III: Etiología y Diagnóstico.....	48
3.1 Etiología.....	48
3.2 Diagnóstico.....	54
3.2.1 Pruebas Indirectas.....	54
3.2.2 Pruebas Directas.....	81
CAPITULO IV: Tratamiento.....	111
4.1 Mastitis Aguda.....	112
4.2 Mastitis Sublínica.....	113

	<u>Pág.</u>
4.3 Mastitis Crónica.....	114
4.4 Mastitis Micótica.....	116
CAPITULO V: Importancia.....	117
5.1 Residuos de Fármacos y sus Efectos.....	117
5.2 Ingestión de Leche Contaminada con Microorganismos.....	122
5.3 Importancia Económica.....	124
CAPITULO VI: Recomendaciones.....	127
6.1 Medidas de Control a Seguir.....	128
CAPITULO VII: Conclusiones.....	140
CAPITULO VIII: Bibliografía	143

CAPITULO I

INTRODUCCION

Desde el punto de vista zoológico, los bovinos pertenecen a la clase de los mamíferos vertebrados de sangre caliente, cubiertos por pelo, que paren a sus crías vivas y las alimentan durante un período variable con la secreción de las glándulas mamarias, o sea, la leche.(28)

En general se define como Mastitis la inflamación del parénquima de la glándula mamaria y del tejido celular interlobular; es pues, una inflamación compleja de la ubre. El término deriva del griego mastós, mama, e -itis, que denota un proceso inflamatorio. (1,19)

Esta enfermedad causada principalmente por bacterias y por hongos, se encuentra en todas partes del mundo donde existen vacas lecheras, aunque las vacas destinadas a producción de carne también pueden ser afectadas.

Las primeras son más propensas que las segundas porque sus ubres son más voluminosas y están más expuestas a traumatismos e infecciones, factores que intervienen en la inflamación de la glándula.

La Mastitis es un proceso difícil de combatir por los factores que intervienen en su desarrollo. De las enfermedades que afectan al ganado lechero, después de la tuberculosis, es una de las más subestimadas en nuestro país.

Considerando lo anterior, el objetivo principal de este trabajo es mostrar el estado actual de la Mastitis en México; por ser una de las enfermedades que causan mayores pérdidas económicas en la industria lechera, y además porque también puede ser origen de infecciones transmitibles al hombre.

El Instituto Nacional de la Leche en 1981, estimó que las pérdidas por esta enfermedad alcanzaron el 25% de la producción láctea total. En ese mismo año la producción nacional de leche fue de 6,856.4 millones de litros, lo que significa que hubo una pérdida de 1,714.10 millones de litros.(61)

Por otra parte, México es un país deficiente en producción de leche, por lo que para cubrir las necesidades

del país es necesario la importación anual de leche en polvo. Esta intruducción de leche se ha incrementado notablemente de 1976 a 1981, de 521.60 a 1,371.45 millones de kilogramos. (61)

En hatos sin programas de control de Mastitis, aproximadamente el 50% de las vacas se encuentra afectado en la mitad del número de sus cuartos. (56)

La mayoría de los cuartos enfermos no se puede detectar sin usar pruebas especiales que permitan determinar - cambios físico-químicos o celulares de la leche. Por lo que otro de los objetivos es hacer una recopilación de las técnicas usadas para la determinación de esta - enfermedad; así como hacer algunas recomendaciones para evitar la diseminación.

CAPITULO II

GENERALIDADES

La Mastitis es un proceso inflamatorio en respuesta al efecto de irritación de la glándula mamaria sin tomar en cuenta la causa que ocasiona el trastorno. El 80% de los casos de Mastitis es ocasionado, por la invasión de gérmenes patógenos específicos en los senos y tejidos de la ubre; el resto de la Mastitis es el resultado de lesiones traumáticas al tejido de la ubre y tetas con o sin invasión secundaria de gérmenes.

Esta enfermedad constituye dentro de la patología veterinaria una agrupación nosológica que ofrece caracteres notablemente distintos a los de otras enfermedades infecciosas. La Mastitis no aparece como las pestes, que representan el tipo clásico de la epidemia de una manera aguda o súbita. Es una enfermedad poco aparatosa, latente, pero muy persistente. (1)

Esta infección se realiza en tres fases: invasión, in

fección e inflamación. Solo el conducto excretor es importante como puerta de entrada, siendo una explicación que por medio de una presión negativa o una proliferación a nivel del conducto es como las bacterias entran salvando el obstáculo que representa el esfínter. Una vez ocurrido ésto, parte de las bacterias se eliminan por la salida de la leche, en tanto que otras continúan invadiendo la cavidad o glándula mamaria, tardando la implantación de uno a cuatro días, la que es acompañada con la inflamación de los glóbulos del tejido mamario y con la invasión de los vasos linfáticos de donde se extiende a los ganglios supramamarios, a la vez, - gran número de neutrófilos penetran en los canales lácteos, existiendo la posibilidad de que se produzca una reacción generalizada. Hay cierto grado de fibrosis - del tejido interalveolar, extendiéndose hasta el posible resultado de atrofia. (28)

En la transmisión de la enfermedad intervienen varios factores entre los que podemos mencionar:

Genéticas

Ubres voluminosas son más susceptibles a heridas que ubres pequeñas, contaminándose más fácilmente. De igual manera, conductos galactóforos amplios favorecen a la infección. Varios investigadores han encontrado los cuartos posteriores de la ubre, más frecuentemente infectados que los cuartos anteriores; considerando que se debe a que los cuartos posteriores son más grandes y producen más leche que los anteriores.

Edad

Vacas de cualquier edad están propensas a la Mastitis, pero se encuentra un porcentaje más alto de ubres infectadas en vacas de 5 a más años de edad que en animales jóvenes. El incremento tan marcado en la incidencia total de la Mastitis con el avance de edad, parece deberse a la combinación del efecto acumulativo de la Mastitis previa y al incremento de los casos primarios con la edad.

Período de Lactación

Las vacas son más susceptibles a Mastitis en el período de lactación y antes del parto.

Manejo

Ordeños incompletos, ordeño excesivo, ordeño manual o mecánico mal efectuado, fallas en el funcionamiento - del equipo mecánico en cualquiera de sus sistemas, alojamiento estrechos, fríos, húmedos, con ventilación e iluminación inadecuada.

Sanitarias

Medio ambiente contaminado, falta de limpieza en las - instalaciones ya que, la leche procedente de animales afectados por Mastitis contaminan el piso, la cama, el pesebre y al echarse la vaca o al rozar la ubre, los - pezones pueden infectarse a través del conducto galactóforo; falta de higiene en el ordeñador, pues con las manos sucias y contaminadas con la leche de animales mami

tosos, ordeña una vaca sana y así penetran a la parte inferior del pezón, llegando la infección por el canal galactóforo y ascendiendo hasta llegar al tejido glandular de la ubre; carencia o deficiencia de higiene durante y al término del ordeño ya que los becerros que maman una vaca mamitosa y luego a una sana, la contaminan (ésto es en caso de que los becerro estén con sus madres). (29)

2.1 Anatomía y Fisiología de la Glándula Mamaria

2.1.1 Anatomía Normal de la Glándula Mamaria.-

Los mamíferos se distinguen de otros animales porque las hembras poseen glándulas mamarias para la producción de leche, la cual es el único alimento del recién nacido.

Anatomía Macroscópica.-

La glándula mamaria de los bovinos está formada por cuatro glándulas o cuartos. Cada glándula es una entidad

dad independiente, conteniendo cada una de ellas su propio sistema de ductos y su propio pezón. Las glándulas de un mismo lado también se encuentran separadas, pero es difícil distinguir su separación.

El orificio de la teta se conecta directamente con la cisterna de la teta o cavidad dentro de la teta, comunicándose en su parte superior con la cisterna de la glándula. A partir de esta cisterna se inicia el tejido glandular. La cisterna de la teta está cubierta por un epitelio de dos capas que descansan sobre una lámina propia de tejido conectivo sinuoso. La terminación de la teta de la vaca tiene una abertura, el canal del esfínter. Este esfínter retiene la leche en la ubre contra la presión desarrollada por la acumulación de la leche, además evita que entren a la ubre el polvo y las bacterias. (1,29)

Anatomía Microscópica.-

El componente básico del tejido secretor de la glándula mamaria es el alveolo. Los alveolos se encuentran -

agrupados formando racimos o lóbulos, en los que puede haber hasta 200 alveolos.

Los alveolos son de forma esférica, con un lumen central revestido por células epiteliales secretoras.

Las células epiteliales descansan sobre la membrana basal. La leche secretada por la células epiteliales es drenada del lumen por un pequeño conducto. Estos conductos se unen para formar canales intralobulares que llevan la leche hasta el exterior del alveolo (conducto alveolar).

Entre la membrana basal y las células secretoras de los alveolos se encuentran las células mioepiteliales, las cuales se contraen bajo la acción de la oxitocina produciéndose la expulsión de la leche de el lumen alveolar.

Los lóbulos de los alveolos a su vez forman grandes racimos separados entre si, por tejido conectivo, dicho tejido conectivo se une a los ligamentos formando el ligamento suspensorio de la glándula. Cada alveolo está rodeado de capilares, los que suministran la sangre,

que contiene los precursores de la leche, a las células epiteliales para la síntesis láctea.

Deberán de circular de 500 a 1000 litros de sangre por la ubre de un bovino para producir un litro de leche. Las arterias que irrigan la glándula mamaria de la vaca se derivan de las arterias pudendas externas. La sangre es drenada por dos rutas principalmente, la vena abdominal subcutánea o vena de la leche y la vena pudenda externa. La inervación de la ubre proviene de los nervios inguinales y del plexo mesentérico posterior del sistema nervioso simpático. (1,29)

2.1.2 Fisiología Normal de la Glándula Mamaria.-

El objetivo fisiológico de la glándula mamaria es la síntesis y secreción láctea.

Desarrollo de la Glándula Mamaria.-

El desarrollo de la ubre comienza en las primeras etapas del crecimiento fetal, como una área del ectodermo

en ambos lados de la línea media en las regiones en donde la glándula madura se localizará. A estas áreas elevadas se les conoce con el nombre de líneas de leche. A lo largo de estas líneas se presentarán después unas pequeñas elevaciones del ectodermo que eventualmente se desarrollarán en glándulas mamarias.

En el momento del nacimiento, la teta estará presente así como las cisternas de la teta, las cisternas de las glándulas y además las estructuras que posteriormente se desarrollarán para constituir el sistema de conductos.

Desde el nacimiento hasta la pubertad ocurren pocos cambios aunque puede haber algún depósito de grasa en los animales bien alimentados.

De la pubertad a la preñez y con ciclo estral hay desarrollo de la glándula mamaria, siendo en muchas especies de mamíferos los estrógenos responsables del desarrollo de los sistemas de drenaje de la leche y, la progesterona la responsable de la proliferación del

tejido glandular o secretor. Sin embargo se ha determinado que en los bovinos, ambas hormonas son necesarias para el desarrollo de las dos estructuras. La prolactina y la somatotropina (STH) también son importantes para el desarrollo glandular durante este período.

La ubre únicamente se agranda de manera manifiesta - cuando comienza la secreción del calostro, poco tiempo antes del nacimiento del ternero. (62)

2.1.3 Secreción Lactea.-

El fenómeno de la secreción láctea es muy complejo. La secreción o expulsión de la leche son fenómenos controlados hormonalmente. La prolactina, los corticoesteroides y la insulina son necesarias para el inicio de la lactación. (62)

La prolactina es esencial para la proliferación y diferenciación de las células secretoras al término de la

gestación, y actúa sensibilizando a las células mamarias para la acción mitogénica de la insulina. En las células ya diferenciadas la prolactina regula la síntesis de RNA y proteínas, siendo por tanto esencial para el desarrollo enzimático y capacidad de síntesis de los componentes de la leche en las células recientemente formadas.

Los glucocorticoesteroides regulan en parte la velocidad de síntesis de algunas enzimas esenciales para la biosíntesis de la leche y son esenciales junto con la insulina para el desarrollo del retículo rugoso endoplásmico que caracteriza a las células mamarias maduras.

Las células mamarias secretoras dependen directamente de la insulina para su formación, desarrollo, supervivencia y funcionamiento.

El mantenimiento de la secreción láctea depende en gran parte del estímulo de succión o de la ordeña que tiene un efecto directo en la liberación de la prolac

tina, ACTH y oxitocina. Además al remover la leche de la glándula mamaria, se producirá nueva síntesis de leche. Una falla en la remoción de la leche aumenta la presión intramamaria provocando el cese de la secreción y el inicio de la involución.

Las minúsculas células epiteliales de los alveolos son las "fábricas" en las cuales los elementos transportados por la sangre y extraídos de los capilares se transforman (cuando es necesario) en los componentes de la leche: grasa, lactosa, proteína, minerales, vitaminas, etc. Estas células tienen la facultad única de sintetizar sustancias enteramente diferentes de aquellas de las que proceden. Además se cree que cada célula alveolar produce todos los componentes de la leche, y que no hay células especializadas para cada sustancia.

La leche queda almacenada en los alveolos, y para que sea obtenida por el ternero, debe pasar desde éstos hacia los conductos y cisternas más grandes. El proceso es conocido como "bajada" de la leche, que se produce de la siguiente manera: cuando la ubre (especialmente las tetas) es estimulada por un ternero o un ordeñador.

Los estímulos son conducidos por nervios hasta el hipotálamo y centros superiores del cerebro a través de la médula espinal produciéndose la liberación de oxitocina. La oxitocina es liberada de la neurohipófisis hacia el sistema circulatorio donde viaja hasta las células mioepiteliales de los alveolos. Estos se contraen ante el estímulo de la oxitocina produciéndose la expulsión de la leche. (1,14)

En el bovino la máxima producción láctea se alcanza de 3 a 6 semanas después del parto y luego baja gradualmente hasta el final de la lactación o al cese del amantamiento o de la ordeña, y posteriormente ocurre una rápida regresión de las células secretoras y una degeneración de las estructuras alveolares y lobulares. Las únicas estructuras que permanecen hasta la próxima lactación son los conductos. (62)

En la vaca el período entre lactancias se le llama período seco.

Muchos estudios indican que los períodos secos de menos de 6 semanas, causan una baja en la producción de la leche durante la lactación siguiente en comparación con períodos de secado de 6 a 8 semanas. Las vacas con períodos cortos de secado o sin ellos, producen entre 60 y - 70% de la leche producidas por vacas que tienen de 6 a 8 semanas de secado. (14,62)

2.2 Clasificaciones de la Mastitis

La Mastitis se clasifica tomando en cuenta cualquier causa que destruya u obstaculice la función normal de la ubre. Estas pueden ser:

2.2.1 Físicas.-

Por golpes, pisadas, heridas y traumatismos de la ubre en general. (19)

2.2.2 Infecciones Directas.-

Las siguientes especies de bacterias y de hongos han sido relacionadas con la Mastitis Bovina:

Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, - -
Bacillus sp (excepto Bacillus cereus), Staphylococcus
epidermidis, Escherichia coli, Streptococcus uberis, -
Aerococcus sp, Serratia marcescens, Pseudomonas aerugino
sa, Corynebacterium pyogenes, Corynebacterium ulcerans
y Klebsiella pneumoniae, Micrococcus sp, Acinetobacter
anitratus, Pasteurella multocida, Pasteurella hemolyti
ca, Proteus mirabilis, Flavobacterium sp, Chromobacte
rium sp, Klebsiella oxytoca, Aeromonas liquefaciens, -
Pasteurella sp, Proteus vulgaris, Proteus rettgeri; -
Cryptococcus neoformans, Candida albicans, Trichosporon
sp, Geotrichum sp, Saccharomyces fragilis, Rhodotorula
mucilaginosa. (32,39,42,43,44,63)

2.2.3 Infecciones Indirectas.-

Las siguientes enfermedades traen como consecuencia, la inflamación de la glándula mamaria.

Fiebre Aftosa.- La fiebre aftosa es una infección altamente contagiosa, esta enfermedad ataca principalmente a reces, cerdos, ovejas, y cabras; raramente se trans-

mite al hombre que llega a infectarse por ingestión de animales contaminados por el virus de la glosopeda, manejo del agente activo o por contacto con animales infectados. La enfermedad se caracteriza por fiebre, salivación y aparición de vesículas grandes en membranas mucosas de lengua, boca y labios; así como la piel de pezuñas, espacios interdigitales y ubre. (45,57)

Viruela.- En las vacas las lesiones de la viruela aparecen en las ubres o en partes contiguas a la ubre, como pequeños granos rojos que aumentan de tamaño y se vuelven vesiculares. La infección es transmitida de un animal a otro durante la ordeña. (45,57)

Tuberculosis.- En el ganado bovino el bacilo se transmite por los alimentos y en algunos casos por el agua. Los exudados pulmonares bovinos generalmente son deglutidos, por lo que el microorganismo pasa a las heces, contaminando el suelo y los alimentos. El acto de descansar de las vacas largas horas echadas, expone a la glándula mamaria a un permanente contacto con el suelo, trátese de tierra, paja o pavimento. (45,57)

La Mastitis también se clasifica tomando en cuenta su curso y de acuerdo con los tejidos afectados. Por su curso, se clasifica en:

2.2.4 Mastitis Aguda

Al examen clínico se observan los síntomas característicos de la inflamación. La Mastitis puede aparecer súbitamente en uno o más cuartos mamarios, la inflamación toca los tejidos parenquimatosos e intersticial. Se observan además síntomas generales: fiebre elevada, taquicardia, estado congestivo, perturbación de la rumia, postración. La secreción láctea es de color pajizo y algunas veces teñidas con sangre. Después los cuartos frecuentemente disminuyen de tamaño y producen poca leche.

Otra forma de la Mastitis Aguda, llamada "Bolsa Azul" las partes afectadas, se tornan azules pudiendo estar frías. Si el animal sobrevive los tejidos gangrenosos se eliminan, habiendo un período largo de lenta recuperación con pérdida de los mismos.

Aunque este tipo es severo, su poca frecuencia lo hace un factor económico menor.

Casi siempre existen antecedentes de procesos anteriores de carácter insidioso, que se habían presentado en uno o más cuartos mamarios. Otras veces no hubo referencia de síntoma aparente o llamativo por haber existido un proceso silencioso. Generalmente se presenta posterior al parto o durante el secamiento final de la lactancia; debido a traumatismos, por falta de ordeño en vacas que están en plena producción o por existencia de un proceso febril general (fiebre aftosa). (19,51)

2.2.5 Mastitis Subaguda.-

Los cambios son poco aparentes en las características de la secreción y en las alteraciones del tejido de la ubre, y en ocasiones no se observan.

El proceso se localiza en uno o dos cuartos, raramente en tres o en toda la ubre. Ocasionalmente la primera leche puede estar espesa y los cuartos afectados aparecen inflamados.

Estos síntomas raramente son reconocidos por el ganadero, porque la inflamación suele ser tan moderada que pasa desapercibida en el animal. Se le da el nombre también de Mastitis subclínica. (20,51)

2.2.6 Mastitis Crónica.-

En México es el tipo más frecuente, los hatos lecheros tienen una incidencia de Mastitis del 50 al 70%, o sea de la más alta incidencia, ya sea como estado primario o inicial o como desenlace de procesos agudos. (19)

Con frecuencia es una enfermedad oculta la cual puede estar presente por un período de tiempo más o menos largo. Consiste en una inflamación leve de la ubre, que es causada principalmente por Streptococcus agalactiae y Staphylococcus aureus.

En muchos casos la Mastitis crónica resulta fácil de diagnosticar, apareciendo en los primeros chorros del ordeño pequeños coágulos, el resto de la leche puede aparecer normal. En este estadio es posible determinar por

palpaciones profundas de la ubre, cisterna y pezones, al gún foco de fibrosis; comparando entre si la consistencia de los tejidos de los dos cuartos anteriores o de los - posteriores.

Conforme la enfermedad avanza, aparecen pequeños nódulos fibrosos en la zona del pezón, en la cisterna láctea. Otras veces se puede palpar un sensación de endurecimiento a lo largo del conducto del pezón. Después la fibrosis gana extensión, los conductos se estenosan y a la - palpación hay dolor. Aparecen modificaciones visibles - en la secreción láctea, coágulos, coloración amarillo-rojizo debido a la secreción purulenta y hemorrágica; olor nauseabundo. Más adelante se nota una densa tumoración fibrosa, en la porción inferior del cuarto mamario afectado; y se reduce su capacidad productora de leche que - se reemplaza por una secreción láctea-serosa y después - serosa. Progresa el estado fibroso y finalmente el proceso termina con la atrofia de la glándula, al mismo tiempo el cuarto afectado disminuye de tamaño.

El período de "seca" suele estacionar o hacer retroceder

el curso de esta infección y, en la próxima lactancia se mantiene estacionario durante los primeros meses y luego al cuarto o quinto mes de lactancia quedar anulada la producción del cuarto enfermo.

La infección mamaria se propaga más fácilmente en vacas de primera y segunda cría y durante los tres primeros meses de su lactancia. En vacas ordeñadas a mano, con o sin ternero se ha observado el mayor porcentaje de infección en el cuarto posterior izquierdo, debido quizá a la posición del ordeñador que acostumbra a ubicarse en el lado derecho, lo cual disminuye las posibilidades de un mejor ordeño de los cuartos izquierdos.

No siempre es posible poder determinar cuales son las vacas infectadas por medio del examen físico de la ubre o por el examen visual de la leche. Hay que usar otros métodos de diagnóstico porque por lo general, cuando los estreptococos invaden inicialmente un cuarto los síntomas de la infección no aparecen o son insignificantes. Algunas veces puede haber un ligero aumento de volumen del cuarto o la leche puede contener pequeños coágulos. Estos síntomas suelen o no estar presentes o pasar inad

vertidos hasta que la infección irrumpe en una etapa de agudización. Las vacas infectadas con Mastitis crónica constituyen una amenaza constante para el resto de los animales si no se tratan. Ha habido vacas con infecciones estreptocócicas durante meses, sin producir leche - anormal, notándose la infección solo por su menor producción o por el aparente endurecimiento de la ubre. Por la misma razón estas vacas, aunque aparentemente libres de la enfermedad son una fuente de infección para el resto del hato. (35)

Podemos clasificar la Mastitis también por otras características de su presentación en:

2.2.7 Mastitis Intersticial.-

En las formas agudas y subagudas no puede ser determinada definitivamente por examen somero. En formas crónicas avanzadas puede haber considerable cantidad de tejido conectivo; ésto se determina por la consistencia y apariencia de la ubre. No hay apreciables cambios en la secreción láctea. (2)

2.2.8 Mastitis Exudativa.-

Muestra alteraciones definidas tanto en el tejido parenquimatoso como en la secreción. En casos agudos severos, la glándula afectada puede estar agrandada y, la superficie afectada varía de color obscuro. En casos moderados en la secreción puede aumentar la cuenta leucocitaria, - pero no cambios físicos visibles. En casos más severos la leche contiene mucho exudado el cual es acuoso; grumoso o sanguinolento. En algunos casos los canales de la teta aparecen dilatados y nodulares. En casos crónicos avanzados llega a haber incremento del tejido conectivo. (2)

2.2.9 Mastitis Supurativa.-

Puede desarrollarse a partir del tejido exudativo o bien ser primaria. La parte afectada aparece agrandada y nodular. En sección, la superficie cortada muestra desarrollo de abscesos encapsulados. Hay destrucción de los tejidos y desarrollo de cavidades encapsuladas llenas de exudado purulento. (2)

2.2.10 Mastitis Gangrenosa.-

Llega a desarrollarse como resultado de la entrada de anaerobios, tales como Clostridium welchii. La parte afectada toma color rojo-oscuro, azulado o verdoso y está fría. El tejido aparece oscuro, blando y hemorrágico. (2)

2.2.11 Mastitis Fibrosa.-

Se desarrolla a partir de cualquiera de los tres tipos mencionados (2.2.7, 2.2.8, 2.2.9). La zona afectada se torna dura y muestra un desarrollo marcado de tejido conectivo.

Otra forma de clasificación de Mastitis, es en base al agente etiológico que la cause, como la siguiente:

2.2.12. Mastitis Estreptocócica.-

De los gérmenes a los que se atribuyen la Mastitis, figura el Streptococcus agalactiae y otros similares al mismo, como lo son: Streptococcus dysgalactiae y Streptococcus uberis, aunque el primero es mucho más frecuen

te que los otros. La Mastitis producida por Streptococcus agalactiae, no se distingue clínicamente de la de los demás estreptococos, pero la de éstos suelen ser de menor duración. Además de tales estreptococos, que son los más frecuentes, existen los Streptococcus zooepidemicus y Streptococcus pyogenes e incluso Streptococcus equisimilis. De los tres, el segundo es el que tiene - más importancia, no solamente por los perjuicios que ocasiona al ganado, sino porque puede producir anginas infecciosas, escarlatina y otras infecciones para la especie humana.

Los citados gérmenes se distinguen entre sí por su comportamiento ante los azúcares, pues, por ejemplo ellos excepto Streptococcus zooepidemicus, fermenta la trealosa; en cambio, sólo hay dos que atacan la sórbita; el último citado y el Streptococcus uberis. Por el contrario, la rafinosa no es fermentado por ninguno y la manita únicamente por Streptococcus uberis. También se ha comprobado que el hipurato sódico es escindido por las especies uberis y agalactiae, no siendo atacado por ninguno de los otros cuatro estreptococos.

La Mastitis Estreptocócica va acompañada de síntomas diversos. Algunas veces la enfermedad es muy aguda, y la ubre aparece caliente y dolorosa, pero generalmente se caracteriza por ataques periódicos cortos, durante los cuales la mama aparece ligeramente tumefacta y se aprecian grumos en la leche. (3, 4, 40, 46)

2.2.13 Mastitis Estafilocócica.-

Es hoy día, mucho más importante es la más conocida, la que aprecia el cuadro clínico y aún el vaquero sin ser patólogo, la determina fácilmente, y sin necesidad de tener una gran práctica veterinaria.

La presencia de estafilococos en la mama determina unas veces alteraciones escasas o nulas en la producción láctea, aunque lo común es que se produzcan modificaciones similares a las que se presentan en la Mastitis Estreptocócica. A veces producen una forma de Mastitis gangrenosa, aguda y grave, enfermando la vaca por lo general al parir; es una forma muy grave que puede llegar a producir la muerte de la vaca. En estos casos el cuarto en-

fermo aparece en un principio duro y caliente, poco después se le halla frío. La piel de la mama toma coloración púrpura o azul y si el animal sobrevive, la zona queda desprovista de piel temporalmente. (3,4,32,46,58)

2.2.14 Mastitis por Coliformes.-

Aunque la incidencia de Mastitis por estos miembros de la familia Enterobacteriaceae es muy baja, su presentación, tiende a ocurrir en algunos casos en que los cocos Gram positivos, han sido controlados y cuando hay excesiva contaminación ambiental por estos gérmenes. Estos gérmenes están ampliamente difundidos en la naturaleza, pero hace sólo pocos años que se conoce su importancia como agentes productores de Mastitis. Provocan por lo general, un tipo de Mastitis muy agudo, cuyo final suele ser la muerte del animal, y cuando éste sobrevive suele quedar totalmente inutilizado el cuarto enfermo, pudiendo repetirse el ataque de Mastitis. (28,32)

2.2.15 "Mastitis de Verano".-

Se presenta en vacas "secas" y en novillonas, generalmente durante los meses de Julio, Agosto y Septiembre, aunque pueden aparecer casos en cualquier época del año.

Esta infección es producida por diversos gérmenes, aunque el germen hallado en el mayor número de casos es el Corynebacterium pyogenes. Este microorganismo es considerado como un germen oportunista a la presencia de lesiones en el pezón, esto quizá se relaciona en cierta forma con la época de lluvias.

Esta forma de Mastitis es grave, aparece el cuarto duro, caliente y doloroso y la vaca enferma de gravedad con fiebre elevada. La gangrena no es característica de este tipo de Mastitis, pero si el animal sobrevive es frecuente la formación de absceso y la pérdida del cuarto afectado.

Por razones no conocidas del todo, hoy día este tipo de

Mastitis no es ni tan grave ni tan frecuente como lo fue en el pasado. (26, 32)

2.2.16 Mastitis Micótica.-

La Mastitis micótica es una enfermedad infecciosa del ganado lechero, que se presenta en forma aguda o crónica, afectándose uno o varios cuartos de la glándula.

Este tipo de Mastitis, son producidas en su mayoría por hongos levaduriformes y hongos miceliales, tales como: Cryptococcus neoformans, Candida albicans, Aspergillus sp, Penicillium sp, Geotrichum sp, Rhizopus sp, Alternaria sp y Absidia sp, etc.

La infección por Cryptococcus neoformans se manifiesta por signos clínicos variables, que van de una ligera inflamación, a una Mastitis crónica severa, con marcada disminución en la producción láctea. La infección leve generalmente se caracteriza por la inflamación de los cuartos, y la aparición de pequeños grumos en la leche.

En los casos severos se presenta una secreción grisácea, viscosa y mucoide.

Las especies del género Candida, afectan a la glándula mamaria de forma leve y transitoria y, en ocasiones, autolimitante. Sin embargo, son frecuentes los brotes severos posteriores a la infusión intramamaria de antibióticos.

Jegerman (1972) describe las manifestaciones clínicas de Mastitis aguda por Candida tropicalis. La glándula presenta en este caso, inflamación extensa y consistencia esponjosa, secretando leche de coloración grisácea y viscosa. La producción disminuye en forma drástica.

Candida albicans provoca la inflamación del cuarto o cuartos afectados, y la secreción es espesa, rosa y acompañada por coágulos de sangre. La Mastitis aguda se caracteriza por secreción de suero sanguinolento y grumos de color amarillo, así como inflamación y endurecimiento de los cuartos y fiebre a 41°C a 42°C.

El rendimiento en producción de animales afectados por Mastitis micótica, disminuye en forma drástica, aunque su estado general se vea afectado por corto tiempo.

(15,39,44,47,68)

2.3 Factores de Resistencia de la Glándula Mamaria de Bovinos.-

Podemos considerar que las defensas que posee la glándula mamaria contra las infecciones son las siguientes:

2.3.1 Aspectos Fisiológicos.-

Quizá es uno de los aspectos de más controversia en relación a la susceptibilidad de la glándula mamaria a las infecciones.

Es común aseverar que la incidencia de Mastitis en ganado productor de leche, es mayor que en el productor de carne, debido a que la intensa actividad fisiológica de la glándula mamaria ocasiona una disminución de los mecanismos de defensa del ganado lechero.

Se ha argumentado que la estimulación durante el ordeño provoca la liberación de corticoesteroides, hormonas reconocidas por interferir en el sistema inmunológico - cuando se encuentran en concentraciones altas. Sin embargo el incremento de la concentración de corticoesteroides sanguíneas, debido al estímulo durante el ordeño; permanece aún abajo de lo que se considera como perjudicial además, no existe relación entre el nivel de producción láctea y concentración de corticoesteroides.

(52,75)

2.3.2 Aspectos Anatómicos

2.3.2.1 Conformación de la Ubre.-

Aunque este aspecto también ha sido de controversia entre los investigadores, se asevera que la conformación de la ubre predispone a la glándula mamaria a sufrir - mayor número de infecciones. (48,52)

2.3.2.2 Teta o Pezón de la Glándula.-

El esfínter de la teta constituye la única barrera física para la penetración de los agentes patógenos hacia el interior de la glándula. Esta estructura constituye un factor importante ya que se ha demostrado una incidencia mayor de Mastitis en vacas consideradas como "blandas" para el ordeño.

Otros componentes de la teta muy importantes al conferir protección a la glándula son: el canal de la teta cuya superficie está protegida por una sustancia llamada queratina, que es reconocida por su acción bactericida. (48,52)

2.3.3 Factores Bactericidas No Específicos

2.3.3.1 Lisozima.-

Esta sustancia proteica cuyo principio activo es la hidrolasa del N-Acetil-Murámico, es ampliamente reconocida por su efectiva acción bactericida.

Esta sustancia cuya acción es más potente sobre las bacterias Gram positivas, se encuentra normalmente en la leche de bovinos en una concentración de 0.13 mg/ml. (52,70)

2.3.3.2 Lactoferrina.-

Es una proteína que posee, la característica de acoplarse al hierro. Esta sustancia se encuentra en cantidades significativas en la leche, en los leucocitos, así como en otros fluidos biológicos. La concentración de Lactoferrina en la leche puede llegar hasta 6 mg/ml. y se incrementa cuando existe una invasión por patógenos. Su afinidad por el hierro le confiere la característica bactericida, ya que compete con las bacterias por este elemento. (52)

2.3.3.3 Sistema LP.-

Este sistema está compuesto de tres componentes: la Lactoperoxidasa, el Tiocianato (SCN^-) y el Peróxido de Hidrógeno (H_2O_2). La leche contiene altas concentraciones

nes de Lactoperoxidasas (sintetizada en la glándula), de SCN^- que proviene de la sangre (formado a partir del tiosulfato de glucósidos transformados en el hígado) y de H_2O_2 que proviene de los leucocitos o de las bacterias mismas (las bacterias aeróbicas o anaeróbicas producen H_2O_2 como resultado de su metabolismo). El sistema LP inhibe el crecimiento temporal de algunas bacterias, y a otras las destruye. (52)

2.3.3.4 Complemento.-

El sistema de proteínas que constituyen el complemento también se encuentra en la leche, y se ha determinado que posee una actividad bactericida parecida a su similar de la sangre. (52)

2.3.3.5 Properdina.-

Esta proteína así como otras sustancias como la con-glutinina, y los factores competidores por la Vitamina 12 y el ácido fólico, se han detectado en la leche en bajas concentraciones. Sin embargo a pesar de su poca

concentración deben considerarse, ya que son bactericidas muy efectivos. (52)

2.3.3.6 Fagocitosis.-

Es indudable la importancia de estas células como mecanismos de defensa de la glándula mamaria. La leche normalmente contiene menos de 300,000 células por ml., de las cuales alrededor del 80% son células epiteliales, 10-15% leucocitos polimorfonucleares y linfocitos, y un poco más de 1% de macrófagos. Cuando existe una invasión por agentes patógenos, tiene lugar una emigración de leucocitos, principalmente polimorfonucleares y monocitos, de la sangre a la leche, alcanzando un número que puede llegar a varios millones por mililitro dependiendo del grado y tipo de infección. Aunque la actividad fagocítica de los leucocitos en la leche es menor que los mismos cuando están en la sangre o los tejidos, su acción bactericida es determinante para mantener a la ubre libre de patógenos. (38,52,59)

2.3.3.7 Anticuerpos.-

La leche contiene una apreciable cantidad de inmunoglobulinas. Esta cantidad se incrementa en concentración cuando existe una invasión por agentes bacterianos.

Indudablemente que la presencia de inmunoglobulinas en la leche es indispensable para la inmunidad de la glándula mamaria. (38)

2.4 Sustancias Antibacterianas de la Leche Cruda.-

2.4.1 La Lactenina L₁.-

La más antigua conocida, es una sustancia inhibidora, probablemente específica del Streptococcus pyogenes, y de naturaleza desconocida. El pH de su estabilidad máxima se encuentra próximo a 6.5; se destruye por calentamiento a 70°C. durante 20 segundos. (5)

2.4.2. La Lactenina L₂ O LACTOPEROXIDASA.-

Se ha estudiado con las enzimas de la leche, es menos específica que la anterior; se muestra activa sobre los estreptococos, en especial sobre los del grupo pyogenes (Streptococcus pyogenes, Streptococcus agalactiae) y sobre los lactobacilos.

Pocos estreptococos lácticos se muestran sensibles, pero para aquellos que lo son, la inhibición es muy acusada, los gérmenes no se desarrollan prácticamente en la leche. El calostro contiene menos lactoperoxidasa que la leche verdadera. Este inhibidor es un poco más termorresistente que la Lactenina L₁ y que las aglutininas; se destruye por calentamiento a 75°C durante 30 segundos o a 83°C durante 20 segundos. El pH de su máxima estabilidad se encuentra sobre 7. La acción inhibidora se produce en presencia de tiocianato; la leche de la vaca contiene normalmente de 1 a 15 mg/l de este cuerpo. (5)

2.4.3 Las Aglutininas.-

Son anticuerpos susceptibles de aglutinar a las bacteu

rias sensibles de una manera específica; son activas - sobre un gran número de estreptococos lácticos y lacto bacilos. La sustancia descrita con el nombre de Lactenina L₃ pertenece a este grupo. (5)

2.4.4 Los Inhibidores de la Leche de las Vacas en Período de Secado.

La leche de las vacas al final de la lactación y la se creción de las vacas secas contienen otras sustancias antibacterianas; se han puesto de manifiesto por su - acción sobre las bacterias esporuladas aerobias (Baci-llus subtilis). Son de dos clases: una sustancia inhi bidora (que actúa a 80°C durante 10 segundos) y otra lí tica (que disuelven las células bacterianas) que se des truye en dichas condiciones. Esta última sustancia pre senta un máximo de estabilidad a un pH bastante bajo - (4 a 5); sus propiedades la asemejan a la lisozima. (5)

2.5 Inmunidad en Mastitis.-

Actualmente se han encontrado grandes dificultades para lograr protección inmunitaria, contra los diferentes gérmenes que producen la Mastitis en el ganado bovino. Tales dificultades se deben principalmente a sutiles variaciones de los antígenos de los mismos gérmenes infectantes; a la fecha no se han podido producir vacunas realmente eficaces que protejan contra enfermedades producidas por corinebacterias, (a excepción de Corynebacterium diphtheriae en el hombre, en la que los síntomas se deben a una exotoxina), los estafilococos o los estreptococos.

Se han encontrado varios métodos individuales para tratar de controlar en los hatos el problema de la Mastitis; incluyendo inmunización, selección por resistencia genética, manteniendo el manejo apropiado de la máquina ordeñadora, implantación de ciertas medidas higiénicas; los cuales no han sido del todo satisfactorias.

Cabe mencionar un método que consiste en la desinfección de las tetas después de cada ordeña, con un desinfectante y con un rutinario tratamiento de los cuartos

de la ubre con antibióticos cuando la vaca está en el período de seca; este procedimiento reduce la infección de Streptococcus agalactiae.

La mayor parte de la investigación contra la Mastitis se ha realizado con estafilococos. La inmunización parenteral con toxoides o antígenos celulares asociados con los gérmenes causantes de Mastitis, no es altamente efectiva. Hay algunas evidencias, de que, usando - autovacunas se reduce la incidencia de nuevas infecciones o por lo menos se reduce la severidad y duración - de los signos clínicos de la Mastitis Estafilocócica - en una hato. (13)

La Mastitis producida por Streptococcus agalactiae no produce inmunidad. Las vacas pueden seguir infectadas durante años, las bacterias empleadas en el tratamiento han dado poco resultado. También se han usado las bacterias autógenas, que parecen ser más valiosas. La curación espontánea de la enfermedad producida por - Streptococcus dysgalactiae sugiere una posibilidad, sin embargo, se ha trabajado poco sobre este punto. (18)

Existe un trabajo muy interesante, presentado por J.B. Derbyshire (21) en el Congreso de la Asociación Inglesa de Medicina Veterinaria. En dicho trabajo, se estudió específicamente sobre las posibilidades de inmunidad de la Mastitis provocada por estafilococos.

Menciona que los estafilococos son organismos muy complicados, desde el punto de vista inmunológico, pues - aparte de tener una gran variedad de formas antigénicas (Davidson logró 70 distintos cultivos de estafilococos patógenos, de los cuales 13 de ellos producían Mastitis), producen una variedad de sustancias, las cuales inmunológicamente deben ser consideradas. Dichas sustancias incluyen varias enzimas y producción de enzimas, tales como la coagulasa, y hialuronidasa.

Ciertos experimentos de inmunidad, se hicieron primeramente en otras especies antes de tratar de aplicarlos a vacas lecheras; en el caso de la aplicación de vacunas "vivas" a conejos, se demostró que producen una inmunidad parcial, pero se produjo una hipersensibilidad a pequeñas dosis de la bacteria.

También se experimentó con vacunas de células "muertas"; obteniéndose buenos resultados con este tipo de vacuna; otros investigadores usaron vacuna "viva" pero atenuada, encontrando una protección satisfactoria en conejos.

2.5.1 Anticuerpos Contra Estafilococos en Vaca.-

Es un hecho que en la sangre y en la leche de la vaca - existen antitoxinas circulando, encontrándose títulos - más altos en vacas con infecciones estafilocócica en la ubre; observándose que circula en el suero, antihialuro nidasa así como otros inhibidores contra toxinas de esta filococos. No está bien claro si las vacas con un alto título de estas antitoxinas, son capaces de ser más resistentes que las de títulos bajos.

Las antitoxinas son relativamente fáciles de obtener de la vaca, mediante la infección en el suero de toxoide - formolizado y se producen niveles más altos, añadiendo a dicha inyección, hidróxido de aluminio combinado. Aquí cabe hacerse la pregunta de que, ¿sí los anticuerpos producidos son capaces de atravesar el epitelio ma-

mario para ejercer su acción en la ubre?. Esta cuestión es fundamental, pues la Mastitis sería prevista por una simple sistematización de aplicación de vacunas, solamente que tenemos que tomar en cuenta, que se sabe que los anticuerpos no pasan a través del epitelio mamario de la vaca normal, excepto en la época del parto y al final de la lactación, ésto es aún, cuando el animal haya sido vacunado y tenga un alto título de anticuerpos circulando. Por otra parte, es importante saber, que el epitelio mamario se hace permeable al paso de antitoxinas cuando dicho epitelio es sujeto a una suave irritación, como cuando ocurre en una Mastitis "suave", lo malo es que para cuando actuaran los anticuerpos, la Mastitis estuviera más avanzada y por lo tanto no habría realmente una prevención contra el padecimiento. (13,18)

CAPITULO III
ETIOLOGIA Y DIAGNOSTICO

3.1 Etiología

La Mastitis bovina es una enfermedad causada principalmente por bacterias, ocasionalmente por hongos y levaduras.

Entre los agentes infecciosos causantes de Mastitis, citamos a los siguientes:

Staphylococcus aureus

Los estudios que se han realizado en México coinciden con los otros países en que este microorganismo es el más frecuentemente aislado de cuartos enfermos. (4,32, 42,43,46)

Hasta los últimos años, el agente etiológico más común era Streptococcus agalactiae. Se cree que esta situación se debe al empleo muy difundido de antibióticos en la terapia de la Mastitis; ya que Staphylococcus aureus no

sólo es más resistente a los antibióticos que Streptococcus agalactiae, sino que también crea una alta resistencia a tales medicamentos.

Su principal mecanismo de transmisión hacia la glándula mamaria, es a través de las manos y copas de ordeño formando un círculo vicioso con la salida de este microorganismo de los cuartos infectados. (32)

Streptococcus agalactiae

El segundo lugar en frecuencia lo ocupó este microorganismo, tanto en estudios realizados en México como en otros países. (6,42,46,64)

La forma de transmisión de esta bacteria, es a partir de las glándulas afectadas, se disemina hacia los pezones y piel de los animales infectados, manos de ordeñadores, ropa y otros fomites. Se ha reportado que los becerros pueden infectarse por vía oral; las manos también transportan al microorganismo. (32)

Los agentes microbianos que a continuación se mencionan, también han sido reportados como causantes de Mastitis; aunque la frecuencia de estos microorganismos ha sido reportada en forma diferente.

Escherichia coli

Fue también frecuentemente aislado de cuartos enfermos. (3,42,64)

Los factores en la presentación de infecciones por éste germen oportunista son: el período de lactación de la vaca, el número de leucocitos en la leche, y en especial la presencia de grandes números de estas bacterias en la cama, copas de ordeño, agua y lugares húmedos contaminados. (32)

Streptococcus uberis y Streptococcus dysgalactiae

La incidencia de Mastitis ha sido reportada, con una frecuencia mayor en Streptococcus uberis que en Streptococcus dysgalactiae. (32,42)

Streptococcus uberis se considera oportunista en la Mastitis, especialmente cuando hay lesiones locales en el pezón. La Mastitis que ocasiona tiende a la cronicidad. (32)

Staphylococcus epidermidis

Es otro causante de Mastitis, que se ha aislado con una frecuencia elevada. (3,32,42)

El mecanismo de transmisión de Staphylococcus epidermidis es similar al de Staphylococcus aureus y aunque se le considera de baja virulencia puede producir una respuesta inflamatoria. (32)

Bacillus sp.

Aunque este microorganismo, se ha aislado también en forma frecuente de cuartos enfermos; no es posible afirmar que sea responsable de este proceso patológico. (42)

Bacillus cereus.-

La frecuencia en aislamientos de este microorganismo, es menor comparada con los hasta ahora mencionados, pero - se considera que puede causar Mastitis crónica, severa. (3,42)

Los microorganismos que a continuación se mencionan son los que han sido aislados con menor frecuencia, en muestras de leche procedente de animales Mastíticos:

- Corynebacterium bovis (42,64)
- Corynebacterium pyogenes (32,42,64)
- Corynebacterium ulcerans (42,64)
- Pseudomonas aeruginosa (42,64)
- Streptococcus bovis (33)
- Proteus mirabilis (6,19,42,64)
- Proteus vulgaris (6,19,42,64)
- Proteus rettgeri (6,16,19,42)
- Klebsiella pneumoniae (6,16,19,42)
- Micrococcus sp. (19,32,41,42)

- Acinetobacter anitratus (16,19,42,64)
- Pasteurella multocida (19,42,53)
- Pasteurella hemolytica (3,6,42)
- Flavobacterium sp.(6,16,42)
- Chromobacterium sp.(42,58,64)
- Klebsiella oxytoca (4,6,42)
- Aeromonas liquefaciens (3,16,42)
- Hongos (4,7,15,19,39)
- Levaduras. (3,19,44,47,68)

La literatura menciona que las formas micóticas aparecen como causantes de Mastitis generalmente después de un tratamiento con antibióticos antibacterianos (63,68) ya que ésto reduce la competencia entre bacterias y hongos favoreciendo la implantación de estos últimos. Los agentes micóticos que se han encontrado como posibles causantes de Mastitis pueden ser divididos en hongos productores de micelio y hongos levaduriformes. (7)

La lista de agentes micóticos es bastante larga y sólo se mencionan aquellos considerados de mayor importancia. De los géneros miceliales sobresalen los géneros: Aspergillus, Penicillium, Geotrichum, Absidia, Rhizopus, y Alternaria; en cuanto a los hongos levaduriformes los

géneros: Candida y Criptococcus. (7,19,34,44)

3.2 Diagnóstico

Uno de los primeros pasos en el control de la Mastitis es descubrir todas las vacas infectadas que se encuentran en el hato. Varias pruebas son usadas para el diagnóstico de la enfermedad. Por conveniencia se dividen en dos grupos:

3.2.1 Pruebas Indirectas.-

Se basan en la presencia de lesiones palpables en la ubre, o bien en cambios en la composición de la secreción mamaria: (49)

3.2.1.1 Examen Físico.-

El paso inicial para descubrir la enfermedad lo constituye el examen físico cuidadoso de la ubre.

Los métodos especiales de exploración específica de la glándula mamaria incluyen lo siguiente: (9,63)

a) Inspección.-

Ha de observarse detenidamente la glándula mamaria, por delante, detrás y de abajo, arriba; para apreciar deformaciones. El total de la glándula mamaria y de sus pezones deben compararse. La forma de la ubre puede ser: colgante, escalonada, inclinada. La forma de los pezones puede ser de punta plana, en embudo o en hendidura. Es importante inspeccionar también los pezones accesorios por una posible secreción. Piel de la mama y pezones (tirantez, arrugamiento, adherencia variaciones de color). Lesiones cutáneas en ubre y pezones (por ejemplo: rasguños y traumatismos, incisiones, gangrena, pústulas, úlceras, fístulas, viruela, verrugas).

b) Palpación.-

La palpación de la glándula mamaria es uno de los recursos más interesantes. Debe comenzarse por los pezones, rodar la punta del pezón entre las yemas de los dedos,

palpar el pezón desde su extremo distal hasta la base; palpar la cisterna glandular con el índice; en estas palpaciones hay que comprobar la existencia de tumefacciones, heridas y neoformaciones en la punta o en la luz del canal, así como sensibilidad al dolor.

La facilidad de ordeño del esfínter se comprueba extrayendo algunos chorros de leche. Las causas de la dureza de ordeño, están casi siempre en el esfínter, y es menos común en la cisterna.

c) Cisterna.-

La mucosa de la cisterna del pezón se palpa también rotando ésta entre los dedos; todo engrosamiento, endurecimiento o dolor son patológicos.

La cisterna glandular debe permitir la entrada de un dedo empujando desde abajo. En los pezones hay que prestar atención a tumefacciones y heridas, así como a las fístulas de leche.

d) Piel de la Ubre.-

Cuando la mama está ordeñada, se detiene normalmente con facilidad, en caso contrario, aparece tensa en los diferentes cuartos según el grado de producción.

Inmediatamente antes y después del parto se produce un edema fisiológico que desaparece en pocos días, un edema intenso durante la lactancia o el período seco, son signos patológicos, generalmente este edema se considera normal en vaquillas primerizas.

e) Cuerpo Glandular.-

Cada cuarto debe examinarse, en busca de granulaciones, induraciones pequeñas o difusas, atrofia y su sensibilidad dolorosa. El tejido mamario sano se palpa después del ordeño, finamente granuloso, blando y por el contrario, cuando no se ha ordeñado, tenso y firme.

Cuando hay edema muy manifiesto en la mama, los cuartos se palpan a veces con dificultad o no pueden palparse.

Los hallazgos palpatorios nunca son suficientes por sí mismos, sino que habrán de ser enjuiciados siempre en conjunto, con los resultados obtenidos en los exámenes citológicos y bacteriológicos de la secreción.

f) Estudio de la Secreción.-

Se deben observar las características del ordeño (flujo lácteo, fácil o difícil, chorro desparramado, obstrucción del pezón por fibrina, sangre, cálculo lácteo). Manifestaciones de dolor durante el ordeño; características de la secreción (normal, aspecto del suero, azul acuoso, secreción purulenta) y el olor.

3.2.1.2 Prueba del Paño Negro.-

Se realiza durante la preparación de la vaca para la ordeña, consiste en la detección de grumos en la leche, - haciendo pasar los primeros chorros a través de una malla negra. (9)

3.2.1.3 pH de la Leche.-

El pH normal varía entre 6.5 y 6.8 unidades alcanzando valores de 6.8 o más al final de la lactación. En la Mastitis las sales alcalinas pasan a la leche volviéndola más alcalina.

En raras ocasiones la bacteria Streptococcus agalactiae produce una leche más ácida al transformar la lactosa en ácido láctico. (56)

Para detectar los cambios de pH de la leche se utilizan las siguientes pruebas:

a) Prueba de Azul de Bromotímol.-

La preparación de la solución indicadora se describe en el Anexo I (a).

Las muestras que dan color amarillo verdoso se consideran normales; las que toman color verde claro se clasifican como sospechosas, y las que toman color azul verdoso, azul o amarillo subido se consideran positivas.

En vacas con todos los cuartos sanos, el tono del color de las muestras deberán ser exactamente igual. Cuando ésto no sucede, se consideran positivas las más oscuras, aunque éstas pueden ser iguales o más claras que las de otras vacas de muestras normales. (5,9)

b) Prueba del Púrpura de Bromocresol.-

Al agregar el indicador a la muestra de leche, se produce un color azul grisáceo si el pH de la leche es normal, y un color azul oscuro si la reacción es alcalina. El papel filtro impregnado con púrpura bromocresol se ha usado para determinar la reacción de la leche - muestreada. (9,56)

3.2.1.4 Determinación de Cloruros.-

El reglamento sanitario para el control de la leche, - impone los siguientes rangos: 0.85 a 1.25 grs. de cloruros en leche normales. (66)

Para detectar los cambios de cloruros en la leche se - utilizan las siguientes pruebas:

a) Prueba de los Cloruros.-

Se basa en que los cloruros se encuentran aumentados en las leches mamitosas. Un valor mayor de 0.14% se consideran como indicio de la enfermedad. La titulación debe hacerse de una forma exacta si se quieren obtener valores suficientemente finos; si la titulación no se hace correctamente sólo se podrán descartar aquellos casos con desviaciones muy marcadas. Los reactivos usados en esta prueba y el procedimiento se describen en el Anexo I (b). (38)

b) Método Potenciométrico.-

Consiste en la cuantificación de iones cloruros utilizando electrodos específicos para éstos. (71)

c) Método de Volhard.-

La principal limitante del Método de Volhard, es que sólo es confiable si los animales se encuentran entre 3 y 6 semanas de lactación, ya que al inicio y al final de la lactancia los cloruros se elevan por sí solos

debido a procesos fisiológicos.

Aun las leches ácidas o en procesos de acidificación - no interfieren en el desarrollo de la prueba. (9)

La técnica se describe en el Anexo I (c)

3.2.1.5 Leucocitos en la Leche.-

Por lo general, las infecciones de Mastitis van acompañadas de un aumento de leucocitos en leche. Hay factores que no están asociados a la Mastitis que causan el incremento en el recuento de leucocitos y, por lo tanto, se hace difícil fijar un nivel determinado que sea definitivamente indicador de infección por dicha enfermedad. Por ejemplo, los leucocitos suelen ser más abundantes: en el calostro y en la leche de las últimas fases de la lactación; en la leche ordeñada mecánicamente, y en especial cuando se deja la ordeñadora unida de demasiado tiempo a la vaca; y en la leche de ciertas vacas que no presentan señales apreciables de infección.

Por este motivo, para enjuiciar los resultados obtenidos en el recuento es importante saber cuantos leucocitos de be contener una leche por c.c., a fin de poderla conside rar como normal o "sana".

Sin embargo, en la bibliografía no se encuentran datos - concordantes a este respecto. Pero según los estudios - antiguos, como en particular los más recientes, debe con siderarse la cifra de 200,000 a 300,000/c.c. como límite del estado "normal", mientras que los valores superiores, son sospechosos, siempre que no se trate de leches de va cas muy ordeñadas; también hay que contar con las oscila ciones individuales de las diferentes vacas. (5,30)

a) Examen Macroscópico.-

Este procedimiento es el más antiguo en la práctica entre los ensayos para el diagnóstico de la Mastitis, cons tituyendo la prueba del pus y de la leche de Trommsdorff, también llamada prueba de los leucocitos o de la centri fugación.

Actualmente puede prescindirse de los tubos de centrifuga, utilizándose tan sólo simples tubos de 10 c.c. de capacidad con fondo redondeado, pues en este caso lo único que se pretende saber es si existe sedimento anormal. No existe relación inmediata entre la capacidad de sedimento y la gravedad o curso de la Mastitis.

Los tubos que contienen los 10 c.c. de leche se centrifugan durante unos minutos y se examina a continuación el color del sedimento obtenido, viendo si es amarillo (pus), gris (suciedad de la leche) o rojo (presencia de sangre).

La leche calostrál proporciona por lo común abundante sedimento, sin que exista enfermedad alguna. Esta clase de leche es muy fácil de identificar en virtud de los corpúsculos calostrales que aparecen en su examen microscópico y que corresponden a monocitos llenos de gran cantidad de diminutos glóbulos grasos; la grasa les confiere un peculiar tono amarillo. (31)

b) Examen Microscópico y Electrónico.-

En este caso no es preciso centrifugar, sino que los elementos celulares presentes por c.c. de leche, en particular los leucocitos, pueden determinarse cuantitativamente por medio de un método microscópico directo utilizado por primera vez con esta finalidad por Prescott y Breed y luego aplicado por Breed al contaje microbiano.

Sobre la posibilidad de error de la técnica microscópica de cuantificación celular, se señala como se gana en exactitud con la mayor práctica del operario. En todo caso, dentro de límites bastantes exactos para la práctica, se determina el error relativo (en su dependencia del contenido celular efectivo) recontando 10 campos visuales, a fin de lograr el correspondiente dictamen de la leche. Para evitar los errores observados (acúmulo de las células en medio de la gota de leche durante la desecación), se recomienda efectuar el recuento en una cuerda a mitad de la distancia entre el centro y la periferia o también reducir el número de células determinando en la línea media empleando el factor 0.8. (5)

Tolle y Col, idearon una técnica electrónica de contaje de leucocitos que resulta más fácil y de realización rápida.

Para tal fin se diluye la leche estabilizada con formalina (1:500) en la proporción 1:50 con un electrolito exento de partículas, que contiene el 1.2% de Witopal y el 7.5% de alcohol etílico. En el curso de la incubación, que se verifica acto seguido durante 1 hora a 70°C en baño maría, se produce la total disolución de todas las partículas de grasa y proteína. Para el subsiguiente recuento de la muestra enfriada se utiliza el llamado Coulter Counter. El tiempo neto de contaje requiere unos 15-20 segundos, que puede reducirse a 1.5-2 segundos introduciendo las debidas modificaciones en el curso de la reacción. Para conocer las instrucciones exactas, consultar el trabajo original. (38)

Como ventaja del método microscópico frente a la técnica electrónica u otros procedimientos análogos, hay que mencionar (además de la posible diferenciación de los distintos elementos celulares) que permite también en

muchos casos aclarar la identidad de los gérmenes causantes de la infección.

De acuerdo con Seelemann y Meyer, la determinación del número de células debe considerarse como el más importante de diagnóstico en la detección de alteraciones patológicas. Y cuando se trata de infecciones débiles o latentes, hay que completar dicha prueba con las técnicas de cultivo generalizadas. En los casos en que intervengan vacas ya tratadas (con antibióticos), la cuantificación celular es con frecuencia, en opinión de Breerwerth, Koser y Bruhn, el único medio posible de diagnóstico.

(56)

c) Método de la Cuenta Leucocitaria.-

Para el conteo celular se realiza un frotis de la leche problema y se colorea con la tinción de Newman, conforme al método de Breed. (9)

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Mezclar perfectamente la muestra de leche, sin sacudirla bruscamente.
- 2.- Tomar 0.01 ml de leche (con una pipeta de Breed y con la ayuda de una bombilla de hule).
- 3.- Extender sobre un portaobjetos, preparando una área de 1 cm^2 (se hace con una platina metálica perforada con estas dimensiones).
- 4.- Llenar de una manera uniforme el cuadro con la leche y colorante; (dejar de 60 a 120 segundos para fijar la muestra).
- 5.- Escurrir y secar la muestra a temperatura ambiente.
- 6.- Lavar con agua destilada.
- 7.- Ver al microscopio, una vez que esté calibrado.
- 8.- Colocar sobre la platina el micrómetro de la misma.
- 9.- Medir el diámetro del campo de inmersión en milímetros hasta la tercera cifra decimal y calcular el radio.
- 10.- Determinar el área del campo multiplicando $3.1416 \times R^2$.

11.- Usar la siguiente fórmula para sacar el factor de Breed del microscopio (FM).

$$FM = \frac{X \times X}{3.1416 R^2} \quad \circ \quad FM = \frac{100 \times 100}{3.1416 R^2}$$

De donde:

X= 100 (100 es el área, en mm. cubierta por el frotis de 0.01 ml de leche en el portaobjetos).

X= 100 (100 es el número de porciones de 0.01 ml en 1 ml de leche).

R= A radio del campo del microscopio.

R= Debe expresarse en mm.

La cuenta de células somáticas se realiza por esta técnica.

Tiene la ventaja de ser de bajo costo; pero a la vez - tiene la desventaja de que el proceso es tardado, suje

to a errores originados por la distribución heterogénea de las células y al cálculo de la cuenta total que involucra un factor microscópico muy grande.

3.2.1.6 Contenido Celular de la Leche.-

La leche de cuartos sanos contiene entre 50 y 200×10^3 células somáticas por ml., constituidas por linfocitos, neutrófilos y células epiteliales en una relación aproximada de 1:1.5:14. El número de células es influenciado por varios factores entre los cuales se encuentran; la fase de lactación, número de lactaciones e intervalo entre los ordeños.

La cuenta de células somáticas en la leche de cuartos con Mastitis varía entre 200 y 500×10^3 por ml., dependiendo de la severidad o extensión de la infección y con el cambio aproximado en la relación de 1:10:10.

En la actualidad las cuentas celulares de la leche se hacen con procedimientos electrónicos. Con el equipo Coulter^R se cuentan los impulsos electrónicos producidos

al hacer pasar las células presentes en una solución -
electrolítica a través de un orificio colocado entre los
dos electrodos. También existen procedimientos fluoros-
cópicos con los cuales se cuentan las células somáticas
fluorescentes producidas por la interacción entre el co-
lorante bromuro de etidio y el DNA celular. El DNA ce-
lular se determina con un procedimiento colorimétrico -
que involucra la remoción de las células de la leche con
un filtro millipore y su posterior reacción con indol -
que produce un color que se mide en un colorímetro.

(30,36,56)

3.2.1.7 Prueba de Whiteside.-

Se mezcla la leche con una solución de NaOH al 4%, oca-
sionando que esta se gelifique formando grumos que son
visibles. Los grumos serán más grandes conforme la le-
che contenga mayor número de células somáticas. La apa-
rición de éstos significa la presencia de Mastitis. (54)

3.2.1.8 Prueba de la Catalasa.-

La enzima catalasa se encuentra en todas las células del organismo. La actividad de la enzima en la leche aumenta al principio o al final de la lactación, o bien durante la Mastitis.

Esta prueba se efectúa colocando 15 ml de leche en un tubo de fermentación de Smith, adicionando 5 ml de una solución al 1% de peróxido de hidrógeno e incubando la mezcla por 3 horas a 37°C. La producción de más de 1.5 ml de gas en el brazo cerrado del tubo indica resultado positivo. (30,56)

Este método da un porcentaje más alto de reacciones positivas que el dado por la prueba del Azul de Bromotimol.

3.2.1.9 Albúmina Sérica en Leche.-

En la Mastitis aumenta la permeabilidad capilar y deja salir a la leche proteínas séricas, entre las cuales se encuentra la albúmina sérica. La cantidad de albúmina sérica en leche aumenta en forma paralela a la cuenta de células somáticas.

Los niveles de albúmina sérica en leche de animales normales es inferior a 0.20 mg/ml, y alcanza valores de hasta 20 mg/ml en animales con Mastitis. (56)

La albúmina sérica se cuantifica por varios métodos entre los cuales se encuentran: Inmunodifusión radial, Métodos colorimétricos, Electroforesis, e Inmunoelectroforesis.

a) Método Colorimétrico.-

En la cuantificación de albúmina sérica algunos sistemas utilizan, una de las principales características de la albúmina: su capacidad para unirse fuertemente con varios compuestos aniónicos incluyendo colorantes. Puesto que el colorante verde de bromocresol se combina específicamente con la albúmina sérica y no reacciona con las globulinas, puede medirse directamente, sin previo fraccionamiento salino o separación electroforética. (34)

b) Inmunodifusión Radial.-

En esta prueba se utiliza: agar noble, suero antialbúmina sérica preparada en conejos, y soluciones de leche en - concentraciones conocidas de albúmina sérica. Las concentraciones de albúmina sérica deberán ser: 2, 4, 8, 16 y 32 mg. de albúmina sérica por ml. de leche. (54)

Las soluciones se diluyen con solución salina fisiológica 1:1 y se llenan las horadaciones de agar (5 horadaciones por cada concentración). Posteriormente se mide el diámetro de la zona de precipitación y, con esta información se desarrolla una curva patrón. A la muestra problema se le hace el mismo tratamiento que a las soluciones patrón, y se interpreta de la siguiente forma:

Menos de 2 mg/ml----- glándula sana.
2 a 8 mg/ml----- sospecha de Mastitis.
Más de 8 mg/ml----- signo de Mastitis.

3.2.1.10 Prueba de Hotis.-

La prueba de Hotis permite por un lado empezar a reconocer las diferentes etiologías causales, por medio de los

cambios producidos por las bacterias presentes en la leche es muy útil para detectar especialmente colonias de Streptococcus agalactiae, estafilococos, así como microorganismos coliformes; también se utiliza para el mantenimiento de las colonias que posteriormente se pueden - resembrar en medios específicos. Este tipo de prueba - tiene la ventaja práctica, de que es sencilla de efectuar y valorar, ya que no necesita ni mucho tiempo ni - demasiado equipo y también de que a partir de los resultados obtenidos se puede proceder al equipo más preciso de la etiología. (62)

PROCEDIMIENTO:

Se recogen asépticamente muestras de leche de los cuartos sospechosos de la ubre. A 9.5 ml de leche puestos - en un tubo de ensaye (estéril), se le añaden 0.5 ml de una solución acuosa de púrpura bromocresol al 0.5%, se mezcla todo bien y se incuba a 37.5°C durante 24 horas.

Por ser más alcalina que la leche normal, la leche mastítica hará que el color sea un púrpura más oscuro que el que daría la leche normal.

Si se halla presente Streptococcus agalactiae presentará el desarrollo de un precipitado amarillo floculento o de yemas amarillas, en las paredes del tubo. También la leche se volverá más ácida como resultado de la proliferación de los estreptococos. (Como resultado de la producción de ácido láctico por estos microorganismos).
(11)

3.2.1.11 Prueba de California.-

Esta prueba se utiliza para observar el número total de monocitos y polimorfonucleares de la leche.

Se basa en una reacción del reactivo de california con el ácido desoxirribonucleico de las células somáticas - presentes en la leche de glándulas con Mastitis ya que en esa leche existe una leucocitosis intensa, (mientras más grande sea el grado de irritación más leucocitos se encontrarán presentes y será más grande la gelificación).

El reactivo de la prueba de California consiste en una solución de 0.5% de Alkil-aril-sulfonato y 1.5% de -

Hidróxido de Sodio.

Esta solución ha demostrado ser más sensible para detectar el número anormal de células presentes en la leche que una solución de NaOH al 4%.

Es importante hacer notar que el almacenamiento de las muestras de leche por varias horas en refrigeración, reduce la intensidad de la reacción. (11,41)

PROCEDIMIENTO:

En la prueba de California se emplea una charola de plástico blanco con cuatro receptáculos circulares dispuestos en pares. Cada receptáculo tiene un diámetro aproximado de 9.3 cm., separados uno del otro por un espacio de 0.6 cm. que sirve para drenar el exceso de leche.

En cada receptáculo se ponen aproximadamente dos mililitros de leche de los primeros chorros, posteriores al despunte de cada cuarto, y un volumen igual de reactivo. La leche y el reactivo se mezclan con movimientos circun-

lares de la charola (mínimo 15 seg.).

La reacción se presenta inmediatamente cuando la leche - tiene un alto contenido de células somáticas. La lectura está dada por el grado de precipitado o formación de un gel y el color que toma la muestra.

Cuando la mezcla permanece líquida, se considera como negativa, señalando que hay un número aproximado de 200,000 células por ml., pues recuentos inferiores a 250,000 células por ml., se consideran por debajo del límite indicador de la inflamación. (La mayoría de las veces se considera menos de 100,000 células por ml.).

La reacción de trazas se manifiesta por la formación de un material viscoso que se puede observar fácilmente, - cuando se inclina la charola y escurre el material.

Si se continúan los movimientos circulares, esta formación tiende a desaparecer. Esta reacción sugiere la presencia de 150,000 a 500,000 células por ml., que ya indica la presencia de un proceso inflamatorio de la glándula mamaria.

La reacción I o "débil", se manifiesta por la formación de una substancia viscosa clara pero sin tender a formar geles. Con algunas leches esta reacción es reversible, sí se continúan los movimientos de mezclado. Sugiere la presencia de 400,000 a 1,500,000 células por ml. (40-60% PMN).

La reacción II o "positiva clara", se caracteriza por la formación inmediata de geles. Indica la presencia de 800,000 a 5,000,000 de células por ml. (60-70% PMN).

La última reacción es la III o "fuertemente positiva", en la cual se forman grumos o la viscosidad es muy grande. Indica la presencia de más de 5,000,000 de células por ml. (70-80% PMN).

La prueba de California tiene la ventaja de que se puede utilizar leche total contenida en recipientes individuales, mezclas totales de leche en un tanque así como muestras de cuartos glandulares independientes.

Es importante indicar que las vacas son fuertemente positivas a la prueba de California en las últimas etapas de

lactación, en la primera semana después del parto, aun - sin existir una infección en la glándula. Existe una variación en los recuentos celulares según el momento de la ordeña, siendo las muestras más útiles, las obtenidas antes de la ordeña de la tarde.

La importancia de esta prueba, radica en su capacidad de detectar los animales afectados subclínicamente pudiéndo se así tomar las medidas de control adecuado para evitar que actúen como fuentes de infección.

3.2.1.12 Prueba de Wisconsin.-

Consiste en hacer fluír una mezcla de leche con el reactivo de Wisconsin (reactivo de California diluído 1:1 con agua destilada), en un tubo que tiene dos horadaciones, - uno en la parte superior y otro en la parte media de las paredes.

El reactivo desintegra a las células de la leche a nivel de membrana, formando un conglomerado de células, ya que se obtiene un grado de gelificación de los ácidos nucle*ei*cos, provenientes de dichas células.

Por lo que al invertir los tubos, los conglomerados van a impedir que la mezcla fluya libremente por la horadación superior y, por lo tanto la cantidad de mezcla que nos quede en el tubo va a ser proporcional a la cantidad de células presentes en la leche.

Por lo que, a menor cantidad de células menor cantidad de mezcla nos quedará en el tubo. (54)

3.2.2 Pruebas Directas.-

Estas pruebas sirven para detectar la presencia e identificación en la leche, de los microorganismos productores de la Mastitis.(49)

Aunque para tener éxito y llegar a dicha identificación es de fundamental importancia obtener la muestra, en las condiciones óptimas y que a continuación se mencionan:

3.2.2.1 Toma de Muestra.- (11,41,42)

a) Preparación de las Ubres y de los Pezones.-

Las vacas se preparan cuidadosamente para el muestreo.

Se lavan las ubres con agua limpia así como los pezones y se utilizan toallas de papel, para secarlas.

El lavado de los pezones y áreas adyacentes es fundamental para eliminar los organismos contaminantes presentes en la superficie de la teta y ubre ya que, muchos de éstos, se asemejan tanto a los gérmenes causantes de la Mastitis que pueden dar lugar a diagnósticos incorrectos. Después se seca la ubre lo mejor posible.

Posteriormente, se limpia el pezón y el orificio con un algodón impregnado de alcohol etílico al 70%.

Una vez detectados los cuartos positivos se procede a la toma de las muestras para bacteriología, siguiendo la metodología sugerida por el National Mastitis Council que se refiere a los procedimientos microbiológicos para el diagnóstico de la Mastitis bovina.

b) Recolección de la Muestra.-

Las muestras deberán tomarse inmediatamente antes de la ordeña regular, sin eliminar los primeros chorros de leche, ya que éstos contienen mayor número de microorganismos infectantes. Es importante que en el área de muestreo no haya corrientes de aire ni levantamiento de polvo.

La muestra se toma en un frasco estéril con tapón de rosca con capacidad de por lo menos 15 ml. La teta no debe tocar el frasco y la muestra debe ser tomada por otra persona, para que pueda proteger la boca del frasco con la tapa y mantenerlo inclinado, evitando así la contaminación con bacterias del ambiente.

Una vez efectuada la recolección, las muestras se enfrían y se colocan en un termo, si es que se tienen que transportar al laboratorio, donde deben ser sembradas antes de 24 horas de haber sido tomadas.

A su llegada al laboratorio se hará un frotis directo de la muestra, para ser teñido con la técnica de Gram.

c) Procedimientos Generales de Cultivo.-

Antes de sembrar las muestras de leche se calientan en baño maría a 37°C por un tiempo de 10 a 15 minutos, antes de homogeneizarlas; se agita la muestra 25 veces hacia arriba y hacia abajo, a una distancia aproximada de 30 cm. durante 7 segundos.

Se deja dispersar la espuma y se invierte suavemente el recipiente de la muestra. Esto se hace con el fin de dispersar las bacterias que pueden estar entre los acumulos de grasa, o bien se encuentran flotando en la grasa.

Después de siembra el inóculo de aproximadamente 0.025 ml. en la superficie de la caja petri de 10 cm. de diámetro, y se utiliza una asa de 8 mm. de diámetro interior.

(42)

3.2.2.2 Pruebas Bacteriológicas.-

Indudablemente que ciertas pruebas indirectas son necesarias para indicar la presencia de Mastitis.

Sin embargo, los métodos de cultivo son esenciales para el diagnóstico final y especialmente en la prevención y erradicación de la Mastitis.

Como ya mencionamos, un gran número de organismos patógenos intervienen en la producción de esta enfermedad. Para diferenciarlos necesitamos utilizar medios adecuados para su crecimiento.

Las muestras de leche deberán ser sembradas en cada uno de los siguientes medios:

a) Medio TKT (Thallium Cristal Violet Toxin).-

Este medio es utilizado para el aislamiento y la identificación presuntiva de Streptococcus agalactiae, Streptococcus dysgalactiae, y Streptococcus uberis. (53)

Consiste en una base de agar sangre el cual se le ha agregado sulfato de talio o acetato de talio (1:2,000), cristal violeta (1:750,000), B hemolisina de estafilococos y 5% de eritrocitos lavados de bovino u ovino.

El medio es selectivo para estreptococos; el talio inhibe el desarrollo de estafilococos. La B hemolisina altera los eritrocitos de tal manera que los estreptococos CAMP positivos producen una colonia, con un diámetro de hemólisis completa.

La B hemolisina es agregada al medio al mismo tiempo que los eritrocitos o pueden ser sembrados en estría, usando hisopos de algodón estériles.

Las placas deben ser incubadas por una hora antes de su uso. Las muestras de leche se estrían en el medio y posteriormente son incubadas por 24 horas a 37°C.

Streptococcus agalactiae produce una zona clara de hemólisis completa.

Esta prueba se complementa mediante un frotis teñido con la técnica de Gram, la prueba de la catalasa, y la prueba de CAMP-esculina.

Streptococcus agalactiae este coco Gram (+), catalasa negativo tiende a agruparse en forma de cadenas. Algunas

reacciones importantes para el diagnóstico son: CAMP (+), esculina (-), e hipurato (+).

Streptococcus dysgalactiae este coco Gram (+), es usualmente negativo a la prueba de CAMP y no hidroliza la esculina ni el hipurato.

Streptococcus uberis este coco Gram (+), es usualmente CAMP (-), hidroliza la esculina y el hipurato.

a) Prueba de CAMP-esculina.-

Esta prueba es suficientemente exacta para la identificación y diferenciación de Streptococcus agalactiae, - Streptococcus dysgalactiae y Streptococcus uberis.

(11,41)

Para esta prueba se utiliza un medio en el que se adicionan 0.1% de esculina y 0.01% de citrato férrico. Estas sustancias se le agregan a la base del agar sangre antes de la esterilización.

Se utiliza un cultivo de Staphylococcus aureus, capaz de producir una amplia zona de hemólisis beta.

Los estreptococos sospechosos se siembran en una estría formando ángulo con la siembra de estafilococos, pero - evitando el contacto con la misma. Se pone la placa a incubar por 18-24 horas a 37°C.

Una reacción CAMP positiva se indica por una zona de hemólisis completa en forma de punta de flecha en el área de obscurecimiento de la sangre próxima a la estría del estafilococo. En el mismo medio además de la reacción de CAMP, se observa la hidrólisis de la esculina por la aparición de una área obscurecida alrededor de la estría del estreptococo problema. Las cepas de Streptococcus agalactiae pueden además producir una zona de hemólisis completa (beta) alrededor de sus propias estrías.

Podemos encontrar en esta prueba cualquiera de las siguientes reacciones:

Streptococcus agalactiae.- CAMP (+), esculina (-), hemólisis alfa, beta o ninguna.

Streptococcus dysgalactiae.- CAMP (-), esculina (-), hemólisis alfa o ninguna.

Streptococcus uberis.- CAMP (-), esculina (+), hemólisis alfa o ninguna.

Esta prueba tiene el inconveniente que es necesario contar en el laboratorio, con un cultivo de Staphylococcus aureus capaz de producir una hemólisis beta; y además - cuando se realiza es fácil tocar con el inóculo de estrep tococo que se va a sembrar, con la siembra del estafilococo previamente realizada, por lo que fracasa la prueba.

b) Preparación de la Toxina B Hemolítica de Staphylococcus aureus.

1.- Seleccionar una colonia de Staphylococcus aureus capaz de producir hemólisis B.

Las colonias sembradas en agar sangre de bovino deberán ser de 2 a 3 mm. de diámetro, de color blanco y con una zona de hemólisis periférica de cerca de 25 mm. de diámetro.

- 2.- La colonia seleccionada se cultiva en cajas de agar sangre, dos o tres veces para estar seguros de que la colonia seleccionada produce B-toxina.
- 3.- Transferir una colonia a un caldo y se incuba por 3 o 4 días a 37°C.
- 4.- Agregar 1 ml. de cloroformo por 10 ml. de caldo trip tosa (o infusión de caldo cerebro corazón) el cloro formo destruye al estafilococo, pero no destruye la B-toxina.
- 5.- Dejar reposar por una noche a temperatura ambiente y está lista para usarse.

Se puede almacenar a temperatura ambiente o en refrigerador.

Puede ser usada por lo menos por 6 semanas.

Deben utilizarse torundas de algodón estéril para sembrar en estría la B-toxina en las placas de agar-sangre.

(41,54)

c) Instrucciones para Producir y Utilizar la B-Hemolisina de Estafilococos en Cajas de Agar Sangre para el Diagnóstico de Estreptococos Positivos a la prueba de CAMP.

- 1.- Seleccionar una cepa de Staphylococcus aureus productor de B-hemolisina.
- 2.- Cultivarlo en infusión de caldo cerebro corazón, durante 96 horas a 37°C.
- 3.- Agregar 1 ml. de cloroformo por cada 10 ml. de caldo.
- 4.- Dejar actuar el cloroformo durante 24 horas, a temperatura ambiente.
- 5.- Centrifugar el medio y separar el sobrenadante.
- 6.- Filtrar en filtro Seitz o en filtro millipore.
- 7.- Guardar el sobrenadante (B hemolisina) en el refrigerador.

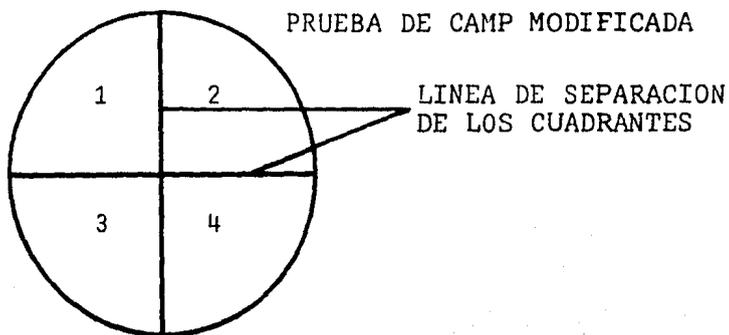
- 8.- Al momento de sembrar las muestras de leche, se debe colocar la toxina en cajas petri; éstas deben estar previamente marcadas con un plumón en cuatro - cuadrantes (dibujo 1). A continuación con un hisopo impregnado de toxina; se traza una línea en la parte media de cada cuadrante (dibujo 2).
- 9.- Sembrar las muestras de leche problema con una asa de cultivo realizando una estría en zig-zag, sobre la banda de toxina (dibujo 3).
- 10.- Incubar 24-48 horas a 37°C; observar el tipo de coloonias y hemólisis producida.

d) Prueba de la Catalasa.-

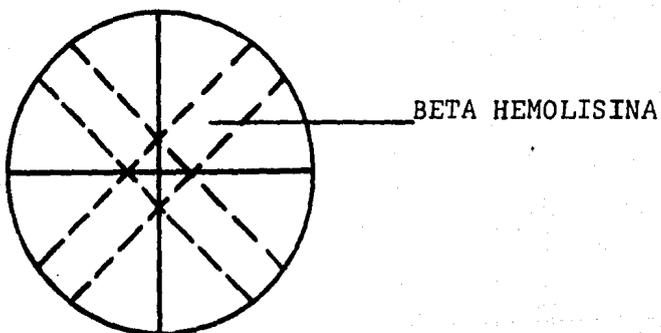
Reactivo: Agua oxigenada (H_2O_2)

Principio: Detectar si la bacteria problema produce la catalasa, que es una enzima que desdobra el agua oxigenada (peróxido de hidrógeno) en agua y oxígeno libre, que se aprecia en el reactivo como formación de burbujas. (41)

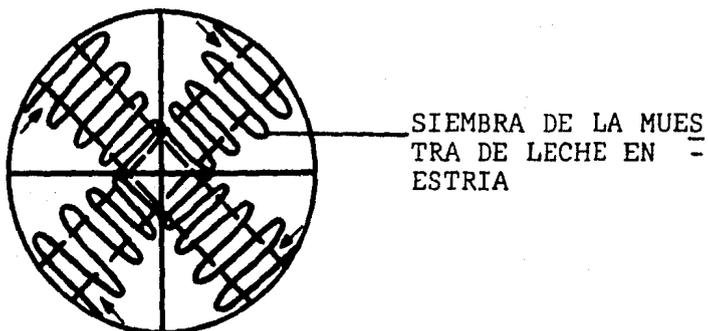
DIBUJOS QUE REPRESENTAN EL TRABAJO DE SIEMBRA DE CUATRO MUESTRAS DE LECHE EN CAJAS DE AGAR - SANGRE CON TOXINA BETA HEMOLITICA.



DIBUJO 1



DIBUJO 2



DIBUJO 3

Técnica: En un portaobjetos limpio y seco se coloca una gota del reactivo y sobre éste una asada de la colonia problema.

Resultado: Positivo. Esta indicado por una efervescen - -
cia o burbujeo inmediatamente.

Negativo. No hay formación de burbujas.

NOTA: Cuando la colonia problema se encuentra cultivada en gelosa sangre, el asa no debe enfriarse en el espe - -
sor del medio, como se hace rutinariamente, ni debe tocar la superficie del agar ya que las células sanguíneas contenidas en la gelosa sangre, producen peroxidasas que pueden provocar reacciones positivas falsas.

Interpretación: Aparición de burbujas indica acción de la catalasa y corresponde a estafilococo u otro microorganismo. Si no hay formación de burbujas no hay acción de la catalasa; por lo que indica que se trata de estreptococo.

b) Medio de Edward.-

En este medio no crecen o crecen pobremente los siguientes microorganismos: Coliformes, Staphylococcus y Corynebacterium. Tan sólo los estreptococos crecen bien, y las colonias presentan las siguientes características.
(11,12)

Streptococcus agalactiae.- Colonias medianas, de color azul grisáceo y presenta hemólisis total.

Streptococcus dysgalactiae.- Hay un enverdecimiento del medio y las colonias pequeñas son de color café, y presentan una hemólisis parcial.

Streptococcus uberis.- Colonias medianas de color café, algunas presentan una hemólisis parcial.

Para mayor seguridad en la identificación de los microorganismos aislados, se complementa con pruebas bioquímicas. (40)

Streptococcus agalactiae

Manitol sal	(-)
Sacarosa	(+)
Maltosa	(+)
Trealosa	(+)
Lactosa	(+)
Sorbitol	(-)
Xilosa	(-)

Streptococcus dysgalactiae

Manitol sal	(-)
Sacarosa	(+)
Maltosa	(+)
Trealosa	(+)
Lactosa	(⁺ ₋)
Sorbitol	(-)
Glucosa	(+)

Streptococcus bovis

Manitol sal	(⁺ ₋)
Sacarosa	(+)
Maltosa	(+)
Glucosa	(+)
Trealosa	(⁺ ₋)
Fructosa	(+)
Lactosa	(+)
Xilosa	(⁺ ₋)

Streptococcus uberis

Manitol sal	(+)
Sacarosa	(+)
Maltosa	(+)
Glucosa	(+)
Trealosa	(+)
Fructosa	(+)
Lactosa	(-)
Xilosa	(-)

c) Medio 110.-

Este medio es ideal para *Staphylococcus* y existe además un vire de color por el manitol, que a un pH ácido va de color rojo a amarillo.

Las colonias que se forman en este medio presentan un pigmento dorado o blanco, son brillantes de aspecto cremoso, en forma de círculo, cóncavas.

Esta prueba se complementa con la prueba de la catalasa y la prueba de la coagulasa. (32,37,40)

a) Prueba de la Coagulasa.-

Reactivo: Plasma de conejo, heparinizado u oxalatado.

Principio: Detectar la producción de coagulasa por parte de la bacteria. Esta enzima al tener contacto con el plasma, lo coagula.

Técnica: Hay dos formas de realizar la prueba: (41)

- Prueba rápida en placa: Se coloca en un portaobjetos una gota de solución salina fisiológica (S.S.F.) La colonia a probar es dispersada cuidadosamente en la gota. Hecho ésto se agrega una gota de plasma.

Resultado: Positivo. Está dado por la presencia de grumos o coágulos muy pequeños. Es importante hacer en la misma laminilla una suspensión de la bacteria en S.S.F. sin plasma para comparar con la mezcla problema. La lectura debe realizarse contra una adecuada fuente de luz, girando con precaución la laminilla.

Negativo. No hay formación de grumos. Cuando esto sucede se procederá a hacer la prueba lenta en tubo, ya que hay bacterias que siendo capaces de producir la enzima coagulasa, lo hacen de manera lenta.

- Prueba lenta en tubo: Se realiza cuando la prueba rápida ha sido negativa. Se inocula un tubo que contenga Caldo Infusión de Cerebro y Corazón con la colonia problema y se incuba por 24 horas a 37°C. Una vez que hay crecimiento se transfieren 0.5 ml. del caldo a 0.5 ml de plasma de conejo y se reincuba a 37°C. Las lecturas deben realizarse a la 1a, 2a, 3a, 4a, 8a, 16a, y 24 horas de incubación. Esto se hace para evitar lecturas falsas negativas, debido a que un coágulo ya formado puede ser disuelto por las fibrinolisinias que producen las mismas bacterias.

Resultado: Positivo. Coagulación del plasma observable en algunos de los tiempos de lectura.

Negativo. No se observa coagulación en ninguna de las lecturas.

d) Medio de Gelosa Sangre.-

Este medio es ideal para el aislamiento y cultivo de muchos microorganismos exigentes como lo son los patógenos. En este medio crecen *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Pasteurella* y además los hongos que llegan a producir Mastitis como Candida, Cryptococcus, Geotrichum y Trichosporom. (11,12,53)

Puede usarse además para descubrir la actividad hemolítica, también se utiliza para realizar directamente (sobre el crecimiento de los microorganismos) las pruebas de sensibilidad a los agentes quimioterapéuticos "in vitro".

Para diferenciar los microorganismos que crecen en este medio se realizan pruebas bioquímicas: (40)

Staphylococcus aureus

Manitol	(+)
Sacarosa	(+)
Maltosa	(+)
Glucosa	(+)
Hemólisis	(+)

Staphylococcus epidermidis

Manitol	(-)
Sacarosa	(+)
Maltosa	(+)
Glucosa	(+)
Hemólisis	(-)

Candida albicans

Glucosa	(+)
Maltosa	(+)
Sacarosa	(+)
Lactosa	(-)
Galactosa	(+)
Urea	(-)

Bacillus cereus

Manitol sal	(-)
Sacarosa	(+)
Glucosa	(+)
Movilidad	(-)
Fructosa	(-)
Lactosa	(-)

Pasteurella multocida

Citrato de Simmons	(-)
Movilidad	(-)
Glucosa	(+)

Pasteurella hemolítica

Citrato de Simmons	(-)
Movilidad	(-)
Glucosa	(+)

Lactosa	(-)	Lactosa	(+)
Sacarosa	(+)	Sacarosa	(+)
Maltosa	(-)	Maltosa	(+)
Urea	(-)	Urea	(-)
Indol	(+)	Indol	(-)

e) Agar de MacConkey.-

Este medio es utilizado para detectar Mastitis causada por los siguientes microorganismos: *Serratia*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Pasteurella*, *Chromobacterium*, y *Acinetobacter*. La identificación de los microorganismos aislados también se complementa , mediante reacciones bioquímicas: (11,22, 40,53)

Serratia marcescens

Escherichia coli

Citrato de Simmons	(-)	Glucosa	(+)
Sorbitol	(+)	Lactosa	(+)
Malonato	(-)	Movilidad	(+)
Lisina descarboxilasa	(+)	Indol	(-)

Arginina descarboxi lasa	(-)	Manitol	(+)
Ornitina descarboxi lasa	(+)	Sacarosa	(-)
Voges Proskauer	(+)	Fructosa	(+)

Pseudomona aeruginosa

Acinetobacter anitratus

Glucosa	(+)	Glucosa	(+)
Fructosa	(+)	Fructosa	(-)
Lactosa	(-)	Galactosa	(-)
Sacarosa	(-)	Lactosa	(+)
Manitol	(-)	Sacarosa	(-)
Urea	(-)	Manitol	(-)
Esculina	(-)	Indol	(-)

f) Medio de Loeffler.-

Este medio es útil para la determinación de Corynebacte
rium. Los cultivos se incuban a 37°C durante 24-48 ho-
ras y se examinan haciendo frotis teñidos; son bacilos
Gram (+), rectos, o ligeramente curvos, en forma de mazo
con regiones que se tiñen irregularmente, inmóviles, no
esporulados, agrupados en empalizada o en forma de letras

chinas o números romanos. (22,23,37)

Para la identificación se procede a efectuar pruebas bioquímicas. (40)

Corynebacterium ulcerans

Corynebacterium pyogenes

Catalasa	(+)	Catalasa	(-)
Urea	(+)	Urea	(-)
Glucosa	(+)	Glucosa	(+)
Maltosa	(+)	Maltosa	(+)
Sacarosa	(⁺ ₋)	Sacarosa	(⁺ ₋)

Una vez aislados los microorganismos causantes de la Mastitis, es recomendable seleccionar el tipo de antibiótico en base a los resultados de la prueba de sensibilidad a quimioterapéuticos de los gérmenes identificados.

3.2.2.3 Prueba de Sensibilidad a los Antibióticos.-

- 1.- Los discos de difusión impregnados con antibióticos son de suficiente confianza si se siguen los procedimientos estándares.

- 2.- Bajo condiciones de estandarización, el tamaño de la zona de inhibición alrededor del disco es una medida exacta de la eficacia de la acción antimicrobiana de la droga.
- 3.- Las condiciones de estandarización incluyen: tipo y cantidad de medio, tamaño y concentración del inóculo, temperatura y atmósfera de incubación y concentración de la droga en el disco.
- 4.- En la evaluación de los resultados es necesario el conocer la difusibilidad de la droga en el medio, así como la posibilidad de alcanzar niveles terapéuticos adecuados en el cuerpo del animal sin peligro de alcanzar niveles tóxicos.
- 5.- El método de Kirby-Bauer modificado por Barry que a continuación se describe, está diseñado primariamente para bacterias de crecimiento rápido. (11)

MATERIAL:

- a) Cajas petri de preferencia de gran tamaño (150 mm. de diámetro) porque así se pueden acomodar más discos. Pues si se utilizan las cajas de tamaño estándar (utilizadas para todos los medios de cultivo), la escala de interpretación debe reducirse a la mitad.
- b) El medio de Agar Muller Hinton reconstituirlo de acuerdo a las indicaciones y verter 70 ml. dentro de las cajas de petri las cuales, pueden guardarse hasta 4 días en el refrigerador. Puede ser incluido en el agar sangre en caso de que se trate de microorganismos de crecimiento lento como ejemplo: - Estreptococos, Pasteurella, etc.
- c) Las especificaciones de contenido de los discos de sensibilidad de antibióticos, se pueden ver en la tabla I. Observar por la fecha de caducidad, guardarlos en refrigeración con excepción de las penicilinas semisintéticas que deben ser mantenidas a baja temperatura (-20°C).

TABLA # I

TABLA DE INTERPRETACION DE LA ZONA DE INHIBICION POR EL METODO DE KIRBY-BAUER.

<u>AGENTES QUIMIOTERAPEUTICOS</u>	<u>POTENCIA</u>		<u>DIAMETRO DE LA ZONA DE INHIBICION EN mm.</u>		
			<u>Resistente</u>	<u>Intermedio</u>	<u>Sensible</u>
Bacitracina	10	U	8 menos	9 - 12	13 más
Cefaloridina	30	Ug	11 menos	12 - 15	16 más
Cefalotina	30	Ug	14 menos	15 - 17	18 más
Cloranfenicol	30	Ug	12 menos	13 - 17	18 más
Colistina	10	Ug	8 menos	9 - 10	11 más
Eritromicina	15	Ug	13 menos	14 - 17	8 más
Gentamicina	10	Ug	----	----	14 más
Kanamicina	30	Ug	13 menos	14 - 17	18 más
Lincomicina	2	Ug	9 menos	10 - 14	15 más
Meticilina	5	Ug	9 menos	10 - 13	14 más
Nafcilina y Oxacilina	1	Ug	10 menos	11 - 12	13 más
Acido Natídixico	30	Ug	13 menos	14 - 18	19 más
Neomicina	30	Ug	12 menos	13 - 16	17 más
Novobiocina	30	Ug	17 menos	18 - 21	22 más
Nitrofurantoina	300	Ug	14 menos	15 - 16	17 más
Oleandomicina	15	Ug	11 menos	12 - 16	17 más
Polimixina B	300	Ug	8 menos	9 - 11	12 más
Estreptomicina	10	Ug	11 menos	12 - 14	15 más
Sulfonamidas	300	Ug	12 menos	13 - 16	17 más
Tetraciclina	30	Ug	14 menos	15 - 18	19 más
Vancomicina	30	Ug	9 menos	10 - 11	12 más

cuadro no representativo de susceptibilidad.

- 2.- Incubar a 37°C por 4 horas.
- 3.- Al final del período de incubación colocar las cajas de Agar Muller Hinton en la estufa por 3-5 minutos con el propósito de secar y calentar ligeramente el medio.
- 4.- A un tubo con 10 ml. de Agar Muller Hinton líquido a temperatura de 50°C, agregar 0.001 ml. (asa de platino) del cultivo incubado por 4 horas (1 ml. de sangre estéril puede ser añadida en este instante si se requiere), mezclar bien con movimientos rotacionales y verterlo rápidamente sobre la superficie del medio de Agar Muller Hinton en la caja. Esta etapa requiere de rapidez puesto que el agar puede solidificarse durante el proceso.
- 5.- Permitir la solidificación del cultivo durante 5 a 10 minutos y a continuación, colocar los discos a iguales intervalos de distancia.

Las cajas grandes permiten hasta 12 discos sin zonas sobrepuestas de inhibición. (Ver la tabla de selección de antibióticos tabla número 1).

Los discos deben ser presionados con pinzas para asegurarse de su buen contacto con el agar.

6.- Incubar durante un período de 18 horas.

Para efectuar la medida exacta de las zonas de inhibición se utiliza una regla o calibrador. Interpretar la sensibilidad en la tabla número 1).

3.2.2.4 Hongos.-

Generalmente se siguen los siguientes pasos para la identificación de los hongos. (15,41,44)

1.- Centrifugar las muestras de leche a 2,500 rpm. durante 10 minutos.

2.- Se siembran en los siguientes medios:

a) Sabouraud Dextrosa Agar.-Utilizado comunmente en el estudio de la morfología de los organismos micológicos.

b) Brain Heart Infusión Agar.- Medio enriquecido, recomendado en el cultivo de microorganismos de difícil desarrollo.

c) Extracto de Malta Agar.- Adecuado para el mantenimiento de organismos levaduriformes.

3.- Se incuban las placas a 28°C y 37°C buscando levaduras de crecimiento rápido y dando mayor tiempo de incubación, a aquellas placas que muestren poco o ningún desarrollo.

4.- Diferenciación primaria entre colonias, utilizando tinción de Azul de Metileno, y el aislamiento de las colonias de levaduras presentes en tubos con los medios descritos.

- 5.- Sembrar en medios específicos para estimular la producción de ascosporas: Gorodkova, Acetato de Mac - Clory y Zanahorias. Incubando a 28°C durante 3 días y observación de dichas estructuras, mediante la tinción de Wirts. Con el objeto de separar levaduras perfectas e imperfectas.

- 6.- Sembrar las levaduras imperfectas en medio de harina de maíz (Corn Meal) medio de constitución pobre, utilizado para estimular la formación de blastosporas, clamidosporas y pseudomicelio.

- 7.- Inocular las levaduras imperfectas en 0.5 ml. de suero de bovino o equino e incubación durante 1-2 horas a 37°C, estimulando en esta forma la producción de tubo germinativo, característico de Candida albicans.

- 8.- Diferenciación de especies del género Candida, siguiendo las técnicas de asimilación y fermentación de compuestos hidrocarbonados, utilizando azúcares de pureza certificada.

- a) Medio basal para asimilación de carbohidratos o "auxonograma" probando 6 azúcares: dextrosa, maltosa, sacarosa, galactosa, trealosa y lactosa.
- 9.- Técnica de microcultivo en cámara húmeda para el estudio de la morfología micelilar y observación de estructuras, mediante la tinción de azul de algodón lactofenol.
- 10.- Prueba de patogenicidad en levaduras del género Cryptococcus por medio de la inoculación intracerebral - de 0.02-0.03 ml. de una suspensión de solución salina de la levadura en estudio para lo que se utilizan ratones de 6 semanas de edad, sacrificados a los 6 - días de inoculación.
- 11.- Para la identificación de estructuras características y morfología de los hongos, se utilizan como - guía, manuales de micología médica.

CAPITULO IV

TRATAMIENTO

El tratamiento de la Mastitis es determinado por dos factores muy importantes: el valor del animal enfermo y sobre todo la edad y el tiempo que ha durado la enfermedad; pues en las Mastitis de tipo crónico, en animales que llevan varios ciclos de lactación, en los cuales se presenta rebeldía al tratamiento, ya no es aconsejable insituir una nueva terapéutica si no es preferible eliminar el animal del hato.

Es recomendable hacer un análisis de cual es el antibiótico que se debe usar para el o los tratamientos de la enfermedad.

Cuando el tratamiento está indicado es conveniente, la administración por vía parenteral o infusión intramamaria de antibióticos y sulfas, en otras ocasiones dependiendo del agente etiológico se indican tratamientos específicos. (10)

Lo más utilizado en el tratamiento de la Mastitis es la aplicación por medio de infusiones de la ubre (intramamarias), después de realizar el ordeño; para mantener la droga en la glándula durante el mayor tiempo posible. Antes de aplicar la infusión, se recomienda desinfectar el orificio del pezón con algodón y alcohol al 70%; y sólo cuando los animales muestren reacción general, se recomienda la administración por vía parenteral, lo mismo que suero glucosado, antihistamínicos y corticoesteroides, lo cual se realiza para ayudar a controlar la toxemia en el animal. (25)

En general se aconseja el siguiente esquema de tratamiento:

4.1 Mastitis Aguda.-

1. Tratamiento General:

Penicilina.- estreptomicina 1.5 a 3 millones de Unidades o 1.5 a 3 gramos (intramuscular) o tetraciclina 2 a 3 gramos (intramuscular o intravenosa); se aplica también

sulfadimetilpirimidina; 12 a 15 gramos disueltos en 40-50 cm³ de agua estéril (intravenosa). Esta dosis se repite cada 12 horas. (11,25)

2.- Medicamentos anti-inflamatorios.

Hidrodeltisona (prednosalona); 125 a 250 mg por vía intramuscular.

Repetir la dosis cada 24 horas.

3.- Tratamiento local por infusión intramamaria:

(Ver Cuadro Número II)

4.2 Mastitis Subclínica.-

También se tratan con infusiones intramamarias, de preferencia cuando el animal que la padece se acerca a la etapa de secado.

CUADRO # IIPRODUCTOS APROBADOS PARA LA INFUSION INTRAMAMARIA COMO METODO PREVENTIVO O PARA EL TRATAMIENTO DE MASTITIS (FDA Agosto 1977+)

<u>INGREDIENTE ACTIVO</u>	<u>CANTIDAD</u>	<u>USARSE EN VACAS EN LACTACION O SECAS</u>	<u>LECHE DE LOS 4 CUARTOS DEBERA DESECHARSE DURANTE</u>	<u>TIEMPO TRANSCURRIDO ANTES DE ENVIAR SE AL RASTRO</u>
Novobiocina	400 mg	Seca	(1)	30 días
Penicilina G procaina	100 000 U.I.	Lactancia	84 horas	4 días
Hetaciclina de Potasio	Equiv.a 65 mg de Ampicilina	Lactancia	72 horas	10 días
Penicilina	100 000 U.I	Seca	(1)	30 días
Benzatina cloxacilina	500 mg	Seca	(1)	30 días
Cefapirina de Sodio	200 mg	Lactación y seca	72 horas	no establecido
Eritromicina	300 mg	Lactación y seca	36 horas	no establecido
Furaltodona	500 mg	Seca	96 horas	no establecido
Nitrofurazona	60 mg	Seca	72 horas	no establecido

(1) No usarse dentro de los 30 días antes del parto.

(+) Nebraska Extension Newsletter, 1977, Vol. 6, No. 12

4.3 Mastitis Crónica.-

Se recomienda tratarlas después del último ordeño, con infusiones en la glándula a base de quimioterapéuticos combinados con enzimas proteolíticas, para que actúen durante el período seco.

En ocasiones es recomendable la administración de ocitocina e hipofisina purificada para eliminar coágulos retenidos en los canales, y facilitar el descenso de la leche en vacas que "retienen" (fenómeno de Stress); éstos se aplican por vía endovenosa (o vía intramuscular en todo caso) 40 a 80 Unidades después de extraer por ordeño los coágulos o material purulento. Es de suma importancia dejar actuar, repetir la extracción y eliminar el material purulento para que después se apliquen los antibióticos, por infusión intramamaria.

Entre los antibióticos utilizados con mayor frecuencia se encuentran: penicilina, cloranfenicol, oxitetraciclina, sulfato de neomicina, eritromicina, ampicilina. Si se hace el tratamiento por vía intramuscular; la dosificación del antibiótico es de acuerdo con el peso de los animales, y repitiéndolo a las 24 y 48 horas. (72)

La dosificación de los antibióticos es como sigue:

Penicilina G. Procaína: 1,000,000 de U.I. por cada 100
Kg de peso por día, durante 3.

Cloranfenicol Levógiro: 0.5 gr por cada 100 Kg de peso
por día, durante 3.

Oxitetraciclina: 0.5 gr por cada 100 Kg de peso
por día, durante 3.

Sulfato de Neomicina: 0.5 gr por cada 100 Kg de peso
por día, durante 3.

Eritromicina: 0.5 gr por cada 100 Kg de peso
por día, durante 3.

Dihidroestreptomicina: 1 gr por cada 100 Kg de peso -
por día, durante 3.

Ampicilina: 0.5 gr por cada 100 Kg de peso
por día, durante 3.

Con el transcurso de los años, los microorganismos han desarrollado resistencia a la penicilina, como por ejemplo algunas cepas de estafilococos, los cuales producen enzimas como la penicilinasasa o la beta-lactamasasa; que actúan separando el anillo beta-lactámico de la penicilina, formando el ácido penicilánico el cual es inactivo contra el germen.

Debido a estos problemas se han incrementado las investigaciones para desarrollar nuevos antibióticos semisintéticos, que actúen sobre gérmenes resistentes entre los cuales se tienen: la oxacilina, cloxacilina, ampicilina y la nafcilina.

4.4 Mastitis Micótica.-

En las infecciones micóticas, actualmente se conoce la eficacia de Nistatina (Mycostatin); así como la extracción frecuente de leche contribuyendo a la eliminación de productos tóxicos.

Se recomienda también la aplicación de pomadas, ocitocina y, fricción de la glándula como estímulo al proceso de regeneración del tejido. (44)

CAPITULO V

IMPORTANCIA

5.1 Residuos de Fármacos y sus Efectos.-

El uso de antibióticos ha causado ciertas dificultades a las plantas industriales. Es decir, que las ubres tratadas secretan leche por varios días, conteniendo algo de los antibióticos aplicados; donde pueden alcanzar una concentración suficiente para impedir su utilización normal, especialmente en quesería, mantequería, fabricación de yoghurt, etc. Las bacterias lácticas que intervienen en la fabricación, sobre todo las pertenecientes al género de los estreptococos, son muy sensibles a los antibióticos.

Cuando son inhibidos, se retrasa la acidificación; además las bacterias Gram (-) más resistentes, especialmente las del grupo de los coliformes, pueden seguir desarrollándose y provocar alteraciones muy graves. La presencia de antibióticos en la leche es una consecuencia

del tratamiento de la Mastitis, que revisten una importancia excepcional en quesería. Dosis de penicilina que varían de 20 a 150 U.I. por litro de leche son suficientes para perturbar la fabricación. Es suficiente tratar una sola vaca entre 50, para que la leche de mezcla sea inadecuada para la fabricación de quesos normales. (73)

Además un punto muy importante al tratamiento de la Mastitis por medio del uso de antibióticos, es el hecho de que como los animales bajo tratamiento eliminan en la leche diferentes cantidades de antibiótico, ha sido motivo de preocupación principalmente por las siguientes razones.

- 1.- Algunas personas son muy sensibles a los antibióticos, principalmente a la penicilina. Reacciones alérgicas en forma de dermatitis se presentan en personas sensibles y es posible que se presenten reacciones más serias, cuando se consume leche con residuos de penicilina mayor.
- 2.- El continuo consumo de antibióticos a nivel de re-

siduo incrementa las posibilidades de que una persona adquiriera sensibilidad siendo específicamente serio en bebés y niños, quienes son los que actualmente consumen más leche de manera continua.

3.- Existe la posibilidad de que productos derivados - lácteos provenientes de leche contaminada con antibióticos, contengan bacterias patógenas resistentes a esos antibióticos que al ser consumidos por el hombre podrían causarle trastornos graves.

4.- La presencia continua de antibióticos en la leche puede favorecer el desarrollo de bacterias resistentes.

Este punto ha sido motivo de especial preocupación ya - que existe evidencia de que esta circunstancia constituye ya un problema serio de salud pública.

En el cuadro III se presentan los límites máximos en la leche aceptados por la FDA en Estados Unidos y en donde puede apreciarse que los niveles se consideran mínimos o prácticamente cero. Por otro lado exámenes realizados

CUADRO # III

NIVELES DE ANTIBIOTICOS PERMITIDOS EN LECHE POR LA FOOD AND DRUG ADMINISTRATION DE LOS ESTADOS UNIDOS. (En Cap. 21 de CFR, Parte-556).

SECCION	FARMACO	TOLERENCIA
556.40	Ampicilina	0.1
556.70	Bacitracina	0.05
556.115	Cefarina	0.02
556.150	Clortetracicilina	0
556.165	Cloxacilina	0.01
556.200	Dihidroestreptomicina	0
556.230	Eritromicina	0
556.280	Furaltodona	0
556.360	Lincomicina	0.15
556.430	Neomicina	0.15
556.460	Novobiocina	0
556.510	Penicilina	0
556.740	Tilosina	0.05

a leches en México indican que la contaminación con antibióticos ha alcanzado niveles alarmantes ya que prácticamente toda leche, está contaminada con antibióticos en - niveles demasiado altos.

Como los antibióticos han sido usados intensivamente en el manejo de ganado lechero, especialmente en el tratamiento y prevención de la Mastitis, y además ya se mencionaron, los problemas que derivan de la contaminación de la leche con antibióticos, y de la necesidad de someter a las vacas a períodos de retiro de 72 horas después de la infusión en la glándula mamaria, otros solamente de 36 horas y algunos hasta de 96 horas; en el cuadro II se exponen aquellos productos aprobados por la FDA de - Estados Unidos para uso en la glándula mamaria, dosis recomendadas y período de retiro.(55)

En México el Reglamento para el Control Sanitario de la leche en el Capítulo Primero, Artículo 12 estipula que "... se considera contaminada la leche cuando contenga: I. Agentes patógenos, cuerpos extraños, residuos de antibióticos, hormonas o sustancias tóxicas". En el mismo reglamento en el Capítulo Décimo Tercero, Artículo 155

estipula que: La SSA sancionará con decomiso cuando: I.
"La leche se encuentre adulterada, alterada o contaminada". (67)

Por lo tanto en México se contempla la exigencia del uso óptimo de la leche para la alimentación de sus habitantes y ésta deberá satisfacer los requerimientos exigidos en el reglamento mencionado.

Existen pruebas simples para descubrir la presencia de penicilina o estreptomina en la leche, pero exigen varias horas de incubación y material de laboratorio, lo que se halla fuera de las condiciones habituales de trabajo en la industria lechera. Puede llegarse a seleccionar cepas de fermentos lácticos que resisten dosis relativamente altas de penicilina; sin embargo no parece que ello sea, en general, una solución práctica.

Debe destacarse el hecho de que la penicilina es un antibiótico muy resistentes al calor, no se inactiva en el curso de la pasteurización de la leche y, se destruye - parcialmente en el autoclave 10 minutos a $1 \text{ Kg}/\text{cm}^2$.

5.2 Ingestión de Leche Contaminada con Microorganismos.-

La Mastitis del ganado bovino también puede ser origen de infecciones transmisibles al hombre.

Aun cuando la mayoría de los microorganismos causantes de Mastitis son inofensivos para el hombre, y aquellos que le pueden causar enfermedad son usualmente destruídos durante el proceso de pasteurización, existen algunas cepas de estafilococos que producen toxinas en la leche que pueden causar trastornos en el hombre.

Los primeros estudios fueron dados a conocer por Barber en Filipinas; en los que reporta que personas que habían ingerido leche previamente calentada que procedía de vacas con Mastitis Estafilocócica, presentaron a las dos horas vómito, náuseas y una postración extrema. (1)

Posteriormente se demostró que en la Mastitis Estafilocócica, la leche se encuentra contaminada de estafilococos que al multiplicarse en dicho alimento producen una toxina termoestable, que es la causa de la enfermedad -

observada en el hombre. Por tanto, se trata más bien de una intoxicación que de una infección pero su punto de origen está en la *mama* enferma.

En los Estados Unidos e Inglaterra, donde se siguen con mucho interés todas las cuestiones que se refieren a la leche, se ha demostrado la gran frecuencia con que la Mastitis de la vaca es el punto de origen de enfermedades que se transmiten al hombre. Se han descrito epidemias (causadas por estreptococos) de escarlatina, y anginas contagiosas producidas en unos casos por leche contaminada directamente por el personal que cuida al ganado, o trabaja en la lechería, o bien, procedente de ubres enfermas. (19)

Otras bacterias como las del grupo de los coliformes, se han hecho responsables de procesos infecciosos en el hombre; y como también puede existir Mastitis por Cryptococcus neoformans y Mycobacterium tuberculosis la importancia de esta enfermedad adquiere mayor significado.

5.3 Importancia Económica.-

Uno de los principales problemas con que se enfrenta el ganadero productor de leche es la presencia de Mastitis, ya que ocasiona importantes pérdidas en la producción; pues muchos de los costos están escondidos y por lo general no son reconocidos, sin embargo, son reales y afectan las ganancias netas del productor, siendo esta enfermedad el principal factor por el cual los ganaderos quiebran. (17,69)

En orden de importancia las pérdidas por Mastitis se agrupan de la siguiente manera:

- 1.- Pérdidas en producción láctea.- Las infecciones ya sean moderadas o severas, invariablemente ocasionan algún daño tisular y cuando esto sucede inmediatamente hay una reducción en la producción de leche, caseína y lactosa.

Estas pérdidas no se recuperan en las siguientes lactaciones, aunque se elimine la infección; pues los daños tisulares que ocurren en la ubre son irreversibles.

- 2.- Incremento de los gastos por reemplazos.- Cuando una vaca es desechada a causa de la Mastitis, existen varios factores de pérdidas que por lo general no son estimados en su totalidad por el productor. Entre estos factores se encuentra el hecho de que cuando una vaca es eliminada antes de que alcance su total madurez, los gastos invertidos en ese animal no redituaron. Otro factor es cuando se desecha una vaca, generalmente tendrá que ser reemplazada y sí es reemplazada por una vaquilla cuya producción láctea tardará en alcanzar su máximo potencial, implicará una serie de pérdidas que generalmente pasan desapercibidas.
- 3.- Leche Desperdiciada.- La leche procedente de animales enfermos, deberá ser desechada por ser inadecuada para el consumo humano.
- 4.- Gastos de Medicamentos.- Otra pérdida son los costos y gastos por concepto de los tratamientos, pues debido a la elevada incidencia de la enfermedad, los ganaderos utilizan gran cantidad de antibióticos,

la mayoría de las veces sin conocer si los gérmenes involucrados son sensibles a ellos o no. Esto ha traído como consecuencia que muchos microorganismos desarrollan resistencia a los productos usados comúnmente y que por lo tanto su tratamiento resulta más costoso y difícil.

5.- Trabajo y Mano de Obra Extra.- Como esta enfermedad puede propagarse a otros animales sanos si no se tienen las condiciones adecuadas, significa que se tendrá más trabajo en atender a los animales enfermos, así como se necesitará de un veterinario para atender a dichos animales y, si él lo cree conveniente se tendrán que enviar las muestras de leche al laboratorio.

CAPITULO VI

RECOMENDACIONES

México es un país deficiente en producción láctea, y si se consideran que la Mastitis clínica y subclínica, causa una pérdida del 25% aproximadamente, se podrá deducir la importancia de un programa de control de esta enfermedad, el cual deberá implantarse en forma permanente. (56)

Un programa de control de Mastitis deberá incluir los siguientes puntos:

- 1.- Ser accesible a la comprensión y habilidad técnica del ganadero.
- 2.- Incluir el programa en el manejo general del hato.
- 3.- Contribuir a disminuir el índice de infección.
- 4.- Evitar la presentación de nuevas infecciones.

RECOMENDACIONES:

El control de la Mastitis se puede lograr mediante el diagnóstico oportuno, determinando las causas predisponentes y el tratamiento adecuado de la enfermedad (en sus diferentes fases evolutivas).

Cualquier tratamiento carece de valor si no se llevan a cabo medidas de higiene y manejo adecuado.

6.1 Medidas de Control a Seguir.-

- 1.- Mantener el ganado en establos secos, limpios, bien ventilados e iluminados.
- 2.- Higiene del establo en general. Debe darse limpieza frecuente a los corredores. Estos deben mantener cierto desnivel para evitar encharcamientos durante épocas de lluvia.
- 3.- Eliminar todos aquellos factores que puedan determinar en un momento dado lesiones a las ubres o pezones.

- 4.- Revisión rutinaria de las ubres.
- 5.- Efectuar pruebas de C.M.T. (California), cada 30 días.
- 6.- Tratamiento inmediato de los animales positivos a dicha prueba.
- 7.- Efectuar pruebas de laboratorio, análisis bacteriológicos, antibiogramas y seleccionar el antibiótico específico.
- 8.- Análisis de leche de animales que hayan presentado Mastitis micótica antes de iniciar un tratamiento de antibióticos, contra infecciones bacterianas.
- 9.- Los animales gravemente infectados deberán ser eliminados del hato.
- 10.- Los animales restantes deberán ser divididos en grupos: sanos, sospechosos y enfermos de Mastitis; los animales pertenecientes al tercer grupo pueden ser

conservados por una temporada y si no producen económicamente ser eliminados.

- 11.-Los animales enfermos deberán ser sujetos a tratamiento y a pruebas, con el fin de cerciorarse de que han sido liberados de la Mastitis y en caso contrario deberán ser nuevamente tratados.

- 12.-Tratar todos los cuartos de todas las vacas en período seco, ya que el tratamiento de las vacas durante el período seco puede eliminar hasta un 80% de las infecciones presentes durante la lactancia anterior. Por ello, se insiste en la aplicación de un sistema de control de Mastitis durante el período seco.

- 13.-Los casos clínicos son tratados bajo responsabilidad de un veterinario haciéndose la recomendación de que aquellos casos producidos por infecciones por Staphylococcus aureus, Mycobacterium tuberculosis, No-cardia sp, Pseudomonas sp, etc., que no responden a la terapéutica deberán ser eliminados.

- 14.- Seguir un orden en el ordeño, es decir, ordeñar primero a los animales sanos, después los sospechosos y finalmente los enfermos (el ordeñador deberá tener perfecto cuidado en estos animales).
- 15.- Ordeñar el ganado en forma lotificada, es decir, con la secuencia de altas productoras y recién paridas, sanas primero, luego bajas productoras y por último bajas productoras por secarse y vacas problemas.
- 16.- Higiene del personal que lleva a cabo el ordeño:
- a) Limpieza en su persona y en su ropa, uñas recortadas, etc.
 - b) Desinfección constante de las manos durante el ordeño y entre vaca y vaca. Idealmente deberá usar - guantes de hule.
- 17.- Higiene durante el ordeño. Se describe a continuación la rutina del ordeño enumerando las prácticas

que idealmente deberá llevarse a cabo como medidas de higiene y de eficacia:

- a) Lavado de ubres. Durante este proceso deberá emplearse, agua limpia a temperatura ambiente, sin que ésta sea demasiado fría.
- b) Secado de la ubre. El secado deberá efectuarse utilizando toallas de papel desechable.
- c) Despunte.- Realizar el despunte (se refiere a la eliminación de los primeros chorros de leche que normalmente tienen un alto contenido de bacterias) en taza de fondo oscuro, nunca el despunte en el piso.
- d) Desinfección de las manos del ordeñador.- Esta práctica deberá llevarse a cabo antes de tener contacto con otra vaca.
- e) Puesta de máquina. Deberá buscarse que la colocación de la máquina en la vaca sea aprovechando que la vaca está "apoyada" o que ha bajado su leche, lo

cual en promedio se observa alrededor de un minuto después de iniciado el estímulo.

- f) Quitado de máquina. Retirar la máquina inmediatamente después de que la vaca ha dejado de ordeñarse, ésto es, en el momento que la leche ha dejado de fluír. Debe procurarse que de exprimirse a máquina se haga moderadamente, y definitivamente no exprimir a mano.

Evitar el sobreordeño, retirando la máquina ordeñadora una vez logrado el vaciamiento completo de la ubre.

- g) Sellado. Después de la ordeña, sumergir o bañar - la teta con solución desinfectante inmediatamente después de retirada la máquina.

Se recomienda utilizar un "sellador" aprobado (yodo, hipoclorito).

- h) Desinfección de las copas de ordeño. Esta práctica

deberá efectuarse inmediatamente después de retirar la máquina de la vaca.

Lo más conveniente es que se efectúe mediante la circulación de agua a través de cada una de las copas de ordeño.

18.- Higiene del equipo de ordeño. El sistema de ordeño debe ser lavado y desinfectado inmediatamente después de cada ordeño. Normalmente los pasos que se deben seguir son los siguientes:

- a) Enjuague. Debe efectuarse inmediatamente después del ordeño utilizando agua limpia a temperatura ambiente.
- b) Detergente alcalino. Se lava el sistema, circulando un detergente alcalino disuelto en agua caliente, a no menos de 70°C. El tiempo de circulación y la concentración del detergente serán asignados por el distribuidor.

- c) Enjuague. Después de lavado con detergente alcalino, se enjuaga nuevamente el equipo circulando agua limpia a temperatura ambiente.
- d) Detergente ácido. Se circula este detergente disuelto en agua a temperatura ambiente, normalmente se emplea cada tercer día.
- e) Desinfección. En seguida se enjuaga el equipo, nuevamente utilizando agua con solución desinfectante. Normalmente se utilizan desinfectantes clorados, y el agua a temperatura ambiente.
- f) Lavado de tubería de pulsación. Deberá lavarse la tubería de pulsadores con una frecuencia determinada. Comúnmente ésto se lleva a cabo cada mes, y en explotaciones grandes con más frecuencia.
- g) Manejo de pezoneras. Es necesario tener siempre dos juegos de pezoneras de manera que se efectúe una rotación semanal de las mismas, y tener el juego que se retira en reposo. Utilizar las pezoneras

únicamente el tiempo que el distribuidor recomienda.

19.- Revisión periódica del vacío y pulsaciones de las máquinas ordeñadoras.

20.- Tratar que cada vaca esté siempre a la misma hora a la ordeña.

21.- Proporcionar a las vacas camas secas, limpias, pues con los pisos fríos y húmedos, predisponen a la Mastitis y otras enfermedades.

22.- Equipo mecánico. Es de suma importancia que a nivel del esfínter del pezón exista una presión de vacío constante entre 12 y 13 pulgadas de presión de Mercurio durante el ordeño, y que las fluctuaciones de dicho vacío no sean superiores a dos pulgadas de mercurio. Si estas características, entre otras, no se observan, existe el peligro de daño a los tejidos del esfínter del pezón, propiciando al inicio de una Mastitis subclínica.

ANEXO I

a) Prueba de Azul de Bromotimol.

Preparación de la solución indicadora.- Se disuelve 1 gramo de Azul de Bromotimol en 500 ml de una solución al 47% de alcohol y ajustando la mezcla a un pH de 6.8-7.0. Para la prueba se toman 0.5 ml de la solución y se mezclan con 2.5 ml de leche en un tubo de ensaye.

b) Prueba de los Cloruros.

Reactivos:

- 1.- Solución de AgNO_3 ; se pesan 1.944 gramos de AgNO_3 , se añaden 200 cc de HNO_3 y 300 cc de una solución saturada de sulfato férrico amónico (alumbre). La mezcla se enfría y se completa 1 litro. Esta solución debe estandarizarse con el KCNS antes de usarse.
- 2.- La solución 0.29 N de KCNS se disuelven 2.228 gra-

mos y se completa a 1 litro.

Procedimiento:

Se miden con exactitud 10 cc de leche y se les añade 15 cc de una solución de AgNO_3 . Se agita y se añaden 100 cc de agua destilada. Se titula con la solución de KCNS hasta aparición de un color rosado. El número de cc de AgNO_3 menor al valor obtenido en la titulación, multiplicarlo por 0.01 y equivale al % de Cloro.

c) Técnica del Método de Volhard.

En un matraz enjuagado con agua destilada, se añade 25 ml de agua destilada, 7.1 ml de leche y 2 ml de sulfato férrico amoniacal. Se agita y se añade Acido Nítrico (2 ml), hasta la decoloración. Con una pipeta se añaden 4 ml de Nitrato de plata, se agita y se titula dejando caer gota a gota el sulfocianuro de potasio, hasta que aparezca una coloración rojiza que permanezca 15 segundos.

Siendo ambas soluciones de la misma normalidad, la dife
rencia de ellas equivale al Cloro contenido en la le-
che.

CAPITULO VII

CONCLUSIONES

- 1.- Las principales causas que ocasionan la Mastitis en México, son: falta de lavado y secado correctos de las ubres, no se lleva a cabo el sellado de los pezones al final de la ordeña y no se hace correctamente la desinfección entre vaca y vaca.
- 2.- Cuando las medidas de higiene y manejo, no son correctos se incrementa la frecuencia de Mastitis.
- 3.- Con respecto a las características anatómicas y fisiológicas las vacas más susceptibles a Mastitis son aquellas que presentan ubres pendulosas, tetas largas, gran diámetro en el canal de la teta y son altas productoras.
- 4.- La incidencia de Mastitis aumenta en ordeños manuales.

- 5.- Actualmente el microorganismo más frecuentemente - aislado en Mastitis bovina es el Staphylococcus aureus y el segundo lugar lo ocupa Streptococcus agalactiae. Dependiendo de las condiciones higiénicas, manejo, clima, etc., se han aislado sin una frecuencia establecida en forma específica Escherichia coli, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus uberis, - Streptococcus dysgalactiae, Bacillus cereus, Bacillus sp (diferentes a Bacillus cereus), Hongos y - levaduras, etc.
- 6.- En la literatura consultada no se menciona la utilización de medios de cultivo de recursos de naturaleza variada como para poder aislar gérmenes en requerimientos físicos y nutritivos específicos como micoplasmas y virus, por lo tanto, las Mastitis causadas por estos microorganismos pudieron haber sido - pasadas por alto.
- 7.- Dentro de los aspectos económicos las pérdidas por Mastitis se agrupan de la siguiente manera: a) reducción de la secreción láctea, b) mortalidad y de

secho por enfermedad, c) leche eliminada y decomisada y d) costo del tratamiento .

8.- La leche de los animales en tratamiento, no debe canalizarse para el consumo ya que los antibióticos que se eliminan en ella provocan reacciones alérgicas, por lo que sólo hasta después de 96 horas de realizar la última aplicación de antibióticos en el animal, debe utilizarse.

CAPITULO VIII

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Acha Pedro N. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles al Hombre y a los Animales. Editorial Organización Panamericana de la Salud. 1977.
- 2.- Agenjo Cecilia César. Manual sobre el Ganado Productor de Leche. Editorial Diana. 1979.
- 3.- Akhtar Saeed and Riaz Ahmad. 1982. Organisms Associated with Bovine Mastitis. Vet.J.22: 5, 67-72.
- 4.- Alcayde Orranca Juan Carlos. Estudio Comparativo de los Principales Agentes Etiológicos Causantes de Mastitis. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM 1978.
- 5.- Alais Charles. Ciencia de la Leche. Compañía Editorial Continental, S.A. 1970.

- 6.- Alcántara Peraza R. Principales Agentes Etiológicos de la Mastitis Bovina. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1979.
- 7.- Aiswoth G. C. and Austwick P.K. Fungal diseases of Animals. 2nd. Edition, Farnham Royal. Commonwealth Agricultural Bureaux England. 1976.
- 8.- Avila García Jorge. Examen Clínico de la Ubre. Edición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1982.
- 9.- Albarrán Rives León. Contribución al Estudio del Diagnóstico de la Mastitis Subclínica en el Ganado Lechero. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1980.
- 10.- Blood D.C. Medicina Veterinaria. Editorial Interamericana. 1976.
- 11.- Barajas Rojas José A. Diagnóstico Bacteriológico y Sensibilidad a Quimioterapéuticos de casos de Mas-

titis Bovina en el CNEEIZ de la FMVZ de la UNAM.
Edición de la Facultad de Medicina Veterinaria
y Zootecnia. UNAM, 1981.

12.- Breed S.R., Murray, E.G. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Williams and Wikine Company. USA.

13.- Brient, G.P. 1980. Immunization in Mastitis. J.Exp. Med. 138: 981-990.

14.- Cowie A.T. and Tindal S.S. The Phisiology of Lactation. London, 1979. Monographs of the Physiological Society.

15.- Cervantes R.A. Principales Agentes Micóticos Aislados en México como Posibles Causantes de Mastitis. Ponencia. Primer Curso de Actualización sobre Mastitis Bovina. Edición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1981.

- 16.- Campos Ramírez Victor Manuel. Incidencia de Infecciones de la Glándula Mamaria en el Ganado Lechero. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1981.
- 17.- Cobo Abreu, R.E. 1981. Study of the Effect of Mastitis on Milk Production. Dai. Sci. Abstr. 29: 330-335.
- 18.- Chávez Melo Juan. Apuntes de Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1979.
- 19.- Duhart Castillo Pedro Alfonso. Manual de Enfermedades Infecciosas Causadas por Bacterias. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1981.
- 20.- Dimas I.B. 1979. Efectos de la Mastitis Subclínica Sobre la Producción Láctea en el Ganado Bovino. Salud Pública en México. 13: 3-23.

- 21.- Derbyshire J.B. 1981. Immune Response of the Mammary Gland and Role of Immunization in Mastitis Control. Am. J. Vet. Res. 25: 90-99.
- 22.- DIFCO. Manual de Bacteriología. Novena Edición.
- 23.- Davis Bernard. Tratado de Microbiología. Editorial Salvat. 1978.
- 24.- Eberhart, R.J. 1977. Coliform Mastitis. J. Am. Vet. 170: 1160-1163.
- 25.- Eberhart, R.J. 1981. Evaluation of a Hygiene and Dry Period Therapy. J. Day. Sci. 551: 1683-1691.
- 26.- Ersmar, M. 1979. Presence of Corynebacterium pyogenes in Milk Samples from Cows. J. Am. Vet. Res. 40: 1043-1047.
- 27.- Frost. A.J. 1978. Induced Staphylococcal Infection in the Bovine Mammary Gland. J. Am Vet. 231: 160-165.

- 28.- Field, H. I. Enfermedades de los Bóvidos. Editorial Acribia. 1977.
- 29.- Fradson Roberto. Anatomía de los Animales Domésticos. Editorial Interamericana. 1967.
- 30.- Foster, R. Examen Microbiológico de Productos Lácteos. Editorial Diana. 1976.
- 31.- Furdins F. Henry y Keener A. Harry. La Leche su - Producción y Procesos Industriales. Compañía Editorial Continental, S.A. 1979.
- 32.- García Delgado Gustavo. Microorganismos Causantes de la Mastitis Bovina. Edición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1982.
- 33.- Garvie Ellen and Bramley A.J. 1979. Streptococcus bovis an approach to its Clasification and its Importances as Cause of Bovine Mastitis. Journal of Applied Bacteriology. 46:557-566.

- 34.- Gutiérrez H. Manuel. Cuantificación de Albúmina Sérica por el Método Colorimétrico y su Empleo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1978.
- 35.- Jasper, D. E. Mastitis y su Control. Edición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1982.
- 36.- Jaartsveld F.H. Ultimos Avances sobre Pruebas de Campo y Laboratorio para el Diagnóstico de Mastitis. Ponencia. Primer curso de Actualización sobre Mastitis Bovina. (Memorias) Edición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1981.
- 37.- Jang, S.S. y Biberstain, E.K. A Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Micology. Revised Edition. Microbiology Service, V.M.T.H. Davis.
- 38.- Karl J. Demeter. Lactobacteriología. Editorial Acribia. 1979.

- 39.- Lagunes J. y Brewer H. Mastitis Causada por un Hongo del Género Geotrichum. Resúmenes de la XII Reunión Anual del I.N.I.P. 1980.
- 40.- Lennette Edwin. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology. Washington D.C. 1980.
- 41.- López Alvarez José y Barajas Rojas José A. Manual de Laboratorio para Bacteriología y Micología Veterinaria. Edición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1982.
- 42.- Madariaga Aguilar Oscar E. y López Alvarez José. Bacterias Asociadas con la Mastitis Bovina en los Establos Lecheros que Abastecen a México, D.F., y su Susceptibilidad a Agentes Quimioterapéuticos. Ponencia. Primer curso de Actualización sobre Mastitis Bovina. (Memorias). Edición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1981.

- 43.- Martínez Elsa and M.B. Diallo. 1981. Staphylococci as Agents of Bovine Mastitis. Rev. Salud. Animal. 3: 33-44
- 44.- Murillo Saldaña Elizabeth. Aislamiento e Identificación de Levaduras. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1978.
- 45.- Merchant I.A. Bacteriología y Virología Veterinaria. Editorial Acribia. 1970.
- 46.- Mc Donal, J. S. 1980. Streptococcal and Staphylococcal Mastitis. J. Am. Vet. 170: 1157-1159.
- 47.- Murillo, S.E. Aislamiento e Identificación de Levaduras en Leches de Vacas Clínicamente Afectadas por Mastitis Bovina. Ponencia. Primer curso de Actualización sobre Mastitis Bovina. (Memorias). Edición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1981.

- 48.- Murphy, J.M. 1978. Bactericidal Action in the Test Canal. J.Am.Vet. 38: 153-157
- 49.- National Mastitis Council. Microbiological Procedures for the Diagnosis of the Bovine Mastitis.
- 50.- National Mastitis Council. Current Concepts of Bovine Mastitis.
- 51.- Pérez Fernández Luis Felipe. Apuntes de Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 1980.
- 52.- Pérez D. Marcelo. Factores de Resistencia de la Glándula Mamaria de Bovinos. Primer curso de Actualización sobre Mastitis Bovina. (Memorias). Edición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1981.
- 53.- Pérez M. Jorge. Principales Gérmenes Aislados en México como Posibles Causantes de Mastitis. Ponencia. Primer curso de Actualización sobre Mastitis

Bovina. (Memorias). Edición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1981.

54.- Pérez D. Marcelo. Métodos Fisicoquímicos para el Diagnóstico de la Mastitis Subclínica. Manual de Técnicas para el Análisis Fisicoquímico de la Leche. Patronato para el Apoyo de la Investigación y Experimentación Pecuaria en México. I.N.I.P.

55.- Rasmussen, F. 1979. Studies on the Mammary Excretion and Absorption of Drugs. Commissioned by Carl Fr. Mortensen, Copenhagen, pp 125-138.

56.- Ruíz S. Hedberto. Pruebas Utilizadas en el Diagnóstico de la Mastitis Subclínica. Edición de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1982.

57.- Rivers Thomas M. Diagnóstico y Tratamiento de las Enfermedades por Virus y Rickettsias. Editorial Interamericana. 1975.

- 58.- Raymond A. Kelber. y Schoening Harry. Bacteriología Veterinaria. Editorial Interamericana. 1978.
- 59.- Rusell, M. W. 1977. Phagocitic Deficiency of Bovine Milk Leucocytes. J. Food. Prot.16: 125-131.
- 60.- Rosenberg G. Clinical Examination of Cattle. Saunders Company. Philadelphia, 1979.
- 61.- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Problemática de la Actividad Lechera Medidas y Acciones de Solución a Corto y Mediano Plazo. 1983.
- 62.- Schmidt , G. H. Biology of Lactation. San Francisco, Freeman and Co. 1975.
- 63.- Stuart, P. I. 1981. An Outbreach of Bovine Mastitis from wich Yeast were isolated an Atteps of Reproduce the Conditions Esperimentally. Vet. Rec. 314: 63-64.

- 64.- Singh, K.B. 1982. Etiology in Vitro Sensitive and Treatment of Subclinical Mastitis in Milk Producing Animals. J.Vet 59: 191-198.
- 65.- Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Reglamento para el Control Sanitario de la Leche.
- 66.- Schalm, C.B. 1977. A comparison of five Active Mastitis Control Program. Proceedings National Mastitis Council. Washington, D.C.
- 67.- Secretaría de Salubridad y Asistencia. Reglamento para el Control Sanitario de la Leche.
- 68.- Tucker, E. W. 1978. Case Report on Yeast Infections of the Bovine Udder. Cornell Vet. 50: 80-84.
- 69.- Trejo Juárez Ricardo. Repercusiones en la Ganadería Lechera. Ponencia. Primer Curso de Actualización - sobre Mastitis Bovina. Edición de la Facultad de - Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1981.

- 70.- Vakil, J. R. and Chandan, R.C. 1979. Susceptibility of Several Microorganisms to Milk Lisozymes. J. Dairy Sci. 52: 1192.
- 71.- Vázquez Garza Jesús. Estudio sobre la Incidencia y Tipificación Bacteriana. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1973.
- 72.- Vargas Tinoco Fernando. Tratamiento de la Mastitis Bovina. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1981.
- 73.- Velázquez, F.Q. 1980. Investigación de Residuos de Antibióticos en Leche Pasteurizada y Envasada - que se Consume en el Area Metropolitana. Salud Pública. 22: 91-99
- 74.- Weding. F. B. 1981. The Mechanism of Secretion of Milk. J. Cell. Sci. 9: 805-821

75.- Whittlestone, W.G. 1978. The Physiology of Lactation. En Procced. Of the International Symposium on Machene. Kentucky USA.

76.- Yáñez Rodríguez Blanca. Sensibilidad de la Pruebas de California, Cuenta de Células Somáticas en el Diagnóstico de la Mastitis. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1980.