

25 2 ejemplares



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**"INCIDENCIA DE INFECCIONES DE LA GLANDULA
MAMARIA EN GANADO LECHERO DURANTE EL
PERIODO SECO"**

T E S I S

Para obtener el título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

VICTOR MANUEL CAMPOS RAMIREZ

Asesor: M.V.Z. MARCELO E. PEREZ DOMINGUEZ

México, D. F.

**TESIS DONADA POR
D. G. B. - UNAM**

1981



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.

RESUMEN

INCIDENCIA DE INFECCIONES DE LA GLANDULA MAMARIA EN GANADO LECHERO DURANTE EL PERIODO SECO.

Este trabajo se realizó en el Departamento de Bacteriología del INIP-SARH, con el objeto de establecer:

- a) La frecuencia de infecciones durante el periodo seco,
- b) Establecer la correlación entre diferentes parámetros físico-químicos de la leche y el estado infectivo de la glándula mamaria durante el periodo seco,
- c) La persistencia del mismo tipo de infecciones durante el periodo seco.

Se tomaron muestras de leche de 55 vacas Holstein, un día antes del secado, al momento del secado, dos semanas, un mes y seis semanas después del secado, y 2 muestras consecutivas dentro de los 10 días postparto. Se realizaron análisis bacteriológicos, así como conteo de células somáticas y determinación del contenido de albúmina sérica.

Se encontró que un 23% de infecciones aparecen durante el periodo seco, el 79.5% de cuartos infectados al secado se recuperan al parto y el 4.1% de cuartos infectados al secado permanecen infectados al parto, pero por diferente bacteria.

Se encontró una correlación muy baja entre el contenido de albúmina sérica, número de células somáticas, características físico-químicas de la leche, y estado infectivo de la glándula. Las bactérias que causaron mayores infecciones durante este periodo fueron Streptococcus spp, S. aureus y Corynebacterium spp.

A pesar del gran número de cuartos infectados no hubo ningún caso de mastitis clínica.

C O N T E N I D O

I.	INTRODUCCION.....	1 - 2
I.1	Generalidades sobre mastitis y cambios físico- químicos de la leche debidos a esta enfermedad.....	3 - 6
I.2	Mastitis durante el periodo seco.....	7 - 8
I.3	Métodos para el diagnóstico de la masti tis subclínica.....	9 - 12
II.	MATERIAL Y METODOS.....	14- 20
III.	RESULTADOS.....	20- 26
IV.	DISCUSION.....	36- 40
V.	CONCLUSIONES.....	41
VI.	BIBLIOGRAFIA.....	42- 43

INDICE DE CUADROS

DIAGRAMA 1.	DIAGRAMA DE FLUJO QUE SE DEBERA SEGUIR PARA LA IDENTIFICACION DE LOS DIFERENTES PATOGENOS DE LA GLANDULA MAMARIA.....	13
CUADRO I.	MICROORGANISMOS RECONOCIDOS COMO CAUSANTES DE MASTITIS.....	4
CUADRO II.	CONTENIDO NORMAL DE CELULAS SOMATICAS EN LECHE SEGUN DIFERENTES AUTORES.....	6
CUADRO III.	MICROORGANISMOS RECONOCIDOS COMO CAUSANTES DE MASTITIS.....	8
CUADRO IV.	CLASIFICACION DE LAS SECRECIONES OBTENIDAS DE LA GLANDULA MAMARIA DURANTE EL PERIODO SECO.....	19
CUADRO V.	FRECUENCIA DE CUARTOS INFECTADOS Y NO INFECTADOS AL SECADO EN LOS TRES ESTABLOS (BASADO EN DOS MUESTREOS.....	27
CUADRO VI.	FRECUENCIA DE CUARTOS INFECTADOS Y NO INFECTADOS A LAS 2a. Y 4a. SEMANAS DESPUES DEL SECADO EN LOS TRES ESTABLOS.....	28
CUADRO VII.	FRECUENCIA DE CUARTOS INFECTADOS Y NO INFECTADOS AL PARTO (EN LOS DIEZ DIAS POSTERIORES) EN LOS TRES ESTABLOS.....	29
CUADRO VIII.	NUMERO DE CELULAS SOMATICAS Y CONTENIDO DE ALBUMINA SERICA POR MILILITRO, EN LECHE PROVENIENTE DE GLANDULAS INFECTADAS Y NO INFECTADAS AL MOMENTO DE SECARSE Y AL PARTO.....	30
CUADRO IX.	CORRELACION ENTRE ALBUMINA SERICA Y CELULAS SOMATICAS EN LECHE DE CUARTOS INFECTADOS Y NO INFECTADOS.....	31
CUADRO X.	RELACION ENTRE LAS CARACTERISTICAS FISICAS DE LA LECHE E INFECCIONES EN CADA MUESTREO DURANTE EL PERIODO SECO (2a. y 4a. SEMANAS).....	32
CUADRO XI.	RELACION ENTRE LAS CARACTERISTICAS FISICAS DE LA LECHE E INFECCIONES EN CADA MUESTREO DURANTE EL PERIODO SECO (6a. SEMANA Y PARTO).....	33
CUADRO XII.	ESTABLECIMIENTO DE LA APARICION Y DESAPARICION DE INFECCIONES AL SECADO Y AL PARTO.....	34
CUADRO XIII.	PERSISTENCIA DE LA MISMA BACTERIA EN DIFERENTES MUESTREOS REALIZADOS DURANTE EL PERIODO SECO (NUMERO DE CUARTOS INFECTADOS).....	35

I.- INTRODUCCION

La glándula mamaria de los bovinos constituye un órgano de intensa actividad, cuyo objetivo fisiológico primordial es la síntesis y secreción láctea.

En los bovinos domésticos destinados a la producción de leche, esta estructura es quizás la más frecuentemente atacada por los agentes patógenos, y por ende, es el órgano que sufre de mayor número de infecciones durante la vida del animal.

Desde hace muchos años se ha reconocido que la mastitis es la enfermedad que representa uno de los problemas más difíciles de controlar y que ocasiona mayores pérdidas económicas a la ganadería lechera del país.

El objetivo de toda explotación lechera es producir, y sabemos que la mastitis representa un problema que se opone a los principios de producción.

Las pérdidas por mastitis se podrían agrupar de la siguiente manera: disminución de la producción de la leche y por consiguiente de sus derivados, desperdicio de la leche contaminada por los fármacos administrados, costo de los tratamientos y pérdida de los animales.

Todos estos factores contribuyen aumentando el costo de producción.

La mastitis, como su nombre genérico lo indica, constituye una reacción inflamatoria de la glándula mamaria, que puede ser ocasionada por factores traumáticos, físicos y/o mecánicos, principalmente durante la ordeña, con o sin invasión secundaria de gérmenes. Con menor frecuencia intervienen las alteraciones fisiológicas y la conformación defectuosa de tetas o pezones, sin embargo, el 80% de los casos de mastitis es originado por la invasión de gérmenes patógenos a la ubre (10), y es por tanto, el factor infeccioso de mayor importancia en la presentación de esta enfermedad.

Todos estos factores hacen de la mastitis un padecimiento difícil de combatir.

En bovinos lecheros, la mastitis ocurre frecuentemente durante el periodo seco y las primeras semanas después de iniciada la lactación (19).

La mastitis puede ser la expresión clínica de las infecciones que podrían haber existido desde el momento de secarse, o bien, deberse a infecciones nuevamente establecidas.

Las bacterias patógenas de los géneros Staphylococcus y Streptococcus principalmente, invaden con mayor frecuencia los cuartos de la ubre durante las primeras semanas posteriores al secado. Así mismo, la mitad de estas infecciones que persisten al momento del parto, se tornan en mastitis clínica.

Se considera que la información sobre la incidencia de mastitis durante el periodo seco en México no es la suficiente como para poder evaluar el problema que está causando, así como para considerar esta etapa no lactante con el fin de obtener un mejor control de esta enfermedad. Por lo tanto, los objetivos de este trabajo fueron:

- a) Establecer la frecuencia de infecciones durante el periodo seco.
- b) Establecer la correlación entre diferentes parámetros físico-químicos de la leche y el estado infectivo de la glándula mamaria durante el periodo seco.
- c) Establecer la persistencia del mismo tipo de infecciones durante el periodo seco.

I.1 GENERALIDADES SOBRE MASTITIS Y CAMBIOS FISICO-QUIMICOS DE LA LECHE DEBIDOS A MASTITIS.

Como consecuencia del daño producido a la glándula mamaria, - y dependiendo del grado de severidad, la leche va a sufrir - cambios físicos y químicos. Existen dos factores fisiológicos que pueden dar una explicación a estos cambios:

- a) Daño a las células alveolares sintetizadoras de la leche, que dan como consecuencia una reducción en aquellos componentes producidos precisamente en esas células. Tal es el caso de la lactosa, la caseína y la grasa (18).
- b) Dentro de los mecanismos de la inflamación, una de las reacciones más importantes que se lleva a cabo es el aumento en la permeabilidad vascular. Como consecuencia de ésto, sustancias o materiales que no existen en la leche (o existen en muy bajas concentraciones), pero que sí se encuentran presentes en la sangre, son impulsadas hacia la leche, incrementando su concentración. Tal es el caso de los iones de cloro y sodio, y de la albúmina sérica (18).

En el Cuadro I se presentan los componentes de la leche más importantes, que sufren alteraciones en su concentración debido a mastitis. Se presentan niveles de células somáticas que van de < 250 mil a > 1 millón por ml., considerando la leche normal en un rango de 500 a 700 mil células por mililitro.

CUADRO I. COMPONENTES MAS IMPORTANTES DE LA LECHE Y SUS ALTERACIONES DEBIDO A MASTITIS*

	Células Somáticas/ml. (miles)		
	<250	500-1000	>1000
Proteína total	3.61	3.59	3.56
Caseína	2.79	2.65	3.56
Proteínas del suero	0.62	1.10	1.31
Caseína total	0.77	0.71	0.69
α_{s1} - caseína	1.33	1.09	0.85
β - caseína	1.06	0.92	0.65
K - caseína	0.16	0.20	0.19
β - lactoglobulina	0.25	0.31	0.22
a - lactalbúmina	0.28	0.30	0.23
Albúmina sérica	0.15	0.23	0.35
Inmunoglobulina	0.14	0.26	0.51

* (18)

Existen otros componentes de la leche cuya concentración se ve afectada debido a la mastitis y en los cuales el mecanismo de variación no es claro. Tal es el caso de la lactoferrina y de la lisozima, componentes bactericidas que aumentan cuando la glándula mamaria sufre inflamación (8). Sin embargo, aún no se sabe con exactitud si estos componentes son sintetizados por la glándula mamaria, o tienen su origen en otras células, como podrían ser los leucocitos. Normalmente, la leche contiene un número de células que reciben en general el nombre de células somáticas. Como puede observarse en el Cuadro II, existe una divergencia de opiniones en cuanto a cuál es el número de células somáticas que debe encontrarse normalmente en leche proveniente de una vaca sana. Sin embargo, podemos considerar -

que la leche normal contendrá menos de 500-700 mil células somáticas por centímetro cúbico.

Dentro de las razones que ocasionan confusión entre los diferentes autores para establecer valores normales de células somáticas en la leche, mencionan una variación debida a factores fisiológicos, como uno de los más importantes.

El número de células somáticas aumenta conforme aumenta el número de lactancias (18). Así mismo, al principio de la lactancia y al final de la misma, el incremento es considerable, especialmente unos cuantos días antes del secado (18). Otra característica que ha sido motivo de controversia entre diferentes autores es el establecimiento del tipo de células que constituyen la población de células somáticas. En términos generales, se puede decir que las células somáticas se originan de: una parte constituida por aquellas células de deshecho, es decir, células epiteliales de las paredes que forran la glándula mamaria y que sufren un proceso de "descomposición". El otro tipo de células lo forman los leucocitos que han emigrado de la sangre a la leche (18).

En una leche proveniente de glándulas sanas, el mayor número de células está formado por células epiteliales, linfocitos y neutrofilos. Cuando existe una inflamación, tiene lugar un incremento en el número de leucocitos polimorfonucleares y si la mastitis se torna crónica, entonces el tipo de células que predominan son los monocitos y los macrófagos (3).

**CUADRO II. CONTENIDO NORMAL DE CELULAS SOMATICAS EN LECHE
SEGUN DIFERENTES AUTORES**

AUTOR	AÑO	CELULAS/ml
Prescott & Breed	1910	1,485,000
Skar	1912	500,000
Christiansen	1929	963,000
Bachamann	1932	59,750
Cherrington	1933	50,000
Grassi	1933	120,000
Wayne & Macy	1933	1,250,000
Wilde	1938	200,000
Klimmer & Schonberg	1939	500,000
Konz	1955	150,000
Schonberg	1956	150,000
Whaby & Nars	1957	250,000
Klastrup	1960	180,000
Moursy & Obiger	1960	300,000
Obiger	1961	300,000
Seelman & Meyer	1963	300,000
Dilbat	1963	160,000
Kastli	1963	300,000
Seelman	1964	100,000

* (19) Schalm O.W. (1971). Bovine Mastitis. Lea & Febiger, Philadelphia.

I.2 MASTITIS DURANTE EL PERIODO SECO

En la vaca lechera ocurre una disminución natural en la lactación, que es de origen fisiológico y se presenta aproximadamente al quinto mes de gestación. A pesar de que la producción continúa a un cierto nivel, es importante dar a la glándula un periodo de descanso en preparación a la próxima lactación. (19). Con este fin, el hombre contribuye en el proceso de secado de la vaca aplicando métodos establecidos, como lo son el secado súbito y el secado paulatino.

Dentro de la dinámica de la frecuencia de presentación de la mastitis, se ha encontrado que un gran porcentaje aparece durante el periodo seco y los dos primeros meses después del parto.

Se ha estimado que alrededor del 10%-25% de las mastitis aparecen exclusivamente durante el periodo seco (17, 19), y cerca del 40%-50% tienen lugar durante el periodo seco y los dos primeros meses después del parto (17). La mitad de estas infecciones que persisten al momento del parto se tornan en mastitis clínicas (19). Por otra parte, se ha reportado también que alrededor del 19%-20% de los cuartos infectados durante el periodo seco se recuperan espontáneamente (22).

En términos generales, se ha establecido que el tipo de bacterias que infectan a la glándula mamaria durante este periodo son las mismas que ocasionan la mastitis durante la lactancia (ver Cuadro III). Las bacterias que causan mayor número de problemas son de los géneros Staphylococcus y Streptococcus, entre los más importantes están: Streptococcus agalactiae, S. dysgalactiae, S. uberis y Staphylococcus aureus (22).

Estudios recientes han demostrado que otras bacterias que tradicionalmente no se consideraban como patógenas de la glándula mamaria, contribuyen significativamente en la frecuencia de la aparición de mastitis durante el periodo seco. Tal es el caso de Corynebacterium pyogenes, Peptococcus indolicus y otras bacterias microaerofílicas (15).

Dentro de las posibles razones que han impedido identificar estas bacterias como causantes de mastitis está el hecho de

que requieren condiciones especiales de cultivo. Por otra parte, se ha observado que la capacidad patogénica de estas bacterias es característica, requiriendo de la acción sinérgica de dos especies para causar daño a la glándula mamaria, por ejemplo, Peptoestreptococcus idólicus y Corynebacterium pyogenes (15).

Considerando la alta frecuencia de infecciones durante la época seca de la vaca lechera, se presenta una buena oportunidad de llevar a cabo un mejor control de la mastitis, conociendo más a fondo su dinámica.

CUADRO III. MICROORGANISMOS RECONOCIDOS COMO CAUSANTES DE MASTITIS*

<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Candida psudotropicalis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Pichia farinosa</i>
<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Trichosporum cutaneum</i>
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	<i>Nocardia asteroides</i>
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	<i>Mycoplasma bovis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Mycoplasma bovigenitalium</i>
<i>Corynebacterium bovis</i>	<i>Mycoplasma alkalescens</i>
<i>Proteus spp.</i>	Grupo 7 de Leach
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma canadensis</i>
<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

* (4) Colloquium on bovine mastitis. J.A.V.M.A. 170 (10) 1977

I.3 METODOS PARA EL DIAGNOSTICO DE LA MASTITIS SUBCLINICA.

I.3.1 PRUEBAS FISICO-QUIMICAS.

Uno de los problemas más serios que impide un mejor control de la mastitis subclínica es la dificultad técnica en su detección. A través de los años, los investigadores han dedicado mayor esfuerzo en desarrollar métodos que sean lo suficientemente sensitivos, prácticos y económicos, sin que exista hasta la fecha un método que pudiera considerarse ideal. En esta sección se describirán algunos de los métodos que se usan actualmente y que se considera, deberían ser utilizados rutinariamente en México.

Los métodos actuales para la detección de mastitis se basan generalmente en pruebas fisicoquímicas.

Determinación de cloruros: la prueba se basa en el cambio de color de la leche al agregar cromato de potasio en presencia de nitrato de plata. Este procedimiento químico es muy variable y hasta cierto punto subjetivo, por lo que no es recomendable (11, 19).

Actualmente un nuevo procedimiento para cuantificar cloruros utilizando electrodos específicos para iones cloro se ha sugerido. Este método es muy exacto, de bajo costo y práctico (9, 11).

Conductividad eléctrica: el éxito de este método consiste en poder comparar la conductividad eléctrica de la leche de los cuartos de una vaca. En el momento en que la leche que proviene de un cuarto presenta diferente conductividad al resto de los cuartos, se detecta daño en el mismo. Este método es recomendable y sin duda será uno de los más usados en el futuro (7, 11).

Determinación de albúmina sérica: la cuantificación de albúmina sérica por medio de pruebas de inmunodifusión radial -

constituye uno de los métodos más prácticos, económicos y exactos. Se recomienda este método para ser implantado en un programa de control de mastitis (1, 11, 22).

Determinación de células somáticas: la cuantificación, directa o indirecta, del contenido de células somáticas en la leche, - ha sido uno de los procedimientos más populares. Existen varios métodos con este fin, siendo algunos muy objetivos, otros muy costosos y otros factibles de aplicarse a un programa rutinario de control de mastitis (11).

a) Prueba de California.

En esta prueba se usa un detergente no-iónico (alkil sulfato de sodio), que desintegra las células de la leche. En el proceso de desintegración se forma un conglomerado de células que da una apariencia gelatinosa. Mientras mayor sea - el número de células, más grande será esta especie de gelatina y se calificará con un número mayor.

Desafortunadamente, esta prueba es muy subjetiva, y es además necesario realizarla al lado del animal, lo que entorpece el proceso de ordeña. No se recomienda como herramienta primaria en un programa de mastitis (10, 11, 19).

b) Prueba de Wisconsin.

En este método se utiliza el mismo reactivo que en la prueba de California, sin embargo, es mucho más exacto que el anterior. La mayor limitante en la prueba de Wisconsin es la imposibilidad de trabajar muestras de leche con preservativo (10, 11, 19).

c) Filtro DNA.

Este es uno de los métodos más exactos, sin embargo, el procedimiento es algo complicado y, sobre todo, poco económico. Se ha usado con mucho éxito en programas de control de mastitis, pero en México no ha sido posible implementarlo debido a su alto costo (10, 11, 19).

d) Prueba de Whiteside.

Una mezcla de leche y NaOH, a temperatura ambiente, da por -

resultado un aumento en viscosidad, lo que se observa más - fácilmente en el estado agudo de la infección. Esta prueba no parece ofrecer la suficiente sensibilidad (11, 19).

f) Procedimientos Electrónicos.

La utilización de equipo que permite el conteo electrónico de las células en la leche nos da un alto grado de exactitud. Las limitaciones del método son tanto el costo inicial del equipo, como su mantenimiento en perfectas condiciones, lo que lo hace impráctico como método de diagnóstico de magtitis subclínica en nuestro país (6, 10).

Cuantificación Celular Microscópica Directa: es el método más exacto y en él, cualquier otro método de conteo celular de leches deberá basarse para ser estandarizado (13).

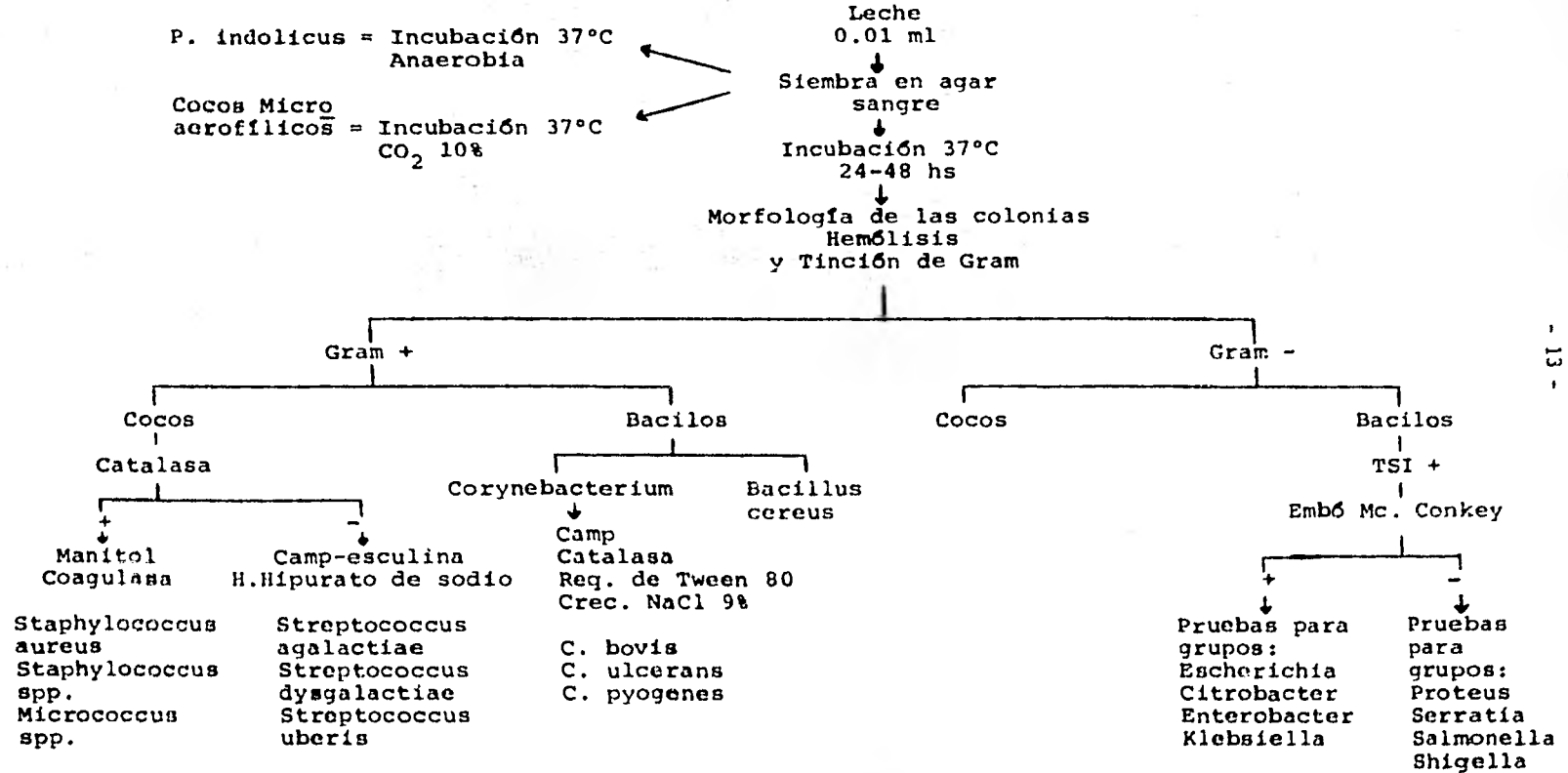
Este método consiste en teñir un frotis de leche con tinciones especiales y contar el número de leucocitos en ese frotis con la ayuda de un microscopio.

II.3.2 PRUEBAS BACTERIOLOGICAS PARA MASTITIS.

Los métodos habituales para la identificación de microorganismos causantes de mastitis están en general basados en pruebas bacteriológicas de rutina. El crecimiento de éstos en medios de cultivo, la caracterización de colonias por su morfología, color y tamaño, la morfología microscópica y agrupación de las células y la tinción de Gram, son necesarias para una diferenciación primaria. Otras pruebas incluyen: el tipo de hemólisis producido por cocos gram positivos, su reacción a la prueba de catalasa, prueba de CAMP, e hidrólisis del hipurato, coagulación del plasma, fermentación anaerobia del manitol y crecimiento con concentraciones altas de cloruro de sodio. Los bacilos positivos pleomórficos son sometidos a medio selectivo para especies del género *Corynebacterium*. En el caso de gram negativos se realizan entre otras pruebas: catalasa, oxidasa, OF, motilidad y glucosa, crecimiento y reacción al TSI y crecimiento en medios selectivos. Si se requiere, deben correrse pruebas bioquímicas adicionales (5, 14, 16).

En el Diagrama No. 1 se expone un resumen de los pasos que se deben seguir para la identificación de bacterias invasoras de la glándula mamaria.

DIAGRAMA No. 1: DIAGRAMA DE FLUJO QUE SE DEBERA SEGUIR PARA LA IDENTIFICACION DE LOS DIFERENTES PATOGENOS DE LA GLANDULA MAMARIA.



II. MATERIAL Y METODOS

II.1 LOCALIZACION.

Para este estudio se muestrearon 55 vacas de la raza Holstein Freisian, en tres hatos. Un hato localizado en Texcoco, Edo. de México (26°42' 42"), en donde se muestrearon 15 vacas. Los otros dos hatos fueron el 111 y el 192 del Complejo Agropecuario de Tizayuca, Hgo. (26°45' 39"), en donde se muestrearon 20 vacas en cada uno. Las muestras fueron trabajadas en el Depto. de Bacteriología del "Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias" (INIP), SARH.

II.2 TOMA DE MUESTRAS.

La toma de muestras se realizó por cuarto individual, previa limpieza y desinfección de los pezones. La leche se obtuvo cuidadosamente en tubos estériles con tapón de rosca, claramente marcados y etiquetados. Los tubos se transportaron en hielo, y se almacenaron en refrigeración a 0°-4°C, hasta su análisis (14).

II.3 ESQUEMA DE MUESTREO.

Se tomaron muestras de vacas gestantes próximas al parto, de acuerdo al siguiente esquema:

- a) un día antes del secado,
- b) el día del secado,
- c) segunda semana después del secado,
- d) cuarta semana después del secado,
- e) sexta semana después del secado,
- f) dos días consecutivos dentro de los primeros 10 días post-parto.

II.4 ANALISIS BACTERIOLOGICOS.

Los procedimientos seguidos fueron los recomendados por el -

National Mastitis Council (NMC), de los Estados Unidos (14), y los desarrollados en el Laboratorio de Mastitis, del Departamento de Bacteriología del INIP (10). Brevemente se describirán a continuación:

Primeramente se realizó la siembra de la leche en medio de agar sangre. Por características morfológicas de la colonia y la tinción de Gram, se hizo una diferenciación primaria de las bacterias encontradas.

- A. Staphylococcus aureus: crece en colonias cremosas gris-blancuocinas y en ocasiones doradas, de 3 a 5 mm de diámetro, con zonas de hemólisis características. Estas últimas pueden ser alfa o beta. Algunas cepas de S. aureus pueden dar zonas angostas y bien definidas de hemólisis completa. Aquellas que producen hemólisis alfa, beta o alfa y beta, son, por lo general, positivas a la prueba de "coagulasa". Las colonias de estafilococos que forman zonas angostas de hemólisis (1 mm o menos), o una hemólisis parcial, son generalmente coagulasa negativas. Los estafilococos son positivos a la tinción de Gram, tienen forma esférica y se reúnen en pares o racimos. A los géneros presuntivos se les realizaron posteriormente las siguientes pruebas:
- a) Prueba de Coagulasa: de un cultivo de 24 hrs., en medio de agar sangre, se tomó una asada o de preferencia una colonia completa. Esta se emulsificó en 0.3 ml de plasma de conejo, citratado y fresco, se incubó en la estufa a 37°C, y se examinó después de 1, 2, 4, 8 y 24 hrs, buscando la formación de un coágulo. Cualquier grado de coagulación del plasma confirmó la presencia de S. aureus.
 - b) Manitol Sal Agar: esta prueba se usó para la diferenciación de los géneros Estafilococos y Micrococos. Se utilizó el medio de Manitol Sal en tubo y se inoculó una colonia en forma de picadura, posteriormente se cubrió la superficie con suficiente aceite vegetal estéril, para lo--

grar un ambiente anaerobio. Después de incubar los tubos a - 37°C, durante 24-48 hrs. se observaron buscando crecimiento y cambio de coloración del medio alrededor de éste.

Los resultados se interpretaron de la siguiente manera:

No crecimiento = medio translúcido (su color es rojo obscuro), sin ningún cambio, indicó que la colonia inculada correspondió al genero de Micrococos.

Crecimiento = desarrollo de la colonia alrededor del área de inoculación sin cambio de coloración del medio, indicó la presencia de estafilococos no fermentadores (Staphylococcus spp).

Fermentación = crecimiento y cambio de coloración del medio - (de rojo a amarillo), indicó la presencia de Staphylococcus aureus.

- B. Los estreptococos crecen en colonias pequeñas, suaves, translúcidas y convexas, que pueden estar rodeadas por una zona - verde de eritrocitos decolorados (alfa hemólisis), por una zona clara de eritrocitos lisados (hemólisis beta), o no presentar hemólisis (hemólisis gama).

Otros organismos producen colonias similares, por lo tanto es necesario recurrir a las siguientes pruebas:

Prueba de Catalasa: descrita posteriormente y negativa en el caso de estreptococos.

Crecimiento en Medio Líquido: se transfirió una colonia a un medio líquido y se incubó a 37°C, por 48 hrs. Hacer un fróntis, teñir con Gram y observar al microscopio. Los estreptococos son Gram positivos y se agrupan en cadenas, sobre todo cuando se han inoculado en un medio líquido.

Prueba de CAMP: esta prueba es útil para diferenciar Streptococcus agalactiae de otras especies de estreptococos.

El medio empleado consiste en medio de agar sangre al que se le añade 0.1% de esculina y .01% de citrato férrico.

Se requiere de una cepa de estafilococos capaz de producir - una zona amplia de beta hemólisis. Esta se siembra en línea, al centro de la placa de CAMP. Los estreptococos se toman de una placa de agar sangre y se siembran perpendicularmente al

estafilococo, a unos 2-3 mm de éste.

Un cultivo conocido de S. agalactiae se incluyó en cada prueba de control. Las placas inoculadas se incuban a 37°C, por 18 - 24 hrs. y son examinadas.

Interpretación:

La reacción positiva a CAMP se manifiesta por una zona semicircular de lisis completa dentro de la zona de beta hemólisis del estafilococo. El obscurecimiento del medio corresponde a la separación de la esculina. A continuación se muestran las reacciones a la prueba de CAMP de los estreptococos más frecuentemente encontrados en casos de mastitis:

ORGANISMO	CAMP	ESCULINA	HEMOLISIS	HIDROLISIS DE HI PURATO DE SODIO
<u>S. agalactiae</u>	++	-	$\alpha, \beta \text{ ó } \gamma$	+
<u>S. dysgalactiae</u>	-	-	$\alpha \text{ ó } \gamma$	-
<u>S. uberis</u>	--**	+	$\alpha \text{ ó } \gamma$	+

* Pueden encontrarse cepas de S. agalactiae negativas a CAMP

** Pueden encontrarse cepas de S. uberis positivas a CAMP

- C. Prueba de Catalasa: Cuando al microscopio, la forma y agrupación de las células no fue característica, se realizó la prueba de catalasa, útil para diferenciar éste género del género Streptococos, ya que los Estafilococos producen una enzima, la catalasa, que, al contacto con H_2O_2 libera el oxígeno de éste, reacción que se puede ver fácilmente por la producción de burbujas de gas. Con este fin, se toma una colonia fresca, crecida de preferencia en un medio que no contenga sangre, y se coloca sobre un portaobjetos; sobre ésta se deja caer una gota de H_2O_2 (Peróxido de hidrógeno), al 3% y se observa la reacción.
- D. Crecimiento de Corynebacterium en Agar Sangre: Corynebacterium pyogenes forma pequeñísimas colonias, de 1.5 a 2.0 mm. de diámetro en medio de agar sangre, después de 48 hrs. de incubación. Estas son circulares, convexas, opalescentes y

de superficies suaves. La hemólisis que producen a su alrededor no es mayor a 1 mm de diámetro.

Las colonias de C. bovis pueden verse después de 48 hrs. de incubación en la mayoría de los casos. Tienen un diámetro - aproximado de 1 mm y se encuentran generalmente dispuestas - en las áreas más abundantes del inóculo, debido a su requerimiento de ácido oléico. No son hemolíticas. Su color es - blanco cremoso, son circulares y opacas.

- E. Crecimiento de Coliformes en Agar Sangre: Las bacterias coliformes crecen en medio de agar sangre como colonias grandes, húmedas y de coloración grisácea. Para su diferenciación por géneros y especies se realizaron las siguientes - pruebas: a) Crecimiento en medios selectivos (Verde Brillante, Mac Conkey o EMB agar); b) Crecimiento en TSI; c) Morfología celular; d) Reacción a la prueba de catalasa; e) Reacción a la prueba de oxidasa; f) Fermentación de la glucosa; g) Prueba de oxidación-fermentación (OF) y h) Motilidad.

II.5 CRITERIO PARA CONSIDERAR INFECCION

El criterio para considerar un cuarto infectado al secado y al parto fue: el aislar la misma bacteria en muestreos a y b, al secado y en las dos muestras consecutivas al parto. De otra manera, se consideraba contaminación.

II.6 CUANTIFICACION DE CELULAS SOMATICAS

La determinación del número de células somáticas en la leche se realizó por cuenta directa, de acuerdo al procedimiento sugerido por el NMC (13).

A partir de frotis de la muestra de leche (0.01 ml) teñidos con colorante Broadhurst por 15" y observados al microscopio, se cuentan las células y se calcula su concentración - por mililitro, utilizando el factor microscópico previamente calculado.

II.7 DETERMINACION DE ALBUMINA SERICA

La cuantificación del contenido de albúmina sérica en la leche se realizó por medio del procedimiento de inmunodifusión radial (12), para el cual se prepararon placas con antisuero anti-albúmina sérica bovina (BSA) al 4% en agar noble 2%, perforadas. La leche en dilución 1:4 se colocó en los pozos. Posteriormente las placas fueron incubadas a temperatura ambiente en una cámara húmeda, durante 48 horas, después de las cuales se hizo la lectura del diámetro de los halos de precipitación.

II.8 CLASIFICACION DE LAS MUESTRAS DE LECHE

Las muestras de leche obtenidas en los muestreos c, d y e fueron clasificadas de acuerdo a su apariencia física, de la siguiente manera:

CUADRO IV. CLASIFICACION DE LAS SECRECIONES OBTENIDAS DE LA GLANDULA MAMARIA DURANTE EL PERIODO SECO		
Nº de clasif.		DESCRIPCION
1º	Leche	Secreción normal.
2º	Agua blanca	Leche con grumos y agua.
3º	Agua amarilla	Leche con grumos y agua, color amarillo.
4º	Cajeta amarilla	Secreción viscosa con grumos color amarillo.
5º	Cajeta blanca	Secreción viscosa con grumos color blanco.
6º	Agua con sangre	Secreción acuosa con coágulos, sangre color rosa.
7º	Cajeta con sangre	Secreción viscosa con coágulos, sangre color rosa.
8º	Chongos	Grumos con agua, espeso color verdoso
9º	Leche con sangre	Leche con coágulos y sangre
10º	Calostro	

II.9 ANALISIS ESTADISTICOS

Se calcularon los coeficientes de correlación, desviaciones estandar y coeficientes de variación, entre el número de células somáticas y el contenido de albúmina sérica y entre el tipo de bacteria presente y la apariencia física de la leche. El procedimiento seguido fue el recomendado por SNEDECAR y COCHRAN (20).

III. RESULTADOS

Los resultados de los muestreos del periodo seco se muestran en la serie de cuadros y a continuación se describen.

CUADRO V. Se estableció la frecuencia de cuartos infectados y no afectados al secado, por establo, tomando en cuenta el resultado al análisis de dos muestras: una antes del secado y la otra en el secado.

Los cuartos no infectados en los tres establos representaron el 73%, 87% y 74%. El resultado total fue de 79%.

El porcentaje total de cuartos infectados fue de 21%. Por establo, los resultados variaron entre el 13% y el 27%.

En estos dos muestreos las bacterias que se aislaron en mayor porcentaje fueron: Corynebacterium spp (28%), Staphylococcus spp (24%), S. aureus (16%) y Otros (14%).

CUADRO VI. A la 2a. y 4a. semanas después del secado, se siguió la frecuencia de cuartos infectados y no infectados en los tres establos. A la 2a. semana se muestrearon un total de 154 cuartos, a la 4a. semana, un total de 202 cuartos. En el establo # 111, el porcentaje de cuartos no infectados a la 2a. semana fue de 28% y, a la 4a. semana, de 25%. Estas cifras se obtuvieron de un solo muestreo y, como se observa, no hubo mucha variación. Posteriormente se realizó un análisis comparativo entre los dos muestreos para determinar la prevalencia de un mismo germen y de esta forma descartar los cuartos contaminados. El porcentaje de cuartos no infec-

tados, en el análisis comparativo fue de 78%.

El porcentaje de cuartos infectados a la 2a. semana fue de 72% y a la 4a. semana de 75%. Estos porcentajes corresponden a un sólo muestreo, pero al análisis comparativo, el porcentaje fue de 22%.

En este establo, las bacterias que se aislaron en mayor porcentaje fueron:

2a. semana: Staphylococcus spp (29%)
S. aureus (6%)
Corynebacterium spp (14%)
Mixtos (33%)
Otros (16%).

4a. semana: Staphylococcus spp (57%)
S. aureus (12%)
Mixtos (33%)
Otros (25%).

Al análisis comparativo:

Staphylococcus spp (57%)
Staphylococcus aureus y Corynebacterium spp (7%)
Mixtos (29%).

En el establo # 192, el porcentaje de cuartos no infectados a la 2a. semana fue de 59%, a la 4a. semana de 40%, en base a un sólo muestreo. Al análisis comparativo, éste fue de 91%. A la 2a. semana, los cuartos infectados representaron el 41%, y a la 4a. semana, el 60%, en base a un solo muestreo, sin embargo, en el análisis comparativo éste fue de 9%.

En este establo las bacterias que se aislaron en mayor porcentaje fueron:

2a. semana: Staphylococcus spp (37%)
Mixtos (28%)
Corynebacterium spp (11%)
Staphylococcus aureus (9%)

4a. semana: Mixtos (35%)
Staphylococcus spp y Otros (24%)
Micrococcus spp (11%)

En el análisis comparativo:

Staphylococcus spp (86%)

Staphylococcus aureus (14%)

En el establo de Texcoco sólo se muestreo la 4a. semana. El porcentaje de cuartos infectados y no infectados fue de 50%.

Las bacterias que se aislaron en mayor porcentaje fueron:

Otros (28%)

Mixtos (25%)

Corynebacterium spp (21%)

Staphylococcus spp (10%)

El porcentaje total de cuartos no infectados a la 2a. semana en los dos establos de Tizayuca fue de 45%, A la 4a. semana en los tres establos fue de 38%, y al análisis comparativo, 85%.

El porcentaje total de cuartos infectados a la 2a. semana - fue de 55% y a la 4a. semana, de 62%. Al análisis comparativo el resultado fue del 15%.

Las bacterias que se aislaron en mayor porcentaje fueron:

2a. semana: Staphylococcus spp (32%)

Mixtos (31%)

Corynebacterium spp (13%)

Otros (12%)

4a. semana: Mixtos (31%)

Otros (25%)

Staphylococcus spp (19%)

En el análisis comparativo:

Staphylococcus spp (67%)

Otros (19%)

Staphylococcus aureus (10%)

CUADRO VII. Se siguió la frecuencia de cuartos infectados y no infectados en los dos últimos muestreos, que corresponden a muestras al parto y posteriores al parto. 1°) Al parto se recolectaron un total de 207 muestras y, 2°) después del parto, 212.

En el establo #111, el porcentaje de cuartos no infectados -

al parto fue de 41%. Después del parto, 36%. Estos porcentajes corresponden a un solo muestreo, pero al análisis comparativo, éste fue de 69%.

El porcentaje de cuartos infectados al parto fue de 59%. - Después del parto fue de 64% y, al análisis comparativo, de 31%. En estas leches, las bacterias que se aislaron en mayor porcentaje fueron, al parto: Corynebacterium spp (34%), Staphylococcus spp (26%), Otros (15%), Mixtos (13%), y Staphylococcus aureus (10%).

Se aislaron, después del parto: Otros (27%), Mixtos (24%), Corynebacterium spp (22%), Staphylococcus aureus (12%) y Staphylococcus spp (7%).

En el análisis comparativo: Corynebacterium spp (45%), Staphylococcus spp (30%) y Mixtos (15%).

En el establo # 192, el porcentaje de cuartos no infectados al parto fue de 41%. Después del parto 43%, y en el análisis comparativo de 76%.

El porcentaje de cuartos infectados al parto fue de 59%.

Después del parto 57%, y en el análisis comparativo, 24%.

Las bacterias que se presentaron en mayor porcentaje al parto fueron: Otros (27%), Staphylococcus spp y Mixtos (20%), S. aureus (13%) y Micrococcus spp (10%). Después del parto: Staphylococcus spp (44%), Otros (30%) y Mixtos (14%). En el análisis comparativo: Staphylococcus spp (45%), Otros (25%) y Mixtos (20%).

En Texcoco, el porcentaje de cuartos no infectados al parto representó el 47%. Después del parto, el 42% y en el análisis comparativo, 80%.

El porcentaje de cuartos infectados al parto fue de 53%. - Después del parto, 58%, y en el análisis comparativo representó el 20%.

Las bacterias que al parto se aislaron en mayor porcentaje: Otros (18%), Staphylococcus spp, Streptococcus spp, S. agalactiae y Mixtos (16%). Después del parto: Corynebacterium spp (29%), Staphylococcus spp, Streptococcus spp, Otros y - Mixtos (14%).

En el análisis comparativo: Corynebacterium spp (33%), Otros

(25%) y Staphylococcus spp (18%).

El porcentaje total en leches de cuartos no infectados, al parto fue 43%. Después del parto 41% y, en el análisis comparativo, 75%. En el caso de cuartos infectados al parto, - 57%. Después del parto, 59%. El análisis comparativo dio - un 25%. Las bacterias que en mayor porcentaje se presentaron, fueron: Al parto: Otros (21%), Staphylococcus spp (20%) Corynebacterium spp (16%) y Staphylococcus spp (20%). Después del parto: Otros (25%), Staphylococcus spp (24%), Mixtos (17%) y Corynebacterium spp (16%).

En el análisis comparativo: Staphylococcus spp (33%), Corynebacterium spp (25%), Otros (17%), Mixtos (15%).

CUADRO VIII. Este cuadro presenta número de células y contenido de albúmina sérica en la leche al momento del secado y al parto.

CUADRO IX. Este cuadro muestra los resultados de las correlaciones simples entre albúmina sérica y células somáticas, en leche de cuartos infectados y no infectados.

CUADRO X. Durante el periodo seco se obtuvieron muestras de la glándula mamaria a las 2a. y 4a. semanas después de secarse.

De estas secreciones se observó la relación entre las características físicas y la presencia de bacterias que causan infección en este periodo.

A la segunda semana, la relación entre las diferentes características físicas de la leche y el porcentaje de cuartos no infectados fue el siguiente: 5 (cajeta blanca) el 34%, 3 (agua a marilla) 28%, 2 (agua blanca) el 19%.

Por otro lado, la relación entre las características de la leche y el porcentaje de cuartos infectados fue: 2 (agua blanca) el 41%, 1 (leche) el 27%, 3 (agua amarilla) 14%, y 5 (cajeta blanca) el 10%.

A la cuarta semana, la relación entre las diferentes características físicas de la leche y el porcentaje de cuartos no in

fectados fue el siguiente: 3 (agua amarilla) 27%, 4 (cajeta amarilla) y 5 (cajeta blanca) 23%. En cuartos infectados - esta relación se presentó con los siguientes porcentajes: 2 (agua blanca) 32%, 1 (leche) 22%, y 3 (agua amarilla) 22%. Las otras clasificaciones se presentaron en bajos porcentajes.

Las bacterias que predominaron en cada una de las secreciones, en esos dos muestreos, se observan en el cuadro X.

CUADRO XI. A la sexta semana del periodo, la relación entre las diferentes características físicas de la leche y el porcentaje de cuartos no infectados se presentó con los siguientes porcentajes: 4 (cajeta amarilla) 41%, 2 (agua blanca), 3 (agua amarilla) y 5 (cajeta blanca) 12%.

La relación con cuartos infectados se presentó de la siguiente manera: 2 (agua blanca) 42% de las muestras, 3 (agua amarilla) 22%, 4 (cajeta amarilla) y 5 (cajeta blanca) 9%.

Al parto, la relación entre las diferentes características físicas de la leche en cuartos no infectados se presentó con los siguientes porcentajes: 1 (leche) 77% de las muestras.

Por otro lado, la relación entre las diferentes características físicas de la leche en cuartos infectados se presentó de la siguiente forma: 1 (leche) 66% de las muestras.

Las otras clasificaciones se presentaron en bajos porcentajes.

Las bacterias que predominaron en cada una de las secreciones, en estos dos muestreos, se observan en el Cuadro XI.

Por lo tanto, en este trabajo no se pudo detectar una relación significativa entre el tipo de secreción láctea y el estado infectivo de la glándula mamaria durante el periodo seco. Esto sugiere que las secreciones de la glándula mamaria durante el periodo seco se presentan con diferentes características físicas, debiéndose ésto a factores diferentes a la presencia o ausencia de bacterias.

CUADRO XII. Se presenta la aparición y desaparición de infecciones al secado y al parto.

CUADRO XII. Este cuadro demuestra las bacterias que persistieron en cuartos infectados, a través del periodo seco en diferentes muestreos:

Staphylococcus spp persistió durante los muestreos del periodo seco. Tomando en cuenta las características de este microorganismo, podemos considerar su presencia como un factor de contaminación, a pesar de haber sido aislado repetidas veces, en forma consecutiva.

S. aureus, por el contrario, persistió durante el periodo - en menor número, sin embargo, estos cuartos se consideraron infectados. Las otras bacterias no persistieron durante todo el periodo.

CUADRO V.

FRECUENCIA DE CUARTOS INFECTADOS Y NO INFECTADOS AL SECADO EN LOS TRES ESTABLOS (BASADO EN DOS MUESTREOS)

	ESTABLO #111		ESTABLO #192		ESTABLO TEX.		TOTAL	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Infección	17	27	11	13	15	26	43	21
No Infección	45	73	74	87	43	74	162	79
Total	62	100	85	100	58	100	205	100
Corynebacterium spp	9	53	1	9	2	13	12	28
Staphylococcus aureus	5	29	2	18	--	--	7	16
Staphylococcus spp	3	18	7	64	--	--	10	24
Micrococcus spp	--	--	--	--	4	27	4	9
Streptococcus spp	--	--	--	--	4	27	4	9
Otros*	--	--	1	9	5	33	6	14
Total	17	100	11	100	15	100	43	100

*) Otros = Bacilos Gram+ y Gram-

CUADRO VI

FRECUENCIA DE CUARTOS INFECTADOS Y NO INFECTADOS A LAS 2ª Y 4ª SEMANAS DESPUES DEL SECADO EN TRES ESTABLOS

SEMANTAS	ESTABLO #111						ESTABLO #192						EST. TEX.			TODAS LAS MUESTRAS					
	2°		4°		C		2°		4°		C		4°		2°		4°		C		
CONCEPTO	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	
Infección	49	72	49	75	14	22	35	41	49	60	7	9	28	50	84	55	126	62	21	15	
No Infección	19	28	16	25	49	78	51	59	32	40	74	91	28	50	70	45	76	38	123	85	
Total	68	100	65	100	63	100	86	100	81	100	81	100	56	100	154	100	202	100	144	100	
Staphylococcus spp	14	29	9	18	8	57	13	37	12	24	6	86	3	10	27	32	24	19	14	67	
S. aureus	3	6	6	12	1	7	3	9	3	6	1	14	--	--	6	7	9	7	2	10	
Corynebacterium spp	7	14	1	2	1	7	4	11	-	-	-	-	6	21	11	13	7	6	1	4	
Micrococcus spp	1	2	4	8	-	-	2	6	5	11	-	-	-	-	3	4	9	7	2	10	
Streptococcus spp	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	4	-	-	2	2	-	-	
S. agalactiae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	4	-	-	1	1	-	-	
S. dysgalactiae	-	-	-	-	-	-	1	3	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	
Haemophilus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	4	-	-	1	1	-	-	
Streptobacillus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	4	-	-	1	1	-	-	
Otros	8	16	12	25	4	29	2	6	12	24	-	-	8	28	10	12	32	25	4	19	
Mixtos	16	33	16	33	-	-	10	28	17	35	-	-	7	25	26	31	40	31	-	-	
Total	49	100	49	100	14	100	35	100	49	100	7	100	28	100	84	100	126	100	21	100	

C = 1° y 2° muestreos

Otros = Bacilos Gram+ y Gram-

Mixtos = Se encontraron más de una bacteria por cuarto.

CUADRO VII

FRECUENCIA DE CUARTOS INFECTADOS Y NO INFECTADOS AL PARTO (DENTRO DE 10 DIAS) EN LOS 3 ESTABLOS

MUESTREOS	ESTABLO #111						ESTABLO #192						ESTABLO TEXCOCO						TODAS LAS MUESTRAS					
	1º		2º		C		1º		2º		C		1º		2º		C		1º		2º		C	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Infección	38	59	41	64	20	31	49	59	50	57	20	24	32	53	35	58	12	20	119	57	116	59	52	25
No Infección	26	41	23	36	44	69	34	41	38	43	64	76	28	47	25	42	48	80	88	43	86	41	156	75
Total	64	100	64	100	64	100	83	100	88	100	84	100	60	100	60	100	60	100	107	100	112	100	108	100
Staphylococcus spp	9	26	3	7	6	30	10	20	22	44	9	45	5	16	5	14	2	18	24	20	30	24	17	33
S. aureus	4	10	5	12	1	5	6	13	4	8	2	10	--	--	--	--	--	--	10	9	9	7	3	6
Micrococcus spp	--	--	1	3	--	--	5	10	--	--	--	--	2	6	3	9	1	8	7	6	4	3	1	2
Streptococcus spp	--	--	2	5	--	--	--	--	--	--	--	--	5	16	5	14	1	8	5	4	7	6	1	2
S. agalactiae	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	5	16	2	6	--	--	5	4	2	2	--	--
S. disgalactiae	1	2	--	--	--	--	2	4	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	3	3	--	--	--	--
S. uberis	--	--	--	--	--	--	1	2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Corynebacterium spp	13	34	9	22	9	45	2	4	2	4	--	--	4	12	10	29	4	33	19	16	21	16	13	25
Otros	6	15	11	27	1	5	13	27	15	30	5	25	6	28	5	14	3	25	25	21	31	25	9	17
Mixtos	5	13	10	24	3	15	10	20	7	14	4	20	5	16	5	14	1	8	10	16	22	17	8	15
Total	38	100	41	100	20	100	49	100	50	100	20	100	32	100	35	100	12	100	119	100	116	100	52	100

C = 1º y 2º Muestreo.

CUADRO VIII

NUMERO DE CELULAS SOMATICAS Y CONTENIDO DE ALBUMINA SERICA POR MILILITRO, EN LECHE PROVENIENTE DE GLANDU
LAS INFECTADAS Y NO INFECTADAS AL MOMENTO DE SECARSE Y AL PARTO.

	AL MOMENTO DEL SECADO						AL PARTO					
	Células/ml (x 1000)			Albumina mg/ml			Células/ml (x 1000)			Albumina mg/ml		
	X	V	C.V.	X	C.V.	V	X	V	C.V.	X	V	C.V.
Infección	5723	10148	177	11	776	72.9	3819	97678194	2587	2.1	26.9	2467
No Infección	2045	23048437	2347	10.2	789	64.8	2258	50072090	3133	5.7	75.4	1423
Staphylococcus spp	5360	48810615	1316	9.4	1139	114.8	6371	97071285	1546	.9	7.6	3066
S. aureus	1619	1459904	746	9.4	702	43.6	2280	22333850	670	1.8	13.5	2044
Micrococcus spp	4748	9677116	655	-	-	-	550	-	-	-	-	-
Streptococcus spp	32125	123203011	352	-	-	-	27301	704132760	971	4.6	21.2	100
Corynebacterium spp	1739	5594551	1360	13.7	233	10.3	243	21228	599	-	71.0	-
Otros	1972	2277059	765	16	-	-	2177	23731705	2237	5.6	2.0	1505
Mixtos							680	799329	1314	1.4		100

CUADRO IX

CORRELACION SIMPLE ENTRE ALBUMINA SERICA Y
CELULAS SOMATICAS EN LECHE DE CUARTOS INFECCIONADOS Y NO INFECCIONADOS.

	r^2	b	m
INFECCION	.26	3.31	.0002
NO INFECCION	.07	6.73	.00008
TODOS	.09	6.07	.0001

r^2 = correlación

b = intercepto

m = pendiente

CUADRO X

RELACION ENTRE LAS CARACTERISTICAS FISICAS DE LA LECHE E INFECCIONES EN CADA MUESTREO DURANTE EL PERIODO SECO (2a y 4a semanas).

Características físicas	2a SEMANA										4a SEMANA									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CONCEPTO	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Infección	27	41	14	3	10	--	--	5	--	--	23	32	22	9	8	2	--	2	--	2
No Infección	9	19	28	6	34	2	--	--	--	2	18	7	27	23	23	2	--	--	--	--
Staphylococcus spp	17	53	17	9	4	--	--	--	--	--	19	31	26	8	5	8	--	--	--	--
S. aureus	33	67	--	--	--	--	--	--	--	--	40	30	30	--	--	--	--	--	--	--
Micrococcus spp	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	40	20	--	20	--	--	20	--	--
Streptococcus spp	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	100	--	--
S. agalactiae	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
S. uberis	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Corynebacterium spp	33	50	--	--	17	--	--	--	--	--	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Otros	33	25	17	--	17	--	--	8	--	--	24	35	10	--	10	17	--	--	--	4
Mixtos	24	34	18	--	12	--	--	12	--	--	14	33	33	--	5	10	--	--	--	5
TOTAL	19	32	20	4	20	1	--	2	--	1	21	23	24	14	13	2	--	2	--	1

NOTA: Las características físicas de la leche se exponen en el CUADRO "CLASIFICACION DE LAS MUESTRAS DE LECHE".

CUADRO XI

RELACION ENTRE LAS CARACTERISTICAS FISICAS DE LA LECHE E INFECCIONES EN CADA MUESTREO DURANTE EL PERIODO SECO (6a semana y Parto)

Características físicas	6a SEMANA										AL PARTO									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
CONCEPTO																				
Infección	7	48	22	9	9	1	3	1	--	--	66	--	5	4	2	3	--	3	5	12
No Infección	--	18	18	41	18	3	3	1	--	--	77	1	1	--	6	--	--	--	5	10
Staphylococcus spp	7	36	30	10	7	3	7	--	--	--	49	--	8	4	--	4	--	4	12	19
S. aureus	--	100	--	--	--	--	--	--	--	--	82	--	--	9	--	9	--	--	--	--
Micrococcus spp	--	60	--	--	40	--	--	--	--	--	74	--	--	--	--	13	--	--	13	--
Streptococcus spp	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	67	--	--	--	--	--	--	--	--	13
S. agalactiae	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	13	--	13	--	--	--	--	24	--	50
S. uberis	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	100	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Corynebacterium spp	33	67	--	--	--	--	--	--	--	--	65	--	5	--	5	10	--	--	5	10
Otros	9	37	18	18	18	--	--	--	--	--	76	--	8	8	4	--	--	--	--	4
Mixtos	8	46	30	8	--	--	--	8	--	--	79	1	1	--	6	--	--	--	5	10
TOTAL	4	33	20	24	14	2	7	1	--	--	69	1	4	2	4	3	--	2	5	10

NOTA: Las características físicas de la leche se exponen en el CUADRO "CLASIFICACION DE LAS MUESTRAS DE LECHE".

CUADRO XII

ESTABLECIMIENTO DE LA APARICION Y DESAPARICION DE INFECCIONES
AL SECADO Y AL PARTO.

1. PORCENTAJE DE CUARTOS NO INFECTADOS DURANTE EL PERIODO SECO Y PARTO: 55%.
2. PORCENTAJE DE CUARTOS INFECTADOS AL SECADO: 23%.
3. PORCENTAJE DE CUARTOS INFECTADOS AL PARTO: 22%.
4. PORCENTAJE DE CUARTOS INFECTADOS AL SECADO Y PARTO: 45%
5. PORCENTAJE DE CUARTOS DONDE PERSISTIO LA INFECCION POR LA MISMA BACTERIA. 16.3%
6. PORCENTAJE DE CUARTOS DONDE DESAPARECIO LA INFECCION: 79.5%
7. PORCENTAJE DE CUARTOS DONDE PERSISTIO LA INFECCION CON DIFERENTE BACTERIA: 4.1%

Nota.- Los primeros cuatro puntos se obtuvieron a partir del número total de muestras analizadas. Los tres últimos, en base al total de cuartos infectados.

CUADRO XIII

PERSISTENCIA DE LA MISMA BACTERIA EN DIFERENTES MUESTREOS REALIZADOS DURANTE EL PERIODO SECO (NUMERO DE CUARTOS INFECTADOS).

BACTERIA	N° DE MUESTREOS*					TOTAL DE CUARTOS INFECTADOS
	2°	3°	4°	5°	6°	
Staphylococcus spp	9	11	10	4	9	43
S. aureus	1	4	3	--	4	12
Streptococcus spp	7	--	--	--	--	7
S. agalactiae	--	1	--	--	--	1
Micrococcus spp	8	2	--	--	--	10
Corynebacterium spp	10	8	6	--	--	24
Otros	13	7	4	--	--	24
Mixtos	7	6	2	1	--	16
TOTAL	55	39	25	5	13	137

*) Los muestreos se efectuaron en: 1 día antes del secado; el día del secado; a la 2a semana de secado; a la 4a semana de secado; 6a semana de secado; dos días consecutivos dentro de los primeros 10 días postparto.

- 2° Un día antes del secado y día de secado.
- 3° Un día antes del secado, día de secado y segunda semana después del secado.
- 4° Un día antes del secado, día de secado, segunda y cuarta semanas después del secado.
- 5° Un día antes del secado, día de secado, segunda, cuarta y sexta semanas después del secado.
- 6° Un día antes del secado, día de secado, segunda, cuarta y sexta semanas después del secado y dos muestras consecutivas en los primeros 10 días postparto.

IV.- DISCUSION

De acuerdo a los resultados obtenidos, basados en el análisis - comparativo entre dos muestreos de leche consecutivos, encontramos un porcentaje de infecciones de 21% en los tres establos en estudio (Cuadro V).

A las 2a. y 4a. semanas después del secado, en los establos #111 y #192 de Tizayuca, las infecciones disminuyeron al 15% (Cuadro VI).

En Texcoco, en donde únicamente se obtuvieron muestras a la 4a. semana después del secado, el porcentaje parece haber aumentado notablemente (50%), sin embargo, no debemos valorar este resultado como real, considerando que no fue posible analizar comparativamente las dos muestras consecutivas necesarias para determinar la infección de un cuarto.

El resultado de muestras tomadas al parto y 10 días posteriores en los tres establos muestra un 57% y un 59% de infecciones respectivamente, sin embargo, al comparar ambos muestreos, el porcentaje disminuye al 25% (Cuadro VII).

La literatura reporta que, entre un 10%-25% de infecciones de la glándula mamaria aparece exclusivamente durante el período seco (17, 19), y que cerca del 40%-50% se presentan durante este período y los 2 primeros meses después del parto (19).

Los porcentajes de infección en este trabajo concuerdan con los rangos establecidos por diversos autores. Analizando los resultados en las diferentes etapas de obtención y análisis de muestras encontramos un promedio del 18% de infecciones durante el período seco y un 61% de infecciones al considerar el período seco, el parto y 10 días posteriores al parto. Aunque este último dato resultó mayor que el rango reportado (40%-50%) anteriormente, se puede considerar atribuible a las características de manejo del ganado lechero en nuestro país, el cual muchas veces carece de normas básicas para la prevención y control de la mastitis.

Los resultados bacteriológicos en muestras al momento del secado presentaron un alto porcentaje de bacterias del género Corynebacterium, seguido de Staphylococcus spp, Bacilos Gram+ y Gram- ("otros") y, Staphylococcus aureus (Cuadro V).

Posteriormente, predominan nuevamente Corynebacterium spp., Staphylococcus spp y Otros.

El alto porcentaje de Corynebacterium spp., presente al inicio del secado (28%) y después de éste (25%), puede tener base en lo reportado por Schaw (1979), en relación a las infecciones mixtas - en vaquillas y vacas secas por Corynebacterium pyogenes y microorganismos anaeróbios y microaerofílicos (15). Sin embargo, en el presente estudio no fue posible analizar las muestras en tales - condiciones y, por lo tanto, únicamente se toman los datos de investigaciones previas, para dar una explicación a los resultados obtenidos (Cuadros V y VII).

También es posible que los niveles altos de estas bacterias se - deban a contaminación durante la toma de muestras.

Estudios realizados en los Estados Unidos establecen que las bacterias que infectan a la glándula mamaria en etapa no productiva son, en términos generales, las mismas que ocasionan mastitis durante la lactancia. Predominan entre éstas: Staphylococcus y Streptococcus (22).

Encontramos discrepancia en cuanto a los porcentajes obtenidos, ya que un gran número de aislamientos correspondieron a estafilococos no hemolíticos, manitol negativos y negativos a la prueba de coagulasa (Staphylococcus spp). Estos representaron, al inicio del secado, un 24%, en contraste al 16% de S. aureus. Al parto - 20% para Staphylococcus spp y 9% para S. aureus. Después del - parto, 24% y 7% respectivamente.

Asimismo, se consideran bajos los aislamientos de especies del género Streptococcus, cuyo porcentaje al inicio del secado fue de 9%, encontrando un rango, al parto y 10 días después, del 1% al 6% entre S. agalactiae (4% y 2%), S. dysgalactiae (3%) y S. uberis (1%) (Cuadros V y VII).

Por otra parte, debe mencionarse la relación encontrada entre - los establos y el tipo de bacteria aislada con mayor frecuencia. Los más altos porcentajes de Staphylococcus spp y S. aureus se presentaron en los establos localizados en Tizayuca, Hgo., mientras que en su mayoría, los Streptococcus fueron aislados en Texcoco, Edo. de México (Cuadros V, VI y VII).

Se utilizaron en la nomenclatura los términos "Otros" y "Mixtos"

de la siguiente forma:

Otros = Bacilos Gram positivos y Gram negativos en un cuarto, aislados repetidas veces en combinación similar, no identificados por resultar de poca significancia en el presente estudio.

Mixtos= Presencia de dos o más bacterias en un cuarto, aisladas repetidas veces en combinación similar. No identificados (Cuadros V, VI, VII).

Con las secreciones de la glándula mamaria al momento del secado y al parto se calcularon los coeficientes de correlación siguiendo el método recomendado por Snedecar y Cochran (20). La correlación encontrada entre albúmina sérica, número de células y estado infectivo de la glándula fue baja ($r^2 = .26$). (Cuadro IX).

Sin embargo, las concentraciones de albúmina sérica y células somáticas en leche (Cuadro VIII), como la literatura lo indica, se ven alteradas en las etapas inicial y final de la lactación (18).

Por otra parte, debe mencionarse la relación encontrada entre agente patógeno, células somáticas y albúmina sérica. En infecciones por Streptococcus spp las cuentas celulares resultaron sumamente elevadas en relación al contenido de ASB debido quizá a que el daño no fue demasiado severo y la permeabilidad capilar no se vio alterada.

Staphylococcus spp, por el contrario, ocasionó cuentas celulares menores y mayor concentración de albúmina, por lo que puede suponerse que en este caso la irritación fue capaz de aumentar la permeabilidad capilar en forma considerable (1, 18). A pesar de los reportes referentes a la participación de S. epidermidis en inflamaciones severas de la ubre, se carece de fundamento para intentar hacer una comparación entre los estafilococos "no patógenos" y los estreptococos, generalmente reconocidos como patógenos y causantes de mastitis.

Se hizo una relación en cuanto a las características físicas de la leche y las infecciones presentes, en los tres hatos lecheros (Cuadro X).

Debido a la alteración en la concentración de los componentes de la leche, las secreciones que se obtienen en el periodo seco poseen características físicas particulares. De acuerdo a estas características se agruparon y clasificaron las muestras. A la 2a. semana del periodo seco, el estudio muestra que las secreciones de clasificación 1, 2, 3, y 5 se presentaron en mayor número de cuartos infectados, siendo las secreciones 1 y 2 las que incluyen el más alto porcentaje de estos cuartos. En las clasificaciones 6, 7, 9, y 10 no se encontraron infecciones, pero la apariencia de éstas puede ser debido a la etapa inicial del secado, siendo muy corto el tiempo para que las secreciones cambien. En el caso de la clasificación 8, se observa siempre la misma secreción durante el tiempo de recolección de muestras.

En la 2a. semana de secado, las bacterias que se encontraron en mayor porcentaje fueron: Staphylococcus spp, S. aureus y Corynebacterium spp (Cuadro X). A la 4a. semana se siguió esta relación, encontrando que en las clasificaciones 7 y 9 tampoco se presentan cuartos infectados, pero continuaron los más altos porcentajes de infección en muestras de tipo 1, 2, y 3. En este grupo de muestras se aislaron bacterias presentes en muestras de la 2a. semana y de secreciones #8. Se aislaron el 100% de Streptococcus spp. Continuando con la 6a. semana, no hay gran variación con los resultados. No es sino hasta el momento del parto en que las secreciones de la glándula mamaria adquieren las características del calostro y posteriormente de leche (Cuadro XI). El mayor porcentaje de infecciones se encontró en muestras 1 y 10 (leche y calostro).

En los cuartos no infectados predominaron las características 2 y 7. Conforme la glándula vuelve a la normalidad, cesa la producción de calostro y se inicia la lactación, aumentando las bacterias considerablemente (Cuadro XI). Este aumento en el porcentaje de infecciones al principio del parto ha sido ya reportado por numerosos autores (17).

Los resultados obtenidos muestran que no todas las secreciones de la glándula mamaria cambian en sus características físicas conforme transcurre el tiempo entre el secado y la primera etapa

pa de lactación. Así encontramos las clasificaciones 2 (agua blanca), 3 (agua amarilla) y 5 (cajeta blanca), presentes durante todo el periodo de secado. A la sexta semana se presentaron mayor variedad de características, acercándose ya la glándula a la etapa de producción de calostro.

Se calculó el establecimiento de infecciones al momento del secado y al parto, así como la recuperación de estas infecciones (Cuadro XII). El porcentaje de cuartos no infectados al parto, que lo estaban al secado y que, por lo tanto, son considerados como recuperados espontáneamente, fue mucho mayor (79.5%) a lo reportado por otros autores, quienes mencionan una recuperación del 19% - 20% de los cuartos infectados en periodo seco (22).

Los porcentajes de nuevas infecciones (20% y 23%) por el contrario, concuerdan con lo reportado por Schmidt (1971) (17). Durante este estudio se observa (Cuadro XIII) que Staphylococcus spp se presentó durante todo el periodo seco y en mayor número de cuartos.

V. CONCLUSIONES.

Las conclusiones a las que se llegaron en este trabajo son:

- I. Se estableció que la frecuencia de infecciones durante el periodo seco fue de 20% - 23%.
- II. Este estudio demuestra que las correlaciones que se obtuvieron con diferentes parámetros físico-químicos de la leche y estado infectivo de la glándula mamaria durante el periodo seco fue bajo ($r^2 = .26$)
- III. Se estableció la presencia del mismo tipo de infecciones durante el periodo seco con la misma bacteria y - fue del 16.3%.
- IV. Se puede aseverar que la dinámica de la presentación - de mastitis es confusa y sin duda el periodo seco constituye uno de los periodos en que la glándula mamaria es más susceptible al ataque de patógenos. Por lo tanto, será esta etapa la más propicia para la implementación de programas de control de mastitis y la adecuada aplicación de la terapia al secado.

VI. BIBLIOGRAFIA.

1. Alison M. Smith, J.M. Chesworth, G.D. Henderson and R.G. Rodway. "Use of Laurell electrophoresis for the quantitative measurement of albumin in mastitic milk". *Journal of Dairy Research*. 46. 547-550 (1970).
2. Carol M. Cousing, Trevor M. Higgs, Eric R. Jackson, Frank Kneave and Frank H. Dodd. "Susceptibility of the bovine udder to bacterial infection in the dry period". *Journal of Dairy Research*. 47, 11-18 (1980).
3. Chee-Seong Leo, F.B., Peter Wooding and Patrick Kemp. "Identification, properties and differential counts of cell population using electron microscopy of dry cows secretions, colostrum and milk from normal cows". *Journal of Dairy Research*. 47, 39-50 (1980)
4. Colloquium on Bovine Mastitis. *J.A.V.M.A.* 170 (10) (1977).
5. Cowan and Steele. "Manual for the identification of medical bacteria". Cambridge University Press. 1965
6. Galton, D.W., R.W. Adkinson and P.E. Soeman Jr. "Comparison of fossomatic somatic cell counter, Wisconsin Mastitis Test and California Mastitis Test" *American Dairy Science Association*. 74th Annual Meeting, 120-121 (1979).
7. Graham F. Duirs. "Methods of mastitis detection including the rolling ball viscometer and electrical conductivity meter" 19th Annual Meeting. *NMC Kentucky*, 25-38 (1980)
8. Harmon R.J., Flyd L., Schanbacher Lloyd Ferguson and Larry Smith. "Changes in lactoferring, immunoglobulin G, bovine serum albumin and lactalbumin during acute experimental and natural coliform mastitis in cows" *Infection and Immunity*. Vol. 13, No. 2, 533-542 (1976).
9. Marcelo P.D. (1980) Comunicación personal.
10. Marcelo P.D. "Aspectos generales sobre mastitis" *Manual sobre ganado lechero*. 689-708. 1978
11. Marcelo P.D. "Mastitis en ganado productor de leche" *Curso de ganado lechero*. I.T.E.S.M., Oro. 1-20. 1980
12. Murillo S.E., Pérez D.M., Morrilla G.A., González S.R. "Determinación de albúmina sérica en leche por radio-inmuno-difusión radial como medio de diagnóstico de la mastitis subclínica en bovinos". VII Reunión de Provincia de Microbiología. Oaxaca, Oax. 20-24 de enero de 1980. 16
13. National Mastitis Council. "Direct microscopic somatic cell count in milk". *J. Milk and Food Technology*. 31-350 (1968)

14. National Mastitis Council. "Microbiological procedures for the diagnosis of bovine mastitis". University of New Hampshire Press, Washington. 25-27. 1969
15. Olof Schaw. "Bacteriological and serological investigations with special reference to mixed infection with *Corynebacterium pyogenes*, *Peptococcus indolicus* and microaerophilic cocci. Heifer mastitis and dry cow mastitis". Sueriges Lantbruksuniversitet, Uppsala, Sweden. 1979
16. Plommet M. "Diagnóstico bacteriológico de las infecciones de la mama de la vaca. Patología de la Producción láctea" C.N.R.S.F. 17-55 (1968).
17. Schmidt, G.H. "Udder abnormalities. Biology of lactation" Cornell University. 264-294. 1971
18. Schultz, L.H. "Somatic cells in milk - physiological aspects and relationship to amount and composition of milk". Journal of Food Protection. Vol. 40, No. 2, 125-131. (1977)
19. Shalm, O.W. "Bovine mastitis" Lea & Febiger, Philadelphia, 94-181. 1971
20. Snedecar, G.W., W.G. Cochran "Statistical Methods". 6th Ed., Iowa State University Press. Ames, Iowa. 1973
21. Stelle, R.G.D., J.H. Torrie "Principles and Procedures of Statistics". McGraw-Hill Co., New York. 1960
22. Ward, G.E. and L.D. Schultz "Incidence and control of mastitis during the dry period". Journal of Dairy Science. Vol. 57, No. 11, 1341-1349 (1975)
23. Wilcoxon, F. "The signed rank test". Biometric Bull (1945).

250-94 AX

253-1138

MEXICO T D I

SECRETARIA DE ECONOMIA

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICA Y CENSOS

ESTADISTICA DE LA INDUSTRIA Y COMERCIO

INDUSTRIAS