



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

63
2ij

**"BACTERIAS MAS COMUNES EN LAS
AFECCIONES DE MASTITIS SUBCLINICA
EN EL HATO LECHERO
DE LA FES-CUAUTITLAN
Y SU SENSIBILIDAD A
DIFERENTES ANTIMICROBIANOS"**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA
LEONARDO IVANOV MARTINEZ BRAVO**

**DIRECTOR DE TESIS:
MVZ. JOSE ROJO LOPEZ**

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

MARZO DE 1987



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 está 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

Se efectuó la prueba "California para el diagnóstico de Mastitis subclínica, a las 45 vacas que conforman el hato de producción lechera de la FES--- Cuautitlán. Dicha Prueba fue realizada quincenalmente durante el período comprendido de Enero a Octubre de 1986.

Con el propósito de conocer los gérmenes involucrados en los cuadros de Mastitis subclínica, fueron muestreados todos aquellos cuartos glandulares -- que resultaron positivos a la prueba con grados dos y tres, ya que el grado -- uno no resulta apropiado para intentar el aislamiento bacteriano. Las muestras de leche fueron sembradas en medios de cultivo adecuados y las colonias obtenidas se procesaron según las técnicas recomendadas por Cowan y Steel's (8),-- para determinar el género involucrado en cada una de las muestras.

De esta manera se identificaron un total de seis microorganismos diferentes a partir de muestras de leche procedentes de vacas rectoras positivas a la prueba "California". Los géneros bacterianos aislados son:

<u>MICROORGANISMO</u>	<u>PORCENTAJE DE AISLAMIENTO</u>
1.- <u>Staphylococcus aureus.</u>	80 %
2.- <u>Streptococcus agalactiae.</u>	7.5 %
3.- <u>Staphylococcus epidermidis.</u>	5.0 %
4.- <u>Streptococcus pyogenes.</u>	2.5 %
5.- <u>Corynebacterium bovis.</u>	2.5 %
6.- <u>Lactobacillus s.p.p.</u>	2.5 %

Una vez determinados los géneros bacterianos, se procedió a efectuar la prueba de sensibilidad antimicrobiana a cada una de las cepas aisladas mediante la técnica del antibiograma por Unidiscos. (16),(17).

Los agentes antibacterianos que a la prueba resultaron ser los más eficaces para cada uno de los microorganismos en cuestión fueron:

MICROORGANISMO	ANTIMICROBIANO (S) ADECUADO (S)
<u>Staphylococcus aureus.</u>	Gentamicina, Kanamicina, Ampicilina, Penicilina G.
<u>Strptococcus agalactiae.</u>	Gentamicina, Kanamicina, Ampicilina, Penicilina G, Neomicina.
<u>Staphylococcus epidermidis.</u>	Gentamicina, Kanamicina, Neomicina,- Penicilina G.
<u>Streptococcus pyogenes.</u>	Gentamicina, Kanamicina, Penicilina-G, Neomicina, Cloramfenicol.
<u>Corynebacterium bovis.</u>	Gentamicina, Neomicina, Estreptomici-na, Cloramfenicol.
<u>Lactobacillus s.p.p.</u>	Gentamicina, Kanamicina, Ampicilina, Penicilina G, Neomicina.

Por otra parte, se observó que el período estacional con mayor incidencia de cuartos glandulares afectados de Mastitis subclínica, fue el correspondiente a la época de lluvias; pero a pesar de esto, la incidencia mensual de esta enfermedad en el hato lechero de la FES-Cuautitlán, se mantuvo en un promedio mínimo (6.18%), cifra que se encuentra muy por debajo de los índices de prevalencia en México, ya que según datos reportados por varios autores, la -

tasa de morbilidad se eleva hasta el 80 % en algunas regiones del país (4).

Todos los procedimientos de laboratorio necesarios para la elaboración de éste trabajo, fueron realizados en el Centro de Diagnóstico de Salud Animal (S. A. R. H.), Tepetzotlán, Estado de México.

INDICE

INTRODUCCION	pág.
- Necesidades -----	6
- Repercusiones económicas -----	6
- Causas de disminución en la producción láctea -----	7
- La Mastitis bovina: Generalidades -----	7
- Sinonimias -----	8
- Distribución Geográfica -----	8
- Incidencia -----	8
- Causas -----	8
- Mecanismos de Infección -----	12
- Principales Factores de Transmisión de Agentes Causales -----	12
- Tipos de Mastitis y sus Principales Signos -----	12
- Lesiones -----	13
- Diagnóstico -----	14
- Prevención -----	15
- Tratamiento -----	16
- Control de Mastitis -----	21
- Salud Pública -----	23
OBJETIVOS -----	25
MATERIAL Y METODOS -----	26
1.- La Prueba California -----	27

2.- Toma de Muestras -----	30
3.- Cultivo Bacteriológico -----	32
4.- Pruebas Realizadas para la Identificación Bacteriana -----	33
4.1.- Tinción de Gram. -----	33
4.2.- Microscopía.-----	35
4.3.- Prueba de la Catalasa. -----	36
4.4.- Prueba de la Oxidasa. -----	37
4.5.- Prueba de la Coagulasa -----	38
4.6.- Fermentación Bacteriana de los Carbohidratos -----	40
4.7.- Producción de Acido Sulfhídrico -----	43
4.8.- Producción de Indol. -----	44
4.9.- Prueba de MR-VP -----	45
5.- Pruebas de Sensibilidad en discos de papel filtro -----	46
RESULTADOS -----	53
DISCUSION -----	75
CONCLUSIONES -----	78
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS -----	81

INTRODUCCION

Necesidades:

En México al igual que en muchos países, la leche de vaca constituye un elemento primordial para la alimentación humana y de esta, para la infantil - principalmente, ya que el número de infantes en el mundo es cada vez mayor(27).

El número de explotaciones lecheras especializadas es relativamente bajo en América latina y como consecuencia, casi todos los países de esta región - incluyendo México son importadores de productos lácteos a pesar de que el consumo en algunos de ellos es menor de un decilitro/habitante/día. (13).

Dada la importancia que tienen las enfermedades de la glándula mamaria - en la producción lechera, se hace necesario reconocer que la más común e importante de dichas enfermedades es la Mastitis. (3), (9).

Repercusiones Económicas:

Al ser la principal causa de merma en la producción láctea, la Mastitis es sin duda en términos de pérdidas económicas, la enfermedad más importante con la que debe enfrentarse la industria lechera (3), pues su importancia desde el punto de vista económico, se relaciona directamente con los gastos ocasionados por pérdidas de animales, reducción en la producción de leche en porcentajes que varían del 20 al 85% (9), el costo de los medicamentos empleados en su tratamiento, la pérdida de leche que se elimina o es condenada por las autoridades sanitarias, el acortamiento de la vida productiva del animal, así como la alteración en la calidad de la leche pues bajan los niveles lácteos - de grasa y proteína, lo cual invariablemente abate el valor comercial de la -

leche (13). (22).

Causas de disminución en la producción láctea:

En ocasiones es común observar que uno o varios animales de una explotación, repentinamente disminuyen la cantidad de leche que producen diariamente (22). Esto se debe a diferentes factores, entre los que destacan aquellos llamados "Estresantes" y que pueden ser a su vez de índole ambiental, nutricional o biológica; de éstos últimos, los que específicamente producen un síndrome o enfermedad. (3).

Las principales afecciones que pueden dar origen a una disminución en el volumen diario de producción láctea son: el acné de la ubre, la Mamilitis ulcerativa bovina y principalmente la Mastitis (3), (4). Así como afecciones de carácter traumático como son las heridas de la ubre y los pezones, las fistulas, grietas, contusiones, hematomas, absesos y estenosis del pezón. (3), (15) (19).

De igual manera, la producción se puede ver disminuida debido a los efectos de enfermedades congénitas y/o fisiológicas (25), que en un momento dado, pueden favorecer la aparición de Mastitis; tal es el caso de la "Politelia" - (Pezones supernumerarios), la inversión del orificio del pezón, el edema fisiológico de la ubre, la congestión fisiológica, la dermatitis necrótica y la ruptura de los ligamentos suspensorios de la ubre. (3) (15) (25).

La Mastitis bovina: Generalidades:

La Mastitis es un proceso infeccioso que afecta a la glándula mamaria de las especies domésticas, provocando una inflamación que a su vez ocasiona una disminución en la producción de leche y al ser esta la principal función zootécnica de los bovinos productores de leche, adquiere especial importancia en dicha especie.

Sinonimias: Mamitis, Mamilitis, Agalactiosis, Garget. (3), (15), (22).

Distribución geográfica: Mundial. Generalmente se presenta en cualquier época del año, pero existen reportes de que en algunos países europeos es más frecuente en determinadas épocas: como el caso de la Mastitis causada por Coryne bacterium pyogenes, conocida en Europa como "Mastitis de Verano". (15).

Incidencia:

En México, en hatos que carecen de programas de control, se estima que el 50% de las vacas se encuentran afectadas (4).

Los estudios sobre prevalencia realizados en algunas zonas productoras de México, arrojan porcentajes muy variables:

En el Estado de Hidalgo, en la cuenca lechera de Tizayuca, se estima en un 20.8% (4), (13).

En diversos establos del D.F. se encontraron porcentajes hasta del 81.10% (4), (27).

En el Estado de Puebla se ha detectado un 62% y en el Estado de Morelos un 30% (4).

Causas:

En la actualidad se conocen tres géneros distintos de causas etiológicas:

- a) Traumáticas.
- b) Mecánicas.
- c) Biológicas.

Si bien se han clasificado a groso modo, se discute también el papel de cada uno de ellos para clasificarlos como factor predisponente o factor desen

cadena de la enfermedad. (3), (15) (22).

a) Factores traumáticos: Se conoce así a las distintas causas que por acción de un traumatismo de cualquier índole altere la anatomía de la glándula y particularmente del pezón, Entre otros son comunes los pisotones y patadas.(22).

Tomando en cuenta que el esfínter del canal del pezón es la barrera natural a la penetración de microorganismos, adquiere gran importancia la conservación estructural y funcional del mismo (15), ya que aún en condiciones fisiológicas normales, el esfínter llega a demorar hasta dos horas en volver al diámetro original anterior al ordeño, tiempo suficiente para que pueda ser llevada a cabo la penetración de gérmenes al interior del pezón.(28).

Los factores que provocan lesiones o trastornos funcionales en el canal del pezón facilitarán aún más la penetración de patógenos (24).

Se considerarán aquí también aquellos factores que pueden lesionar la piel del pezón, además de los traumatismos propiamente dichos, como los factores - toxico-metabólicos (en el caso de fotosensibilización), alérgicos y químicos (como en el caso de los agentes cáusticos) (25).

Las características de las lesiones son igualmente variadas; Eritemas, - pápulas, vesículas, pústulas, erosiones, úlceras, papilomas y heridas diversas. (4), (13).

Las lesiones en el pezón al producir dolor, determinan un "ordeño difícil" con la correspondiente retención de leche; los ruidos y cambios ambientales al actuar sobre los mecanismos neuro-endócrinos que determinan la eyección de la leche, tienen el mismo efecto negativo. (3), (25).

b) Factores Mecánicos: Se refieren principalmente a aquellas deficiencias en la práctica del ordeño ya sea mecánico o manual, ya que el ordeño defectuoso-

puede favorecer la presentación de Mastitis por diferentes mecanismos (28).

El exceso de vacío en la máquina de ordeño favorece el pasaje de gérmenes al canal del pezón (24), ya que determina trastornos neuro-circulatorios con isquemia o hiperemia pasiva, llegando en casos graves a producir prolapso del canal (28).

Altas frecuencias de pulsación o sobreordeños, determinan efectos similares a los anteriores (28). Períodos entre ordeños excesivamente largos determinan la abertura del canal por la presión que ejerce la leche sobre el extremo proximal del mismo (24).

En pocas palabras, un ordeño insuficiente y la éstasis láctea, favorecen la proliferación de gérmenes (27). La presencia de las alteraciones antes señaladas aunadas a los factores de manejo y el medio ambiente que determinan la presencia de un número elevado de patógenos en la proximidad del orificio del pezón, constituyen elementos de fundamental importancia en la presentación de Mastitis (3), (15), (22).

c) Factores Biológicos: Son generalmente los desencadenantes de la enfermedad y suelen ser:

- 1) Bacterianos.
- 2) Virales. (Orthopoxviridae, Herpesviridae)
- 3) Micóticos. (Cryptococos, Cándida, Trichosporum). (15).

Los agentes virales y micóticos causan la enfermedad en casos mucho más esporádicos que las bacterias, por lo que se investiga a éstas últimas como principales agentes etiológicos de Mastitis. Los géneros bacterianos causantes son a su vez de una extensa variedad y según el tipo de Mastitis producida serán los géneros que más comunmente se involucran (22).

De ésta manera tenemos que:

MASTITIS SUPURATIVA

- Staphylococcus aureus
- Streptococcus pyogenes
- Streptococcus agalactiae
- Streptococcus dysagalactiae
- Streptococcus uberis
- Streptococcus zooepidermicus
- Corynebacterium pyogenes

MASTITIS GRANULOMATOSAS

- Mycobacterium tuberculosis
- Listeria monocytogenes
- Nocardia asteroides

MASTITIS POR ENTEROBACTERIAS

- Klebsiella pneumoniae
- Proteus vulgaris
- Pseudomona aureogynosa
- Enterobacter aerogenes
- Escherichia coli

MASTITIS GANGRENOSA

- Clostridium perfringens
- Clostridium s.p.p.

OTROS

- Mycoplasma agalactiae
- Leptospiras
- Pasteurella multocida
- Brucella bovis.

Mecanismos de Infección:

Al igual que en otros órganos, también en la glándula mamaria, las estructuras anatómicas normales, con una barrera eficiente a la penetración y colonización de microorganismos (27), sin embargo, en la mayoría de las Mastitis, los agentes penetran desde el exterior superando estas barreras, aunque no se conoce exactamente la forma en que lo logran (3), (22), (21), (15), (27) pero se plantean una serie de posibles hipótesis:

Dichas hipótesis comprenden: movimiento mecánico propulsados por la máquina de ordeño, o bien, por su propia multiplicación (26), (27).

Son excepcionales los casos en los que se ha demostrado o se sospecha fuertemente que el agente alcanza la glándula por otra vía, particularmente la Hemática, como ocurre con Brucella, My. Tuberculosis y Mycoplasma bovis (27).

Principales Factores de Transmisión de Agentes Causales:

-Higiene deficiente de las máquinas ordeñadoras, instalación y personal.

-Falta de control en el proceso de ordeña: mal lavado de ubres, mal secado.

-Traumatismos en el pezón → dolor a la ordeña → retención de leche → crecimiento bacteriano → presentación de Mastitis. (3), (21).

Tipos de Mastitis y sus Principales Signos:

MASTITIS HIPERAGUDA: -Inflamación.

-Rubor, calor, dolor.

-La secreción se ve disminuída, emaciación, fiebre.

-Ojos hundidos, anorexia.

MASTITIS AGUDA: -Fiebre, inflamación, tumefacción.
-Depresión del animal.

MASTITIS SUBAGUDA: -Las alteraciones en la glándula y la secreción son menos marcadas, hay ligera inflamación con dolor al ejercer presión sobre la glándula.

MASTITIS SUBCLINICA: -En éste tipo de Mastitis la inflamación no es manifiesta exteriormente. No hay presencia de dolor, calor o rubor. Como no es aparente la inflamación dentro de la glándula, es detectable sólo por pruebas que consisten en la detección de un contenido alto de leucocitos persistente en la leche, como es el caso de la Prueba California (PMC), la prueba de Wiscousin, la prueba de Whiteside. así como el recuento celular.

MASTITIS CRONICA: -Existe cierto grado de inflamación pero el dolor, calor y rubor pasan desapercibidos. Es resultado de la recuperación de cuadros continuos de Mastitis, que sin tratamiento, la parte afectada pierde gradualmente su capacidad de producción y puede atrofiarse o desarrollar lentamente masas firmes nodulares y fibrosas tipo granuloma, dentro del parénquima glandular.
(3), (14), (21), (22).

Lesiones:

MASTITIS CATARRAL AGUDA: Se producen secreciones en conductos galactóforos - tipo catarral-mucoso, color amarillento. Hay inflamación y se predispone la formación de pequeños granulo-

mas.

MASTITIS CATARRAL CRONICA: Es una consecuencia de la anterior. La secreción es similar y los conductos galactóforos se ven abstruidos e inflamados.

MASTITIS HEMORRAGICA: Hay presencia de estrías de sangre en conductos y acines glandulares. Hiperemia en ocasiones. Las estrías de sangre pueden acompañarse de fibrina dándole a la leche un aspecto coaguliforme.

MASTITIS SUPURATIVA: Hay secreciones purulentas en conductos y acines de color blanquicino y amarillento, causadas generalmente por bacterias piógenas.

MASTITIS GANGRENOSA: Focos de necrosis en los conductos y acines que varían de uno a dos milímetros de diámetro. Hay destrucción total de las estructuras glandulares.
(3), (15), (21), (22).

Diagnóstico:

El diagnóstico de ésta enfermedad depende en gran medida de la identificación de anomalías clínicas en la leche, como la presencia de grumos y tolonrones (4). Con fines prácticos el diagnóstico se divide en dos partes:

a) Diagnóstico clínico: Llevado a cabo por la observación y palpación -- cuando el daño a la ubre es evidente.

b) Diagnóstico de Laboratorio: Generalmente consiste en pruebas químico-biológicas, así como el aislamiento del agente causal-
(3), (15).

Así mismo existen pruebas de campo utilizadas para determinar la presencia de grumos y totodrones en la leche al momento de la ordeña, para detectar la infección subclínica de la ubre e inclusive de un cuarto determinado.

- Pruebas Físicas: -Paño negro*
 -Filtro o cedazo*
- Pruebas Químicas: -Cuantificación de cloruros
 -Cambios de ph (en papel tornasol, potenciómetro, etc.)
 -Prueba Whiteside.
- Pruebas Biológicas: -Wiscousin.
 -Prueba California*
 -Prueba de la Catalasa.
 -Whiteside modificada.
 -Prueba de Hotis.
 -Prueba de Camp.
 -Aislamiento bacteriológico.
 (3), (15), (22).

Prevención:

Dada la gran variedad de agentes que pueden provocar cuadros de Mastitis, ha sido imposible a la fecha, la elaboración de un antígeno que sea capaz de prevenirla (8), (11).

Actualmente se cuenta con algunas medidas preventivas que ayudan a disminuir la incidencia de Mastitis. Estas son:

1.- Descorne de animales para evitar daños a la ubre.

* Pruebas de campo.

- 2.- Evitar ordeños mecánicos demasiado prolongados , ya que pueden dañar el tejido glandular.
- 3.- Controlar el vacío y la higiene de las pezoneras antes de la ordeña.
- 4.- Controlar la calidad de la leche mediante el "despunte".
- 5.- Sumergir las tetas en soluciones desinfectantes, tales como el hipoclorito de sodio o compuestos yodados al 2% después de la ordeña.
- 6.- Administración local de antibióticos a las vacas en el momento de "secarlas".
- 7.- Aplicación de bacterina bovina No. 2 (Cutter), a un mes y a quince días - antes del inicio de la lactación (*).
- 8.- Aseo diario de corrales, eliminación de charcos, escretas, etc.
(3), (8), (15), (19), (21).

Tratamiento:

Dependiendo del agente causal, debe indicarse el antibiótico de elección. Por tratarse de etiologías bacterianas en la mayoría de los casos, se hace recomendable el tratamiento a base de antibióticos, los cuales pueden ser administrados en forma parenteral y local (19).

En la actualidad se encuentra en el mercado con un sin número de "jeringuillas" elaboradas a base de antibióticos para el tratamiento de la Mastitis, dichos productos poseen las dosis promedio para cada cuarto y se administran a través del orificio y canal del pezón (29).

(*) Comunicación personal del Doctor Rafael Carbajal.

Las combinaciones con otras sustancias además de los antibacterianos, han sido empleadas en variadas ocasiones; como es en la hialuronidasa para favorecer la difusión por el tejido glandular; enzimas como la Estreptodornasa para favorecer la salida de material purulento; Corticoesteroides para reducir la inflamación; Inmunoglobulinas para controlar el crecimiento bacteriano; Cobalto para aumentar la actividad de los antibióticos, etc. (3).

A pesar de lo anterior, los beneficios han sido relativos y varían de hato en hato, así como de animal en animal (15).

Por la frecuencia con que se encuentran involucradas bacterias Gram +, se ha generalizado el uso de la penicilina en el tratamiento y su combinación con la Estreptomina ha resultado eficaz en los casos donde se involucran bacterias Gram -. (8).

En todos los casos en que se llega a presentar un cuadro de reacción general, se recomienda el tratamiento parenteral para controlar o prevenir el desarrollo de una septicemia o bacteremia, que generalmente se realiza con quimioterapéuticos del tipo de las Sulfas y otros antibióticos. (3), (14) (22).

Se ha observado también que la eficacia de los antibióticos varía según la fase fisiológica en la que se encuentra el animal y se han hecho comparaciones de los tratamientos tanto en la etapa de lactancia como en el período seco; las variaciones se indican en las tablas 1 y 2. (3), (22), (25), (26).

El tratamiento de la Mastitis puede ser realmente eficaz si se realiza a tiempo, pero aunque la producción de leche se mejore al eliminar la congestión de la glándula y los residuos inflamatorios en los conductos galactóforos, es muy poco probable que regrese al nivel normal, por lo menos al siguiente período de lactancia (3), (20), (28).

TABLA 1

Porcentaje de animales reestablecidos

Período de Lactación.

FARMACO	DOSIS EMPLEADA	STAPH	STREPTO	COLIFORMES
Penicilina G	100 000 U.	40-70	100	--
Cloxacilina	500 mg.	30-60	hasta 100	--
Cloxacilina + Ampicilina	200/75 mg.	64	94	97
Espiramicina	250 mg.	45-82	56	--
Rifamicina	100 mg.	59-73	74	--
Penicilina + Estreptomicina	100 000 U/1g	40-70	100	80
Tetraciclinas	200-400 mg.	50	hasta 100	pobre
Cloramfenicol	200 mg.	28	24	50
Neomicina	500 mg	36	30-67	25

Tomado de Blood y Henderson (3).

TABLA 2

Porcentaje de animales reestablecidos

Período Seco

FARMACO	OSIS EMPLEADA	STAPH	STREPTO	COLIFORMES
Cloxacilina benzatínica	500 mg	84	94	--
Penicilina proc. + Novobiocina	1 mill./500mg	84	94	--
Penicilina procaínica + dihidroestreptomina	1 mill.UI 1 g.	87	96	efectiva
Penicilina procaínica + dihidroestreptomina	100 000 U. 100 mg.	54	90	?
Neomicina	500 mg	62	65	89
Penicilina procaínica + Furaltadona	100 000 U 500 mg	67	94	100

El tratamiento obedece a un patrón establecido y generalizado en la actualidad y dependiendo el agente causal será el antimicrobiano empleado, así como la dosis. (26).

De esta manera, tenemos que para las Mastitis causadas por Streptococcus agalactiae, se usan las infusiones intramamarias de penicilina G procaínica - en dosis de 100 000 U., se recomiendan tres infusiones con intervalos de 24 - horas, o dos infusiones cada 72 horas. Se ha demostrado que una sola infusión de 100 000 U. suspendida en una base de liberación lenta como el aceite mineral y el monoesterato de aluminio, provee índice de curaciones hasta del --- 95.5%. (25), (26).

Cuando se trata de Staphylococcus aureus, la tasa de curaciones no es -- muy alta y dada la facilidad que esa bacteria tiene de desarrollar formas "L", dicha tasa disminuye debido a la presencia de cepas resistentes (4), (25), - (26).

A causa de la alta incidencia de Mastitis estafilocócica, así como de la elevada proporción de formas resistentes a la penicilina y estreptomycin, se ha intensificado la búsqueda de un tratamiento más satisfactorio, por lo que se ha recomendado la Novobiocina en tres infusiones de 250 mg. cada 24 horas, o bien cloxacilina sódica en base de liberación lenta. Los resultados varían aún en tratamientos tempranos en proporción de un 50 a un 80%. (14), (26).

Las tetraciclinas (en dosis de 400 mg.), las combinaciones de Penicilina-Estreptomycin (100 000 U y 250 mg. respectivamente), Penicilina-Nitrofurazona (100 000 U.-150 mg.), Penicilina-Tilosina (100 000 U.- 240 mg.), Furalta dona (500 mg.), Eritromycin (300-600 mg.), y la Espiramicina (250 mg) en tratamientos de tres infusiones con intervalos de 24 horas, poseen un 60-70% de eficacia en vacas lactantes. (3), (15), (25), (26).

Si estos tratamientos se administran en bases de liberación lenta y en el período seco, pueden esperarse tasas de curaciones hasta del 80% (4),(20).

En los casos de Mastitis causados por Coliformes o Enterobacterias (E. coli, Klebsiella, Enterobacter.), se recomiendan antibióticas de amplio espectro por vía parenteral; intravenosa al principio e intramuscular posteriormente para mantener buenos niveles sanguíneos. (3), (25).

Se recomiendan:

- Cloramfenicol: 20-30 mg/Kpv iv. cada 6 horas.
- Oxitetraciclina: 10 mg/Kpv iv. cada 18 horas.
- Trihidrato de ampicilina: 20 mg/Kpv. iv. cada 4 horas.
- Sulfas con trimetoprim: (sol. al 24.), Trimetoprim 4g y Sulfadoxina 20 g. -
1 ml./ Kpv iv. cada 24 horas.

El inconveniente de los tratamientos anteriores es el período de tiempo - entre una administración y otra, que implica un trabajo excesivo de manejo del animal. (14), (15), (19).

Control de Mastitis:

Debido a la imposibilidad de erradicación permanente de la enfermedad en explotaciones lecheras, se hace de suma importancia el conocer las medidas que ayuden a controlarla, ya que a pesar de todo su presentación en muchos casos - es inminente. (26).

Los puntos básicos que se encaminan al desarrollo de programas de control de Mastitis bovina son:

- 1.- Identificación de los casos clínicos y tratamiento de los mismos a medida que se presentan.
- 2.- Identificación de casos clínicos crónicos.

- 3.- Identificación de cuadros subclínicos mediante las pruebas que para este propósito existen.
- 4.- Observación de las medidas higiénicas del proceso de ordeño, entre las que se encuentran:
 - a) Lavado, enjuagado y secado de la ubre antes de la ordeña.
 - b) Correcto funcionamiento y mantenimiento periódico de la máquina de ordeño.
 - c) Correcto sellado de los pezones después de la ordeña.
 - d) Desinfección adecuada de las pezoneras entre vaca y vaca.
- 5.- Higiene de las instalaciones y del personal.
(3), (15), (21).

Existen además ciertos puntos que deben ser tomados en cuenta y que complementan los aspectos anteriores, que son:

-Identificación de cuartos afectados: Es por lo general la medida más importante y el método más recomendable es el chequeo quincenal de los cuartos en producción, mediante la prueba California.

-Proceso de ordeño mecánico: Dependiendo del empleo adecuado del proceso, se considera un factor importante para la prevención de Mastitis subclínica.

-Mantenimiento del equipo de ordeño: Indispensable para su buen funcionamiento y que debe ser llevado a cabo por un técnico calificado.(27).

Los estándares normales para una máquina ordeñadora debe ser lo más parecido posible a una situación fisiológica, para evitar daños al pezón, ubre y tejido glandular. Las constantes de trabajo son:

-Presión de vacío = 38 cm. Hg.

-Pulsaciones = 40-60 por minuto.

-Presión de vacío en copa con carga = 11-12 cm. Hg.

-Presión de vacío en copa para masaje = 6 cm Hg.

(3), (27).

Secuencia de Ordeño:

- 1.- Lavado de ubres con agua a presión.
- 2.- Entrada de vacas a la sala de ordeña.
- 3.- Suministro de concentrado.
- 4.- Secado de ubres con toallas desechables de papel.
- 5.- Despunte.
- 6.- Colocación de pezoneras.
- 7.- Lectura de proyección al término de la ordeña.
- 8.- Desinfección de pezoneras.
- 9.- Sellado de pezones.

Salud Pública:

La Mastitis bovina representa un grave foco de diseminación bacteriana, ya que la amplia gama de agentes causales pueden llegar a implantarse en hospedadores humanos ocasionandoles procesos morbosos que pueden ser muy variados (7).

La leche para consumo humano no debe exceder de 100 000 unidades bacterianas por mililitro para ser apta de consumo. (11).

Independientemente de dificultar los procesos de elaboración de algunos derivados lácteos por la alteración de la composición fisico-química, en el ca-

so de leche procedente de vacas infectadas, existe un gran riesgo de adquirir una infección gastrointestinal o respiratoria inclusive, ya que por medio de la leche se eliminan por acción de arrastre (27), las bacterias causantes, por lo que la ingestión de derivados lácteos como quesos, crema, mantequilla, así como leche infectada, ocasiona infecciones que en algunos casos pueden tener consecuencias serias, tal es el caso de enfermedades como la Tuberculosis, Faringitis estreptocócica y la Brucelosis entre otras. (3), (11).

Por otra parte, los residuos de antibióticos presentes en la leche también son de suma importancia, tanto en la elaboración de productos lácteos, - como en la presentación de síndromes de hipersensibilidad en el humano.(30).

A este respecto, la legislación sanitaria prevee un capítulo en que se indica que deben transcurrir por lo menos 96 horas desde el momento que se administra el fármaco, por cualquier vía, hasta su degradación por el organismo, - para que pueda ser apta la leche para el consumo humano. (4).

El empleo de penicilinas ácido-resistentes como la Fenoximetilpenicilina, está contraindicado en el tratamiento de Mastitis bovina, ya que al no ser degradada por el estómago humano, representa un grave riesgo en personas que ingieren leche con residuos de dicho antibiótico, máxime de tratarse de personas alérgicas a la penicilina. (14), (19), (30).

OBJETIVOS

- I.- Detectar dentro del hato lechero de la FES-Cuautitlán, los animales reactivos positivos y sospechosos (grados 2 y 3) de Mastitis subclínica, por medio de la prueba diagnóstica "California".
- II.- Obtener de dichos animales muestras de leche de cada uno de los cuartos-afectados.
- III.- Sembrado de las muestras en medios de cultivo apropiados para el crecimiento de las cepas bacterianas que generalmente se involucran en los cuadros de Mastitis subclínica. (Agar McConkey, gelosa sangre, agar de sal y manitol, medio de Mueller-Hinton.)
- IV.- Determinar los géneros bacterianos involucrados en la infección de los animales afectados, siguiendo las técnicas y métodos descritos por Cowan y Steel's (8).
- V.- Detectar por medio de la prueba de Antibiograma, la sensibilidad de los gérmenes hallados a diferentes antimicrobianos.
- VI.- Elegir el o los agentes antibacterianos que por el método anterior hallan resultado ser los más eficaces, para proporcionar diferentes opciones destinadas a la antibioticoterapia de la Mastitis bovina en el hato perteneciente a la FES-Cuautitlán.

MATERIAL Y METODOS

Se muestrearon 45 vacas Holstein-Friesian pertenecientes al centro de producción animal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (UNAM), y se efectuaron los siguientes procesos:

- 1.- Prueba "California".
- 2.- Toma de muestras lácteas a los cuartos glandulares rectores positivos
- 3.- Cultivo bacteriológico.
- 4.- Pruebas realizadas para la identificación bacteriana:
 - 4.1 Tinción de Gram.
 - 4.2 Microscopía.
 - 4.3 Prueba de la Catalasa.
 - 4.4 Prueba de la Oxidasa.
 - 4.5 Prueba de la Coagulasa.
 - 4.6 Pruebas de fermentación bacteriana de los carbohidratos.
 - 4.7 Producción de ácido sulfhídrico.
 - 4.8 producción de Indol.
 - 4.9 Prueba de MR-VP.
- 5.- Pruebas de sensibilidad en discos de papel filtro (Antibiograma).

1.- PRUEBA "CALIFORNIA":

Fundamentos:

Esta prueba se basa en la utilización de un detergente aniónico diluído en concentraciones estándar, que reacciona con el DNA liberado de las células presentes en la leche, dando como resultado un precipitado en forma de gel. - También consta de un colorante (Púrpura de Bromocresol), que ayuda a diferenciar mejor los cambios de ph y a manifestar en forma más aparente el precipitado.

Para la aplicación de la prueba, se cuenta en el mercado con varias marcas comerciales que contienen además del reactivo en frascos dosificadores, - una paleta de plástico con cuatro concavidades donde se efectúa la prueba.

Método:

Después del "despunte" de cada uno de los pezones, que se realiza en la taza de fondo negro que para este propósito existe, se extraen de cada cuarto de 3 a 4 ml. de leche y se depositan en cada una de las concavidades de la paleta (copas). A continuación se añaden volúmenes iguales de reactivo a cada copa y se efectúa un movimiento de rotación en sentido de las manecillas - del reloj con el propósito de mezclar perfectamente bien la leche con el reactivo.

Cuando queda hecha la mezcla, se levanta la paleta a un lado y a otro, - con el fin de poder observar el fondo de cada una de las copas y percatarse - de si existe o no formación de un gel púrpura.

Cabe añadir que cuando se emplea un exceso de reactivo, se obtienen resultados más confiables y más precisos de observar.

Interpretación:

Después de mezclar la leche y el reactivo se leen los resultados y se les asigna una interpretación que varía de negativas (trazas) a indicios y positivas, con grados de reacción que se enumeran del 1 al 3, dependiendo de la cantidad de gel que se haya formado y precipitado al fondo de la copa. La interpretación se puede apreciar en la tabla No. 3.

La prueba California se corrió con intervalos de quince días durante un período de tiempo comprendido en las cuatro estaciones del año; esto es que -- los meses de Enero y Febrero se consideraron como época de Invierno; Marzo, -- Abril y Mayo como Primavera; Junio, Julio y Agosto como Verano; y Septiembre y Octubre como temporada de Otoño.

Lo anterior fue realizado con el propósito de tener un panorama más significativo de los germenos involucrados en los cuadros de Mastitis subclínica y su estacionalidad.

Cada uno de los cuadros glandulares que resultaron positivos y con grados de reacción 2 y 3, fueron muestreados como se describe a continuación y sometidos a exámenes bacteriológicos para determinar el género y la especie, según -- los métodos y técnicas recomendadas por Cowan y Steel's (8).

TABLA 3
TABLA DE INTERPRETACION DE RESULTADOS DE PCM.

Reacción a la prueba	Formación gel	Leucocito/ml	Células/ml	Disminución de Producción
Negativo	no hay	--	--	--
Trazas	Formación de precipitado ligero que se disuelve al mezclar.	500 000	--	6.0%
+ 1	gel mucoso	1000 000	100 000 a 1 500 000	10.0%
+ 2	gel denso y flocculento	2000 000	800 000 a 5000 000	16.0%
+ 3	gel viscoso y pegajoso	4000 000	más de 5000 000	24.5%

(3), (20).

2.- TOMA DE MUESTRAS:

Material:

- Toallas de papel desechables.
- Alcohol del 96°
- Isopos de algodón.
- Frascos Gerber esterilizados.

Método:

Después del lavado de la ubre que precede a la ordeña, se secaron estas con las toallas desechables de papel y se despuntó cada uno de los cuartos desechando los primeros chorros en la copa de ordeño.

A continuación se limpió y desinfectó todo el cuerpo del pezón especialmente la zona del esfínter, con un isópo de algodón impregnado en alcohol y se dejó secar.

Las muestras se obtuvieron manualmente dirigiendo el chorro de leche al interior de los frascos estériles. Se destinó un frasco para cada cuarto glandular.

Se tuvo presente la precaución de evitar que la boca del frasco tuviera contacto con el animal para impedir posibles contaminaciones.

Se depositó un volumen aproximado de 50 ml. de cada uno de los cuartos --

afectados. (20).

Cada frasco se cerró y etiquetó con el número de animal y cuarto muestreado, inmediatamente después de tomar la muestra.

Las muestras se trabajaron inmediatamente después de ser obtenidas y en algunos casos fueron mantenidas en refrigeración por un período de 18 horas - previo a su procesamiento.

3.- CULTIVO BACTERIOLÓGICO.

Material:

- Asa de platino.
- Mecheros Bunsen.
- Medios de cultivo preparados en cajas de Petri. (Base para agar sangre; laboratorios Merck Sharp Dome & Co., agar McConkey; Bioxón de México, agar M.S.A.; Bioxón de México, medio de Mueller-Hinton; laboratorios -- Merck Sharp Dome & Co.).
- Muestras a sembrar. (Leche de cuartos afectados).

Método:

Se esterilizó el asa de platino a fuego directo en los mecheros, hasta que se alcanzaba el "rojo vivo". Se introducía por una orilla del frasco que contenía la muestra para enfriarla.

Se tomó con el asa parte del sedimento y del sobrenadante de la muestra, y se distribuyó por toda la superficie de la placa de agar, siguiendo una técnica de rayado y estriación.

Inmediatamente después de terminar el sembrado, se cerró cada una de las placas de agar y se colocaron en posición invertida para evitar la entrada de gérmenes contaminantes.

Las placas se marcaron por su parte inferior, anotando los datos de la muestra: Número de vaca y cuarto correspondiente. Posteriormente se introdujeron al horno bacteriológico a una temperatura constante de incubación de 37°C y por un período de 24 horas.

4.- PRUEBAS REALIZADAS PARA LA IDENTIFICACION BACTERIANA.

La morfología, tamaño, coloración, elevación y demás características de las colonias bacterianas, rara vez bastan para identificar al género bacteriano involucrado, a menos de que se trate de un bacteriólogo experimentado quien proporcione el diagnóstico (10).

Para determinar con exactitud el género del agente etiológico, las colonias bacterianas se someten a una serie de procesos y pruebas diferenciales. (16).

Cabe aclarar que cuando se identifican colonias contaminantes, se debe proceder a un resembrado para obtener de esta manera, colonias puras (17).

4.1 Tinción de Gram:

El propósito de esta tinción es la de diferenciar bacterias Grampositivas y Gramnegativas. La diferencia radica en la cantidad de colorante captado por la estructura bacteriana dependiendo el tipo de pared celular que ésta posea.

Material:

- Cultivo puro de bacterias a identificar.
- Asa de platino y mecheros.
- Cristal violeta.
- Solución amortiguadora y sensibilizante de bicarbonato.
- Lugol (mordiente).
- Alcohol-acetona (decolorante).

- Safranina (colorante de contraste).

Método:

Se toma una pequeña porción de colonia bacteriana con el asa de platiro - previamente esterilizada a fuego directo y se diluye en una gota de agua destilada, depositada en la superficie de un portaobjetos.

Se espera hasta que el agua seque o se acelera este proceso poniendo el -- frotis cerca del fuego para que el calor lo seque más rápido, pero sin llegar a exponerlo demasiado para evitar que las bacterias cambien su morfología por acción del calor.

Cuando se ha secado el agua del frotis, se llevan a cabo los pasos ya establecidos del tren de tinción de Gram:

- 1.- Aplicación de Cristal violeta. Se deja permanecer el colorante por 30 segs. y se lava el portaobjetos al chorro del agua.
- 2.- Aplicación de la solución sensibilizadora de bicarbonato. También se deja permanecer 30 segs. y se lava al chorro del agua.
- 3.- Aplicación de Lugol. Se deja permanecer por 30 segs. y se decanta.
- 4.- Aplicación de alcohol-acetona enjuagando inmediatamente al chorro del agua. Esta operación se repite 2 o 3 veces.
- 5.- Aplicación de Safranina. Se deja permanecer 30 segs. y se lava al chorro de agua para después dejarse secar.

(16).

4.2 Microscopía:

Esta técnica se realiza con el propósito de observar la morfología de las estructuras bacterianas, así como su coloración para clasificarlas como Gram positivas o Gramnegativas:

GRAM .	COLORACION- BACTERIANA
POSITIVAS	VARIA DEL AZUL FUERTE AL MORADO INTENSO
NEGATIVAS	VARIA DE ROSA A ROJO CLARO.

La forma en que se agrupan los elementos bacterianos también es de suma importancia, ya que independientemente de tratarse de bastones, cocos, espiroquetas, cocobacilos, etc. la forma en que se agrupen (pares, cadenas, racimos o individualmente), darán otra característica para clasificarlos y determinar su género correspondiente.

Método:

Una vez seco el frotis elaborado, se colocó en la platina del microscopio y se enfocó con el objetivo de 10X. Una vez identificados los microorganismos, se enfocó con el objetivo de inmersión (100X).

Se recorrió todo el frotis y se observó tanto la morfología, coloración y forma de agrupación de los microorganismos. Se anotaron y preclasificaron para después correr pruebas de valor taxonómico (17).

4.3 Prueba de la Catalasa:

Una enzima que parece estar muy relacionada con la capacidad de un microorganismo para producir oxígeno, es la catalasa (5).

Esta enzima no se encuentra en organismos anaerobios ni en ciertas especies microaerofílicas. Aparentemente la falta de catalasa en los organismos anaerobios es la causa de que el oxígeno les sea venenoso.

Cuando hay oxígeno en el medio, estos microorganismos lo emplean como aceptor final de hidrógeno para formar agua oxigenada; pero esta no puede ser degradada en agua y oxígeno debido a la falta de catalasa, por lo tanto el peróxido se acumula y envenena a los organismos anaerobios (6).

Para llevar a cabo esta prueba, se disuelve una diminuta fracción de colonia bacteriana en dos o tres gotas de agua destilada sobre la superficie de un portaobjetos y se le agrega una gota de peróxido de hidrógeno en una concentración que puede variar del 10 al 30 %.

La reacción positiva a esta prueba, se indica por una efervescencia inmediata y violenta (10).

4.4 Prueba de la Oxidasa:

Para llevar a cabo esta prueba, se disolvieron de dos a tres gotas del reactivo "N-N Dimetilparafenil d-amina" (Merck Sharp Dome & Co.), en aproximadamente 1 ml de agua destilada dentro de un tubo de ensayo y se mezcló bien.

Se tomó una porción de colonia bacteriana con el asa de platino previamente esterilizada y se depositó en una gota de agua destilada. Posteriormente se virtió en un cuadrado de papel filtro de 3 x 3 cm., en el ángulo superior derecho.

La mezcla del reactivo se tomó con una pipeta "Pasteur" y se fué gotando sobre el papel por su parte central, hasta que por difusión se alcanzaba la zona de la colonia bacteriana.

El reactivo en el papel filtro se difundía y reaccionaba con la Oxidasa producida por las colonias Oxidasas positivas, las cuales se tornaban inicialmente rojas, azules, púrpuras y finalmente negras.

Las colonias negativas permanecían sin alterar su color inicial, que generalmente era un amarillo claro.

(16).

4.5 Prueba de la Coagulasa:

La coagulasa es una enzima presente en la superficie del Staphylococcus aureus, el cual a su vez es uno de los principales agentes productores de Mastitis bovina (10).

Esta enzima tiene relación con la coagulación del plasma sanguíneo y al estar presente únicamente en la especie aureus del género Staphylococcus, presenta un gran valor taxonómico cuando es descubierta por una sencilla prueba (16).

Material:

- Tubos de ensayo esterilizados de 3ml.
- Plasma humano o de conejo.
- Colonias bacterianas puras.
- Solución salina fisiológica.
- Horno bacteriológico o baño maría a 37°C.

Método:

Se emulsionan unas cuantas colonias bacterianas en .5 ml de solución salina fisiológica dentro de un tubo de ensayo. Se agregan .5 de plasma humano o de conejo disuelto al 10% en solución salina.

Se incubó en baño maría durante 30 minutos a una temperatura de 37°C. Se examinó la formación de coágulo, que es indicativo de la producción de coagulasa por el cultivo. El coágulo puede demorar hasta cuatro horas en formarse, sin embargo, se desintegra rápidamente una vez que se ha formado, por lo que se deben tomar lecturas periódicas durante el intervalo de cuatro horas, para no correr el riesgo de pasar por alto un resultado positivo (10).

La prueba también puede correrse de una manera aún más sencilla en porta-objetos, colocando en la superficie de éste una gota de solución salina fisiológica diluyendo en ésta una pequeña porción de colonia bacteriana, justo lo necesario para ser una suspensión "lechosa", se agrega una gota de plasma humano o de conejo por una de las orillas y se incorpora a la suspensión bacteriana con la ayuda de un asa de platino previamente esterilizada. (16).

Se verifica si hay formación de agregados de microorganismos. El inconveniente de ésta prueba es que puede haber positivos dudosos y generalmente se tiene que correr la prueba en tubo para salir de dudas, por lo que se aconseja realizar desde el principio la prueba en tubo de ensayo. (16).

4.6: Fermentación Bacteriana de los Carbohidratos:

El término fermentación se refiere generalmente a la degradación anaerobia de los carbohidratos principalmente. (19).

La razón de que algunos géneros bacterianos fermenten ciertos carbohidratos, es la utilización de la energía almacenada en dichas moléculas.

La capacidad para fermentar un carbohidrato dado, depende de la o las enzimas que contenga un organismo; los productos finales de la fermentación varían por lo tanto de un microorganismo a otro. (5).

Cada uno de los caldos de fermentación que se usan para ésta prueba contienen un carbohidrato específico y un indicador de ph como es el rojo de fenol. Si el microorganismo inoculado al medio es capaz de atacar ese carbohidrato en particular después de ser incubado se notarán cambios principalmente en el ph del medio y en la producción del gas. (17).

Cuando no hay carbohidrato utilizable o el microorganismo no cuenta con la enzima para desdoblar el azúcar presente, se adapta a otra fuente de energía, utilizando en este caso los aminoácidos presentes en el medio, los cuales son convertidos a compuestos parecidos a los carbohidratos; habitualmente los alfa-cetoácidos. (16).

El proceso consiste en desprender los radicales amino(NH_2) de los aminoácidos y oxidar el resto de la molécula al introducir un átomo de oxígeno en lugar del radical amino. (16).

Esto da como resultado el alfa-cetoácido, que puede ser metabolizado como azúcar para la obtención de energía. (16).

Los radicales amino de los aminoácidos se liberan en forma de gas amoniacal. (17).

Cuando un gran número de microorganismos realizan éste proceso, el medio se torna muy alcalino debido a la acumulación de hidróxido de amonio. (16).

Este aumento del pH hace que el rojo de fenol presente en el medio, se oscurezca hasta alcanzar un tono rojizo-morado.

Material:

- Cultivos bacterianos puros.
- Caldos de fermentación en tubos de ensayo.
- Asa de platino de punta roma.

Método:

Se inoculó cada uno de los tubos de ensayo que contenían diferentes carbohidratos, con una pequeña porción de colonia bacteriana, mediante el asa de platino previamente esterilizada y picando con ésta el fondo de cada tubo.

Los tubos inoculados se incubaron a 37° centígrados por 24-48 horas, anotando las observaciones hechas a las 24 y 48 horas. Es importante aclarar -- que los resultados varían con una incubación prolongada. (16).

El rojo de fenol es un indicador que cambia de color en un pH de 6.8 y 6.9; por lo tanto una pequeña producción de ácido por parte de las bacterias, causa un viraje a un color ácido. (17).

Algunos microorganismos causan un viraje anaranjado intermedio en el caldo de fermentación. Cuando se emplean medios de fermentación con rojo de fenol como indicador, se debe obtener un color amarillo bien definido para que la prueba se considere positiva. (17).

4.7.- Producción de Acido Sulfhídrico:

La producción de ácido sulfhídrico por parte de los agentes bacterianos, también puede catalogarse como una fermentación, aunque de tipo protéica.(10).

La mayor parte de las proteínas contienen aminoácidos sulfurados. Muchas bacterias son capaces de desintegrar la Cistina con producción de ácido sulfhídrico (H_2S), ya que contienen una enzima que desprende el átomo de Azufre de este aminoácido, el cual es luego reducido con hidrógeno para formar dicho ácido. Por lo tanto, el Azufre funciona como aceptor de hidrógeno en tales casos. (16).

Puesto que el ácido sulfhídrico es un gas, para detectarlo se incorpora al medio una prueba química específica para esta substancia.

Así, el medio contiene un aditivo que puede ser una sal de fierro o plomo y que reacciona rápidamente con el ácido sulfhídrico para formar el sulfuro correspondiente que es insoluble y de color negro. (16).

4.8.- Producción de Indol:

Algunos microorganismos pueden degradar el aminoácido triptofano para -- formar un producto secundario de la hidrólisis llamado Indol. (16).

Para detectar éste cambio se emplea un medio rico en triptofano (caldo - de triptosa), el cual se inocula y luego se somete a un ensayo químico para - determinar si el Indol se ha acumulado en el medio. (17).

No todos los organismos pueden convertir el triptofano en Indol, por lo - que ésta reacción es también de valor taxonómico. El medio empleado para la - prueba es el de S. I. M. (Acido Sulphídrico, Indol, Motilidad) y puede ser -- tratado con cualquiera de los reactivos siguientes:

- 1.- Reactivo de Erlich: Se agregan unas gotas de éste reactivo al medio, dejándolo deslizar por las paredes del tubo muy - lentamente. Las pruebas positivas forman un ani- llo rojo en la superficie del medio.
- 2.- Reactivo de Kovacs: Se ponen unas cuantas gotas del reactivo en el - cultivo a probar; cuando hay Indol se produce en minutos un color rojo profundo (el medio de S.I. M. es una solución blanca). (16).

4.9.- Prueba de MR-VP (Rojo de metilo-Vogues Proskauer):

La prueba MR-VP es un medio líquido de color amarillo, que para llevarse a cabo se divide en dos tubos de ensayo. Para la primera parte de la prueba, o sea la correspondiente al rojo de metilo se agregó una gota de dicho reactivo a uno de los tubos de ensayo, que contenía aproximadamente un mililitro -- del medio original.

Cuando se han formado grandes cantidades de productos finales, predominantemente ácidos, el indicador del medio se torna casi de inmediato a un color-rojo profundo, indicando así un resultado positivo. Un resultado negativo lo indica el color amarillo inalterado del medio.

Para la segunda parte de la prueba (VP), se toma la otra mitad del medio y se le agregan de tres a cinco gotas de alfa-naftol al 5% y posteriormente - se le agregan otras tantas de hidróxido de potasio (KOH), al 40% y se agita suavemente dejándose incubar por 24 horas a una temperatura constante de 37°C.

En presencia de Acetil-metil-carbinol, se formará un color rojo anaranda do brillante, dando como positiva la prueba. (17).

5.- PRUEBAS DE SENSIBILIDAD EN DISCOS DE PAPEL FILTRO (ANTIBIOGRAMA).

La utilización de antimicrobianos en la terapéutica de las enfermedades infecciosas cuando se ha efectuado el diagnóstico bacteriológico, plantea la necesidad de conocer cual es el antibiótico que se debe utilizar para eliminar al microorganismo que provoca la infección. Para esto es necesario tomar en cuenta factores tales como:

- La susceptibilidad del microorganismo "in vitro".
- La relación de susceptibilidad entre el microorganismo y otras bacterias de la misma especie.
- Las propiedades farmacológicas de los antibióticos, incluyendo su toxicidad, distribución, absorción y excreción.
- La experiencia clínica previa de la eficacia en el tratamiento de infecciones debidas a la misma especie.
- Historia natural del proceso patológico.
- Estado inmune del huésped.

(16), (17).

El papel que juega el laboratorio en este caso es de suma importancia, ya que al determinar la susceptibilidad del microorganismo "in vitro", dará la pauta a seguir sobre cual debe ser el antibiótico a emplear en el proceso patológico en cuestión. (6).

Según los datos reportados por Bradshaw (5), para determinar la susceptibilidad "in vitro", se emplean varios métodos que son los siguientes:

- 1.- Dilución seriada en tubo.
- 2.- Dilución seriada en placa.
- 3.- Dilución en discos de papel filtro.
- 4.- Sistemas automatizados.

La selección del método adecuado para determinar la susceptibilidad "in vitro", depende también de factores como lo son el número de muestras a procesar, tipo de microorganismo, sitio de aislamiento (sangre, leche, L. C. R., etc.), mecanismo de patogenicidad, etc. (23)

En 1961, la O.M.S. señaló la necesidad de regularizar los métodos empleados por los laboratorios de diagnóstico para la determinación de la susceptibilidad microbiana (7).

En los Estados Unidos, la Food & Drug Administration (F.D.A.) escogió en el año de 1971, la prueba de susceptibilidad en discos de papel filtro descrita originalmente por Baure, Kirby, Sherris y Turck en 1966 (2), y la recomendó específicamente en el año de 1972. (29).

En 1979, The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), publicó los métodos establecidos como patrón de referencia para efectuar las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana en discos de papel filtro. (23).

Objetivos de la técnica:

- Determinar la susceptibilidad o resistencia de los microorganismos a diferentes agentes antimicrobianos.

- Buscar la concentración mínima inhibitoria (CMI), definida como la concentración menor de antibiótico, capaz de evitar el desarrollo del microorganismo durante el período de incubación.

Fundamento:

Utilizando pequeños discos de papel filtro, con diferentes concentraciones de distintos antimicrobianos, se obtienen diámetros en la zona de inhibición, proporcionales a la concentración por acción de la difusión del antimicrobiano en el agar. (23).

Si se grafica el diámetro de la zona de inhibición contra el logaritmo de la concentración mínima inhibitoria, se logra casi siempre una recta que - constituye una línea de regresión, que puede ser calculada matemáticamente, y de la cual se obtiene la interpretación en los términos: Sensible, intermedio y resistente. (16).

Los Staphylococcos que son resistentes a la penicilina deben probarse con discos de Meticilina, aunque también se pueden usar discos de Cloxacilina, Di cloxacilina, Oxacilina y Nafcilina. (16).

Las cepas de Staphylococcus aureus que son resistentes a la Meticilina, - deben reportarse como resistentes a los antibióticos de la familia de las Cefalosporinas, independientemente del tamaño de la zona de inhibición, porque en la mayoría de las infecciones causadas por ese organismo, son clínicamente resistentes a las Cefalosporinas. (17).

La Colistina y la Polimixina B difunden poco en un material de cultivo - como es el agar y por lo tanto, el método de difusión no es el adecuado para probar éstos antimicrobianos, por lo que se recomienda el método de Difusión-seriada en placa. (12).

TABLA 4

DROGAS PARA PRUEBAS DE SUCEPTIBILIDAD A LOS ANTIBIOTICOS
 QUE DEBEN EMPLEARSE DE RUTINA EN LOS LABORATORIOS DE
 MICROBIOLOGIA CLINICA.

ESTAFILOCOCOS:

- Cloramfenicol *
- Eritromicina
- Gentamicina *
- Kanamicina *
- Penicilina G
- Tetraciclina *
- Vancomicina *

PSEUDOMONAS:

- Amikacina
- Carbenicilina
- Cloramfenicol **
- Polimixina B
- Gentamicina
- Sulfasoxazol * **
- Tetraciclinas

ENTEROBACTERIAS:

- Ampicilina
- Cefalotina
- Cloramfenicol
- Gentamicina
- Kanamicina
- Acido Nalidixico.
- Nitrofurantoína
- Polimixina B
- Tetraciclina
- Trimetroprim (Sulfametoxazol)

ENTEROCOCOS:

- Ampicilina
- Cloramfenicol *
- Eritromicina
- Penicilina A
- Tetraciclina *

* Se puede usar para enterococos y Staphylococcus aureus, pero como drogas secundarias.

** Pseudomonna aureoginosa y otras especies de bastones Gramnegativos no fermentadores.

Tomado del manual de laboratorio de Bacteriología Médica 1983 (17).

Limitaciones del método:

El diseño de esta metodología fué elaborado para microorganismos de crecimiento rápido por lo que no deberá emplearse para microorganismos de crecimiento lento, anaerobios obligados, ni en capnófilos.

Selección de antimicrobianos:

Debe de incluirse de rutina un representante de cada grupo de antibióticos, relacionado con su mecanismo de acción y el tipo de microorganismo a probar. (tabla 4).

El medio de cultivo empleado para la prueba de difusión en discos de papel filtro es el de Mueller-Hinton (Merck Sharp Dome & Co.), cuyo ph final deberá de ser de 7.2 a 7.4. Se recomienda no sustituir el medio por ningún otro, aunque en caso de emergencia puede emplearse agar soya tripticasa (Bioxón de México.).(12).

Materiales:

- Cepas bacterianas puras a probar.
- Placas con medio de Mueller-Hinton.
- Tubos de ensayo con caldo nutritivo.
- Unidiscos con diferentes antimicrobianos.(especificando concentración).
- Hisopos estériles.
- Pinzas de disección.

Método:

1.- Con el asa de platino previamente esterilizada, se toman 4 o 5 colonias -

y se inoculan en caldo nutritivo.

2.- Se incubó a 35°C hasta que apareció una leve turbiedad en el caldo, señal de crecimiento bacteriano, que demoró de 2 a 5 horas.

3.- Se sembró el microorganismo en placa de Mueller-Hinton usando un hisopo y la técnica siguiente:

- a) se humedeció el hisopo en el caldo nutritivo, presionando y girandolo - sobre la pared interna del tubo para eliminar el exceso de caldo.
- b) Se sembró en la placa estriando en tres direcciones para obtener un sembrado uniforme.
- c) Se dejó reposar la placa de 3 a 5 minutos para que se secase el inóculo.
- d) Se colocaron los unidiscos y se presionaron ligeramente sobre el agar - para asegurar un contacto completo con la superficie.
- e) Se mantuvo en reposo la placa durante 15 minutos.
- f) Se invirtió la posición de la caja y se incubó a 37°C por 18 horas.
- g) Los halos de inhibición fueron medidos con regla por la parte inferior de la placa.

(17).

La interpretación de los diámetros correspondientes a las zonas de inhibición, se efectuaron en base a la tabla 5 y se tabularon en las categorías de: Suceptible, Intermedio y Resistente.

TABLA 5

TABLA DE INTERPRETACION DE LA ZONA
DE INHIBICION POR EL METODO DE KIRBY-BAUER. (1)

AGENTE QUIMIOTERAPICO	POTENCIA DEL DISCO	DIAMETRO INHIBITORIO (mm.)		
		Resistente	Intermedio	Sensible
BACITRACINA	10 mg.	< 8	9-12	13 >
CEFALORIDINA-CEFALOSPORINA	30 mg.	< 11	11-15	16 >
CEFALOTINA	30 mg.	< 14	15-17	18 >
CLORAMFENICOL	30 mg.	< 12	13-17	18 >
COLISTINA	10 mg.	< 8	9-10	11 >
ERITROMICINA	15 mg.	< 13	14-17	18 >
GENTAMICINA	10 mg.	< 12	-	13 >
KANAMICINA	30 mg.	< 13	14-17	18 >
LINCOMICINA	2 mg.	< 9	10-14	15 >
METICILINA	5 mg.	< 9	10-13	14 >
NAFCILINA Y OXACILINA	1 mg.	< 10	11-12	13 >
AC. NALIDIXICO	30 mg.	< 13	14-18	19 >
NEOMICINA	30 mg.	< 12	13-16	17 >
NOVOBIOCINA	30 mg.	< 17	18-21	22 >
NITROFURANTOINA	300 mg.	< 14	15-16	17 >
OLEANDOMICINA	5 mg.	< 11	12-16	17 >
POLIMIXINA	300 mg.	< 8	9-11	12 >
ESTREPTOMICINA	10 mg.	< 11	12-14	15 >
SULFONAMIDAS	300 mg.	< 12	13-16	17 >
TETRACICLINAS	30 mg.	< 14	15-18	19 >
VANCOMICINA	30 mg.	< 9	10-11	12 >
AMPICILINA	10 mg.	< 11	12-13	14 >
PENCILINA	10 mg.	< 20	21-28	28 >
	10 mg.	< 20	21-28	29 >
	10 mg.	< 11	12-21	22 >

RESULTADOS

Los resultados de la prueba "California" fueron catalogados como: Negativos y positivos con grados de reacción 1,2 y 3. Se destinaron a muestreo únicamente aquellos cuartos glandulares positivos con reacción 2 y 3.

Las muestras de leche correspondientes a los cuartos glandulares muestreados, fueron sembradas en medios de cultivo apropiados para el crecimiento de microorganismos involucrados generalmente en las afecciones de Mastitis bovina.

De acuerdo con los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas a las que fueron sometidas las cepas aisladas, se identificó el género bacteriano correspondiente así como su especie. Las pruebas para la identificación bacteriana fueron hechas en base a las descritas por Cowan y Steel's(8) siguiendo la misma metodología. Las pruebas realizadas fueron:

- Prueba de la Catalasa.
- Prueba de la Oxidasa.
- Prueba de la Coagulasa.
- Pruebas de fermentación bacteriana de los carbohidratos.(glucosa, lactosa, maltosa, manitol, sacarosa, xilosa, salicina, threalosa.)
- Prueba de S.I.M.
- Prueba de MR-VP.

Una vez determinados género y especie, las colonias fueron re-sembradas en tubos con caldo nutritivo para ser inoculadas en placas con medio específico para realizar las pruebas de sensibilidad antimicrobiana. La técnica utilizada fué la de sensibilidad por Unidiscos.

La sensibilidad de cada uno de los microorganismos aislados a los diferentes antimicrobianos contra los que fueron desafiados, se determinó midiendo los halos de inhibición del crecimiento bacteriano y comparándolos con los de la tabla de Madsen y Barry (1).

Los resultados generales de este trabajo se aprecian en la serie de tablas y gráficas que se muestran a continuación.

TABLA DE IDENTIFICACION PARA BACTERIAS GRAMPOSITIVAS

Tomada de Cowan y Steel's (3)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
FORMA	C	C	C	C	C	C	C	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	
ACIDORESISTENCIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	w	+
ESPORAS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
MOVILIDAD	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	D	D	-	-	-
CRECIMIENTO EN EL AIRE	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
CRECIMIENTO ANAEROBICO	-	+	w	w	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	D	-	-	x
CATALASA	+	+	w	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
OXIDASA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	x	x	x	x	x	x	d	-	-	-
GLUCOSA ACIDO	D	+	+	+	+	+	+/-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	D	D	+	+	+	+
OF	O/-	F	F	F	F	F	F/-	-	-	F	F	F	F	F	F	F	-	F/-	F/O/-	O	O	O/NT

<u>Micrococcus</u>	(1)	<u>Cocos anaerobios*</u>	(7)	<u>Arachnia</u> ^E	(12)		
<u>Staphylococcus</u>	(2)	<u>Kurthia</u>	(8)	<u>Rothia</u>	(13)	<u>Clostridium</u>	(15',16'), (17)
<u>Aerococcus</u>	(3,4)	<u>Corynebacterium</u>	(9,10)	<u>Propionibacterium</u>	(14)	<u>Bacillus</u>	(9',10',11',13'),(18)
<u>Pediococcus</u>	(6)	<u>Listeria</u>	(11)	<u>Actinomyces</u>	(15)	<u>Nocardia</u>	(19,20)
<u>Gemella</u>	(6)	<u>Erysipelothrix</u>	(12)	<u>Bifidobacterium</u>	(15)	<u>Mycobacterium</u>	(21)
<u>Streptococcus</u>	(5,6)	<u>Lactobacillus</u>	(12)	<u>Eubacterium</u>	(15,16)		

TABLA 6

TABLA DE IDENTIFICACION Y DIFERENCIACION DE Staphylococcus.

	<u>Staphylococcus aureus</u>	<u>Staphylococcus epidermidis</u>
CRECIMIENTO EN ANAEROBIOSIS	+	w
OXIDASA	-	-
ACCION SOBRE LOS CARBOHIDRATOS	F	F
CARBOHIDRATOS (ácidos de): Glucosa	+	+
Lactosa	+	d
Maltosa	+	+
Manitol	+	d
Manitol (anaerobiosis)	+	-
Sacarosa	+	+
Xilosa	-	-
VOGUES PROSKAUER	+	d
COAGULASA	+	-
CATALASA	+	+

Tomada de Cowan y Steel's (8).

TABLA 7

TABLA DE IDENTIFICACION PARA Streptococcus.

	<u>Streptococcus pyogenes</u>	<u>Streptococcus agalactiae</u>
HEMOLISIS	β	α/β
CRECIMIENTO A 45°C	-	-
REQUERIMIENTO DE CO ₂	-	-
CRECIMIENTO EN 6.5% DE NaCl	-	-
CARBOHIDRATOS (ácidos de):		
Lactosa	+	d
Maltosa	+	+
Manitol	-	-
Rafinosa	-	-
Salicin	+	+
Sorbitol	-	-
Sacarosa	+	+
Threalosa	+	+
VOGUES PROSKAUER	-	-

Tomada de Cowan y Steel's (8).

TABLA 8

TABLA DE IDENTIFICACION PARA Corynebacterium, Listeria y Kurthia.

Tomada de Cowan y Steel's (8).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
MOVILIDAD	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
CATALASA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
CARBOHIDRATOS (ácidos de):															
Glucosa	-	+	+	+	+	+	+	-C	-	+	+	+	+	+	+
Lactosa	-	-	-	-	-	d	d	-	-	+	+	-	(d)	+	+
Maltosa	-	+	+	+	+	d	+	-C	-	+	+	+	+	+	+
Manitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Salicin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Sacarosa	-	-	-	+	+	-	d	-	-	+	d	d	(d)	-	-
Threalosa	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Xilosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	d	-	-	-
VOGUES PROSKAUER	-	-	-	-	-	-	-	-C	-	-	-	-	+	+	+

1.- Kurthia s.p.p.

2.- Corynebacterium diphtheriae

3.- Corynebacterium ulcerans

4.- Corynebacterium xerosis

5.- Corynebacterium murium

6.- Corynebacterium renale

7.- Corynebacterium ovis

8.- Corynebacterium bovis

9.- Corynebacterium hofmannii

10.- Corynebacterium haemolyticum

11.- Corynebacterium pyogenes

12.- Corynebacterium vaginale

13.- Listeria monocytogenes

14.- Listeria grayi

15.- Listeria murray

TABLA 9

SIMBOLOGIA

- * Peptococcus, peptoestreptococcus.
- £ También Actinomyces odontolyticus.
- D Reacciones diferentes en especies diferentes del género.
- d Reacciones diferentes en cepas diferentes.
- F Fermentación.
- O Oxidación.
- w Reacción débil.
- x Reacción no conocida.
- NT No Probada.
- . No se conoce.
- α Zona verdosa alrededor de la colonia.
- β Zona clara incolora alrededor de la colonia.
- ' Variante no esporógena.
- C La mayoría de las cepas son negativas.
- (d) Resultados diferentes en la mayoría de las cepas.
- C Cocos.
- B Bastones.

MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS CUARTOS GLANDULARES

POSITIVOS A LA PRUEBA CALIFORNIA

ENERO 1986

Y SU SUCEPTIBILIDAD A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

VACA N°	CUARTO AFECTADO	MORFOLOGIA	GRAM	CEPA AISLADA *	A N T I B I O G R A M A **		
					SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
50	ant. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus</u>	Penicilina G. Estreptomina. Gentamicina. Ampicilina. Kanamicina. Eritromicina.	Cloramfenicol. Neomicina.	
50	ant. der.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus</u>	Penicilina G. Estreptomina. Gentamicina. Ampicilina. Kanamicina. Eritromicina.	Cloramfenicol. Neomicina.	
379	post. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus</u>	"	"	
379	post. der.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus</u>	"	"	

* Según métodos y pruebas descritas por Cowan y Steel's. (3)

** Tabla de interpretación al método Kirby-Bauer. (2)

MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS CUARTOS GLANDULARES

POSITIVOS A LA PRUEBA CALIFORNIA

FEBRERO 1986

Y SU SUCEPTIBILIDAD A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

VACA N ^o	CUARTO AFECTADO	MORFOLOGIA	GRAM	CEPA AISLADA *	ANTI BIO GRAMA **		
					SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
28	post. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus</u>	Penicilina G. Ampicilina. Neomicina. Gentamicina. Kanamicina.	Estreptomycin. Eritromicina. Cloramfenicol.	
50	ant. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus</u>	Penicilina G.		
50	ant. der.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus</u>	Estreptomycin. Gentamicina.		
50	post. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus</u>	Ampicilina. Kanamicina. Eritromicina. Neomicina	Cloramfenicol.	
386	post. der.	bastones	+	<u>Lactobacillus s.p.p.</u>	Gentamicina. Kanamicina. Ampicilina. Penicilina G. Neomicina.	Estreptomycin. Eritromicina. Cloramfenicol.	

* Según métodos y pruebas descritas por Cowan y Steel's. (3)

** Tabla de interpretación al método Kirby-Bauer. (2)

MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS CUARTOS GLANDULARES

POSITIVOS A LA PRUEBA CALIFORNIA

MARZO 1986

Y SU SUCEPTIBILIDAD A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

VACA N°	CUARTO AFECTADO	MORFOLOGIA	GRAM	CEPA AISLADA *	A N T I B I O G R A M A **		
					SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
379	post. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus</u>	Penicilina G. Kanamicina. Ampicilina.	Eritromicina. Estreptomicina.	
379	post. der.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus</u>	Gentamicina. Neomicina.	Cloramfenicol.	
05	ant. izq.	cocos cadena	+	<u>Streptococcus agalactiae.</u>	Ampicilina. Penicilina G. Gentamicina. Kanamicina. Neomicina.	Estreptomicina. Eritromicina.	Cloramfenicol.

* Según métodos y pruebas descritas por Cowan y Steel's. (9)

** Tabla de interpretación al método Kirby-Bauer. (2)

MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS CUARTOS GLANDULARES

POSITIVOS A LA PRUEBA CALIFORNIA

ABRIL 1986

Y SU SUCEPTIBILIDAD A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

VACA N°	CUARTO AFECTADO	MORFOLOGIA	GRAM	CEPA AISLADA *	A N T I B I O G R A M A **		
					SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
399	ant.der.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus</u>	Penicilina G. Gentamicina. Kanamicina.	Estreptomocina. Eritromicina.	
399	ant.izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus</u>	Ampicilina. Neomicina.	Cloramfenicol.	
119	post.der.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Gentamicina. Kanamicina. Ampicilina. Neomicina. Penicilina G. Estreptomocina.	Eritromicina. Cloramfenicol.	
50	ant.izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Penicilina G. Gentamicina. Kanamicina. Ampicilina. Neomicina. Estreptomocina.	Eritromicina. Cloramfenicol.	
379	post.izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Penicilina G. Gentamicina. Cloramfenicol.	Estreptomocina.	
379	post.der.	cocós racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Kanamicina. Ampicilina. Neomicina.	Eritromicina.	

* Según métodos y pruebas descritas por Cowan y Steel's. (3)

** Tabla de interpretación al método Kirby-Bauer. (2)

MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS CUARTOS GLANDULARES
 POSITIVOS A LA PRUEBA CALIFORNIA
 Y SU SUCEPTIBILIDAD A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

MAYO 1986

VACA N°	CUARTO AFECTADO	MORFOLOGIA	GRAM	CEPA AISLADA *	ANTIBIOGRAMA **		
					SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
386	post. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus</u>	Penicilina G. Gentamicina. Kanamicina. Ampicilina. Neomicina. Estreptomicina. Cloramfenicol.	Eritromicina.	
379	post. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Penicilina G. Estreptomicina. Gentamicina. Ampicilina. Kanamicina.	Neomicina.	
379	ant. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Eritromicina. Cloramfenicol.		

* Según métodos y pruebas descritas por Cowan y Steel's. (3)

** Tabla de interpretación al método Kirby-Bauer. (2)

MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS CUARTOS GLANDULARES

POSITIVOS A LA PRUEBA CALIFORNIA

JUNIO 1986

Y SU SUCEPTIBILIDAD A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

VACA N°	CUARTO AFECTADO	MORFOLOGIA	GRAM	CEPA AISLADA *	ANTI BIO GRAMA **		
					SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
45	ant. der.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Penicilina G. Estreptomicina.		
45	ant. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Gentamicina. Ampicilina. Kanamicina. Eritromicina.	Cloramfenicol Neomicina.	

* Según métodos y pruebas descritas por Cowan y Steel's. (3)

** Tabla de interpretación al método Kirby-Bauer. (2)

MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS CUARTOS GLANDULARES

POSITIVOS A LA PRUEBA CALIFORNIA

JULIO 1986

Y SU SUCEPTIBILIDAD A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

VACA N°	CUARTO AFECTADO	MORFOLOGIA	GRAM	CEPA AISLADA *	A N T I B I O G R A M A **		
					SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
51	ant. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococos aureus.</u>	Ampicilina. Estreptomocina Penicilina G. Kanamicina. Gentamicina. Eritromicina	Cloramfenicol. Neomicina.	
19	post. der.	cocos racimos	+	<u>Staphylococos aureus.</u>	Ampicilina. Estreptomocina. Penicilina G. Kanamicina. Gentamicina. Eritromicina.	Cloramfenicol. Neomicina.	

* Según métodos y pruebas descritas por Cowan y Steel's. (3)

** Tabla de interpretación al método Kirby-Bauer. (2)

MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS CUARTOS GLANDULARES

POSITIVOS A LA PRUEBA CALIFORNIA

AGOSTO 1986

Y SU SUCEPTIBILIDAD A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

VACA N°	CUARTO AFECTADO	MORFOLOGIA	GRAM	CEPA AISLADA *	ANTIBIOGRAMA **		
					SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
380	post. der.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Penicilina G. Gentamicina. Kanamicina. Ampicilina. Neomicina. Cloramfenicol.	Estreptomicina. Eritromicina.	
06	ant. izq.	cocos Racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Penicilina G. Gentamicina. Kanamicina. Ampicilina. Neomicina. Cloramfenicol.	Estreptomicina. Eritromicina.	
182	ant. der.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Penicilina G. Gentamicina. Kanamicina. Ampicilina. Neomicina. Cloramfenicol.	Estreptomicina. Eritromicina.	
399	post. der.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Penicilina G. Gentamicina. Kanamicina. Ampicilina. Neomicina. Cloramfenicol.	Estreptomicina. Eritromicina.	

* Según métodos y pruebas descritas por Cowan y Steel's. (3)

** Tabla de interpretación al método Kirby-Bauer. (2)

MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS CUARTOS GLANDULARES

POSITIVOS A LA PRUEBA CALIFORNIA

SEPTIEMBRE 1986

Y SU SUCEPTIBILIDAD A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

VACA Nº	CUARTO AFECTADO	MORFOLOGIA	GRAM	CEPA AISLADA *	ANTIBIOGRAMA **		
					SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
380	post. der.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Penicilina G. Gentamicina. Kanamicina. Ampicilina. Neomicina. Eritromicina.	Cloramfenicol. Estreptomina.	
09	ant. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Penicilina G. Gentamicina. Kanamicina. Neomicina.	Eritromicina.	
09.	post. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Ampicilina. Estreptomina. Cloramfenicol.		
09	post. der.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus epidermidis.</u>	Penicilina G. Kanamicina. Neomicina. Ampicilina. Estreptomina. Eritromicina. Gentamicina	Cloramfenicol.	
05	ant. izq.	cocos cadena	+	<u>Staphylococcus agalactiae.</u>	Ampicilina.	Estreptomina.	
05	ant. der.	cocos cadena	+	<u>Staphylococcus agalactiae.</u>	Gentamicina. Kanamicina. Penicilina G. Neomicina.	Eritromicina.	Cloramfenicol.

* Según métodos y pruebas descritas por Cowan y Steel's. (9)

** Tabla de interpretación al método Kirby-Bauer. (2)

MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS CUARTOS GLANDULARES

POSITIVOS A LA PRUEBA CALIFORNIA

SEPTIEMBRE 1986.

Y SU SUCEPTIBILIDAD A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

VACA Nº	CUARTO AFECTADO	MORFOLOGIA	GRAM	CEPA AISLADA *	A N T I B I O G R A M A **		
					SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
06	ant. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Penicilina G Gentamicina. Kanamicina. Ampicilina. Neomicina. Cloramfenicol.	Estreptomicona. Eritromicona.	
122	post. izq.	cocobacilo	-	<u>Corynebacterium bovis.</u>	Gentamicina. Cloramfenicol. Estreptomicona. Neomicina.	Kanamicina. Ampicilina.	Penicilina G. Eritromicona.
64	ant. der.	cocos cadena	+	<u>Streptococcus pyogenes.</u>	Gentamicina. Cloramfenicol. Penicilina G. Kanamicina. Neomicina.	Estreptomicona Ampicilina.	Eritromicona.

* Según métodos y pruebas descritas por Cowan y Steel's. (9)

** Tabla de interpretación al método Kirby-Bauer. (2)

MICROORGANISMOS AISLADOS DE LOS CUARTOS GLANDULARES

POSITIVOS A LA PRUEBA CALIFORNIA

~~OCTUBRE 1986~~

Y SU SUCEPTIBILIDAD A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

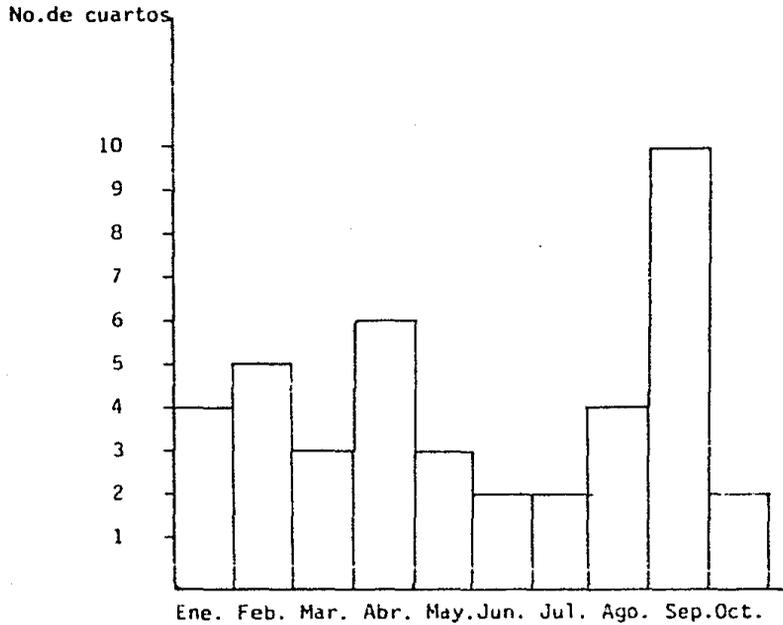
VACA N°	CUARTO AFECTADO	MORFOLOGIA	GRAM	CEPA AISLADA *	A N T I B I O G R A M A **		
					SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
19	ant. izq.	cocos racimos	+	<u>Staphylococcus aureus.</u>	Penicilina G. Gentamicina. Kanamicina. Ampicilina. Neomicina. Cloramfenicol.	Estreptomicina. Eritromicina.	
400	post. izq.	cocos racimo	+	<u>Staphylococcus epidermidis</u>	Penicilina G. Gentamicina. Kanamicina. Neomicina	Estreptomicina. Eritromicina. Cloramfenicol.	Ampicilina.

* Según métodos y pruebas descritas por Cowan y Steel's. (3)

** Tabla de interpretación al método Kirby-Bauer. (2)

GRAFICA 1

Cuartos afectados de Mastitis Subclínica.
Centro de producción animal FES-C. 1986

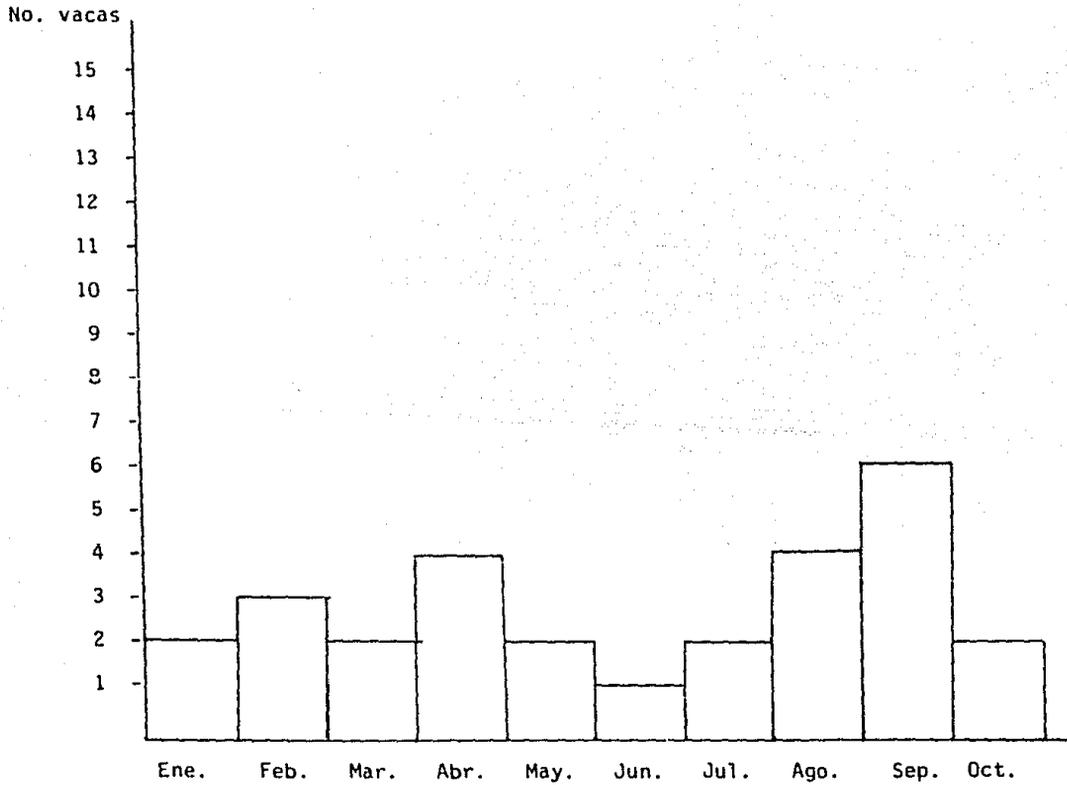


Porcentaje de cuartos glandulares afectados de Mastitis Subclínica:

Enero:-----2.2 %
Febrero:-----2.7 %
Marzo:-----1.6 %
Abril:-----3.3 %
Mayo:-----1.6 %
Junio:-----1.1 %
Julio:-----1.1 %
Agosto:-----2.2 %
Septiembre:-----5.0 %
Octubre:-----1.1 %

GRAFICA 2

Vacas rectoras positivas a la prueba California en el período comprendido de enero a octubre de 1986 en el centro de producción animal. FES-Cuautitlán U.N.A.M.

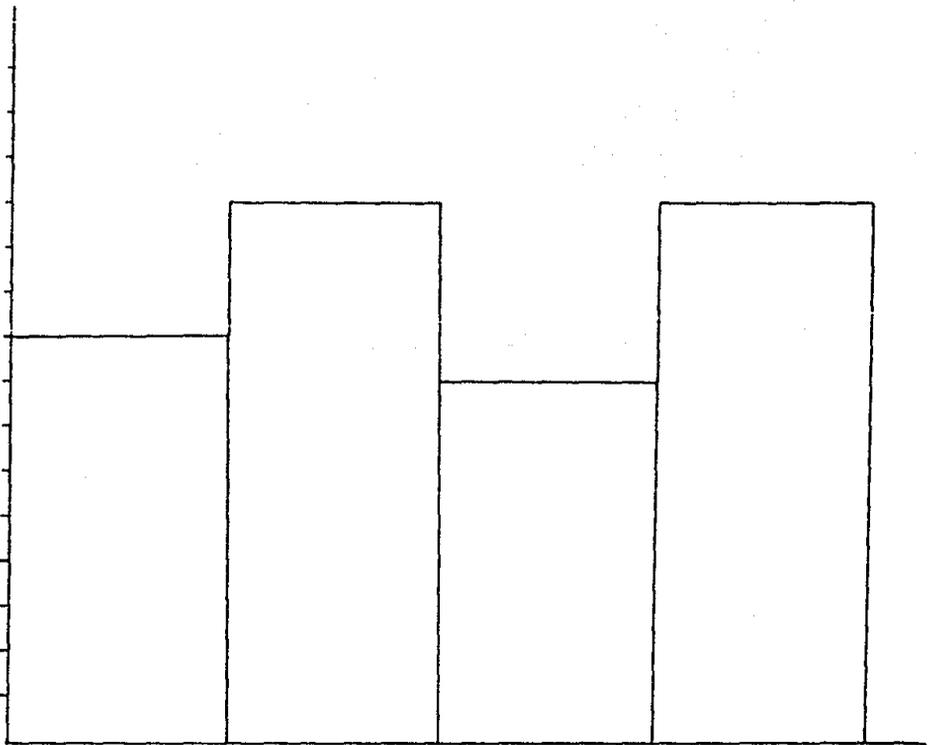


GRAFICA 3

Incidencia estacional de Mastitis subclínica
en el hato lechero de la FES-Cuautitlán U.N.A.M. 1986

No. de cuartos
glandulares.

15
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1



Invierno
(Ene-Feb.)

Primavera.
(mar-Abr-May).

Verano.
(Jun-Jul-Ago)

Otoño.
(Sep-Oct).

TABLA 10

MICROORGANISMOS AISLADOS Y NUMERO DE CEPAS SENSIBLES A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS.

G E N E R O .	N O DE MUESTRAS AISLADAS	NUMERO DE CEPAS SENSIBLES A:							
		A	B	C	D	E	F	G	H
<u>Staphylococcus aureus</u>	80	20	20	20	20	15	10	7	9
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	5	2	2	1	2	2	1	1	0
<u>Streptococcus agalactiae</u>	7.5	2	2	2	2	2	0	0	0
<u>Streptococcus pyogenes</u>	2.5	1	1	0	1	1	0	0	1
<u>Corynebacterium bovis</u>	2.5	1	0	0	0	1	1	0	1
<u>Lactobacillus s.p.p.</u>	2.5	1	1	1	1	1	0	0	0

A.- Gentamicina.

B.- Kanamicina.

C.- Ampicilina.

D.- Penicilina G.

E.- Neomicina.

F.- Estreptomicina.

G.- Eritromicina.

H.- Cloramfenicol.

DISCUSION

La Mastitis es una enfermedad propia de la glándula mamaria en la que la inflamación desarrollada exagera la capacidad de la misma para producir leche (19). Es por lo tanto una enfermedad conocida en todas partes y en especial en aquellas regiones donde existe ganado productor de leche.

A pesar que los estudios sobre prevalencia de Mastitis en México arrojan cifras hasta del 80% en algunos lugares (4), se pudo observar que en el hato lechero de la FES-Cuautitlán, la incidencia mensual de esta enfermedad es mínima (6.18%). Esto puede deberse a dos razones principalmente:

- 1.- La realización rutinaria de la secuencia y técnica de ordeño adecuadas que incluyen la adopción de medidas higiénicas para el control de la enfermedad, por parte del personal que labora en la sala de ordeño de la FES-C.
- 2.- Debido probablemente al reducido número de animales destinados a la producción láctea, lo que condiciona de cierta manera el reducido número de vacas rectoras positivas a la prueba California.

La interpretación asignada a los resultados de la prueba California fueron hechos en base a diferentes criterios de valuación, ya que la prueba no -

siempre fue realizada por una sola persona, lo que invariablemente puede conducir a errores al no existir una unificación de criterios.

Como se observó en la grafica correspondiente, el período con mayor número de cuartos glandulares afectados de Mastitis subclínica, fue precisamente el correspondiente a la época de lluvias; ya que como era de esperarse, se -- aumentaba la posibilidad de infección en las ubres bovinas al aumentar la cantidad de lodo y excretas y propiciar de esta manera la proliferación de microorganismos patógenos.

Aunado a la época de lluvias, se vió aumentado el porcentaje de cuartos-glandulares afectados en el hato, debido probablemente a la inconstante realización de la prueba California durante el período de Junio y Julio, causada -- por la escasez del reactivo para realizarla.

Para solucionar los problemas de Mastitis subclínica en el hato lechero de la FES-Cuautitlán, el personal médico que ahí labora, recurre a los fármacos en existencia dentro del módulo y si bien es cierto, que los resultados han sido exitosos, también se han afrontado a problemas de resistencia bacteriana.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, pueden tomarse en cuenta como una opción a seguir en el tratamiento de la Mastitis subclínica dentro de la FES-Cuautitlán, con el fin de evitar el afrontarse más adelante a --

un problema clínico y sin olvidar que las pruebas de sensibilidad antimicrobiana fueron realizadas "in vitro", por lo tanto, las condiciones de crecimiento de los microorganismos causales, así como su comportamiento no son los mismos que en el animal, propiamente dicho.

A pesar de que no se encontró una resistencia total a alguno de los antimicrobianos empleados se observó que la sensibilidad a los mismos variaba entre cepa y cepa, aún tratándose del mismo género bacteriano.

Al ser encontrado como principal microorganismo involucrado en las afecciones de Mastitis subclínica dentro del hato lechero de la FES-C., se hace necesario comentar que el Staphylococcus aureus, produce varias toxinas; una de ellas, la enterotoxina, es importante por su efecto en el hombre, ya que provoca vómito violento a las pocas horas de ingerido. (17).

Por otra parte, el Staphylococcus aureus, es causante de diversas afecciones de consideración en el humano; tal es el caso de Faringitis y la Endocarditis Estafilocócicas.

Por todo lo anterior, es imperativo recordar y reconocer el papel de la Mastitis bovina, incluso la de carácter subclínico en el marco de la salud pública.

CONCLUSIONES

- I.- Se efectuó la prueba California a 45 vacas del hato lechero perteneciente a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, probando se 180 cuartos glandulares en cada sesión de la prueba.

- II.- La prueba California se corrió quincenalmente en la sala de ordeño mecánico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FES-C U.N.A.M.), probándose un total de 360 cuartos glandulares por mes.

- III.- El promedio mensual de vacas que resultaron positivas a la prueba-California, en el período comprendido de enero a octubre de 1986, en el hato lechero de la FES-Cuautitlán, fue del 6.18 %.

- IV.- Se aislaron un total de seis microorganismos diferentes, a partir de muestras de leche procedentes de vacas rectoras positivas con grados dos y tres a la prueba California.

- V.- Los microorganismos aislados se identificaron mediante la serie de pruebas descritas por Cowan y Steel's (8), siendo en orden de importancia, los siguientes:

- 1.- Staphylococcus aureus -----80 % de las muestras procesadas.
- 2.- Streptococcus agalactiae.-----7.5 % " "
- 3.- Staphylococcus epidermidis----5.0 % " "
- 4.- Streptococcus pyogenes -----2.5 % " "
- 5.- Corynebacterium bovis -----2.5 % " "
- 6.- Lactobacillus. s.p.p. -----2.5 % " "

VI.- El principal microorganismo involucrado en las afecciones de Mastitis subclínica en el hato productor de leche de la FES-Cuautitlán fue por lo tanto: Staphylococcus aureus.

VII.- Streptococcus agalactiae y Staphylococcus epidermidis, conformaron juntos el 12.5 % del total de los cuartos afectados de Mastitis subclínica, por lo que pueden ser considerados también como posibles agentes etiológicos, aunque en menor proporción.

VIII.- Streptococcus pyogenes, Corynebacterium bovis y Lactobacillus, s. p. p., fueron encontrados sólo en un 2.5 % cada uno, del total de las muestras procesadas, por lo que se consideraron como posibles contaminantes.

IX.- Los agentes antimicrobianos que demostraron ser los más eficaces para cada uno de los microorganismos aislados fueron:

Staphylococcus aureus -----Gentamicina, Kanamicina, Ampicilina, -
Penicilina G.

Staphylococcus epidermidis ----Gentamicina, Kanamicina, Neomicina, --
Penicilina G.

Streptococcus agalactiae -----Gentamicina, Kanamicina, Ampicilina, -
Penicilina G, Neomicina.

Streptococcus pyogenes -----Gentamicina, Kanamicina, Penicilina G,
Neomicina, Cloramfenicol.

Corynebacterium bovis -----Gentamicina, Neomicina, Estreptomicina,
Cloramfenicol.

Lactobacillus s.p.p.-----Gentamicina, Kanamicina, Ampicilina, -
Penicilina G. Neomicina.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- 1.- Barry L.A., Thornsberry C.: Suceptibility testing. Difussion test procedu res. Manual of clinical microbiology. Ed. Lennette 3rd. ed. Washinton D.- C. 1980.
- 2.- Bauer A. W. Kirby W. M. y Turck M.: Antibiotic suceptibility testing by - a standarized single disc method. A. M. J., Clinical pathology. 45: 493 - 496 (1966).
- 3.- Blood D. C., Henderson J. A.: Medicina Veterinaria. 3a. ed., Editorial -- Interamericana, México. 1983.
- 4.- Bouchot C. G.: Incidencia de Mastitis e identificación de los principales gérmenes causantes en bovinos, en Mazatlán, Sinaloa. 1984.
- 5.- Bradshaw L. J.: Microbiología de laboratorio. Ed. El manual moderno. Méxi co. 1976.
- 6.- Carter G. R.: Diagnostic procedures in veterinary microbiology 2nd., ed.- Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois, U. S. A., 1983.
- 7.- Comité Mixto FAO/OMS de expertos en higiene de la leche.: 3er. informe.-- FAO. Roma. 1971.
- 8.- Cowan y Steel's.: Manual para la identificación de bacterias de importan- cia médica. Compañía editorial Continental. México. 1979.
- 9.- Davis R. F.: Ganado Lechero-Industria y comercio. Editorial LIMUSA. ---

- México. 1973.
- 10.-Dellat Adrian.: Microbiología. 1a. edición. Editorial Interamericana. --- México. 1979.
 - 11.-Diggins R. V.: Vacas, leche y sus derivados. Cía Editorial Continental. - México. 1972.
 - 12.-Escobar G. A.: Importancia del medio de cultivo sobre el tamaño del halo de inhibición en las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos. Investigación Médica Internacional. 1977. 4: 62-67.
 - 13.-Espinoza J. A.: Microorganismos aislados de la secreción de la glándula - mamaria de vacas Holstein-Friesan secas, localizadas en el valle de México, y su resistencia a los antibióticos usados durante la práctica del secado. 1979.
 - 14.-Fuentes H. V.: Farmacología y Terapéutica Veterinarias. Editorial Interamericana. 1a. Ed. México. 1985.
 - 15.-Guillespie J. H., Timoney J. F.: Hagan y Bruner Enfermedades infecciosas - de los animales domésticos. 4a. ed. La Prensa Médica. México. 1983.
 - 16.-I. P. N. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.: Manual de prácticas de Microbiología Veterinaria. 1984.
 - 17.-I. P. N. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.: Manual de laboratorio - de bacteriología Médica. 4a. ed. 1983.
 - 18.-Judkins H. F.: La leche; su producción y procesos industriales. Editorial Continental. México. 1972.
 - 19.-Juergeson E. M.: Prácticas aprobadas en la producción de leche. 2a. ed.-

Editorial Continental. México. 1977.

- 20.-Kelly W. R.: Diagnóstico Clínico Veterinario. 4a. Edición. Compañía Editorial Continental. México. 1983.
- 21.-Mc. Donald J. S.: Bovine Mastitis; Introductory remarks. J. Dairy Sci. ---
62: 117-118.
- 22.-Merck Sharp Dume & Co.: El Manual Merck de Veterinaria. Ediciones UPOME.-
1983.
- 23.- National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance stan ---
dards for Antimicrobial disc susceptibility test. 1979.
- 24.-Pérez Gavilán J.: Bioquímica y Microbiología de la leche.1979.
- 25.-Pérez y Pérez F.: Fisiopatología y Clínica de la glándula mamaria. 1a. ed.
Editorial Científico-Médica. Barcelona, España, 1970.
- 26.-Philpot W. H., Control of Mastitis by Hygiene and Therapy. J. Dairy Sci.-
1979. 62: 168-176.
- 27.-Secretaría de Educación Pública.: Manuales de Educación Agropecuaria. ---
"Bovinos de Leche". Editorial S.E.P.-Trillas. 1a. Ed. 5a. Reimpresión. Mé
xico. 1985.
- 28.-Tórtora P. J.: Resistencia e Inmunidad de la glándula mamaria de los ru--
miantes. Depto. de Patología Veterinaria. FES-C. U. N. A. M. 1984.
- 29.-United States department of Health, education and welfare, Food and Drug
Administration.: Antibiotic Suceptibility discs. Federal Register. 1972.-
37: 120-125.

30.-W. H. O. Expert Committee on Antibiotics. 2nd report.: Standarization of -
methods for conducting microbic, sensibility test. W. H. O. Technical ---
report series. 1971. 210: 173-182.