



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“PRUEBA CALIFORNIA PARA EL DIAGNOSTICO DE
MASTITIS BOVINA: ESTUDIO RECAPITULATIVO”.**

TESIS PROFESIONAL

**Que para obtener el Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

P r e s e n t a :

Jorge Antonio Arteaga Veloz

Asesor: M. V. Z. Hedberto Ruiz Skewes

MEXICO, D. F.

1983



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.

C O N T E N I D O.

- I. RESUMEN
- II. INTRODUCCION
- III. INDICE
- IV. DISCUSION
- V. CONCLUSIONES
- VI. LITERATURA CONSULTADA

I. RESUMEN

La finalidad del presente trabajo es la de presentar información relacionada con el uso, estandarización y factores que afectan la interpretación de la Prueba California.

En la mastitis aumenta el número de células somáticas en la leche (leucocitos y células epiteliales). En la Prueba California el DNA nuclear reacciona con un surfactante produciéndose una reacción viscosa proporcional al número de células en la leche. La técnica se estandariza diluyendo leches con diferente número de células.

Entre los factores que afectan el grado de reacción de la Prueba California se encuentran: variaciones circadianas, edad y número de lactación de los animales, fase del ordeño, intervalo entre ordeños, influencias ambientales, influencias genéticas y microorganismos causantes de mastitis.

Las variaciones circadianas se deben a cambios cíclicos en la cantidad de leche secretada.

Al aumentar la edad y número de lactación de las vacas, aumenta la reacción de la Prueba California.

La reacción de la Prueba es más alta al principio y al final del ordeño y en menor proporción a la mitad del mismo.

Al aumentar la temperatura ambiental, se incrementa el grado de reacción de la Prueba en los animales, esto posiblemente es debido a un mayor número de infecciones.

Existen genes que influyen a la resistencia a infecciones mamarias.

En cuartos con reacciones T, 1, 2 y 3 se pierden aproximadamente: 1.36, 2.27, 3.63 y 5.44 Kg. de leche al día respectivamente.

Las infecciones por Streptococcus sp. y Staphylococcus sp. producen reacciones altas a la Prueba California.

Las leches con reacciones altas a la Prueba California tienen menor cantidad de grasa, proteínas y lactosa.

En ovinos con infecciones mamarias producidas por Staphylococcus aureus y Streptococcus sp. se encuentran reacciones mayores a 1.

Se ha encontrado una correlación positiva entre el nivel de la actividad de la enzima deshidrogenasa láctica y super oxido desmutasa y el grado de reacción de la Prueba California.

II. INTRODUCCION

La mastitis es la enfermedad más común de la vaca lechera, y la que produce las mayores pérdidas económicas a la industria lechera. En hatos sin programas de control de mastitis, aproximadamente el 50% de las vacas se encuentran afectadas en la mitad del número de cuartos; de estos animales únicamente en el 2% se observan signos clínicos y/o alteraciones en la leche. (2,6,15,36,40).

Las pérdidas económicas debidas a mastitis incluyen: 1) Menor producción láctea, 2) Leche anormal eliminada, 3) Animales desechados prematuramente, 4) Pago de servicios médico veterinarios, 5) Costo de medicamentos utilizados en el tratamiento. (6,15,40,43).

Las infecciones mamarias subclínicas son las que producen mayores pérdidas económicas, ya que por cada cuarto afectado se reduce la producción láctea total en un 12 a 15%. (6,15).

En México se produjeron durante 1981, 3.8×10^9 Kg. de leche. Calculando una pérdida de producción del 12% debida a mastitis, eso significaría 4.5×10^8 Kg. menos del producto. (15).

La leche de cuartos con mastitis contiene más células somáticas, albúmina, globulinas, sodio y enzimas, y una menor cantidad de potasio; que van en relación al grado de mastitis existente. (3,13,40,50).

El número de células somáticas en la leche puede cuantificarse directamente (39), con procedimientos electrónicos (37), determinando el DNA celular colorimétricamente (24), o haciendo reaccionar la leche con detergentes con la formación de un gel. Ej: Prueba California, Whiteside, Brabant. (42).

La Prueba California, es una prueba de campo sencilla, reproducible, barata y la más usada en el mundo para detectar la enfermedad. (25,42). La reacción de la prueba puede estar influenciada por varios factores, entre los cuáles se encuentran: edad y número de lactación de las vacas (42), estado reproductivo (21), fase de lactación (14,33), medio ambiente (54), tensión (51,54), microorganismos causantes de mastitis y otros.

OBJETIVO. El objetivo de este trabajo es el de presentar información relacionada con el origen de la Prueba California, su utilidad, uso, estandarización y factores que afectan la interpretación de la misma.

III. INDICE

1. Desarrollo de la Prueba California
2. Naturaleza de la reacción de la Prueba California
3. Técnica e Interpretación de la Prueba California
4. Usos de la Prueba California
5. Estandarización de la Prueba California
6. Factores que afectan la Interpretación de la Prueba California
 - 6.1. Fisiológicos
 - 6.1.1. Efectos circadianos
 - 6.1.2. Edad y número de lactaciones de los animales
 - 6.1.3. Fase de la lactación
 - 6.1.4. Fracción de leche
 - 6.1.5. Influencias ambientales
 - 6.1.6. Influencias genéticas
 - 6.1.7. Intervalo entre ordeños
 - 6.2. Patológicos
 - 6.2.1. Microorganismos causantes de mastitis
7. Producción láctea
8. Alteraciones en la composición de la leche
9. Prueba California aplicada a leche de otras especies
 - 9.1 Caprinos
 - 9.2. Ovinos
10. Prueba California como guía para la terapia selectiva de vacas secas
11. Actividad enzimática
 - 11.1 Concentración de enzima deshidrogenasa láctica
 - 11.2 Concentración de enzima super oxido dismutasa
12. Comparación de la Prueba California con otras pruebas para detectar - mastitis subclínica.

1. Desarrollo de la Prueba California.

Schalm et al (42), iniciaron en California Estados Unidos de América un programa de detección de mastitis subclínica a gran escala usando la prueba de Whiteside. Que se basa en la reacción del hidróxido de sodio con la leche. Cuando la leche procede de vacas con mastitis, al mezclarse con el hidróxido de sodio se forma una reacción viscosa. En etapas tempranas del programa no siempre se contaba con personas diestras para hacer la lectura de la prueba. Entonces se decidió sacar las muestras en una placa de vidrio. En ésta forma la masa viscosa se perdió. Sin embargo, en el vidrio permanecieron estrias y cordones que se formaron en presencia de grasa y en proporción directa al número de leucocitos. La prueba de Whiteside se realizó posteriormente en el establo, utilizando 10 ml. de leche, que se colocaban en un tubo y se mezclaba con 2 ml. de hidróxido de sodio al 4%. Se agregó colorante de cresol rojo a la solución de hidróxido de sodio para que hubiera un contraste de color (prueba de campo). Para hacer la reacción más rápida se construyó un bloque de 5 x 10 cm. con 4 orificios, con una profundidad que indicara la cantidad de leche en los tubos. Tan rápido como la leche se colocaba en los tubos y se mezclaba con el reactivo se producía una reacción que se podía graduar de 1 a 3. Las reacciones 2 y 3 aparecían inmediatamente y tendían a persistir. Algunas reacciones 1 tendían a desarrollarse lentamente y a desaparecer al continuar la mezcla. Aún cuando la correlación entre la prueba de campo y la prueba de Whiteside fué buena, ésta prueba no fué muy sensible cuando había 1×10^6 células/ml. o menos.

Se conjeturó que al agregar un agente surfactante podría aumentarse la ruptura de células y hacer que la reacción tuviera grumos y estrias más notables. Se utilizó el alquil aril sulfonato y se encontró que este mejoraba la prueba. Una solución de alquil aril sulfonato al 0.5% y de hidróxido de sodio al 1.5% eran más sensibles que la solución de hidróxido de sodio al 4%, para detectar leche con contenido celular anormal; la leche no formaba un gel al estar en contacto prolongado con el reactivo.

Esta combinación fué diseñada fórmula 2. El uso de esta fórmula requería el manejo y limpieza de una considerable cantidad de vidriería. Para evitar esta labor se usaron 4 recipientes de plástico negro, profundos para que pudieran ser lavados rápidamente después de su uso, estos se

colocaron sobre una charola de plástico. En los recipientes se ponían - 2 ml. de los primeros chorros de leche a los cuáles se agragaban 2 ml. de la fórmula 2. La reacción se realizaba mezclando los líquidos con un movimiento circular en un plano horizontal. La reacción de la mezcla era más espesa cuando la leche procedía de vacas con mastitis, el grado era proporcional a la cuenta de células somáticas. Sin embargo, algunos resultados eran significativamente menores que los indicados por la magnitud de la cuenta celular. Estos resultados eran más comunes en los primeros chorros de leche con bajo contenido de grasa (2). Lo que se necesitaba era un reactivo que indicara la presencia de mastitis sin involucrar la grasa en la reacción visible. Se encontró que el alquil aril sulfonato al 3% - reaccionaba con la leche que procedía de vacas con mastitis en una forma que podía ser graduada y relacionada con el número de células somáticas.

La reacción variaba de un gel ligeramente viscoso (traza) que desaparecía con el movimiento, a un gel viscoso que persistía. La solución de alquil aril sulfonato tenía una mayor sensibilidad a un pH de 7 o mayor. - Se agregó un indicador de bromocresol púrpura en concentración de 1:1 - $\times 10^3$. La leche con mastitis usualmente alcalina producía un color púrpura intenso. Este reactivo hizo posible utilizar una charola blanca con 4-compartimientos que producía un buen contraste de color.

2. Naturaleza de la reacción de la Prueba California.

En la mastitis se lesionan los capilares y células epiteliales provocando una reacción inflamatoria, con un incremento de leucocitos en la glándula mamaria y leche (42).

En las investigaciones realizadas a cerca de la naturaleza de la reacción que se lleva a cabo en la Prueba California positiva, se ha llegado a la conclusión de que el principio activo en la leche que procede de vacas con mastitis, es el DNA de los núcleos de la células somáticas. - (5,28,29,35). El surfactante rompe la membrana celular de las células somáticas, liberando el DNA nuclear con el cuál forma un gel cuya viscosidad es proporcional al número de células somáticas presentes en la leche. Esta reacción se ha demostrado porque si se agrega a la mezcla de leche con surfactante la enzima desoxirribonucleasa, la formación del gel característico de la reacción positiva es inhibido.

El hecho de que la enzima desoxirribonucleasa ocasione un bloqueo de la reacción formada en las reacciones débiles de la Prueba California, se atribuye a que la enzima es liberada por las células somáticas rotas y - que normalmente la contienen. La acción de la enzima desoxirribonucleasa es retardada en un medio alcalino, lo cual puede explicar porque la Prueba California es más efectiva en un pH mayor de 7.

En un estudio de 56 muestras de leche las viscosidad de la Prueba - California correlacionó con el contenido de DNA, $R=0.94$. Las células somáticas suspendidas en cloruro de sodio al 0.5% desarrollaron una viscosidad semejante a la mezcla DNA-surfactante y también hubo una correlación con el número de células somáticas en la leche (28).

En otro estudio el caseinato de sodio al 2.5% P/V o las globulinas - alfa agregadas a la leche o a la suspensión celular, no alteraron la viscosidad. Por el contrario la adición de albumina sérica bovina, disminuyó la viscosidad (28,29).

*P/V= Peso/Volumen.

3. Técnica e Interpretación de la Prueba California.

La Prueba California se realiza mezclando aproximadamente 2 ml. de - leche con 2 ml. de surfactante. La proporción de reactivo:leche debe ser al menos 1:1. Muy poco reactivo impide el desarrollo total de las reacciones positivas, mientras que un ligero exceso no altera significativamente los resultados (42).

La leche es colectada de cada cuarto, y se coloca en una charola de plástico que contiene 4 compartimientos, los cuales corresponden a cada - uno de los cuartos de la glándula mamaria. La charola se encuentra en un plano inclinado, esto permite derramar un exceso de leche y dejar aproximadamente 2 ml. de leche en cada compartimiento. El reactivo se agrega apretando una botella de plástico con reactivo, en una cantidad igual al - volumen de leche. La mezcla se hace girar con un movimiento circular de - la charola en posición horizontal; la cúspide de la reacción es obtenida en los primeros 10 segundos y debe leerse en ese momento, ya que las reacciones débiles tienden a desaparecer rápidamente. La reacción se desarrolla casi inmediatamente en aquellas leches con un alto contenido de células somáticas. En el cuadro No. 1 se describe la apariencia visible, símbolo e interpretación de cada una de las reacciones de la Prueba California.

Cuadro No. 1 Grado e Interpretación de la Prueba California.

Símbolo	Significado	Descripción de la reacción visible	Interpretación
-	Negativo	Mezcla completamente líquida.	0-200 000 células por ml. 0-25% PMN*
T	Trazas	Formación de reacción viscosa casi inapreciable que tiende a desaparecer con el movimiento continuo de la paleta.	150 000-500 000 células por ml. 30-40% PMN
1	Débil	La mezcla es viscosa pero no hay la formación de un gel. En algunas leches la reacción es reversible y con un movimiento continuo de la paleta, la reacción puede desaparecer.	400 000-1500 000 células por ml. 40-60% PMN
2	Positivo	La mezcla tiende a formar inmediatamente un gel en el centro del recipiente. Cuando se suspende el movimiento, la mezcla tiende a depositarse en el fondo de la copa.	800 000-5 000 000 células por ml. 60-70% PMN
3	Altamente positiva	Formación de un gel sumamente viscoso en el centro del recipiente. La viscosidad tiende a incrementar con el movimiento de la paleta y a adherirse en el fondo de la copa.	El número de células generalmente pasa de: 5 000 000 por ml. 70-80% PMN
+	Leche alcalina pH 7 o más	Este símbolo debe adicionarse a la Prueba California cuando la reacción es definitivamente alcalina, indicado por un contraste en el color púrpura.	Una reacción alcalina refleja una depresión de la actividad secretora, también puede ocurrir como resultado de inflamación.
y	Leche ácida	En esta reacción el púrpura de bromocresol es amarillo con un pH de 5.2	La leche ácida es rara. Cuando se encuentra indica fermentación de la lactosa.

*PMN: Polimorfonucleares

4. Usos de la Prueba California.

La prueba química basada en la reacción entre células somáticas de la leche y el reactivo de la Prueba California se ha usado para detectar mastitis subclínica en bovinos en programas de detección masiva(16).

Si bien inicialmente la Prueba fue desarrollada para usarse en leches de cuartos individuales, pronto se demostró que se podía utilizar en mezclas de leche de los cuatro cuartos y en leche de tanque (18,19, 27). En estudios realizados por Schalm (42) en California encontró que el 40% de los hatos con Prueba California negativa en el tanque, tenían 17.8% de vacas positivas a mastitis. La incidencia de vacas positivas a mastitis aumentó en proporción directa a los resultados de la Prueba California en el tanque, alcanzando una cúspide de 81.6% de vacas positivas en hatos con una Prueba California 3 en el tanque.

5. Estandarización de la Prueba California.

Al asignar un resultado a la Prueba California, el operador hace una decisión parcialmente subjetiva. Cuando el grado de repetibilidad es alto se adquiere destreza para graduar la reacción. El entrenamiento de personal y la revisión ocasional de la exactitud de graduación del personal se puede hacer con una serie de leches con puntos finales claramente definidos, relacionados con el número de células somáticas por ml.(46).- Para obtener una reacción 3 se requiere una leche con más de 5×10^6 células por ml. y una leche con una cuenta de células somáticas menor a 150×10^3 por ml. dará una reacción negativa. La determinación del contenido celular debe ser exacta, esto se hace usando la técnica microscópica directa de Prescott y Breed (39) o mediante un contador electrónico (37).

6. Factores que afectan la Interpretación de la Prueba California.

6.1. Fisiológicos.

6.1.1. Efectos circadianos.

Se ha observado que existen variaciones considerables en el número de células somáticas en la leche, entre las muestras tomadas en la mañana comparadas con las de la tarde, especialmente cuando el intervalo entre ordeños es irregular.

También se encuentran cambios en muestras colectadas en la mañana y en la tarde en días consecutivos (9,17,44,48,53). La magnitud de los cambios cíclicos varía considerablemente entre las vacas y en menor proporción entre los cuartos (48).

Los cambios circadianos se consideran debidos a variaciones en las presiones cíclicas de los alveólos, las cuales se deben a la cantidad de leche secretada que influencía el pasaje de células a los alveólos (8,44-53).

6.1.2. Edad y número de lactaciones de los animales.

La cuenta de células somáticas aumenta con la edad y número de lactaciones de las vacas; dicho aumento es debido principalmente a un aumento de leucocitos polimorfonucleares (42), producido por un aumento de inflamación subaguda de los conductos, así como a un incremento en la severidad de las lesiones lobulares (41,42).

6.1.3. Fase de la lactación.

Las cuentas de células somáticas son más elevadas durante la primera fase de la lactación, disminuyendo rápidamente y permaneciendo bajas por varias semanas, después de las cuales aumentan nuevamente en forma progresiva hasta el final de la lactación. Esto es semejante en vacas ordeñadas ya sea manual o mecánicamente (14). Esto está en relación al volumen de leche secretada, ya que al disminuir el volumen de leche secretada en la última fase de la lactación, sucede un incremento aparente de las células somáticas, debido a la concentración de células en un menor volumen de leche.

La presencia de un número elevado de células en el calostro es debido a un incremento en el número de leucocitos (linfocitos) y descamación de células epiteliales en un menor volumen de leche (7).

Durante el secado aumentan las células gradualmente, debido al aumento de células epiteliales (32).

6.1.4. Fracción de leche.

La cuenta de células somáticas varía en las diferentes fracciones de leche obtenidas en un sólo ordeño; las diferencias son mayores en leches provenientes de cuartos con mastitis que en leche normal.

Las cuentas celulares en los primeros chorros de leche son menores - que en aquellos obtenidos al final del ordeño; las cuentas celulares de - la porción media del ordeño son todavía más bajas. Debido a que los prime - ros chorros de leche provienen principalmente de la cisterna del pezón y - parcialmente de la cisterna de la glándula mamaria, algunas veces las - cuentas celulares en los primeros chorros de leche pueden ser altas, pero usualmente esto refleja una inflamación del pezón (42).

6.1.5. Influencias ambientales.

En general se ha notado una correlación positiva entre la temperatu - ra ambiental y la cuenta de células somáticas, pero no se ha determinado - si esta tendencia es debida a los efectos fisiológicos de la tensión tér - mica o a una posible infección(22,31,34,51,53).

Durante el estro y estados de tensión las cuentas de células somáti - cas aumentan. Sin embargo, estos incrementos no alteran la interpretación de la Prueba para el diagnóstico de mastitis subclínica(22,34,51,53).

6.1.6. Influencias genéticas.

Young et al (55), encontraron que muchos de los genes que influen - cian la incidencia de mastitis clínica, también influyen las cuentas - leucocitarias. Es probable que la susceptibilidad a la mastitis sea afecta - da por el número de células en la leche.

En un estudio de las reacciones de la Prueba California de 15 965 re - gistros de lactación de vacas Holstein, durante al menos nueve meses de - pruebas de mejoramiento de producción, se estudiaron los efectos de los - progenitores, número de partos, año y mes de nacimiento. Las reacciones - California negativas y trazas se consideraron normales y la 1,2 y 3 eleva - das. La frecuencia de pruebas elevadas aumentó a medida que aumentaba el - número de partos. No se noto tendencia a la elevación con el mes de naci - miento. El efecto de los progenitores sobre la elevación del grado de - reacción fue importante; la heredabilidad de la primera y segunda lacta - ción mensualmente codificada con resultados de la Prueba California de un análisis de medias hermanas maternas dentro del hato, varió de 0.11 0.4- a 0.48 0.18 (1).

En otro estudio los registros de la asociación para mejoramiento de - hatos lecheros de ganado Holstein, de Idaho, Oregon y Washington, fueron-

usados para determinar la heredabilidad y correlaciones entre producción láctea, producción de grasa, porcentaje de grasa y mastitis basándose en el grado de reacción de la Prueba California (20). El resultado promedio para mastitis, así como la frecuencia de pruebas elevadas, aumentó con el número de partos; el análisis de medias hermanas paternas mostró que la heredabilidad de resistencia a infecciones mamarias aumentaba ligeramente con la edad, promediando 0.10 para los primeros registros y 0.11 para los últimos. La producción láctea y de grasa mostraron una pequeña correlación genética de 0.05 y 0.07 con el resultado de la Prueba California. Las correlaciones de Pearson entre los resultados de mastitis de las primeras y últimas lactaciones fue de 0.19 y 0.34. Las correlaciones de Spearman fueron de 0.11 y 0.29.

Estas correlaciones bajas entre los rangos, con diferentes datos corresponde estrechamente con la baja heredabilidad a la resistencia a infecciones mamarias.

6.1.7. Intervalo entre ordeños.

Los intervalos entre ordeños influyen las cuentas de células somáticas en la leche. La comparación de cuentas de células somáticas en los primeros chorros de leche han mostrado cuentas elevadas en leches de vacas con intervalos cortos entre ordeño. Esta variación en el número de células se ha explicado con base al volumen total de leche secretada, encontrándose una mayor dilución de células somáticas durante intervalos de ordeños más prolongados (22).

En un estudio en que se ordeñaron vacas una sola vez al día durante las últimas nueve semanas de 305 días de lactación se encontró una disminución en la producción láctea con relación a las vacas ordeñadas dos veces al día sin cambios significativos en las cuentas celulares (42).

Sin embargo, en otro estudio se encontró que el ordeño una sola vez al día aumentaba el número de células somáticas (30).

6.2. Patológicos.

6.2.1. Microorganismos causantes de mastitis.

Después de que una infección bacteriana se ha establecido en la glándula mamaria, ésta se encuentra suficientemente diseminada en el parénquima glandular para resultar en una buena correlación entre el agente etiológico y la reacción de la Prueba California.

En estudios relacionados con los agentes bacterianos causantes de mastitis se ha encontrado que en el caso de infección por Streptococcus agalactiae el 55.7% de los cuartos tenían Prueba California 2 y 3 (42). En otro estudio este porcentaje alcanzó 87.7%; ésta diferencia posiblemente se debió a que el estudio con más alto porcentaje se realizó con leche residual y el otro con los primeros chorros de leche (45). Pruebas California T, 1 y 2 se observan frecuentemente cuando la glándula mamaria contiene estafilococos coagulasa negativo (42). En ocasiones leches positivas a la Prueba California y negativas a crecimiento bacteriano pueden requerir enriquecimiento de flora por medio de incubación para demostrar la presencia de microorganismos como: Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Aerobacter aerogenes, Corynebacterium pyogenes (42,52).

La presencia de microorganismos no patógenos en la leche frecuentemente se encuentra asociada con reacciones California bajas, especialmente T y 1 (50).

En un estudio en el que se correlacionaron algunos microorganismos patógenos de la ubre y la reacción de la Prueba California aparecen en el cuadro No. 2 (45).

Cuadro No. 2 Correlación entre microorganismos patógenos de la ubre y -
reacción de la Prueba California (45).

Bacterias	No. de muestras	Números y porcentajes de PC*		
		Negativos	Trazas y 1	2 y 3
Sin bacterias	534	266(49.8%)	173(32.3%)	95(17.7%)
<u>Staphylococcus aureus</u>	59	2(3.3%)	13(22%)	44(74.5%)
<u>Streptococcus agalactie</u>	57	3(5.2%)	4(7%)	50(87.7%)
<u>Pseudomona aeruginosa</u>	6	0(0%)	0(0%)	6(100%)
Otras bacterias (Coli- formes y contaminantes)	117	29(24.8%)	38(32.8%)	50(42.7%)

*PC=Prueba California

7. Producción láctea.

Se ha encontrado que la producción láctea en vacas positivas a la Prueba California, disminuyó 6,10,16 y 24.5% para las vacas con reacciones T, 1, 2 y 3 respectivamente. En una vaca que produce normalmente 22.72 Kg. de leche al día al principio de la lactación, las pérdidas en la producción pueden ser de: 1.36, 2.27, 3.63 y 5.44 Kg. de leche al día cuando las reacciones de la Prueba California de la mezcla de los cuartos es T, 1, 2 y 3 respectivamente. Ya que las reacciones California varían día a día (8,44,53), el nivel de producción fluctuará también en la misma forma. La relación de mastitis con la persistencia en producción es difícil de demostrar en los registros de producción láctea mensual. En algunas curvas de regresión de producciones lácteas mensuales de diferentes grupos de reacciones California, se encontró un 10.8% de disminución en la producción de una curva California 3 (60.8%), comparado con una curva negativa (50%) (42,47).

Comparando la producción entre cuartos opuestos se ha encontrado una disminución en la producción de 0.42 (9%), 0.95 (19.5%), 1.72 (31.8%), 2.33 (43.4%) Kg. de leche por cuarto para vacas con reacciones T, 1, 2 y 3 respectivamente (12). En otro estudio (11), se encontró una disminución en la producción láctea mensual de 5.3% por cada unidad de incremento del resultado de la Prueba California.

8. Alteraciones en la composición de la leche.

Las leches con Prueba California positiva, muestran alteraciones en la composición de la leche, con una disminución altamente significativa en la cantidad de sólidos totales, grasa, sólidos no grasos y lactosa (42). En un estudio se observó que en leches con reacciones California 3 las disminuciones promedio fueron de 1.07% de sólidos totales, 0.45% de grasa, 0.57% de sólidos no grasos y 0.77% de lactosa; la disminución de proteínas fue menos significativa (36,42). Los cloruros aumentaron a medida que la reacción California se hizo más severa.

Cuando se observó la disminución en la producción láctea, combinado con la disminución de grasa, se encontró una disminución promedio de 48% de grasa total en cuartos con una Prueba California 3 en comparación a Pruebas negativas (2).

9. Prueba California aplicada a leche de otras especies.

9.1. Caprinos.

Las reacciones de la Prueba California se interpretan en forma semejante a la del bovino. Sin embargo, se han encontrado valores hasta de - 12 000 000 céls/ml. en animales sanos al final de la lactación (42). Por lo que es necesario hacer la Prueba California en ambas glándulas y en aquella que tenga el mayor número de células se considera que tiene mastitis.

9.2. Ovinos.

Las características físicas de la reacción de la Prueba California - en la leche de ovinos es diferente a la reacción obtenida con la leche de bovinos, especialmente en la reacción 1. Ya que la mezcla tiende a ser al tamente floculenta y no tiende a formar un pico central al transcurrir la reacción (56).

Los rangos de número de células son muy amplios, esto posiblemente - es debido a que los investigadores incluyeron núcleos y fragmentos de éstos en sus cuentas celulares. La Prueba de California es útil en esta especie para la detección de mastitis.

Así mismo ellos encontraron que muestras de leche conteniendo Staphylococcus aureus o Streptococcus spp. dan resultados a la Prueba California de 1 o mayores en 88% y 85.6% respectivamente. El 28.7% de las muestras de leche sin crecimiento bacteriano tenían reacciones de California de 1 o mayores (56).

En un estudio en el que se correlacionaron la cuenta de células somáticas con Prueba California de 1508 muestras de borregas aparece en el cuadro No. 3.

Cuadro No. 3 Cuenta de células somáticas correlacionada con Prueba California en 1608 muestras de leche de borregas (56).

PC	Número de muestras	Cuenta de células somáticas/ml.	
		Rango	Media
Negativa	695	0-1 176 000	227 000
Trazas	321	0-3 500 000	628 000
1	198	0- 6 500 000	1 737 000
2	208	200 000- 6 500 000	2 600 000
3	186	360 000- 6 500 000	6 500 000

*PC= Prueba California

10. Prueba California como guía para la terapia selectiva de vacas secas.

Cuando se utiliza la terapia selectiva en vacas secas, es necesario determinar adecuadamente los cuartos afectados con gérmenes patógenos en el momento del secado. Considerando la efectividad de la Prueba California, es posible detectar el 80% de las infecciones con la reacción de la Prueba, con una sola muestra de leche tomada 8 ó 4 semanas antes del secado (38).

En otro estudio se diagnosticó el 90% con resultados obtenidos 8 y 4 semanas antes del secado. Los resultados de la Prueba California se debieron a cuartos infectados por Staphylococcus aureus y Streptococcus spp. - Los cuartos infectados con otros gérmenes patógenos ocasionales dieron reacciones más altas en la Prueba California, 4 semanas antes del secado.

Aproximadamente el 90% de los cuartos no infectados tenían reacciones de California negativas 8 y 4 semanas antes del parto (38).

11. Actividad enzimática.

11.1. Acción de la enzima deshidrogenasa láctica.

La invasión de la glándula mamaria por gérmenes patógenos, altera la permeabilidad capilar y causa destrucción tisular, esto ocasiona una respuesta leucocitaria dependiente de la localización e intensidad de la infección (42,50). Por tanto durante la mastitis aumentan en la leche cantidades variables de material que se origina de la sangre, células secretoras y polimorfonucleares.

Las enzimas provienen de las células epiteliales, sangre y polimorfonucleares. Cuando existe una mastitis, la cantidad de esas enzimas en la leche aumenta (26).

La deshidrogenasa láctica es una enzima que se encuentra en la sangre y que al alterarse la permeabilidad capilar aumenta en la leche. La enzima también se encuentra en las células epiteliales y leucocitos.

Bogin y Ziv (4) encontraron que en la mastitis aguda aumentaron los niveles de la enzima deshidrogenasa láctica en la leche, hasta 18 veces más que en leche de un animal sin mastitis.

Kitchen et al (26), encontraron una correlación $R=0.53$ entre el número de células somáticas y la actividad de la enzima deshidrogenasa láctica.

En otro estudio se encontró una correlación positiva entre el grado de reacción de la Prueba California y la concentración de la enzima deshidrogenasa láctica en la leche (49).

11.2. Concentración de enzima super oxido dismutasa.

Se ha encontrado una correlación positiva entre el grado de reacción de la Prueba California y la concentración de la enzima super oxido dismutasa (23). Este incremento en la concentración de la enzima super oxido dismutasa es debido al incremento en la concentración de células somáticas en la leche que procede de vacas con mastitis, ya que la enzima ha sido mostrado ser un componente intrínseco de estas células (23).

12. Comparación de la Prueba California con otras pruebas para detectar mastitis subclínica.

En un estudio en el que se colectó leche de 100 vacas, 100 búfalas y 40 cabras se utilizó para comparar cuatro pruebas indirectas para detectar mastitis subclínica. Considerando a la cuenta de células somáticas como la prueba estándar para diagnosticar mastitis subclínica; los resultados se compararon con las siguientes pruebas:

- A. Prueba California
- B. Prueba de Whiteside
- C. Prueba de Bromocresol púrpura

Considerando a las cuentas superiores a 500 000 cels./ml. como positivas se encontró un 32%, 28% y 35% de las vacas, búfalas y cabras positivas a mastitis subclínica. La Prueba California dió un 91%, 97.2% y 77.5% de exactitud en el diagnóstico de mastitis subclínica en vacas, búfalas y cabras respectivamente. Con la misma referencia, la Prueba de Whiteside dió 88.2%, 93% y 81.2% de exactitud y la Prueba de Bromocresol púrpura un 78%, 77.5% y 72.5% de exactitud respectivamente.

La Prueba California proporcionó los resultados más confiables, excepto en cabras en donde la Prueba de Whiteside fué más exacta (25).

En otro estudio realizado con 850 leches de cuartos de 200 vacas y 20 búfalas, se encontró que cuando se usaba el examen físico para detectar mastitis, el porcentaje de exactitud era de 69.33%; el porcentaje de

falsos positivos de 7.53% y el porcentaje de falsos negativos de 23.62%.

Utilizando la Prueba de la copa de fondo negro, los resultados obtenidos fueron de: 72.01%, 9.52% y 18.45% respectivamente; con la Prueba de Whiteside de: 81.06%, 12.47% y 6.47%; con la Prueba California: 83.78%, - 14.70% y 1.52% y con la cuenta total de leucocitos estos correspondieron a un 85.19%, 11.76% y 3.05% respectivamente (10).

IV. DISCUSION.

Al revisar la información relacionada sobre la Prueba California se encontró que el número de artículos publicados era reducido ($n=56$). Encontrándose que el número de revistas que pudiera tener información relacionada con el tema era escaso.

La información obtenida a través del servicio de información bibliográfica retrospectiva (CICH) de la Universidad Nacional Autónoma de México, fué mínima, apareciendo en ocasiones artículos que no fué posible localizar en México y traerlos del extranjero hubiera significado un considerable gasto ya que el servicio se cotiza en dólares, que no fue posible hacer debido a las condiciones económicas actuales.

Analizando los resultados se encontró que del total de publicaciones había lo siguiente:

En lo relacionada al desarrollo de la Prueba California 2/56 (3.5%), naturaleza de la reacción 5/56 (8.9%), técnica e interpretación 1/56 (1.7%), usos 5/56 (8.9%), estandarización 3/56 (5.3%), factores que afectan la interpretación: fisiológicos 23/56 (41%), patológicos 4/56 (7.1%), producción láctea 7/56 (12.5%), alteración en la composición de la leche 3/56 (5.3%), Prueba California aplicada a otras especies 2/56 (3.5%), Prueba California como guía para la terapia selectiva de vacas secas 1/56 (1.7%), actividad enzimática 6/56 (10.7%), comparación de la Prueba California con otras pruebas para detectar mastitis subclínica 2/56 (3.5%).

Considerando lo descrito anteriormente se deduce que hacen falta publicaciones nacionales sobre temas relacionados con mastitis y en especial con la Prueba California.

V. CONCLUSIONES.

1. Se encontraron pocas publicaciones relacionadas con la Prueba California, la mayoría de ellas publicadas en el extranjero.
2. Se encontraron en el país escasas revistas relacionadas con investigaciones acerca de la industria lechera.
3. Los estudios relacionados sobre la Prueba California son principalmente relacionados con la correlación entre el grado de reacción y factores que afectan la interpretación de la misma.
4. La Prueba California es una prueba rápida, sencilla, barata, exacta - para detectar mastitis subclínica en el campo.
5. La Prueba California tiene un índice de correlación alta con otras - pruebas como la de Whiteside, Wisconsin, Cuenta electrónica de células para el diagnóstico de mastitis subclínica.
6. La Prueba California puede ser usada para diagnosticar mastitis subclínica en varias especies.
7. El grado de reacción de la Prueba California correlaciona con las pérdidas en producción láctea por vaca y por hato.
8. Se recomienda la Prueba California para detectar mastitis subclínica - en hatos lecheros y evaluar los métodos de control de la enfermedad - usados.

VI. LITERATURA CONSULTADA

1. Alwari, A.A., Pallak, E.J., Leben, R.C.: Genetic analysis of California mastitis test records. *J. Dairy Sci.*, 62,7: 1115-1124 (1979).
2. Ashwort, U.S., Forster, T.L. and Luedecke, L.O.: Relationship between California mastitis test reaction and composition of milk from opposite quarters. *J. Dairy Sci.*, 50: 1078-1082 (1967).
3. Bodoh, G.W., Battista, W.J. and Schultz, L.H.: Variation in Somatic - Cell counts in dairy herd improvement milk samples. *J. Dairy Sci.*, - 59: 1119-1123 (1976).
4. Bogin, E. and Ziv, G.: Enzimes and minerals in normal and mastitic - milk. *Cornell Veterinarian*, 53: 666-676 (1973).
5. Carroll, E.J. and Schalm, O.W.: Effect of deoxyrribonuclease on the - California test for mastitis. *J. Dairy Sci.*, 45: 1094 (1962).
6. Cobo, A.R.E.: Pérdidas económicas causadas por mastitis. Curso de Ac - tualización sobre mastitis bovina. Inst. Nal. Leche. México (1978).
7. Concha, C., Holmberg, O. and Morein, B.: Proportion of B and T limpho - cytes in normal bovine milk. *J. Dairy Res.* 45: 287-290 (1970).
8. Cullen, G.A.: Cells in milk. *Vet. Bull.*, 36: 337 (1966).
9. Cullen, G.A.: Short term variations in the cell count of cows milk. - *Vet. Rec.*, 80: 649 (1967).
10. Chakraborty, A.K., Hazarika, R.N.: Evaluation of indirect test for bo - vine mastitis. *Vet. Col.*, 17 (1977).
11. Daniel, R.C.W., Biggs, D.A. and Barnum, D.A.: The relationship bet - ween California mastitis test scores and monthly milk production and - composition. *Can. Vet. J.*, 7: 99 (1966).
12. Forster, T.L., Ashworth, U.S. and Luedecke, L.O.: Relationship bet - ween California mastitis test reaction and production of milk from - opposite quarters. *J. Dairy Sci.*, 50: 675 (1967).
13. Forster, T.L., Montgomery, M.W. and Montoure, J.E.: Some factors in - fluencing the activity of the A, B and C Estearases of bovine milk. - *J. Dairy Sci.*, 44: 1420 (1961).
14. Frank, N.A. and Pouden, W.O.: Prevalence of bovine mastitis during va - rious stages of lactation. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 138: 184 (1961).
15. Fuente, E.G.: Pérdidas económicas por mastitis en producción lechera. Curso de Actualización sobre mastitis bovina, máquinas de ordeño y ca - lidad de la leche., Memorias, FMVZ UNAM, México (1983).

16. Funk, C.D., Schultz, L.H. and Barr, G.R.: Investigations on possible-use of mastitis-screening tests in dairy herd improvement Association Central Laboratories. *J. Dairy Sci.*, 50: 47 (1967).
17. Gradient, C.M.: Bacterial and cell content of infected udder quarters during the interval between two milkings. *Dairy Science Abs.*, 17: 60- (1955).
18. Gray, D.M. and Schalm, O.W.: Interpretation of the California mastitis test results on milk from individual mammary quarters bucket milk and bulk herd milk. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 136:195 (1960).
19. Gray, D.M. and Schalm, O.W.: The mastitis variable in milk yield as - estimated by the California mastitis test. *Am. J. Vet. Res.*, 23: 195- (1960).
20. Gonyon, D.S., Everson, D.O. and Christian, R.E.: Heritability of mastitis score in Pacific North West dairy herds. *J. Dairy Sci.*, 65,7: - 1269-1276 (1982).
21. Guidry, A.J., Pappe, M.J. and Pearson, R.E.: Effects of estrus and - exogenous estrogen on circulation neutrophils and milk somatic cell - concentration, neutrophil phagocytosis and occurrence of clinical mastitis in cows. *Amer. J. Vet. Res.*, 36: (1975).
22. Herseltine, W.R., Moshire, R.D., Eaton, H.D., Elliott, F.I. and - Beall, G.: Effects of once-daily milking in late lactation. *Storrs. - Ag. Exp. Sta. Bull.*, 304:3 (1953).
23. Hicks, C.L., Muir, W.M.: Effect of mastitis on the concentration of - super oxide dismutase in bovine milk. *J. Dairy Sci.*, 62,suppl. 1: 217 (1979).
24. Hutjens, M.F., Schultz, L.H., Ward, G.E. and Yamdagni, S.: Estimation of somatic cells in milk using membrane filter separation and DNA determination with diphenylamine. *J. Milk Food Technol.*, 33: 227 - (1970).
25. Jaartaneid, F.H.J.: Contribution to diagnostics of mastitis in cattle in connection with the mastitis control. Thesis, Univ. of Utrech, The Netherlands (1961).
26. Kitchen, B.J.: Review of the progress of Dairy Science: Bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostics tests. *J. Dairy Sci.*, 48: 181 (1981).

27. Mc. Kay, K.G.: The California mastitis test (CMT) program. *J. Dairy Sci.*, 43: 896 (1960).
28. Milne, J.R.: Observations on the California mastitis test reaction. - Photomicrographics studies of somatic cells and their reaction with - surface active agents. *New Zealand J. Dairy Sci. and Technology.*, 12, - 1: 48-50 (1977).
29. Milne, J.R.: Observations on the California mastitis test reaction. - The roles of deoxyribonucleic acid (DNA) and milk proteins in the - reaction. *New Zealand J. Dairy Sci. and Technology.*, 12, 1: 44-47 - (1977).
30. Natzke, R.P., Schultz, L.H., Barr, G.R. and Holtmann, W.B.: Variation in mastitis screening tests and composition of udder normal condi - tions and following omission of a milking. *J. Dairy Sci.*, 48: 1295 - (1965).
31. Nelson, F.E., Schuh, J.D. and Stott, G.H.: Influence of season on leu - cocytes in milk. *J. Dairy Sci.*, 50: 978 (1967).
32. Okello-Uma, I.: A study of somatic cell count variation and screening tests reactions in a lactation. *East African Agricultural and Fores - try Journal.*, 43, 2: 138-142 (1977).
33. Paape, M.J. and Tucker, H.A.: Somatic variation in fraction collected milk. *J. Dairy Sci.*, 49: 265-267 (1966).
34. Paape, M.J., Schultze, W.D., Miller, R.H. and Smith, J.W.: Thermal - stress and circulating erythrocytes, leucocytes and milk somatic - cells. *J. Dairy Sci.*, 83: 91 (1973).
35. Paape, M.J., Snyder, W.W. and Hafs, H.D.: Feulgen-DNA in milk as a - measure of udder initiation. *J. Animal Sci.*, 21: 1208 (1962).
36. Philpot, W.N.: Influence of subclinical mastitis on milk production - and milk composition. *J. Dairy Sci.*, 58: 978 (1967).
37. Phipps, L.W. and Newbold, F.S.H.: Determination of leucocyte concen - trations in cows milk with a Coulter Counter. *J. Dairy Res.*, 33: 51 - (1966).
38. Poutrel, B., Rainard, P.: California mastitis test guide of selective dry cow therapy. *J. Dairy Sci.*, 64, 2: 241-248 (1981).
39. Prescott, S.C. and Breed, R.S.: The determination of the number of - body cells in milk by a direct method. *J. Inf. Dis.*, 7: 432 (1910).

40. Ruiz, S.H.: Curso de Actualización sobre mastitis bovina. Memorias, - FMVZ, UNAM. Junio-Julio. México (1982).
41. Van Rensburg, S.W.J.: The secretion of abnormal milk by quarters free form known pathogens. Onderstepoort. J. Vet. Sci., 22: 91 (1947).
42. Schalm, O.W., Carroll, E.J. and Jain, N.C.: Bovine mastitis, Lea & Fe biger. Philadelphia (1971).
43. Schalm, O.W.: Bovine mastitis and program for its control in California. Can. Vet. J., 3: 90 (1962).
44. Schalm, O.W.: Diurnal variation of somatic cells in milk and influence on California mastitis test. Calif. Vet., 21: 26 (1967).
45. Schalm, O.W. and Ziv-Silberman, G.: Some observations on the California mastitis test (CMT) and its application in herds of collective settlements (Kibbutzim) in Israel. Refuah Vet., 24: 47 (1967).
46. Schneider, R. and Jasper, D.E.: Standardization of the California mastitis test. Am. J. Vet. Res., 25: 1635 (1964).
47. Schroeder, R.J., Mc. Intyre, R.W., Delli Quadri, C.A., Voltaw, F.C. - and Smith, F.F.: How a large milk producing country met the mastitis-control challenge. J. Am. Vet. Med. Ass., 153: 1676 (1968).
48. Smith, J.W. and Schultze, W.D.: Variation in cell content of milk - associated with time of sample collection. I. diurnal variation. - J. Dairy Sci., 50: 1083 (1967).
49. Sonnek, R., Sommer, H.: The relationship between cell count and lactic deshydrogenase (LDH) activity in cow milk. Abstracts of Proceedings of the 21st. World Veterinary Congress, Moscow, USSR. Vol. 5 - (1979).
50. Ward, G.E. and Schultz, L.H.: Relationship of somatic cells in quarter milk to type of bacteria and production. J. Dairy Sci., 55: 1428-1431 (1972).
51. Wegner, T.N., Schuh, J.D., Nelson, F.E. and Stott, G.H.: Effect of stress on blood leukocyte and milk somatic cell counts in dairy cattle. J. Dairy Sci., 59: 949-956 (1976).
52. Welsen, D.P., Luedecke, L.O. and Forster, T.L.: Relationship between-California mastitis test reaction and bacteriological analyses of stripping samples. J. Dairy Sci., 51: 679 (1968).
53. White, F. and Rattray, E.A.S.: Diurnal variation cell content of cows milk. J. Comp. Path., 75: 253 (1965).

54. Whittlestone, W.G., Kilgour, R., Langende, H. and Duirs, G.: Behavioral stress and cell count of bovine milk. *J. Milk Food Technol.*, 33: 271 (1970).
55. Young, C.W., Legates, J.E. and Lecce, J.G.: Genetic and phenotypic relationship between clinical mastitis, laboratorie criteria, and udder height. *J. Dairy Sci.*, 43: 54 (1960).
56. Ziv, G., Shacked, A. and Risenberg-Tirer, R.: The effectiveness of the California mastitis test as a measure of somatic cell counts of ewes milk. *Refuah Vet.*, 25: 184 (1968).