

2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**

**EFFECTIVIDAD DE LA COMBINACION GENTAMICINA-
MBGLUMINA DE FLUNIXIN EN EL TRATAMIENTO
DE MASTITIS CLINICAS EN VACAS LECHERAS**

T E S I S

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

**P R E S E N T A
JOSE MIGUEL MORALES RODRIGUEZ**



MEXICO, D. F.

1989

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	2
III. ANTECEDENTES	4
A. La Ganadería Lechera.	4
B. La Mastitis	5
C. Gentamicina.	10
D. Meglumina de Flunixin	14
IV. MATERIAL Y METODOS	18
A. Identificación de casos clínicos de mastitis.	19
B. Examen bacteriológico.	19
C. Tratamientos de los cuartos con mastitis.	22
D. Variables de medición postratamiento.	23
E. Análisis Estadístico.	24
V. RESULTADOS	25
A. Microorganismos Aislados.	25
B. Sensibilidad a los antimicrobianos.	25
C. Respuesta clínica al tratamiento.	28
D. Respuesta Bacteriológica al tratamiento.	30
VI. DISCUSION	33
A. Microorganismos aislados.	33
B. Sensibilidad a los antimicrobianos.	36
C. Respuesta clínica al tratamiento.	37
D. Respuesta bacteriológica al tratamiento	40
VII. LITERATURA CITADA	41

INDICE DE CUADROS

1. Criterio de clasificación de la severidad de la mastitis	19
2. Frecuencias de microorganismos aislados	25
3. Respuesta Clínica al tratamiento	28
4. Eliminación bacteriana después del tratamiento	31

INDICE DE FIGURAS

1. Diagrama de flujo para la Identificación bacteriana	21
2. Sensibilidad a los antimicrobianos en ambos grupos	26
3. Porcentaje de vacas que mostraron mejoría en cada uno de los grupos	29

I. RESUMEN

MORALES RODRIGUEZ, JOSE MIGUEL. Efectividad de la combinación Gentamicina-Megiumina de Flunixin en el tratamiento de mastitis clínicas en vacas lecheras. (bajo la dirección de Marcelo Pérez Domínguez, Ricardo Navarro Fierro, Martín Cruz Alamilla y Teodomiro Romero Andrade).

Con el objeto de evaluar la eficacia de la combinación del antibiótico Gentamicina (G) y el antiinflamatorio Meglumina de Flunixin (MF), en un brote de mastitis con alta resistencia a los antimicrobianos se aplicó una dosis de 100 mg de G y 25mg de MF en un volumen de 10 ml para infusión intramamaria. Se analizaron 64 cuartos mamarios clínicamente enfermos, divididos en dos grupos, uno testigo de 31 cuartos tratados con 200 mg de G cada 12 h por tres días, y el experimental, de 33 cuartos tratados cada 24 h con la combinación en estudio por tres días. Los microorganismos más frecuentemente aislados fueron Streptococcus spp. y Corynebacterium bovis, (17.3% en ambos casos), Staphylococcus aureus, (11.5%). La combinación Sulfametoxazol-Trimetoprim (87%) y la Gentamicina (74%) mostraron la mayor sensibilidad, y la Cloxacilina la menor (13.04%). En cuanto a la respuesta clínica, con un 95% de confianza el tratamiento evaluado al quinto día postratamiento resulta efectivo en el 73-87%. Se eliminaron totalmente las infecciones mixtas, las levaduras, las bacterias coliformes y los Streptococcus spp. Se eliminó el 33% de los Staphylococcus aureus y el 75% de los Staphylococcus epidermidis. Los Corynebacterium bovis aumentaron en 89% la frecuencia de aislamiento. Puede concluirse que considerando las condiciones presentes, resulta promisorio el uso de la combinación de Gentamicina con Meglumina de Flunixin en el Tratamiento de la mastitis clínica.

II. INTRODUCCION

La ganadería lechera en México es una actividad económicamente importante como fuente de trabajo y proveedora de alimento de alta calidad. Los problemas a los que se enfrenta son numerosos y variados; uno de los más importantes, por afectar directamente la producción láctea, es la mastitis, considerada la enfermedad más costosa en los bovinos lecheros (55). Los factores involucrados en la presentación de mastitis son múltiples, por lo que su etiología y patogénesis son complejas (18).

Las pérdidas que ocasiona la mastitis son cuantiosas por lo que su control debe formar parte de los programas de salud de los hatos lecheros (5, 6). Aunado a esto, el tratamiento oportuno de los casos clínicos es de suma importancia; mientras más tiempo permanezca enferma la vaca, la pérdida en la producción será mayor y la oportunidad para su completa recuperación irá disminuyendo. Por lo tanto, el tratamiento debe ser adecuado, rápido y eficaz (5, 6, 11).

A este respecto, la investigación experimental sobre nuevos productos representa un apoyo fundamental a la ganadería, al ampliar las opciones para el tratamiento y control de la mastitis. Combinar antibióticos y antiinflamatorios puede significar una estrategia muy útil en el control y terapéutica de la mastitis. El presente estudio forma parte de la investigación sobre la combinación del antibiótico Gentamicina y el antiinflamatorio Meglumina de Flunixin.

El preparado para infusión intramamaria se desarrolla como una formulación teóricamente muy eficaz en el tratamiento de la mastitis clínica, por lo que podría esperarse que al tratar cuartos mamarios clínicamente enfermos, la combinación sea efectiva para eliminar la infección y los signos de la enfermedad.

Así pues, el objetivo de este trabajo es evaluar la efectividad de la combinación Gentamicina-Meglumina de Flunixin en el tratamiento de casos clínicos de mastitis.

III. ANTECEDENTES

A. La Ganadería Lechera.

La producción de leche en México ocupa un renglón importante en la economía nacional (44). Su importancia es evidente en cuanto a la producción de alimento de alta calidad.

Además es una importante fuente de trabajo. En efecto, la ganadería lechera es una actividad capaz de generar un gran número de empleos, es considerada la actividad agropecuaria que más requiere de mano de obra (44); este aspecto es de gran utilidad desde el punto de vista social, particularmente en las zonas rurales (31), en las que la falta de empleo obliga a muchos trabajadores a abandonar esas áreas en busca de satisfactores.

El número de personas que obtienen un beneficio de la industria lechera, en forma directa o indirecta, es muy grande. Esto se explica al pensar en todo el mecanismo de producción, en los diferentes procesos de industrialización, en los numerosos productos lácteos que se elaboran y finalmente en la comercialización.

Por otra parte, la calidad nutricional de la leche, hace innegable la riqueza de este alimento. Su porción energética de alta digestibilidad, el aporte de calcio, la cantidad de vitaminas, la proteína, considerada la de mayor valor biológico y el balance en que proporciona los nutrientes más importantes, lo hacen un alimento ideal y barato (12,31,44)

Con base en todo lo anterior se demuestra la importancia de la ganadería lechera, industria que enfrenta múltiples problemas, como son los de tipo económico y claro está, los inherentes a las explotaciones animales.

B. La Mastitis

El presente trabajo se enfoca en uno de los problemas más significativos de la ganadería lechera: la mastitis.

De la forma más sencilla, su definición es inflamación de la glándula mamaria, sea cual sea la causa. Está caracterizada por alteraciones físicas, químicas, y casi siempre bacteriológicas en la leche, y por modificaciones patológicas del tejido glandular (6,35)

El proceso inflamatorio es una respuesta de un tejido o de un órgano, en este caso la glándula mamaria, a una lesión determinada, con el fin de neutralizar o destruir al agente que está provocando la lesión, y de preparar al órgano para que vuelva a su función normal (35). La inflamación de la glándula mamaria puede ser causada por factores físicos, químicos, o infecciosos (4). Estos últimos son los más importantes en el ganado lechero, dado que casi siempre están implicados en los procesos de mastitis. De hecho, aunque la causa inicial sea otra cualquiera, generalmente los problemas espiezan cuando toman parte microorganismos.

Dadas sus características, lo más apropiado resulta considerar a la mastitis como un complejo en el que interactúan tres factores principales: los microorganismos, (agentes causales), la vaca (hospedador), y el medio ambiente que influencia tanto a los microorganismos como al hospedador.

Una gran variedad de microorganismos pueden causar mastitis, incluyendo levaduras, micoplasmas, bacterias, e incluso ocasionalmente algas y virus (6,35,41,56).

También la vaca toma un papel activo en el desarrollo de la enfermedad, algunos animales son más susceptibles que otros a contraer mastitis. La susceptibilidad varía con la edad e incluso con la etapa de lactación, lo mismo que la capacidad para responder o resistir a la infección ya establecida. (35).

El medio ambiente que rodea a la vaca puede protegerla o realmente predisponerla, influye en el número y tipo de microorganismo al que está expuesta, además de afectar su capacidad de respuesta. (35).

La glándula mamaria está sometida a una intensa actividad en la producción de leche por lo que se hace susceptible a padecer frecuentemente mastitis (8,48). A esto se debe que la enfermedad se encuentre ampliamente difundida en los hatos lecheros (40). En nuestro país se estima que la presencia de mastitis causa una pérdida de aproximadamente el 25% de la producción (17).

Aunque generalmente subestimada, la mastitis puede considerarse la enfermedad más costosa del ganado lechero (35,55).

Los costos que ocasiona esta enfermedad son altos y las pérdidas se atribuyen principalmente al gasto en tratamientos de los casos clínicos, al desecho de la leche contaminada, a la eliminación prematura de animales y a la obvia disminución en la producción de los animales afectados (4,35,46).

Podemos mencionar que a nivel de individuo la mastitis clínica produce las mayores pérdidas, aunque sabemos que la mastitis subclínica afecta más significativamente la producción global del hato (11,30,41,43,45,48,49,50).

Si bien resulta imposible eliminar totalmente la enfermedad, lo que se persigue es mantenerla en niveles económicamente aceptables; de ahí que su control deba formar parte de los programas de salud de los hatos lecheros(5,26). Siendo una enfermedad compleja, combatirla se hace también complicado.

Los programas de control pretenden reducir el nivel de infección, es decir, limitar la frecuencia de mastitis a un nivel aceptable desde el punto de vista económico. Comprenden diversas medidas de detección y diagnóstico, medidas higiénicas, de mantenimiento del equipo de ordeño, de manejo del hato y de tratamiento (5,6,,24,25,26,36).

Como ya se mencionó, el tratamiento oportuno de los casos clínicos es importante, su utilidad estriba en reducir la severidad del brote, limitar el daño al tejido glandular de animales afectados y, en algunas casos, en la eliminación de la infección (5,6,11,35).

Dado que cuando aparece mastitis en un hato, los signos varían de manifestaciones locales imperceptibles o muy leves, a reacciones sistémicas que ponen en peligro la vida del animal, recurrir al tratamiento se hace necesario(57).

Resulta obvio que con el tratamiento por sí solo no se puede esperar que se resuelva un problema de mastitis; sin embargo, si resulta una parte importante de la solución (57).

En términos generales el tratamiento de la mastitis está indicado en la vaca como individuo en casos clínicos agudos; en grupos de vacas, cuando hay casos recurrentes o subagudos que no ceden; y en todo el hato, cuando la producción se ve afectada. Finalmente, el tratamiento se indica como parte integral de un programa de control de mastitis(57).

El tratamiento más comúnmente utilizado en la terapéutica de la mastitis es el intramamario. Numerosos estudios se han realizado para evaluar la efectividad del tratamiento de mastitis clínicas y subclínicas con antibióticos por infusión en la glándula mamaria (9,53,54); Sin embargo, debemos reconocer que el tratamiento intramamario tiene limitaciones que se deben considerar, algunas veces no tiene éxito debido a una

distribución irregular o pobre del antibiótico en el tejido inflamado o bien por el simple bloqueo de conductos debido al volúmen aumentado (57).

Usar las vías intramamaria y parenteral simultáneamente, puede mejorar la respuesta ante un problema determinado.

Por otra parte, el tratamiento intramamario es el más indicado para tratar casos subclínicos. Lo mismo ocurre al tratar casos clínicos leves o subagudos. En éstos, el animal muestra cambios en la leche y puede tener una ligera inflamación en la ubre, pero no está afectado en forma sistémica (35). Podemos decir, generalizando, que el tratamiento intramamario es un buen instrumento en la terapéutica y el control de la mastitis.

Además de la antibioterapia, el tratamiento de apoyo tiene un efecto importante en la recuperación del animal afectado. Este, entre otras cosas incluye el ordeño frecuente para eliminar productos tóxicos de la infección, oxitócicos para promover una remoción de leche más efectiva, algunas veces terapia de fluidos, el uso de analgésicos y de antiinflamatorios (6,35,42,57).

Los efectos benéficos de los antibióticos y antiinflamatorios en infusión mamaria, son importantes al eliminar tanto infecciones subclínicas como clínicas en vacas lactantes. Igualmente pueden ser efectivos en prevenir nuevas infecciones en el período de lactación.

C. Gentamicina.

La Gentamicina es un antibiótico del grupo de los aminoglucósidos, derivado del actinomiceto Micromonospora purpurea. Comercialmente es una mezcla de 3 aminoglucósidos, las gentamicinas C1, C2, y C3a, derivados del mencionado actinomiceto. Cada uno similar tiene actividad biológica y toxicidad.

Es de amplio espectro y tiene una rápida acción bactericida actuando directamente sobre el ribosoma bacteriano en la fracción 30-S, sitio en el que inhibe la síntesis de proteínas. Interfiere específicamente en la traducción del código genético provocando lecturas erróneas del codón de RNAm. Probablemente causa también efectos secundarios en la envoltura celular (19,29). Es un antibiótico muy estable, activo a varios niveles de pH, hidrosoluble y termoestable y no requiere mantenerse en refrigeración (18).

La Gentamicina es activa contra gran número de bacterias gram positivas y negativas, incluyendo prácticamente todas las bacterias entéricas. E. coli, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Proteus sp son susceptibles a 5 mcg por ml. El Staphylococcus aureus resistente a penicilina es casi uniformemente sensible a menos de 2 mcg por ml. (9,21). Cepas de Pseudomonas aeruginosa, Shigella, Salmonella, Citrobacter, Treponema hyodisenteriae demostraron ser sensibles a gentamicina así como estreptococos, Pasteurella multocida, Haemophilus influenzae, Mycobacterium tuberculosis y Mycoplasma pneumoniae. Tiene poca actividad contra

microorganismos anaerobios y facultativos en condiciones anaeróbicas (21). Es un antibiótico muy activo, y su concentración bactericida, tan sólo dos a tres veces la concentración mínima inhibitoria (MIC) (52).

El antibiótico se absorbe rápidamente de los sitios de inyección intramuscular y subcutánea alcanzando niveles máximos de 30 a 60 minutos, manteniendo la dosis terapéutica por varias horas (8). Al aumentar la dosis se logran niveles sanguíneos más altos y más prolongados, que generalmente son más efectivos. Sin embargo, al duplicar la dosis se incrementa la duración efectiva tan sólo de un 10 a un 20% (9,21).

Es casi nula la absorción luego de la administración oral o rectal (menos del 1%), aunque no se inactiva en el intestino. Es insignificante su unión con la albúmina del plasma. Las concentraciones en los tejidos y secreciones son bajas; sólo en la corteza renal se alcanzan concentraciones altas, lo cual puede ser un factor importante en cuanto a la nefrotoxicidad de la droga.

Al igual que los demás aminoglucósidos, se elimina por filtración glomerular. Cierta cantidad es continuamente eliminada por unidad de tiempo y ésta aumenta proporcionalmente con los niveles del antibiótico en sangre (9).

La droga es segura y tiene una baja toxicidad en animales: la dosis letal 50% (DL50) para ratones es de 485 mg/Kg por vía subcutánea, y 75 mg/Kg por vía endovenosa. A este respecto podemos mencionar que la dosis recomendada para becerras es de 3 a 4 mg/Kg. En gatos se han detectado disturbios del aparato vestibular luego de 42 días de tratamiento con 25 mg/Kg/día (27).

Entre los efectos secundarios se mencionan náuseas, vómitos, erupciones cutáneas (47). Los efectos más importantes son ototoxicidad y nefrotoxicidad, aunque éstas se presentan en casos de tratamiento por períodos prolongados, con dosis más elevadas que las generalmente recomendadas (27), particularmente en pacientes con insuficiencia renal y sobre todo en humanos. De cualquier forma esta es una posibilidad que se debe tener en cuenta en medicina veterinaria (52).

Desde su descubrimiento en 1963, la Gentamicina ha sido ampliamente usada en medicina humana. En los animales domésticos se ha utilizado con buenos resultados en diferentes afecciones. Se ha recomendado ampliamente en cerdos en el tratamiento y prevención de colibacilosis, disenteria y enteritis porcinas. Numerosos trabajos prueban su efectividad en estos casos y la describen como un tratamiento eficaz y de amplio margen de seguridad (15).

Hennessey probó en 1971 la actividad in vitro de la Gentamicina a una concentración de 10 mcg, sobre microorganismos aislados de problemas clínicos en varias especies: perros (oidos, ojos, piel, tracto urinario), gatos (especímenes del tracto urinario, y de lesiones en piel), equinos (únicamente casos clínicos de metritis) y bovinos (únicamente casos clínicos de mastitis). 98% de los estafilococos aislados fueron susceptibles, 95% de los estreptococos, 99% de las E. coli, Pseudomonas y Proteus sp. (21). Lecoanet reporta una curación del 71.4 % de casos de infecciones septicémicas en terneros, con tratamientos a base de Gentamicina. En este estudio todos los aislamientos patógenos fueron sensibles a Gentamicina, a excepción de una cepa de E. coli y un estreptococo hemolítico (27). Dada su efectividad se indica en múltiples casos en diferentes especies animales.

En el caso particular de la mastitis bovina, Hennessey reporta en 1971 una sensibilidad al medicamento del 95% de 622 aislamientos cultivados a partir de cuartos mamarios con signos de mastitis clínica. Del mismo número sólo el 51% fue sensible a Penicilina y el 37% a Dihidroestreptomina (21).

En nuestro país, Rojano encontró en 1988, en un estudio de un año de casos de mastitis en diferentes establos del Valle de México, una resistencia a Gentamicina de 2.53% para Staphylococcus aureus, 0.59% para S. epidermidis y 2.94% para

Streptococcus spp.. En el caso de Escherichia coli de 1.12% . En este trabajo la resistencia a Ampicilina fue de 36.82% para Staphylococcus aureus, de 29.59% para S. epidermidis, y de 53.42% para Streptococcus spp. Para Escherichia coli. fue de 65.17% (47).

La resistencia al medicamento está determinada principalmente por la inactivación enzimática por procesos de adenilación, acetilación o fosforilación en diferentes sitios de la droga. Aunque con menor importancia, también puede haber poca penetración del antibiótico o baja afinidad por el ribosoma bacteriano, debido a proteínas ribosomales alteradas (19,32).

Estos resultados hacen pensar en la Gentamicina como una buena posibilidad en la antibioterapia de la mastitis. Su uso desde luego debe ser racional para evitar problemas posteriores de resistencia o incluso de contaminación en productos de consumo humano.

D. Meglumina de Flunixin

La Meglumina de Flunixin (MF) o 2(2 metil-3-triflorometilamiliina) del ácido nicotínico, es un agente antiinflamatorio no esterooidal. Tiene un potente efecto analgésico y no es narcótico. Fuentes menciona que en animales es más analgésico que la Pentazocina, la Meperidina y la Codeína, aunque menciona un efecto antiinflamatorio menor que el de la Indometacina (18).

El uso de agentes esteroidales se apoya en sus propiedades antiinflamatorias y la potencial mejoría en los signos de la enfermedad. En el caso de los antiinflamatorios no esteroidales, su uso se fundamenta en sus propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias (1).

Entre los numerosos compuestos biológicos que intervienen en la mediación de la inflamación resaltan los metabolitos del ácido araquidónico. De estos compuestos podemos mencionar a las prostaglandinas (Pg), los tromboxanos (Tx) y prostaciclina, los cuales se producen a partir del ácido araquidónico liberado por la membrana celular en el proceso de la inflamación, por la acción del complejo multienzimático de la ciclooxigenasa (3). Es sabido que dichos metabolitos juegan un papel importante en la mediación del shock endotóxico en varias especies de mamíferos (1).

La MF actúa como antiprostaglandínico al afectar el metabolismo del ácido araquidónico, inhibiendo al complejo multienzimático de la ciclooxigenasa (1,28). Esto explica sus propiedades (analgésicas, antipiréticas, antiinflamatorias) en la terapéutica.

En medicina veterinaria se han utilizado ampliamente los agentes antiinflamatorios ya sea esteroidales o no esteroidales.

En perros y caballos en estados de shock endotóxico inducido experimentalmente, Fessler, Bottoms y colaboradores probaron la influencia de la MF en el metabolismo del ácido araquidónico logrando un mejoramiento clínico (1).

Al evaluar el efecto de la MF en vacas con mastitis endotóxica inducida por la administración experimental de toxinas de E. coli, Anderson y colaboradores (1), observaron un mejoramiento significativo en algunos de los signos clínicos de la mastitis aguda, principalmente en cuanto a la piroxia y la depresión física del animal, así como en los signos particulares del cuarto mamario: edema, temperatura, volumen y dolor. Otros signos generales como las frecuencias cardíaca y respiratoria y actividad ruminal no fueron afectados en forma notable. Tampoco se encuentran diferencias significativas en los indicadores de laboratorio, en los que se incluyen valores de Albúmina sérica, conductividad eléctrica, prueba de California y conteo celular somático.

En cuanto a la falta de variación en el conteo celular somático en vacas tratadas se puede pensar que es favorable, debido a la función de los neutrófilos en un caso de infección natural. Por otra parte, no se reportan efectos adversos al tratamiento (1).

Se menciona que la MF es capaz de reducir significativamente las concentraciones de Tromboxano B₂ en leche de vacas con mastitis endotóxica, así como las concentraciones plasmáticas de Prostaglandina F_{2α}, lo cual concuerda con la capacidad del

medicamento para inhibir a la ciclooxigenasa y mejorar así el estado clínico del animal (3).

Aparentemente la administración de MF no afecta la capacidad fagocitaria de los polimorfonucleares (2,51), aunque sí afecta la concentración de inmunoglobulinas plasmáticas en leche. Esto puede deberse a la modulación del proceso inflamatorio y a la disminución en la permeabilidad vascular a dichas inmunoglobulinas (2).

IV. MATERIAL Y METODOS

El experimento se realizó en el Rancho Camucuat, situado en Camucuat, Municipio de Ixtlán de los Hervores, en el estado de Michoacán. Localizado a los 20°10' de latitud norte y los 102°19' de longitud oeste, cerca del límite estatal con Jalisco en una zona de clima cálido con temperatura media anual de 20.4°C. Se encuentra a una altitud de unos 1550 msnm y tiene una precipitación pluvial de 720.9 mm anuales. En cuanto a ganadería las especies más explotadas son cerdos, bovinos y aves. La de mayor importancia por su crecimiento ha sido la porcícola, aunque la ganadería lechera registró un crecimiento de los años 60 a 80 (23).

El rancho tiene un hato lechero de ganado Holstein Friesian bajo adecuadas condiciones de manejo en términos generales. En el momento del experimento se estaban ordeñando 230 vacas en una sala tipo espina de pescado.

El problema de mastitis se había iniciado algunos meses antes por motivo del inadecuado mantenimiento del equipo de ordeña, que se conjuntó con algunas fallas en la rutina del ordeño. Cuando se inició el experimento 77 vacas, 33.5% del hato, mostraban diferentes grados de mastitis clínica, que iban desde cambios físicos en la leche hasta inflamaciones graves de la glándula mamaria. El análisis de células somáticas indicaba que el 44% de las vacas tenía más de un millón de células por mililitro (cel.som/ml). El 20% tenía de 500 000 a 1 000 000 de cel.som/ml y solo el 36% tenía menos de 500 000 cel.som/ml.

A. Identificación de casos clínicos de mastitis.

Se realizó el examen clínico de la ubre de todos los animales con el propósito de identificar las vacas con mastitis. Para el estudio se seleccionaron vacas que tuvieran mastitis en un solo cuarto mamario, clasificando la severidad de la mastitis de acuerdo al cuadro 1.

Cuadro 1. Criterio de clasificación de la severidad de la mastitis.*

GRADO	CARACTERISTICAS
0	Sana.
1	Tolondrón ligero.
2	Tolondrón evidente.
3	Inflamación ligera.
4	Inflamación grave.
5	Inflamación con otros signos somáticos.

B. Examen bacteriológico.

Se tomaron muestras de leche en forma estéril de los cuartos mamaros seleccionados para el estudio, con el procedimiento siguiente:

- 1.- Se eliminaron los primeros chorros de leche.

*Pérez, D.M. y Cruz, A.M.: Comunicación personal, 1988.

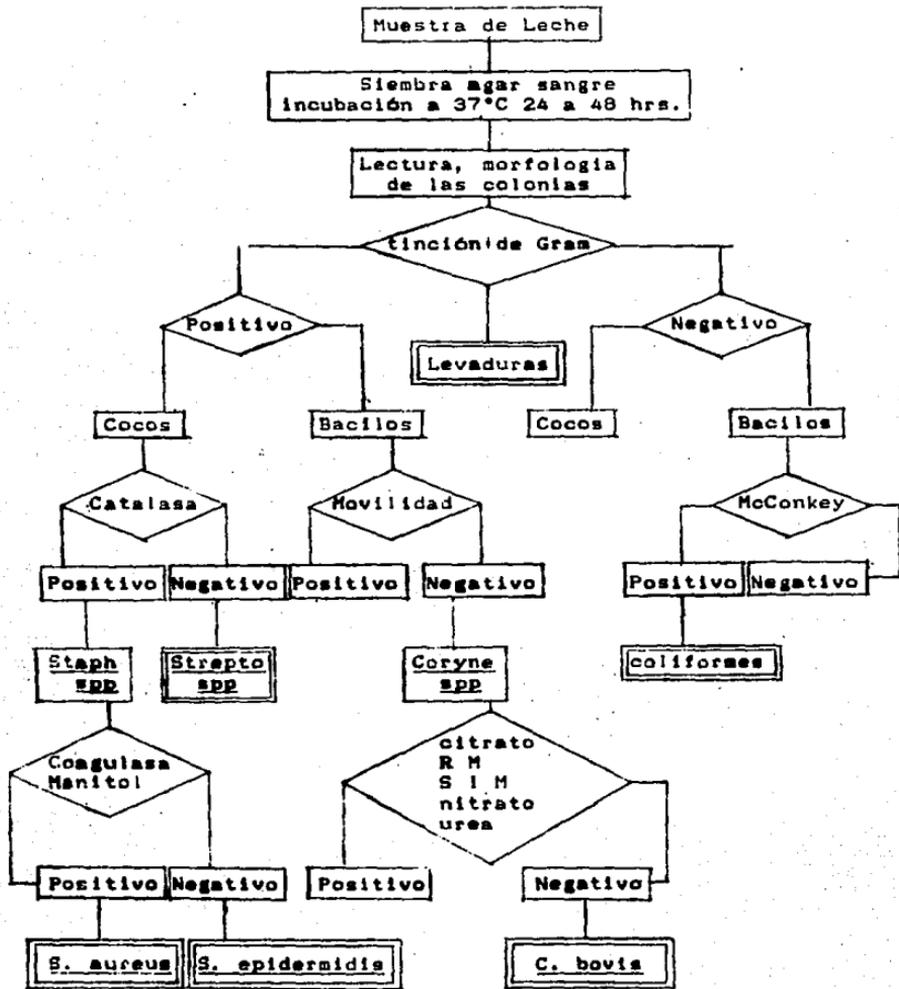
- 2.- El meato del pezón (ahora llamado ducto de la papila) se desinfectó con una torunda de algodón empapada en alcohol al 70%.
- 3.- Se tomaron de 10 a 12 ml de leche, recibiéndolos en un tubo estéril de vidrio con tapón de rosca.
- 4.- Las muestras fueron mantenidas en hielo para su transporte al laboratorio.
- 5.- Dentro de las primeras 24 horas se efectuó el análisis de cada muestra para la identificación bacteriana siguiendo los procedimientos descritos por Murillo et al. (34), de acuerdo al diagrama de flujo que aparece en la Figura 1.

A las bacterias aisladas se les sometió a una prueba de antibiograma por el método de difusión en disco de Kirby-Bauer (6). En la prueba se incluyeron 12 antimicrobianos. Para hacer más clara su visualización en los resultados, los antibióticos se agruparon con base en su estructura química y el mecanismo de acción de cada uno. (19,32).

En el grupo 1 se incluyeron: Penicilina, Cefalotina, Cefotaxima, Ampicilina y Cloxacilina, como medicamentos que causan una inhibición de la síntesis de pared celular.

En el grupo 2 se incluyen los agentes bacteriostáticos que afectan al ribosoma causando inhibición reversible de la síntesis de proteínas. Estos son la Tetraciclina y los macrólidos Eritromicina y Lincomicina.

Figura 1. Diagrama de flujo para la identificación bacteriana. (10,34).



El grupo 3 se formó con los aminoglucósidos que son agentes bactericidas con efecto sobre la unidad ribosomal 30-S que causan acumulación de complejos iniciales de la síntesis de proteínas, lectura errónea del código RNAm y producción de polipéptidos anormales: En este grupo se incluyeron Estreptomicina, Kanamicina y Gentamicina.

El Sulfametoxazol-Trimetoprim permaneció solo en el grupo 4, como antimetabolito, substancia que bloquea pasos metabólicos específicos esenciales.

Para la interpretación de las pruebas sólo se consideraron dos opciones: Sensible o Resistente, incluyendo como resistentes los resultados intermedios.

C. Tratamientos de los cuartos con mastitis.

Se usaron para el experimento 64 cuartos mamarios pertenecientes a 64 distintas vacas, un cuarto por vaca. Los cuartos fueron divididos al azar en dos grupos: 33 en el tratado y 31 en el testigo. Los tratamientos fueron:

- 1.- Grupo Testigo, fué sometido al tratamiento usado en el rancho en ese momento. Consistente en 200 mg de Gentamicina cada 12 horas.
- 2.- Grupo Experimental, tratados con tres tubos de 100 mg de Gentamicina y 25 mg. de Meglumina de Flunixin en un volumen de 10 c.c., se aplicó uno cada 24 horas.

D. Variables de medición postratamiento.

- 1.- A las 24 horas de la aplicación del tercer tubo, se realizó la observación clínica de los animales en ambos grupos. El grado de inflamación de los cuartos mamarios fue clasificado de acuerdo al criterio antes mencionado (Ver Cuadro 1).
- 2.- Cinco días después de la aplicación del tercer tubo, se realizó otro examen clínico a ambos grupos y se tomó una nueva muestra estéril de leche para realizar cultivo e identificación bacteriana.

El grado de curación de la mastitis debido al tratamiento se clasificó de la siguiente manera:

Sano: Cuando desapareció la inflamación completamente.

Mejor: Si el grado de mastitis cambió a menos grave.

Igual: Cuando apareció el mismo grado de mastitis que en el examen previo al tratamiento.

Peor: Si el grado de mastitis aumentó en relación a la observación inicial.

Los casos que sanaron y aquellos que mejoraron su estado de mastitis se agruparon como respuesta positiva al tratamiento, los que permanecieron sin cambio o empeoraron se agruparon como respuesta negativa.

El cambio en el estado clínico se observó al aplicar cada uno de los tratamientos, esto es, cada 24 horas, comparándolo con el estado inicial.

E. Análisis Estadístico.

- 1.- Se calcularon las frecuencias de los microorganismos aislados al iniciar el experimento.
- 2.- Se estimaron las frecuencias de sensibilidad por antibiótico.
- 3.- Se comparó la Gentamicina contra todos los demás antibióticos incluidos en el antibiograma por medio de la prueba de McNemar (37).
- 4.- Con respecto a la respuesta clínica al tratamiento se utilizó la prueba Exacta de Fisher para comparar los grupos testigo y experimental, en cada tiempo considerado (37); así mismo se realizó una estimación por intervalo para la respuesta clínica en cada grupo, con un nivel de confianza de 95% (37).
- 5.- En cuanto al aislamiento bacteriano, se estudiaron y compararon los cultivos antes y después del tratamiento, cuyo resultado se expresa como ausencia o presencia de cada bacteria. Se usó en esta comparación la prueba Exacta de Fisher (37).

V. RESULTADOS

A. Microorganismos Aislados.

En el monitoreo inicial de las bacterias del hato los microorganismos más frecuentemente aislados fueron Streptococcus spp. y Corynebacterium bovis, seguidos por Staphylococcus aureus (Ver Cuadro 2).

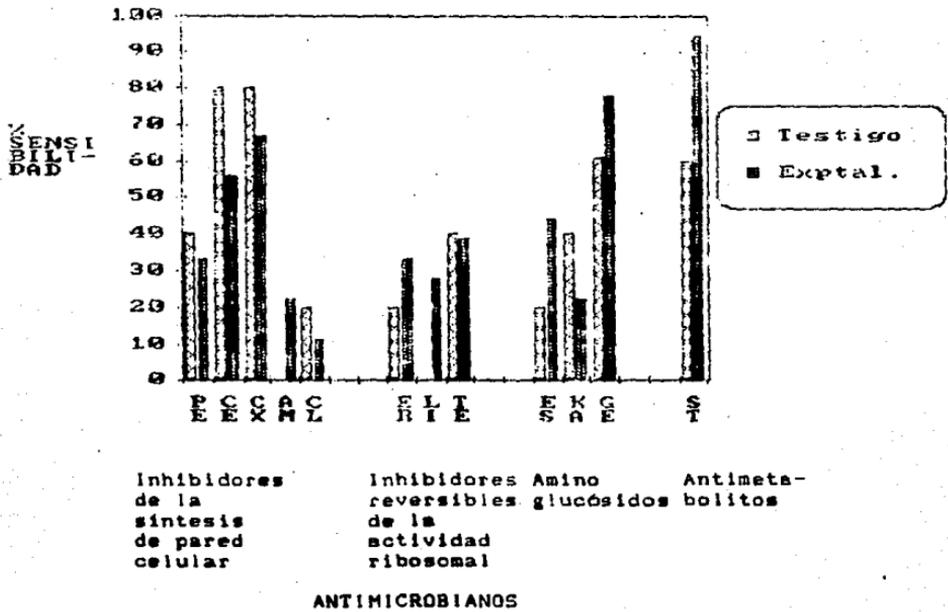
Cuadro 2. Frecuencias de microorganismos aislados.

Microorganismo	Número	Porcentaje
<u>Staphylococcus aureus</u>	6	11.5
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	4	7.7
<u>Streptococcus spp</u>	9	17.3
Coliformes	1	1.9
Levaduras	5	9.6
<u>Corynebacterium bovis</u>	9	17.3
Negativas	13	25.0
Infecciones Mixtas		
<u>Staphylococcus e.</u> -Levaduras	1	1.9
<u>Corynebacterium bovis</u> -Levaduras	2	3.8
<u>Streptococcus spp.</u> - <u>Corynebacterium bovis</u>	1	1.9
<u>Staphylococcus a.</u> - <u>Streptococcus spp</u>	1	1.9

B. Sensibilidad a los antimicrobianos.

Se recalca que para la sensibilidad solamente se consideraron las opciones Sensible y Resistente. Los resultados de sensibilidad moderada se incluyeron como resistentes por lo que el criterio usado es un tanto estricto. En la figura 2 se presentan los porcentajes de sensibilidad a los antibióticos

Figura No. 2 SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICROBIANOS EN AMBOS GRUPOS.



estudiados, tomando en cuenta las bacterias aisladas de los dos grupos en el experimento.

Las bacterias aisladas de los dos grupos demostraron una sensibilidad similar a antimicrobianos estudiados, sin diferencias significativas (Ver Figura 2). Solamente en el caso de la combinación sulfa-trimetoprima hubo mayor sensibilidad en el grupo experimental (94%) que en el testigo (60%) ($p < 0.05$).

Al comparar la sensibilidad bacteriana a la Gentamicina con la sensibilidad a los demás antimicrobianos utilizados, se encontró una diferencia altamente significativa a favor de la Gentamicina comparada con Ampicilina, Cloxacilina y Lincomicina ($p < 0.01$). Además se detectó una diferencia significativa de la Gentamicina con respecto a Estreptomocina, Penicilina y Kanamicina ($p < 0.05$). No hubo diferencia significativa entre la sensibilidad a Gentamicina y la de Cefalotina, Cefotaxima, Eritromicina y Tetraciclina ($p > 0.05$) (Ver Figura 2).

La combinación Sulfametoxazol-Trimetoprima, (con un 87% de Sensibilidad) y Gentamicina (con un 74% de sensibilidad) tuvieron la mayor sensibilidad (o bien, la menor resistencia bacteriana) y la cloxacilina fue la de menor sensibilidad (con un 13%).

C. Respuesta clinica al tratamiento.

En el cuadro 3 se presentan los porcentajes de animales en cada categoría de la respuesta clinica a las 24 horas y a los 5 días después del último tratamiento, respectivamente. Se enfatiza que al inicio todos lo cuartos mamarios estaban clinicamente enfermos.

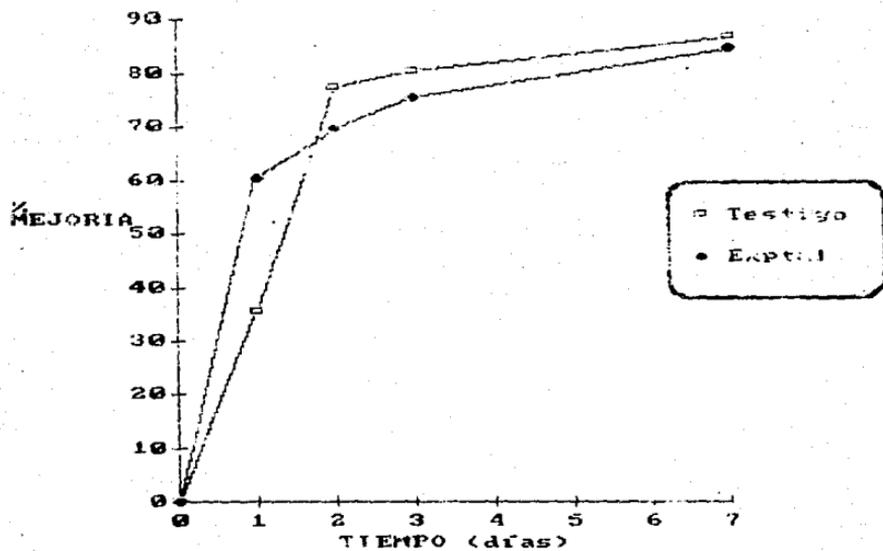
Cuadro 3. Respuesta Clinica al Tratamiento.

Tiempo	Grupo	Sanó	Mejoró	Sin Cambio	Peor
24 Horas	Tratado	39.4%	36.4%	12.12%	12.1%
	Testigo	51.6%	29.0%	18.13%	3.2%
5 Días	Tratado	51.5%	33.3%	8.06%	9.1%
	Testigo	77.4%	9.7%	9.68%	3.2%

En la figura 3 se presentan las respuestas positivas a los tratamientos de los dos grupos, desde el inicio del experimento hasta 5 días después del último tratamiento. Como se definió en le capítulo de Material y Métodos, Mejoría incluye los cuartos que sanaron y aquellos en los que bajó el grado de mastitis.

En la gráfica ambas líneas parten de cero debido a que todos los cuartos mamarios estaban clinicamente enfermos. Al segundo y tercer días de tratamiento se nota un alto porcentaje de mejoría que después continúa aumentando pero en menor proporción.

Figura No.3 PORCENTAJE DE VACAS QUE MOSTRARON MEJORIA EN CADA UNO DE LOS GRUPOS.



No hubo diferencia significativa en el grado de mejoría ($p > 0.05$), excepto al momento del segundo tratamiento, cuando el grupo testigo apenas llegó a 35.5% y el experimental alcanzó el 60.6% de mejoría ($p < 0.05$).

Con un 95% de confianza se esperaba que el tratamiento fuera efectivo en el 61 a 90% de las veces a las 24 horas del último tratamiento, y en el 73 a 97% de los casos al quinto día del último tratamiento. Por lo tanto los resultados obtenidos indican que ambos tratamientos fueron efectivos en combatir la infección.

Haciendo una estimación basada en ambos grupos, ya que no hubo diferencia significativa, la proporción esperada de mejoría a las 24 horas de concluir el tratamiento es de 68 a 88%; y a los cinco días de estimación alcanza de 77 a 94% de efectividad.

D. Respuesta Bacteriológica al tratamiento.

En el cuadro 4 se muestran los resultados en cuanto a la eliminación de los microorganismos aislados.

La eliminación de bacterias fue muy semejante en los dos grupos. De hecho, no se detectaron diferencias significativas en los aislamientos bacteriológicos. Proporciones semejantes de animales conservaron las mismas bacterias. Aunque en el grupo experimental se observó una tendencia a eliminar una mayor proporción de las bacterias (26.9 vs. 9.1) y a adquirir menos

bacterias nuevas (7.7 vs. 27.3), las diferencias no resultaron significativas.

Cuadro 4. Eliminación Bacteriana después del tratamiento.

Bacteria	Eliminación (%)		
	Tratado	Testigo	Ambos
<u>Staphylococcus aureus</u>	40.0	0.00	33.0
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	67.0	100.0	75.0
<u>Streptococcus spp.</u>	100.0	100.0	100.0
Coliformes	-----	100.0	100.0
Levaduras	100.0	100.0	100.0
<u>Corynebacterium bovis (a)</u>	-43.0	-250.0	-89.0
Infecciones Mixtas			
<u>Staphylococcus s.</u> - Lev.	100.0	-----	100.0
<u>Corynebacterium b.</u> - Lev.	100.0	-----	100.0
<u>Streptococcus spp.</u> -			
<u>Corynebacterium b.</u>	-----	100.0	100.0
<u>Staphylococcus a.</u> -			
<u>Streptococcus spp.</u>	-----	100.0	100.0

(a) Los aislamientos de Corynebacterium bovis aumentaron, es por eso que se expresan como "eliminación negativa"

Considerando ambos grupos, se observa que las bacterias coliformes y Estreptococcus spp se eliminaron en su totalidad. Así mismo, las levaduras y las infecciones mixtas se eliminaron completamente. En cuanto a los estafilococos, Staphylococcus aureus se eliminó en un 33%, y Staphylococcus epidermidis se eliminó en un 75%. Por otra parte, la frecuencia de Corynebacterium bovis permaneció sin cambio e incluso aumentó.

Corynebacterium bovis aumentó en la frecuencia de aislamiento en un 89%. Esto es que antes de los tratamientos se obtuvo dicha bacteria en 9 muestras, y posterior a los tratamientos se aisló en 17 casos.

VI. DISCUSION

A. Microorganismos aislados.

Los microorganismos aislados corresponden a los que tradicionalmente se reportan como causantes frecuentes de mastitis bovina (6), a excepción del Corynebacterium bovis que apareció como única bacteria en varios de los casos de mastitis clínica.

En total, el 17.3% de los aislamientos fue de estreptococos. Desde hace tiempo se reconoce a los estreptococos como causantes de mastitis. Las 3 especies más frecuentemente aisladas son Streptococcus agalactiae, S. dysgalactiae y S. uberis (56).

En la misma proporción se aislaron corinebacterias, específicamente Corynebacterium bovis, organismo que se conoce como residente habitual de la ubre de los bovinos y que se ha considerado no patógeno o patógeno menor (6, 56); sin embargo, se ha sugerido que puede causar mastitis (6, 38), lo que ocurre al establecerse más allá del canal del pezón (39). Si bien el Corynebacterium bovis se ha señalado como causante de mastitis, no se considera un peligro significativo debido a su baja patogenicidad (6). Por su localización habitual en la piel y en el canal del pezón, se explica que aparezca en muestras de leche sin cambios.

Parece ser que esta bacteria no sólo no protege contra la infección por bacterias como estreptococos sino que de alguna manera facilita su entrada a la glándula (22).

Por otro lado la inoculación experimental del organismo o sus productos filtrados ha producido mastitis clinica, confirmando su propiedades irritativas (39). Oliver probó que el Corynebacterium bovis, es capaz de permanecer y colonizar los cuartos mamarios de vacas secas experimentalmente inoculadas con el microorganismo, permaneciendo durante el periodo seco y de periparto, (38). La presencia de Corynebacterium bovis en muestras de leche mastitica en ausencia de algún otro patógeno reconocido, puede guiar el diagnóstico de la misma como agente causal (39).

El que este tipo de bacteria se aisle en un muestreo como el realizado, pudiera significar que la flora normal ha sido modificada, posiblemente por los tratamientos masivos o por la acción de los selladores. Podemos considerar por ejemplo lo que ha sucedido con los estafilococos coagulasa negativos, que anteriormente se consideraban no patógenos o patógenos menores y ahora se conocen como patógenos importantes asociándose a conteos celulares altos y aislándose de leches mastiticas (56). Por lo tanto se sugiere estudiar con más atención este aspecto para poder definir si el Corynebacterium bovis, está siendo potencialmente patógeno en casos de mastitis como los estudiados.

Después de estas dos bacterias la más aislada fue Staphylococcus aureus, con un 11.53%. Al igual que con los estreptococos esta bacteria es comunmente aislada en mastitis. En efecto, la literatura señala a los cocos gram positivos catalasa

positivos como los microorganismos más frecuentemente aislados en mastitis bovina (56).

Se encontraron también varias levaduras, lo cual podría deberse a una antibioterapia exagerada o mal llevada, lo que cause que se elimine la flora normal del pezón permitiendo el desarrollo oportunista de microorganismos poco susceptibles a los antibióticos. En la literatura está ampliamente descrito el problema de las mastitis por levaduras iniciadas por excesivo uso de antibióticos y manejados sin precauciones higiénicas (7). Esto podría concordar con lo que estaba sucediendo en el rancho hasta antes del experimento y explicar la presencia de dichos microorganismos.

Generalmente las infecciones por levaduras se asocian con la contaminación de las preparaciones antibióticas o del equipo de infusión (56). Debemos recordar que hongos y levaduras son flora normal del suelo y pueden llegar a colonizar la piel de la ubre (56).

Podríamos considerar que los signos clínicos más generalizados entre las vacas en estudio pueden corresponder a mastitis causada por Streptococcus spp; con fiebre al inicio de la infección que pasa inadvertida casi siempre por durar poco tiempo; la inflamación de la ubre es intensa en los casos agudos, pero sin una reacción generalizada muy manifiesta. Cuando se hace más crónica, la inflamación es moderada, y hay presencia de coágulos en los primeros chorros de leche (6). En la mastitis por estreptococos, la transmisión más frecuente ocurre por medio de

las máquinas de ordeño, las manos de los ordeñadores, ropas y materiales contaminados y probablemente por las camas (6). Estos aspectos concuerdan con las prácticas en la rutina de ordeño que se llevaban en ese momento en el rancho.

Aunque estas características pudieran identificarse en mastitis causadas por una variedad de microorganismos, si podemos relacionarlas sobre todo con mastitis por estreptococos y con mastitis por estafilococos en su forma crónica (6).

B. Sensibilidad a los antimicrobianos.

El medicamento que mostró más efectividad fue la combinación Sulfametoxazol-Trimetoprim, seguido por Gentamicina. Es de notarse que después de estos dos, estaban la Cefalotina y la Cefotaxima, cefalosporinas de primera y tercera generación respectivamente, que no se usaban todavía en la terapéutica de la mastitis bovina en México al momento del trabajo.

Como esperábamos al inicio del trabajo, la Gentamicina sufrió muy poca resistencia bacteriana, lo cual coincide con los trabajos de Rojano en el Valle de México (47), y otros ya mencionados (9,14,15,20,21,27) La efectividad del antibiótico puede deberse a su acción con una CMI muy baja.

En la práctica clínica muchas veces se elige como primera opción en un tratamiento de mastitis, un antibiótico de amplio espectro, debido sobre todo a que puede no disponerse de

inmediato de las pruebas de sensibilidad (57). La Gentamicina es un medicamento de amplio espectro y dada la baja resistencia bacteriana que para la misma se presenta un preparado que la contenga significa una buena posibilidad para tratar los casos de mastitis clínica.

Por otro lado también debe tomarse en cuenta que no se ha usado con mucha frecuencia en el tratamiento de la mastitis bovina en México. Ahora bien, su uso debe racionalizarse, ya que puede caerse en los problemas de resistencia que se presentan con otros antibióticos muy utilizados (47).

C. Respuesta clínica al tratamiento.

Al discutir este aspecto del estudio hay que considerar la diferencia entre los tratamientos testigo y experimental: El grupo testigo recibió 200 mg de Gentamicina cada 12 horas por tres días, haciendo un total de 1200 mg; el grupo tratado experimentalmente recibió 100 mg de Gentamicina más 25 mg de Meglumina de Flunixin cada 24 horas por tres días, lo cual hace un total de 300 mg de Gentamicina y 75 de Meglumina de Flunixin.

Tomando en cuenta tan sólo el compuesto antibiótico podemos notar que corresponde a la cuarta parte de lo usado en el testigo, de manera que la adición del antiinflamatorio está mejorando la respuesta notablemente. Su adición en el preparado parece estar promoviendo la recuperación pronta de la ubre de los animales tratados. Además podemos pensar que sus efectos

analgésicos y antipiréticos causan que los signos locales y generalizados se hagan menos importantes. Si se logra aminorar el dolor en el animal, la anorexia, y la depresión general, se puede esperar que el estado físico no se deteriore y con esto que la recuperación sea más rápida.

Por otra parte el uso de la Meglumina de Flunixin permite evitar los riesgos que implica el uso de agentes esteroidales.

Al no haber diferencia estadísticamente significativa entre los dos tratamientos y siendo ambos muy efectivos (ver gráficas), podemos concluir que la combinación fue capaz de generar una respuesta positiva en los animales tratados, aun con sucho menor cantidad de antibiótico.

Un aspecto notable en cuanto a la respuesta clínica fue que al momento de la segunda observación (segundo día de tratamiento), el porcentaje de mejoría fue significativamente más alto en el grupo experimental; es decir, el estado clínico en la etapa temprana del tratamiento mejoró más en este grupo. Al tercer día de tratamiento el avance fue mucho menor. Probablemente repitiendo el tratamiento a menos de 24 horas de intervalo la respuesta pudiera mejorarse, es decir que acortando el intervalo entre tratamientos, por ejemplo cada 12 horas, es muy probable que la respuesta fuese más favorable, de la misma forma puede esperarse que el tratamiento sea rápido y lo suficientemente corto para ser factible desde el punto de vista económico.

Si comparáramos la respuesta al tratamiento con el comportamiento que se había tenido en el rancho hasta antes del experimento podríamos observar grandes diferencias. En el establo, se habían venido usando diversos medicamentos, sin que se obtuvieran resultados favorables; ya se mencionó que en el momento más crítico, había una tercera parte de los animales clínicamente enfermos. Algunos de estos tenían aproximadamente cien días enfermos, y en promedio cerca de treinta.

Era de esperarse que la respuesta fuera pobre; no sólo por la selección de cepas resistentes que se logra con tratamientos repetidos, sino por el daño tisular en la glándula, que va perdiendo su capacidad de recuperación. El rancho venía manejando de tiempo atrás múltiples medicamentos a los que se presentaba un notable índice de resistencia, esto es explicable por el uso poco racional de antibióticos que ejerce una presión de selección sobre las bacterias, favoreciendo el predominio de cepas resistentes (13).

D. Respuesta bacteriológica al tratamiento

La respuesta en términos generales fue muy aceptable. Esperábamos una buena respuesta bacteriológica dados los estudios previos de sensibilidad, en los que aparecía la Gentamicina con poca resistencia. En ambos grupos se eliminaron al 100% las infecciones mixtas. La eliminación de *Staphylococcus aureus* fue de 40% en el grupo experimental y 30% en el estudio global.

Como se mencionó anteriormente el rancho presentaba un brote de mastitis con alta resistencia a los antimicrobianos. Ahora bien, con cualquier tratamiento en el periodo de lactación puede esperarse que el índice de curación bacteriológica sea inferior al de curación clínica (11). Esto sucedió en el presente trabajo, aunque si se eliminaron la mayoría de las bacterias. Es de notarse que luego de los tratamientos aumentó la frecuencia de *Corynebacterium bovis*. Esto podría significar que los tratamientos han influenciado de alguna manera a dicha bacteria, probablemente ejerciendo una selección a su favor.

Puede concluirse que, considerando las condiciones presentes, en donde destacan los aislamientos de bacterias resistentes a prácticamente todos los antibióticos disponibles, resulta promisorio el uso de la combinación de bajas dosis de Gentamicina y de Meglumina de Flunixin en el tratamiento de mastitis clínica, ya que la respuesta de los casos clínicos fue satisfactoria.

VII. LITERATURA CITADA

- 1.- ANDERSON, K.L., SMITH, A.R., SHANKS, R.D., DAVIS, L.E. and GUSTAFSSON, B.K.: Efficacy of Flunixin meglumine for treatment of endotoxin-induced bovine mastitis. Am J Vet Res. 47 (6): 1366-1372 (1986).
- 2.- ANDERSON, K.L., KINDAHL, H., SMITH, A.R., DAVIS, L.E. and GUSTAFSSON, B.K.: Endotoxin-induced bovine mastitis: Arachidonic acid metabolites in milk and plasma and effect of flunixin meglumine. Am J Vet Res. 47 (6): 1373-1377 (1986).
- 3.- ANDERSON, K.L., SMITH A.R., SHANKS, R.D., WHITMORE, H.L., DAVIS, L.E. and GUSTAFSSON, B.K.: Endotoxin-induced bovine mastitis: Immunoglobulins, phagocytosis, and effect of flunixin meglumine. Am J Vet Res., 47 (11): 2405-2410 (1986).
- 4.- AVILA, T.S.: Producción intensiva de ganado lechero. CECSA, Mex. D.F., 1984.
- 5.- BAILEY.: Veterinary handbook for cattlemen. 5th. ed., Springer, N Y USA, 1980.
- 6.- BLOOD, D.C., RADOSTITIS, O.H., HENDERSON, J.A., ARUNDEL, J.H., Y GAY, C.C.: Medicina Veterinaria. 6a. ed., Interamericana, Mex. D.F., 1986.
- 7.- BRAMLEY, A.J. and DODD, F.H.: Reviews of the progress of Dairy Science: Mastitis control, progress and prospects. J. Dairy Res. 51 (3): 461-512 (1984).
- 8.- CARDENAS, L.L.: Establecimiento de algunos factores asociados con la variación celular somática de la leche y evaluación de tratamientos contra la mastitis subclínica durante la lactación. Tesis de licenciatura. F.E.S. Cuautitlán UNAM Cuautitlán Izcalli, Edo Mex. 1985.
- 9.- CLARK, C.H.: Clinical Uses of Gentamicin. Modern Vet Practice. 58 (9): 751-754 (1977).
- 10.- COWAN y STEEL'S.: Manual para la identificación de bacterias de importancia médica, 2a. ed., CECSA, Mex D.F., 1979.
- 11.- CRAVEN, N.: Efficacy and financial value of antibiotic treatment of bovine clinical mastitis during lactation-A review. Br Vet J., 43 (5): 410-422 (1987).

- 12.- CRUZ, A.M.: Magnitud de la contaminación de leche comercial disponible en el Valle de México con Estreptomicina, Penicilina y Tetraciclina. Tesis de licenciatura. FMVZ UNAM, Mex D.F. 1986.
- 13.- DUPONT, H.C.: Uso práctico de los antibióticos 1a. ed. Interamericana. México, 1980.
- 14.- ENSLEY, L.E., HENNESSEY, P.W. and HOUDSHELL, J.W.: Gentamicin for the prevention and treatment of colibacillosis in piglets. Vet Med/Small anim clin., 89-92, (1979).
- 15.- ENSLEY, L.E. and HENNESSEY, P.W.: Effects of a single intrauterine infusion of gentamicin or Utonex[®] suspension on conception in normal and infected cows., Vet Med/Small anim clin., 864-870 (1979).
- 16.- FLORES, F.R.: Manual de mastitis bovina. FMVZ UNAM, Mex D.F., 1980.
- 17.- FUENTE, De La , E.G. y VILLALOBOS, M.A.: Establecimiento de un programa de control de mastitis en Tulancingo Hgo., Memorias del Primer curso de actualización sobre mastitis bovina. Mexico, D.F., 1978. 188-223. FMVZ UNAM, Mex, D.F. (1978).
- 18.- FUENTES, H.V.: Farmacología y Terapéutica Veterinarias, Interamericana, Mex. D.F., 1982.
- 19.- GOODMAN, G.A., GOODMAN, L.S. y GILMAN, A.: Las bases farmacológicas de la terapéutica, 6a. ed., E. M. Panamericana, Mex. D.F., 1982.
- 20.- HARRIS, D.L., GLOCK, R.D., DALE, S.E. and ROSS, R.F.: Efficacy of Gentamicin Sulfate for the treatment of Swine Dysentery. J. Am Vet. Med. Assoc., 161 (11): 1317-1321 (1972).
- 21.- HENNESSEY, P.W., KOHN, F.S., BICKFORD, S.M. and LOY, J.I.: In vitro Activity of Gentamicin against Bacteria isolated from domestic Animals. Vet Med/Small anim clin., N.J. USA. (1971).
- 22.- HOGAN, J.S., SMITH, K.L., TODHUNTER, D.A. and SCHOENBERGER, P.S.: Rate of Environmental Mastitis in Quarters Infected with Corynebacterium bovis and Staphylococcus species. J. Dairy Sci., 71 (9): 2520-2525 (1988).
- 23.- INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICA GEOGRAFIA E INFORMATICA.: Estructura Económica del Estado de Michoacán. Sistema de Cuentas Nacionales de México. INEGI., Mex D.F. 1987.

- 24.- JARA, G.B. y AGUADO, G.: Programa de control de mastitis bovina en Celaya Gto., Memorias del primer curso de actualización sobre mastitis bovina. Mexico, D.F., 1978. 224-235. FMVZ UNAM, Mex, D.F. (1978).
- 25.- JARA, G.B. y GONZALEZ, G.S.: Consideraciones para la implantación de un programa de control de mastitis en la región Lagunera. Memorias del primer curso de actualización sobre mastitis bovina. Mexico, D.F., 1978. 235-242. FMVZ UNAM, Mex, D.F. (1978).
- 26.- JAARTSVELD.: Mastitis control programs in the Netherlands. Memorias del primer curso de actualización sobre mastitis bovina. Mexico, D.F., 1978. 154-176. FMVZ UNAM, Mex, D.F. (1978).
- 27.- LECOANET, J.: Gentamicin in the treatment of neonatal infections in calves. Department of Animal Pathology, National, School of Vet Med Alfort France. Manual Técnico Gentocin Scheraxex, (1973).
- 28.- LEES, P., EWINS, C.P., TAYLOR, J.B.O. and SEDGWICK, A.D.: Serum Thromboxane in the Horse and its inhibition by Aspirin, phenylbutazone and Flunixin. Br Vet J., 143 (5): 462-476 (1987).
- 29.- LITTER, M.: Farmacología Experimental y Clínica. 6a. ed., Ed. Ateneo., Argentina, 1980.
- 30.- MARTINEZ, P.L.: Prevalencia de mastitis subclínica en ganado Holstein Friesian y su relación con la eficiencia para ordeño y prácticas realizadas durante este. Tesis de licenciatura. FMVZ UNAM, Mex D.F., 1986.
- 31.- MARIN, L.P.: La Agroindustria y la Comercialización de leche en México. Memorias de la cuarta Conferencia Internacional sobre Ganado Lechero. Mex. D.F., 1988. 49-72. Holstein de México. BN Editores, Mex D.F. (1988).
- 32.- MEYERS, F.H., ERNEST, J. y ALAN, G.: Farmacología Clínica. 1a. ed. El Manual Moderno., México D.F. 1980.
- 33.- MORRISON, E.D.: Multivariate Statistical Methods. McGraw-Hill, New York USA. 1967.
- 34.- MURILLO, S.D., PEREZ, D.M. y CAMPOS, R.V.: Manual sobre la glándula mamaria, vol.6 Análisis de la leche fasc.2 Identificación de patógenos de la glándula mamaria, Técnica y Productos Agropecuarios Texcoco, Mex, 1983.
- 35.- NATIONAL MASTITIS COUNCIL.: Current Concepts of Bovine Mastitis. 3d. edition, NMC., Arlington, 1987.

- 36.- NATZKE, R.P.: Mastitis control in the United States. Memorias del primer curso de actualización sobre mastitis bovina. Mexico, D.F., 1978. 177-187. FMVZ UNAM, Mex, D.F. (1978).
- 37.- NAVARRO, F.R.: Introducción a la Bioestadística. Análisis de variables binarias. McGraw-Hill, Mex. D.F., 1987.
- 38.- OLIVER, S.P., SORDILLO, L.M., MAKI, J.L. and SHULL, E.P.: Duration of Experimental Corynebacterium bovis colonization of bovine mammary glands during the nonlactating and peripartum periods (Abstracts). J Dairy Sci. 70 (suppl 1) 128 (1987).
- 39.- PACKER, R.A.: Bovine Mastitis Produced by Corynebacteria. J. Am Vet Med Assoc., 170 (10): 1164-1165 (1977).
- 40.- PEÑAFIEL, S.M.R.: Efecto del número y etapa de lactancia sobre los niveles de Albúmina sérica bovina en leche y su correlación con el contenido celular y resultado de la prueba modificada de Wisconsin. Tesis de licenciatura. FMVZ UNAM, Mex D.F., 1987.
- 41.- PEREZ, D.M.: Manual sobre la glándula mamaria, vol 5 fasc.1 Generalidades sobre mastitis. Técnica y Productos Agropecuarios Texcoco., México, 1984.
- 42.- PEREZ, D.M. y CAMPOS, R.V.: Manual sobre la glándula mamaria, vol.5 fasc.2 Algunos procedimientos para la prevención y tratamiento de la mastitis. Técnica y Productos Agropecuarios Texcoco., México, 1984.
- 43.- PEREZ, D.M., CASTILLO, R.F., CAMPOS, R.V. y MURILLO, S.E.: Manual sobre la glándula mamaria, vol.6 Análisis de la leche, fasc.1 Métodos físico-químicos para el diagnóstico de la mastitis subclínica. Técnica y Productos Agropecuarios Texcoco., Mex. 1983.
- 44.- PEREZ, D.M. y PAYAN, R.M.: La ganadería lechera en México y en el Mundo: Estadísticas, Hechos, Programas de Desarrollo. INIP SARH., México, 1985.
- 45.- PEREZ, D.C.: Evaluación de la Oxitetraciclina lentamente soluble administrada por vía subcutánea para el tratamiento de mastitis subclínica. Tesis de licenciatura. FMVZ UNAM, Mex., 1984.
- 46.- RIVERA, E.L. y PEREZ, F.F: Diferentes pérdidas económicas por mastitis en un establo lechero. Memorias del X Congreso mundial de Buiatría. México D.F. 1978. 542-548. Asociación de Médicos Veterinarios Zootecnistas especialistas en bovinos y pequeños ruminantes. Mex. D.F., (1978).

- 47.- ROJANO, F.U.: Evaluación de un año sobre la resistencia a antibióticos de microorganismos patógenos causantes de mastitis, aislados de hatos lecheros. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM., Mex D.F., 1988.
- 48.- RUIZ, S.H.: Pruebas utilizadas en el diagnóstico de mastitis subclínica. Mastitis bovina. FMVZ UNAM, 1982 (citada por Pérez, 45)
- 49.- SARACCO, L.G.: Estudio epizootológico de la mastitis bovina en la cuenca del Valle de Tulancingo Hgo. Tesis de licenciatura. FMVZ UNAM, Mex. D.F., 1984.
- 50.- SCHOLMOLIK, R.: Intracisternal antibiotic treatment of chronic and subclinical bovine mastitis. Inaugural dissertation. Ludwig Maximilians, Universitat Munchen (1980) (citada por Martínez, 30).
- 51.- SEDGWICK, A.D.: Action of non-steroidal anti-inflammatory drugs on equine leucocyte movement in vitro. J Vet Pharmacol Therap., 10: 150-159 (1985).
- 52.- SCHERAMEX. Manual Técnico Gentocin. Scheramex, México, 1973.
- 53.- SING, K.B. and BAXY, K.K.: Studies on the ethiology, in vitro sensitivity and treatment of subclinical mastitis in milk animals. Indian Vet J., 50: 191-198 (1982).
- 54.- STOPPER, M., MOSHE, B.B., ZIV, G. and SARON, A.: Experiment with three new intramammary antibiotic combination products for the treatment of subclinical mastitis in lactating cows. Refuah Vet., 38: 154-166 (1981).
- 55.- TREJO, J.R.: Consideraciones económicas de los efectos de la mastitis sobre la producción de leche. Memorias del primer curso de actualización sobre mastitis bovina. Mexico, D.F., 1978. 27-40. FMVZ UNAM, Mex, D.F. (1978).
- 56.- WATTS, L.J.: Etiological Agents of Bovine Mastitis. Vet Microb., 38: 41-66 (1988).
- 57.- ZIV, G.: Drug Selection and Use in Mastitis: Systemic vs Local Therapy. J. Am Vet Med Assoc., 176 (10): 1109-1115, (1980).