

297



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**“COMPARACION DE DOS MUESTREOS Y DE LA INCUBACION
DE LA LECHE SOBRE LA PRECISION EN EL AISLAMIENTO
BACTERIOLOGICO”**

T E S I S

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

p r e s e n t a

LAURA ELENA ZAPATA SALINAS



inip

**Asesores: Ph. D. Marcelo Pérez Domínguez
MVZ. Elizabeth Murillo Saldaña**

México, D. F.

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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

Resumen	1
Introducción	3
Objetivos	7
Material y Métodos	8
Resultados	11
Discusión y Conclusiones	41
Literatura Citada..	43

R E S U M E N

COMPARACION DE DOS MUESTREOS Y DE LA INCUBACION DE LA LECHE SOBRE LA PRECISION EN EL AISLAMIENTO BACTERIOLOGICO.

Debido a la divergencia de opiniones en cuanto hacer uno o dos muestreos y la conveniencia de incubar o no las muestras de leche previo sembrado para el diagnóstico bacteriológico de la mastitis, se realizó el presente trabajo. Se tomaron muestras estériles de 38 vacas en dos días consecutivos. Las muestras que se tomaron fueron muestras compuestas (por vaca) y muestras individuales (por cada glándula mamaria o cuarto). Las muestras se transportaron en refrigeración al laboratorio y se dejaron a 4°C para sembrarse al día siguiente en agar sangre e incubarse durante cuatro horas para hacer la resiembra nuevamente. Se hizo el análisis bacteriológico y se les aplicó también el conteo de células somáticas por microscopía directa. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

El porcentaje de cuartos individuales que resultaron no infectados en muestras incubadas y no incubadas fueron de 34.2% y 28.9%, respectivamente; en muestras compuestas incubadas, el porcentaje de no infectadas fue de 31.6% y en no incubadas de 42.1%.

Los porcentajes en muestras con infección para cuartos individuales sin incubar e incubadas fue respectivamente de 65.7% y 71%; en muestras compuestas los porcentajes de infección en muestras sin incubar es de 57.8%, de un 68.4% en incubadas.

Por los mencionados resultados se puede concluir que las muestras de

leche se deben incubar previamente ya que en el análisis bacteriológico se puede notar la mayor recuperación de microorganismos que no son Streptococcus y que están afectando la glándula mamaria .

En el caso del aislamiento de Streptococcus agalactiae no hubo diferencias entre el tipo y número de muestras analizadas. La incubación antes de la siembra no tuvo tampoco ningún efecto sobre el aislamiento y por lo tanto, en este caso, es confiable su diagnóstico en base al aislamiento de una muestra compuesta y recién tomada o fresca.

COMPARACION DE DOS MUESTREOS Y DE LA INCUBACION DE LA LECHE SOBRE LA
PRECISION EN EL AISLAMIENTO BACTERIOLOGICO.

INTRODUCCION

La industria lechera en México ha venido padeciendo, a lo largo de su desarrollo histórico, un gran número de problemas producto de su deficiente organización, lo cual ha provocado su escaso desarrollo y una inadecuada vinculación con respecto a las necesidades reales del país. El Plan Nacional de Desarrollo 1983 - 1988, (8) atendiendo a esta - problemática establece en el punto 7.3.4.2. que el aumento de la productividad y la modernización de la producción pecuaria será impulsada, entre otras acciones, mediante las campañas zoonosanitarias y de -- interés epidemiológico.

Uno de los problemas más importantes que enfrenta esta industria, es la presencia de mastitis en los hatos lecheros, la cual es causante de cuantiosas pérdidas económicas calculadas en siete mil millones de pesos anuales, (8) (12).

Dado el contexto anteriormente descrito se justifica la relación de - estudios tendientes a la resolución de las dificultades que agobian a esta industria.

El objetivo del presente trabajo es, determinar cual de los métodos - bacteriológicos utilizados en el pasado reciente, es el más eficaz pa -- ra detectar los agentes etiológicos que provocan infecciones en la -- glándula manaria de los hatos lecheros .Se ha encontrado que estas in -- fecciones tienen su origen cuando los microorganismos (virus, mico--

plasma y bacterias preferentemente), invaden esta glándula. Otro posible origen es, el mal uso o uso indiscriminado de antibióticos que han proporcionado la aparición de diversos agentes patógenos al crearse resistencia de éstos. Estos agentes son causantes de alteraciones patológicas del tejido glandular y modificaciones físico - químicas de la leche (cambios en el color de la misma, presencia de grumos y un gran número de leucocitos). A las manifestaciones anteriormente descritas se les conoce con el nombre de mastitis o inflamación de la glándula - mamaria.

Para evitar o disminuir las pérdidas económicas provocadas por la mastitis, es necesario hacer un diagnóstico eficaz y oportuno de la misma, sobre todo cuando esta se presenta en forma subclínica para lo cual es recomendable aplicar pruebas como la de California, Wisconsin y conteo de células somáticas en la leche (10).

Una herramienta útil para determinar el estado de salud de la glándula mamaria es el diagnóstico basado en el aislamiento de microorganismos, el cual debe efectuarse lo más asépticamente posible (ya que las posibilidades de contaminación con microorganismos ambientales son muy grandes). Esto es especialmente importante cuando el número de animales que se va a muestrear es elevado.

En la actualidad existen controversias en los criterios que deben seguirse para determinar cuando una glándula mamaria esta infectada. Estas divergencias se manifiestan tanto en los procedimientos de muestreo como en el diagnóstico bacteriológico.

Por un lado algunos autores sugieren que el análisis bacteriológico de una sola muestra de leche, es suficiente para establecer el estado in-

fectivo de la glándula (5), mientras que otros opinan que el aislamiento de la misma bacteria en dos muestreos consecutivos es indispensable para considerar una glándula mamaria infectada (9) (4). En relación al diagnóstico bacteriológico, existen también diferentes opiniones. El procedimiento basado en el análisis de una sola muestra de leche obtenida de los cuatro cuartos (6), se contra pone con el análisis que se efectúa obteniendo muestras individuales de cada glándula. Los autores que siguen el muestreo individual plantean que, la posibilidad de contaminar la leche es mayor cuando se toma una sola muestra de los cuatro cuartos, o por lo contrario, que le número de bacterias infectantes sea tan bajo que la leche proveniente de la glándula infectada, al mezclarse con la de los otros tres cuartos, se diluirá, disminuyendo la posibilidad de detectar a las bacterias (1). Existen también diferentes opiniones en cuanto a la conveniencia de incubar o no las muestras de leche antes de sembrarlas . Algunos autores opinan que las muestras de leche deben conservarse frías o sembrarse en un plazo máximo de 24 hrs. después de haberlas obtenido (1) (3). Otros sugieren que incubando las muestras a 37°C durante cierto tiempo antes de sembrarse es lo más conveniente, ya que esto permite el crecimiento de las bacterias incrementando las posibilidades de ser identificadas (10). Por lo antes mencionado se concluye que existen diversas opiniones en cuanto a cual es la metodología más adecuada para efectuar el diagnóstico bacteriológico de la mastitis, lo cual nos lleva a plantear las siguientes hipótesis:

El diagnóstico bacteriológico es igual cuando:

- 1) Se toma una muestra compuesta de las cuatro glándulas mamarias.
- 2) Se toma una muestra individual de cada cuarto de la glándula mamaria.
- 3) Se incuba o no se incuba la muestra.
- 4) Una o dos muestras de la misma leche son necesarias para el diagnóstico.

Para efectuar un diagnóstico veraz y aplicar un método de control adecuado contra los agentes infecciosos, es condición indispensable determinar cual de los métodos bacteriológicos descritos anteriormente es el mejor.

OBJETIVO GENERAL

Determinar cuál de los métodos bacteriológicos descritos es el más eficaz para detectar los agentes etiológicos - que provocan infecciones de las glándulas mamarias en los hatos lecheros-

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- a) Identificar el organismo infectivo en un muestreo de leche obtenido de las cuatro glándulas mamarias (un solo muestreo compuesto).
- b) Identificar el mismo organismo en dos muestreos de - leche de las cuatro glándulas mamarias (dos muestreos uno cada día).
- c) Identificar el mismo organismo infectivo en un muestreo de leche obtenido individualmente de cada glándula mamaria (una sola muestra individual).
- d) Identificar el mismo organismo en dos muestreos de - la leche obtenidos individualmente de cada glándula mamaria (dos muestreos individuales, uno cada día).
- e) Comparar la identificación de bacterias en muestras de leche no incubadas e incubadas a 37°C durante cuatro horas previo sembrado.
- f) Relacionar el contenido celular somático de las leches con el estado infectivo basado en los criterios arriba mencionados.

MATERIAL Y METODOS

Lugar de Muestreo:

Texcoco Edo. de México y Tula Edo. de Hidalgo.

Tamaño de la Muestra:

176 vacas de dos hatos lecheros.

Procedimiento de Muestreo:

Las muestras de leche fueron tomadas en la ordeña vesper
tina. La ubre fue enjuagada y secada perfectamente. El -
meato del pezón se desinfectó con una torunda de algodón
mojado con alcohol al 70%.

El orden y el tomado de las muestras fue de acuerdo a las
normas recomendadas por el National Mastitis Council (1).
Se obtuvieron los primeros chorros de leche en tubos esté
riles con tapón de rosca y colocados en cajas térmicas -
de poliuretano conteniendo hielo. Inmediatamente después
de la ordeña fueron transportadas al laboratorio y colo
ca
das a 4°C en el refrigerador hasta el momento de su aná
lisis al día siguiente.

Se obtuvieron muestras individuales de leche de cada cuar
to así como también una muestra compuesta de los cuatro
cuartos.

Se realizaron dos muestreos en dos días consecutivos.

Análisis Bacteriológico:

Las muestras de leche fueron sacadas del refrigerador y sembradas en agar sangre inmediatamente; las muestras fueron incubadas a 37°C durante 4 horas y resembradas nuevamente. Los criterios para considerar una vaca infectadas fueron los establecidos en los objetivos.

La identificación del género y especie de las bacterias será de acuerdo a los procedimientos establecidos por el National Mastitis Council (1), adaptados en el laboratorio de mastitis del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (2).

Conteo Celular Somático:

A todas las muestras de leche se les realizó un conteo celular somático directo por medio de la tinción de Broadhurst (2)

Análisis Estadístico:

El análisis se hizo siguiendo un modelo de efectos fijos, donde los parámetros analizados fueron: incubación, ubre y muestreo y las dobles y triple interacción entre ellos sobre la respuesta de infección (si, no).

Los resultados fueron sometidos a la prueba de varianza (11).

El número de células somáticas fueron transformadas a logaritmo natural y se hicieron correlaciones entre estado infectivo de la glándula mamaria y número absoluto

de células somáticas así como también con su logaritmo natural.

RESULTADOS

En el cuadro I se presentan el porcentaje de infección - basado en uno y dos muestreos de leches sin incubar tomando tanto cuartos individuales como muestras compuestas (de los cuatro cuartos).

Las muestras de leche fresca no infectadas representaron el 44.07% en cuartos individuales, y el 28.94% de muestras compuestas.

Con el mismo criterio los microorganismos que se aislaron con mayor frecuencia fueron: Corynebacterium bovis en un 30.92% para muestras individuales, en muestras compuestas 21.05%; Streptococcus agalactiae obtuvo en muestras individuales el 16.44% y en muestras compuestas el 31.57%. - Se logró también el aislamiento de otras bacterias pero en menos proporción como son: Staphylococcus spp, Bacillus spp, Gram (-), Microoccus spp y Levaduras.

Al considerar un segundo muestreo, los resultados bacteriológicos posteriores a la primera toma de muestras se les dio el mismo criterio anterior para los resultados - obtenidos, en donde la no infección de cuartos individuales fue de 59.21%, en muestras compuestas fue de 42.10%; lo que en ambos casos nos representa más de un 10% de diferencia con respecto al porcentaje de un muestreo.

En dos muestreos también se puede observar la disminución en el porcentaje de bacterias como son: Streptococcus -

agalactiae, Corynebacterium bovis, Staphylococcus spp y Micrococcus spp, tanto en muestras individuales como en muestras compuestas.

En el cuadro II se asienta el porcentaje de infección - basado en uno y dos muestreos de leches las cuales, fueren incubadas durante 4 hrs posteriores a la primera siembra. Al igual que en el caso de muestras frescas, se presentan los resultados por cuartos individuales y por muestras compuestas.

En este cuadro se toma el mismo criterio que el cuadro I. En cuartos individuales se obtuvo un 32.23% de muestras negativas al análisis bacteriológico (no infección) y -- un 10.52% en el caso de muestras compuestas.

Los cuartos con infección o con aislamiento de gérmenes se tuvo que, para cuartos individuales con Corynebacterium bovis es de 33.55%, en muestras compuestas de 26.31%; -- Streptococcus agalactiae con 16.44% en muestras individuales y 31.57% en muestras compuestas, en menor porcentaje tenemos las siguientes bacterias: Staphylococcus spp, - Corynebacterium spp, Micrococcus spp, Bacillus spp, Gram (-), Lactobacillus spp y Levaduras.

Con respecto a dos muestreos incubando durante 4 hrs tenemos que en las muestras donde no hubo aislamiento de gérmenes se dio un 50.65% en muestras individuales y el -- 31.57% en muestras compuestas y se alcanzó un aumento - muy considerable en los porcentajes de uno y dos muestreos.

En las muestras con microorganismos tenemos que entre el primero y el segundo muestreo no hubo un cambio muy considerable en los porcentajes de las bacterias aisladas, pero si se nota un disminución en la variedad de gármenes aislados ya que solo tenemos Streptococcus agalactiae, Staphylococcus spp, Corynebacterium spp , Micrococcus spp y Lactobacillus spp.

CUADRO 1.- PORCENTAJE DE INFECCION BASADO EN DIFERENTES CRITERIOS*

M U E S T R A S S I N I N C U B A R

ESTADO INFECTIVO	UN MUESTREO				DOS MUESTREOS			
	C.	I.	M.	C.	C.	I.	M.	C.
	#	%	#	%	#	%	#	%
NO INFECCION	67	44.07	11	28.94	90	59.21	16	42.10
<u>Streptococcus agalactiae</u>	25	16.44	12	31.57	19	12.50	11	28.94
<u>Staphylococcus spp</u>	6	3.94	4	10.52	4	2.63	2	5.26
<u>Corynebacterium bovis</u>	47	30.92	8	21.05	39	25.65	8	21.05
<u>Micrococcus spp</u>	3	1.97	2	5.26	--	--	1	2.63
<u>Bacillus spp</u>	1	0.65	1	2.63	--	--	--	--
G -	1	0.65	--	--	--	--	--	--
Levaduras	2	1.31	--	--	--	--	--	--
T O T A L	152	99.95	38	99.97	152	99.99	38	99.98

* UNO Y DOS MUESTREOS SIN INCUBAR

C.I. = Cuadro individual = muestra de cada glándula mamaria. = para los demás cuadros.
M.C. = Muestra compuesta = muestra de las cuatro glándulas.

CUADRO II.- PORCENTAJE DE INFECCION BASADO EN DIFERENTES CRITERIOS*

M U E S T R A S I N C U B A D A S P O R 4 H R S .

ESTADO INFECTIVO	UN MUESTREO				DOS MUESTREOS			
	C. I.		M. C.		C. I.		M. C.	
	#	%	#	%	#	%	#	%
NO INFECCION	49	32.23	4	10.52	77	50.65	12	31.57
<u>Streptococcus agalactiae</u>	25	16.44	12	31.57	23	15.13	11	28.94
<u>Staphylococcus</u> spp	10	6.57	4	10.52	4	2.63	2	5.26
<u>Corynebacterium bovis</u>	51	33.55	10	26.31	46	30.26	11	28.94
<u>Corynebacterium</u> spp	1	0.65	--	---	--	---	--	---
<u>Micrococcus</u> spp	6	3.94	2	5.26	--	---	1	2.63
<u>Bacillus</u> spp	1	0.65	1	2.63	--	---	--	---
G -	8	5.26	4	10.52	2	1.31	--	---
<u>Lactobacillus</u> spp	--	---	1	2.63	--	---	1	2.63
Levadura	1	0.65	--	---	--	---	--	---
T O T A L	152	99.94	38	99.96	152	99.98	38	99.97

* UNO Y DOS MUESTREOS INCUBANDO POR 4 HRS.

El cuadro III nos presenta el promedio de células somáticas y el logaritmo (Le) en leches frescas (sin incubar) en uno y dos muestreos de cuartos individuales y muestras compuestas. Tomando el mismo juicio como en los cuadros anteriores tenemos en un muestreo los porcentajes de células somáticas en los cuartos individuales, en no infección alcanzaron un promedio de 723,076 células y un (Le) de 9.77, en muestras - compuestas nos dan 109,913 células somáticas y un logaríftmo de 11.02.

En las muestras con aislamiento bacteriano nos dieron los siguientes resultados: En cuartos individuales con Streptococcus agalactiae se obtuvo un \bar{X} de 25,910,327 células somáticas logrando un (Le) de 15.92, en muestras compuestas el \bar{X} de células somáticas es de 19,538,899 y un (Le) de - 15.84; Corynebacterium bovis tiene un \bar{X} de células somáticas en cuartos individuales de 432,527 células y un (Le) de 11.53, en muestras compuestas el \bar{X} de células somáticas fue de 189,506 y un (Le) de 10.17.

Las bacterias no patógenas como son Staphylococcus spp, Micrococcus spp, Bacillus spp, Gram (-) y Levaduras los \bar{X} de células somáticas y (Le) estuvieron por abajo del promedio de las 300,000 células somáticas al igual que sus (Le) con excepción de una muestra compuesta en donde Bacillus spp, alcanzó un \bar{X} células de 7,130,364 y un (Le) de 15.77.

Considerando dos muestreos se tiene que las muestras negativas mantienen un \bar{X} de células somáticas en muestras indivi

duales de 1,911,462 células y un (Le) de 10.53; en muestras compuestas el \bar{X} de células somáticas es de 539,232 y un (Le) de 10.65; y se nota que en uno y dos muestreos no hubo diferencia representativa en el \bar{X} de células somáticas y de su (Le).

En las muestras positivas fue el mismo caso anterior y no aumentan o disminuyen los \bar{X} de células y sus logaritmos. Se tiene que Streptococcus galactiae conserva un \bar{X} de células somáticas de 26,618,021 y un (Le) de 15.72 en cuartos individuales; en muestras compuestas el \bar{X} de células somáticas es de 21,144,373 y un (Le) de 15.96 Corynebacterium bovis su \bar{X} de células somáticas es de 280,934 y su (Le) de 11.43 en muestras individuales, en muestras compuestas el \bar{X} de células somáticas es de 374,343 y un (Le) de 11.97 las demás bacterias aisladas alcanzan promedios de células no tan significativos como los anteriores y son Staphylococcus spp y Micrococcus spp.

En uno de los muestreos se puede notar la disminución de bacterias recuperadas en el segundo muestreo.

Cuadro IV. En el se anota los promedios de células somáticas y su (Le) de leches incubadas durante 4 hrs en uno y dos muestras de cuartos individuales y muestras compuestas. El criterio a seguir es igual que el cuadro III, y se tiene entonces que en muestras individuales en un solo muestreo sin infección o aislamiento bacteriano nos da un \bar{X} de células

las somáticas de 946,749 y un (Le) de 9.50; en muestras compuestas se tiene un \bar{X} de células somáticas de 37,201 y un (Le) de 10.47; para las muestras que presentan infección en cuartos individuales se observa que Streptococcus agalactiae obtuvo un \bar{X} de células somáticas de 22,960,588 y su (Le) fue de 15.73, en muestras compuestas el \bar{X} es de 19,538,899 de células somáticas y un (Le) de 15.83; para Corynebacterium bovis en muestras individuales se obtuvo un \bar{X} de células somáticas de 1,854,765 y un (Le) de 11.71, en muestras compuestas tenemos un \bar{X} de células somáticas de 158,107 y un (Le) de 10.60; con respecto a las otras bacterias se tiene que los promedios de células somáticas es menor de las 250,000 células a excepción de Bacillus spp que en muestras compuestas como en el cuadro III alcanzó los mismos valores.

En dos muestreos se manifiesta que para los casos de leches con no infección los \bar{X} de células somáticas están más elevadas que los de un muestreo, dando un segundo muestreo los \bar{X} siguientes: En muestras individuales el promedio de células es de 1,760,333 y su (Le) es de 10.30, en muestras compuestas tenemos un \bar{X} de células somáticas de 666,275 y un (Le) de 10.34; también cabe resaltar que si el promedio de células se vió aumentado, su logaritmos se mantuvieron con los resultados esperados.

En uno y dos muestreos se observa que tanto los promedios de células somáticas y sus logaritmos se encuentran sin un

cambio elevado o disminuido y se tiene que Streptococcus agalactiae -- conserva un \bar{X} de células somáticas de 21,372,839 y un (Le) de 15.62 en muestras individuales, en muestras compuestas tenemos un promedio de - células de 21,144,373 y un (Le) de 15.96; para Corynebacterium bovis - en muestras individuales el promedio es de 1,995,715 células somáticas y un (Le) de 11.41; en muestras compuestas se tiene un promedio de células somáticas de 328,051 y un (Le) de 12.02; las otras bacterias solo se mencionarán ya que sus promedios de células y sus logaritmos no son tan importantes como los anteriores y las bacterias que se aislaron son Staphylococcus spp, Micrococcus spp y Lactobacillus spp.

CUADRO III.- PROMEDIO DE CELULAS SOMATICAS RELACIONANDO LA INFECCION EN CUARTOS INDIVIDUALES Y MUESTRAS COMPUESTAS.

MUESTRAS SIN INCUBAR

ESTADO INFECTIVO	UN MUESTREO				DOS MUESTREOS			
	C.	L.	M.	C.	C.	L.	M.	C.
	\bar{X} cels. som.	Le						
NO INFECCION	723,076	9.77	19,913	11.02	1,911,462	10.53	539,232	10.65
<u>Streptococcus agalactiae</u>	25,910,327	15.92	19,538,899	15.84	26,618,021	15.72	21,144,373	15.96
<u>Staphylococcus spp</u>	350,317	12.23	199,939	12.06	455,722	12.43	190,659	11.96
<u>Corynebacterium bovis</u>	432,527	11.53	189,506	10.17	280,934	11.43	374,343	11.97
<u>Micrococcus spp</u>	86,803	10.77	79,053	10.83	---	---	288,314	12.57
<u>Bacillus spp</u>	55,902	10.92	7,130,364	15.77	---	---	---	---
G -	0	0	---	---	---	---	---	---
Levadura	162,758	11.77	---	---	---	---	---	---

\bar{X} cels. som. = Promedio de células somáticas (Igual para los demás cuadros).

Le = Logaritmo natural (Igual para los demás cuadros).

CUADRO IV.- PROMEDIO DE CELULAS SOMATICAS RELACIONANDO LA INFECCION DE MUESTRAS COMPUESTAS Y CUARTOS INDIVIDUALES.

MUESTRAS INCUBADAS POR 4 hrs.

ESTADO INFECTIVO	UN MUESTREO				DOS MUESTREOS			
	C. I.		M. C.		C. I.		M. C.	
	% cels.Som.	Le	% cels.som.	Le	% cels.som.	Le	% cels. som	Le
NO INFECCION	946,749	9.50	37,201	10.47	1,760,333	10.30	666,275	10.34
<u>Streptococcus agalactiae</u>	22,960,588	15.73	19,538,999	15.83	21,372,839	15.62	21,144,373	15.96
<u>Staphylococcus spp</u>	245,532	11.77	181,358	11.85	455,722	12.43	190,659	11.96
<u>Corynebacterium bovis.</u>	1,854,765	11.71	158,107	10.60	1,995,715	11.41	328,051	12.02
<u>Corynebacterium spp</u>	37,201	10.52	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
<u>Micrococcus spp</u>	158,107	10.85	223,206	12.23	- - -	- - -	188,314	12.57
<u>Bacillus spp</u>	55,802	10.92	7,130,364	15.77	- - -	- - -	- - -	- - -
G -	41,851	8.03	90,679	10.73	18,600	5.26	- - -	- - -
<u>Lactobacillus spp</u>	- - -	- - -	18,600	9.33	- - -	- - -	18,600	9.83
<u>Levadura</u>	260,413	12.47	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -

En el cuadro V se describe el porcentaje de infección y no infección de uno y dos muestreos individuales y compuestos sin incubar.

Los porcentajes en los análisis bacteriológicos de muestras negativas fueron para un muestreo del 21.05% y de un 34.21%, en dos muestreos. En estos resultados nuevamente encontramos que al considerar dos muestras consecutivas aumento el 10% de muestras negativas.

En la misma proporción disminuye el porcentaje de infección del 65.78% al 78.94%.

Para las muestras compuestas se tiene un aumento también del 10% dando valores porcentuales en un muestreo del 28.94% y de 42.70% en dos muestreos sin aislamiento de gérmenes.

En un muestreo con aislamiento bacteriano se dio el 71.05% de infección y en dos muestreos el 57.89%.

Aquí el 10% aumentó en un muestreo y disminuyó en un segundo muestreo con aislamiento bacteriano.

Cuadro VI.- En él se anota el porcentaje de infección y no infección de muestras por cuarto y muestras compuestas en uno y dos muestreos incubados durante 4 horas.

En las muestras individuales se tiene que un muestreo sin aislamiento bacteriano obtuvo un promedio del 7.89% y en dos muestreos alcanzó más del 20% de muestras sin aislamiento.

En cuartos con infección ó aislamiento de gérmenes tenemos para uno y dos muestreos el 92.10% y 71.05%, en donde un muestreo tiene más del 20% de infección con respecto a un segundo muestreo.

En las muestras compuestas se obtuvo el 10.52% en un muestreo sin --

aislamiento y en dos muestreos el 31.57%; aquí como en le caso anterior se tiene más del 20% de muestras sin infección en dos muestreos.

Igual sucede en casos con aislamiento bacteriano, solo que la diferencia porcentual está en un muestreo y los porcentajes en uno y dos muestreos fueron para cada uno de los casos del 89.47% y del 68.42%.

CUADRO V.- PORCENTAJE DE NO INFECCION E INFECCION EN MUESTRAS POR CUARTOS
Y MUESTRAS COMPUESTAS

MUESTRAS SIN INCUBAR

ESTADO INFECTIVO	MUESTRA INDIVIDUAL				MUESTRA COMPUESTA			
	1 muestra		2 muestras		1 muestra		2 muestras	
	#	%	#	%	#	%	#	%
NO INFECCION	8	21.05	13	34.21	11	28.94	16	42.10
INFECCION	30	78.94	25	65.78	27	71.05	22	57.89
T O T A L	38	99.99	38	99.99	38	99.99	38	99.99

CUADRO VI.- PORCENTAJE DE NO INFECCION E INFECCION EN MUESTRAS POR CUARTOS Y MUESTRAS COMPUESTAS.

MUESTRAS INCUBADAS POR 4 HRS.

ESTADO INFECTIVO	MUESTRA INDIVIDUAL				MUESTRA COMPUESTA			
	1 muestra		2 muestras		1 muestra		2 muestras	
	#	%	#	%	#	%	#	%
NO INFECCION	3	7.89	11	28.94	4	10.52	12	31.57
INFECCION	35	92.10	27	71.05	34	89.47	26	68.42
T O T A L	38	99.99	38	99.99	38	99.99	38	99.99

En el cuadro VII se menciona el porcentaje de infección en un muestreo comparando muestras sin incubar e incubadas durante 4 horas.

Los porcentajes que se dan en muestras sin ningún aislamiento bacteriano en cuartos individuales sin incubar es del 44.07% y en muestras compuestas del 28.94%. En el caso de muestras incubadas tenemos que en muestras individuales hay el 32.23% y en muestras compuestas el 10.52%. Tanto en cuartos individuales como en muestras compuestas sin incubar se observa respectivamente, un 10 y 15% de aumento en relación con las muestras incubadas.

Donde se logró el aislamiento de microorganismos en la leche se tiene que los gérmenes más representativos son: Streptococcus agalactiae con el 16.44% en cuartos individuales sin incubar, 31.57% en muestras compuestas sin incubar; en muestras individuales incubadas se tiene el 16.44% y en muestras compuestas incubadas del 31.57%. Se puede notar que tanto en muestras incubadas y sin incubar se obtuvo el mismo porcentaje de infección. Para Corynebacterium bovis en muestras sin incubar se tiene el 30.92% en muestras individuales y el 21.05% en muestras compuestas, en muestras incubadas el porcentaje para cuartos individuales es del 33.55% y en muestras compuestas del 26.31% , como en el caso anterior no hay un cambio representativo en los porcentajes de infección.

Con los otros microorganismos no tan representativos como los anteriores se puede decir que se aislaron con iguales porcentajes tanto en muestras incubadas como sin incubar.

El cuadro VIII presenta el porcentaje de infección en dos muestreos -

comparando muestras sin incubar e incubadas durante 4 horas para las muestras con aislamiento bacteriano se tienen los siguientes datos -- en cuartos individuales sin incubar el 59.21%, en muestras compuestas sin incubar el 42.10%. En las muestras individuales incubadas tenemos el 50.65% y en muestras compuestas el 31.57%.

Hay un aumento del 8 y 10% de no aislamientos en muestras sin incubar en relación a las muestras incubadas.

Los patógenos aislados son Streptococcus agalactiae que tiene en muestras individuales sin incubar e incubadas el 12.50% en el primer caso y el 15.13% para el segundo (incubadas); en muestras compuestas sin incubar tenemos el 28.94% en las dos situaciones.

Para Streptococcus agalactiae hubo muy poca diferencia en cuartos individuales incubadas en comparación con las no incubadas que fue de un 2.5% aproximadamente de aumento para las muestras incubadas. Corynebacterium bovis en las muestras individuales sin incubar tiene el -- 25.65% y en muestras compuestas el 21.05%; en muestras individuales incubadas se tiene el 30.25% y en muestras compuestas el 28.94%. Aquí solo hubo un aumento en las muestras incubadas del 4 y 7%.

Las otras bacterias aisladas alcanzaron porcentajes que van del 2% al 5% tanto en muestras incubadas como sin incubar.

CUADRO VII.- PORCIENTO DE INFECCION EN UN MUESTREO COMPARANDO MUESTRAS SIN INCUBAR E INCUBADAS.

ESTADO INFECTIVO	MUESTRA SIN INCUBAR				MUESTRAS INCUBADAS POR 4 HRS.			
	UN MUESTREO				DOS MUESTREOS			
	C.		I.		C.		I.	
	#	%	#	%	#	%	#	%
NO INFECCION	67	44.07	11	28.94	49	32.23	4	10.52
<u>Streptococcus agalactiae</u>	25	16.44	12	31.57	25	16.44	12	31.57
<u>Staphylococcus</u> spp	6	3.94	4	10.52	10	6.57	4	10.52
<u>Corynebacterium bovis</u>	47	30.92	8	21.05	51	33.55	10	26.31
<u>Corynebacterium</u> spp	--	---	--	---	1	0.65	--	---
<u>Micrococcus</u> spp	3	1.97	2	5.26	6	3.94	2	5.26
<u>Bacillus</u> spp	1	0.65	1	2.63	1	0.65	1	2.63
G -	1	0.65	--	---	8	5.26	4	10.52
<u>Lactobacillus</u> spp	--	---	--	---	--	---	1	2.63
Levadura	2	1.31	--	---	1	0.65	--	---
T O T A L	152	99.95	38	99.97	152	99.94	38	99.96

CUADRO VIII.- PORCIENTO DE INFECCION EN DOS MUESTREOS COMPARANDO MUESTRAS SIN INCUBAR E INCUBADAS.

ESTADO INFECTIVO	MUESTRA SIN INCUBAR				MUESTRAS INCUBADAS POR 4 HRS.			
	DOS MUESTREOS				DOS MUESTREOS			
	C.	I.	M.	C.	C.	I.	M.	C.
	#	%	#	%	#	%	#	%
NO INFECCION	90	59.21	16	42.10	77	50.65	12	31.57
<u>Streptococcus agalactiae</u>	19	12.50	11	28.94	23	15.13	11	28.94
<u>Staphylococcus spp</u>	4	2.63	2	5.26	4	2.63	2	5.26
<u>Corynebacterium bovis</u>	39	25.65	8	21.05	46	30.26	11	28.94
<u>Micrococcus spp</u>	--	---	1	2.63	--	---	1	2.63
G -	--	---	--	---	2	1.31	--	---
<u>Lactobacillus spp</u>	--	---	--	---	--	---	1	2.63
T O T A L	152	99.99	38	99.98	152	99.98	38	99.97

En el cuadro IX se presenta la comparación del grado de infección en base a los resultados obtenidos, se comparan así mismo las infecciones de acuerdo al criterio de una sola muestra y al criterio de dos muestras consecutivas.

en muestras individuales, sin incubar, el porcentaje de muestras negativas (no infección) fue del 21.05% en una sola muestra. Estas mismas muestras, después de su incubación presentaron solamente el 7.89% de no infección, lo que significa que la incubación esta dando un 13% menos de infección en relación a muestras frescas.

La disminución de infecciones al confrontar los resultados de una y dos muestras fue del 13% en muestras sin incubar y del 21% en muestras incubadas. Así para muestras frescas se obtuvo un 78.94% de infección en una sola muestra y un 65.78% considerando dos muestras consecutivas. En muestras incubadas los porcentajes fueron de 92.10% y 71.05% respectivamente.

Cuadro X.- En el se dan los porcentajes de infección y no infección de muestras combinadas sin incubar e incubadas durante 4 horas.

En muestras de leche donde no se pudo aislar ningún germen tenemos para un muestreo sin incubar el 28.94% y en dos muestreos el 42.10%. Las muestras incubadas nos dan en un muestreo el 10.52% y en dos muestreos el 31.57%.

Para los mencionados resultados se aprecia el cambio en muestras sin incubar donde fué mayor el porcentahe de muestras sin infección en relación a las muestras incubadas y así tenemos un aumento del 18% en un muestreo sin incubar y un 10% en dos muestreos sin incubar.

Para los casos donde hubo infección tenemos en un muestreo sin incubar el 71.05% y en dos muestreos sin incubar el 57.89% en muestras incubadas para un muestreo se obtuvo el 89.47% y en dos muestreos incubando un 68.42%.

Siguiendo el mismo criterio que en las muestras sin aislamiento de germens, tenemos un aumento del 18% en un muestreo con incubación durante 4 horas y un 10% en dos muestreos en relación a muestras sin incubar.

CUADRO IX.- PORCIENTO DE NO INFECCION E INFECCION EN MUESTRAS SIN INCUBAR E INCUBADAS.

ESTADO INFECTIVO	MUESTRA SIN INCUBAR				MUESTRAS INCUBADAS POR 4 HRS.			
	MUESTRA INDIVIDUAL				MUESTRA INDIVIDUAL			
	1 muestreo		2 muestreos		1 muestreo		2 muestreos	
	#	%	#	%	#	%	#	%
NO INFECCION	8	21.05	13	34.21	3	7.89	11	28.94
INFECCION	30	78.94	25	65.78	35	92.10	27	71.05
T O T A L	38	99.99	38	99.99	38	99.99	38	99.99

CUADRO X.- PORCENTAJE DE NO INFECCION E INFECCION EN MUESTRAS COMBINADAS SIN INCUBAR E INCUBADAS.

ESTADO INFECTIVO	MUESTRA SIN INCUBAR				MUESTRA INCUBADA POR 4 HRS.			
	MUESTRA COMBINADA				MUESTRA COMBINADA			
	1 muestra		2 muestras		1 muestra		2 muestras	
	#	%	#	%	#	%	#	%
NO INFECCION	11	28.94	16	42.10	4	10.52	12	31.57
INFECCION	27	71.05	22	57.89	34	89.47	26	68.42
T O T A L	38	99.99	38	99.99	38	99.99	38	99.99

En el cuadro XI se anotan los porcentajes de infección sin incubar, individuales y compuestas en diferentes establos. Los resultados de no infección en muestras individuales sin incubar e incubadas nos dan el 44.24% y el 37.37% respectivamente y en muestras compuestas sin incubar e incubadas el 24.59% y el 19.67% respectivamente, lo que significa un ligero aumento de muestras positivas en el caso en el que las muestras fueron incubadas.

En resultados donde hubo aislamiento de gérmenes ó infección, se observo que: Streptococcus agalactiae tiene en cuartos individuales sin incubar e incubados el 11.51% y el 12.72%; para muestras compuestas sin incubar e incubadas el 22.13% y el 22.95%; Corynebacterium bovis en cuartos individuales sin incubar e incubadas nos dan el 22.62% y el 23.03%; en muestras compuestas sin incubar e incubadas tenemos el 13.03% y el 17.21%. Micrococcus spp para cuartos individuales sin incubar e incubados tenemos el 8.48%; en muestras compuestas sin incubar e incubadas el 15.57% y el 11.47%. Staphylococcus spp tiene en cuartos individuales sin incubar e incubados el 6.86% y el 7.47%; en muestras compuestas sin incubar e incubadas nos da el 13.93% y el 13.11%.

Los resultados obtenidos tienen mucha similitud en relación al número de aislamientos logrados a partir de ambos tipos de muestras, siendo en ocasiones el mismo (Bacillus spp en muestras compuestas), otros ligeramente más bajos (Staphylococcus en muestras compuestas). La diferencia de mayor importancia fué para el caso de bacterias Gram (-), en las que para muestras individuales hubo una diferencia del 4% y un 8% en muestras compuestas.

En el cuadro XII los porcentajes obtenidos describen en grado de infección en relación a células somáticas y promedios logarítmicos de muestras incubadas y sin incubar en diferentes estabos las muestras sin aislamiento bacteriano tienen un promedio de células somáticas de 1,136, 603 y un (Le) de 9.95, para cuartos individuales sin incubar y en muestras incubadas nos da un promedio de células de 1,341,809 y un (Le) de 10.03; en muestras compuestas tenemos un promedio de 341,849 y un (Le) de 10.73 en casos sin incubar, e incubados es el promedio de células somáticas de 540,800 con un (Le) de 10.88, en base a esto se puede decir que el promedio de células en cuartos individuales incubados se obtuvo un aumento de 200,000 células somáticas en comparación con muestras sin incubar.

Al igual que en los cuadros anteriores, en este se presentan los promedios de células somáticas en base a los aislamientos que son más representativos para el estudio.

Se tiene que para Streptococcus agalactiae el promedio de células somáticas en cuartos individuales sin incubar e incubados fue para cada uno de 21,369,911 con un (Le) de 15.09 y de 18,258,989 con un (Le) de 14.83 en muestras compuestas sin incubar es de 17,659,997 y un (Le) de 15.29, en muestras compuestas incubadas es de 15,767,557 y su (Le) es de 15.26. Aquí se puede notar que en muestras individuales tenemos una diferencia de aproximadamente 3,110,922 células entre muestras sin incubar e incubadas y que su logaritmo mantiene equivalencia en sus datos, esto es que no se aumento ninguno de los dos datos significativamente. Para muestras compuestas la diferencia fué en muestras sin incubar, aumentando un promedio de 800,000 células somáticas, pero como en

el caso anterior, sus logaritmos no presentan cambios representativos. En los demás casos hay algunas variantes, ya que en muestras incubadas no se logra recuperar el microorganismo como en las muestras sin incubar, pero la fluctuación en el promedio de células va desde 1,000,000 de células somáticas hasta la diferencia de 400,000 células somáticas, para ello solo se mencionan las bacterias que se encontraron, sin anotar su promedio de células somáticas: Corynebacterium bovis, Staphylococcus aureus, Staphylococcus spp, Corynebacterium spp, Micrococcus spp, Bacillus spp, Lactobacillus spp, Gram (-), Aerococcus spp y Levaduras. En cuanto a sus logaritmos como ya se mencionó anteriormente se encuentran dentro de los promedios esperados, esto es que están iguales y no hubo cambios representativos de comparación.

CUADRO XI.- PORCENTAJE DE INFECCION Y NO INFECCION COMPARANDO MUESTRAS INDIVIDUALES Y COMPUESTAS SIN INCUBAR E INCUBADAS (DIFERENTES ESTABLOS).

ESTADO INFECTIVO	MUESTRAS SIN INCUBAR				MUESTRAS INCUBADAS POR 4 HRS.			
	C.		I.		C.		I.	
	#	%	#	%	#	%	#	%
NO INFECCION	219	44.24	30	24.59	185	37.37	24	19.67
<u>Streptococcus agalactiae</u>	57	11.51	27	22.13	63	12.72	28	22.95
<u>Staphylococcus spp</u>	34	6.86	17	13.93	37	7.47	16	13.11
<u>Staphylococcus aureus</u>	3	0.60	3	2.45	3	0.60	2	1.63
<u>Corynebacterium bovis</u>	112	22.62	22	18.03	114	23.03	21	17.21
<u>Corynebacterium spp</u>	--	--	--	--	1	0.20	--	--
<u>Micrococcus spp</u>	42	8.48	19	15.57	39	7.87	14	11.47
<u>Bacillus spp</u>	12	2.42	2	1.63	19	3.83	2	1.63
<u>Lactobacillus spp</u>	1	0.20	--	--	1	0.20	4	3.27
G -	4	0.80	--	--	24	4.84	10	8.19
<u>Aerococcus spp</u>	1	0.20	--	--	--	--	--	--
Levadura	10	2.02	2	1.63	9	1.81	1	0.81
T O T A L	495	99.95	122	99.91	495	99.94	122	99.94

CUADRO XII.- PROMEDIO DE CELULAS SOMATICAS Y ESTADO INFECTIVO BASADO EN MUESTRAS SIN INCUBAR E INCUBADAS DE CUARTOS INDIVIDUALES Y MUESTRAS COMPUESTAS (DIFERENTES ESTABLOS).

ESTADO INFECTIVO	MUESTRAS SIN INCUBAR				MUESTRAS INCUBADAS POR 4 HRS.			
	C.	I.	M.	C.	C.	I.	M.	C.
	\bar{X} cels./som.	Le	\bar{X} cels./som.	Le	\bar{X} cels./som.	Le	\bar{X} cels./som.	Le
NO INFECCION	1,136,603	9.95	341,849	10.73	1,341,809	10.03	540,800	10.88
<u>Streptococcus agalactiae</u>	21,369,911	15.09	17,659,997	15.29	18,258,989	14.83	16,767,557	15.26
<u>Staphylococcus spp</u>	658,848	11.32	1,960,029	12.78	607,439	11.24	1,631,651	12.53
<u>Staphylococcus aureus</u>	1,231,044	12.68	694,436	12.86	124,005	11.54	204,610	12.13
<u>Corynebacterium bovis</u>	616,523	11.67	224,056	11.13	1,142,262	11.34	569,838	11.44
<u>Corynebacterium spp</u>	- - -	- - -	- - -	- - -	37,201	10.52	- - -	- - -
<u>Micrococcus spp</u>	641,948	11.24	699,624	12.12	554,934	11.06	366,703	12.01
<u>Bacillus spp</u>	3,899,998	10.74	3,690,738	14.10	2,552,717	11.38	3,690,738	14.10
<u>Lactobacillus spp</u>	55,802	10.92	- - -	- - -	176,709	12.08	37,201	10.34
G -	88,354	8.33	- - -	- - -	422,517	10.15	571,430	11.56
<u>Aerococcus spp</u>	1,460,174	14.19	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
<u>Levadura</u>	1,138,935	13.38	277,861	12.26	1,014,371	12.50	100,000	11.51

El cuadro 1 muestra las proporciones generales para la variable infección con respuesta (si,no) y el cuadro 2 el análisis de varianza, donde se observaron diferencias estadísticas en los efectos principales — ($P < .01$), la no incubación fue superior a la si incubación (48.42% contra 37.37%), ubre individual fue superior a ubre completa (46.55% contra 28.29%) y muestreo dos sobre muestreo uno (51.32% contra 34.47%) — no se encontraron diferencias estadísticas ($p > .05$) en las interacciones entre efectos.

CUADRO 1

INCUBACION

MUESTREO	NO			SI			PROP.
	UBRE			UBRE			
	INDIVIDUAL	COMPLETA	PROP.	INDIVIDUAL	COMPLETA	PROP.	
1	.4408 (152)	.2895 (38)	.4105 (190)	.3224 (152)	.1053 (38)	.2789 (190)	.3447 (380)
2	.5921 (152)	.4211 (38)	.5579 (190)	.5066 (152)	.3158 (38)	.4684 (190)	.5132 (380)
PROP.	.5164 (304)	.3553 (76)	.4842 (380)	.4145 (309)	.2105 (76)	.3737 (380)	.4289 (260)

C U A D R O 2

ANALISIS DE VARIANZA

Origen de la varianza	gl.	c.m.
Incubación (I)	1	2.3211**
Ubres (U)	1	4.0530**
I X U	1	0.0555
Muestreo (M)	1	5.3895**
I X M	1	0.0841
U X M	1	0.0003
I X U X M	1	0.0162
Error	752	0.023

** Significativo $P < .01$

gl = grados de libertad

c.m. = cuadrados medios.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

En los resultados obtenidos, tanto en muestras compuestas como en muestras por cuarto, se observo un incremento significativo de glándulas mamarias no infectadas al tomar en cuenta el diagnóstico basado en dos muestreos consecutivos. Por lo tanto disminuye así el número de animales infectados con microorganismos no patógenos.

En cuanto a la toma de dos muestras el margen de error se ve disminuido y la influencia de contaminación puede eliminarse.

El número de cuartos infectados por bacterias es similar en los cuatro casos.

El conteo de células somáticas por mililitro es parecido a resultados obtenidos en otros estudios (10).

En el único caso donde no hubo cambios al diagnosticar mastitis, metiendo todas las variables antes mencionadas, fue el caso Streptococcus agalactiae.

En el presente estudio donde se muestran los cuadros con la obtención de su logaritmo natural se puede observar una mayor correlación del estado infectivo de la glándula mamaria.

Por los resultados obtenidos podemos concluir dos tipos de muestreos dependiendo del microorganismo que se pretenda aislar:

- 1) Para el caso de Streptococcus agalactiae se recomienda:
 - a) Tomar una sola muestra (un solo día).
 - b) Tomar leche de los cuatro cuartos (muestra compuesta).
 - c) No incubar la leche.

2) Para aislar otras bacterias y diagnosticarlas como causantes de mas titis es necesario hacer lo siguiente:

- a) Tomar dos muestras consecutivas (esto es por dos días seguidos).
- b) Las muestras deben ser por cuarto (muestreo individual).
- c) Incubarlas por cuatro horas para posteriormente sembrarlas.

LITERATURA CITADA

- 1) Brown, R.W., Barnum, D.A., Jasper, D.E. McDonald, J.S. and Schulze W.D., 1981: Microbiological procedures for the diagnosis of bovine mastitis, 2th ed. National Mastitis Council Inc. Washington, D.C.
- 2) Campos, R.V., Castillo, R.F., Murillo, S.E., Pérez, D.M. y Velázquez, Q.F., 1981: Manual de Técnicas para el Análisis Físico Químico de la leche. I . N . I . P .
- 3) Carter, G.R., 1978: Diagnostic Procedures in Veterinary Microbiology 2th ed. Charles C. Thomas, Springfield Illinois. U.S.A. 254-259.
- 4) Eberhart, R.J. Buchkalew, J.M., 1977: Intramamary infections in a Herd with a low incidence of Streptococcus agalactiae and Staphylococcus aureus infections. J.A.V.M.A., 171:630.
- 5) Jasper, D.E., Dellinger, J.D. and Bushnell, R.R., 1974: Agreement of duplicate samples of milk for the evaluation of quarter infection. Am. Jour. Vet. Res. 5: 1371.
- 6) Morse, G.E., 1967: Studies of bovine mastitis. A bacteriological and correct method of culturing milk, for the detection of udder infection. Proceedings of the 71st Annual Meeting. United States Livestock Sanitary. ASSN pg 596.
- 7) Neave, F.K., 1975: Diagnosis of Mastitis by bacteriological methods alone proceedings Seminar on Mastitis Control. Int. Dairy Federation Brussels, Belgium pg. 19.
- 8) Pérez, M., 1982: Manual Sobre Ganado Productor de Leche. 1a. ed. Editorial Diana.
- 9) Fostle, D.F., 1976: Observations on bacteriologic isolations

from pair of quarter milk samples J.A.V.M.A., 168:220.

- 10) Schalm, O.W., Carrol, E.J. and Jain, N.C., 1971: Bovine Mastitis Lea & Febiger, Philadelphia U.S.A. Pgs 94-105, 158-161, 182-349.
- 11) Snedecor, G.W. and Cochran, W.G., 1973: Statistical Methods. 6th ed. the Iowa State University Press. Ames, Iowa, U.S.A. pg 20-26.
- 12) Trejo, J.R., 1978: Consideraciones Económicas de los Efectos de la Mastitis sobre la Producción de Leche. Curso de Actualización sobre Mastitis Bovina U.N.A.M. pg. 27-40.