



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN**

**AISLAMIENTO DE *Nocardia asteroides* DE CASOS DE MASTITIS GRANULOMATOSAS EN
VACAS LECHERAS (HOLSTEIN—FRIESIAN) EN UNA EXPLOTACIÓN DE CARÁCTER
INTENSIVO Y EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIÓTICOS *in vitro*.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

JESÚS DE NAZARE ZA VALETA HERNÁNDEZ

ASESORES:

MVZ. SUSANA ELVIRA GARCÍA VÁZQUEZ

MVZ. RUPERTO JAVIER HERNÁNDEZ BALDERAS



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES
ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos
comunicar a usted que revisamos la Tesis :

Aislamiento de Nocardia asteroides de casos de mastitis granulomatosas
en vacas lecheras (Holstein-Friesian) en una explotación de carácter -
intensivo y evaluación de la sensibilidad a los antibióticos in vitro.
que presenta el pasante: Jesús de Nazare Zavaleta Hernández
con número de cuenta: 9533704-5 para obtener el título de :
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en
el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 28 de Abril de 2006.

PRESIDENTE	<u>MZ. Susana Elvira García Vázquez</u>	
VOCAL	<u>MZ. Miguel Angel Pérez Ortega</u>	
SECRETARIO	<u>M.A. Antonio Gómez Alcántara</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>Dr. Miguel Angel Comejo Cortés</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>MZ. Melitón Lara Rocha</u>	

DEDICATORIA

Sin lugar a dudas es un apartado en donde no quisiera dejar fuera absolutamente a nadie, puesto que para mi todas la personas presentes en mi vida son muy importantes, así que me confiare a mi memoria que como saben no es muy buena, para mencionar de manera cronológica a todas la personas que participaron directa o indirectamente en la realización de este trabajo y otros tantos que sin participar han sido motivo de alegría y orgullo en mi vida.

Iniciare por agradecer a dos mujeres que fueron parte fundamental de que yo llegara a donde me encuentro y me refiero a la Sra. Clara F. Rivero Baños mi abuela, y a la Maestra María C. Curiel mi querida Miss, ambas participaron activamente en desarrollar mis capacidades como individuo forjando mi carácter, moldeando y fertilizando mi pensamiento, ambas estuvieron atentas de mi desarrollo educativo y personal hasta el día que dejaron de estar entre nosotros, con cariño a ellas les dedico este logro.

Siguiendo la línea del tiempo aparece mi luchadora e infatigable familia que merecen cabalmente esos calificativos, ya que han sido el motor de mis inspiraciones y anhelos profesionales y personales, el ejemplo que tengo de mi familia es el trabajo, el esfuerzo y el sacrificio. A ellos les debo mucho de lo que soy, y definitivamente debo reconocer que este logro ha sido posible por ese gran trabajo en equipo que hemos realizado; mi padre Ángel del que solo conozco el compromiso y la responsabilidad de ser trabajador y que ha sido un buen padre, mi madre Maurilia de la que solo he recibido amor, dulzura, cariño y afecto, y en esta vida con eso basta y sobra, no menos importante la pequeña Clara mi hermana, con la que ha últimas fechas nuestros lazos se han ido reforzando y para la cual espero ser un ejemplo, así como ella para mi es una motivación para demostrar que en la vida es querer y poder. A toda esa gran familia regada entre Oaxaca y Guerrero Tíos y Tías, primas y primos, a ustedes les dedico este nuestro logro.

Otras grandes personas presentes en mi vida han sido mis inseparables “brothers” con los que he compartido grandes momentos de nuestras vidas tanto victorias como derrotas, sueños y anhelos, pero sobre todo nuestra gran amistad ya que somos hermanos sin tener la misma sangre lo cual solo con muy pocas personas se puede tener, y ellos son Esteban, Héctor y Víctor, gracias por brindarse como son. Debo decir que en la facultad también encontré almas gemelas con las que me identifique plenamente y que hoy en día siguen siendo personas muy importantes tanto en lo personal como en lo profesional y me refiero a mis compadres Abel y Emmanuel, mis queridas amigas Adriana, Ángeles, Diana, Jehieli, Iliana, Mónica y Rocío que siempre estuvieron para apoyarme y darme ánimos para terminar la carrera. La palomilla que siempre estuvo presente en las buenas y las malas como Manolo, Pancho, Joaco, Juanin, Charly y Lazarillo.

DEDICADO PARA TODOS USTEDES

AGRADECIMIENTOS.

Si bien a mi facultad le tendré un cariño especial por el resto de mi vida, debo resaltar que fueron sus profesores los que me motivaron a llegar al final de la carrera y a ellos les confirmo su gran calidad como docentes y debo agradecer a los MVZ's Marco Antonio Fajardo Román, Jorge Torres Martínez, Gilberto Ochoa Uribe, Rocío Silva Mendoza, Joaquín Rivera Quiroz, Lucía García Camacho, Juan Carlos del Río, Ramón González Pacheco, Carlos Flores Vázquez, Ignacio Rangel Rodríguez, Alfredo Cuellar Ordaz, Valentino Villalobos García, Pablo Correa Girón, Luis Arturo Navarro Morales, José Ortega Sánchez de Tagle, Felipe de Jesús Cortes Delgadillo y Fernando Viniegra Rodríguez.

Otro agradecimiento muy particular es para mis grandes amigos los Tizayucos empezando por el laboratorio de Diagnóstico del CAIT y a los doctores Mario B. Santa Cruz Aguilar y José Antonio Vázquez García, que me ayudaron a la colección de las muestras y el análisis de los resultados. También a las laboratoristas Irene Resendiz Gonzáles y María Cruz Vizcarra Romero que me resolvieron mis dudas y me ayudaron en todo en el laboratorio. A los Médicos responsables de la Ruta de Control de mastitis Fernando Sánchez Treviño y Heriberto Navarrete Romero por permitirme acercarme a su quehacer profesional, y al MVZ responsable de los servicios médicos del CAIT. Rafael Soto Castor por las facilidades otorgadas para la realización de mi trabajo. Debo destacar que mi llegada al CAIT no hubiera sido la misma si no me hubiera recibido el más admirable matrimonio de médicos que he conocido, los MVZ's Carlos García Ortiz y Beatriz Peña, que con sus consejos y calidad personal me han instruido en la labor de ser médico, a todos ellos les digo MIL GRACIAS.

Es cierto aquello de que la ayuda llega de quien menos la esperas y por su valiosa colaboración en la obtención del material para realizar mi trabajo les agradezco a los MVZ's Elizabeth Quezada y Jesús Arturo Sandoval que me apoyaron con mucho, pero sobre todo con sus palabras. Debo resaltar la valiosa participación del MVZ Ernesto Fausto Ríos en la realización del material que ilustra mi tesis, por todos tus consejos gracias Neto. Y ni que decir de la valiosísima ayuda en el laboratorio de bacteriología de la FESC de los MVZ's Maria del Consuelo Álvarez Rodríguez y Marco Antonio Mendoza Saavedra que me tuvieron la paciencia para soportarme pero sobre todo de enseñarme de un área indispensable para todo médico. Además agradezco al LC. Clemente García Bizarro y a su hija la MVZ. Diana García Ugalde por el apoyo en la impresión de este trabajo.

Y ni que decir de mis asesores son pocas las estrellas convertidas en palabras para expresarles mi eterno agradecimiento, y que valoro mucho que hayan tenido la confianza necesaria para jugársela conmigo, que de no haber sido por su ayuda la realización de mi tesis sinceramente hubiera sido imposible. A la Dra. Susana Elvira García Vázquez que no ha dejado de resolverme una sola duda que le haya manifestado, me ha apoyado en los momentos más difíciles, que me ha dado la oportunidad de la docencia, pero sobre todo que me ha enseñado su gran calidad humana y profesional. Y el Dr. Javier Hernández Balderas que más que hacerme su colaborador me ha hecho su amigo lo cual ha sido un honor del cual me siento orgulloso, y para mi se ha convertido en mi guía del quehacer profesional enseñándome y preparándome día a día.

PARA USTEDES MUCHAS GRACIAS

“La inmortalidad no existe, solo existe el recuerdo que dejamos en la memoria de los hombres”.

Napoleón Bonaparte.

“No hay hombre más desdichado que el que nunca probó la adversidad”.

Demetrio.

“Dios me ha dado el talento, mi deber es la excelencia”.

Miguel Ángel.

La prosperidad no es una medida; sólo la adversidad sirve para pesar a los amigos”.

Plutarco.

“El azar favorece a las mentes preparadas”.

Luis Pasteur.

ÍNDICE

	PÁG.
RESÚMEN	1
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO II	
OBJETIVOS	47
CAPÍTULO III	
MATERIAL Y MÉTODO	48
CAPÍTULO IV	
RESULTADOS	55
CAPÍTULO V	
DISCUSIÓN	76
CAPÍTULO VI	
CONCLUSIÓN	79
Fuentes de Consulta	81

P R O L O G O .

Si hay algo de bueno en el trabajo que voy a presentar para obtener el título de “Médico Veterinario Zootecnista”, si hay en este humilde estudio algo de noble que pueda servir de guía a quienes tengan interés de conocerlo, todo se debe a la orientación que supieron, brindarme mis asesores, amigos y maestros. Sin sus sabias orientaciones, todo quizá hubiera sido casi imposible para mi que, escaso de conocimientos y experiencias, voy a iniciarme en la ardua, pero bella tarea de la profesión.

Sin embargo, en lo que a mí concierne, puedo asegurar que he puesto en este asunto todo mi empeño, todo mi interés y todo mi amor a la carrera y sin pecar de petulante, creó haber cumplido fielmente con uno de los primeros compromisos que la profesión pone delante de uno al iniciarse.

Con objeto de realizar un trabajo que encierra un tema de importancia, y a mi juicio bien fundamentado, he tenido a la vista todos los textos que consideré necesarios para formular y enriquecer mi tema; consulté a diversos y reconocidos autores de las revistas científicas más importantes a nivel mundial, lo que indudablemente dará más luz en la interpretación de mi tesis.

A pesar de todo el esfuerzo y sacrificio que puse en este trabajo considero que en mucho es defectuoso y deficiente, pero de la indulgencia de ustedes señores del jurado, espero su aprobación, por lo que les deberé eterna gratitud, y a nuestra amada facultad, imperecedero recuerdo.

EL SUSTENTANTE.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo analizar la frecuencia de mastitis clínicas granulomatosas producidas por *Nocardia asteroides* en una explotación de tipo comercial intensiva ubicada al sureste del Estado de Hidalgo, que cuenta con 126 establos y una población aproximada de 28,000 vacas lecheras de la raza Holstein–Friesian. Se seleccionaron 13 establos con animales que presentaban continuos reportes de problemas en glándula mamaria, realizándose la toma de muestras a cien vacas que presentaron mastitis clínicas, las cuales se muestrearon en su totalidad, colectando las muestras de leche que fueron refrigeradas y remitidas al Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán campo cuatro, para ser inoculadas en agar sangre. De las cien muestras trabajadas se encontraron los siguientes agentes involucrados: en 19 de ellas se aisló *Staphylococcus aureus*, en 16 *Streptococcus agalactiae*, en 12 *Nocardia asteroides*, en 4 *Bacillus cereus*, en 4 *Escherichia coli*, en 2 se aislaron otras enterobacterias, en 1 se aisló *Arcanobacterium pyogenes*, en 1 *Clostridium spp.* y 1 con levaduras, 9 muestras se contaminaron y 31 muestras sin crecimiento de microorganismos.

Las 12 muestras a partir de las cuales se aisló *Nocardia* se sembraron en SDA (Agar Dextrosa Sabouraud) para ser purificadas y posteriormente identificadas por las pruebas primarias y las pruebas de caracterización bioquímica. La especie identificada fue *Nocardia asteroides*, una vez conocido el microorganismo se procedió a realizar la prueba de difusión en agar con unidiscos

comerciales para detectar la sensibilidad a antimicrobianos, donde se les desafió con 20 diferentes antimicrobianos, resultando muy sensibles a la Tetraciclina (24 mm), Enrofloxacin (21 mm) y Neomicina (21 mm), menor sensibilidad a la Vancomicina (12 mm) y Kitasamicina (11 mm), teniendo una resistencia muy marcada hacia los antimicrobianos Amikacina, Amoxicilina, Ampicilina, Ceftiofur sódico, Dicloxacilina, Eritromicina, Estreptomina, Florfenicol, Fosfomicina, Gentamicina, Kanamicina, Lincomicina, Penicilina, Sulfamidas y Ubramicina. Estadísticamente se demostró que existe una diferencia significativa importante en los halos de inhibición de los cinco antimicrobianos analizados, mostrando una significancia de 1 en 10 000 debido probablemente a las diferentes concentraciones a las que se manejan comercialmente, en el caso de las Tetraciclinas se encontró una desviación estándar de 4.15240, para la Enrofloxacin de 2.42462 y de 10.26468 para la Neomicina, al análisis se obtuvo una media total de 18.3833 en un total de 60 pruebas realizadas con una desviación estándar de 7.53093. Observándose una diferencia de medias significativa al nivel de 0.05 entre los grupos de antimicrobianos analizados. Se observó que el mayor número de vacas afectadas con mastitis clínica fueron las de primer parto con un 27%, de segundo parto 25%, tercer parto 16%, cuarto parto 15%, quinto parto 6%, sexto parto 8%, séptimo parto 2% y de noveno parto 1%. En relación a los cuartos afectados en el 89% se observaron todos los cuartos afectados, el 6% correspondió al cuarto anterior derecho, el 3% al posterior izquierdo y el 2% al posterior derecho. En el mayor número de vacas muestreadas de un establo se observó una media de partos de 2.9859, con una desviación estándar de 1.82438 en ese caso.

C A P Í T U L O I

INTRODUCCIÓN

El inicio de la domesticación de los bovinos muy probablemente se dio durante la edad de piedra en Europa y Asia, quizá dentro del origen ancestral de las líneas de sangre de los *Bos taurus* y *Bos indicus*. Como otros animales, los bovinos fueron originalmente cazados y utilizados como una fuente de alimento y otros materiales y, siguiendo el avance de la civilización, el hombre cultivó el suelo originando la agricultura y la domesticación del ganado.²⁸

A medida que fueron creciendo las poblaciones las demandas de alimento se incrementaron y el hombre comenzó a controlar la producción animal. Así, los animales fueron seleccionados por sus características de rápido crecimiento y producción de leche, acontecimiento que se concibe hoy por hoy como el origen ancestral de la zootecnia dado que existen registros de vacas que fueron ordeñadas desde el año 9000 a. C. Este fenómeno histórico nos indica la relación de estrecha convivencia entre el hombre y los bovinos.²⁸

Como ejemplo de ello tenemos la recomendación del griego Hipócrates acerca del consumo de leche como medicina cinco siglos antes de Cristo.²⁸ De tal manera que la Biblia hace mención de la leche, basta recordar Éxodo 3: 8 “la tierra

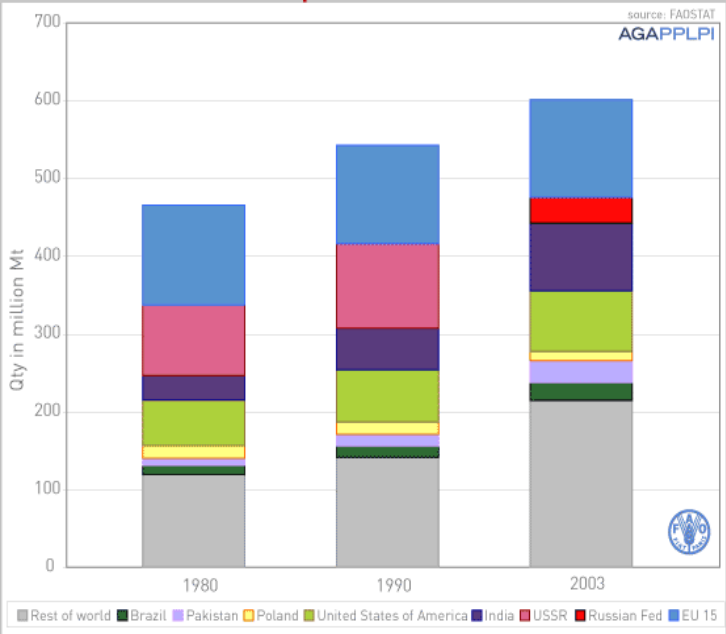
que mana leche y miel” refiriéndose a la tierra prometida a Moisés por Jehová para su pueblo Israel, cuando son conducidos por el desierto, dándole relevancia a la leche como un alimento. Incluso la palabra pecuaria que se refiere al ganado, tiene su origen en el latín “pecunia” que durante el esplendor del imperio Romano significaba dinero.²⁸

Situación Actual.

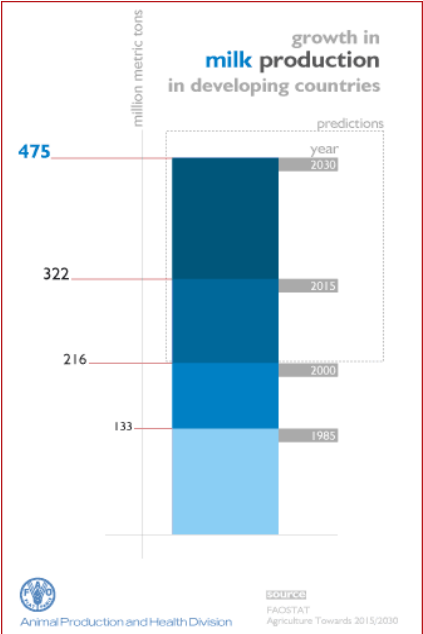
Actualmente la producción pecuaria está creciendo más rápido que otros subsectores agrícolas y se predice que para el año 2020, la ganadería proveerá más de la mitad de la producción agrícola global en términos de valor.³⁰ El ganado o los animales para producción de leche, carne y huevos, son el núcleo de la industria en cada sociedad humana⁷⁸ y, entre más avanzada y estable económicamente sea la sociedad, más dependiente es de los alimentos derivados de los animales. La producción pecuaria es una parte integral de la conversión del forraje y los granos producidos en el campo en productos con un valor agregado. Tal es el caso de la leche.^{29,78}

La leche es un alimento completo, equilibrado y nutritivo, por lo que es un elemento clave de la seguridad alimenticia del hogar.⁴¹ La producción de leche a nivel mundial se ha ido incrementando en los últimos años (**Gráfica 1**) y en los países en desarrollo se prevé un incremento de la demanda equivalente al 25 por ciento para el año 2025 (**Gráfica 2**).^{29,41} El valor de las importaciones de leche en los países en desarrollo ha aumentado 43 por ciento entre 1998 y 2001. Más del 80 por ciento de la leche que se consume en los países en desarrollo 200 000

millones de litros al año, es suministrado por países potencias de la producción láctea, que comercializan su excedente de producción a países como el nuestro, que sin duda también tendrá desarrollo en los próximos años.⁴¹



Gráfica 1. Producción Mundial de Leche en los Países en Millones de Metros Cúbicos durante el periodo de 1980-2003. (Fuente FAO 2005)



Gráfica 2. Crecimiento Proyectado de la Producción de Leche en los Países en Desarrollo (Fuente FAO 2005)

La actividad lechera del país durante el período 1990–2003, obtuvo una Tasa Media de Crecimiento Anual (TMCA) que fue de 3.64%, ya que en 1990 el volumen de producción fue de 6,141.5 millones de litros, en el 2003 la producción se ubicó en 9,784.3 millones de litros.⁴³ Esta tasa fue superior a la de la población, la cual en el mismo periodo fue de 1.93%, determinando una mayor disponibilidad de la mercancía para la población. Sin embargo, el rezago productivo de periodos anteriores determinó que el Coeficiente de Dependencia Alimentaria (CDA) fuera importante en 1990, el cual se ubicó en 31.75, es decir, por cada 1000 ml de leche consumidos a nivel interno, 317.6 ml fueron de

importación; para que en el año 2003 el CDA se ubicara en 20.13. En términos generales se puede decir que el CDA ha ido disminuyendo, aunque sigue siendo alto, en virtud de un crecimiento importante en el volumen de producción nacional, que a la fecha no ha sido suficiente para satisfacer completamente las necesidades del mercado interno.⁴²

En México, en el periodo de 1990 a 2003 el Consumo Nacional Aparente (CNA) presentó una TMCA altísima de 22.28%, esto se debió no solamente al aumento del volumen de producción nacional, además a los fuertes importaciones de leche en polvo descremada y otros productos.⁴² Es así que en 1990 el CNA fue de 8,999.3 millones de litros, para que en 2003 se ubicara en 12,296.3 millones de litros de leche. La TMCA del consumo por encima de la TMCA de la población, determinó que el consumo por día por persona pasará de 303.45 ml a 323.7 ml, cifras por debajo a la recomendada por la FAO (500 ml diarios).⁴¹

Si bien los productos lácteos son una fuente rica en nutrientes de alta calidad, aportando aminoácidos esenciales e indispensables para los humanos, actualmente el hato ganadero nacional productor de leche, presenta una TMCA del 3.19%, tasa inferior a la de la producción de leche, lo que indica un mejoramiento genético de la población bovina expresándose en una mayor productividad por animal,⁴² sin embargo en este renglón todavía falta mucho por trabajar y es una preocupación de los médicos veterinarios, el fomentar el incremento de la producción, con asesoramiento especializado a las industrias lecheras, para evitar esta dependencia tan fuerte de las importaciones.⁴³

Glándula Mamaria.

Se denomina como leche a la secreción de la glándula mamaria de vacas sanas, excluyendo la secreción conocida como calostro, así la define la Norma Oficial Mexicana,⁶⁵ por lo cuál inicialmente debe definirse que tipo de estructura es la glándula mamaria bovina. El desarrollo de la ubre de la vaca, se inicia desde las etapas embrionarias y continúa durante toda la vida productiva del animal,²⁸ influenciada por los diferentes cambios hormonales que el animal tiene en la pubertad, gestación y lactancia, sigue desarrollándose hasta los seis años de edad del animal.^{3, 20}

El desarrollo de la glándula mamaria tiene su inicio a partir del ectodermo embrionario, alrededor del día 35 de edad fetal aparecen dos engrosamientos lineales y paralelos a la pared ventral del abdomen.^{20, 28} A los dos meses se forma una cresta, de donde se derivan el número apropiado de ampollas mamarias, cada una posee una masa lenticular de células epiteliales, que penetra dentro del mesénquima subyacente.^{3, 22} Alrededor de los cien días las masas de células primordiales inician la histogénesis de la glándula mamaria creciendo con lentitud, a los cuatro meses empiezan a brotar cordones de células en varias direcciones, dentro del tejido conectivo circundante, los cuales formaran el revestimiento de los conductos principales.^{22, 28} Las acumulaciones celulares terminales de los extremos de los cordones se ramifican y arborizan después de formar los conductos más pequeños y los alvéolos secretores, simultáneamente se desarrolla una área agrandada de epitelio en la parte superficial, el pezón, que es la conexión con el exterior de la glándula mamaria.^{20, 22}

Al nacimiento la becerro ya tiene formada en su totalidad la ubre, un conjunto de cuatro glándulas mamarias íntimamente unidas, pero separadas por membranas específicas, lo que da origen a cuatro cuartos cada uno con su propio conjunto de ductos que conducirán la leche hasta el seno lactífero glandular, en esta etapa temprana el crecimiento es debido a una ligera acumulación de grasa y es muy escaso.^{3, 28} La proliferación de los conductos mamarios inicia durante la pubertad, ya que es bajo la influencia de la Triyodotironina (T₄), Somatotropina (STH), esteroides adrenales (transcortina) e insulina que se presenta el mayor desarrollo de la glándula mamaria.^{20, 22} A la par con el inicio de la actividad ovárica se presenta el crecimiento del tejido alveolar representado por los lactocitos o exocrinocitos lácteos, sin embargo el desarrollo de estos es incompleto ya que se requiere de la progesterona y prolactina para su completo desarrollo.³

Y es hasta la preñez de la vaquilla que se hace evidente el desarrollo de la ubre,²⁸ llevándose a cabo hacia la mitad de la gestación, por un aumento en la secreción de prolactina y es durante el último tercio de gestación, que se inicia la producción del calostro que es la secreción previa al parto y la ingestión de este es esencial para el bienestar del neonato por su alto contenido de inmunoglobulinas (Ig A).²² Es por esto que la lactogénesis se desarrolla por completo hasta que termina la gestación de la vaca, este efecto se debe a la acción inhibitoria de la progesterona y los estrógenos sobre la secreción de leche, factores que dejan de actuar justo antes de la expulsión del ternero.^{3, 22}

Dentro del proceso de lactogénesis una de las hormonas que juega un papel importante en la secreción de leche es la prolactina, esta sustancia se libera en el momento de la manipulación del pezón previo al ordeño,^{20, 22} estos estímulos

sensoriales llegan al hipotálamo bloqueando la síntesis de dopamina que es un inhibidor de prolactina, simultáneamente las neuronas del núcleo paraventricular se estimulan para producir péptido intestinal vasoactivo, que promueve la liberación de prolactina teniendo un pico de liberación a los 30 min. post estímulo inicial.²² Este proceso se repite cada doce horas en relación a cada ordeño y estas respuestas tan intensas descienden durante el avance de la lactancia. La otra hormona necesaria para la lactogénesis es la somatotropina (STH), también conocida como hormona del crecimiento, que favorece la síntesis de leche dentro del exocrinocito lácteo.^{3,20}

Ya en el proceso de producción de leche, los lactocitos tienen un trabajo admirable en la síntesis de grasas (sintetizados a partir de acetato y butirato), carbohidratos y proteínas, estas células acumulan gotitas de grasa que arrastran una pequeña película del citoplasma y se secreta de manera apócrina hacia la luz del alvéolo.^{3,20} La lactosa se encuentra en vesículas secretoras y es sintetizada en el aparato de golgi y es liberada junto con la caseína, esta proteína se sintetiza en el retículo endoplásmico rugoso (R.E.R.), ambos proteína y carbohidrato se liberan por exocitosis a la luz alveolar.²² Y es por un aumento en el nivel de ARN con relación al ADN del lactocito, que se incrementa la secreción de proteínas, debido al aumento de ribosomas e introducción elevada de aminoácidos al tejido glandular, siendo este un modo de secreción merócrino.^{20,22} Es fácil de entender que este acelerado metabolismo requiere de un incremento en el consumo de oxígeno, que es suministrado por la gran cantidad de vasos sanguíneos presentes en toda la glándula mamaria, ya que se considera que pasan por la glándula

aproximadamente 500 volúmenes de sangre o 375 de plasma por cada volumen de leche que se produce.³

La última fase en la lactogénesis, se debe a la acción de las células mioepiteliales, que se encuentran rodeando al alvéolo lactífero,³ estas células responden al estímulo de la oxitocina, esta hormona se sintetiza en el hipotálamo y se libera en la hipófisis posterior, esto sucede por un reflejo neuroendocrino desencadenado por todos los estímulos previos al ordeño o el amamantamiento del becerro, esos estímulos son, auditivos, visuales, olfatorios y táctiles, estos últimos se conducen por la médula espinal hacia el hipotálamo, las neuronas que se encuentran en los núcleos paraventricular y supraóptico son estimuladas con el fin de sintetizar oxitocina y liberarla al torrente sanguíneo para que cumpla su acción.^{20,22}

Si bien es cierto que cuando la glándula mamaria se encuentra en producción es susceptible a la invasión agentes microbianos patógenos, esta infección desencadena una serie de reacciones inflamatorias,^{3, 100} producto de la acción de diferentes mediadores químicos o algún otro estímulo en el interior de la ubre, la consecuencia de esto es la manifestación clínica que conocemos como mastitis.¹⁰⁰

Esto realmente no es tan sencillo ya que la ubre posee un complejo sistema de defensa que inicia mediante el flujo hacia fuera de la leche (sea por la ordeña o cuando el becerro mama), con esta acción mecánica los agentes patógenos son expulsados del canal del pezón.¹⁰⁰ El otro mecanismo de defensa local es la “Roseta de Füstenberg” que forma una corona en el paso del canal del pezón a la cisterna de este. Los pliegues de la “Roseta de Füstenberg” no solo tienen una

función mecánica de cierre, sino también sirve como mecanismo de defensa en ese lugar.^{3, 100} La queratinización intensiva del epitelio del canal del pezón forma una capa lactosada bactericida que representa una barrera muy efectiva contra agentes extraños.¹⁰⁰ Si bien ese tapón de queratina será lavado casi completamente durante la ordeña y después de 2-3 horas del ordeño se restablece completamente la función de defensa del canal del pezón.³ Otra barrera de defensa es el esfínter del canal del pezón que impide la entrada de bacterias. La amplitud del canal del pezón se encuentra en una íntima relación con el funcionamiento del esfínter. El crecimiento del epitelio se dirige hacia el exterior en la desembocadura del canal del pezón, lo cual también sirve para evitar la entrada de bacterias.^{3, 45}

Otra de las cualidades de la leche misma es el efecto inhibitor del crecimiento bacteriano.^{3, 100} El efecto antibacterial es debido a los factores de defensa celular y humoral. Los factores humorales son las inmunoglobulinas, factores del complemento, el sistema lactoperoxidasa – tiocianato – peróxido - hidrógeno, la lactoferrina, lisozima (muramidasa) y la glutatión peroxidasa (GPx), que son considerados factores de defensa inespecíficos presentes en la leche de manera natural.^{3, 45} La última línea de defensa de la glándula mamaria es el factor de defensa celular, que se realiza a través de la sangre y los vasos linfáticos del bovino, en esto intervienen los leucocitos, polimorfonucleares (PMN), los linfocitos y los macrófagos (principal tipo celular en la leche).¹⁰⁰ Esto se debe al paso rápido de los leucocitos sanguíneos (granulocitos y neutrofilos) a la luz alveolar y es de los mecanismos naturales más importantes de defensa contra la mastitis. En el caso de una glándula mamaria sana se puede observar un contenido menor de

100,000 leucocitos / ml en la leche, a los cuales se les conoce como células somáticas.³ El contenido de leucocitos aumenta como una respuesta a los microorganismos invasores.⁴⁵ En el caso de la mastitis aguda los conteos pueden llegar hasta millones de células somáticas/ml. El número más importante de los leucocitos durante el curso de una mastitis son los granulocitos polimorfonucleares (PMN). Los PMN reconocen a las bacterias marcadas con anticuerpos y las fagocitan. Pueden pasar unas 12 a 24 horas después de la infección para que el contenido de PMN aumente claramente.¹⁰⁰

Mastitis Bovina.

La intensa utilización de el escaparate agrícola, ejerce presión para reducir la explotación de la tierra en la producción ganadera directa.⁷⁸ Esta intensificación ha dado como resultado cambios significativos en la manera de criar a los animales. La crianza de animales de producción en confinamiento ha evolucionado como una forma eficiente y costo-productiva para la producción de leche en muchos sectores agrícolas del mundo.^{29, 78} A pesar de los beneficios de los notables avances en la investigación, para crear nuevas tecnologías de crianza, nutrición, reproducción, salud y genética, ciertos impedimentos acompañan a la crianza en confinamiento en las industrias pecuarias lecheras.⁷⁸ Esto ha traído grandes beneficios a la industria láctea, desafortunadamente la consecuencia de que los bovinos se sometan a estas rigurosas condiciones, los predispone a un elevado riesgo en la presentación de enfermedades metabólicas, reproductivas e infecciosas siendo dentro de éstas últimas una de las más importantes la mastitis.^{59, 76}

Estudios realizados alrededor del mundo muestran las pérdidas multimillonarias que representan para la ganadería los problemas de mastitis.^{45, 76} Esto se debe a que la enfermedad tiene básicamente dos presentaciones: la clínica y la subclínica.³ Esta última una de las que más golpea económicamente a la ganadería ya que, como algunos autores lo comentan, es “el enemigo silencioso” dado que no manifiesta ningún tipo de signología clínica,⁴⁵ lo que impide que se tomen resoluciones a tiempo para su tratamiento.¹³ Generalmente se observa la presencia de la enfermedad cuando se generan pérdidas sensibles en la producción láctea.^{45, 60, 76}

Por otro lado, las mastitis clínicas son procesos inflamatorios que merecen una clasificación particular.^{3, 46} Por lo que actualmente se les ha clasificado de las siguientes formas, tomando como referencia su signología⁵⁷:

I) Por su GRADO de severidad (sobre la base de la cantidad de tejido lesionado y de respuesta inflamatoria).

- A) Leve
- B) Moderada
- C) Severa o Grave

II) Por su DISTRIBUCIÓN:

- A) Focal
- B) Multifocal
- C) Difusa
- D) Localmente extensiva

**III) Por su velocidad de presentación
CURSO:**

- A) Hiperaguda o Sobreaguda (de segundos a minutos)
- B) Aguda (de minutos a horas)
- C) Subaguda (de días a semanas)
- D) Crónica (de semanas a meses o años)

IV) Por el tipo de PROCESO:

- A) Exudativa (generalmente relacionado con el curso agudo)
- B) Proliferativa (relacionado con el curso crónico)

V) Por el tipo de EXUDADO:

- A) Serosa
- B) Fibrinosa
- C) Hemorrágica
- D) Granulomatosa
- E) Purulenta
- F) Mixta

VI) Por la ETIOLOGÍA: ***

- A) Mastitis por Bacterias.
- B) " por Hongos.
- C) " por Levaduras.
- D) " por Algas.

La clasificación de la mastitis por etiologías, se ha incluido porque se puede sospechar, en algunos casos, por los signos clínicos.^{45, 57} Sin embargo no debe olvidarse que son el aislamiento y cultivo de laboratorio las pruebas maestras para el diagnóstico de las mastitis clínicas y subclínicas,^{13,45} tanto para determinar correctamente la etiología, así como para la elección de las medidas de prevención, control, manejo y tratamiento.^{13, 59, 44}

La mastitis bovina, galactoforitis o inflamación de la ubre de la vaca corresponde a la respuesta inflamatoria del parénquima glandular independientemente de la causa que lo esté provocando.^{77, 94} Esto se refleja en los cambios químicos, físicos y generalmente bacteriológicos en la leche.⁷⁵ Sin embargo la repercusión de la mastitis se ve en la reducción de producción de la vaca afectando adversamente la calidad de la leche, resultando en la degradación acelerada y disminución en el rendimiento de los productos lácteos e inutilizándolos para el consumo.^{3, 78}

Hoy en día la mastitis bovina es considerada un complejo, ya que es un problema multifactorial en donde se encuentran involucrados e interrelacionados la vaca, el medio ambiente y los microorganismos.⁵⁹ Se deben considerar que en mayor o menor grado influyen algunos factores genéticos, los cambios bruscos en la alimentación y deficiencias en la misma, los diferentes tipos de estrés a los que se enfrenta la vaca en cada una de las etapas del ciclo productivo. También se deben tomar en cuenta a los diferentes microorganismos involucrados en el complejo de la mastitis así como sus características de patogenicidad y virulencia. Sin embargo debe tener una consideración particular para los equipos de ordeño e higiene al realizarlo, ya que es conocida como una importante vía de transmisión

presente durante el ordeño, destacando que es uno de los factores de mayor importancia para que se presente esta enfermedad.^{13, 44, 96}

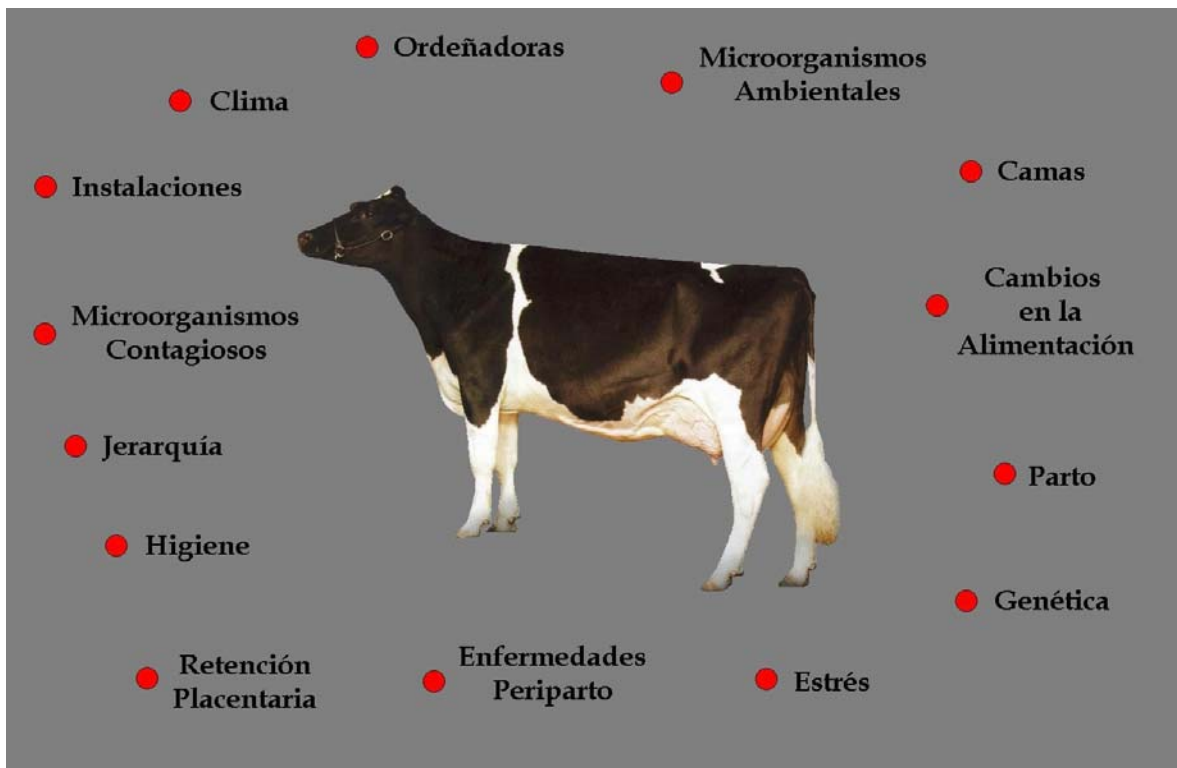


Figura 1. Principales Factores que Influyen en la Presentación de la Mastitis Bovina. Modificado de Instituto Babcock *Universidad de Wisconsin-Madison*.

Recordemos que el número de agentes patógenos relacionados con el complejo de la mastitis es enorme y que los cuadros clínicos en los que ésta se presenta son diversos.^{60, 96} En el siguiente cuadro se exponen algunos de los agentes causales de mastitis, comúnmente aislados y cultivados de muestras de leche mastítica.⁷⁵ El gran número de estos microorganismos hace evidente la gran variedad de formas de mastitis que se manifiestan en cada uno de los casos y lo fácil que puede ser para el clínico la emisión de un diagnóstico erróneo debido a la similitud de los casos o a situaciones especiales en las que en uno solo caso se encuentren involucrados varios agentes.^{45, 62}

Nombre del Agente	Tipo de Agente	Forma Clínica de Mastitis
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	Bacteria	Dudosa patogenicidad.
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Hongo	Aguda, formación de abscesos.
<i>Aspergillus nidulans</i>	Hongo	Aguda, formación de abscesos.
<i>Bacillus cereus</i>	Bacteria	Gangrenosa sobreaguda, aguda.
<i>Bacteroides funduliformis</i>	Bacteria	Aguda.
<i>Brucella abortus</i>	Bacteria	Crónica
<i>Candida spp.</i>	Levadura	Aguda.
<i>Corynebacterium bovis</i>	Bacteria	Subaguda.
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	Bacteria	Sobreaguda.
<i>Corynebacterium ulcerans</i>	Bacteria	Subaguda.
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Levadura	Aguda.
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Bacteria	Sobreaguda.
<i>Escherichia coli</i>	Bacteria	Sobreaguda.
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	Bacteria	Supurativa Subaguda.
<i>Klebsiella spp.</i>	Bacteria	Sobreaguda.
<i>Leptospira hardjo</i>	Bacteria	Aguda, todos los cuartos.
<i>Leptospira pomona</i>	Bacteria	Aguda
<i>Mycobacterium bovis</i>	Bacteria	Crónica
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	Bacteria	Aguda
<i>Mycoplasma alkalescens</i>	Bacteria	Aguda, todos los cuartos.
<i>Mycoplasma bovigenitalium</i>	Bacteria	Aguda, todos los cuartos.
<i>Mycoplasma agalactiae</i> var. <i>bovis</i> (<i>M. bovis</i>)	Bacteria	Aguda, todos los cuartos.

<i>Nocardia asteroides</i>	Bacteria	Aguda, Subaguda.
<i>Nocardia brasiliensis</i>	Bacteria	Aguda, Subaguda.
<i>Nocardia farcinica</i>	Bacteria	Aguda, Subaguda.
<i>Mannheimia haemolytica</i>	Bacteria	Sobreaguda.
<i>Pasteurella multocida</i>	Bacteria	Sobreaguda.
<i>Pichia spp.</i>	Hongo	Aguda.
<i>Prototheca trispora</i>	Alga	Crónica.
<i>Prototheca sopfi</i>	Alga	Crónica.
<i>Pseudomonas aeruginosa (pyocyanea)</i>	Bacteria	Sobreaguda
<i>Saccharomyces spp.</i>	Levadura	Sobreaguda (mastitis de verano)
<i>Serratia marcescens</i>	Bacteria	Esporádica.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bacteria	Sobreaguda, Aguda, Crónica.
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Bacteria	Subaguda.
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Bacteria	Aguda, Subaguda.
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Bacteria	Aguda.
<i>Enterococcus spp.</i>	Bacteria	Aguda.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Bacteria	Sobreaguda.
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Bacteria	Aguda.
<i>Streptococcus uberis</i>	Bacteria	Aguda.
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	Bacteria	Subaguda, Crónica.
<i>Torulopsis spp.</i>	Levadura	Aguda.
<i>Trichosporon spp.</i>	Hongo	Aguda.

Cuadro 1. Principales Microorganismos Aislados de Muestras de Leche en la Mastitis Bovina. Modificado de Blood D. C., Studdert, V. P. 1994.

Quimioterapia y Antibióticos.

Se considera una lista de más de 180 agentes infecciosos causantes de mastitis,⁹⁶ para los cuales, una de las vías más viables son el tratamiento con los agentes quimioterápicos, estos se definen como sustancias químicas que pueden

interferir directamente la proliferación de los microorganismos a concentraciones toleradas por el huésped.^{25, 35} Siendo su característica fundamental su toxicidad selectiva.¹² El término quimioterapia, fue acuñado por Paul Ehrlich (1854 - 1915) que aun siendo estudiante de medicina tuvo la inquietud de la investigación, pero tras su muerte el término quedó en un sueño.^{25, 89}

Algunos de estos medicamentos son clasificados como bacteriostáticos por que inhiben reversiblemente el crecimiento de las bacterias.²⁵ El otro grupo de medicamentos son los bactericidas que causan una acción letal irreversible sobre los microorganismos.³⁵ Los antibióticos son sustancias químicas, que se obtienen de forma natural, pero que actualmente casi todos se producen de forma sintética e industrializada, todos presentan actividad antimicrobiana a lo que deben su estudio y valor terapéutico.^{12, 35}

Tuvieron que pasar veinte años de la muerte de Ehrlich para que la quimioterapia antibacteriana se iniciara en la industria, fue durante el año de 1935 que el patólogo alemán Gerhard Domagk (1895 – 1964) descubrió un colorante llamado Prontosil,⁸⁹ que permitía la curación de infecciones por estreptococos de forma espectacular, definiendo la acción antibacteriana de las sulfas.¹² El éxito obtenido con las sulfas hizo centrar el interés de los investigadores en los antimicrobianos.³⁵

Pero un hecho previo no fue contemplado, en el año de 1929 Alexander Fleming (1881 – 1955) describió las propiedades antibióticas de la penicilina al observar una colonia contaminante del moho *Penicillium notatum* que producía la lisis de las colonias estafilococicas adyacentes.^{25, 89} En 1942 Abraham Selman Waskman (1888–1973) propone el término antibiótico, dos años más tarde,⁸⁹

trabajando con sus colaboradores en un laboratorio dedicado al estudio de la microbiología del suelo, descubre la estreptomina (producida por ***Streptomyces griseus***) antibiótico que permitió extender la quimioterapia al bacilo tuberculoso (*Mycobacterium tuberculosis*),²⁵ así como a otros organismos gramnegativos. Ya para el año de 1945 Howard Florey (1898–1968) y Ernest Chain (1906–1979) desarrollan la penicilina como medicamento y junto a Alexander Fleming reciben el premio Nóbel de Farmacología y Medicina.⁸⁹

Actualmente los quimioterápicos se encuentran clasificados en cuatro grupos que básicamente son: 1º Sulfamidas y diaminopirimidinas, 2º antimicrobianos que actúan inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana, 3º antimicrobianos que inhiben la síntesis de proteínas, 4º antimicrobianos que inhiben la función de los ácidos nucleicos.^{12, 35}

1º Sulfamidas y diaminopirimidinas: las también conocidas como sulfas (Sulfanilamida, Sulfametoxazol, Sulfametazina, Sulfametoxipiridazina, etc.) deben su acción bacteriostática a que todas ellas comparten el grupo *p*-aminobenceno sulfonamida,¹² que posee un gran parecido al ácido *p*-aminobenzoico (PABA), precursor del ácido fólico y de los ácidos nucleicos en las bacterias, esto sucede cuando la enzima *dihidrofolato sintetasa* incorpora a la sulfamida en vez de el PABA boqueando la síntesis de ácido fólico.³⁵ Por su parte las diaminopirimidinas (Trimetoprima, Aditoprima, Ormetoprima y Pirimetamina) deben su mecanismo de acción a la afinidad por la enzima *dihidrofolato reductasa*, necesaria para que el ácido fólico se transforme en ácido tetrahidrofólico bacteriano precursor de las purinas y ácidos nucleicos. Esta acción secuencial de ambas sustancias en la cadena de síntesis del ácido fólico y los ácidos nucleicos, confieren una acción

sinérgica y bactericida frente a bacterias grampositivas, gramnegativas y ciertos protozoos.^{12, 35}

2º Antimicrobianos que actúan inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana: β -lactámicos. Penicilinas. Cefalosporinas. Glucopéptidos. Los antibióticos β -lactámicos son ácidos orgánicos débiles formulados habitualmente como sales de sodio o potasio, entre las más conocidas están la bencilpenicilina (penicilina G) y la fenoximetilpenicilina (penicilina V).³⁵ Los otros miembros de esta familia son las aminopenicilinas donde se incluyen a la Ampicilina, Amoxicilina y ésteres de otros profármacos. Las penicilinas isoxazólicas están representadas por la Cloxacilina, Dicloxacilina y Oxacilina. Lo más nuevo en β -lactámicos son los Carbapenémicos, Monobactámicos y Carbacefémicos que se han usado muy poco en medicina veterinaria por su elevado costo.¹² Todos estos antimicrobianos tienen acción en la inhibición de la síntesis de la pared bacteriana en la célula en división,³⁵ ya que la transpeptidación es la responsable del entrecruzamiento de las fibras peptídicas que son las que confieren la estabilidad a la pared, al no ser así da lugar a una pared celular débil que no soporta la presión interna de la célula y se rompe durante el proceso de división.^{12, 35}

3º Antimicrobianos que inhiben la síntesis de proteínas: Aminoglucósidos, Macrólidos, Tetraciclinas, derivados del Cloranfenicol, Lincosamidas y Estreptograminas. Básicamente todos tienen acción bactericida, y actúan bloqueando las subunidades ribosomales de las bacterias, inhibiendo el proceso de elongación de las cadenas peptídicas, para la transformación de proteínas en las células bacterianas limitando su desarrollo.^{12, 35}

4° Antimicrobianos que inhiben la función de los ácidos nucleicos: a este grupo pertenecen las ya antiguas 4-quinolonas, las fluoroquinolonas, la novobiocina, las rifamicinas, los nitrofuranos y los nitroimidazoles.³⁵ Actualmente las más usadas en medicina veterinaria son la fluoroquinolonas y basan su efectividad en la forma rápida en que penetran la pared bacteriana a través de porinas, logrando atravesar la membrana citoplasmática debido a la alta solubilidad de sus moléculas. Ya en el interior de la bacteria inhiben a la enzima ADN girasa (topoisomerasa de tipo II), que esta compuesta de 4 subunidades y tiene la función de desenrollamiento, corte y resellado del ADN, también se encarga del plegamiento y enrollamiento del ADN bacteriano, todas estas funciones son inhibidas por estas sustancias ya que se unen a la subunidad A de la ADN girasa, inhibiendo la replicación del ADN y teniendo en efecto bactericida.^{12, 35} También con acción bactericida están los nitrofuranos y nitroimidazoles que actúan dentro de la bacteria, al ser reducidos por las enzimas bacterianas, los metabolitos resultantes son los responsables de la actividad antimicrobiana, ya que impiden la traducción del ARN_m, interrumpiendo las interacciones codón-anticodón.³⁵ Los otros antimicrobianos comprendidos en este grupo poseen características bacteriostáticas como la novobiocina que inactiva la subunidad B de la ADN girasa, inhibiendo el superenrollamiento del ADN bacteriano.¹² La rifamicinas inhiben la ARN-polimerasa dependiente del ADN, uniéndose a la subunidad β, abortando el inicio de la síntesis de ARN.³⁵

Resistencia Antimicrobiana.

Concomitante con la evolución de la crianza en confinamiento la utilización de nuevos medicamentos se ha vuelto un componente cada vez más crítico en el ciclo de producción pecuario.^{14, 78} Estos medicamentos han ayudado a mejorar la salud y el bienestar de los animales, y mejoran el retorno económico para los productores que los utilizan.⁷⁸ Y ciertamente es el uso subterapeuticamente de los antimicrobianos para la producción pecuaria uno de los principales factores para el desarrollo de la resistencia, particularmente, resistencias que puedan transferirse directamente vía los microorganismos patógenos transmisibles a los seres humanos. La consecuencia de este proceso es un factor en el desarrollo de resistencia en los microorganismos patógenos que afectan a los seres humanos, por ende se niega la utilización de estos antimicrobianos en particular o en algunos casos, clases de antimicrobianos para tratar una enfermedad o aún evitar la muerte en pacientes humanos.¹⁴

En 1999, el Consejo Nacional de Investigación de las Academias Nacionales de Ciencias (EEUU) publicaron un reporte completo acerca de los medicamentos en los animales destinados para el consumo y sus beneficios y riesgos para la salud humana. Entre muchos hallazgos, indicaron que la resistencia a los antimicrobianos es un problema global en los ambientes humano y animal y que esta resistencia (en microorganismos) es debida al sobreuso, al manejo inadecuado y al uso inapropiado en todas las áreas de la medicina humana y animal.¹⁴

Actualmente la resistencia bacteriana a los productos antibacteriales ha causado presiones particularmente fuertes para restringir o prohibir el uso en animales de las drogas antimicrobianas que se emplean en pacientes humanos. Desde que el Dr. Koch introdujo la teoría de los gérmenes como causa de enfermedad, mucho hemos aprendido sobre bacterias, virus, hongos y parásitos. Todos estos microorganismos tienen resistencia natural y adquirida, igual que sus hospedadores animales. Los avances en los campos de inmunología, fisiología, patología y farmacología han abierto y ampliado nuestro conocimiento sobre el manejo de la salud humana y animal; pero la resistencia microbiana continúa, y es un incentivo prominente para continuar en la búsqueda y desarrollo de nuevas estrategias de manejo, prevención y control de las enfermedades infecciosas en lugar de lograr diseñar nuevas drogas antimicrobianas.¹⁴

No ha habido nuevas clases de drogas antimicrobianas desarrolladas por aproximadamente 20 años y se ha vaticinado que la medicina veterinaria y la medicina humana están posicionadas para retornar a la era previa a los antimicrobianos. Los peligros de esta ocurrencia son atemorizantes, cuando uno considera que las drogas antimicrobianas son las únicas drogas que curan enfermedades y otras drogas solo controlan los signos de la enfermedad.¹⁴

Pruebas de Sensibilidad Antimicrobiana.

Hoy en día se han desarrollado pruebas cuantitativas y cualitativas para evaluar la susceptibilidad bacteriana a los agentes antimicrobianos *in vitro*, para clasificarlos en donde se les clasifica como: resistentes, intermedios o

susceptibles.²¹ Las técnicas para efectuar pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos incluyen:

Dilución en agar o medio líquido (caldo).

Difusión en agar (con multidiscos o unidiscos).

Métodos automatizados.²¹

Fue durante la década de 1940, que se desarrollaron los métodos de difusión en agar, utilizando discos de papel filtro, impregnados de concentraciones específicas de agentes antimicrobianos.⁶¹ Con el fin de eliminar o minimizar la variabilidad de este análisis, Bauer y cols. en 1966, desarrollaron un procedimiento normalizado, para el cual se eligió el agar de Mueller Hinton como medio para el análisis.^{7, 79} Varias agencias reguladoras y organizaciones normativas publicaron más tarde procedimientos de referencia normalizados, basados en el método de Kirby–Bauer. Entre los primeros y más ampliamente aceptados están los publicados por la Food and Drug Administration (FDA) de EE.UU. y la Organización Mundial de la Salud (OMS).⁷⁸ El procedimiento fue adoptado por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) como norma de aceptación general y se actualiza periódicamente.^{61, 101}

Actualmente el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) a publicado su Norma de calidad para la evaluación de antimicrobianos en disco, pruebas de susceptibilidad y dilución para bacterias aisladas de animales (Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard) que presenta una serie de recomendaciones para los veterinarios dedicados al laboratorio, acerca de cómo deben ser realizadas la pruebas de susceptibilidad a los antibióticos, las técnicas

mas comúnmente realizadas, criterios para el control y calidad de las pruebas así como de su interpretación.^{61, 101}

Antecedentes de la Mastitis por *Nocardia*.

El primer reporte que se tiene registrado es del año 1888,⁷⁰ cuando el veterinario francés Edmond Isidore E. Nocard (1850–1903), identifica un actinomiceto ligeramente ácido alcohol resistente proveniente de un caso de pododermatitis en ganado bovino, lo siguiente que hace es enviar una nota al Instituto Pasteur a la ciudad de Paris en Francia para reportar su hallazgo.⁶⁴ Lo que Nocard no sabía en ese momento, es que se encontraba frente a dos descubrimientos fascinantes, el primero fue el identificar a un grupo de bacterias que le deben su nombre original (Bacilos de Nocard),^{8, 25} que después se sabría que era ***Nocardia farcinica***, y el segundo fue describir la farcinosis bovina o muermo bovino (“Farcin de Boeuf”) un padecimiento caracterizado por una linfadenitis y linfangitis purulentas del ganado vacuno, en donde las lesiones inician en los miembros posteriores llegándose a extender a los pulmones provocando lesiones granulomatosas similares a las producidas por ***Mycobacterium bovis***.^{4, 75}

En 1891 Eppinger reportó organismos muy similares que fueron aislados de abscesos de cerebros humanos, y actualmente se sabe que fue ***Nocardia asteroides*** el agente identificado.⁷⁰ A partir de ese momento se inicio una oleada de reportes, tanto en medicina humana como en pequeñas especies, pero es en el año de 1918 que Evans reporta la identificación de ***Streptothrix hominis III*** en muestras de leche, que no era sino ***Nocardia asteroides*** que así se le llamaba en

aquellos tiempos.⁷⁰ En 1935 Gray, reporta un caso de mastitis clínica aguda en Inglaterra en el cual el agente involucrado se parecía a *Nocardia farcinica* y el cuadro clínico descrito es el que hasta hoy día se conoce.⁷⁰ Ya con el agente bacteriano identificado y con la idea del cuadro clínico que causaba en las vacas lecheras los reportes se intensificaron continuando con Sporza en 1946 en Italia,⁴⁷ Barnum y Fuller en 1956 en Canadá, Munch–Peterson en 1954 en Australia,⁷⁰ Pier en Hawai y California 1957,⁶⁹ Jungerman en Texas en 1958,⁴⁷ Hillermark en 1960 en Alemania,⁴⁰ Awad 1960 en Sudán.⁴

En México los trabajos reportados acerca de mastitis por *Nocardia asteroides* han sido pocos pero relevantes, como aislamientos en el año de 1967, de brotes en establos lecheros en Chalco, Estado de México,¹⁰² y reportes de frecuencia de este tipo de mastitis como causa de eliminación de unidades productivas en el año de 1981;²³ menciones de tratamientos sugeridos por susceptibilidad *in vitro* en 1984,⁵⁵ y el más reciente de 1997 en donde a una cepa de *Nocardia spp.* se le desafió a la combinación amoxicilina y ácido clavulánico presentando sensibilidad *in vitro* a estos dos antimicrobianos.⁹⁵

La mastitis clínica causada por *Nocardia asteroides* es un padecimiento que en la mayoría de las veces se muestra como un proceso inflamatorio agudo o subagudo poco común, que provoca una destrucción extensa del tejido glandular dando origen a lesiones granulomatosas, sin embargo este microorganismo también llega a estar involucrado en las mastitis crónicas.⁸⁶ Es importante dar a conocer este tipo de mastitis, que si bien no es muy común, es de relevancia cuando se presenta en los establos y se disemina con mucha facilidad a todo el hato,²⁷ provocando auténticas epizootias, y a últimas fechas ha retomado

importancia por ser un problema recurrente en los diferentes hatos lecheros bovinos, ^{18, 93} y caprinos de diferentes partes del mundo. En cabras se ha identificado ***Nocardia farcinica*** y ***Nocardia asteroides*** provocando lesiones granulomatosas muy similares a las provocadas en la glándula mamaria de los bovinos. ^{5, 17, 54} Incluso Awad (1960) en un reporte de mastitis por ***Nocardia*** en Sudán afirma la presentación de nocardiosis en los testículos de un toro. ⁴ Así, es necesario evidenciar la existencia de esta enfermedad en el país, para la cual hoy en día no se ha podido encontrar un fármaco capaz de eliminar a la bacteria dentro del hospedero ⁸⁵ con el fin de poder contrarrestar las grandes pérdidas económicas que puede ocasionar. Es importante observar que este microorganismo afecta a los seres humanos provocando nocardiosis ^{1, 9} y en los animales farcinosis y mastitis, ⁷⁵ siendo importante aclarar puntualmente sus características y manifestaciones en cada uno de los casos, debido a que es común que este padecimiento en particular se confunda con otro tipo de mastitis. ³⁹

Etiología.

El agente causal de este tipo de mastitis es una bacteria del Orden: ***Actinomycetales***, Familia: ***Nocardiaceae***, Género: ***Nocardia***, ^{16, 25, 36} Se han descrito diferentes especies de ***Nocardia*** de las cuales se consideran patógenas para el humano y los animales las siguientes: ***Nocardia asteroides***, ***Nocardia brasiliensis***, ***Nocardia otitidiscaviarum*** (***N. caviae***) ***Nocardia farcinica***, ***Nocardia nova***, ***Nocardia pseudobrasiliensis*** y ***Nocardia transvalensis***. Siendo la primera de estas propuesta como especie tipo. ^{1, 8} (Fotos 3 y 4) La utilización de numerosos métodos taxonómicos, incluidos estudios de homología

del DNA e inmunológicos,⁶⁸ indican que ***Nocardia asteroides*** es marcadamente heterogénea y constituye un grupo de microorganismos.⁴⁹ Steingrube *et al* han definido cuatro grupos diferentes, designados en la actualidad como tipo I, tipo II, tipo IV y tipo VI. Aún debe determinarse la importancia clínica de estos grupos; sin embargo, muestran diferencias en lo que respecta a los perfiles de sensibilidad a antimicrobianos como amikacina, cefamandol así como los aminoglucósidos gentamicina, kanamicina y tobramicina.^{49, 92}

El comportamiento de los microorganismos del género ***Nocardia*** se observa al cultivo de laboratorio, ya que crecen con facilidad a diferentes temperaturas, entre los 10 y 50° C, teniendo un óptimo de 30° a 37° C.^{66, 73} Sin embargo ***Nocardia asteroides*** crece bien a 25° C, entre 35° y 37° C y entre 42 y 45° C esta última permite el desarrollo de ***Nocardia asteroides***, en tanto que muchas otras bacterias son inhibidas, crecen entre las 96 y 120 hrs. y su desarrollo es estimulado por la incubación con 10% de CO₂.^{10, 74} Además, se desarrollan con facilidad en medios como la infusión cerebro-corazón (BHI), Agar Sangre y el Agar Sabouraud-Dextrosa (SDA).^{48, 49, 87} Este último es excelente para los hongos y su empleo ocasional para el cultivo de ***Nocardia*** hace pensar de primera mano el porque inicialmente se les incluyera en el grupo de los hongos a estos microorganismos.^{47, 74} Lynch, J. A; en 1990, ha recomendado la preparación del medio selectivo para ***Nocardia*** con agar trypticasa-soya suplementado con 5% volumen/volumen de sangre de bovino desfibrinada y sulfato de gentamicina (25 µg/ml).⁵³

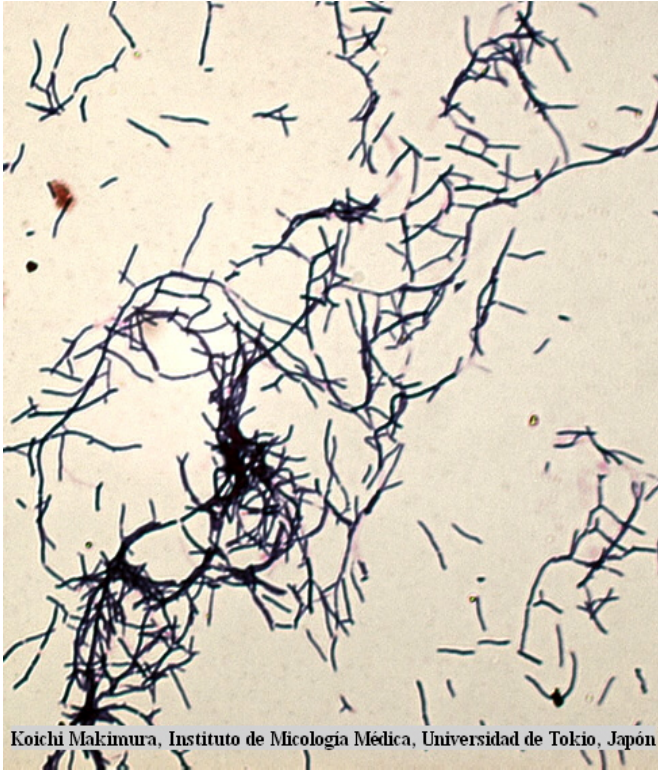


Foto 3: *Nocardia asteroides* en tinción de gram donde se muestra su forma ramificada.

Koichi Makimura, Instituto de Micología Médica, Universidad de Tokio, Japón

Foto 4: Morfología bacilar de las nocardias en microscopia electrónica.

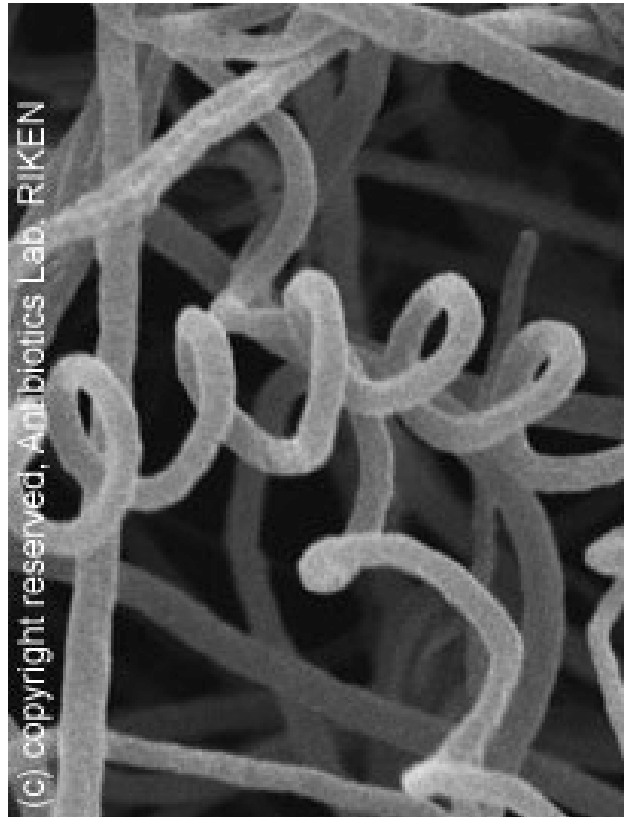
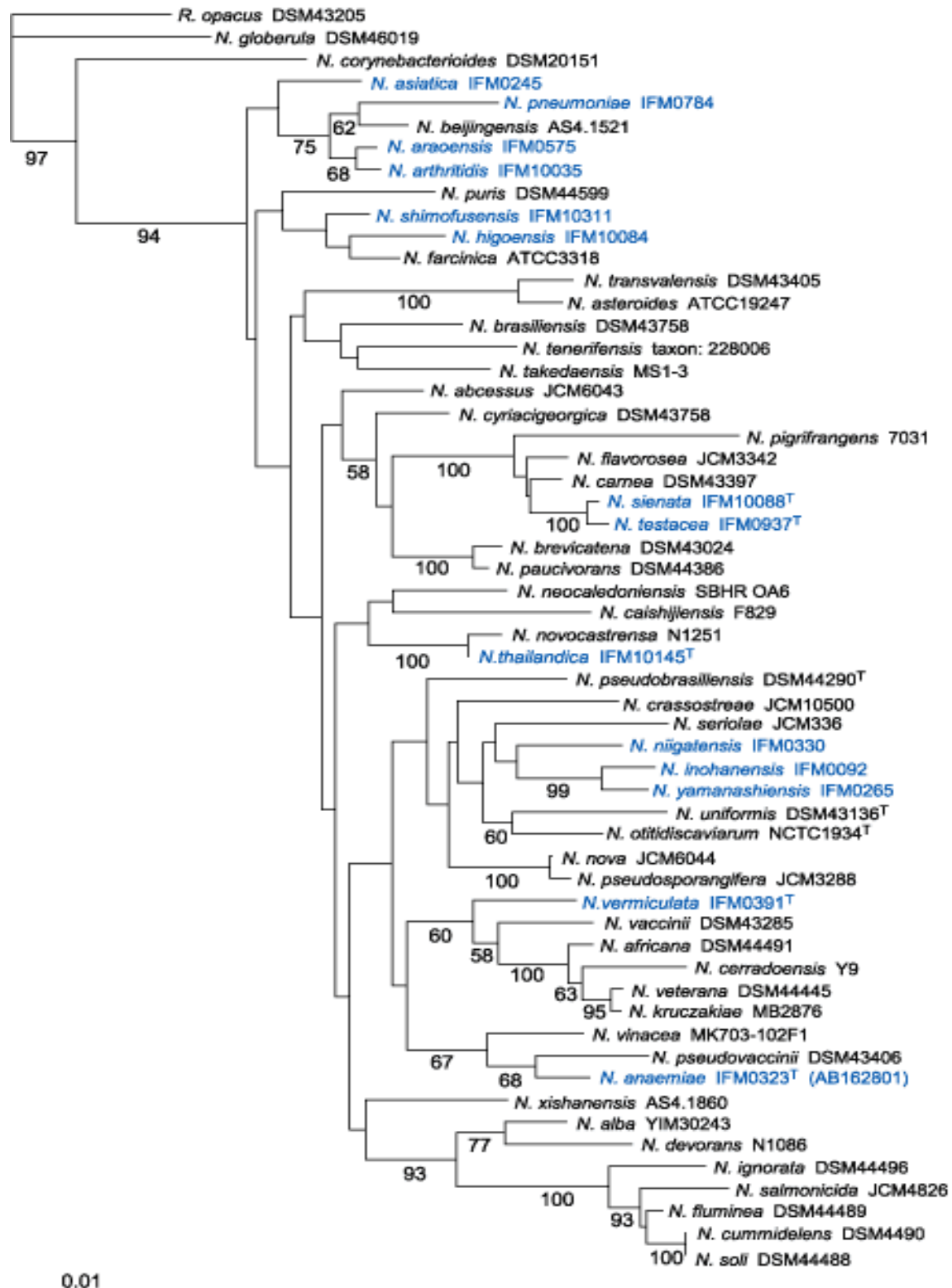


Figura. Árbol Filogenético de las Diferentes Especies de *Nocardia* Identificadas Actualmente. ^{51, 92}



Siguiendo las características y comportamiento de las nocardias en los cultivos de laboratorio es posible identificarlas de las siguientes maneras: grampositivas, catalasa positivas, aerobias, de forma bacilar ramificada que al fragmentarse en elementos bacilares y cocoides constituye el modo de multiplicación de las bacterias, no forman esporas, desdoblan azúcares por oxidación, son parcialmente ácido resistentes (es decir, no se decoloran cuando se tratan con H_2SO_4 al 1% o HCl_2 al 3% en lugar del decolorante alcohol-ácido mas activo utilizado en las coloraciones de Ziehl-Neelsen o de Kinyoun).^{25, 49} Se desarrollan como micelio aerobio vegetativo y en algunas cepas puede observarse un limitado micelio aéreo, formando colonias con pliegues irregulares, duras, muy adherentes, secas, lisas o rugosas de aspecto “algodonoso” con olor a humedad (mohoso), en algunos casos presentan pigmentación rosa, roja, naranja, pardo, grisáceas, amarillas o ausencia de pigmento.^{16, 49} **(Foto 5 y 6)**

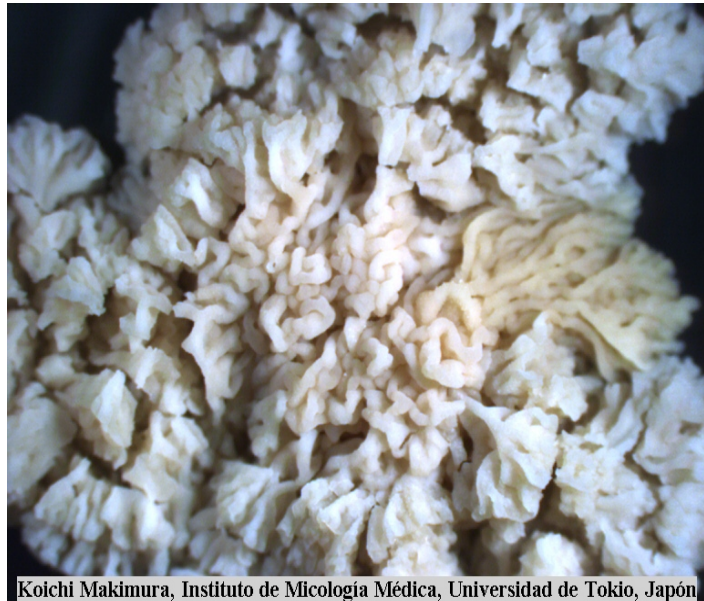
La pared celular contiene ácido *meso*-diaminopimérico (DAP), los carbohidratos principales son la arabinosa y galactosa.⁴⁹ El lípido más importante de dicha pared es el ácido micólico (3-hidroxiácido-graso) actualmente conocido como ácido nocardiomicólico al que debe su resistencia a la fagocitosis por los macrófagos además de la secreción de la enzima súper oxido dismutasa (SOD), producto de su metabolismo, que interfiere en la unión del fagosoma-lisosoma y le permite vivir como parásito intracelular en las células de defensa del organismo afectado.⁸



Foto 5: Microfotografía de una colonia de *Nocardia asteroides* en agar SDA.

Koichi Makimura, Instituto de Micología Médica, Universidad de Tokio, Japón

Foto 6: Fotografía que muestra la morfología de una colonia de *Nocardia brasiliensis*.



Koichi Makimura, Instituto de Micología Médica, Universidad de Tokio, Japón

Epidemiología.

Aunque las nocardias se encuentran ampliamente distribuidas en toda la Tierra, la mastitis por *Nocardia* es una enfermedad rara y esporádica.³⁹ A estas bacterias se les ha aislado de los suelos de establos, agua, aire, son saprófitas del medio, de la piel de los animales y son miembros comunes de la flora del suelo en donde desempeñan un papel activo en la descomposición de la materia orgánica.¹

^{8, 36} Es por esto que al microorganismo se le considera cosmopolita pues se han reportado casos en los cinco continentes, con mayor frecuencia en países donde la explotación de ganado lechero se realiza de manera intensiva con el ganado estabulado, con malas prácticas de ordeño e higiene. ^{86, 91}

Pero parece haber una diferencia en la distribución de las especies. ***N. asteroides*** se ha identificado en todo el mundo, mientras que ***N. brasiliensis*** se presenta sobre todo en los climas tropicales y subtropicales de América del Norte, Central y Sur. ***N. otitidiscaviarum*** predomina en el suelo de los Estados Unidos, ⁹ India, Japón, México, ¹ Túnez y Sudán. ⁸⁸ Se ha observado que las condiciones climáticas que están presentes en las explotaciones lecheras juegan un rol muy importante en la concentración del microorganismo incrementando terriblemente el riesgo de contaminación. ⁸⁶

La mastitis por ***Nocardia*** es una enfermedad exógena, esporádica, afecta a uno o dos ejemplares del hato, a menos que se haya registrado introducción accidental de los gérmenes causales de la enfermedad en las ubres de las vacas al administrar infusiones contaminadas, ^{62, 66, 99} que es cuando algunos autores mencionan que se presenta como epizootia, ^{23, 70} ya que el microorganismo ha sido aislado de los corrales, cánulas, jeringuillas, frascos de antibióticos y mezclas de éstos, en donde se ha encontrado viable hasta por siete semanas después de haber sido usados. ⁸⁶ Este hecho nos manifiesta la capacidad de resistencia que tiene esta bacteria. Muirhead, S. en 1989, afirma que todos los antimicrobianos de grupo de los Aminoglucósidos son un factor de riesgo para la presentación de la mastitis por ***Nocardia***, al ser utilizados durante la terapia intramamaria del secado de las vacas en Canadá. ⁵⁸

La enfermedad es grave ya que produce una destrucción amplia del tejido mamario, una pérdida importante de la producción láctea y, en ocasiones, hasta la muerte del animal. ^{70-73, 86} En el caso del ser humano estos microorganismos pueden producir nocardiosis, ⁷⁵ a pesar de que su sistema inmunológico posee un alto grado de resistencia innata, ²⁵ en los casos donde el estado inmunocompetente del individuo se encuentra comprometido (en pacientes convalecientes, o que han recibido transplantes de órganos o enfermedades inmunosupresoras), el microorganismo ocasiona el desarrollo de la nocardiosis de una manera aguda. ^{1, 8, 33}

Patogénesis.

Como se ha mencionado anteriormente, los diferentes tipos de nocardias se pueden aislar regularmente a partir del suelo de donde son componentes de la microbiota. ^{1, 8} Estos patógenos potenciales son mucho más virulentos en la fase de multiplicación logarítmica que en la fase estacionaria y se cree que las poblaciones del suelo o cepas de campo, que están en crecimiento activo serían más virulentas para el hombre y los animales. ^{1, 8} De acuerdo con lo arriba expuesto, existen dos formas del establecimiento de la infección de la glándula mamaria: 1) La bacteria puede alcanzar el interior del tejido mamario directamente del suelo o durante la práctica del ordeño, por material y equipo contaminado por otra vaca que está infectada y eliminando el microorganismo. **(Figura 7)** 2) Al ser introducida de manera accidental por medio de infusiones intramamarias caseras con mezclas de antibióticos, ⁶² se pueden infectar todos los cuartos y fácilmente difundir la enfermedad a todo el hato. ^{3, 86} En ambos casos se desarrolla

presentando inflamación de la parte alta del pezón y de las partes inferiores de la glándula lo que sugiere una invasión por el conducto glandular. ^{52, 75} (Figura 8).

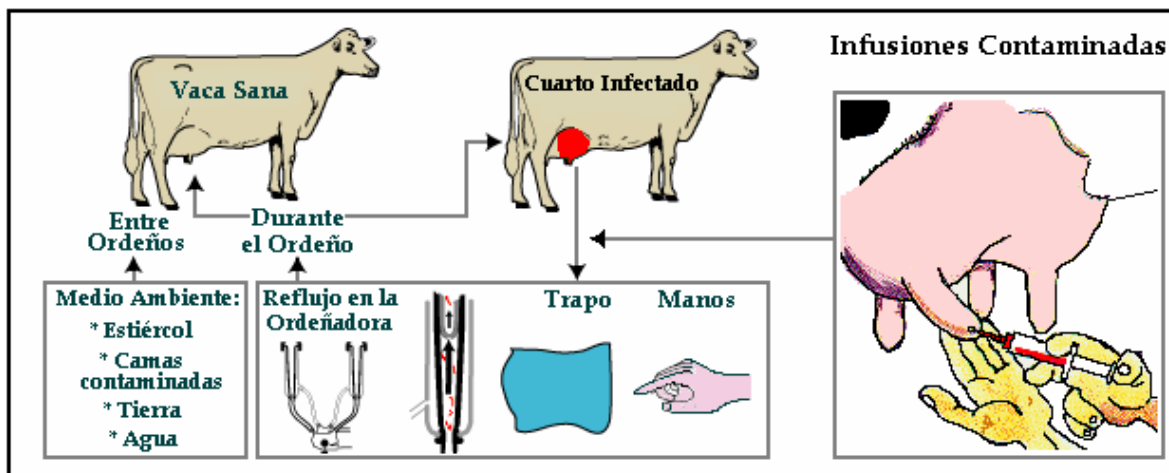


Figura 7: Principales rutas de transmisión bacteriana durante el ordeño. Modificado del Instituto Babcock Universidad de Wisconsin-Madison.

La infección inicia como una pústula o nódulo de alrededor de 2.5 cm de diámetro que después se endurece. ⁶ Por lo general, hay ruptura del tejido con supuración y formación de abscesos a los conductos intercomunicados. ^{3, 77, 86} En la infección hay proliferación de macrófagos, células epiteloides, y fibroblastos los cuales producen colágena que forma una cápsula fibrosa de tejido conectivo y neovascularización ocasionando la pérdida de la función láctea. ^{75, 77, 94} Por otra parte, puede haber focos infectados en los linfonodos supramamarios, mesentéricos y tejido pulmonar. ⁷⁵ El período de incubación no es conocido. Lo más probable es que varíe con la virulencia y estado de multiplicación de la cepa de *Nocardia* y con la resistencia del huésped. ¹ El curso de la enfermedad puede oscilar entre dos y cuatro semanas y terminar con la muerte del animal. ^{3, 86} Los reportes de casos indican que al realizar biometrías hemáticas periódicamente en

el curso de la infección, existe un incremento progresivo en el porcentaje de neutrófilos en banda de un 8% y la presencia de un 60% neutrófilos segmentados a los diecisiete días post-infección.^{70,71}

Patogénesis de la Mastitis

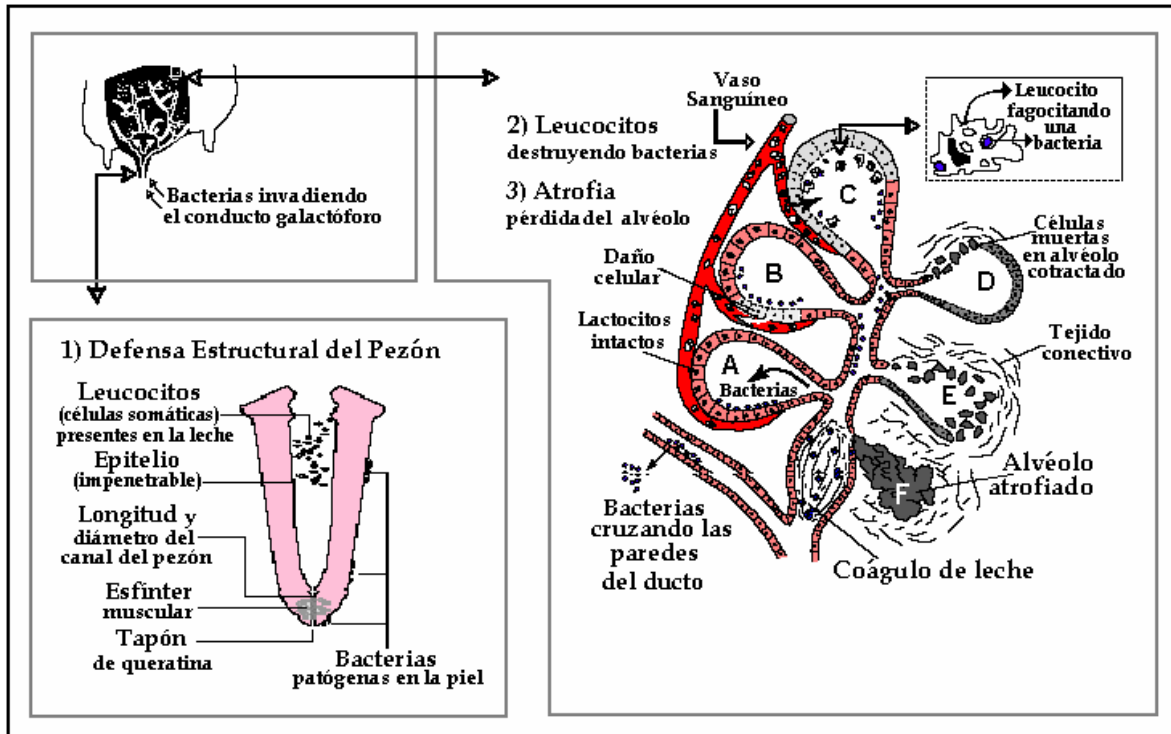


Figura 8: Desarrollo de la mastitis y defensa del tejido mamario contra la infección. Modificado del Instituto Babcock Universidad de Wisconsin-Madison.

Resulta difícil causar infecciones por *Nocardia* en los animales de laboratorio. La suspensión de los organismos en mucina gástrica parece aumentar su capacidad patógena, los cobayos inoculados con estas suspensiones desarrollan de modo regular abscesos y, ocasionalmente, pueden morir.²⁵ Pero, sin lugar a dudas, el pionero en producir la enfermedad en bovinos reproduciendo la mastitis es Alan Pier y cols. que en 1958 realizó pruebas en bovinos y cobayos, animales altamente susceptibles al padecimiento, y recopiló

excelentes resultados sobre las lesiones que producen estos microorganismos en los hospederos. ⁷⁰

Signos Clínicos.

El mayor número de casos con esta enfermedad ocurre en vacas de más de dos lactancias y éstas llegan a presentarla de los dos a quince días post-parto. ⁸⁶ Se advierte la presencia de la enfermedad sobretodo durante el período seco, ^{66,} ⁸⁶ pero también se puede presentar a lo largo de la lactación por los malos manejos del ordeño. ⁶² Se manifiesta con reacción general: pirexia frecuente y prolongada de 41.5° a 42° C (105° a 106.6 ° F), ^{40,70,86} depresión, anorexia, pérdida en la condición corporal de hasta de 168 Kg. (370 lb.) en treinta días post-infección y una caída repentina de la producción de leche. ⁷⁰ La ubre se siente caliente y edematizada, descrita por algunos autores como con aspecto o textura de "madera" (woody) ya que hay descamación de la piel. ^{3,81,86} **(Foto 9)**



Foto 9: Induración y descamación de la glándula mamaria por *Nocardia asteroides*.



Foto 10: En la necropsia se observa fibrosis en la glándula mamaria, debida a *Nocardia asteroides*.

A la palpación hay hiperestesia del cuarto afectado, que se encuentra aumentado de tamaño hasta en un 60%, endurecido y con áreas fibrosas difusas similares a las observadas en las vacas en donde se presentan otras infecciones

crónicas de la ubre. ^{70-73,86} **(Foto 10)** Estas nodulaciones presentan un tamaño de alrededor de 2.5 cm. con procesos granulomatosos, tejido glandular rojo pardo con impregnación edematosa ^{46, 86} y con una pérdida casi total de la producción. ^{81, 93} Como consecuencia de la destrucción gradual del tejido glandular, se presenta la formación de fístulas que drenan al exterior **(Fotos 11 y 12)**. La linfadenopatía es frecuente y los linfonodos supramamarios están aumentados en un 50% a la palpación, ^{10, 70} **(Fotos 13 y 14)** debido a la diseminación linfática y hematógena posibilitando problemas en otros órganos como los pulmones y el corazón. ^{46, 48, 75}



Fotografía M.V.Z. R. Javier Hernández Balderas



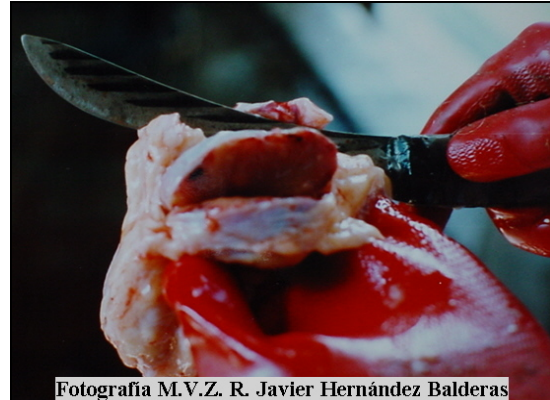
Fotos 11 y 12: Formación de fístulas en glándula mamaria causada por *Nocardia asteroides*.

La secreción láctea es de aspecto purulento o teñida con sangre, viscosa grisácea y con grumos blanquecinos (microcolonias). ^{75, 68} Se ha reportado una reacción muy severa de esta enfermedad en su forma aguda en la cual de un 5 a 10% de las vacas mueren 12 horas después de haber manifestado la signología clínica. ⁸⁶ A la revisión de laminillas con tinción H-E se observan las siguientes lesiones microscópicas: pocos neutrófilos, gran cantidad de macrófagos, presencia de células gigantes, reacción hipertrófica de conductos y acines. ^{67, 75}



Fotografía M.V.Z. R. Javier Hernández Balderas

Foto 13: Palpación del linfonodo precural, afectado por *Nocardia asteroides*.

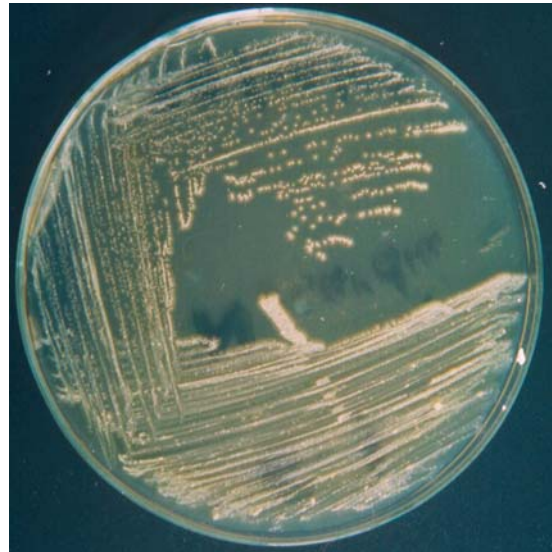


Fotografía M.V.Z. R. Javier Hernández Balderas

Foto 14: Revisión a la necropsia de linfonodo supramamario, de un caso de mastitis por *Nocardia spp.*

Diagnóstico.

El diagnóstico clínico esta basado en los signos pero debe ser apoyado rigurosamente con cultivo bacteriológico repitiendo la prueba para la confirmación de éste ^{26, 63} y realizando un muestreo general a todo el hato. ^{3, 71} (**Fotos 15 y 16**) En la mastitis por *Nocardia* el diagnóstico diferencial deberá ser realizado para descartar a otros agentes que producen mastitis granulomatosas como: *Mycobacterium bovis*, *Arcanobacterium spp*, *Cryptococcus neoformans* (levadura), *Candida albicans* (levadura). ^{3, 39, 75}



Fotos 15 y 16: Cultivo y aislamiento de *Nocardia asteroides*. L-514
Laboratorio de Bacteriología FESC-4. UNAM.

Al realizar el muestreo en los hatos donde se tienen animales positivos, éstos pueden llegar a revelar casos subclínicos o crónicos⁵² que se caracterizan por estadios intermitentes y deberán ser eliminados de la explotación.⁸⁶ Es necesario confirmar el diagnóstico, al obtener tejido modificado, exudado purulento, líquido pulmonar o leche obtenida directamente de los animales sospechosos^{46, 48, 86} o tomando muestras de los tanques colectivos de leche de donde también a sido aislado el microorganismo.⁸²⁻⁸⁴ **(Foto 17)** Weissenbock, *et al.*, 1995, sugiere la punción con aguja fina (PAF) para la realización de una biopsia de la glándula mamaria, a la par con el muestreo de leche realizando el cultivo bacteriológico en ambas.^{81, 85, 99} Es posible realizar el examen microscópico ya que, al ser ligeramente acidorresistente la tinción de Zielh-Neelsen, se recomienda se realice modificada.⁷⁴

El diagnóstico rápido se puede realizar con impronta de los linfonodos regionales o abscesos con la tinción de Grocott.^{25, 85, 90} **(Foto 18)** También se utilizan las pruebas bioquímicas de especificidad con el fin de identificar la especie de *Nocardia*. Una de pruebas consiste en el análisis de la ausencia o presencia de hidrólisis de caseína, de tirosina, xantina y urea entre otras bioquímicas más.^{19, 49, 97} **(Cuadro 2)**. El uso de pruebas inmunológicas no queda descartado.^{25, 68, 72} Es posible detectar la inmunidad celular al realizar la hipersensibilidad cutánea, o la inmunidad humoral con la prueba de fijación de complemento,⁶⁷ siempre que el animal solo lleve de 2 a 5 semanas de infección, mostrando títulos de 1:32,⁷⁰ también debe considerarse el gran número de reacciones serológicas cruzadas (aglutinación y fijación del complemento)^{25, 72} con antisueros frente a micobacterias y nocardias en donde en el caso de *Nocardia asteroides* puede servir como

sustituto eficaz de las micobacterias o para estimular la inmunogenicidad contra diversos microorganismos.^{25, 36} Es por esto que siempre deben tomarse en cuenta las características inmunológicas que comparten nocardias y micobacterias para el diagnóstico.⁷²

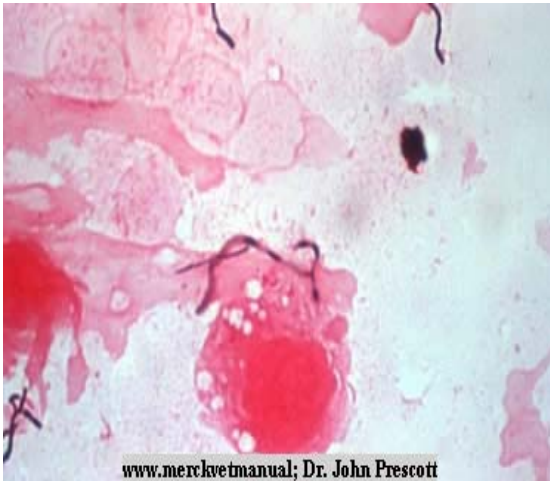


Foto 17: Tinción de Gram en muestra de leche para la identificación de *Nocardia*.

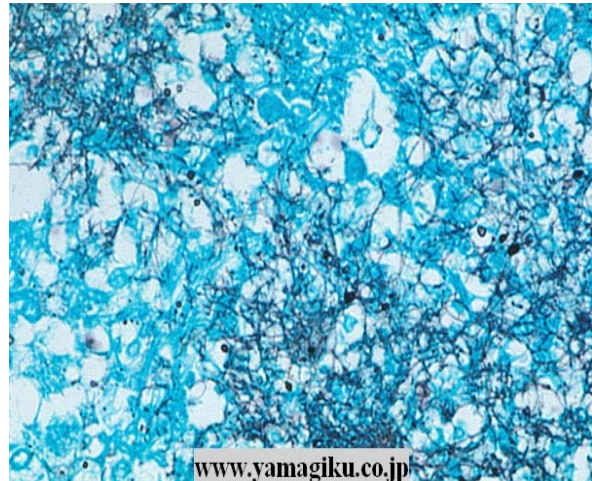


Foto 18: Tinción de Grocott utilizada para diagnosticar de manera directa a *Nocardia spp.*

Pese a estas semejanzas no es difícil distinguir entre ambos grupos: las nocardias crecen más rápidamente, tienden a formar ramificaciones y son parcialmente acidorresistentes.^{10, 90} A últimas fechas el serodiagnóstico en medicina humana ha tomado mayor importancia¹¹ ya que la repercusión de la nocardiosis se ha mostrado alta en los pacientes inmunodeficientes y se han logrado diseñar varias pruebas serológicas en donde los inmunoensayos con una proteína de 55-kilodaltones (kDa) obtenida por diálisis y liofilización de las bacterias con una posterior centrifugación, suspensión y purificación de la proteína antigénica, ha tenido buenos resultados de sensibilidad así como de especificidad para el diagnóstico.² Otras pruebas que se están realizando recientemente son: la rápida opacidad blanco lechosa que se crea al inocular

Nocardia farcinica en el agar Middlebrook 7H10 se incuba por 5 días a 35° C y sirve para la diferenciación de algunas especies del complejo de ***Nocardia asteroides***,^{15, 32} el análisis del ácido micólico específico de la pared celular de las nocardias (nocardiomicolados) se realiza por medio del análisis de cromatografía (TLC),^{49, 54} la identificación por la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) por medio de la cual se ha sintetizado la secuencia 16S rDNA una región limitada de 1,469 nucleótidos que posee un 98.7% de certeza en el diagnóstico, siendo estos métodos rápidos y sensibles para diferenciar especies de ***Nocardia*** pero aun restringidos a los laboratorios de investigación.^{24, 92}

Cuadro 2: Identificación de especie de ***Nocardia*** por hidrólisis de Caseína, Tirosina, Xantina y Urea.

	Caseína	Tirosina	Xantina	Urea
<i>N. asteroides</i>	–	–	–	+
<i>N. brasiliensis</i>	+	+	–	–
<i>N. otitidiscaviarum</i>	–	–	+	–

Modificado de Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. (1979).^{19, 49.}

Tratamiento.

Por la severidad de la enfermedad se han realizado infinidad de tratamientos para controlarla o curarla, pero con raquíticos resultados,^{6, 98} e incluso los tratamientos intramamarios mal administrados favorecen la diseminación de la enfermedad presentándose como epizootia.^{66, 71, 102} Esto se debe a la habilidad que posee el microorganismo de resistir la acción fagocítica de los macrófagos, monocitos y polimorfonucleares ya que inhibe la acción del fagosoma lisosoma sobreviviendo de manera intracelular.⁸ Se ha observado sensibilidad del microorganismo ***in vitro*** a diferentes antimicrobianos con los antibiogramas de

diversos laboratorios comerciales. Se han publicado resultados en los que la bacteria tiene mayor sensibilidad a la Eritromicina y al Miconazol,^{55, 86} una menor susceptibilidad a la Ampicilina, Neomicina,^{81, 87} Tetraciclinas, Kanamicina, Sulfamidas,⁵⁶ Estreptomina⁸⁷, Polimixina, Penicilina G, Nitrofuranos,⁷⁰ Cloxacilina y Cefalosporinas.^{49, 56} **(Fotos 19 y 20)** Todos los autores por experiencias propias han manifestado el problema de que ningún tratamiento es eficaz en este tipo de mastitis.^{27, 39, 98} Cabe destacar la necesidad de no confundirse al dar tratamiento para la nocardiosis pulmonar en donde los tratamientos con Sulfonamidas han sido más alentadores tanto en bovinos,⁸⁶ pequeñas especies y seres humanos que llegan a presentar esta variante de la enfermedad.^{1, 25, 36}



Fotos 19 y 20: Evaluación de la sensibilidad a los antibióticos en cepas de *Nocardia asteroides*. L-514 Laboratorio de Bacteriología FESC-4. UNAM.

Prevención y Control.

Deben ser considerados como base todos los modernos programas de control de la mastitis publicados por el National Institute for Research in Dairying

(NIRD) actualmente conocido como Animal Grassland Research Institute, el cual continuamente se actualiza en las estrategias de control de la mastitis con sede en el Reino Unido.⁶³ El control deberá realizarse basados en la detección de los casos y diagnóstico confirmativo de laboratorio^{86, 93} y los ejemplares confirmados deben ser eliminados del hato para su sacrificio en rastro.^{58, 93} No debe permitirse el acceso a la sala de ordeño a los animales positivos y sospechosos.³ Si son varios casos localizar la fuente de infección, eliminar por completo las malas prácticas de curación de los casos de mastitis, como la aplicación de infusiones intramamarias caseras, de mezclas de antibióticos con cánulas multidosis.^{62, 86}

Para evitar las infecciones se debe de realizar una higiene meticulosa del establo así como de las instalaciones (sala de ordeño, asoleaderos, echaderos) y realizar procedimientos sanitarios antes, durante y después de cada ordeño.^{38, 45} Sin lugar a dudas la limpieza y desinfección de los locales es la herramienta correcta para bajar a lo mínimo la concentración de este microorganismo de las explotaciones,⁸⁶ ya que se ha reportado que es susceptible al cloro (200 ppm) y al cloruro de benzalconio (400 ppm),⁷⁰ pero resistente a la Lejía o Sosa (NaOH),⁵⁶ los alcoholes y la clorhexidina,⁷⁰ de la misma forma deben ser evaluados los selladores de barrera, que si bien son una excelente herramienta en el control de la mastitis deben evitarse los que contengan en su formulación los elementos anteriormente mencionados ya que no poseen actividad antimicrobiana frente a ***Nocardia asteroides***.⁵⁰

Se han producido bacterinas muertas para la inmunización del ganado vacuno lechero en el sureste de los Estados Unidos, donde la incidencia de esta enfermedad se ha reportado alta, pero la eficacia de esta vacuna no ha sido bien

demostrada y no ha sido suficientemente estudiada en laboratorio, existiendo la posibilidad de llegar a producir la infección, además de producir reacción cruzada con la prueba de tuberculina.⁸⁶

Problema de Salud Pública.

Cabe destacar que, por si sola, la mastitis en general es un problema para la salud humana puesto que pone en peligro la salud de quienes consumen esta leche contaminada por la diseminación de bacterias.^{75, 78} Es notable la resistencia a los antimicrobianos presentes en la leche proveniente de estas ubres tratadas con antibioterapia y,¹⁴ en el caso particular por este tipo de mastitis que es considerada una enfermedad zoonótica por algunos autores y que hoy en día no esta tomada en cuenta en las normas de salud de varios países.¹

Por cualquier herida cutánea o inhalación de los bacilos aerotransportados puede llegarse a producir la enfermedad cuyas consecuencias resultan muy graves.⁴⁹ Por la vía cutánea (más común) produciendo micetomas,^{25, 36} las especies más comúnmente identificadas son el complejo de ***Nocardia asteroides***, ***Nocardia brasiliensis*** y ***Nocardia transvalensis*** (Fotos 21 y 22) y, en los casos de nocardiosis pulmonar y nerviosa las especies más aisladas son ***Nocardia africana***,³⁷ ***Nocardia asteroides***, ***Nocardia farcinica*** y ***Nocardia nova***^{25, 49} que, al no ser tratada, evolucionan en ciertos casos como una enfermedad autolimitada en donde se forman abscesos.^{8, 25} Actualmente estos casos se reportan como consecuencia de una enfermedad nosocomial de alta incidencia,⁹ sobre todo en los pacientes que han sido inmunocomprometidos por enfermedades como leucemias, linfomas malignos, tumores sólidos, asma,

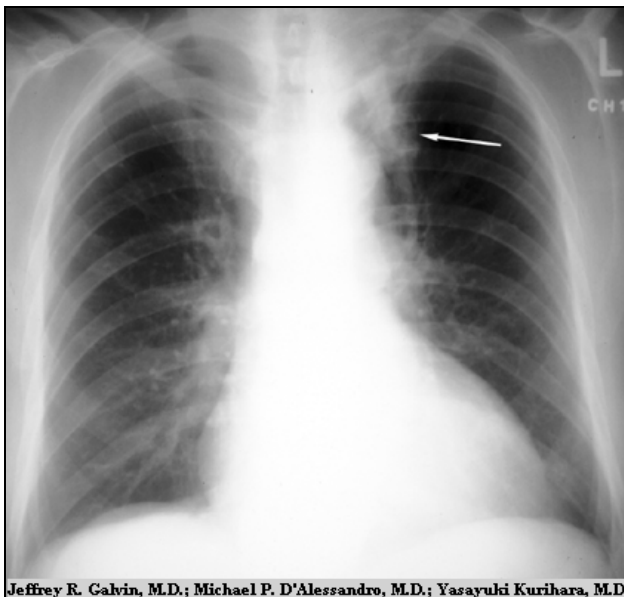
bronquiectasias, tuberculosis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, hemocromatosis, colitis ulcerosa, alcoholismo, cirrosis y tratamiento con corticosteroides, los receptores de trasplantes cardiacos y renales parecen tener un riesgo particular.^{33, 49}



Fotos 21 y 22: Manifestación cutánea del micetoma producido por *Nocardia spp.*

Cuando la nocardiosis se manifiesta con signos clínicos definidos, la enfermedad tiende a ser progresiva y mortal, es por esto que aún con la administración de tratamientos intensos muere cerca del 50% de los pacientes.^{10, 25} La terapéutica se realiza básicamente con la administración de Sulfonamidas (Sulfisoxazol o sulfadiazina) en dosis diarias de 6 a 8 g. con las que se han observado alentadores resultados.³⁵ El problema es que este régimen es muy prolongado (el tratamiento puede llevarse varios meses) y costoso, ya que se deben controlar todas las manifestaciones clínicas del paciente.^{25, 35} Para los casos muy avanzados de la enfermedad se ha propuesto especialmente la administración de la sulfonamida junto con un antibiótico, con este fin se ha sugerido a la Amikacina, Ampicilina, Eritromicina o Estreptomina.^{35, 37} Es

importante apuntar que son siempre útiles la respuesta clínica y los resultados de las pruebas de sensibilidad que nos reporte el laboratorio para elegir un fármaco simultánea.³⁶ Además, es necesario llevar a cabo un drenaje de los abscesos auxiliados con la ubicación por radiología.¹ **(Fotos 23 y 24)** Realizar el diagnóstico diferencial con los micetomas por hongos es extraordinariamente importante, ya que el enfoque quimioterapéutico será completamente distinto.^{25, 35}



Fotos 23 y 24: Diagnóstico por imagenología de las diferentes afecciones producidas por *Nocardia spp.*

C A P Í T U L O II

OBJETIVOS

Objetivo General:

Realizar el aislamiento e identificación de *Nocardia asteroides*, a partir de casos de mastitis granulomatosas para evaluar su sensibilidad a diferentes antimicrobianos *in vitro*.

Objetivos particulares:

- 1.- Identificar la especie de *Nocardia* prevalente en los establos pertenecientes a la explotación de tipo comercial estudiada.
- 2.- Evaluar su sensibilidad por la prueba de difusión en disco con diferentes antimicrobianos comúnmente utilizados en el tratamiento de mastitis que se encuentran actualmente en el mercado.

HIPÓTESIS

Comprobar que la *Nocardia asteroides* es un microorganismo patógeno ambiental, causante de mastitis granulomatosas y que presenta sensibilidad a varios antimicrobianos *in vitro*.

C A P Í T U L O III

MATERIAL y MÉTODO

1.MATERIAL.

1. 1.- Lugar: el presente trabajo fue realizado en una explotación lechera de tipo comercial, ubicada en el kilómetro 57 de la carretera Federal No. 85, México–Pachuca, al sureste del Estado de Hidalgo, en colindancia con el Estado de México. Presenta un clima BS Kw. (según Köeppen, tipo semiseco, templado y lluvioso en Verano). Geográficamente se ubica a 2270 msnm; en la latitud norte 19°,50', 30 y latitud oeste 98°, 59', 45, tiene una precipitación pluvial anual de 624.9 mm. y una temperatura anual promedio de 16.3° C.³⁴ Agrupa 126 establos que cuentan con una población aproximada de 200 a 500 vacas cada uno y una población total de 28,000 animales adultos y 5,500 becerras. Los establos seleccionados fueron los que tuvieron reportes previos de mastitis clínicas granulomatosas, con una población promedio de 450 vacas cada uno.

1. 2. Animales: las vacas muestreadas fueron diagnosticadas clínicamente, por la prueba de tazón de fondo oscuro y positivas a la prueba de California (CMT), acumulando un total de 100 vacas muestreadas de 13 diferentes establos.

1. 3. Muestras: se colectaron 100 muestras de leche para el aislamiento e identificación de microorganismos provenientes de los casos clínicos de mastitis.

1. 4. Material y equipo de laboratorio: los medios de cultivo y reactivos de diagnóstico utilizados en el aislamiento fueron: base de Agar Sangre, sangre defibrinada de bovino, cajas de Petri, asas de inoculación, material y aparatos comunes en un laboratorio de microbiología.

El medio de cultivo y material utilizados en la purificación de las cepas de **Nocardia** fueron: agar Dextrosa Sabouraud, cajas de Petri y asas de inoculación.

Los medios de cultivo y reactivos de diagnóstico utilizados en las pruebas de caracterización bioquímica realizadas a las cepas de **Nocardia** fueron: suspensiones de xantina, hipoxantina y tirosina.

1.- Medio basal

Extracto de carne	3.0 g.
Peptona	5.0 g.
Agar	15.0 g.
Agua destilada	1 L.

2.- Suspensiones

Tirosina	0.5 g.
Xantina	0.4 g.
Hipoxantina	0.4 g.
Agua destilada	100 ml.

3.- Medio de caseína

a. Solución A

1) Leche descremada (polvo)	10.0 g.	2) Agua destilada	100 ml.
-----------------------------	---------	-------------------	---------

b. Solución B

1) Agar	2.0 g.	2) Agua destilada	100 ml.
---------	--------	-------------------	---------

Para la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos se realizó la técnica de difusión en agar, con unidiscos comerciales impregnados con antimicrobianos, para la cual se requirió de: medio de Muller-Hinton, caldo BHI (infusión cerebro corazón), tubo de 0.5 de turbidez del nefelómetro de McFarland, dispensadores de unidiscos y pinzas, calibradores, regla o plantillas, discos de papel impregnado con antibióticos, cajas de Petri, asas de inoculación e hisopos estériles.

2. MÉTODO.

Se realizaron repetidas visitas a los diferentes establos en compañía de los médicos encargados de la ruta de mastitis, diagnosticando cien vacas con mastitis clínicas de trece diferentes establos, para posteriormente ser muestreadas. Las muestras de leche fueron obtenidas de la siguiente manera: se lavaron los pezones con solución de hipoclorito de sodio al 0.2%, secando los pezones con toallas de papel (una para cada pezón), se efectuó el despunte para eliminar los primeros chorros de leche. La antisepsia de los meatos de los pezones, se realizó con torundas de algodón impregnadas de alcohol isopropílico, frotando vigorosamente los meatos con un solo lado de la torunda, esta operación se repitió hasta que el algodón quedó completamente limpio.^{62, 63} Las muestras de leche se recolectaron en tubos de ensaye previamente estériles, se identificaron y refrigeraron hasta el momento de ser inoculadas.³⁸

La siembra se realizó en agar sangre, el medio se preparó de acuerdo con las instrucciones del fabricante, se puso en cajas de Petri estériles de 15 x 100 mm. en una cantidad aproximada de 20 ml. Para la inoculación en el medio sólido se utilizó la técnica americana para dilución de colonias.²¹ Posteriormente fueron incubadas a 37° C por 48 hrs.^{62, 63}

El aislamiento de ***Nocardia*** se realizó resembrado las cepas en agar Dextrosa Sabouraud el cual se preparó de acuerdo con las instrucciones del fabricante, se puso en cajas de Petri estériles de 15 x 100 mm. en una cantidad aproximada de 20 ml. Para la inoculación se utilizó la técnica americana para dilución de colonias.²¹ Posteriormente fueron incubadas a 37° C por 72 hrs.^{62, 63}

La identificación se realizó una vez purificado el microorganismo, llevando a cabo las pruebas primarias y las pruebas de caracterización bioquímica, para la identificación de la especie de ***Nocardia***, de acuerdo a Cowan y Steels, (1979) y Koneman *et al.*, (1999).^{19, 49} Los microorganismos del Género ***Nocardia*** son

actinomicetos aerobios que se caracterizan por su capacidad de hidrolizar xantina, hipoxantina, tirosina y caseína. Estos compuestos se incorporaron al agar nutritivo, sobre cuya superficie se sembraron los microorganismos. Los resultados se leen observando el aclaramiento del medio por debajo y alrededor del desarrollo bacteriano, que indica la hidrólisis.

Se calentó el medio basal para disolver los ingredientes y fraccionar a 100 ml en botellas de 250 ml. Se realizó la esterilización en autoclave a 15 libras por pulgada cuadrada, 121° C durante 15 minutos. Dejando enfriar el medio hasta que estuviera casi solidificado. Se agregó a cada botella 10 ml de suspensiones de xantina, hipoxantina o tirosina. Las suspensiones se colocaron en autoclave antes de agregarlas al medio basal. Es importante que los gránulos de xantina, hipoxantina y tirosina se mantengan en suspensión hasta que el medio se solidifique; por lo tanto, el agregado de los gránulos y el vertido del medio en las cajas de Petri debe hacerse en el momento en que el medio basal se ha enfriado casi hasta la solidificación. Los medios se vertieron en cajas de Petri estériles de 15 x 100 mm. Para el medio de caseína se colocaron las soluciones A y B en autoclave por separado, dejándolas enfriar hasta aproximadamente 50° C, mezclando A y B y vertiendo en cajas de Petri estériles de 15 x 100 mm.

Cada caja de xantina, hipoxantina, tirosina y caseína se dividió en tercios en forma de cuña, lo que proporcionó una área para sembrar un control positivo y uno negativo junto con el microorganismo a identificar. Las cajas se incubaron a 30° C y se leyeron a los siguientes tiempos:

- | | |
|---------------------------------|---------------------------|
| 1. Hidrólisis de la caseína | Leer después de 2 semanas |
| 2. Hidrólisis de la xantina | Leer después de 3 semanas |
| 3. Hidrólisis de la hipoxantina | Leer después de 3 semanas |
| 4. Hidrólisis de la tirosina | Leer después de 3 semanas |

Para la prueba de susceptibilidad a los antibióticos se realizó la técnica de difusión en agar. El medio de Muller-Hinton se preparó de acuerdo con las instrucciones del fabricante; se puso en cajas de Petri, en una cantidad aproximada de 20 ml, con lo que se obtuvieron 4 mm de altura.

El estándar de sulfato de bario se preparó mezclando 0.5 ml de cloruro de bario 0.048 M (1.178% peso / volumen de cloruro de bario dihidratado) con 99.5 ml de ácido sulfúrico al 1% volumen / volumen (0.36 N), que es la mitad de la densidad del estándar número I de McFarland, que se denomina a menudo estándar 0.5 de McFarland. Este corresponde aproximadamente a 10^8 bacterias / ml.

PROCEDIMIENTO.

Con un asa bacteriológica se tomaron 4 a 5 colonias aisladas e identificadas de un cultivo de *Nocardia asteroides* y se inocularon en el tubo de caldo de BHI (infusión cerebro corazón).

1.- Los tubos se incubaron a 35° C hasta que apareció el crecimiento bacteriano que se manifestó por turbidez del tubo alrededor de las 36 horas.

2.- El ajuste de la turbidez fue realizado tomando como referencia el tubo 0.5 del nefelómetro de McFarland.

3.- La siembra del microorganismo se realizó en la placa de Muller-Hinton usando un hisopo.

4.1. Se humedeció el hisopo con la suspensión bacteriana, quitando el exceso de caldo, presionándolo y girándolo sobre la pared interna del tubo por arriba del nivel del caldo.

4.2. La siembra en la placa de agar se realizó en tres direcciones para obtener un sembrado uniforme.

4.3. El hisopo se paso sobre el reborde de la caja de Petri y el agar.

5.- Se dejo reposar la placa de 3 a 5 minutos, para que se secura el inóculo.

6.- Se colocaron los unidiscos.

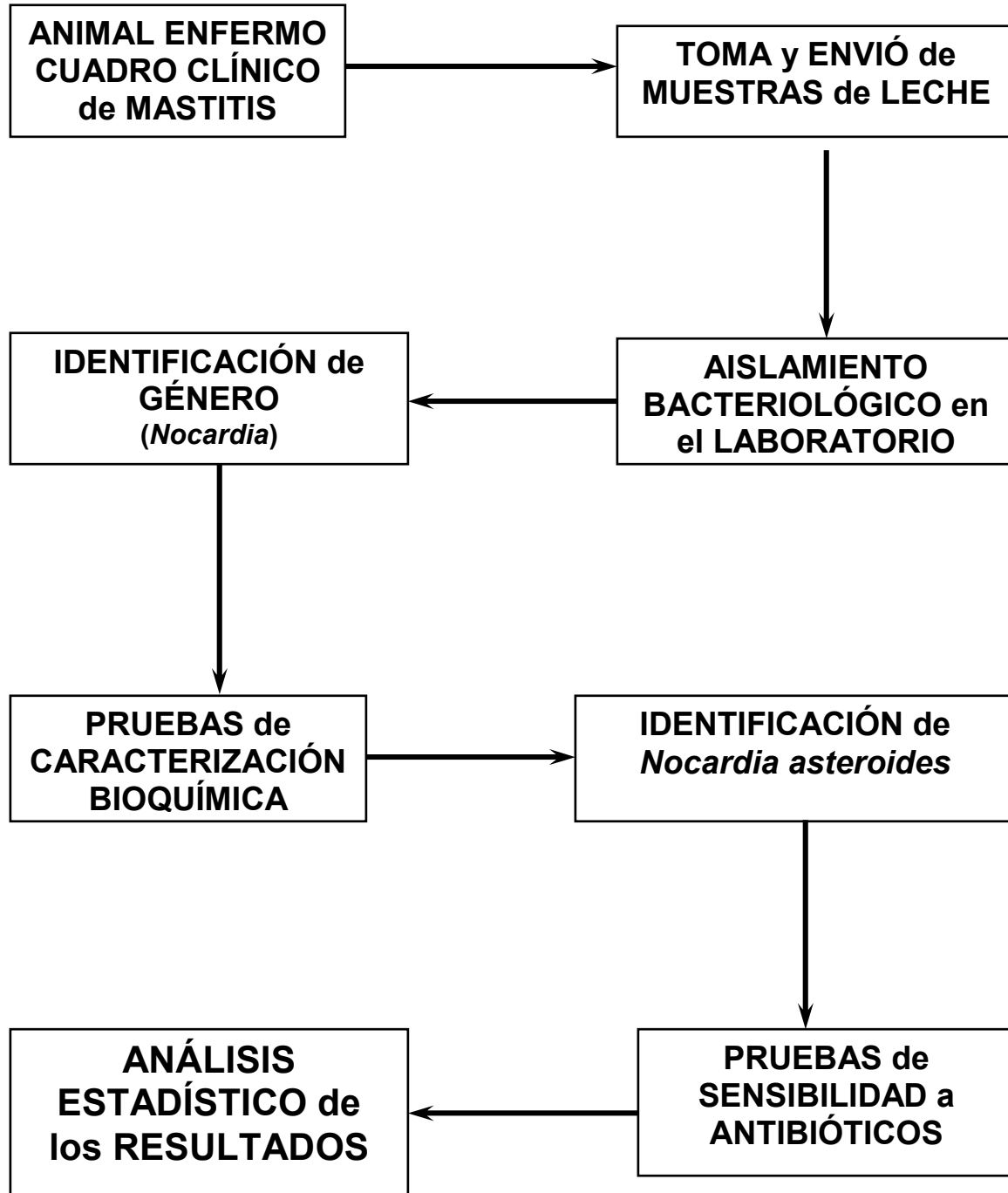
6.1.- Los discos fueron distribuidos uniformemente de tal manera que se pudiera prevenir una sobreposición de las zonas de inhibición y separados del borde de la caja.

6.2.- Se invirtieron las cajas de Petri e incubaron a 37° C durante más 24 horas.

6.3.- Se midieron los diámetros de inhibición con un calibrador Vernier.

Los resultados se analizaron por medio del análisis de las mínimas diferencias significativas, el método de Scheffe y estadística descriptiva, auxiliándose del paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) de Microsoft® para Windows®.

PLAN DE TRABAJO



RESULTADOS

Clínicamente las vacas con mastitis por *Nocardia asteroides* presentaron decaimiento, pirexia 41° C a 42° C, anorexia, depresión, disminución de movimientos ruminales, pérdida de la condición corporal, caída abrupta de la producción, hiperestesia de la ubre y endurecimiento de la misma con áreas fibrosas difusas. Linfonodos regionales aumentados en un 50 % a la palpación, La secreción láctea presentó aspecto purulento, teñida con sangre, viscosa grisácea o achocolatada y con grumos blanquecinos. En todas las vacas muestreadas se realizó de forma complementaria la prueba de California (CMT) observándose la reacción en menos de siete segundos formando el gel con un fuerte color morado y una superficie convexa.

Se observó que el mayor número de vacas afectadas con mastitis clínica fueron las de primer parto con un 27 %, de segundo parto 25 %, tercer parto 16 %, cuarto parto 15 %, quinto parto 6 %, sexto parto 8 %, séptimo parto 2 % y de noveno parto 1 % (Véase Cuadros 3 y 5, Gráfica 1 y 3). En relación a los cuartos afectados en el 89 % se observaron todos los cuartos afectados, el 6 % correspondió al cuarto anterior derecho, el 3 % al posterior izquierdo y el 2 % al posterior derecho (Véase Cuadro 4 y Gráfica 2). El mayor número de muestras se

obtuvieron de los establos ocho y cuatro, de los cuales la media de partos fue de 2.9859 y 2.4167 respectivamente, con una desviación estándar de 2.02073 para el establo cuatro y de 1.82438 para el establo ocho (Véase Cuadro 7, 8, y Gráfica 5).

En el 69% de los casos clínicos que se muestrearon y fueron remitidos al laboratorio de bacteriología, se aislaron bacterias de las muestras de leche, el 31% restante de las muestras no se tuvo desarrollo (Cuadro 2, 3 y 6). Las bacterias aisladas en leche fueron: ***Staphylococcus aureus*** 19%, ***Streptococcus agalactiae*** 16%, ***Nocardia asteroides*** 12%, la presencia de tres o más colonias diferentes se consideró muestra contaminada y fueron el 9%, ***Bacillus cereus*** 4%, ***Escherichia coli*** 4%, Enterobacterias 2%, ***Arcanobacterium pyogenes*** 1%, ***Clostridium spp.*** 1%, Levaduras 1% (Véase Gráfica 1 y 4).

Las cepas 1 y 39 de ***Nocardia asteroides*** crecieron en agar sangre alrededor de la 48 hrs. formando colonias duras, muy adherentes, secas, rugosas con pliegues irregulares, con un diámetro de 2 a 3 mm. y con ausencia de pigmento (Cuadro 2). Las diez cepas restantes compartieron las mismas características pero presentaron un pigmento pardo amarillento y su crecimiento fue más lento hasta de 96 hrs. Las doce cepas se desarrollaron a las 72 hrs. en Agar Sabouraud-Dextrosa (SDA) también formando colonias duras, muy adherentes, secas, rugosas con pliegues irregulares, con un diámetro de 2 a 3 mm. En la infusión cerebro-corazón (BHI) se logro la turbidez de 0.5 comparada con el nefelómetro de McFarland a las 48 hrs. en todas las cepas.

La interpretación de hidrólisis de la caseína se evidenció por un aclaramiento completo hasta la transparencia del medio originalmente blanco y lechoso. En las otras tres hidrólisis se observó la disolución de los compuestos cristalinos alrededor de las colonias que se desarrollan en el medio. (Cuadro 1).

De los 20 antimicrobianos utilizados en las pruebas de sensibilidad solo cinco presentaron inhibición del desarrollo bacteriano, las medias obtenidas fueron: Tetraciclina (24 mm), Enrofloxacina (21 mm) y Neomicina (21 mm), menor sensibilidad a la Vancomicina (12 mm) y Kitasamicina (11 mm) (Véase Cuadros 12, 14 y Gráfica 6), teniendo una resistencia marcada hacia Amikacina, Amoxicilina, Ampicilina, Ceftiofur sódico, Dicloxacilina, Eritromocina, Estreptomicina, Florfenicol, Fosfomicina, Gentamicina, Kanamicina, Lincomicina, Penicilina, Sulfamidas y Ubramicina (Véase Cuadros 9 y 10). Estadísticamente se demostró que existe una diferencia significativa muy importante en los halos de inhibición de los cinco antimicrobianos analizados, mostrando una significancia de 1 en 10 000 debido probablemente a las diferentes concentraciones a las que se manejan comercialmente (Véase Cuadros 11 y 13), en el caso de las Tetraciclinas se encontró una desviación estándar de 4.15240, para la Enrofloxacina de 2.42462 y de 10.26468 para la Neomicina, la Vancomicina tuvo una desviación estándar de 1.15470 y la Kitasamicina de 5.85364 (Véase Cuadro 12 y 14), una media total de 18.3833 en un total de 60 pruebas realizadas con una desviación estándar de 7.53093. Observándose una diferencia de medias significativa al nivel de .05 entre los grupos de antimicrobianos analizados (Cuadros 9 a 12, Gráfica 6).

Cuadro 1: Identificación de especie de *Nocardia* por hidrólisis de Caseína, Tirosina, Xantina y Urea.

	Caseína	Tirosina	Xantina	Urea
<i>N. asteroides</i>	-	-	-	+
<i>N. brasiliensis</i>	+	+	-	-
<i>N. otitidiscaviarum</i>	-	-	+	-

Modificado de Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria. (1979).^{19, 49.}

Cuadro 2. Resultados de Aislamientos Bacteriológicos.

No. Muestra	Fecha	No. Establo	No. de Vaca	¼'s Afectados	Muestra	No. de Partos	Fecha U. P.	Resultado
1	11/04/05	202	1951	T's + 2	Leche	3° P	15/12/04	<i>Nocardia asteroides</i>
2	18/04/05	170	127	T's	Leche	6° P	09/04/05	Sin desarrollo
3	18/04/05	170	138	T's	Leche	5° P	07/04/05	Sin desarrollo
4	18/04/05	170	465	PI	Leche	1° P	10/04/05	<i>Bacillus cereus</i>
5	18/04/05	170	466	T's	Leche	1° P	12/04/05	Sin desarrollo
6	18/04/05	170	474	T's	Leche	2° P	10/06/05	Sin desarrollo
7	18/04/05	170	487	T's	Leche	6° P	09/04/05	<i>Staphylococcus aureus</i>
8	18/04/05	170	508	T's	Leche	1° P	06/04/05	Sin desarrollo
9	18/04/05	170	514	T's	Leche	2° P	10/06/05	Sin desarrollo
10	18/04/05	170	520	T's	Leche	1° P	23/03/05	Muestra contaminada
11	18/04/05	170	521	T's	Leche	2° P	11/05/05	Sin desarrollo
12	18/04/05	170	526	T's	Leche	1° P	06/04/05	Sin desarrollo
13	18/04/05	170	528	T's	Leche	1° P	07/04/05	<i>Escherichia coli</i>
14	30/05/05	108	918	T's	Leche	2° P	26/03/05	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>
15	30/05/05	205	398	AD	Leche	3° P	19/10/04	Sin desarrollo
16	30/05/05	211	21	T's	Leche	1° P	20/02/05	<i>Streptococcus agalactiae</i>
17	30/05/05	216	70	PI	Leche	2° P	03/02/05	<i>Streptococcus agalactiae</i>
18	30/05/05	216	265	PD	Leche	2° P	04/04/05	Sin desarrollo
19	30/05/05	211	449	T's	Leche	1° P Ab-2Li	02/07/02	<i>Escherichia coli</i>
20	26/06/05	184	95	AD	Leche	2° P	10/04/05	<i>Clostridium sp.</i>
21	26/06/05	184	231	T's	Leche	3° P	30/11/04	Sin desarrollo
22	26/06/05	157	212	T's	Leche	6° P	03/01/05	<i>Streptococcus agalactiae</i>
23	26/06/05	157	383	T's	Leche	2° P	28/01/05	<i>Streptococcus agalactiae</i>
24	26/06/05	214	558	PI	Leche	2° P	05/05/05	Sin desarrollo
25	26/06/05	136	599	AD	Leche	3° P	30/01/05	<i>Streptococcus agalactiae</i>

26	26/06/05	216	131	AD	Leche	2° P	15/03/05	Sin desarrollo
27	01/08/05	193	S/Arete	T's	Leche	2° P	29/05/05	<i>Staphylococcus aureus</i>
28	01/08/05	193	1	T's	Leche	1° P	04/06/05	Sin desarrollo
29	01/08/05	193	3	T's	Leche	1° P	16/07/05	<i>Staphylococcus aureus</i>
30	01/08/05	193	12	T's	Leche	2° P	01/01/05	Levaduras
31	01/08/05	193	22	T's	Leche	2° P (Li)	19/09/04	Sin desarrollo
32	01/08/05	193	26	T's	Leche	9° P	22/02/05	Sin desarrollo
33	01/08/05	193	33	T's	Leche	6° P	01/04/05	<i>Nocardia asteroides</i>
34	01/08/05	193	38	T's	Leche	7° P (Li)	14/09/03	Sin desarrollo
35	01/08/05	193	41	T's	Leche	4° P	25/09/04	Sin desarrollo
36	01/08/05	193	47	T's	Leche	3° P	30/05/05	Enterobacterias
37	01/08/05	193	57	T's	Leche	4° P	09/03/05	<i>Streptococcus agalactiae</i>
38	01/08/05	193	64	T's	Leche	2° P	20/06/04	<i>Streptococcus agalactiae</i>
39	01/08/05	193	67	T's	Leche	1° P	03/08/05	Sin desarrollo
40	01/08/05	193	79	T's	Leche	1° P	23/06/05	<i>Escherichia coli</i>
41	01/08/05	193	82	T's	Leche	3° P	13/06/05	Sin desarrollo
42	01/08/05	193	95	T's	Leche	4° P	02/03/05	<i>Nocardia asteroides</i>
43	01/08/05	193	107	T's	Leche	1° P	20/08/04	<i>Streptococcus agalactiae</i>
44	01/08/05	193	109	T's	Leche	1° P	17/09/04	<i>Staphylococcus aureus</i>
45	01/08/05	193	114	T's	Leche	1° P	03/07/05	<i>Nocardia asteroides</i>
46	01/08/05	193	115	T's	Leche	1° P	11/12/04	<i>Staphylococcus aureus</i>
47	01/08/05	193	121	T's	Leche	1° P	28/03/05	Enterobacterias
48	01/08/05	193	125	T's	Leche	1° P	05/02/05	<i>Nocardia asteroides</i>
49	01/08/05	193	135	T's	Leche	1° P	15/06/05	Sin desarrollo
50	01/08/05	193	422	T's	Leche	2° P	12/06/05	Sin desarrollo
51	01/08/05	193	476	T's	Leche	7° P	30/01/05	Sin desarrollo
52	01/08/05	193	513	T's	Leche	6° P	20/01/05	<i>Streptococcus agalactiae</i>
53	01/08/05	193	540	T's	Leche	6° P	22/02/05	<i>Nocardia asteroides</i>
54	01/08/05	193	582	T's	Leche	6° P	09/11/05	<i>Nocardia asteroides</i>
55	01/08/05	193	618	T's	Leche	5° P	05/05/05	Sin desarrollo

56	01/08/05	193	620	T's	Leche	1° P	08/02/05	<i>Staphylococcus aureus</i>
57	01/08/05	193	634	T's	Leche	6° P	20/01/05	Sin desarrollo
58	01/08/05	193	656	T's	Leche	1° P	20/03/05	<i>Nocardia asteroides</i>
59	01/08/05	193	671	T's	Leche	5° P	03/05/05	<i>Staphylococcus aureus</i>
60	01/08/05	193	684	T's	Leche	5° P	12/02/05	Muestra contaminada
61	01/08/05	193	700	T's	Leche	4° P	06/04/04	Muestra contaminada
62	01/08/05	193	711	T's	Leche	4° P	02/10/04	Muestra contaminada
63	01/08/05	193	715	T's	Leche	5° P	23/07/05	Muestra contaminada
64	01/08/05	193	723	T's	Leche	4° P	28/09/04	Muestra contaminada
65	01/08/05	193	728	T's	Leche	4° P	29/12/04	Muestra contaminada
66	01/08/05	193	747	T's	Leche	4° P	21/10/04	Muestra contaminada
67	01/08/05	193	771	T's	Leche	3° P	10/04/04	Muestra contaminada
68	01/08/05	193	778	T's	Leche	4° P	10/01/05	Sin desarrollo
69	01/08/05	193	800	T's	Leche	4° P	26/04/05	<i>Streptococcus agalactiae</i>
70	01/08/05	193	837	T's	Leche	3° P	20/08/04	<i>Streptococcus agalactiae</i>
71	01/08/05	193	842	T's	Leche	4° P	07/05/05	<i>Streptococcus agalactiae</i>
72	01/08/05	193	860	T's	Leche	2° P	08/03/05	<i>Staphylococcus aureus</i>
73	01/08/05	193	875	T's	Leche	4° P	15/04/05	Sin desarrollo
74	01/08/05	193	877	T's	Leche	3° P	09/01/05	<i>Staphylococcus aureus</i>
75	01/08/05	193	879	T's	Leche	3° P	03/02/05	<i>Bacillus cereus</i>
76	01/08/05	193	883	T's	Leche	4° P	17/02/05	<i>Nocardia asteroides</i>
77	01/08/05	193	885	T's	Leche	4 ° P	20/05/05	<i>Nocardia asteroides</i>
78	01/08/05	193	892	T's	Leche	3° P	07/07/05	<i>Staphylococcus aureus</i>
79	01/08/05	193	904	T's	Leche	3° P	21/05/05	Sin desarrollo
80	01/08/05	193	906	PD	Leche	3° P	07/07/05	<i>Streptococcus agalactiae</i>
81	01/08/05	193	916	T's	Leche	3° P	24/02/05	<i>Nocardia asteroides</i>
82	01/08/05	193	918	AD	Leche	3° P	07/06/05	<i>Bacillus cereus</i>
83	01/08/05	193	920	T's	Leche	2° P	06/12/04	<i>Staphylococcus aureus</i>
84	01/08/05	193	923	T's	Leche	2° P	11/08/04	Sin desarrollo
85	01/08/05	193	925	T's	Leche	2° P	14/12/05	<i>Staphylococcus aureus</i>

86	01/08/05	193	927	T's	Leche	2° P	28/04/05	<i>Escherichia coli</i>
87	01/08/05	193	931	T's	Leche	2° P	24/01/05	<i>Streptococcus agalactiae</i>
88	01/08/05	193	936	T's	Leche	2° P	30/11/04	<i>Staphylococcus aureus</i>
89	01/08/05	193	947	T's	Leche	2° P	08/03/05	<i>Bacillus cereus</i>
90	01/08/05	193	951	T's	Leche	2° P	05/12/04	<i>Nocardia asteroides</i>
91	01/08/05	193	952	T's	Leche	1° P	22/04/04	<i>Staphylococcus aureus</i>
92	01/08/05	193	960	T's	Leche	2° P	11/06/05	<i>Streptococcus agalactiae</i>
93	01/08/05	193	967	T's	Leche	1° P	14/07/04	<i>Streptococcus agalactiae</i>
94	01/08/05	193	971	T's	Leche	1° P	11/08/04	<i>Staphylococcus aureus</i>
95	01/08/05	193	975	T's	Leche	1° P	08/06/05	<i>Staphylococcus aureus</i>
96	01/08/05	193	980	T's	Leche	1° P	16/10/04	Sin desarrollo
97	01/08/05	193	997	T's	Leche	1° P	17/02/05	<i>Staphylococcus aureus</i>
98	01/08/05	181	215	T's	Leche	5° P	27/07/05	<i>Staphylococcus aureus</i>
99	01/08/05	181	367	T's	Leche	2° P	27/07/05	Sin desarrollo
100	01/08/05	175	19	AD	Leche	1° P	27/07/05	<i>Staphylococcus aureus</i>

¼'s = Cuartos. T's = Todos los cuartos. AD = Cuarto anterior derecho. PD = Cuarto posterior derecho.

PI = Cuarto posterior izquierdo. P = Parto. U. P. = Último Parto. Ab = Aborto. Li = Lactancia inducida.

Cuadro 3. Relación del Número de Parto y los Agentes Involucrados en Mastitis Clínicas.

Microorganismos Aislados	1° Parto	2° Parto	3° Parto	4° Parto	5° Parto	6° Parto	7° Parto	9° Parto	TOTAL
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>		1							1
<i>Bacillus cereus</i>	1	1	2						4
<i>Clostridium spp.</i>		1							1
Otras enterobacterias	1		1						2
<i>Escherichia coli</i>	2	1		1					4
Levaduras		1							1
Muestra contaminada	1		1	5	2				9
<i>Nocardia asteroides</i>	3	1	2	3		3			12
Sin desarrollo	7	9	5	3	2	2	2	1	31
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	5	2		2	1			19
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3	5	3	3		2			16
TOTAL	27	25	16	15	6	8	2	1	100

Cuadro 4. Relación del Número de Cuartos Afectados.

Cuartos Afectados	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulado
AD	6	6.0	6.0	6.0
PD	2	2.0	2.0	8.0
PI	3	3.0	3.0	11.0
T's	89	89.0	89.0	99.0
TOTAL	100	100	100	100

Cuadro 5. Frecuencia de Casos Clínicos y el Número de Partos.

Número de Partos	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulado
1	27	27.0	27.0	27.0
2	25	25.0	25.0	52.0
3	16	16.0	16.0	68.0
4	15	15.0	15.0	83.0
5	6	6.0	6.0	89.0
6	8	8.0	8.0	97.0
7	2	2.0	2.0	99.0
9	1	1.0	1.0	100.0
TOTAL	100	100	100	

Cuadro 6. Frecuencia de Aislamientos Bacteriológicos.

Microorganismos Aislados	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulado
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	1	1.0	1.0	1.0
<i>Bacillus cereus</i>	4	4.0	4.0	5.0
<i>Clostridium</i> spp.	1	1.0	1.0	6.0
<i>Escherichia coli</i>	4	4.0	4.0	10.0
Otras enterobacterias	2	2.0	2.0	12.0
Levaduras	1	1.0	1.0	13.0
Muestras contaminadas	9	9.0	9.0	22.0
<i>Nocardia asteroides</i>	12	12.0	12.0	34.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	19.0	19.0	53.0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	16	16.0	16.0	79.0
Sin desarrollo	31	31.0	31.0	100.0
TOTAL	100	100	100	

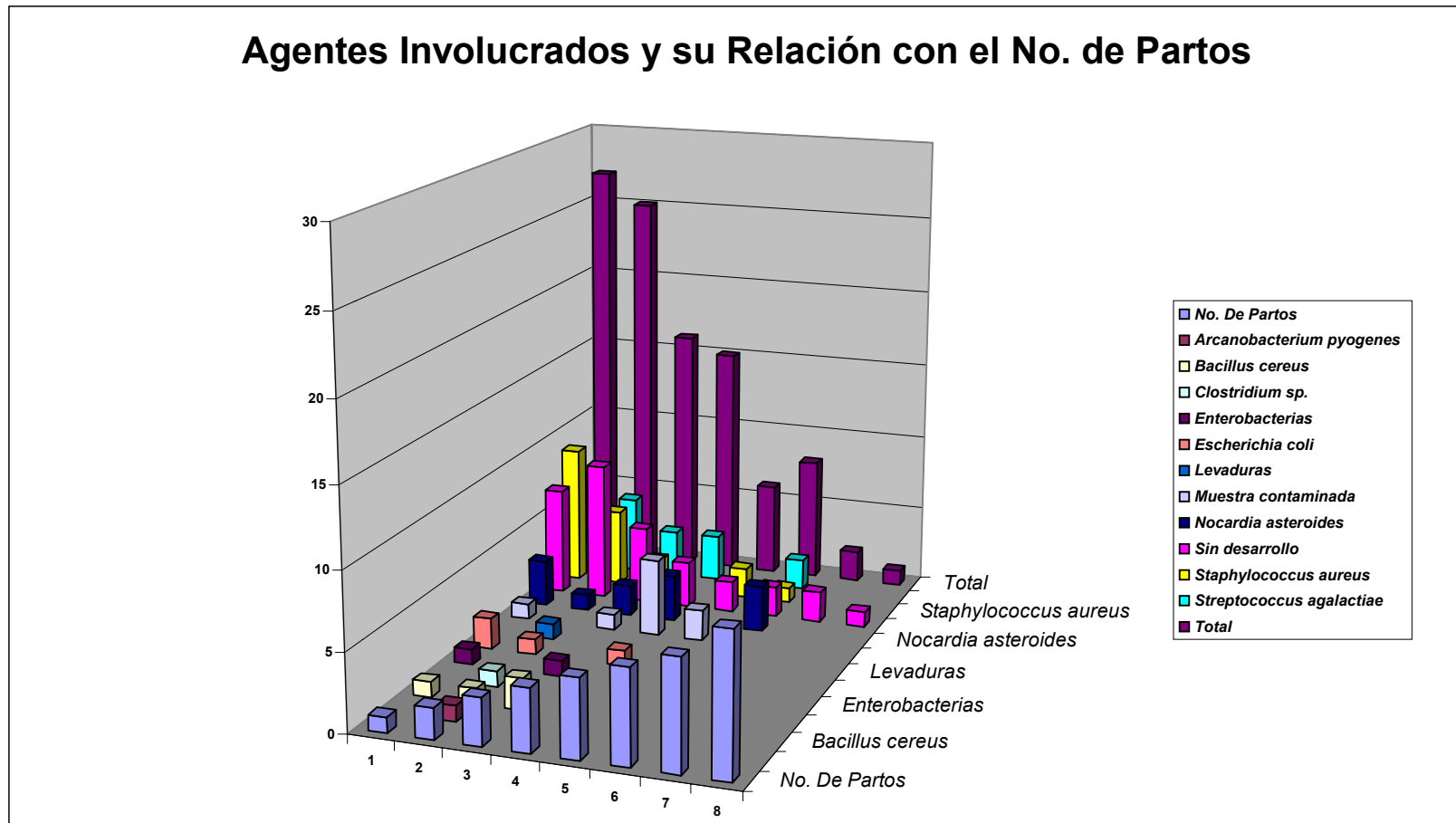
Cuadro 7. Frecuencia de Casos Reportados por Establo.

Establos	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje Válido	Porcentaje Acumulado
1	1	1.0	1.0	1.0
2	1	1.0	1.0	2.0
3	2	2.0	2.0	4.0
4	12	12.0	12.0	16.0
5	1	1.0	1.0	17.0
6	2	2.0	2.0	19.0
7	2	2.0	2.0	21.0
8	71	71.0	71.0	92.0
9	1	1.0	1.0	93.0
10	1	1.0	1.0	94.0
11	2	2.0	2.0	96.0
12	1	1.0	1.0	97.0
13	3	3.0	3.0	100
TOTAL	100	100.0	100.0	

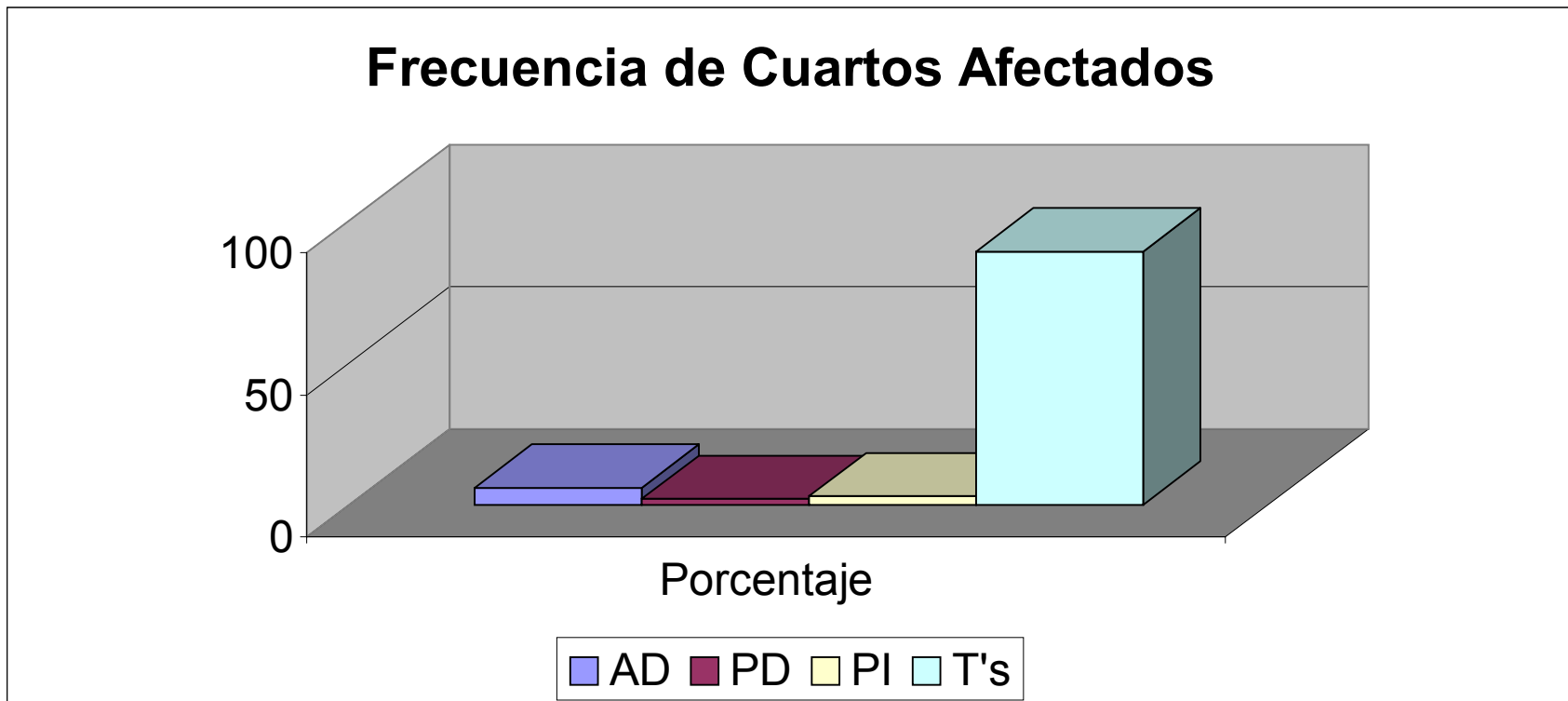
Cuadro 8. Análisis Estadístico del Promedio de Número de Partos por Establo.

Establos	Media	Número de Muestras	Desviación Estándar
1	2.0000	1	-
2	3.0000	1	-
3	4.0000	2	2.82843
4	2.4167	12	2.02073
5	1.0000	1	-
6	3.5000	2	2.12132
7	2.5000	2	.70711
8	2.9859	71	1.82438
9	3.0000	1	-
10	3.0000	1	-
11	2.5000	2	2.12132
12	2.0000	1	-
13	2.0000	3	.00000
TOTAL	2.8600	100	1.76967

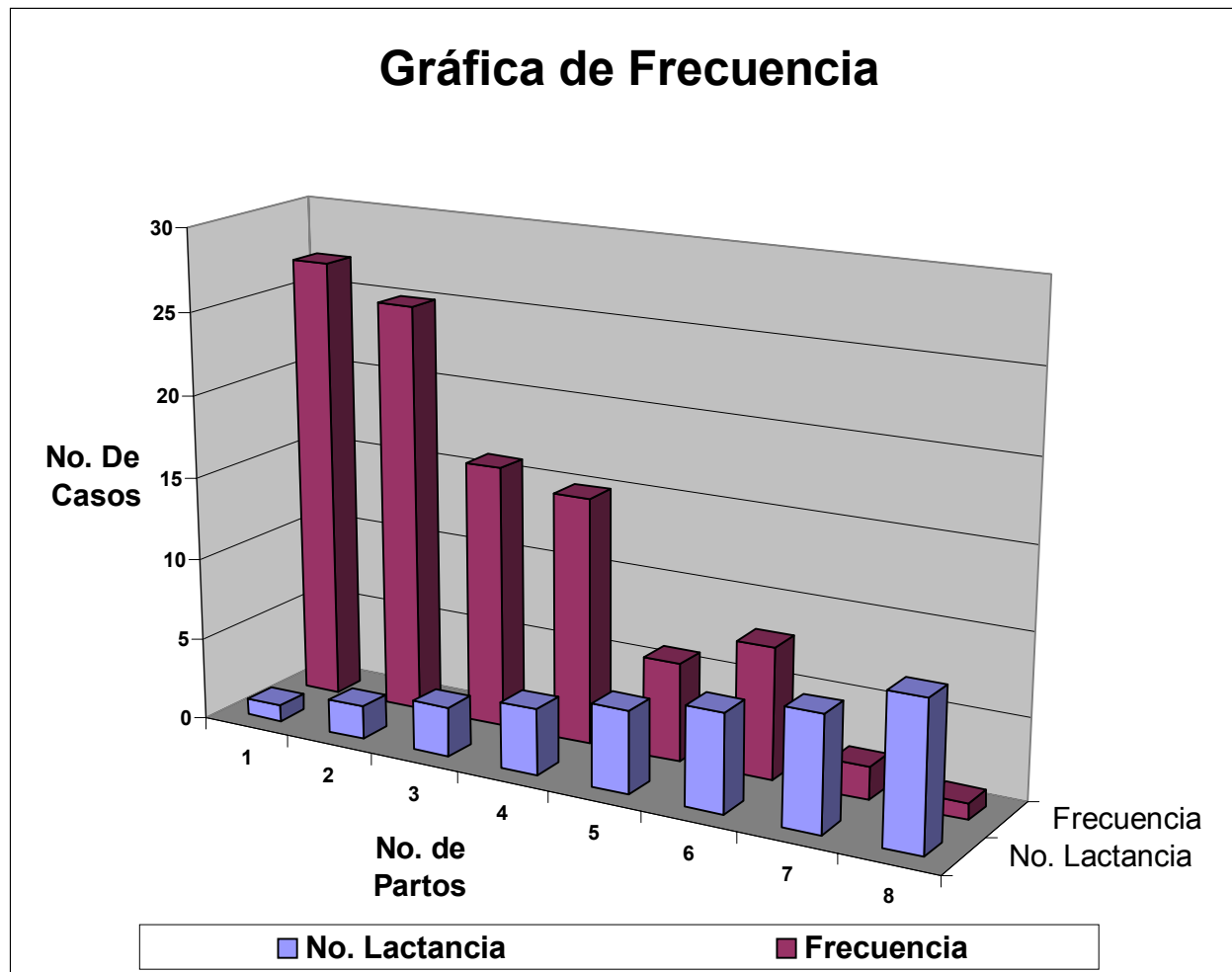
Gráfica 1. Proporción de Casos Relacionados con los Agentes y el Número de Partos.



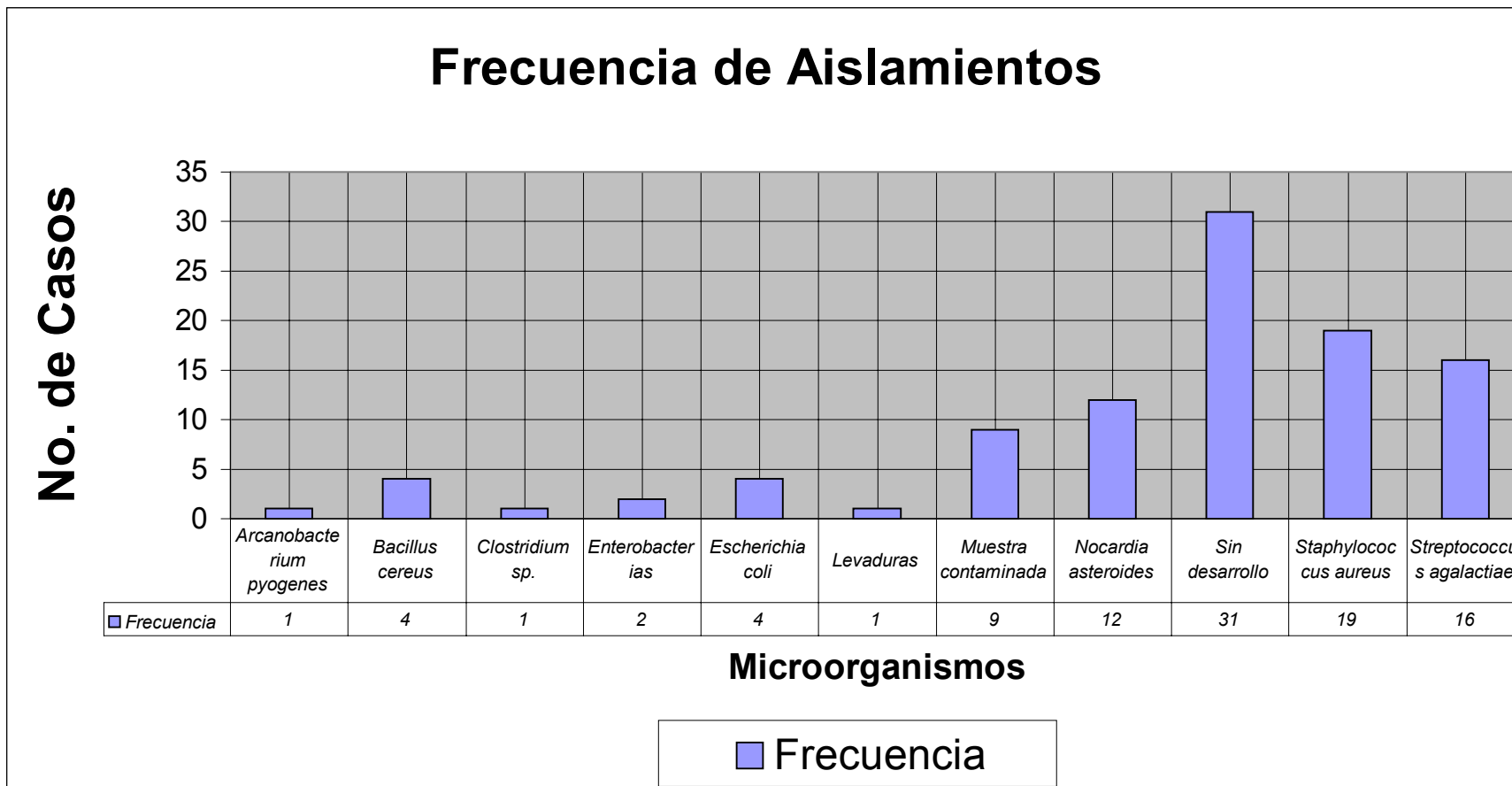
Gráfica 2. Porcentaje de Cuartos Afectados con Mastitis Clínica.



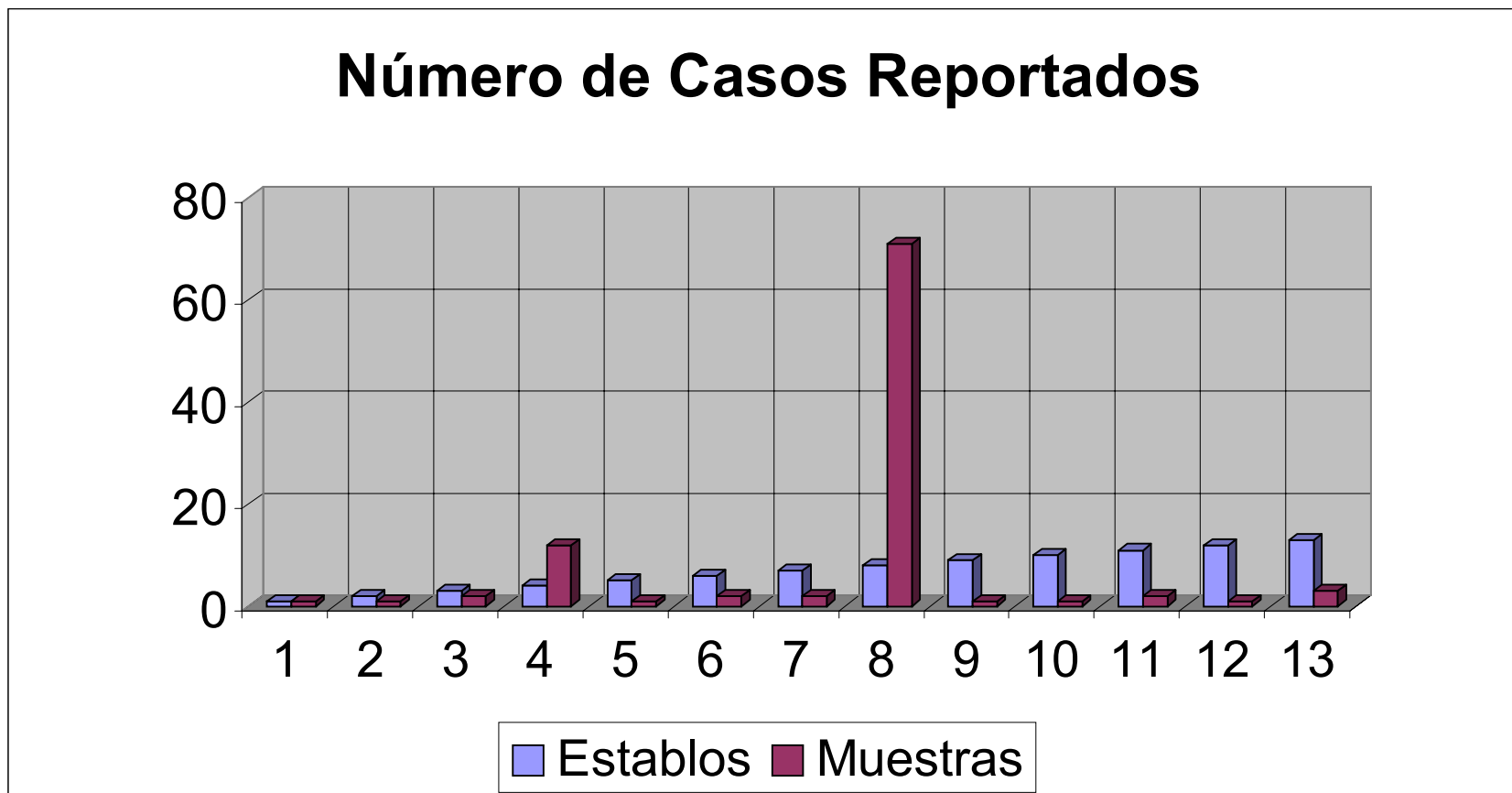
Gráfica 3. Relación de Casos Clínicos y el Número de Parto.



Gráfica 4. Frecuencia de Microorganismos Involucrados en Casos de Mastitis Clínicas



Gráfica 5. Relación de Establos y Muestras Colectadas.



Cuadro 9. Prueba de Susceptibilidad a Antibióticos de Cepas de *Nocardia asteroides* de Origen Bovino.

Cepa #	AMK	AMX	AM	CF	DX	ER	S	E	FL	FO
	30 µg	20 µg	10 µg	30 µg	1 µg	5 µg	10 µg	15 µg	30 µg	50 µg
1	R	R	R	32 mm	21 mm	22 mm	R	R	27 mm	26 mm
33	R	R	R	28 mm	24 mm	26 mm	R	R	22 mm	29 mm
42	R	R	R	R	R	20 mm	R	R	R	R
45	R	R	R	R	R	21 mm	R	R	R	R
48	R	R	R	R	R	22 mm	R	R	R	R
53	R	R	R	R	R	23 mm	R	R	R	R
54	R	R	R	R	R	25 mm	R	R	R	R
58	R	R	R	R	R	19 mm	R	R	R	R
76	R	R	R	R	R	18 mm	R	R	R	R
77	R	R	R	R	R	19 mm	R	R	R	R
81	R	R	R	R	R	23 mm	R	R	R	R
90	R	R	R	R	R	22 mm	R	R	R	R

AMK = Amikacina, AMX = Amoxicilina, AM = Ampicilina, CF = Ceftiofur sódico, DX = Dicloxacilina, ER = Enrofloxacin, S = Estreptomina, E = Eritomicina FL = Florfenicol, FO = Fosfomicina. µg: concentración del antimicrobiano.

Cuadro 10. Prueba de Susceptibilidad a Antibióticos de Cepas de *Nocardia asteroides* de Origen Bovino.

Cepa #	GM	K	KT	L	N	P	SSS	TE	VA	UB
	10 µg	30 µg	10 µg	2 µg	30 µg	10 UI	200 µg	30 µg	30 µg	30 µg
1	R	R	R	R	R	R	R	18mm	11mm	R
33	R	R	R	R	R	R	R	20mm	13mm	R
42	R	R	14mm	R	22mm	R	R	27mm	13mm	R
45	R	R	12mm	R	25mm	R	R	22mm	12mm	R
48	R	R	13mm	R	27mm	R	R	21mm	15mm	R
53	R	R	11mm	R	30mm	R	R	25mm	13mm	R
54	R	R	14mm	R	25mm	R	R	26mm	14mm	R
58	R	R	17mm	R	27mm	R	R	33mm	13mm	R
76	R	R	17mm	R	25mm	R	R	23mm	12mm	R
77	R	R	15mm	R	23mm	R	R	26mm	11mm	R
81	R	R	14mm	R	26mm	R	R	21mm	13mm	R
90	R	R	16mm	R	28mm	R	R	28mm	12mm	R

GM = Gentamicina, K = Kanamicina, KT = Kitasamicina, L = Lincomicina, N = Neomicina, P = Penicilina, SSS = sulfatiazol, sulfadiazina y sulfametazina, TE = Tetraciclinas, VA = Vancomicina, UB = Ubramicina. µg: concentración del antimicrobiano.

Cuadro 11. Análisis de las Mínimas Diferencias Significativas.

Antibióticos (I)	(J)	Diferencia de Medias (I-J)	Estándar de Error	Significancia	95% de Intervalo de Confiabilidad	
					Límite Alto	Límite Bajo
1	2	9.7500*	2.33868	.000	5.0632	14.4368
	3	.1667	2.33868	.943	-4.5202	4.8535
	4	-2.5000	2.33868	.290	-7.1868	2.1868
	5	9.0000*	2.33868	.000	4.3132	13.6868
2	1	-9.7500*	2.33868	.000	-14.4368	-5.0632
	3	-9.5833*	2.33868	.000	-14.2702	-4.8965
	4	-12.2500*	2.33868	.000	-16.9368	-7.5632
	5	-.7500	2.33868	.750	-5.4368	3.9368
3	1	-.1667	2.33868	.943	-4.8535	4.5202
	2	9.5833*	2.33868	.000	4.8965	14.2702
	4	-2.6667	2.33868	.259	-7.3535	2.0202
	5	8.8333*	2.33868	.000	4.1465	13.5202
4	1	2.5000	2.33868	.290	-2.1868	7.1868
	2	12.2500*	2.33868	.000	7.5632	16.9368
	3	2.6667	2.33868	.259	-2.0202	7.3535
	5	11.5000*	2.33868	.000	6.8132	16.1868
5	1	-9.0000*	2.33868	.000	-13.6868	-4.3132
	2	.7500	2.33868	.750	-3.9368	5.4368
	3	-8.8333*	2.33868	.000	-13.5202	-4.1465
	4	-11.5000*	2.33868	.000	-16.1868	-6.8132

*. La diferencia de medias es significativa al nivel de .05

mm. de Inhibición	Suma de los Cuadros	df	Media de los Cuadros	F	Significancia
Entre grupos	1541.267	4	385.317	11.741	.000
Dentro del grupo	1804.917	55	32.817		
TOTAL	3346.183	59			

Cuadro 12. Medias de los Antimicrobianos Analizados.

Antibiótico	Medias	Número	Desviación Estándar
1	21.6667	12	2.42462
2	11.9167	12	5.85364
3	21.5000	12	10.26468
4	24.1667	12	4.15240
5	12.6667	12	1.15470
TOTAL	18.3833	60	7.53093

Cuadro 13. Análisis de Varianza por el Método de Scheffe.

Antibióticos (I)	(J)	Diferencia de Medias (I-J)	Estándar de Error	Significancia	95% de Intervalo de Confiabilidad	
					Límite Alto	Límite Bajo
1	2	9.7500*	2.33868	.004	2.2960	17.2040
	3	.1667	2.33868	1.000	-7.2874	7.6207
	4	-2.5000	2.33868	.886	-9.9540	4.9540
	5	9.0000*	2.33868	.010	1.5460	16.4540
2	1	-9.7500*	2.33868	.004	-17.2040	-2.2960
	3	-9.5833*	2.33868	.005	-17.0374	-2.1293
	4	-12.2500*	2.33868	.000	-19.7040	-4.7960
	5	-.7500	2.33868	.999	-8.2040	6.7040
3	1	-.1667	2.33868	1.000	-7.6207	7.2874
	2	9.5833*	2.33868	.005	2.1293	17.0374
	4	-2.6667	2.33868	.860	-7.3535	4.7874
	5	8.8333*	2.33868	.012	4.1465	16.2874
4	1	2.5000	2.33868	.886	-4.9540	9.9540
	2	12.2500*	2.33868	.000	4.7960	19.7040
	3	2.6667	2.33868	.860	-4.7874	10.1207
	5	11.5000*	2.33868	.000	4.0460	18.9540
5	1	-9.0000*	2.33868	.010	-16.4540	-1.5460
	2	.7500	2.33868	.999	-6.7040	8.2040
	3	-8.8333*	2.33868	.012	-16.2874	-1.3793
	4	-11.5000*	2.33868	.000	-18.9540	-4.0460

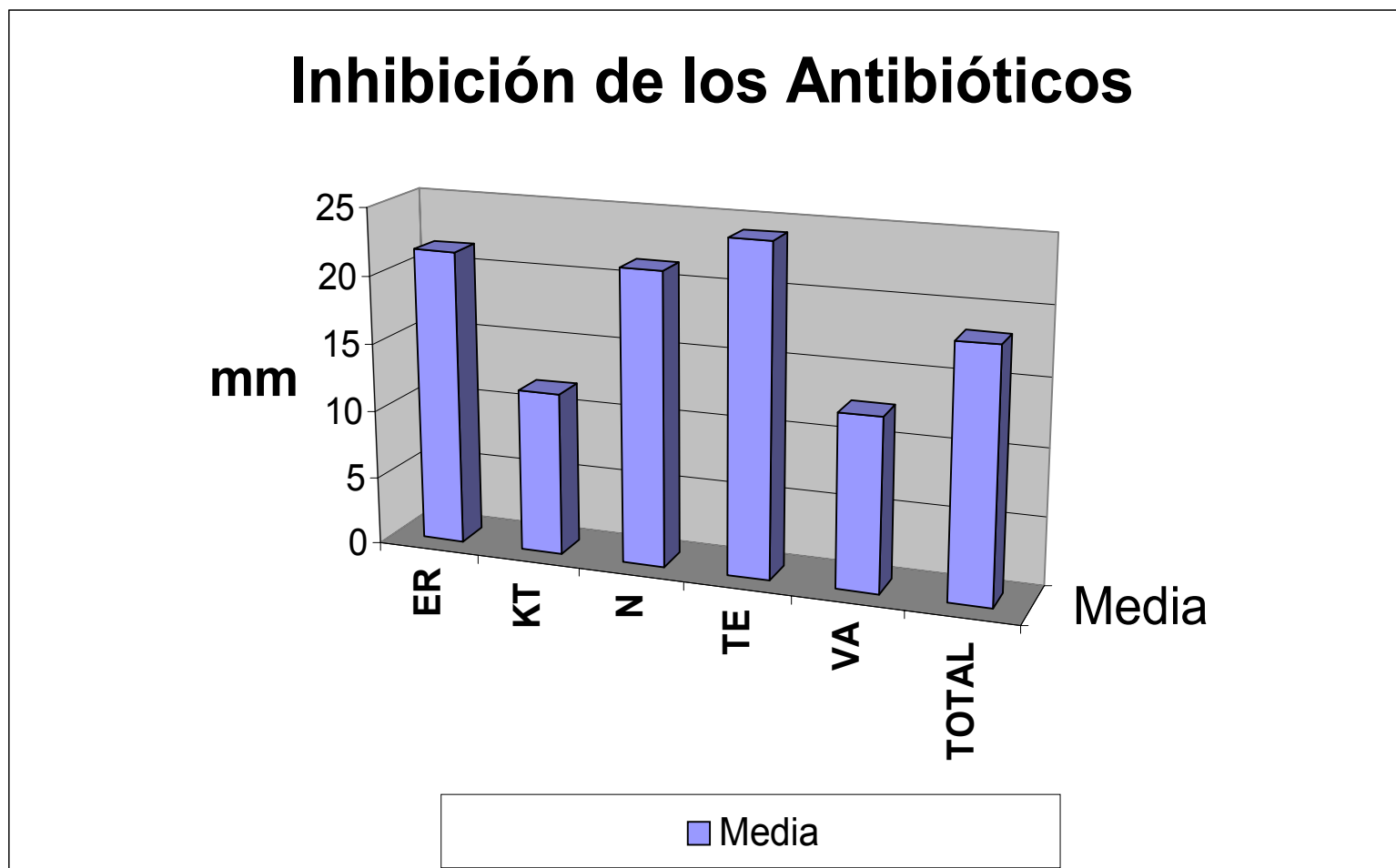
*. La diferencia de medias es significativa al nivel de .05

Cuadro 14. Categorización de los antimicrobianos por milímetros de inhibición.

Antibióticos	Número de Pruebas	Conjunto Contenido para alpha = .05	
		1	2
2	12	11.9167	
5	12	12.6667	
3	12		21.5000
1	12		21.6667
4	12		24.1667
Significancia		.999	.860

**1 = Enrofloxacina. 2 = Kitasamicina. 3 = Neomicina,
4 = Tetraciclinas. 5 = Vancomicina**

Gráfica 6. Relación de los Milímetros de Inhibición entre Antibióticos.



DISCUSIÓN

Los animales afectados con mastitis clínica por ***Nocardia asteroides*** presentaron el cuadro clínico descrito originalmente por Grey en 1935, y reproducido por Pier en 1958,⁷⁰ las características de la leche de los casos clínicos de mastitis por ***N. asteroides*** coinciden con lo descrito por Schuh, *et al.*, 1995 y Weissenbock *et al.*, 1995, la formación de fístulas coincide con lo descrito por Sears en 1986⁸⁶ y Radostits, *et al.*, en 2002.⁷⁵ El estudio muestra una incidencia del 12% la cual es alta en comparación con lo reportado Dohoo en 1991²⁷ y Schoder, *et al.*, en 1994,⁸¹ también la prevalencia reportada en este trabajo superó lo reportado por Zavala en 1967¹⁰² y Chavira en 1981²³ trabajos realizados en el país. Otro aspecto importante es que en los establos donde se presentaron los problemas de mastitis por ***N. asteroides*** se trataron los animales afectados pero sin ningún resultado lo cual concuerda con Battig, *et al.*, 1990⁶ y Ávila y Gutiérrez en 2003³, además de que todos los animales positivos a mastitis por ***N. asteroides*** fueron previamente tratados con infusiones multidosis concordando con Ollis 1991⁶⁶ y Muirhead 1989⁵⁸ lo cual desafortunadamente sigue siendo común hasta nuestros días. Cabe destacar que se encontró que en tres vaquillas de primer parto se aisló ***N. asteroides*** lo cual no concuerda con lo descrito por Pier, *et al.*, 1958; Lynch, 1988; Stark y Anderson, 1990 y Ollis, *et al.*, 1991, ya que se pensaba que esta enfermedad se manifestaba solo al posparto en vacas

infusionadas con mezclas caseras de antimicrobianos al secado, lo cual se comprueba sin embargo si la infusión se realiza durante cualquier etapa de la lactación la enfermedad se desarrollará dependiendo del estado inmunológico de la vaca y la virulencia del microorganismo como lo reporta Battig, *et al.*, 1990.

En el presente trabajo se encontraron los siguientes hallazgos, el mayor número de casos de mastitis clínicas ocurrieron en las primera, segunda y tercera lactancia, lo cual concuerda con lo reportado por Myllys, 1995 en afecciones de la ubre en primera lactancia por ***Staphylococcus***.⁵⁹ También Wolter et al., 2003 menciona un alta prevalencia de 58% en 433 establos lecheros de mastitis clínicas causadas por ***Staphylococcus aureus*** en un muestreo realizado en El 31% de las muestras no presentaron desarrollo bacteriológico lo cual supone dos situaciones: la primera es el hecho de que posiblemente el agente involucrado tuviera características más exigentes para su desarrollo, tal es el caso de ***Mycoplasma agalactiae*** reportado por Kowalsky en 1977⁴⁵ y Bramley y Dood en 1984.¹³ La otra opción es la presencia de sustancias inhibitoras en la leche colectada, al ser animales que ya habían recibido tratamientos con antibióticos por algún otro padecimiento clínico.

Las características microbiológicas de las nocardias aisladas concuerdan en todas sus características de desarrollo, morfología y tinciones con lo reportado por Hillermark en 1960, Sears en 1986, Stanier en 1986, Carter en 1994, Biberstein en 1990 y Gordon 1991. Seddek, 2002 menciona tener mejores resultados utilizando agar sangre que incluso el SDA, en el presente trabajo las

doce cepas aisladas tuvieron un óptimo crecimiento tanto es SDA, BHI y agar sangre.

Con respecto a las pruebas de sensibilidad solo concuerda con lo descrito por Schoder, *et al.*, 1994 en la sensibilidad a Enrofloxacin y Neomicina, varían con lo reportado por Hamid *et al.*, en 2001, Steingrube *et al.*, en 1995. Martínez, 1984, Sears, 1986 y Sedek 2002 reportaron sensibilidad importante a la Eritromicina lo cual en este trabajo no concordó utilizando la misma concentración de antibiótico; de la misma manera Martínez *et al.*, 1997-2000 expone una sensibilidad a 50 µg de sulfatiazol, 50 µg sulfadiazina, 50 µg sulfametazina que es lo referido por la literatura como la alternativa de tratamiento de primera elección para la Nocardiosis y en el presente trabajo se observó una resistencia marcada.

CONCLUSIÓN

En el presente trabajo se observó que el mayor número de casos de mastitis clínicas fue en vacas de primer parto con un 27 %, que en el 89 % de los casos todos los cuartos fueron afectados y que la media de partos fue de 2.9859, con una desviación estándar de 1.82438. En el 69 % de los casos se aislaron bacterias, siendo las más frecuentes ***Staphylococcus aureus*** 19%, ***Streptococcus agalactiae*** 16% y ***Nocardia asteroides*** 12%. Actualmente los perfiles de sensibilidad a los antimicrobianos son muy diferentes entre los cuatro tipos de ***Nocardia*** que forman el Complejo de ***Nocardia asteroides***. En muchos casos se realizan pruebas de sensibilidad, reportando inhibición a diferentes antimicrobianos haciendo pensar que la cura o la solución del problema se tiene en las manos al aplicar una infusión, sin embargo es todo lo contrario, la infección se propaga a más animales volviendo el problema de una o dos vacas en brotes de decenas de las mismas, originando auténticas epizootias, ya que los cuadros clínicos son tan severos que ningún tratamiento tiene resultados alentadores.

Si bien las cepas aisladas de ***N. asteroides*** fueron evaluadas con 20 diferentes antimicrobianos, solo presentaron sensibilidad a Tetraciclina, Enrofloxacina, Neomicina, Vancomicina y Kitasamicina. En relación a los resultados obtenidos y tomando en cuenta los halos de inhibición de la Tetraciclina

como el antimicrobiano con mayor sensibilidad, el intentar dar tratamiento sería por demás aventurado y riesgoso ya que se ha observado que los microorganismos han adquirido resistencia a los antimicrobianos a través de los años, lo cual deja un paréntesis para futuros estudios relacionados con este tema. Se debe considerar actualizar y mejorar las técnicas de diagnóstico por métodos más sensibles y específicos, ya que cada día se están identificando más microorganismos de este grupo, lo cual deberá ser un aliciente para eficientizar el servicio a las explotaciones lecheras del país, así como el implementar las medidas de prevención y control necesarias para prevenir los brotes de esta enfermedad.

Es importante resaltar que la mastitis por ***N. asteroides*** esta presente en las explotaciones lecheras del país y no se le ha dado la importancia que este padecimiento requiere a pesar del gran impacto económico que representa para la industria lechera. Y si bien la incidencia de mastitis por ***Nocardia*** en nuestro país no esta muy bien esclarecida, deberán realizarse estudios estadísticos para determinar el porcentaje de incidencia de la enfermedad, pues probablemente sea más frecuente de lo que se supone, ya que en muchos casos el cuadro clínico inicial de la enfermedad se confunde con otros agentes etiológicos involucrados en problemas de glándula mamaria, y el diagnóstico bacteriológico no es una práctica que se realice de manera rutinaria en nuestro medio. La enfermedad debe ser tomada en cuenta tanto por los productores como por los médicos veterinarios, ya que ni la FAO en su boletín anual de epizootias que elabora en conjunto con la OIE tienen datos acerca de esta enfermedad que también llega a afectar al humano presentándose como nocardiosis.

Fuentes de Consulta.

1. Ancha, P. N y Szyfres, B.(2003). Zoonosis y Enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Zoonosis Bacteriosis y Micosis. Vol. I. 3ª edición. Ed. Organización Panamericana de la Salud. pp. 212–216.
2. Angeles, A. M & Sugar, A. M. (1987). Rapid Diagnosis of Nocardiosis with Enzyme Immunoassay. The Journal of Infectious Diseases. 134: (3), pp. 286 – 289.
3. Ávila, T. S y Gutiérrez, Ch. A. J. (2003). Producción de Leche con Ganado Bovino. F M V Z. U N A M. Consultado en diciembre de 2005. Disponible en: <http://www.ammveb.net/BIBLIOTECA/libros/PLGB/inicio.htm>
4. Awad, F. I. (1960). Nocardiosis of the Udder and Testis. The Veterinary Record. 72: (18), pp. 341 – 342.
5. Bassam, L. S & Hasso, S. A. (1997). Mastitis in goats caused by *Nocardia asteroides*. Small Ruminant Research. 26: pp. 287 – 290.
6. Battig, U; Wegmann, P; Meyer, B; Penseyres, J. H. (1990). Nocardia mastitis. 1. Clinical signs and diagnosis from 7 individual cases. Schweizer Archiv fur Tierheilkunde. 132: (6), pp. 315 – 322.
7. Bauer, A. W; Kirby, W. M. M; Sherris J. C; Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology. 45: pp. 493 – 496.
8. Beaman, B. L. (2000). The Pathogenesis of *Nocardia*. Fischetti, A. Gram Positive Pathogens. Washington, D. C. American Society for Microbiology. pp. 594 – 605.
9. Beaman, B. L; Burnside, J; Edwards, B; Causey, W. (1976). Nocardial Infections in the United States, 1972-1974. The Journal of Infectious Diseases. 134: (3), pp. 286 – 289.
10. Biberstein, E. L & Zee, C. Y. (1990). Tratado de Microbiología Veterinaria, 1ª edición. Ed. Acribia. pp. 360 – 371.
11. Boiron, P & Provost, F. (1990). Use of Partially Purified 54-Kilodalton Antigen for Diagnosis of Nocardiosis by Western Blot (Immunoblot) Assay. Journal of Clinical Microbiology. 28: (2), pp. 328 – 331.

12. Botana, L. M; Landoni, F; Martín – Jiménez, T. (2002). *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. 1ª edición. Ed. McGraw Hill – Interamericana. Madrid, España.
13. Bramley, A. J. & Doodd, F. H. (1984). Reviews of the progress of dairy science: Mastitis control progress and prospects. *Journal of Dairy Research*. 51: pp. 481 – 512
14. Brumbaugh, G. W. (2003). *Fronteras en la Farmacología Veterinaria: Fronteras sin fronteras en los próximos 150 años*. Resúmenes del Simposio Internacional “Fronteras de la Medicina Veterinaria”. FMVZ. UNAM. pp. 44 – 59.
15. Carson, M & Hellyar, A. (1994). Opacification of Middlebrook Agar as an Aid in Distinguishing *Nocardia farcinica* within the *Nocardia asteroides* Complex. *Journal of Clinical Microbiology*. 32: (9), pp. 2270 – 2271.
16. Carter, G. R & Chehgappa, M. M. (1994). *Bacteriología y Microbiología Veterinaria, aspectos esenciales*. 2ª edición. Ed. Manual Moderno.
17. Contreras, A; Luengo, C; Sánchez, A; Corrales, J. C. (2003). The role of intramammary pathogens in dairy goats. *Livestock Production Science*. 79: pp. 273 – 283.
18. Cook, J. G & Holliman, A. (2004). Mastitis due to *Nocardia asteroides* in a UK dairy herd following restocking after FMD. *The Veterinary Record*. 154: (28), pp. 267 – 268.
19. Cowan, S. T & Steel, K. J. (1979). *Cowan and Steel’s Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Second edition. Cambridge University Press. Cambridge.
20. Cowie, A. T. (1984). Lactation. *Hormonal Control of Reproduction. Reproduction in Mammals, Vol. 3, 2nd Edition*. Cambridge, Cambridge University Press, pp. 195 – 231
21. Cruz, J. G; Sainz, M. J. E; Segura, R. P. (1994). *Manual de bacteriología clínica*. Universidad Nacional Autónoma de México FESC. 1ª ed. pp. 95 – 99.
22. Cunningham, J. G. (1999). *Fisiología Veterinaria*. 2ª edición. Ed. McGraw Hill – Interamericana. pp. 542 – 560.
23. Chavira, S. F. J. (1981). Frecuencia de mastitis por *Nocardia* en vacas Holstein Friesian de desecho. Tesis de Licenciatura. UNAM. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México.

24. Chun, J & Goodfellow, M. A. (1995). Phylogenetic Analisis of the Genus *Nocardia* with 16S rRNA Gene Sequences. *International Journal of Sistematic Bacteriology*. 32: (2) pp. 240 – 245.
25. Davis, B. D; Dulbelcco, R; Eisen, H. N; Ginsberg, H. S; Wood, W. B. (1978). *Tratado de Microbiología con inclusión de Inmunología y Genética Molecular*, 2ª edición. Ed. Salvat.
26. Dohoo, I. R. (1989). *Nocardia* spp. Mastitis in Canada. *Canadian Veterinary Journal*. 30: pp. 969.
27. Dohoo, I. R. (1991). Update on *Nocardia* sp. Mastitis. *Canadian Veterinary Journal*. 32: (2), pp. 116.
28. Ensminger, M. E. (1980). *Dairy Cattle Science*. The Interstate Printers and Publishers, Inc. Danville, I11, USA.
29. FAO, (1999). *The Strategic Framework for FAO: 2000-2015*, FAO, Rome.
30. FAO, (2003). *World agriculture: towards 2015/2030 – An FAO perspective* (ed. J. Bruinsma), FAO, Rome.
31. Ferns, L; Dohoo, I; Donald, A. (1991). A case-control study of *Nocardia* mastitis in Nova Scotia dairy herds. *Canadian Veterinary Journal*. 32: pp. 673 – 677.
32. Flores, M & Desmond, E. (1993). Opacification of Middlebrook Agar as an Aid in Identification of *Nocardia farcinica*. *Journal of Clinical Microbiology*. 31: (11). pp. 3040 – 3041.
33. Forbes, G. M; Harvey, F; Philpott-Howard, J. N. (1990). Nocardiosis in liver transplantation: variation in presentation, diagnosis and therapy. *The Journal of Infectious*. 20: pp. 11 – 19.
34. García, M. E. (1987). *Modificaciones al sistema de clasificación climatológica de Köepen*. 4ª Edición. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México.
35. Goodman, G. A; Goodman, L. S; Gilman, A. (2001). *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. Vol. I y II. 9ª Edición. Ed. Mc Graw – Hill Interamericana.
36. Gordon, M. A. *Aerobic Pathogenic Actinomycetaceae*. In Balows, A; Hausler, W. J; Hermann, K. L; Isenberg, H. D; Shadomy, H. J. (1991). *Manual of Clinical Microbiology*, 5th Edición, Washington, D. C.; American Society for Microbiology. pp. 249 – 262.

37. Hamid, M. E; Maldonado, L; Sharaf Eldin, G. S; Mohamed, M. F; Saeed, N. S; Goodfellow, M. (2001). *Nocardia africana* sp. nov., a New Pathogen Isolated from Patients with Pulmonary Infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 39: (2), pp. 625 – 630.
38. Hernández, A. L y Valero, E. G. (1999). Diagnóstico bacteriológico y recomendaciones para el control de la mastitis. CENID, Microbiología, INIFAP-SAGAR.
39. Hernández, B. R. J; Fausto, R. E; Martínez, V. D. (2004). Mastitis por *Nocardia*. Memorias del VI Congreso Nacional de Control de Mastitis, Calidad de la Leche y Producción Láctea. I Congreso Iberoamericano de Producción Animal. Celebrado del 28 al 30 de octubre del 2004 en Guadalajara, Jalisco, México. pp. 19 – 23.
40. Hillermark, K. V. (1960). *Nocardia asteroides* als ursache boviner mastitis. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 1: pp. 281 – 293.
41. <http://www.fao.org/aq/againfo/subjects/es/dairy/home.html>
42. <http://www.inifap.gob.mx/>
43. <http://www.sagarpa.gob.mx/>
44. Jones, T & Ohnstad, I. (2002). Milking procedures recommended for the control of bovine mastitis. In practice. October. pp. 502 – 511.
45. Journal of the American Veterinary Association. (1976). Colloquium on Bovine Mastitis. Vol. 170, May 15, No. 10, (2) pp. 1115 – 1254.
46. Jubb, F. K. V; Kennedy, P. C; Palmer, N. (1985). Pathology of Domestic Animals, 3th Ed. Orlando, U.S.A. Volumen 3, Academic Press, Inc.
47. Jungerman, P. (1958). Fungus Mastitis: A Case Report. *Veterinary Medicine*. pp. 53 – 54.
48. Jungerman, P. F & Schwartzman, R. M. (1977). *Micología Médica Veterinaria*. 1^a ed. Ed. C. E. C. S. A. 205 – 218 p.
49. Koneman, W. E; Allen, S. D; Janda W. M; Schreckenberger, P. C; Winn W. C. (1999). Diagnóstico Microbiológico. Texto y Atlas a color. 5^a edición. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires Argentina. 631– 679 p.
50. Larocque, L; Malik, S. S; Landry, D. A; Presseault, S. (1992). In vitro Germicidal Activity of Teat Dips Against *Nocardia asteroides* and Other Udder Pathogens. *Journal of Dairy Science*. 75: (5), pp. 1233 – 1240.

51. Laurent, F; Carlotti, A; Boiron, P; Villard, J; Freney, J.(1996). Ribotyping: a Tool for Taxonomy and Identification of the *Nocardia asteroides* Complex Species. *Journal of Clinical Microbiology*. 34: (5), pp. 1079 – 1082.
52. Lynch, J. A. (1988). Nocardial mastitis in cattle. *Canadian Veterinary Journal*. 29: (7), pp. 594.
53. Lynch, J. A. (1990). Nocardial mastitis selective medium. *Canadian Veterinary Journal*. 31: (6), pp. 417.
54. Maldonado, L. A; Hamid, M. E; El-Din, O. A. G; Goodfellow, M. (2004). *Nocardia farcinica* - a significant cause of mastitis in goats in Sudan. *Journal of the South African Veterinary Association*. South African Veterinary Association, Pretoria, South Africa: 2004. 75: (3), pp.147– 149.
55. Martínez, M. A. A. (1984). Tratamiento para mastitis por *Nocardia*. *Boletín Buiatría*. Asociación Mexicana de Buiatría. 1: (1), pp. 2 – 3.
56. Martínez, E; Martínez, A; García, J. C. (2000). Bovine mastitis due to *Nocardia* spp. *Proceedings of the 20th World Veterinary Congress*. 6 – 12 July 1975, Thessaloniki, Greece. Volume 3. G. Papageorgiou Publishing Co., Thessaloniki, Greece.
57. Medway, W; Prier, J. E; Wilkinson, J. S. (1973). *Patología Clínica Veterinaria*, 1ª Edición. Ed. UTEHA.
58. Muirhead, S. (1989). Aminoglycosides singled out as risk factors in nocardial mastitis. *Feedstuffs*. 61: (28), pp.10.
59. Myllys, V. (1995). Characterization of clinical Mastitis in Primiparous Heifers. *Journal of Dairy Science*. 78: (3), pp. 538 – 545.
60. Nagal, K. B; Mandeep, S; Katoch, R. C. (1999). Etiology of bovine mastitis in and around Palampur in Himachal Pradesh. *Indian Journal of Animal Sciences*. 69: (3), pp. 150 – 152.
61. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1999). M31-A. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard. NCCLS, Wayne, Pa. 11: 17, 19.
62. National Mastitis Council. (1999). *Laboratory Handbook on Bovine Mastitis*. Madison, National Mastitis Council. pp. 127 – 133.

63. National Mastitis Council. (1989). Microbiological procedures for diagnosis of bovine udder infection. 3rd edition. Madison, National Mastitis Council, Inc.
64. Nocard, M. E. (1888). Note sur la Maladie des Boeufs de la Guadeloupe Connue sous le Nom de Farcin. Ann. Inst. Pasteur, 2: pp. 293 – 302.
65. Norma Oficial Mexicana NOM – 091 – SSAI – 1994. Bienes y Servicios. Leche pasteurizada de vaca. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Diario Oficial, 21 de Febrero de 1996, pp. 6.
66. Ollis, G. W; Schoonderwoerd, M; Schipper, C. (1991). An investigation of risk factors for nocardial mastitis in central Alberta dairy herds. Canadian Veterinary Journal. 32: (4) pp. 227 – 231.
67. Pier, A. C & Enright, A. C. (1962). *Nocardia asteroides* as a Mammary Pathogen of Cattle. III. Immunologic reaction of infected animals. American Journal Veterinary Research. 23: pp. 284 – 292.
68. Pier, A. C & Fichtner, R. E. (1981). Distribution of Serotypes of *Nocardia asteroides* from Animal, Human, and Environmental Sources. Journal of Clinical Microbiology. 13: (3), pp. 548 – 553.
69. Pier, A. C; Gray, D. M; Fossatti, M. J. (1957). *Nocardia* Infection of the Bovine Mammary Gland - A Preliminary Report. Journal American Veterinary Medical Association. October 1: pp. 327 – 328.
70. Pier, A. C; Gray, D. M; Fossatti, M. J. (1958). *Nocardia asteroides*-A Newly Recognized Pathogen of the Mastitis Complex. American Journal Veterinary Research. 19: pp. 319 – 331.
71. Pier, A. C; Mejia, M. J; Willers, E. H. (1961). *Nocardia asteroides* as a Mammary Pathogen of Cattle. I. The disease in cattle and the comparative virulence of 5 isolates. American Journal Veterinary Research. 22: pp. 502 – 517
72. Pier, A. C; Thurston, J. R; Larsen, A. B. (1968). A Diagnostic Antigen for Nocardiosis: Comparative Test in Cattle with Nocardiosis and Mycobacteriosis. American Journal Veterinary Research. 29: pp. 397 – 403.
73. Pier, A. C; Willers, E. H; Mejia, M. J. (1961). *Nocardia asteroides* as a Mammary Pathogen of Cattle. II. The Sources of Nocardial Infection and Experimental Reproduction of the Disease. American Journal Veterinary Research. 22: pp. 698 – 703.

74. Quinn, P. J; Markey, B; Carter, M. E; Donnelly, W. S; Leonard, F. C. (2002). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 1ª ed. Ed. Mosby, Edinburgh, England.
75. Radostits, O. M; Gay, C. C; Blood, D. C; Hinchcliff, K. W. (2002). *Medicina Veterinaria, Tratado de las Enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. Vol. I, 9ª edición. Ed. McGraw-Hill. pp. 775-777.
76. Ramírez, A. (2000). *Control de Mastitis en Hatos Lecheros: Lo Tradicional y lo Nuevo*. Memorias de la 16ª Conferencia Internacional sobre Ganado Lechero. Editado por grupo CIGAL S.A. de C.V. México. pp. 41 – 58
77. Robbins, S. L; Cotran, R. S; Kurmar, V. (2000). *Patología Estructural y Funcional*. 5ª edición. Ed. McGraw-Hill.
78. Ross, R. F. (2003). *Producción Pecuaria en Confinamiento y la Salud de los Animales, el Consumidor y el Ambiente*. Resúmenes del Simposio Internacional “Fronteras de la Medicina Veterinaria”. FMVZ. UNAM. Impartido en el Centro Médico Nacional Siglo XXI del 14 al 16 de Agosto de 2003; pp. 44 – 59.
79. Ryan, K. J; Schoenknecht, F. D; Kirby, W. M. M. (1970). *Disc sensitivity testing*. *Hospital Practice*. 5: pp. 91 – 100.
80. Savalia, C. V; Jhala, M. K; Kher, H. N. (1990). *Incidence of nocardial mastitis in a cow*. *Cheiron*. 1990. 19: (5), pp. 228.
81. Schoder, G; Weissenbock, H; Nagy, A. (1994). *Occurrence of nocardial mastitis in cows in Austria*. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*. 81: (10), pp. 302 – 309.
82. Schoonderwoerd, M & Lynch, J. A. (1989). *A Report on the bovine nocardial mastitis meeting*. *Canadian Veterinary Journal*. 30: (7), pp. 555 – 558.
83. Schoonderwoerd, M; McFadzen, L. L; Manninen, K. I.; Ollis, G. W. (1990). *Culturing of bulk tank milk for the presence of *Nocardia* spp.* *Canadian Veterinary Journal*. 31: (6), pp. 453 – 454.
84. Schoonderwoerd, M & Plante-Jenkins, C. (1988). *Mastitis associated with suspected *Nocardia* sp.* *Canadian Veterinary Journal*. 29: (8), pp. 846 – 847.
85. Schuh, M; Schoder, G; Weissenbock, H; Hotter, H. (1995). *On the occurrence of nocardial mastitis in Austrian dairy herds*. *Proceedings*

of the Third IDF International Mastitis Seminar Tel-Aviv, Israel, 28 May - 1 June 1995. Book 1. National Mastitis Reference Center, Beit-Dagan, Israel. S-3, pp. 68 – 69.

86. Sears, P. M. (1986). Nocardial mastitis in cattle: diagnosis, treatment, and prevention. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian. 8: (9), pp. F41 – F46.
87. Seddek, S. R. (2002). Isolation of *Nocardia* organisms from soil and mastitic milk of dairy cows (Friezian and Holestein) on different media on some governmental farms in assiut governorate. Assiut Veterinary Medicine Journal. 46: (92), pp. 72 – 83.
88. Shigidi, M. T. A & Mamoun, I. E. (1981). Isolation of *Nocardia asteroides* from cattle with mastitis in the Sudan. Bulletin of Animal Health and Production in Africa. 29: (3), pp. 275 – 278.
89. Singer, C & Underwood, E. (1962). Short history of medicine. London, Oxford University Press.
90. Stanier, R. Y; Adelberg, E. A; Ingraham, J. L. (1986). Microbiología, 4ª edición. Ed. REPLA.
91. Stark, D. A & Anderson, N. G. (1990). A case-control study of *Nocardia* mastitis in Ontario dairy herds. Canadian Veterinary Journal. 31: (2), pp. 197 – 201.
92. Steingrube, V. A; Brown, B; Gibson, L. J; Wilson, W. R; Brown, J; Blacklock, Z. *et al.* (1995). DNA Amplification and Restriction Endonuclease Analysis for Differentiation of 12 Species and Taxa of *Nocardia*, Including Recognition of four New Taxa within the *Nocardia asteroides* Complex. Journal of Clinical Microbiology. 33: (12), pp. 3096 – 3101.
93. Tarabla, H. D; Zurbriggen, M. D; Canavesio, V. R; Vitulich, C. A; Calvino, L. F. (1993). *Nocardia asteroides* mastitis in a small Argentinean herd. The Veterinary Record. 132: pp. 303.
94. Trigo, T. F y Mateos, P. A. (1993). Patología General Veterinaria. 2ª edición. Ed. Interamericana-McGraw – Hill.
95. Villalobos, P. R; Alfonseca, S. E; Cervantes, O. R. A; Tapia, P. G. (1992). Evaluación del uso de la combinación amoxicilina y ácido clavulánico contra cepas de *Staphylococcus*, *Nocardia* y *E. coli* resistentes a penicilinas *in vitro*. Memorias del XVII Congreso Nacional de Buiatría. pp. 37 – 39.

96. Watts, J. L. (1988). Etiological Agents of Bovine Mastitis. *Veterinary Microbiology*. 16: pp. 41 – 66.
97. Wauters, G; Avesani, V; Charlier, J; Janssens, M; Vaneechoutte, M; Delmée, M. (2005). Distribution of *Nocardia* Species in Clinical Samples and Their Routine Rapid Identification in the Laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*. 43: (6), pp. 2624 – 2628.
98. Weigt, U. (1984). Bovine mastitis refractory to treatment. *Bulletin des Groupements Techniques Veterinaires*. 5: pp. 37 – 45.
99. Weissenbock, H; Deinhofer, M; Schoder, G. (1995). Fine-needle biopsy for diagnosing nocardial mastitis in cows. *Tierärztliche Praxis*. 23: (2), pp. 119 – 122.
100. Wolter, W; Castañeda, V. H; Kloppert, B; Zschoeck, M. (2003). La Mastitis Bovina. Instituto Estatal de Investigaciones de Hesse. I.E.I. Hesse, Marburgerstrasse 54 D-35396 Giessen, Germany. Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias.
101. Zapantis, A; Lacy, M. K; Horvat, R. T; Grauer, D; Barnes, B. J; O'Neal, B; Couldry, R. (2005). Nationwide Antibiogram Analysis Using NCCLS M39-A Guidelines. *Journal of Clinical Microbiology*. 43: (6), pp. 2629 – 2634.
102. Zavala, S. M. (1967). Aislamiento de *Nocardia asteroides* en Mastitis Bovina. Tesis de Licenciatura. UNAM. Escuela Nacional de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México. 5: (2), pp. 36 – 42.