

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure, likely a saint or religious figure, seated on a throne. The figure is surrounded by various symbols, including a crown at the top, a shield on the left, and a lion on the right. The background of the seal is a landscape with mountains and a river. The text "UNIVERSITAS CAROLINA ACCOENTIA COACTEMALENSIS" is inscribed around the perimeter of the seal.

**"AISLAMIENTO Y TIPIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES GERMENES  
QUE PRODUCEN MASTITIS CLÍNICA EN LAS DIFERENTES ETAPAS  
DE LACTACIÓN EN VACAS LECHERAS EN EL VALLE DE  
JAMASTRAN, EL PARAISO, HONDURAS"**

**RAMON EDUARDO OSORIO RODAS**

**GUATEMALA, MARZO DEL 2010**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE VETERINARIA**

**“AISLAMIENTO Y TIPIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES GERMENES  
QUE PRODUCEN MASTITIS CLÍNICA EN LAS DIFERENTES ETAPAS  
DE LACTACION EN VACAS LECHERAS EN EL VALLE DE  
JAMASTRAN, EL PARAISO, HONDURAS”**

**TESIS**

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**POR**

**RAMON EDUARDO OSORIO RODAS**

**AL CONFERÍRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE**

**MÉDICO VETERINARIO**

**GUATEMALA, MARZO DEL 2010**

**JUNTA DIRECTIVA**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

<b>DECANO</b>	M. V. LEONIDAS AVILA PALMA
<b>SECRETARIO</b>	M. V. MARCO VINICIO GARCIA URBINA
<b>VOCAL I</b>	M. V. YERI EDGARDO VELIZ PORRAS
<b>VOCAL II</b>	M.V. MSc. FREDY ROLANDO GONZALEZ GUERRERO
<b>VOCAL III</b>	M. V. y Zoot. MARIO ANTONIO MOTTA GONZALEZ
<b>VOCAL IV</b>	Br. SET LEVI SAMAYOA LOPEZ
<b>VOCAL V</b>	Br. LUIS ALBERTO VILLEDA LANUZA

**ASESORES**

M. V. MSc. FREDY ROLANDO GONZALEZ GUERRERO  
M. V. BLANCA JOSEFINA ZELAYA DE ROMILLO  
M. V. SERGIO FERNANDO VELIZ LEMUS

# **HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

**EN CUMPLIMIENTO A LO ESTABLECIDO POR LOS ESTATUTOS DE LA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA PRESENTO A  
CONSIDERACIÓN DE USTEDES EL TRABAJO DE TESIS TITULADO**

**“AISLAMIENTO Y TIPIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES GERMENES  
QUE PRODUCEN MASTITIS CLÍNICA EN LAS DIFERENTES ETAPAS  
DE LACTACIÓN EN VACAS LECHERAS EN EL VALLE DE  
JAMASTRAN, EL PARAISO, HONDURAS”**

**QUE FUERA APROBADO POR LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**COMO REQUISITO PREVIO A OPTAR AL TITULO PROFESIONAL DE**

**MÉDICO VETERINARIO**

## **ACTO Y TESIS QUE DEDICO**

A DIOS TODOPODEROSO

A MIS PADRES: RAMON OSORIO R.  
ELIA RODAS DE OSORIO

A MI ESPOSA: ANDREA HEGEL DE OSORIO

A MI HIJA: GEORGINA OSORIO HEGEL

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

A MIS CATEDRÁTICOS

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS DE ESTUDIO

## **AGRADECIMIENTOS**

A DIOS

A MIS PADRES, por su apoyo durante mi carrera

A MI ESPOSA

A MI HIJA

A MIS ASESORES DE TESIS, por su asesoramiento y colaboración en la realización de mi tesis

A MIS CATEDRÁTICOS, por su amistad y conocimiento a lo largo de la carrera

A MIS AMIGOS

# INDICE

I.	INTRODUCCIÒN	1
II.	OBJETIVOS	3
	2.1 General	3
	2.2 Específicos	3
III.	REVISIÒN DE LITERATURA	4
	3.1 Mastitis	4
	3.2 Mecanismos de defensa específica de la ubre	6
	3.2.1 Mecanismos Celulares	6
	3.2.2 Mecanismos Humorales	7
	3.3 Cuantificación Celular	9
	3.3.1 Tipos de Células Somáticas	10
	3.3.2 Factores que afectan el Conteo de Células Somáticas (CCS)	10
	3.3.2.1 Fracciones de leche	10
	3.3.2.2 Intervalo de ordeño	11
	3.3.2.3 Etapa de lactancia	11
	3.3.2.4 Sistema de ordeño	11
	3.3.2.5 Número de lactancias	11
	3.3.2.6 Estrés	11
	3.3.2.7 Mastitis	11
	3.4 Valores considerados como aceptables para los CCS	12
	3.4.1 CCS menores o iguales a 300 000 células/ml de leche	12
	3.4.2 CCS mayores o iguales a 400 000 células/ml de leche	12
	3.5 Cuantificación celular de la leche	14
	3.5.1 Prueba de California para Mastitis (CMT)	14
	3.5.1.1 Mecanismo de acción	14
	3.5.1.2 Interpretación	15
	3.5.2 Coulter Counter	16
	3.6 Tipos de Mastitis	16
	3.6.1 Mastitis Clínica	16

3.6.2	Mastitis Subclínica	17
3.6.3.	El Cultivo Bacteriológico en el diagnóstico de mastitis	18
3.7	Efecto de algunos factores sobre la frecuencia de mastitis	20
3.7.1	Tamaño de rebaño	20
3.7.2	Sistema de ordeña	20
3.7.3	Número de partos	21
3.7.4	Etapas de lactancia	22
3.8	Patógenos mamarios	24
3.8.1	Tipos de patógenos	24
3.8.2	Características de algunas bacterias causales de mastitis	25
3.8.2.1	Streptococcus	25
3.8.2.2	Staphylococcus	26
3.8.2.3	Bacterias Gram negativas	28
3.8.2.4	<i>Corynebacterium bovis</i>	29
3.8.2.5	Mycoplasma spp.	30
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS	31
4.1	Materiales	31
4.1.1	Recursos Humanos	31
4.1.2	Recursos de Laboratorio	31
4.1.3	Recursos de Campo	32
4.1.4	Recursos Biológicos	32
4.1.5	Centros de Referencia	33
4.2	Métodos	33
4.2.1	Diseño del Area	33
4.2.2	Diseño del Estudio	33
4.2.2.1	Prueba California para Mastitis (CMT)	34
4.2.2.2	Cultivo Bacteriológico	36
4.2.4	Diseño Estadístico	37
V.	RESULTADOS Y DISCUSION	39
VI.	CONCLUSIONES	42
VII.	RECOMENDACIONES	43
VIII.	RESUMEN	44

IX.	BIBLIOGRAFÍA	45
X.	ANEXOS	52

## I. INTRODUCCION

La mastitis es la inflamación del parénquima de la glándula mamaria independientemente de su causa. Este proceso es caracterizado por diversos cambios físicos y químicos en la leche y por alteraciones patológicas en el tejido glandular. Entre los cambios más significativos que ocurren en la leche es la modificación del color, la presencia de coágulos y un gran número de leucocitos. En casos clínicos la glándula mamaria presenta hinchazón, calor, dolor e induración, mientras que en otro gran número de casos de mastitis no se presentan los signos clínicos antes descritos. A este tipo de mastitis se le denomina subclínica.

La mastitis representa un serio problema en nuestro medio, ya que sus daños afectan tanto al sector pecuario como a la salud pública en general, debido a que disminuye la calidad de la leche que es un producto básico en la alimentación diaria. Además, los agentes infecciosos causantes de la enfermedad pueden resultar nocivos para la salud humana.

La mastitis continúa siendo la enfermedad más común y costosa que padece el ganado lechero en el mundo entero. Existe donde quiera que hayan vacas y no cabe duda que no hay un solo rebaño de ganado lechero en cualquier parte del mundo, sin importar su tamaño, que esté absolutamente libre de esta enfermedad. Generalmente es el resultado final de la interacción de los microorganismos como agentes causales, la vaca como huésped y el medio.

Hay una gran variedad de bacterias causantes de mastitis produciendo pérdidas económicas en las granjas lecheras. Estos son patógenos que todos los profesionales involucrados en la actividad lechera, dueños y administradores deben entender totalmente a fin de poder proteger su hato e inversión con confianza. La mastitis es una de las enfermedades de mayor impacto económico para la actividad lechera siendo esta enfermedad la causante de la mayor parte de las pérdidas. Alrededor del 70% de las pérdidas económicas atribuibles a mastitis está dado por la disminución en la producción

de leche; el resto se debe a descarte de leche por anomalías notorias o residuos de antibióticos, gastos en medicamentos y honorarios veterinarios, trabajo extra, pérdida de valor genético por eliminación prematura de vacas, reducción del valor comercial de las vacas eliminadas e incremento en los costos de reemplazo. A todo esto se debe sumar el efecto en el precio de la leche de los actuales esquemas de pago utilizados en el país, que se hacen cada vez más exigentes en cuanto a los niveles de conteo de células somáticas (CCS) y componentes lácteos.

En el presente trabajo se realizaron muestreos de vacas con mastitis clínica para el aislamiento de bacterias que producen mastitis con el fin de establecer la relación entre el tipo de bacteria y las variables edad, época del año, raza, número de partos, nivel de producción y días de lactación. Esta investigación contribuye con los profesionales involucrados en la actividad lechera, dueños y administradores para entender de mejor manera la presentación de la mastitis y de esta forma establecer una mejor prevención y un tratamiento más adecuado.

## **II. OBJETIVOS**

### **2.1 GENERAL**

- Contribuir a la investigación de los gérmenes causantes de mastitis que afectan a las vacas de lechería especializada en el Valle de Jamastrán, El Paraíso, Honduras.

### **2.2 ESPECIFICOS**

- Aislar los gérmenes que producen mastitis clínica en vacas lecheras del Valle de Jamastrán, El Paraíso, Honduras.
- Establecer si existe relación entre el tipo de germen y las variables: edad de la vaca, época del año, raza, número de partos, días en lactación y nivel de producción en vacas lecheras del Valle de Jamastrán, El Paraíso, Honduras.

### III. REVISION DE LITERATURA

#### 3.1 MASTITIS

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria, la cual se caracteriza por cambios físicos y químicos de la leche, y por alteraciones patológicas en la glándula mamaria, pudiendo ser causada por agentes físicos o infecciosos. De los agentes infecciosos se han descrito más de 140 microorganismos causales de mastitis, siendo en la mayoría de los casos imposible su erradicación. (8, 42).

Se debe de tener presente que la mastitis es el resultado de la interacción de muchos factores, entre ellos se pueden citar:

- Susceptibilidad de la vaca
  - Características ambientales
  - Concentración de microorganismos a los que están expuestos los pezones
  - Capacidad del agente causal de producir la enfermedad
  - Estrés
  - Manejo de los animales
  - Rutina de ordeño e higiene durante el ordeño
  - Estado de funcionamiento del equipo de ordeño
  - Conciencia de las personas que ordeñan, manipulan e interactúan con las vacas
- (42).

Se han descrito muchas formas de presentación de mastitis, siendo las principales:

- Mastitis subclínica
- Mastitis clínica
- Mastitis aguda
- Mastitis crónica
- Mastitis gangrenosa

Estas pueden variar desde una reacción leve hasta una toxemia grave con signos sistémicos manifiestos. Sin embargo, para la mayoría de autores existen dos formas básicas de presentación:

- Mastitis subclínica: se caracteriza por no provocar una inflamación visible de la glándula mamaria ni cambios macroscópicos en la leche, siendo necesarias para su diagnóstico pruebas que permiten detectar los microorganismos involucrados o los cambios ocurridos en la leche producto de la inflamación.
- Mastitis clínica: se caracteriza por anomalías detectable en un examen clínico, alteraciones en la secreción láctea y cambios de tipo inflamatorio en la glándula mamaria, incluyendo eventualmente reacción sistémica. (8, 29, 42).

La mastitis bovina es considerada la enfermedad más costosa de los hatos lecheros. Los costos incluyen:

- Disminución en la producción de leche y descartes de la misma
- Descarte de animales
- Trabajo adicional
- Consultas médicas
- Tratamientos
- Penalidades impuestas por alto conteo de células somáticas y bacterias.

Adicionalmente, la mastitis causada por *Mycobacterium* spp., *Brucella* spp. y *Leptospira* spp. representa un verdadero problema para la salud humana, ya que la leche producto de vacas con mastitis sirve como fuente de contaminación para el ser humano. (3, 8, 16, 43).

Las pérdidas económicas originadas por mastitis se deben a:

- Muerte y descarte prematuro: 14%
- Leche descartada: 8%
- Tratamientos: 8%
- Disminución de la producción: 70-80% (8, 42).

La mastitis subclínica es el principal problema de las explotaciones lecheras. Según la región y la explotación, hasta un 50% de vacas padecen de mastitis, que en su mayoría cursa de forma subclínica. La mastitis subclínica tiene relevancia por varias razones:

- Es de 15 a 40 veces más predominante que la forma clínica
- Generalmente precede a la mastitis clínica
- Es de larga duración
- No se identifica fácilmente
- Reduce la producción de leche
- Afecta la calidad de la leche
- Constituye un depósito de microorganismos que a menudo provocan infección en otros animales del hato. (42, 43, 46).

### **3.2 MECANISMOS DE DEFENSA ESPECIFICA DE LA UBRE**

#### **3.2.1 Mecanismos Celulares**

La respuesta inmune específica mediada por células está basada en la línea celular linfoide. Se encuentran dos tipos de linfocitos en la leche:

- Linfocitos T: estos pueden ser subdivididos en la serie CD, que incluyen los linfocitos CD4+ (ayudadores) y CD8+ (citotóxicos o supresores) y la serie CD. Estos linfocitos ayudadores (CD4+) producen citoquinas en respuesta al reconocimiento de un antígeno sobre los linfocitos B y los macrófagos. Estas citoquinas activan a todas las células que participan en la respuesta inmune. Los linfocitos T citotóxicos (CD8+) reconocen y eliminan células somáticas alteradas cuya presencia podría aumentar la susceptibilidad de la glándula mamaria a las infecciones. Los linfocitos T supresores (CD8+) controlan o modulan la respuesta inmune suprimiendo las respuestas proliferativas de los linfocitos ayudadores (39, 45).
- Linfocitos B: estos internalizan, procesan y presentan antígenos a los linfocitos T ayudadores, quienes producen interleukina 2, la cual a su vez induce la

proliferación y diferenciación de los linfocitos B en células plasmáticas para producir anticuerpos y células de memoria (13, 41).

Los linfocitos CD pueden mediar actividad citotóxica y de células de Naturaleza Asesinas, al parecer su objetivo es destruir células epiteliales alteradas. Se ha encontrado que este tipo de linfocitos T disminuye significativamente en el parénquima mamario durante el parto, sugiriendo que puede constituir una línea esencial de defensa contra los patógenos (3, 16).

Se encontraron que durante la primera semana después del parto la blastogénesis de los linfocitos está marcadamente deprimida. Se encontró que los blastocitos recuperados de cuartos infectados con *Staphylococcus aureus* demostraron una marcada depresión de la blastogénesis *in vitro* durante la infección. (49).

### **3.2.2. Mecanismos Humorales**

Las inmunoglobulinas son proteínas producidas por linfocitos B activados que proliferan y se diferencian en células plasmáticas. Los anticuerpos en la leche son producto de la síntesis local y del transporte selectivo o por trasudado. Cuatro clases de inmunoglobulinas participan en las defensas de la glándula mamaria contra las bacterias causantes de mastitis. Estas inmunoglobulinas son:

- IgG1
- IgG2
- IgA
- IgM

Las concentraciones de estas inmunoglobulinas varían según la etapa de la lactación y el estado de infección de la glándula (ver tabla 1).

Tabla 1. Factores antibacterianos de la leche de vaca sana (CCS<300000/ml) y vacas con mastitis (CCS>300000/ml) (45).

Factor	Leche de vaca sana (mg/lt)	Leche de vaca con mastitis (mg/lt)
Lactoferrina	130.0	256.0
Lactoperoxidasa	14.8	18.3
Lisozima	0.1	0.4
Inmunoglobulinas	1100	2900
IgG1	700	1700
IgG2	100	450
IgM	120	350
IgA	100	250

Las inmunoglobulinas se encuentran en bajas concentraciones durante la lactancia, se elevan durante el período no lactante y su concentración pico se alcanza durante la calostrogénesis cuando llegan a 100 mg/ml para descender durante la primera semana de lactancia a menos de 1 mg/ml como se presenta en la Tabla 2. En rumiantes, la IgG1 es la inmunoglobulina predominante en leche, siendo transferida activamente por el epitelio mamario a través de mecanismos receptores (5, 9, 39, 45, 46, 50).

Tabla 2. Concentración de inmunoglobulinas en suero sanguíneo, calostro y leche de vaca (45).

Inmunoglobulina	Suero (mg/ml)	Calostro (mg/ml)*	Leche (mg/ml)
IgM	2.5	4.5	0.05
IgG1	13	40	0.3-0.5
IgG2	8	3	0.03
IgA	0.5	2-4	0.1-0.2
Total	24	50.5	0.63

\* El contenido total de inmunoglobulinas en la secreción de vacas no lactantes pueden llegar a 80 mg/ml.

La característica más importante de los anticuerpos en la leche (inmunoglobulinas G1, G2 y M) es su habilidad opsonizante, aunque ocasionalmente son bactericidas en forma directa, a través del efecto combinado con el sistema de complemento o a través de la acción concertada del complemento y la lisozima. Sin embargo, la eliminación bacteriana que tiene lugar a través de la fagocitosis, es considerada como el mecanismo antibacterial más importante de la ubre. La IgA actúa neutralizando toxinas bacterianas y aglutinando los cuerpos bacteriales, hecho que facilita su eliminación durante el ordeño. Previene la adherencia a las superficies epiteliales y limita la multiplicación bacteriana (34, 45).

La actividad de la IgA se ve limitada debido a que hay relativamente pocas células plasmáticas formadoras de IgA en el epitelio de la ubre de los bovinos y a que estas inmunoglobulinas es altamente hidrofóbica, lo cual hace que se asocie con los glóbulos de grasa en la crema y con los micelios de caseína, permitiendo que muy poca IgA sea encontrada en el suero de la leche. (54, 43, 50).

### **3.3. CUANTIFICACION CELULAR**

El Conteo de Células Somáticas (CCS) ha sido el índice más ampliamente usado del nivel de infección tanto en vacas individuales como en hatos. Igualmente es el mejor parámetro para estimar las pérdidas por disminución en la producción de leche de la glándula mamaria (31).

La leche contiene células somáticas que derivan de la vaca. Diariamente estas células son producidas en una cantidad casi constante por una vaca sana; sin embargo, hay variaciones en el número de estas células que dependen básicamente de dos factores:

- Incremento real como consecuencia de irritación de la ubre y/o
- Factor de dilución con base en la producción de leche (9, 45).

### 3.3.1 Tipos De Células Somáticas

Las células somáticas presentes en la leche de un cuarto sano son principalmente de la serie de macrófagos. Solo cerca de un 1 a 2 % corresponden a células epiteliales (aunque estudios basados en caracterización inmunológica de citoqueratinas establecen que un 10 a 20 % de las células somáticas corresponden a la línea epitelial). En la leche de cuartos con mastitis, cerca de un 90% de las células somáticas pertenecen a la población de neutrófilos. (9, 45).

### 3.3.2 Factores Que Afectan El Conteo De Células Somáticas (CCS)

**3.3.2.1. Fracciones de la leche.** Durante el ordeño se pueden identificar varias fracciones en la leche:

- Leche anterior estricta: corresponde a los primeros chorros de leche que derivan principalmente de la cisterna del pezón y parcialmente de la cisterna de la glándula.
- Leche anterior: se refiere a la leche obtenida antes del ordeño y después de descartar la leche anterior estricta.
- Leche intermedia: corresponde a la leche obtenida durante el ordeño.
- Leche final: como su nombre lo indica, es la leche obtenida al final del ordeño.
- Leche residual: corresponde a la leche que permanece en la ubre después del ordeño, o que es recolectada 3 a 4 horas después de este.

Tanto en leche de vacas sanas como en leche de vacas con mastitis, y en orden de mayor a menor concentración de células somáticas tenemos:

- Leche residual
- Leche final
- Leche anterior estricta
- Leche anterior
- Leche intermedia (43, 46).

**3.3.2.2. Intervalo de ordeño.** Varias comparaciones de CCS en muestras de leche anterior han demostrado generalmente altos conteos de células somáticas en leche obtenida durante intervalos cortos entre ordeños, esto se explica por el factor de dilución que tiene lugar en el volumen total de leche (43, 46).

**3.3.2.3. Etapa de lactancia.** El CCS es alto durante la primera semana de lactancia, luego disminuye y permanece bajo por varias semanas, posteriormente ocurre un incremento gradual hasta el final de la misma. El CCS incrementa cuando el volumen de leche ordeñada es inferior a cinco litros. El alto conteo de CCS en calostro puede tener la misma explicación. (43, 46).

Se han encontrado CCS de 1 000 000/ml en secreciones mamarias bovinas desde los 25 días preparto hasta el parto, luego disminuyen rápidamente hasta llegar a 100 000/ml diez días después del parto (33).

**3.3.2.4. Sistema de ordeño.** El sobreordeño y las fluctuaciones en los niveles de vacío ocasionan en algunos casos un incremento en el conteo de células, mientras que en otros casos no se observan cambios significativos. (22, 43, 46).

**3.3.2.5. Número de lactancias.** El promedio de CCS aumenta de una lactancia a la siguiente debido principalmente a las Células Polimorfonucleares (PMNs). Con base en el examen histopatológico de las ubres, este aumento en los PMNs se atribuye a un incremento en la extensión de la inflamación crónica de los ductos, así como a un aumento en la severidad de las lesiones lobulares (9, 22, 43, 46).

**3.3.2.6. Estrés.** Cualquier factor como el celo, cambios de manejo y presencia de enfermedades que ocasionen estrés en el animal pueden generar disminuciones en la producción de leche y concentración de las células somáticas (9).

**3.3.2.7. Mastitis.** El factor que afecta en mayor medida el CCS es la presencia de inflamación de la glándula mamaria. Los microorganismos contagiosos, principalmente el

*Streptococcus agalactiae*, elevan a un mayor nivel los CCS en leche de vacas con mastitis. (9, 20, 43, 46, 50).

### **3.4. VALORES CONSIDERADOS COMO ACEPTABLES PARA LOS CCS**

El CCS es alto inmediatamente después del parto, pero en vacas sanas disminuye en 4 a 5 días a menos de 200,000 células somáticas/ml. En la segunda semana el recuento cae a menos de 100,000/ml (en novillas 50,000 células/ml) y se mantiene así hasta la mitad de la lactancia, a partir de la cual incrementa levemente cuando la producción de leche es menor a 4 kg (8, 45, 46).

Aunque no hay un CCS establecido a partir del cual se defina una vaca como infectada, se encuentran dos tendencias marcadas con respecto al nivel de células somáticas propuesto como aceptable.

#### **3.4.1. CCS menores o iguales a 300,000 células/ml de leche.**

- Se consideran cuartos sanos cuando el CCS es de 100,000 células/ml. (46).
- Se considera como un indicador de inflamación cuando el CCS es de 250,000 células/ml (8, 20, 31, 50).
- Se recomienda que el 75% de los animales de primera lactancia presenten CCS menores a 140,000 células/ml y el 85% de los animales de dos o más lactancias tengan CCS menores a 282,000 células/ml. (43).

#### **3.4.2. CCS mayores o iguales a 400,000 células/ml de leche.**

- Cuartos con CCS superiores a 500,000 células/ml se consideren infectados (22).
- Animales viejos con dos CCS consecutivos mensuales con un conteo de 600,000 células/ml o novillas con CCS mayores a 400,000 células/ml, se consideren con mastitis (43).

La evaluación de los CCS de vacas individuales distribuidos por etapa y número de lactancias son empleados en algunas granjas lecheras para tomar decisiones acerca del descarte de animales, del secado precoz, del orden de las vacas durante el ordeño y para monitorear la efectividad de los tratamientos realizados (26, 41).

El CCS en leche de tanque es reconocido como el mejor indicador del nivel de mastitis de un hato (ver tabla 3), principalmente de los casos subclínicos ocasionados por microorganismos contagiosos, a pesar de algunas limitaciones en su interpretación dadas por el tamaño del hato y el factor de dilución de las células en la leche (47, 50).

Se da una correlación no mayor a 0.5 entre el porcentaje de cuartos infectados y el CCS de tanque como resultado de las variaciones en la severidad de la inflamación, el estado de lactancia, el clima, el número de partos de las vacas del hato, la variación dentro y entre días, las diferencias de raza y los factores de manejo. (47).

Tabla 3. Prevalencia de infección y pérdidas en producción de leche estimada a partir del conteo de células somáticas en leche de tanque (39).

<b>CCS Tanque</b>	<b>Cuartos Infectados %</b>	<b>Pérdidas en producción %</b>
200,000	6	0
500,000	16	6
1,000,000	32	18
1,500,000	48	29

Un nivel de 300,000 células/ml de leche de tanque indica un alto nivel de mastitis en el hato. Un nivel de 500,000 o más células da como indicio que más del 50% de las vacas están afectadas y como meta un nivel inferior a 300,000 células/ml, que no debe ser mayor a 200,000 en hatos bien manejados (8, 43).

Los hatos con CCS en tanques menores o iguales a 250,000 células/ml se encuentran en un estado satisfactorio en cuanto a sanidad de la ubre. (9, 39, 45, 50).

### 3.5 CUANTIFICACION CELULAR DE LA LECHE

Las células somáticas pueden ser cuantificadas por métodos indirectos como el California Mastitis Test que estiman el CCS, según las concentraciones de DNA celular en la leche y por métodos directos como microscopía (método de Breed's) y automatizado como Fossomatic y Coulter Counter. (9, 39, 43, 45).

#### 3.5.1. Prueba De California Para Mastitis

La Prueba de California para Mastitis o California Mastitis Test (CMT, por sus siglas en inglés), es una prueba indirecta que mide macroscópicamente la cantidad de DNA, primariamente una función del número de células blancas nucleadas en leche (39, 45, 46).

**3.5.1.1. Mecanismo de acción.** El CMT está basado en un detergente aniónico llamado Lauryl Sulfato de Sodio, a una concentración del 3%, que disuelve las membranas celulares permitiendo que el DNA sea liberado para formar un gel transitorio con el detergente. A mayor cantidad de DNA en la muestra, mayor viscosidad del gel (9, 22, 45, 46).

La proporción reactivo:leche debe ser 1:1. Así, poco reactivo excluye el desarrollo de reacciones positivas plenas, mientras que un leve exceso no altera significativamente los resultados. Los volúmenes de reactivo y leche, separados para cada cuarto, son mezclados en la placa de prueba. La formación de gel es evaluada a medida que la placa es rotada suavemente y el resultado es registrado después de cinco segundos, después el gel se deteriora. Adicionalmente, ciertos reactivos tienen incluido un indicador de pH como el Púrpura de Bromocresol (45, 46).

El CMT es más efectivo a pH de 7 o por encima de éste, por el cual y debido a que la multiplicación bacteriana en la leche comúnmente conlleva a la producción de ácido, las muestras de leche deben ser refrigeradas si la prueba no se realiza en el momento sino dentro de las 24 a 36 horas siguientes.

Es común realizar el CMT con los primeros chorros de leche (leche anterior), de esta forma las reacciones positivas son comúnmente más intensas; en algunos casos, la leche anterior puede ser negativa pero la leche final es positiva al CMT. Esto es común encontrarlo en vacas jóvenes y puede indicar que la mastitis aún no ha envuelto grandes áreas del parénquima glandular; también se encuentra en estados convalecientes de mastitis. Infrecuentemente, la leche anterior es positiva y la final negativa, esto sugiere que la lesión inflamatoria está posiblemente limitada al recubrimiento de la cisterna del pezón. La leche residual provee la fracción más sensible, que revela de un 20 a 40% más grados de CMT positivos que la leche anterior. Así, los porcentajes de grados positivos para mastitis al CMT fueron 4.7% para la leche anterior, 8% para la leche final y 16% para la residual. (46).

**3.5.1.2 Interpretación.** La Tabla 4 presenta los grados de la Prueba de California para Mastitis con su interpretación y los respectivos conteos de células somáticas a que equivale (22, 39, 43, 46).

Tabla 4. Grados e interpretación del CMT. (22, 39, 43, 46)

<b>Símbolo</b>	<b>Significado</b>	<b>Reacción</b>	<b>Interpretación</b>
N	Negativo	Mezcla líquida	0 – 200,000 células/ml
T	Trazas	Leve formación de viscosidad, tiende a desaparecer con el movimiento	150,000 – 500,000 células/ml
1	Débil	Viscosidad clara sin tendencia a formar gel	400,000 – 1,500,000 células/ml
2	Claramente positivo	Formación de gel al movimiento deja ver el fondo de la copa	800,000 - 5,000,000 células/ml
3	Fuertemente positivo	El gel formado puede tener una superficie convexa, tiende a adherirse al fondo	> 5,000,000 células/ml

### **3.5.2 Coulter Counter**

Durante la mitad de la década de los setentas, el empleo del CMT en laboratorio fue reemplazado por métodos de recuento electrónico, inicialmente con un contador de partículas (Coulter Counter) y posteriormente con un analizador fluoróptico de DNA (Fossomatic) (35).

El método electrónico Coulter Counter para el recuento de partículas se basa en el paso de una muestra de leche fijada y diluida a través de una apertura localizada entre dos electrodos. Las partículas presentes generan pulsos de voltaje proporcionales al volumen de las partículas. De esta forma, el número de pulsos indica el número de partículas presentes por ml de leche (48).

Los métodos electrónicos presentan ventajas importantes ante otros métodos de cuantificación de células somáticas entre las que se encuentran: tiempo mínimo de análisis, las muestras pueden ser almacenadas después de ser fijadas, el método es objetivo, el escaneo electrónico provee una alta exactitud estadística y adicionalmente puede ofrecer datos del tamaño celular (22).

## **3.6 TIPOS DE MASTITIS**

### **3.6.1 Mastitis Clínica**

El diagnóstico de mastitis clínica depende, en gran medida, de la identificación de anomalías en la leche, para lo cual debe usarse de preferencia un vaso de fondo negro pudiendo encontrarse grumos, acuosidad, sangre, pus y cambios de color en la leche. Se recomienda realizar esta prueba en forma rutinaria durante la preparación de las vacas antes del ordeño, con el fin de detectar tempranamente la leche anormal y tomar las medidas correspondientes. Además de posibilitar el diagnóstico de mastitis clínica, esta

práctica permite eliminar la leche del conducto y cisterna del pezón, generalmente contaminada y sirve como estímulo para provocar la bajada de la leche (8, 39, 40, 55).

El examen físico de la ubre es mejor realizarlo cuando ésta está vacía, inmediatamente después del ordeño. La glándula mamaria se examina por cuartos, los que pueden presentar signos inflamatorios, además de deformaciones o atrofia, con áreas de tejido cicatricial que indicarían la presencia de cuadros crónicos (39, 55).

### **3.6.2 Mastitis Subclínica**

El recuento de células somáticas en la leche es un indicador importante de mastitis subclínica, el cual se puede determinar mediante el recuento microscópico directo o a través de contadores celulares electrónicos, así como estimar por medio de métodos indirectos (48).

La prueba indirecta de diagnóstico más usada a nivel de campo es el CMT, debido a su simplicidad, exactitud y bajo costo. Se recomienda realizar la prueba antes del ordeño, después de la preparación y estímulo de la ubre, para poder obtener resultados más confiables (39, 46).

Se ha postulado que algunas proteínas de la leche podrían contribuir a la formación de viscosidad, lo que haría perder precisión al método. Sin embargo, se reconoce al CMT como la prueba de campo más práctica para el diagnóstico de mastitis subclínica y se ha demostrado que es más exacta que otros métodos, como el de Negretti, Whiteside y Cloruros (21, 40).

El Lauril Sulfato de Sodio (LSS) es un detergente aniónico de reacción neutra y con actividad de superficie, que debido a su fácil disponibilidad y bajo costo, constituye una buena alternativa para ser utilizado como sustituto del alquil arilsulfonato en la fabricación de reactivos del tipo CMT. Se ha demostrado que los resultados del CMT – LSS, tienen un alto grado de coincidencia con los rangos celulares descritos para el CMT original (35, 36).

También se han descrito métodos basados en la determinación de la conductividad eléctrica en la leche, tests para detección de anticuerpos estafilocócicos, determinación de lactosa, cloruros y proteínas solubles en la leche, y la determinación de la concentración de diversos compuestos en la leche, como adenosin trifosfato (ATP), NAGasa (N-Acetil- $\beta$ -D-Glucosaminidasa), albúmina sérica, y antitripsina. De éstos, sólo la determinación de la conductividad eléctrica ofrece un potencial como medida de monitoreo continuo, mediante la instalación de sensores dentro del equipo de ordeña (4,19, 23, 39).

El Viscosímetro es otro método basado en un detergente surfactante, que provoca lisis de las células presentes en la leche, formando un gel, al cual se le valora su viscosidad a través del desplazamiento de una bola de acero inoxidable dentro de un tubo de vidrio con una inclinación de 45°. Este método fue usado en Chile por las plantas lecheras, en lugar del CMT, para estimar el contenido celular en leche de recepción. Sin embargo, posteriormente se demostró que el Viscosímetro subestima el verdadero CCS, particularmente en leche refrigerada por 24 – 48 horas, siendo reemplazado por los métodos electrónicos de recuento celular a partir de mediados de la década de 1990 (2, 33, 40).

### **3.6.3 El Cultivo Bacteriológico En El Diagnóstico De Mastitis**

Probablemente el método más seguro para el diagnóstico de mastitis es el aislamiento e identificación del agente patógeno actuante. Sin embargo, debe tenerse presente que no existe concordancia absoluta entre sus resultados y el examen clínico, así como entre la positividad a infecciones intramamarias y el nivel de CCS, debido a varias razones (30, 39, 40).

La mastitis es una infección dinámica, pudiendo presentarse altos CCS o signos clínicos cuando el agente patógeno ya ha sido eliminado por el sistema inmune. La cantidad de unidades formadoras de colonias presentes en la leche puede ser menor a la que es capaz de detectar el laboratorio; existiendo también excreción irregular de algunos patógenos, principalmente coliformes y *Staphylococcus*. Entre otras causas se incluyen:

- Infecciones producidas por agentes que requieren condiciones especiales para su aislamiento
- Presencia de residuos de antibióticos en la leche
- Inflamación de origen traumático
- Manejo inadecuado de las muestras durante su almacenamiento, que se traduce en la destrucción del agente patógeno (17, 30, 39, 53).

Debido a lo anterior, se estima que alrededor de un 30% de muestras de casos clínicos o de cuartos con altos CCS, darían resultados negativos a los exámenes bacteriológicos de rutina. Si en la identificación de patógenos mamarios, las placas de agar contienen más de dos tipos de colonias diferentes y/o presencia de colonias de *Bacillus* o *Proteus*, se debe sospechar que hubo contaminación en la toma de muestra. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que cualquier patógeno mamario presente en las muestras de leche puede provenir de una contaminación, incluyendo a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* (29, 39).

De esta forma, la confianza en los cultivos de laboratorio se ve afectada por la manera en que las muestras de leche son recolectadas, almacenadas y manipuladas; por lo que se debe contar con equipos y materiales adecuados y emplear técnicas de laboratorio apropiadas. Las muestras deben mantenerse refrigeradas desde su obtención hasta no más de 24 horas, o bien congeladas por un período no mayor a un mes, para ser analizadas por el laboratorio (29, 39, 42).

Actualmente, se han desarrollado kits diagnósticos como una nueva herramienta para identificar a los patógenos involucrados en los casos de mastitis. La ventaja de estos sistemas es que son económicos, fáciles de usar y dan una respuesta rápida (en menos de 24 horas), y pueden ser usados en el campo, requiriendo sólo una cámara de cultivo mantenida a 37°C (5, 28).

Los resultados de los cultivos bacteriológicos son importantes para un entendimiento adecuado de los problemas de mastitis específicos de un rebaño, recomendar terapias

apropiadas, aplicar medidas de control eficientes, tomar decisiones de segregación o eliminación de vacas, y monitorear la efectividad de algunas medidas de control, como la terapia de secado (39).

### **3.7 EFECTO DE ALGUNOS FACTORES SOBRE LA FRECUENCIA DE MASTITIS**

#### **3.7.1 Tamaño De Rebaño**

En términos generales, la masa bovina total refleja la disponibilidad de superficie predial y de praderas. Se ha encontrado asociación entre el incremento del tamaño de rebaño y aumento en la frecuencia de mastitis, atribuida principalmente a la menor posibilidad de brindar atención individual a las vacas y a la mayor densidad de animales en los patios de espera y salas de ordeña. A ello también contribuiría la tendencia a usar un número excesivo de unidades por ordeñador, además del empleo de equipos de ordeña no adecuados para trabajar con un gran número de unidades. En cambio, otros estudios concluyen que no habría relación entre tamaño de rebaño y frecuencia de mastitis y tampoco asociación entre este factor y el CCS de muestras de leche individuales. (6, 10, 13, 14, 27)

Por otro lado, algunos estudios indican un aumento en la frecuencia de mastitis para los rebaños de mayor tamaño. Se encontró una frecuencia de cuartos positivos a mastitis subclínica significativamente mayor en rebaños con más de 40 vacas, en relación a rebaños con menos de 40 vacas; atribuyendo este resultado a una mayor atención individual y mejor manejo de ordeña en los rebaños más pequeños. (7, 44, 51).

#### **3.7.2 Sistema De Ordeña**

En términos generales, el equipo de ordeña influye en los niveles de mastitis de dos maneras:

- Actuando como fómite, al favorecer la transmisión de patógenos mamarios entre vacas o entre cuartos de una misma vaca
- Actuando como agente traumático, provocando irritación mamaria e injuria de los pezones; debido a fallas de funcionamiento y/o procedimientos de ordeña inadecuados. Las pérdidas abruptas de vacío, pueden generar fuerzas capaces de introducir gérmenes en el conducto del pezón, al provocar impactos de gotas de leche sobre la punta del pezón. Sin embargo, debe tenerse presente que las fallas que ocurren a este nivel, constituyen sólo uno de los numerosos factores involucrados en el complejo mastitis (1, 2, 39).

Los resultados de investigaciones efectuadas en distintos países, revelan generalmente una mayor frecuencia y severidad de mastitis en los rebaños ordeñados mecánicamente, en comparación a los sometidos a ordeña manual. Ello no significa que la ordeña mecánica necesariamente ejerza un efecto perjudicial sobre el estado sanitario de la glándula mamaria, sino que el sistema exige un elevado nivel de manejo y un funcionamiento óptimo de los equipos (2).

No existen diferencias significativas entre ambos sistemas de ordeña, en cuanto a frecuencia de mastitis, determinando un 41,41% de cuartos afectados por mastitis subclínica en lecherías con ordeña manual y un 38,46% en las que utilizaban ordeña mecánica. Por otra parte se encontró una frecuencia de cuartos con mastitis subclínica significativamente más alta en rebaños sometidos a ordeña manual, atribuyéndolo a deficiencias de higiene ambiental, del personal y de la ordeña. (15 ,51)

### **3.7.3 Número De Parto**

La edad o el número de parto, constituyen uno de los factores que en mayor medida afectan el contenido celular de la leche y el resultado del CMT o pruebas similares. En general, el CCS y la intensidad de las inflamaciones subclínicas, evaluadas mediante el CMT, aumentan al incrementarse el número de parto. Este fenómeno se atribuye principalmente a un incremento de las tasas de infecciones intramamarias en las

vacas de más edad, que probablemente refleja su mayor exposición a infecciones y traumas de la ubre (2).

Numerosos autores han demostrado que la mastitis clínica es más frecuente en vacas adultas que en animales de primera o segunda lactancia. Dependiendo de la fuente consultada, se registrarían incrementos del orden del 25% a 3 veces en la tasa de cuartos afectados clínicamente, desde la primera a la cuarta lactancia (2).

Las tasas de mastitis clínica a nivel de cuartos, aumentan significativamente tanto con la edad cronológica como lactacional de las vacas. Las frecuencias de cuartos con mastitis clínica para animales de 1, 2, 3, 4, 5, y 6 y más lactancias fueron 0,3; 0,8; 1,2; 1,0; 0,6 y 2,3%, respectivamente. Un aumento de la incidencia de mastitis clínica, a medida que aumenta el número de parto de las vacas, con valores de 14,3; 19,6; 26,7; 27,4 y 29,2 casos/100 vacas/año desde el 1<sup>er</sup> al 5<sup>o</sup> parto, respectivamente. (1, 49).

Estos antecedentes son compatibles con los resultados de algunos estudios, los cuales revelan tasas crecientes de infecciones intramamarias a medida que aumenta la edad y el número de lactancia. En algunos trabajos se ha comprobado que la progresión en el incremento de la frecuencia de mastitis clínica no es lineal, sino que se caracteriza por un alza brusca entre la primera y tercera lactancia. Ello indicaría que las vacas jóvenes pueden hacerse rápidamente susceptibles a mastitis, lo que probablemente reflejaría una prevención inadecuada de las neoinfecciones mamarias (2).

#### **3.7.4 Etapa De Lactancia**

La etapa de lactación se divide en tres:

- Lactación Inicial: esta etapa comprende desde el día del parto hasta el día 149.
- Lactación Media: desde el día 150 hasta el 209.
- Lactación Final: desde el día 210 al 305.

En la mayoría de los estudios se ha detectado un alza en el contenido de células somáticas en la leche a medida que avanza la lactancia. Sin embargo, también se ha descrito otra curva celular, caracterizada por un elevado nivel en las primeras semanas de lactancia, el cual disminuye en la lactancia media, para aumentar en la lactancia final (2).

Los cambios en el CCS y en los resultados del CMT, no se asocian necesariamente a un aumento de las infecciones intramamarias, puesto que parecen estar relacionados principalmente con una mayor o menor dilución celular, asociada a las variaciones que experimenta la producción de leche a través de la lactancia. No obstante, también se atribuye a causas infecciosas el incremento del CCS, puesto que éste no aumenta notoriamente en cuartos o ubres libres de infecciones (2).

Con respecto a las tasas de nuevas infecciones, en general se acepta que éstas son mayores al inicio del período seco y alrededor del parto, en comparación con fases más adelantadas de la lactancia. De esta manera, las vacas muestran una mayor susceptibilidad a presentar cuadros de mastitis clínica en las primeras semanas postparto (2, 42, 50).

Lo anterior coincide con otro estudio que muestra una incidencia de mastitis clínica sustancialmente mayor en los primeros 3 días postparto, la cual se redujo en un 50% en los 4 días siguientes. En la segunda semana de lactancia, la incidencia se redujo nuevamente a la mitad y en la segunda mitad del primer mes volvió a disminuir en un 50%, estabilizándose durante el resto de la lactancia. Así mismo, se ha comprobado una mayor frecuencia de casos clínicos para etapas tempranas de la lactancia, tanto para mastitis causadas por agentes gram negativos como positivos. Aunque no se ha encontrado una relación entre etapa de lactancia y prevalencia de mastitis clínica, al comparar las tasas de prevalencia de cuartos afectados clínicamente durante el primer, segundo y último tercio de lactancia. (1, 11, 49).

## 3.8 PATOGENOS MAMARIOS

### 3.8.1 Tipos De Patógenos

La mastitis puede ser causada por más de 140 microorganismos, incluyendo bacterias, mycoplasmas, hongos, algas y virus, siendo las bacterias el grupo de mayor importancia. Más del 95% de los cuadros de mastitis clínica y subclínica son causados sólo por un pequeño grupo de bacterias, entre ellas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus uberis*; aunque han adquirido cada vez más importancia bacterias gram negativas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulasa negativo* (SCN) y *Corynebacterium bovis* (8, 12, 29, 38, 42, 52).

Estos microorganismos se pueden clasificar en:

- Contagiosos
- Ambientales
- Oportunistas (42).

Sin embargo, la mayoría de los autores los clasifican sólo dentro de las dos primeras categorías. También se pueden clasificar según la magnitud del daño que generan en la glándula mamaria, en patógenos mayores y menores (12, 20, 26, 30, 38, 52).

Los patógenos contagiosos tienen como principal reservorio la glándula mamaria infectada, por lo que su diseminación ocurre principalmente durante el proceso de ordeña, generalmente a través de la máquina de ordeña, manos del ordeñador, o trapos y esponjas de uso común para preparar la ubre durante la rutina de ordeña. Por otro lado, los patógenos ambientales se encuentran en el entorno de las vacas, pudiendo contaminar la punta del pezón entre ordeños. Sus fuentes de contaminación más importantes son:

- estiércol
- barro y agua estancada

- pomos intramamarios
- agujas, cánulas y jeringas contaminadas
- alimentos y áreas alrededor de los comederos
- algunos materiales de cama, principalmente orgánicos (42, 50).

Los patógenos contagiosos, principalmente *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*, han sido considerados los agentes causales de mastitis más comunes. Sin embargo, en los últimos estudios se ha encontrado una disminución de la prevalencia de estos patógenos y un aumento de la importancia de agentes ambientales; principalmente estreptococos ambientales, como *Streptococcus uberis*, y coliformes, como *Escherichia coli*. Esto se asocia, principalmente, al mejoramiento en las medidas de control adoptadas por los productores lecheros alrededor del mundo, que han sido más eficientes en controlar las bacterias contagiosas causales de mastitis (8, 12, 42).

Algunos autores califican a los patógenos mayores, particularmente Streptococos y *Staphylococcus aureus*, como el factor más importante en el aumento del CCS. En cuanto a los patógenos menores (SCN y *Corynebacterium bovis*), hay autores que les confieren un efecto protector de la glándula mamaria frente a algunos patógenos mayores, aunque también generan aumento del CCS y pueden ser agentes causales importantes de mastitis subclínica (20, 38, 50, 52).

### **3.8.2 Características De Algunas Bacterias Causales De Mastitis**

#### **3.8.2.1 Streptococcus**

El género *Streptococcus* se ha dividido recientemente en 3 géneros: *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Lactococcus*. En general, causan mastitis subclínica o episodios de mastitis clínica aguda y subaguda. Las especies de este género más comúnmente involucradas en casos de mastitis son *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus uberis* (39).

- *Streptococcus agalactiae*: es clasificado como un patógeno contagioso, ya que su diseminación ocurre principalmente durante el proceso de ordeña. Tiene como principal reservorio la ubre infectada, por lo que se considera un parásito obligado de la glándula mamaria. Responde bien a tratamientos y medidas de control convencionales, principalmente terapia de secado y sellado de pezón postordeña, pudiendo erradicarse del rebaño (12, 26, 39, 42, 50).

- *Streptococcus dysgalactiae*: presenta características de patógeno contagioso, sin embargo, en la mayoría de los trabajos se clasifica como un patógeno ambiental, debido a que epidemiológicamente se comporta como patógeno contagioso en algunos rebaños y como ambiental en otros. Normalmente las infecciones subclínicas desarrollan rápidamente un cuadro clínico, razón por la cual la mayoría de las infecciones son tratadas de inmediato y eliminadas (29, 33, 39, 50).

- *Streptococcus uberis*: es un patógeno ambiental, que se puede encontrar en la ubre, piel, labios, área genital y ambiente de las vacas. La mayor tasa de nuevas infecciones tiende a ocurrir al inicio del período seco y durante las 2 semanas previas al parto (39, 50).

- *Enterococcus spp*: son agentes causales de mastitis subclínica y clínica poco frecuentes; sin embargo, *E. faecalis* y *E. faecium* pueden causar problemas esporádicos de mastitis. Se pueden aislar principalmente del tracto intestinal, glándula mamaria infectada y del ambiente general de la lechería (39).

### **3.8.2.2 Staphylococcus**

- *Staphylococcus aureus*: es un patógeno contagioso cuyo principal reservorio es la glándula mamaria infectada, pudiendo encontrarse también en lesiones de los pezones y otras partes del cuerpo, como en vagina; sin embargo, no es capaz de colonizar la piel sana. Otros reservorios de menor importancia los constituyen el hombre, las moscas, alojamientos, equipos y otros animales no bovinos. Las infecciones tienden a ser subclínicas y crónicas, con episodios periódicos de mastitis clínica, pudiendo causar

también mastitis gangrenosa. Este patógeno se asocia a una disminución considerable en la producción de leche y un gran aumento de su contenido celular (39, 50).

Se han desarrollado vacunas capaces de reducir la severidad de los casos clínicos y facilitar la cura espontánea. También se han evaluado experimentalmente algunas vacunas que son capaces de reducir las tasas de nuevas infecciones. La respuesta al tratamiento con antibióticos es moderada, siendo muy difícil eliminar la infección en una vaca afectada; sin embargo, se puede controlar la tasa de nuevas infecciones mediante medidas de manejo adecuadas (12, 28, 38, 39).

- *Staphylococcus coagulasa negativo* (SCN): incluye numerosas especies de *Staphylococcus*, dentro de las cuales destacan *S. chromogenes*, *S. hyicus*, *S. warneri*, *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. xylosus* y *S. sciuri*. Se consideran como patógenos oportunistas y forman parte de la flora normal de las vacas, teniendo como reservorio principalmente la piel, pelos, vagina y canal del pezón. Sin embargo, las infecciones causadas por especies novobiocina-resistentes, y *S. xylosus* y *S. sciuri*, se originan fundamentalmente desde el medio ambiente. Por otro lado, la fuente de contagio de *S. epidermidis* aparentemente está más relacionada con las personas que trabajan en la lechería (42, 39, 50).

Esta bacteria se considera un patógeno emergente que está adquiriendo cada vez mayor importancia en los rebaños lecheros, siendo frecuente encontrarlo como el de mayor prevalencia. Además, es un patógeno frecuente en infecciones intramamarias de vaquillas, tanto antes como después del parto (37, 38, 52).

La mayor prevalencia del *Staphylococcus coagulasa negativa*, respecto a otros patógenos, se asocia con rebaños que practican un adecuado sellado de pezón postordeña y aplican la terapia de secado en todas las vacas. Esto último posiblemente se explica por que aún cuando la terapia de secado es capaz de eliminar a la mayoría de las infecciones intramamarias causadas por este estafilococo, hay una alta frecuencia de

nuevas infecciones que ocurren durante el período seco, para las cuales aún no se han desarrollado medidas preventivas efectivas (50).

Las infecciones son generalmente subclínicas y de larga duración, pudiendo aislarse también de casos clínicos, aunque algunos de los aislamientos pueden corresponder a infecciones del canal del pezón; asimismo, algunas infecciones clínicas atribuidas a *Staphylococcus coagulasa negativa*, pueden haber sido causadas por otro agente patógeno. La infección subclínica por SCN se asocia con un aumento en el CCS, que según diversos autores fluctúa entre 224 000 – 620 000 cél/ml, y disminución de la producción de leche (38, 39, 50).

### **3.8.2.3 Bacterias Gram Negativas**

Las bacterias gram negativas son consideradas patógenos ambientales, por lo que la exposición a ellas ocurre principalmente entre ordeñas, ya que se encuentran en el entorno de la vaca, como camas, agua y alimentos. Entre éstas se encuentran *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Proteus spp.*, *Pasteurella spp.* y *Citrobacter spp.* (39, 50).

Una gran proporción de las nuevas infecciones ocurre con posterioridad al secado y antes del parto, disminuyendo la susceptibilidad a medida que transcurre la lactancia. Se estima que entre el 80% – 90% de las infecciones causadas por coliformes desarrollan un cuadro clínico, los cuales en general son de corta duración y se limitan a alteraciones macroscópicas en la leche e inflamación del cuarto afectado. Sin embargo, bajo ciertas circunstancias, un porcentaje considerable de las infecciones pueden provocar cuadros peragudos de mastitis clínica. En los cuadros de mastitis causados por estas bacterias, la respuesta a la terapia antimicrobiana con antibióticos es pobre, requiriendo generalmente otras alternativas terapéuticas asociadas (39, 50).

En el caso de *Escherichia coli*, hay trabajos que indican que la mayoría de las infecciones ocurren en el periparto, durando en general menos de 10 días, con una respuesta pobre a la terapia antibiótica. No obstante, se ha encontrado que un alto

porcentaje de casos de mastitis clínica causados por *E. coli* durante la lactancia, provenían de infecciones ocurridas en el período seco, principalmente al inicio y al final de éste. En este estudio se utilizó la técnica DNA Fingerprinting, con el fin de diferenciar el genoma de las bacterias involucradas, concluyéndose que algunas infecciones por *E. coli* son capaces de persistir durante largos períodos de tiempo en la glándula mamaria y causar uno o más episodios clínicos de mastitis durante la lactancia (24, 39, 50).

Se han desarrollado algunas vacunas, como la *E. coli* J5, capaces de reducir la tasa de incidencia y la severidad de los casos clínicos causados por *E. coli*, así como por otras bacterias gram negativas (39, 50).

#### **3.8.2.4 Corynebacterium Bovis**

Es un patógeno contagioso, cuyos reservorios principales son el conducto del pezón y la glándula mamaria infectada, pudiendo ser un reservorio potencial el tracto reproductivo. De esta forma, la transmisión ocurre fundamentalmente durante la ordeña. Además, se considera un patógeno menor, por causar infecciones mamarias ocasionales, generando un pequeño aumento del recuento celular y una ligera disminución de la producción de leche, lo que rara vez se traduce en mastitis clínica. La terapia de secado suele ser muy efectiva en la eliminación de infecciones intramamarias causadas por *C. bovis*, mientras que el uso de un sellado postordeña adecuado, es una medida de gran valor para el control de este patógeno (26, 39, 50).

En consecuencia, una alta prevalencia de este microorganismo en un rebaño puede indicar fallas en la adopción o ejecución de esas medidas. Así mismo, en ausencia de un sellado postordeña adecuado, la prevalencia de éste patógeno en un rebaño puede exceder al 50% de los cuartos. (42, 50)

### **3.8.2.5 Mycoplasma Spp.**

El patógeno más común de este género lo constituye *Mycoplasma bovis*. Es un patógeno contagioso, cuyo principal reservorio es la glándula mamaria infectada, tractos respiratorio y urogenital. Generalmente se transmite durante la ordeña, pudiendo además entrar a la ubre a través de una terapia intramamaria aplicada en forma inadecuada (28).

La infección se caracteriza por aparición súbita, diseminación rápida en el rebaño, disminución marcada en la producción de leche y resultados negativos a los exámenes bacteriológicos de rutina. No hay tratamiento efectivo para la mastitis causada por mycoplasmas, por lo que las vacas infectadas deben ser aisladas y generalmente eliminadas (26, 39).

## IV. MATERIALES Y METODOS

### 4.1 MATERIALES:

#### 4.1.1 Recursos Humanos:

- Trabajadores de campo
- Personal de laboratorio

#### 4.1.2 Recursos de Laboratorio:

- Campana bacteriológica
- Mechero
- Asas bacteriológicas
- Microscopio
- Cajas de Petri
- Incubadora a 37° C
- Autoclave
- Pipetas
- Tubos de ensayo
- Medios de cultivo:
  - Agar Sangre
  - Agar McConkey

#### **4.1.3 Recursos de Campo:**

- Prueba para CMT:
  - Paleta plástica con cuatro compartimientos
  - Reactivos
    - Alquil Aril Sulfonato
    - Púrpura de Bromocresol
- Algodón
- Alcohol
- Agua
- Jabón
- Toallas mayordomo
- Frascos estériles
- Ropa de trabajo (overol)
- Gradilla
- Hielera
- Refrigerante / hielo
- Masking tape
- Crayón / Lapicero
- Instalaciones
- Ficha de recopilación de datos
- Fichas de registros de las fincas

#### **4.1.4 Recursos Biológicos:**

- Vacas de razas lecheras
  - Jersey
  - Holstein
  - Pardo Suizo
- Muestras de leche

#### **4.1.5 Centros de Referencia:**

- Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala
- Biblioteca de la Escuela Panamericana El Zamorano, Honduras

#### **4.2 METODOS:**

##### **4.2.1 Area de Estudio:**

El Valle de Jamastrán se encuentra localizado en el municipio de Danlí, departamento de El Paraíso, Honduras. Con un área aproximada de 30,000 hectáreas. Se encuentra a una altura de 470 m.s.n.m., con una precipitación pluvial anual promedio de 800-1200 mm. y los meses más lluviosos son de junio a octubre. La temperatura mínima oscila entre los 22 °C y 24 °C máxima en promedio. Sus suelos son de tipo franco-arenoso, la humedad relativa ambiental es de un 70% y un porcentaje de evaporación por radiación de 7-8mm/mt.<sup>2</sup>

##### **4.2.2 Diseño del Estudio:**

El presente trabajo de investigación se realizó en 3 fincas de ganado lechero especializado en la zona del Valle de Jamastrán, El Paraíso, Honduras. El estudio comprendió los análisis de la presentación de casos clínicos de mastitis en dichas fincas, para lo cual se utilizó la prueba de CMT (California Mastitis Test) y análisis de laboratorio.

Se escogieron en cada finca 15 vacas sospechosas de presentar mastitis clínica, no importando el período de lactación en que se encuentren. Las vacas que se escogieron se encontraban en los diferentes períodos de lactación:

- Período de lactación temprana o inicial: comprende entre los 21 a 30 días posparto
- Período de lactación media: comprende desde el día 150 al 210
- Período final o tardía: comprende del día 210 al 305

A las vacas sospechosas de presentar mastitis clínica se les realizó la prueba de California Mastitis Test (CMT). Las vacas que salieron positivas a esta prueba se les tomó una muestra de leche en un frasco estéril que luego se envió en refrigeración al Laboratorio Contreras, ubicado en la ciudad de Danlí. Aquí se realizó un cultivo bacteriológico en Agar Sangre y Agar McConkey, para aislar las bacterias.

#### **4.2.2.1 Prueba California para Mastitis (CMT):**

La Prueba California para Mastitis (CMT) se realiza de la siguiente manera:

- Se toma una muestra de leche de cada cuarto, aproximadamente 2 ml, en cada uno de los 4 compartimientos de la paleta. Cada uno de los compartimientos corresponde a cada cuarto de la ubre a muestrear. Se debe de identificar cada compartimiento de la paleta. Esta cantidad de leche corresponde a lo que queda en los compartimientos de la paleta al colocarla en posición vertical.
- La solución CMT debe ser reconstituida de acuerdo a las instrucciones del producto.
- Agregar igual cantidad de reactivo sobre la leche de cada compartimiento.
- Agitar en forma circular por no más de 10 segundos.
- Interpretar los resultados lo más rápido posible, ya que la reacción visible desaparece en unos 20 segundos.
- La calificación se realiza de forma visual; entre más gel se forme mayor es la calificación.
- Los resultados se deben anotar en la ficha correspondiente.

El fundamento de la prueba de California para mastitis está basado en que la leche con alteraciones por mastitis contiene una cantidad de células, principalmente leucocitos, mucho mayor a la que se encuentran en la leche normal.

Al unirse la leche que proviene de cuartos infectados con el reactivo se forma un gel que se observa directamente. Esta reacción se relaciona con el número de células somáticas en la leche y si es positiva indica mastitis.

La lectura del CMT:

- N: Negativo o No Infectado: no hay espesamiento de la mezcla.
- T: Trazas o Posible Infección: hay un ligero espesamiento de la mezcla. Esta reacción parece desaparecer al rotar la paleta.
- Grado 1: Positivo Débil: hay un espesamiento de la mezcla, pero sin formación de gel. Si se rota la paleta por más de 20 segundos, el espesamiento desaparece.
- Grado 2: Positivo Evidente: hay un espesamiento inmediato de la mezcla con una ligera formación de gel. Mientras la mezcla se agita, ésta se mueve hacia el centro de la paleta exponiendo el fondo del borde externo. Cuando el movimiento se detiene, la mezcla se nivela y cubre todo el fondo de la copa.
- Grado 3: Positivo Fuerte: hay formación de gel y la superficie de la mezcla se eleva. Esta elevación permanece aún después de detener el movimiento de la paleta.

La interpretación de los grados del CMT y el rango de las Células Somáticas:

El grado de CMT está directamente relacionado con el promedio del conteo de células somáticas. Una reacción de trazas (T) o más, indica que hay mastitis subclínica en el cuarto (35, 36).

- N (Negativo): 0 – 200,000 células/ml. Cuarto Sano.
- T (Trazas): 200,000 – 400,000 células/ml. Mastitis Subclínica.
- Grado 1: 400,000 – 1,200,000 células/ml. Mastitis Subclínica.
- Grado 2: 1,200,000 – 5,000,000 células/ml. Infección Seria.
- Grado 3: más de 5,000,000 células/ml. Infección Seria.

#### 4.2.2.2 Cultivo Bacteriológico:

Se tomó una muestra de leche a todas aquellas vacas positivas al CMT y se les realizó un cultivo bacteriológico. Para la obtención de la leche de las vacas a muestrear se lavó y secó muy bien el pezón especialmente en la punta. Con la ayuda de algodón y alcohol se desinfectó la punta del pezón. Se eliminaron los dos o tres primeros chorros y luego se colocaron entre 5 y 8 ml de leche en el frasco estéril evitando que partículas extrañas entraran a él. Se identificó el frasco señalando el nombre de la vaca y el pezón muestreado, por ejemplo: AD (anterior derecho), PD (posterior derecho), AI (anterior izquierdo), PI (posterior izquierdo). Las muestras de leche para bacteriología se tomaron antes de instaurar tratamientos con antibióticos, de lo contrario se deberá esperar por lo menos 5 días después de haber suministrado el último tratamiento.

Las muestras recolectadas se transportaron en sus respectivos frascos estériles en hielera con refrigerante o hielo hacia el laboratorio donde se aislaron y tipificaron de los microorganismos.

Se utilizaron dos medios de cultivo para realizar el cultivo bacteriológico, agar sangre y agar Mc Conkey, donde se sembraron todas las muestras. En agar sangre crecen casi todas las bacterias y el agar Mc Conkey es especial para enterobacterias. Las placas de agar sangre y agar Mc Conkey se incubaron durante 48 horas y se leyeron a las 24 y 48 horas. La mayoría de los patógenos de interés crecen en 24 horas de cultivo, aunque en ocasiones es necesaria una resiembra para aislarlos de otras bacterias contaminantes.

- Agar Sangre: Es una combinación de un agar base (agar nutritivo) con el agregado de 5 % de sangre ovina. Este agar aporta muchos factores de enriquecimiento. Se usa también para ver la capacidad hemolítica de los microorganismos patógenos. Se deben de observar los halos hemolíticos alrededor de las colonias para determinar el tipo de hemólisis que posee.

Los Streptococcus forman hemólisis. Si los halos son verdosos la hemólisis es alfa, si los halos son incoloros la hemólisis es beta y si no existen halos la hemólisis es gamma.

Los Staphylococcus crecen bien a 37° C, pero forman mejor el pigmento a temperatura ambiente. Las colonias son redondas, lisas, elevadas y resplandecientes. El color de la colonia determina el nombre de la colonia: *S. albus* es blanco, *S. aureus* es amarillo, que son Beta-hemolíticos, y *S. citreus* es naranja.

- Agar McConkey: Es un medio diferencial utilizado para la detección, aislamiento y recuento de bacterias coliformes. Las bacterias capaces de fermentar lactosa provocan una disminución de pH y la colonia se torna de color rojo. Las colonias de bacterias que no fermentan la lactosa quedan incoloras.

La *E. coli* forma colonias de color rosado y la *Salmonella* forma colonias incoloras (transparentes).

#### **4.2.4 Diseño Estadístico:**

Se tomaron 45 muestras en 3 fincas de ganado lechero especializado, procedentes del Valle de Jamastrán, El Paraíso, Honduras.

En cada finca se escogieron 15 vacas sospechosas de mastitis clínica, a cada una se les realizó la prueba de CMT y a los casos positivos se les tomó una muestra de leche para realizar un cultivo bacteriológico para poder aislar las bacterias que estén causando la mastitis clínica.

Las variables que se van a estudiar son:

- Tipo de bacteria aislada
- Edad de la vaca en meses
- Epoca del año (Epoca seca o lluviosa)

- Raza de la vaca
- Número de partos
- Nivel de producción (en litros):
  - Bajo: menor a 10 litros
  - Medio: de 10 a 20 litros
  - Alto: mayor a 20 litros
- Días en lactación a la cual se presentó la mastitis clínica

El análisis de la información se realizó por medio de porcentajes de presentación y descripción de las tendencias.

Para determinar si existe relación entre el tipo de bacteria y las variables se utilizó la prueba de Chi cuadrado.

## V. RESULTADOS Y DISCUSION

Para el presente estudio se analizaron los diagnósticos de mastitis clínica en relación a los diferentes microorganismos que la causan y la relación con las siguientes variables: edad de la vaca, época del año, raza, número de partos, días en lactación y nivel de producción en vacas lecheras del Valle de Jamastrán, El Paraíso, Honduras. Se realizaron un total de 45 muestras (ver Cuadro No. 1).

Bajo las condiciones del presente estudio se encontraron las siguientes situaciones:

### 1. Edad de la vaca:

Se encontró un efecto estadístico significativo ( $P < 0.05$ ) para la variable edad de la vaca, entre más edad del animal más susceptible de padecer mastitis (ver Cuadro No. 2).

Esto se da posiblemente debido al efecto mecánico ejercido por las pezoneras, por la frecuencia del ordeño, que al transcurrir varios partos esto va dañando el esfínter del pezón y habrá mayor dificultad para que éste se cierre quedando susceptible a la entrada de bacterias.

Las vacas con mayor edad son mas susceptibles a padecer hipocalcemia y a una falta de calcio es mas difícil que se realice la contracción del esfínter dejándolo abierto y quedando expuesto a una invasión microbiana.

### 2. Epoca del año:

No se encontró un efecto estadístico significativo ( $P > 0.29$ ) de la época en la que se presentó la mastitis, pero pudo notarse que en la época seca se presentaron mas casos, siendo los *Streptococcus* y *Staphylococcus* los que mas se aislaron (ver Cuadro No. 3).

La recurrencia de estos casos se puede dar por una mala higiene personal y por un mal manejo en la limpieza de la maquina de ordeño por parte de los operarios sin importar la época del año.

### **3. Raza:**

No se encontró un efecto estadístico significativo ( $P > 0.40$ ) de la raza, no se pudo determinar susceptibilidad racial (ver Cuadro No. 4).

La frecuencia de mastitis se observó que fue igual para todas las razas.

### **4. Número de partos:**

Se encontró un efecto estadístico significativo ( $P < 0.002$ ) del número de partos y la presentación de mastitis, al igual que la edad las vacas de entre tercer y sexto parto son más susceptibles (ver Cuadro No. 5).

Esto se debe a que a mayor número de partos hay mayores lesiones a nivel de pezón debido al frecuente efecto mecánico que se produce al ordeño, produciendo lesiones a medida que se incrementa el número de partos.

### **5. Días en lactación:**

No se encontró un efecto estadístico significativo ( $P > 0.40$ ) de los días en lactación. Las vacas presentan susceptibilidad en cualquier etapa de lactación (ver Cuadro No. 6).

La mastitis puede presentarse en cualquier etapa dependiendo del grado de exposición que se presente como ser instalaciones donde permanecen mas tiempo las vacas con mala higiene, maquina de ordeño mal lavada, personal con poca higiene y mala limpieza de pezones.

## **6. Nivel de producción:**

No se encontró un efecto estadístico significativo ( $P > 0.16$ ) del nivel de producción de leche, pero pudo observarse que las vacas de producción media presentaron el mayor número de casos (ver Cuadro No. 7).

## VI. CONCLUSIONES

- *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.* y *E. coli* ocupan el 1ero, 2do y 3er lugar de frecuencia, respectivamente, entre los patógenos causantes de mastitis clínica diagnosticadas en fincas en el Valle de Jamastrán, El Paraíso, Honduras.
- La edad de la vaca presenta un efecto estadístico significativo ( $P < 0.05$ ), ya que a mayor edad es más susceptible a padecer de mastitis.
- La época del año, la raza, los días en lactación y el nivel de producción no presentan un efecto estadístico significativo ( $P < 0.29$ ,  $P < 0.40$ ,  $P < 0.40$ ,  $P < 0.16$ , respectivamente).
- El número de partos si presenta un efecto estadístico significativo ( $P < 0.002$ ), ya que a mayor número de partos hay mayor número de ordeños y a mayor número de ordeños se produce el daño por el efecto mecánico de la máquina de ordeño.

## VII. RECOMENDACIONES

1. Para reducir los casos de mastitis clínica de tipo contagiosa se deben implementar programas sanitarios que ayuden a mejorar la higiene de la ubre.
2. Se debe tomar en cuenta un programa de reemplazos para renovar el hato y así evitar tener vacas de mayor edad que son más susceptibles a la mastitis.
3. Siempre utilizar productos de secado para prevenir futuras infecciones.
4. Concientizar a los trabajadores de la importancia de la higiene y uso de guantes durante el ordeño, así como las buenas prácticas de manejo.
5. Establecer un programa de vigilancia y control de la mastitis y velar por que se implemente el uso del California Mastitis Test (CMT) como prueba individual.
6. Controlar higiene y nivel de vacío de la máquina de ordeño y reemplazar pezoneras de acuerdo a la recomendación del fabricante.

## VIII. RESUMEN

El presente trabajo fue realizado en 3 fincas de ganado lechero especializado ubicadas en el Valle de Jamastrán, El Paraíso, Honduras, muestreando vacas con mastitis clínica en diferentes épocas del año, diferentes edades, razas, número de partos, nivel de producción y días en lactación.

Las bacterias que se aislaron principalmente fueron en su orden *Staphylococcus* sp. (44.44%) y *Streptococcus* sp. (48.89%), en menor cantidad *E. coli* (6.67%).

Se encontró un efecto estadístico significativo con relación a las variables edad de la vaca ( $P < 0.05$ ) y número de partos ( $P < 0.002$ ), debido a que las vacas con mayor edad y mayor cantidad de número de partos tienen lesiones a nivel del esfínter del pezón por la cantidad de ordeños.

No se encontró un efecto estadístico significativo con relación a las variables época del año ( $P < 0.29$ ), raza ( $P < 0.40$ ), días en lactación ( $P < 0.40$ ) y nivel de producción ( $P < 0.16$ ).

## IX. BIBLIOGRAFIA

1. Aceituno, F .1995a. Ordeña mecánica y calidad láctea I. *In*: Lanuza, F. ed. Seminario Calidad de Leche Bovina. Osorno, CL. 23-24 Junio 1995. Colegio Médico Veterinario de Chile. Consejo Regional Osorno. p. 65–78.
2. Agüero, H. 1972. Mastitis bovina en la comuna de Los Lagos. *Rev. Soc. Méd. Vet. Chile.* 22:1–6.
3. Andrade C, Cely G. Detección de mastitis subclínica a nivel de campo. Trabajo de grado. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1986. 96p.
4. Avendaño, J.1984. Conductividad eléctrica de la leche como método de diagnóstico de mastitis subclínica. Tesis Ing. Agr. Valdivia, CL. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Agrarias. 65 p.
5. Bahar, J.1995. Different evaluations of Hy-Mastitis Test Paddles in sub-clinical and environmental mastitis control. *In*: Proceedings 3 IDF International Mastitis Seminar. Tel Aviv, IL. May 28-June 1,1995. Federation Internationale de Laiterie/International Dairy Federation (FIL/IDF). book I, session 2, p. 59–60. }
6. Barría, N; Jara, A.2000. Relaciones entre el recuento de células somáticas, producción y componentes lácteos en vacas lecheras de la X Región (Chile) utilizando un modelo del día de control. *Av. Prod. Anim.* 25(1-2):23-32.
7. Bezama, M .1991. Mastitis del bovino lechero. Estudio de prevalencia en la Región Metropolitana y descripción de factores asociados con la enfermedad. Memoria Méd. Vet. Santiago, CL. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 217 p.

8. Blood, DC; Radostits, OM; Arundel, JH; Gay, CC. 1992. Medicina Veterinaria: libro de texto de las enfermedades del ganado vacuno, ovino, porcino, caprino y equino. 7ª ed. México DF, MX. Interamericana McGraw-Hill. v. 2, p. 539-602.
9. Blowey R, Edmonton P. Control de la mastitis en granjas de vacunos de leche. Guía práctica e ilustrada. Zaragoza: Acribia; 1999.
10. Bodoh, GW; Battista, WJ; Schultz, LH. 1976. Variation in somatic cell counts in dairy herd improvement milk samples. J. Dairy Sci. 59:1119–1123.
11. Booth, JM. 1995. Progress in the control of mastitis. *In*: Proceedings 3<sup>rd</sup> IDF International Mastitis Seminar. Tel Aviv, IL. May 28–June 1, 1995. Federation Internationale de Laiterie/International Dairy Federation (FIL/IDF). book II, session 4, p. 3–10.
12. Bray, DR; Shearer, JK. 1993. Milking management II – Mastitis. (en línea). Florida, US. University of Florida, Florida Cooperative Extension Service. Consultado 12 Junio 2000. Disponible en [http://edis.ifas.ufl.edu/scripts/htmlgen.exe?Document\\_ds111](http://edis.ifas.ufl.edu/scripts/htmlgen.exe?Document_ds111)
13. Britt, JS. 1977. Mastitis problem herds. J. Am. Vet. Med. Assoc. 170:1239–1241.
14. Brookbanks, EO. 1971. Bovine mastitis in relation to intensive farming. Aust. Vet. J. 47:226–232.
15. Caballero, E. 1969. Diagnóstico de mastitis mediante el "California Mastitis Test". Tesis Méd. Vet. Valdivia, CL. U. Austral de Chile, Fac. Medicina Veterinaria. 27 p.
16. Cullor J. The control, treatment, and prevention of the various types of bovine mastitis. Vet Med 1993; 571-579.
17. Donoso, M. 1997. Mastitis clínica: determinación de la flora microbiana patógena en vacas de lechería de la Región Metropolitana. Memoria Méd. Vet. Santiago, CL. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 67 p.

18. Elvinger, F; Natzke, RP. 1992. Elements of mastitis control. *In*: Van Horn, H.H; Wilcox, C.J. eds. Large dairy herd management. Champaign, IL, US. American Dairy Science Association. p. 440–447.
19. Emanuelson, U. 1987. Comparison of some screening tests for detecting mastitis. *J. Dairy Sci.* 70:880–887.
20. Erskine, RJ. 1987. Herd management and prevalence of mastitis in dairy herds with high and low somatic cell counts. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 190:1411–1416.
21. Espiñeira, E. 1966. Pruebas de diagnóstico precoz de mastitis y su relación con recuento leucocitario y examen bacteriológico. Tesis Lic. Med. Vet. Santiago, CL. U. Chile, Fac. Cs. Pecuarias y Medicina Veterinaria. 17 p.
22. Gilson W. Interpreting and using mastitis screening test. The University of Georgia College of agricultural and environmental sciences. Cooperative Extension Service. Bulletin. 1995.
23. González, R. 1984. Diagnóstico de mastitis subclínica mediante la determinación de lactosa, cloruros y proteínas solubles en leche de vaca. Tesis Ing. Agr. Valdivia, CL. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Agrarias. 77 p.
24. Green, M. 2000a. Situación actual de la mastitis en UK. *In*: Mastitis Bovina. Curso Internacional. Valdivia, CL. 23–25 Noviembre 2000. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias. s.p.
25. Hardy, G. 1987. Efecto de factores ambientales y fisiológicos sobre la frecuencia de mastitis en vacas de lechería. Tesis Lic. Med. Vet. Santiago, CL. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 221 p.

26. Harmon, R.J. 1996. Controlando la mastitis causada por patógenos contagiosos. *In*: Reunión Regional 1996 Consejo Nacional de Mastitis. Querétaro, MX. 26 Julio 1996. National Mastitis Council (NMC). p. 11–19.
27. Hoare, R.J; Roberts, E.A. 1972. Investigations in mastitis problem herds. Effect of herd size, shed type, hygiene and management practices. *Aust. Vet. J.* 48:661–663.
28. Johnson, A. 1998. Maintenance of biosecurity for contagious pathogens and culling of chronically infected cows. *In*: Pharmacia & Upjohn Animal Health. Global mastitis management. Foundations of mastitis prevention, treatment and control, version 3.2.1. 1 disco compacto.
29. Kruze, J. 1988a. Mastitis: efectos en producción y calidad de leche. *In*: 1er. Seminario de Producción Animal (Bovinos de Carne y Leche). Temuco, CL. 22-23 Noviembre 1988. s.p.
30. León, B. 1994. Ensayos de campo con espiramicina (Suanovil) en el tratamiento de mastitis clínica en vacas lactantes. II. Evaluación bacteriológica. Tesis Méd. Vet. Valdivia, CL. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias. 40 p.
31. Leslie, K; Godkin, M; Schukken, Y; Sargeant, J. 1996. Milk quality and mastitis control in Canada: progress and outlook. *In*: 35<sup>th</sup> Annual Meeting NMC. Nashville, Tennessee. February 18-21, 1996. National Mastitis Council (NMC). p. 19–30.
32. Magariños, H. 1984a. Efecto del almacenamiento de leche cruda sobre el recuento de células somáticas empleando métodos de viscosímetro y recuento microscópico directo. I. Ensayo bajo condiciones controladas de laboratorio. *Arch. Med. Vet.* 16(1):35–40.
33. Mc Donald, J.S. 1984. Streptococcal and staphylococcal mastitis. *Vet. Clin. North Am.* 6:269–285.
34. Miller G. Economic effects of mastitis prevention strategies for dairy producers. *J Am Vet Med Associ.* 2004; 198:227-231.

35. Molina, G. 1988. Empleo de Lauril Sulfato de Sodio en el diagnóstico de mastitis subclínica del bovino. Relación con recuento de células somáticas en leche. Tesis Méd. Vet. Santiago, CL. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 59 p.
36. Moraga, L. 1987. Empleo del Lauril Sulfato de Sodio para el diagnóstico de mastitis subclínica. *In: XII Reunión Anual Sociedad Chilena de Producción Animal.* Santiago, CL. 18-19 Noviembre 1987. p. 46.
37. Myllis, V. 1995. Clinical heifer mastitis. *In: Proceedings 3<sup>rd</sup> IDF International Mastitis Seminar.* Tel Aviv, IL. May 28–June 1, 1995. Federation Internationale de Laiterie/International Dairy Federation (FIL/IDF). book II, session 6, p. 18–22.
38. Nickerson, SC. 1992. Host resistance mechanisms to mastitis *In: Van Horn, H.H; Wilcox, C.J. eds. Large dairy herd management.* Champaign, IL, US. American Dairy Science Association. p. 464–474.
39. NMC (National Mastitis Council, US). 1996. Current concepts of bovine mastitis. 4 ed. Madison, WI. National Mastitis Council. 64 p.
40. Pedraza, C. 1988. Métodos electrónicos de diagnóstico, posible aplicación en Chile. *In: IV Curso Mastitis del Bovino y su Impacto Económico.* Santiago, CL. 24–26 Octubre 1988. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. p. 114–124.
41. Pérez, M. 1996. Milk quality and mastitis control in Mexico. *In: 35th Annual Meeting NMC.* Nashville, Tennessee. February 18-21, 1996. National Mastitis Council (NMC). p. 31–32.
42. Philpot, WN. 1978. Manejo de la mastitis. Illinois, US. Babson Bros. 72p.
43. Rebhum WC. Disease of dairy cattle. Lea and Febiger. 1-308, 1995.
44. Rigo-Righi, C. 1981. Estudio de prevalencia de mastitis subclínica bovina en predios lecheros de un sector de la comuna de Chillán. Tesis Méd. Vet. Chillán, CL. U. de Concepción, Escuela de Medicina Veterinaria. 44 p.

45. Sandholm M. The bovine udder and mastitis. Faculty of Veterinary Medicine. University of Helsinki. Helsinki. 1995.
46. Schalm, OW. 1971. Bovine mastitis. Philadelphia, US. Lea and Febiger. 360 p.
47. Schukken, Y .1998. Establishment of goals for udder health status. *In*: Pharmacia & Upjohn Animal Health. Global mastitis management. Foundations of mastitis prevention, treatment and control, version 3.2.1. 1 disco compacto.
48. Shearer, JK. 1992. Monitoring milk quality and udder health. *In*: Van Horn, H.H; Wilcox, C.J. eds. Large dairy herd management. Champaign, IL, US. American Dairy Science Association. p. 475–488.
49. Shpigel, NY. 1995. Clinical, bacteriological and epidemiological aspects of clinical mastitis in israeli dairy cows. *In*: Proceedings 3<sup>rd</sup> IDF International Mastitis Seminar. Tel Aviv, IL. May 28–June 1, 1995. Federation Internationale de Laiterie/International Dairy Federation (FIL/IDF). book II, session 6, p. 23–27.
50. Smith, KL; Hogan, JS. 1995. Epidemiology of mastitis. *In*: Proceedings 3<sup>rd</sup> IDF International Mastitis Seminar. Tel Aviv, IL. May 28–June 1, 1995. Federation Internationale de Laiterie/International Dairy Federation (FIL/IDF). book II, session 6, p.
51. Tapia, P. 1979. Condiciones de obtención de leche y su relación con mastitis en lecherías de la provincia de Bio-Bío. Tesis Méd. Vet. Santiago, CL. U. Chile, Fac. Cs. Pecuarias y Medicina Veterinaria. 98 p.
52. Timms, LL; Schultz, LH. 1987. Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections. *J. Dairy Sci.* 70:2648–2657.
53. Vecht, U. 1995. Identification of mastitis pathogens. *In*: Proceedings 3<sup>rd</sup> IDF International Mastitis Seminar. Tel Aviv, IL. May 28–June 1, 1995. Federation

Internationale de Laiterie/International Dairy Federation (FIL/IDF).book I, session 2, p. 3-17.

54.Vestweber JG. *Staphylococcus aureus* mastitis part I: virulence defense mechanism and establishment of infection. Compendium 1993; 11:1561-1569.

55.Zurita, L; Palavicino, I; Cripe, W; Timm, P; Styles, L. 1972. Contribución al estudio de la mastitis del bovino, formas de presentación y etiología más frecuente. Arch. Med. Vet. 4:51–57.

## **X. ANEXOS**

**CUADRO No. 1**

Resultados de las bacterias aislada al diagnóstico de mastitis clínica según la edad, raza, número de parto, época del año, días de lactación y nivel de producción.

	<b>Diagnóstico de Mastitis Clínica</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza*</b>	<b>Número de Parto</b>	<b>Epoca del año</b>	<b>Días de Lactación</b>	<b>Nivel de Producción</b>	<b>Bacteria Aislada</b>
1	Positivo	63 meses	PS 6 J 2	3 partos	Seco	191 días	Media	Staphylococcus sp.
2	Positivo	66 meses	PS 6 BR 2	3 partos	Seco	215 días	Media	Streptococcus sp.
3	Positivo	29 meses	PS 4 J 4	1 parto	Seco	20 días	Bajo	E. coli
4	Positivo	38 meses	J 6 H 2	2 partos	Seco	177 días	Medio	Staphylococcus sp.
5	Positivo	73 meses	J 8	5 partos	Seco	262 días	Bajo	Staphylococcus sp.
6	Positivo	60 meses	H 4 BR 2 PS 2	4 partos	Seco	36 días	Medio	Staphylococcus sp.
7	Positivo	90 meses	H 6 BR 2	6 partos	Seco	280 días	Medio	Streptococcus sp.
8	Positivo	59 meses	PS 6 BR 2	4 partos	Seco	341 días	Medio	Staphylococcus sp.
9	Positivo	63 meses	H 8	4 partos	Seco	61 días	Alto	Streptococcus sp.
10	Positivo	86 meses	PS 8	6 partos	Seco	341 días	Medio	E. coli
11	Positivo	82 meses	H 4 J 4	6 partos	Seco	42 días	Medio	Streptococcus sp.
12	Positivo	50 meses	H 4 J 4	3 partos	Seco	121 días	Alto	Staphylococcus sp.
	<b>Diagnóstico de Mastitis</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza*</b>	<b>Número De parto</b>	<b>Epoca del año</b>	<b>Días de Lactación</b>	<b>Nivel de Producción</b>	<b>Bacteria Aislada</b>



	<b>Diagnóstico de Mastitis Clínica</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza*</b>	<b>Número de Parto</b>	<b>Epoca del año</b>	<b>Días de Lactación</b>	<b>Nivel de Producción</b>	<b>Bacteria Aislada</b>
27	Positivo	62 meses	J 4 H 2 BR 2	4 partos	Seco	241 días	Medio	Streptococcus sp.
28	Positivo	73 meses	J 8	6 partos	Seco	203 días	Medio	Staphylococcus sp.
29	Positivo	69 meses	PS 8	3 partos	Seco	100 días	Medio	Staphylococcus sp.
30	Positivo	109 meses	H 8	6 partos	Seco	61 días	Medio	Streptococcus sp.
31	Positivo	73 meses	PS 6 J 2	4 partos	Seco	75 días	Alto	Streptococcus sp.
32	Positivo	68 meses	PS 4 H 4	3 partos	Seco	33 días	Bajo	Staphylococcus sp.
33	Positivo	90 meses	PS 8	5 partos	Lluvioso	310 días	Medio	Streptococcus sp.
34	Positivo	64 meses	PS 4 H 4	4 partos	Lluvioso	146 días	Bajo	Staphylococcus sp.
35	Positivo	55 meses	J 8	3 partos	Lluvioso	294 días	Medio	Streptococcus sp.
36	Positivo	71 meses	H 8	4 partos	Lluvioso	128 días	Medio	Streptococcus sp.
37	Positivo	86 meses	J 4 H 4	5 partos	Lluvioso	32 días	Medio	Streptococcus sp.
38	Positivo	87 meses	PS 6 J 1 BR 1	6 partos	Lluvioso	47 días	Medio	Streptococcus sp.
39	Positivo	66 meses	J 4 H 4	4 partos	Lluvioso	111 días	Medio	Staphylococcus sp.

	<b>Diagnóstico de Mastitis Clínica</b>	<b>Edad</b>	<b>Raza*</b>	<b>Número de Parto</b>	<b>Epoca del año</b>	<b>Días de Lactación</b>	<b>Nivel de Producción</b>	<b>Bacteria Aislada</b>
40	Positivo	77 meses	PS 6 BR 2	4 partos	Lluvioso	69 días	Medio	Streptococcus sp.
41	Positivo	63 meses	PS 8	4 partos	Lluvioso	69 días	Medio	Streptococcus sp.
42	Positivo	139 meses	H 8	10 partos	Lluvioso	21 días	Bajo	E. coli
43	Positivo	27 meses	PS 4 J 4	1 parto	Lluvioso	44 días	Medio	Streptococcus sp.
44	Positivo	57 meses	PS 7 BR 1	3 partos	Lluvioso	78 días	Alto	Staphylococcus sp.
45	Positivo	24 meses	J 6 PS 2	1 parto	Lluvioso	89 días	Medio	Staphylococcus sp.

\* PS: Pardo Suizo

H: Holstein

J: Jersey

BR: Brahman

**CUADRO No. 2**

**Número de casos con mastitis clínica relacionando la edad de la vaca con las distintas bacterias encontradas, en lecherías especializadas en el Valle de Jamastrán, El Paraíso, Honduras**

<b>Edad de la vaca</b>	<b>E. coli</b>	<b>Staphylococcus sp.</b>	<b>Streptococcus sp.</b>	<b>Total</b>
<b>20 a 60 meses</b>	1	9	2	12
<b>61 a 100</b>	1	13	17	31
<b>101 en adelante</b>	1	0	1	2
<b>Total</b>	3	22	20	45

**CUADRO No. 3**

**Número de casos con mastitis clínica relacionando la época del año con las distintas bacterias encontradas, en lecherías especializadas en el Valle de Jamastrán, El Paraíso, Honduras**

<b>Epoca del año</b>	<b>E. coli</b>	<b>Staphylococcus sp.</b>	<b>Streptococcus sp.</b>	<b>Total</b>
<b>Seco</b>	2	18	12	32
<b>Lluvioso</b>	1	4	8	13
<b>Total</b>	3	22	20	45

**CUADRO No. 4**

**Número de casos con mastitis clínica relacionando la raza de la vaca con las distintas bacterias encontradas, en lecherías especializadas en el Valle de Jamastrán, El Paraíso, Honduras**

<b>Raza</b>	<b>E. coli</b>	<b>Staphylococcus sp.</b>	<b>Streptococcus sp.</b>	<b>Total</b>
<b>PS</b>	1	1	2	4
<b>J</b>	0	2	2	4
<b>H</b>	1	0	3	4
<b>PS/J</b>	1	3	3	7
<b>PS/BR</b>	0	2	2	4
<b>PS/H</b>	0	4	0	4
<b>H/BR</b>	0	0	2	2
<b>H/J</b>	0	9	4	13
<b>PS/J/BR</b>	0	0	1	1
<b>H/BR/PS</b>	0	1	0	1
<b>J/H/BR</b>	0	0	1	1
<b>Total</b>	<b>3</b>	<b>22</b>	<b>20</b>	<b>45</b>

## CUADRO No. 5

Número de casos con mastitis clínica relacionando el número de partos de la vaca con las distintas bacterias encontradas, en lecherías especializadas en el Valle de Jamastrán, El Paraíso, Honduras

Número de partos	E. coli	Staphylococcus sp.	Streptococcus sp.	Total
1 parto	1	1	1	3
2 partos	0	3	0	3
3 partos	0	7	2	9
4 partos	0	7	6	13
5 partos	0	3	4	7
6 partos	1	1	7	9
10 partos	1	0	0	1
<b>Total</b>	<b>3</b>	<b>22</b>	<b>20</b>	<b>45</b>

## CUADRO No. 6

Número de casos con mastitis clínica relacionando los días en lactación de la vaca con las distintas bacterias encontradas, en lecherías especializadas en el Valle de Jamastrán, El Paraíso, Honduras

Días en lactación	E. coli	Staphylococcus sp.	Streptococcus sp.	Total
Lactación Inicial	2	13	13	28
Lactación Media	0	4	0	4
Lactación Final	1	5	7	13
<b>Total</b>	<b>3</b>	<b>22</b>	<b>20</b>	<b>45</b>

**CUADRO No. 7**

**Número de casos con mastitis clínica relacionando el nivel de producción de la vaca con las distintas bacterias encontradas, en lecherías especializadas en el Valle de Jamastrán, El Paraíso, Honduras**

<b>Nivel de producción</b>	<b>E. coli</b>	<b>Staphylococcus sp.</b>	<b>Streptococcus sp.</b>	<b>Total</b>
<b>Bajo</b>	2	4	1	7
<b>Medio</b>	1	15	14	30
<b>Alto</b>	0	3	5	8
<b>Total</b>	<b>3</b>	<b>22</b>	<b>20</b>	<b>45</b>

<b>Registro Mensual de los Resultados del Diagnóstico de Mastitis Subclínica</b>											
Nombre de la Finca:								Fecha control:			
Productor:											
Dirección:											
Sistema de Ordeña:											
ID VACA	RESPUESTA CMT		NUMERO DE LACTACION			FECHA PARTO	DIAS EN LECHE	ETAPA DE LACTACION			OBSERVACIONES
	ai	ad	1	2	3+			1	2	3	
	pi	pd									
	ai	ad									
	pi	pd									
	ai	ad									
	pi	pd									
	ai	ad									
	pi	pd									
	ai	ad									
	pi	pd									
	ai	ad									
	pi	pd									
N= Negativo		3= Grado 3		MC= Mastitis Clínica			ETAP. LACT.: 1 = < 100 días de lactancia				
T= Traza		2= Grado 2					2 = 100 - 200 días de lactancia				
1= Grado 1		S= Seco					3 = > 200 días de lactancia				

