

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

Determinación de mastitis subclínica en vacas lecheras por medio del
recuento de células somáticas en el tanque.

POR:

VERONICA ELIZABETH MANGANDI ALVAREZ

REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE:

LICENCIADA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.

SAN SALVADOR, NOVIEMBRE 2008

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

ING. AGR. y M.SC. RUFINO ANTONIO QUEZADA SÁNCHEZ

SECRETARIO GENERAL

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHÁVEZ

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS

DECANO

DR. e ING. AGR. REYNALDO ADALBERTO LOPEZ LANDAVERDE

SECRETARIO

ING. AGR. M.SC. LUIS FERNANDO CASTANEDA ROMERO

JEFE DE DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

ING.AGR. LUDWING VLADIMIR LEYTON BARRIENTOS

F. _____

DOCENTES DIRECTORES:

ING., M.SC. JUAN FRANCISCO ALVARADO PANAMEÑO.

F. _____

M.V., M.SC., JUAN CARLOS ANDRADE PINEDA.

F. _____

RESUMEN

El presente estudio se basó en comprobar que mediante el recuento de células somáticas en el tanque de almacenamiento de leche, se puede estimar el porcentaje de cuartos afectados por mastitis subclínica en ganado bovino; para lo cual se contó con una población de 150 vacas en ordeño, correspondiente a dos fincas, ubicadas en los departamentos de La Libertad y Sonsonate.

Dicha investigación contribuyó a estandarizar la técnica de recuento de células somáticas en el tanque de almacenamiento de leche (RCS-T), logrando a la vez establecer una relación del Recuento de Células Somáticas Individual (RCS-I) y la Prueba de California para Mastitis (CMT) en la detección de porcentajes de cuartos con mastitis subclínica de vacas en producción a nivel individual y de una muestra representativa de la población en estudio, llegando así a establecer una comparación económica y de aplicación práctica entre las pruebas antes mencionadas, para el monitoreo de mastitis subclínica a nivel del hato.

Se demostró que existe una relación directa entre el Recuento de Células Somáticas Individual (RCS-I) y CMT, la cual validó la interpretación del Recuento de Células Somáticas en el Tanque (RCS-T) y que permitirá estimar el porcentaje de cuartos afectados con mastitis subclínica dentro de los hatos lecheros en producción.

AGRADECIMIENTOS

Quiero dedicar este primer paso en mi vida profesional a Dios por darme la Virtud y la fortaleza necesaria para salir siempre adelante pese a las dificultades, por colocarme en el mejor camino, iluminando cada paso de mi vida. Al esfuerzo y sacrificio de mis padres, por su apoyo incondicional. Y a mis dos hermanas.

Gracias por ser siempre un apoyo en mi vida.

INDICE GENERAL

| CONTENIDO | PAGINA |
|---|--------|
| RESUMEN..... | iv |
| AGRADECIMIENTOS..... | v |
| INDICE DE CUADROS..... | ix |
| INDICE DE FIGURAS..... | x |
| INDICE DE ANEXOS..... | xii |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 2. REVISIÓN BIBLIOGRAFÍA..... | 2 |
| 2.1 Mastitis y su impacto en la producción..... | 2 |
| 2.2 Tipos de mastitis..... | 4 |
| 2.2.1 Mastitis subclínica..... | 4 |
| 2.2.2 Mastitis clínica..... | 4 |
| 2.2.2.1 Sobre aguda..... | 4 |
| 2.2.2.2 Aguda..... | 4 |
| 2.2.2.3 Sub aguda..... | 5 |
| 2.2.2.4 Mastitis gangrenosa..... | 5 |
| 2.2.2.5 Mastitis crónica..... | 5 |
| 2.3 Factores predisponentes..... | 5 |
| 2.3.1 Genéticos..... | 5 |
| 2.3.2 Factores climáticos..... | 6 |
| 2.3.3 Condiciones en la estabulación..... | 6 |
| 2.3.4 Factores nutricionales..... | 7 |
| 2.3.5 Higiene..... | 7 |
| 2.3.6 Maquina de ordeño..... | 7 |
| 2.4 Agentes etiológicos..... | 8 |
| 2.4.1 Agentes bacterianos..... | 8 |
| 2.5 Patogenia..... | 8 |
| 2.5.1 Fase de invasión..... | 9 |

| | | |
|---------|---|----|
| 2.5.2 | Fase de infección | 10 |
| 2.5.3 | Fase de inflamación | 10 |
| 2.6 | Efecto en la calidad de la leche | 10 |
| 2.7 | Pruebas diagnósticas | 11 |
| 2.7.1 | Pruebas físicas..... | 11 |
| 2.7.1.1 | Prueba de la escudilla de ordeño..... | 11 |
| 2.7.1.2 | Prueba del paño negro..... | 11 |
| 2.7.1.3 | Taza probadora | 11 |
| 2.7.2 | Pruebas químicas..... | 12 |
| 2.7.2.1 | Conductividad eléctrica de la leche..... | 12 |
| 2.7.2.2 | Papel indicador de mastitis..... | 12 |
| 2.7.2.3 | Prueba de Whiteside..... | 12 |
| 2.7.2.4 | Prueba de California para mastitis (CMT)..... | 12 |
| 2.7.2.5 | Prueba de Wisconsin para mastitis (WMT)..... | 14 |
| 2.7.3 | Otras pruebas..... | 14 |
| 2.7.3.1 | Recuento de células somáticas..... | 14 |
| 2.7.3.2 | Pruebas bacteriológicas..... | 16 |
| 3. | METODOLOGIA..... | 17 |
| 3.1 | Metodología de campo..... | 17 |
| 3.1.1 | Localización y descripción geográfica..... | 17 |
| 3.1.2 | Muestra de leche del tanque..... | 17 |
| 3.1.3 | Muestra de leche para RCS-I..... | 17 |
| 3.1.4 | Muestra de leche para CMT..... | 18 |
| 3.2 | Metodología de laboratorio..... | 18 |
| 3.2.1 | Recepción de laboratorio..... | 18 |
| 3.2.2 | Recuento de células somáticas en tanque (RCS-T)..... | 18 |
| 3.2.3 | Prueba de CMT..... | 19 |
| 3.2.4 | Recuento de células somáticas individual (RCS-I)..... | 20 |
| 3.3 | METODOLOGÍA ESTADÍSTICA..... | 20 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.3.1 | Parámetros en estudio. | 20 |
| 4 | RESULTADOS Y DISCUSION..... | 21 |
| 4.2 | Porcentaje de cuartos afectados con mastitis subclínica mediante El Recuento de Células Somáticas Individual. Regimiento de Caballería y Finca San Luís..... | 24 |
| 4.2.1 | Comparación objetiva de resultados del RCS-I y el CMT | 25 |
| 4.3 | Porcentaje de cuartos afectados con mastitis subclínica mediante el Recuento de Células Somáticas del tanque. Regimiento de Caballería y Finca San Luis | 27 |
| 4.3.1 | Regimiento de Caballería día uno..... | 27 |
| 4.3.2 | Día dos..... | 27 |
| 4.3.3 | Día tres..... | 27 |
| 4.3.4 | Finca San Luis día uno..... | 29 |
| 4.3.5 | Día dos | 29 |
| 4.3.6 | Día tres | 29 |
| 5 | COSTO DE TECNICAS DIAGNOSTICAS..... | 33 |
| 6 | CONCLUSIONES..... | 34 |
| 7 | RECOMENDACIONES..... | 35 |
| 8 | REFERENCIA BIBLIOGRAFICA..... | 36 |
| | ANEXOS..... | 41 |

INDICE DE CUADROS

| CONTENIDO | | PAGINA |
|------------------|---|---------------|
| Cuadro 1 | Recuento de células somáticas del tanque (RCS-T) cel/ml., para los días 1, 2 y 3. Regimiento de Caballería..... | 28 |
| Cuadro 2 | Recuento de células somáticas del tanque (RCS-T) cel/ml., para los días 1, 2 y 3. Finca san Luís..... | 30 |

INDICE DE FIGURAS

| CONTENIDO | | PAGINA |
|------------------|--|---------------|
| FIGURA 1 | Total de cuartos afectados con mastitis subclínica (valores absolutos) en la prueba de CMT. Regimiento de Caballería..... | 21 |
| FIGURA 2 | Total de cuartos afectados con mastitis subclínica en la prueba de CMT. (Porcentajes). Regimiento de Caballería..... | 22 |
| FIGURA 3 | Porcentajes de cuartos afectados con mastitis subclínica en el CMT y RCS-T. Regimiento de Caballería..... | 22 |
| FIGURA 4 | Total de cuartos afectados con mastitis subclínica (valores absolutos) en la prueba de CMT. Finca San Luís..... | 23 |
| FIGURA 5 | Total de cuartos afectados con mastitis subclínica en la prueba de CMT. (Porcentajes). Finca San Luís..... | 23 |
| FIGURA 6 | Porcentaje de cuartos afectados y su merma según el CMT. Finca San Luís..... | 24 |
| FIGURA 7 | Cuadro comparativo entre CMT y RCS-I.(porcentajes). Regimiento de Caballería y Finca San Luis..... | 25 |
| FIGURA 8 | Frecuencia acumulada para la prueba de Recuento de células somáticas Individual (Valores absolutos)..... | 26 |
| FIGURA 9 | Frecuencia acumulada para la prueba de CMT. (Valores absolutos). Regimiento de Caballería y Finca San Luis | 26 |
| FIGURA 10 | Comparación entre la frecuencia acumulada del CMT y RCS-I. Regimiento de Caballería y Finca San Luís.(Valores absolutos)..... | 27 |
| FIGURA 11 | Recuento de células somáticas del tanque (RCS-T). Para los días 1,2 y 3. Regimiento de Caballería..... | 28 |
| FIGURA 12 | Porcentaje de cuartos afectados y su merma según Recuento de células somáticas del tanque (RCS-T). Regimiento de Caballería..... | 29 |
| FIGURA 13 | Recuento de células somáticas del tanque (RCS-T) para los días 1, 2 y 3. Finca San Luís..... | 30 |

| | | |
|-----------|--|----|
| FIGURA 14 | Porcentaje de cuartos afectados y su merma según Recuento de células somáticas del tanque (RCS-T). Finca San Luís..... | 31 |
| FIGURA 15 | Resultados comparativos entre las pruebas de CMT y RCS-I (Valores absolutos) en el Regimiento de Caballería y Finca San Luís..... | 31 |
| FIGURA 16 | Resultados comparativos entre las pruebas de CMT y RCS-I (Porcentajes). Para el Regimiento de Caballería y Finca San Luís..... | 32 |
| FIGURA 17 | Recuento de células somáticas del tanque (RCS-T). Regimiento de Caballería y Finca San Luís..... | 32 |
| FIGURA 18 | Porcentaje de cuartos afectados y su merma según recuento de células somáticas del tanque (RCS-T). Regimiento de Caballería y Finca San Luís..... | 33 |

INDICE DE ANEXOS

| CONTENIDO | | PAGINA |
|------------|--|--------|
| Anexo 1 | Recomendaciones oficiales sobre la rutina de ordeño..... | 42 |
| Cuadro A-1 | Relación entre el RCS-T, el porcentaje de cuartos afectados y el porcentaje de producción..... | 46 |
| Cuadro A-2 | Pérdidas económicas causadas por mastitis..... | 46 |
| Cuadro A-3 | Interpretación de la prueba de California para mastitis..... | 47 |
| Cuadro A-4 | Costos Directos del CMT y RCS-T..... | 47 |
| Cuadro A-5 | Ficha para la toma de muestra en el campo..... | 48 |
| Cuadro A-6 | Ficha para la recepción de muestra en el Laboratorio..... | 48 |
| Cuadro A-7 | Ficha para el procesamiento del Recuento de Células Somáticas en el tanque..... | 48 |
| Cuadro A-8 | Ficha para procesamiento del Recuento de Células Somáticas individual..... | 49 |
| Cuadro A-9 | Ficha para procesamiento de la prueba de California mastitis test..... | 49 |

1. INTRODUCCION.

En El Salvador existen tres sistemas de producción bovina, el familiar que ocupa alrededor del 30% del hato nacional; el doble propósito, que ocupa alrededor del 47% y el sistema especializado que ocupa solamente un 23% del hato. Dada la importancia que la leche tiene en la alimentación humana, se exige que la calidad de esta se inicie desde su producción, cuyo objetivo se ve limitado en gran medida, por la presencia de mastitis en las explotaciones lecheras. La mastitis es la enfermedad que mayores pérdidas económicas causa a la ganadería lechera en El Salvador y en el mundo entero; este es un problema de gran importancia en las explotaciones, tanto por el aspecto económico como por las pérdidas de calidad y cantidad de leche producida, así como en el aspecto sanitario referido a su calidad, lo que implica pérdidas derivadas a la industria, que inhiben el valor agregado al producto y las pérdidas de mercados. (Ministerio Agricultura y Ganadería, 1992).

El sistema especializado en su mayoría está conformado por razas europeas orientadas a la producción de leche, volviéndose por naturaleza un factor predisponente a la mastitis subclínica, situación que en gran medida puede ser prevenida mediante un diagnóstico oportuno, eficiente, de bajo costo y que a partir de un monitoreo general se puedan estimar los niveles de cuartos afectados y las pérdidas directas de leche en el hato, así como el deterioro de su calidad (Philpot, 1984).

La investigación consistió en comprobar que el recuento de células somáticas en el tanque, puede ser utilizado como herramienta diagnóstica para estimar el porcentaje de cuartos afectados por mastitis subclínica en el ganado bovino.

Mediante la obtención de los resultados y el correspondiente análisis se pudo demostrar que existe una similitud entre el Recuento de Células Somáticas Individual (RCS-I) y CMT, utilizada como prueba de referencia para estimar el porcentaje de cuartos afectados con mastitis subclínica dentro de los hatos lecheros en estudio.

1. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA.

1.1 La mastitis y su impacto en la producción.

Mastitis (del griego *mastos* = glándula mamaria y del sufijo *itis* = inflamación). El término mastitis se refiere a la inflamación de la glándula mamaria sea cual sea su causa. Se caracteriza por alteraciones físicas, químicas y casi siempre bacteriológicas de la leche y por modificaciones patológicas del tejido glandular. Entre las anomalías más importantes de la leche cabe mencionar cambio de color y presencia de coágulos y de gran número de leucocitos. En el estado actual del conocimiento es sin duda lógico y práctico definir la mastitis como una enfermedad caracterizada por la presencia de una cantidad significativamente aumentada de leucocitos y va precedida por cambios de la leche como resultado directo de la lesión (Gieseck, 1975).

En los casos de mastitis clínica, se producen pérdidas por baja producción del animal enfermo y por la duración de la eliminación del medicamento; frecuentemente hay un perjuicio duradero en el rendimiento de la vaca; costos de medicamentos, servicios veterinarios y aumento en los costos de la mano de obra (Schlenstedt y Zschock, 1997).

En los casos de mastitis subclínica, se produce una considerable reducción en la producción diaria de leche. (Cuadro A-2); cambios importantes en la composición de la leche (cuajado del queso); se perjudica el valor higiénico de la leche; ya que los daños causados por esta son de 20 a 50 veces más frecuente que la mastitis clínica. (Bohm y Heeschen, 1995).

Además de los altos costos financieros para el ganadero, la mastitis tiene una gran importancia en el valor higiénico de la leche y de sus subproductos, debido a que algunos agentes causales de mastitis son patógenos en humanos, puede haber residuos de antibióticos o químicos en la leche por el tratamiento de la ubre. Para la industria de lácteos son muy significativas las transformaciones causadas a la leche por la mastitis, el tiempo de cuajado aumenta en el caso de producción de queso y la cantidad de queso disminuye considerablemente (Bohm y Heeschen, 1995).

Si bien la mastitis ocurre en forma esporádica en todas las especies, asume gran importancia económica solo en bovinos lecheros. En términos de pérdida económica, es sin duda la enfermedad más importante a la que se enfrenta la industria lechera, la cual se debe mucho menos a muertes, que a la reducción de la producción de leche en los cuartos afectados. (Cotrino, 2006).

La mayor parte de las estimaciones ponen de manifiesto que en promedio un cuarto glandular afectado experimenta un 30% de disminución en su productividad y que una vaca afectada pierde un 15% de su productividad (Hassman y Thieme, 1974). La infección experimental de los cuartos glandulares durante el período seco reduce en un 35% la producción de dichos cuartos durante el siguiente periodo de lactancia, en los cuartos glandulares infectados en fases tardías de la lactancia se registra un 48% de merma en la producción, pero si la infección fue producida en el periodo seco, el descenso de producción después del parto es de solo el 11% (Neave, 1969). A estas pérdidas cabe añadir 1 % de sólidos totales por cambios en la composición (disminuye la grasa, la caseína y la lacto proteínas, el PH y los cloruros), lo cual obstaculiza los procesos de elaboración y provoca pérdidas por aumento de animales retirados de la vacada y costos de tratamiento. (Revilla, 1976)

Se dice que las pérdidas económicas totales causadas por mastitis se debe a un 70% por el valor de la producción lechera perdida, un 14% del valor de las vacas perdidas por eliminación prematura, un 7% del valor de la leche desechada o que disminuye de calidad y un 8% por tratamiento y gastos veterinarios. (Runells, 1960)

Una comparación entre ganaderías con frecuencia bajas y altas en el Reino Unido ha mostrado una ventaja en las ganaderías de frecuencia baja de 29 libras esterlinas por vaca al año, lo que constituye una ganancia del 22% respecto a las ganaderías de alta frecuencia. Una cifra estadounidense sugiere que la mastitis cuesta de 90 a 250 dólares por vaca al año en ese país (Quadri, 1959).

En términos generales *Staphylococcus aureus*, *E. coli* y *coliformes* menores son los que causan la muerte. *Corynebacterium pyogenes* causan pérdida completa del cuarto; los *estafilococos* y los *estreptococos*, mastitis clínica aguda, sobre todo los últimos, pero su principal participación consiste en provocar mastitis subclínica que ocasiona una reducción de la producción de la leche y una reducción de su calidad. De éstos *estreptococcus agalactiae* es el que causa la mayor pérdida de producción, por ejemplo, se ha observado que una disminución de la tasa de infección de los cuartos glandulares de 28 a 7% conlleva un aumento de la producción anual promedio de una vaca de 477 Kg. mientras que *Staphylococcus aureus* causa una mayor tasa de infección, tiene mayor resistencia al tratamiento y presenta mayor duración de las infecciones, lo cual, en algún momento fue una barrera infranqueable para el desarrollo de los programas de control de la mastitis (Hale, 1961).

2.2 Tipos de mastitis

En base a la sintomatología de la entidad patológica, desde el punto de vista clínico la mastitis puede agruparse en dos grandes rubros que son: La forma subclínica y La mastitis clínica.

2.2.1 Mastitis subclínica.

Es aquel proceso inflamatorio que no produce los signos típicos de inflamación, calor, dolor, tumor, rubor, ni cambios macroscópicos de la secreción láctea. Este tipo de inflamación es la más frecuente y la que produce mayor daño económico, como se verá más adelante.

Para detectar este tipo de mastitis es necesario emplear métodos especiales de diagnóstico, puede alcanzarse por medio de Cultivos bacteriológicos, la Prueba California para Mastitis (CMT), Prueba Wisconsin para Mastitis (WMT) y el Recuento de Células Somáticas en Tanque (RCS-T). (Ávila y Blanco, 1991; Aliaga, 1978; Carrión, 2001; Cotrino, 2006).

2.2.2 Mastitis clínica.

Esta enfermedad es considerada como una de las más complejas que afectan a la industria láctea y puede presentarse en varias formas. (Cotrino, 2006).

2.2.2.1 Sobre-aguda.

Este tipo de mastitis produce una intensa reacción sistémica que se traduce en fiebre, decaimiento, anorexia, supresión de la secreción láctea y de los movimientos ruminales. La glándula manifiesta una intensa reacción inflamatoria caracterizada por aumento de volumen, enrojecimiento de la piel, y gran sensibilidad. Un ejemplo característico es la mastitis denominada saco azul (blue bag) producida por *Staphylococcus aureus* (Carrión, 2001).

2.2.2.2 Aguda.

Se caracteriza por una gran inflamación de la glándula, a veces semejante al caso anterior, pero generalmente no hay reacción sistémica o es muy leve (Carrión, 2001).

2.2.2.3 Sub-aguda.

La mastitis sub-aguda fundamentalmente produce cambios macroscópicos en la secreción láctea en forma de coágulos, grumos, etc. pero no existe reacción inflamatoria detectable a la exploración clínica local ni general. (Ávila y Gasque, 1993).

2.2.2.4 Mastitis gangrenosa.

En la mastitis gangrenosa, los cuartos de las vacas pueden mostrarse fríos al tacto, con coloraciones azuladas las cuales avanzan hacia la parte superior del pezón a medida progresa la enfermedad, pudiendo terminar en una necrosis de la parte afectada (Mateus, 1983; Cotrino, 2006).

2.2.2.5 Mastitis crónica.

El signo principal en este tipo de mastitis es la induración de la glándula producida por la proliferación de tejido fibroso que ha ido reemplazando al tejido noble de la glándula. En este tipo de mastitis la secreción láctea generalmente es acuosa con coloración amarillenta o café. Este tipo de mastitis puede adoptar la modalidad de subclínica que en forma macroscópica aparece normal. (Aliaga, 1978).

2.3 Factores predisponentes.

2.3.1 Genéticos.

Es un hecho que algunas vacas presentan una mayor susceptibilidad a la mastitis que otras. Los factores estructurales del canal del pezón son importantes en la regulación de la entrada de microorganismos. Algunos autores afirman que si el tono de las estructuras anatómicas de la apertura del pezón es reducido, lo que es un carácter heredable, la resistencia a la entrada de los microorganismos será menor y seleccionando genéticamente vacas con diámetro pequeño del canal del pezón, la frecuencia de mastitis disminuirá (Dodd y Neave, 1951; McDonald, 1977). Sin embargo, el tono del pezón determina la velocidad de ordeño de la vaca. Mientras más fuerte sea el tono, menor es la velocidad de ordeño. Esto no concuerda con los esquemas actuales de manejo en la explotación, pues se busca agilizar el ordeño e incrementar la producción láctea.

El canal del pezón está recubierto por una capa de epitelio escamoso estratificado, que está cubierto a su vez por queratina y por una capa de material seroso compuesta por desechos epiteliales y leche que forman un tapón. Por lo tanto, es posible que haya en el tapón una sustancia inhibitoria del crecimiento de microorganismos, también contribuye el hecho de que al quedar abierto el conducto del pezón, la penetración de microorganismos al interior de la glándula se facilite. El elemento de inhibición antes señalado actúa contra *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*. Otros factores inhibidores de crecimiento bacteriano aumentan en la inflamación; uno de ellos es la lactoferrina, proteína que compite con los microorganismos que requieren hierro. También se encuentran factores inmunológicos como linfocitos T y B,

inmunoglobulinas, leucocitos neutrófilos y polimorfonucleares, elementos efectivos en algunas infecciones por coliformes (McDonald, 1977).

2.3.2 Factores climáticos.

Algunos estudios han demostrado que la mastitis aumenta en los meses de invierno, principalmente por el frío y la humedad, factores estresantes que pueden predisponer a nuevas infecciones. Igualmente las condiciones higiénicas se ven afectadas principalmente por la acumulación de barro en patios de estabulación (Blood y Radostits, 1992).

2.3.3 Condiciones en la estabulación.

Hay varios factores relacionados con la estabulación y particularmente con las condiciones de la cama del animal. Entre los más importantes están los traumatismos en la región mamaria, las lesiones de los pezones, que frecuentemente son colonizadas por estafilococos y/o estreptococos y se transforman en importantes reservorios de estos patógenos. Generalmente cuando existen estas lesiones, se produce un aumento en la incidencia de mastitis y particularmente de la forma clínica de la enfermedad. Se han realizado varios estudios relacionados con las condiciones de la cama del animal y su incidencia en la enfermedad. Así, por ejemplo, se ha demostrado una relación directa entre la concentración de coliformes presentes en la cama y nuevas infecciones de la glándula, se han encontrado niveles de coliformes de 104 y 105 por gramo de cama y ésta constituida, principalmente, por arena, paja y viruta (Philpot, 1984).

2.3.4 Factores nutricionales.

En relación al tipo de alimentación y predisposición a mastitis, también existen numerosos estudios al respecto. Así, por ejemplo, ciertos concentrados en base de semilla de algodón producirían un efecto estresor fisiológico. Al provocarse una mayor producción láctea, sumada a la presencia de mastitis subclínica o infecciones latentes, predispondría a desencadenar una mastitis clínica. Igualmente se ha demostrado que ciertos ensilajes en base a leguminosas o que contienen estrógenos en su composición, predispondría a desencadenar el proceso inflamatorio de la glándula mamaria. La alta incidencia de mastitis, durante el primer mes post parto, período en que existe una alta concentración de estrógenos, ha hecho pensar en el rol de que éstos tendrían en el proceso inflamatorio. Entre las plantas que contienen una mayor actividad estrogénica se describen el trébol subterráneo, trébol rosado, pasto azul, trigo, cebada, etc. (Watson, 1984).

2.3.5 Higiene.

Es uno de los factores más importantes que influyen entre las causas predisponentes a la mastitis. La falta de higiene de los ordeñadores, manos y ropa sucia, utilización de agua de mala calidad, no potable, en el sistema de lavado de los implementos y equipo de ordeño, falta de lavado y desinfección de la glándula en el preordeño, la no desinfección del pezón post-ordeño, la presencia de moscas y animales en la sala de ordeño, son algunas de las deficiencias más importantes en este rubro (Ortiz y Micheo, 1975).

2.3.6 Máquina de ordeño.

El buen funcionamiento y mantención de los equipos de ordeño es requisito esencial para mantener la ubre en buen estado de salud. En primer lugar, la pezonera puede transformarse en un vehículo de primer orden en la transmisión de gérmenes de vaca en vaca, debido fundamentalmente a la falta de un buen lavado y desinfección del equipo. En segundo lugar la máquina puede ser responsable de producir daño en los pezones, ya sea en forma de erosiones, hemorragias superficiales, hematomas, etc. que son terreno apto para la proliferación microbiana. Las fluctuaciones de vacío juegan un papel fundamental. Un número inadecuado de pulsaciones de los equipos igualmente puede causar grave daño a la glándula. La máquina de ordeño puede ayudar a la penetración de gérmenes por el conducto del pezón por efecto mecánico durante el ordeño, como igualmente por la succión de la capa de queratina del conductor del pezón por un sobre ordeño prolongado. (Blowey y Edmonson, 1995).

Entre las principales deficiencias comprobadas están los niveles de vacío, diámetro deficiente de las cañerías de conducción de leche; sobre ordeño y alto tiempo de reflujó, este último tiene mucha importancia en la transmisión de agentes patógenos entre cuartos de una misma glándula (Philpot, 1984).

2.4 Agentes etiológicos.

2.4.1 Agentes bacterianos.

Se han incrementado muchos agentes infecciosos como productores de mastitis y cada uno de ellos se estudia como entidad específica. Las causas más frecuentes en bovinos son *Streptococcus agalactiae* y *Stafilococcus aureus*; *Escherichia coli* se está convirtiendo en una causa significativa en bovinos albergados o confinados, sobre todo en el hemisferio norte. Entre los organismos menos frecuentes tenemos, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes* y,

Corynebacterium pyogenes, especies de *Klebsiella*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides funduliformis*. Las infecciones mitóticas incluyen especies de *Trichosporon*, *Aspergillus fumigatus*, *A. nidulans* y especies de *Pichia*, además de infecciones por levaduras, como especies de *Candida*, *Cryptococcus neoformans*, especies de *saccharomyces* y especies de *Torulopsis*. La *leptospirosis*, en las que se incluye *Leptospira icterohaemorrhagiae* variedad *Pomona* y en especial *Leptospira hardjo*. (Abel y Pinochet, 1954)

2.5 Patogenia.

Los mecanismos por los cuales los patógenos de la mastitis producen las lesiones de la enfermedad se tratan bajo los encabezados de las mastitis individuales. Salvo en la tuberculosis, en la cual el método de diseminación puede ser hematófago, la infección de la glándula mamaria ocurre siempre siguiendo la vía del conducto glandular y a primera vista el desarrollo de inflamación después de la infección se antoja un fenómeno natural. Sin embargo, la aparición de mastitis es más compleja de lo que este concepto parece indicar y quizás resulte más satisfactorio explicarla en términos de tres etapas: *invasión*, *infección* e *inflamación*. (Carrión, 2001).

La invasión es la etapa en que los microorganismos pasan del exterior de la ubre a la leche que se encuentra en el conducto glandular. **La infección** es la etapa en que los gérmenes se multiplican rápidamente e invaden el tejido mamario. Después de la invasión puede establecerse una población bacteriana en el conducto glandular y utilizando esta residencia como base, ocurriendo una serie de multiplicaciones y diseminaciones en el tejido mamario, dependiendo la infección del mismo de la susceptibilidad del animal, esta a su vez produce **inflamación**, etapa en la cual aparece la mastitis clínica y en que aumenta notablemente la cuenta de leucocitos en la leche ordeñada. En el contexto de la descripción general anterior sobre el desarrollo de la mastitis, se hallan implicados los siguientes factores en la aparición de la enfermedad, tanto en cada uno de los ejemplares como en la vacada en general. (Blood y Radostits, 1992).

2.5.1 Fase de invasión.

La frecuencia de infecciones en el cuarto glandular y el grado de contaminación de la piel de los pezones se utilizan como índice de este factor, frecuencia con que los pezones de la vaca, especialmente los ápices, se hallan contaminados con estas bacterias, lo cual depende en gran medida de la eficacia de la higiene del ordeño, grado de la lesión de los esfínteres de los pezones, que facilitan la entrada de las bacterias al conducto glandular. (Arroyo y Hernandez, 1987)

Contribuyen en forma importante al desarrollo de este factor el diseño de la maquina de ordeño, la adaptación, la conservación y el uso apropiado de la misma, el cuidado de los pezones y el posible fluido de leche hacia la ubre desde la copa de ordeño durante la aspiración, tono del esfínter de los pezones, especialmente en el periodo directamente posterior al ordeño, cuando dicho esfínter se encuentra más relajado. La debilidad del esfínter facilita la invasión, permitiendo la aspiración y crecimiento de bacterias en la tetilla, presencia de sustancias antibacterianas en el conducto glandular. (Baez, 2002).

2.5.2 Fase de infección.

El tipo de bacteria, determina la capacidad de multiplicarse en la leche y adherirse al epitelio mamario, la virulencia de especies bacterias individuales al parecer se debe, por lo menos en parte, a esta capacidad de adherencia y la susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos normalmente empelados. Esto puede depender de la resistencia natural o adquirida resultante de la utilización inadecuada de los antibióticos y la presencia de anticuerpos en la leche; las cuales pueden ser naturales o encontrarse como consecuencia de la infección previa o de la vacunación. (Frost, 1977).

2.5.3 Fase de inflamación.

Depende de la patogenisidad, susceptibilidad de los tejidos mamaros a las bacterias y de la capacidad invasora de las mismas; por ejemplo, los *estreptococos* causan pocos cambios patológicos en las células secretoras, en tanto que los *stafilococos* causan cambios degenerativos microscópicos. La susceptibilidad de los tejidos mamaros puede variar desde gran resistencia por la presencia de un anticuerpo tisular fijo, hasta hipersensibilidad como resultado de infección previa (Charles, 1984).

De las tres fases, la de prevención de la invasión brinda las mejores perspectivas para disminuir la frecuencia de mastitis por tratamiento adecuado, sobre todo mediante el uso de métodos higiénicos convencionales. Dada las dificultades encontradas para el control de la enfermedad, vale la pena examinar cualquier factor capaz de disminuir la gravedad de la respuesta a la infección. La inmunidad a la infección, prometedor como medida de control, ha atraído mucho la atención, pero a pesar de la conocida resistencia natural a la infección mamaria, en una pequeña proporción

de bovinos se sabe poco respecto al mecanismo que la persiste. La producción artificial de inmunidad no posee actualmente valor práctico. (Coles, 1968)

2.6 Efecto en la calidad de la leche.

La mastitis produce un cambio significativo en la composición de la leche. El tipo de proteína en esta leche mastítica cambia dramáticamente. El nivel de la caseína, la proteína de mayor calidad nutricional para humanos, disminuye a cambio del incremento en el nivel de otras proteínas (suero, albúmina, lactoferrina, inmunoglobulinas) que afectan negativamente la calidad de productos lácteos. La albúmina de suero, inmunoglobulina, transferrina, y otras proteínas del suero sanguíneo son secretadas en la leche debido a que la permeabilidad vascular en el tejido mamario cambia. La lactoferrina, la mayor proteína de ligamiento de hierro en secreciones mamarias, incrementa su concentración muy probablemente porque su producción en el tejido mamario es mayor. La destrucción de ciertas proteínas comúnmente encontradas en la leche también ocurre en vacas infectadas con mastitis clínica o subclínica debido a la presencia de sustancias que las degradan. (Harmon, 1994))

2.7 Pruebas Diagnósticas

2.7.1 Pruebas físicas.

Estas sólo son útiles cuando la mastitis ya está avanzada y no detectan mastitis subclínica. (Pérez y Bedolla, 2005).

2.7.1.1 Prueba de la escudilla de ordeño.

Para leches anormales, se recoge la leche sobre un tejido negro extendido encima de la escudilla, los grumos se hacen así muy visibles. (Pérez y Bedolla, 2005).

2.7.1.2 Prueba del paño negro.

Esta se realiza durante la preparación de la vaca para el ordeño. Consiste en la detección de grumos en la leche haciendo pasar los primeros chorros a través de una malla negra o bien utilizando una cubetilla especialmente diseñada para eso. Es recomendable realizar este procedimiento en todos los ordeños ya que además de detectar leche anormal, se eliminan bacterias que normalmente se encuentran en mayor cantidad en estos primeros chorros y además se estimula la “bajada” de la leche. (Pérez y Vázquez, 1987).

2.7.1.3 Taza probadora

Se examinan los primeros chorros de leche de cada ordeño sobre un recipiente (strip cup) de fondo oscuro. Los coágulos, escamas, hilos, materia fibrosa, secreciones acuosas o color anormal indican que la leche no es normal y que hay problemas probables. En la mastitis crónica la leche no tiene apariencia visible anormal en todos los ordeños. (Pérez y Bedolla, 2005)

2.7.2 Pruebas químicas.

2.7.2.1 Conductividad eléctrica de la leche.

La Prueba de Conductividad Eléctrica (PCE) se ha utilizado como un indicador de la mastitis durante la última década, se basa en el aumento de conductividad eléctrica de la leche debido a su mayor contenido electrolítico especialmente iones de sodio y de cloro y se ha desarrollado como un método para monitorear el estado de la mastitis en la vaca. Se le encuentra como parte de algunos equipos de ordeño computarizados dentro de las salas de ordeño así como también en forma de medidores portátiles, lo que permite el monitoreo individual por cuarto. (Norberg y Hogeveen, 2004).

2.7.2.2 Papel indicador de mastitis.

Este método, consiste en un papel sobre el que se hace caer directamente del pezón algunas gotas de leche, se consideran sospechosas las leches que dan una coloración correspondiente a un pH igual o superior a 7. La prueba descubre el 50% de las leches infectadas (Charles, 1984).

2.7.2.3 Prueba de Whiteside.

La mezcla de leche con una solución de NaOH al 4% ocasiona que la leche se gelifique formando grumos que son visibles. Los grumos serán más grandes conforme la leche contenga mayor número de células somáticas. Para hacer más visible la reacción es conveniente usar una placa de acrílico negra que puede tener dibujada 4 cuadros de 3cm x 3cm, uno por cada cuarto (Ávila, 1984).

2.7.2.4 Prueba de California para mastitis (CMT.)

La prueba de California para mastitis (CMT, por sus siglas en inglés) ha sido empleada durante décadas y sigue siendo la prueba más utilizada a nivel de campo para el diagnóstico de mastitis en el ganado bovino lechero (Bedolla, 2004^a; Radostits y Gay, 2002).

Es una prueba sencilla que es útil para detectar la mastitis subclínica por valorar groseramente el recuento de células de la leche. No proporciona un resultado numérico, sino más bien una

indicación de si el recuento es elevado o bajo, por lo que todo resultado por encima de una reacción vestigial se considera sospechoso (Belladolla, 2004^a; Blower y Edmonson, 1995).

Los resultados pueden ser interpretados en cinco clases: desde el resultado negativo en el que la leche y el reactivo siguen siendo acuosos, hasta el recuento de células más elevado en el que la mezcla de la leche y el reactivo casi se solidifica. Esto se determina en relación a la reacción de gelificación (Cuadro A-3). (Bedolla, 2004^a)

La prueba consiste en el agregado de un detergente a la leche, el alquilauril sulfonato de sodio, causando la liberación del ADN de los leucocitos presentes en la ubre y este se convierte en combinación con agentes proteicos de la leche en una gelatina. A mayor presencia de células se libera una mayor concentración de ADN, por lo tanto mayor será la formación de la gelatina, traducándose en nuestra lectura e interpretación del resultado como el grado más elevado de inflamación. Es decir, permite determinar la respuesta inflamatoria con base en la viscosidad del gel que se forma al mezclar el reactivo (púrpura de bromocresol) con la misma cantidad de leche en una paleta con cuatro pozos independientes permitiendo evaluar cada cuarto independientemente. Desafortunadamente esta prueba es muy subjetiva y tiene que hacerse al lado de la vaca durante el ordeño, lo que interfiere con el manejo del ordeño. (Pérez, 1986).

La prueba de California para mastitis es un método de diagnóstico que posee una sensibilidad del 97% y una especificidad del 93%. Sus ventajas principales son que es una técnica muy sensible y se puede utilizar tanto en una muestra de cuartos, como una muestra del tanque enfriador. En una muestra de tanque, los resultados de grado 2 y 3, indican un alto porcentaje de vacas infectadas; el material extraño no interfiere con la prueba (pelo u otro material); la prueba es simple y no requiere de equipo costoso; la paleta es fácil de limpiar después de cada uso. A pesar de sus ventajas, la técnica presenta inconvenientes como los siguientes. Los resultados pueden ser interpretados de forma variable, entre los individuos que realicen la prueba, por lo que resulta necesario uniformizar el criterio de casos positivos y su categorización en grados, pueden presentarse falsos positivos en leche de animales con menos de diez días de paridos o en vacas próximas a secarse; la mastitis clínica aguda da resultados negativos, debido a la destrucción de los leucocitos por las toxinas provenientes de los microorganismos presentes (Medina y Montalvo, 2003; Smith, 1990).

2.7.2.5 Prueba de Wisconsin para mastitis (WMT)

La Prueba de Wisconsin para Mastitis (WMT), fue diseñada para el uso en el laboratorio y es utilizada para estimar el contenido de células somáticas de muestras de leche fresca mezclada o leche de tanques de enfriamiento, así como para muestreo de vacas individuales. Se utiliza una solución similar a la que se emplea con la prueba de California (CMT), pero en contraste con esta última, los resultados se miden cuantitativamente dependiendo de la viscosidad, no cualitativamente o de estimarla a ojo de buen cubero como en la CMT (Ferraro, 1999).

2.7.3 Otras pruebas.

2.7.3.1 Recuento de células somáticas.

Con el nombre de células somáticas se designa a las células del propio organismo. Por tanto, las células somáticas son células corporales. Éstas pasan a la leche procedente de la sangre y del tejido glandular. El contenido de células somáticas en la leche nos permite conocer el estado funcional y de salud de la glándula mamaria en periodo lactante; debido a su estrecha relación con la composición de la leche, es un criterio de calidad muy importante (Bedolla, 2004b; Zarkower y Scheuchenberger, 1978).

La leche de una ubre sana presenta pocas células somáticas. En este caso se trata de células de tejido (células epiteliales) y células del sistema inmunes (neutrófilos polimorfonucleares, granulocitos, macrófagos, linfocitos). El porcentaje de los diferentes tipos de células somáticas en la leche de las glándulas mamarias sanas es el siguiente: macrófagos 60%; linfocitos 25%; y neutrófilos o leucocitos polimorfonucleares 15%. (Bedolla, 2004b; Philpot y Nickerson, 1992).

De todas las células de la leche de un cuarto infectado, aproximadamente el 99 % serán leucocitos, mientras que el resto 1% serán células secretoras que se originan de los tejidos de la ubre. Juntos esos dos tipos de células constituyen el recuento de células somáticas (RCS) de la leche que comúnmente es expresada por mililitros (cel/ml). El recuento de células somáticas (RCS) es la medición más ampliamente utilizada para supervisar el estado inflamatorio de las glándulas mamarias y puede ser realizada en la leche de cuartos individuales, vacas individuales, el hato completo y de un grupo de hatos. La infección intramamaria es el principal factor causante de cambios en el RCS en la leche. Cuando los microorganismos causantes de mastitis invaden un cuarto de la ubre y empiezan a multiplicarse o cuando el número de estos aumenta significativamente en un cuarto infectado, el organismo de la vaca tiende a reclutar leucocitos para combatir a dichos microorganismos causantes de la mastitis. (Philpot y Nickerson, 1992)

Las glándulas mamarias que nunca se han infectado, normalmente tienen RCS de 20,000 a 50,000 cel/ml. En grandes poblaciones de vacas, 80% de los animales no infectados tendrán un RCS menor de 200,000 cel/ml y 50% menor de 100,000 cel/ml. Una razón de las cuentas ligeramente elevadas en animales no infectados es que algunos cuartos tuvieron una infección previa de la cual no se han recuperado totalmente. Según datos obtenidos de numerosos estudios, señalan que la mayoría de las vacas con un RCS menor de 200,000 cel/ml probablemente no están infectadas y que la mayoría de esas vacas con cuentas mayores de 300,000 cel/ml probablemente están infectadas. Mientras que aquellas con un RCS entre 200,000 y 300,000 cel/ml son difíciles de interpretar (Fernández, 1997; Pérez y Bedolla, 2005).

En base a lo anterior, cabe señalar que el registro ordenado de los resultados de las pruebas de monitoreo mensual de vacas individuales (Recuento de células somáticas individual, RCS-I), proporciona información muy útil para el manejo del hato. Aunque estas pruebas de monitoreo no diagnostican la causa o tipo de infección o si hay una lesión presente, sí alertan al ganadero y al veterinario de que un problema se está desarrollando, por lo que se debe poner mucha atención al respecto. (Bedolla, 2004a; Fernández, 1997; Pérez, 1986).

La forma más fácil y confiable para diagnosticar y monitorear el estado de sanidad de la glándula mamaria en un hato, es el Recuento de Células Somáticas (RCS) de la leche del tanque o de una mezcla representativa de la producción diaria de la finca. El Recuento de Células Somáticas es hoy, un indicador de calidad de la leche cruda que acepta o rechaza el producto para unos países cuando la cifra es superior a 450.000 Células/ml y para otros hasta de 750.000 cél/ml. Independientemente de estos valores la industria espera y bonifica las leches con menos de 250.000 cél/mL porque obtiene mejores rendimientos industriales, mejor sabor de los productos y mayor duración en el mostrador. (Sears P.L. Wilson D.J. 2003)

2.7.3.2 Pruebas bacteriológicas.

Los cultivos en el laboratorio son necesarios para identificar los organismos específicos que se encuentran comprendidos en un caso clínico de mastitis y para distinguir los animales sanos de aquellos que presentan un caso subclínico (Pérez y Bedolla, 2005).

El objetivo del análisis microbiológico es hacer el aislamiento y caracterización de los microorganismos causantes de la mastitis del hato que permita su agrupación en causantes de

Mastitis contagiosa *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis*, *Mycoplasma*. Mastitis originada en la piel de los pezones: *Staphylococcus* no aureus *S. hyicus*, *S. chromogenes* y otros, *Streptococcus* no agalactiae *S. dysgalactiae*, *S. bovis*, *S. uberis*, entre otros. Mastitis ambiental. *Escherichia coli*, *Enterobacter spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Citrobacter freundii*. Mastitis iatrogénica. Asociada al uso inadecuado de cánulas intramamarias con la etiología de Mohos ó Levaduras de los géneros: *Candida*, *Cryptococcus* y *Trichosporum*. El aspecto cremoso de la secreción láctea, el largo periodo de evolución de la enfermedad, la no respuesta clínica a antibióticos y el uso repetido de los mismos por vía intramamaria son factores que se deben tener en cuenta para sospechar de estos microorganismos. Todas las bacterias causantes de mastitis se multiplican bien en Agar Sangre convirtiéndose en el medio básico para el proceso de aislamiento del agente etiológico. Con el fin de aumentar las posibilidades de éxito del aislamiento y aprovechando las propiedades de la leche como medio de cultivo, las muestras pueden ser preincubadas a 37° C durante 6 a 8 horas y posteriormente sembrar en Agar Sangre. Cuando se toma esta alternativa se debe estar seguro que la muestra ha sido tomada en condiciones asépticas, de lo contrario microorganismos contaminantes van a enmascarar el diagnóstico. (Martínez y Gonzalo, 2003).

2. METODOLOGÍA:

3.1 Metodología de campo.

3.1.1 Localización y descripción geográfica.

El muestreo de leche se realizó en las siguientes fincas ganaderas, en época lluviosa del 05 al 15 de Junio del 2008:

Regimiento de Caballería; ubicado en el kilómetro 30, carretera a Santa Ana, Sitio del Niño, en el Departamento de La Libertad. A 453 mts sobre el nivel del mar, con una temperatura promedio de 29 °C. La ubicación geográfica es de 13° 47' 59.19" al Norte y 89° 21' 59.73" al Oeste. Esta cuenta con una explotación de tipo semi-intensivo, con 70 animales en ordeño, parcialmente

estabulados, poseen corrales con sombras y sala de ordeño manual, en la que se suplementa a los animales con concentrados, la leche es recolectada en recipientes sin refrigeración.

Hacienda San Luis; ubicada en el kilómetro 96 de la carretera que de Sonsonate conduce al puerto de Acajutla, Departamento de Sonsonate. A 63 mts sobre el nivel del mar cuenta con una temperatura promedio de 31°C. La ubicación geográfica es de 13° 36' 55.62'' al Norte y 89° 47' 45.63'' al Oeste. La finca cuenta con una explotación de tipo semi-intensivo, con 80 animales en ordeño parcialmente estabulados donde reciben suplemento alimenticio, cuentan con sala de ordeño mecánica y tanques de enfriamiento.

3.1.2 Muestra de la leche del tanque.

El muestreo se realizó cada 24 horas por tres días consecutivos en ambas fincas. Posterior a ser homogeneizada durante 10 minutos, las muestras fueron recolectadas de la parte superior del tanque de leche, tomando un volumen de 30 ml y luego se depositaron en frascos estériles de vidrio. Estas muestras fueron identificadas con el nombre de la finca, número de animales de donde proviene, hora y fecha, luego fueron transportadas en hieleras a temperaturas de refrigeración (5 -7 °C) y llevadas al laboratorio (Cuadro A-5).

3.1.3 Muestra de leche para RCS- I.

Del total de animales en estudio (150) se tomo al azar una muestra poblacional del 11% equivalente a 17 animales. Dicha muestra era de 10 ml de leche por cuarto y fueron depositadas en frascos de polietileno, debidamente identificados con el nombre de la vaca, registro particular (RP), identificación del cuarto (A, B, C, D) siendo A, cuarto anterior derecho, B cuarto anterior izquierdo, C cuarto posterior derecho y D cuarto posterior izquierdo, hora y fecha. Estas muestras fueron utilizadas para realizar RCS-I, las cuales fueron transportadas al laboratorio utilizando hieleras a temperatura de refrigeración (5- 7 °C).

3.1.4 Muestra de leche para CMT.

Del total de animales en estudio (150) equivalente a 600 cuartos se recolectaron 10 ml de leche por cuarto y fueron depositadas en frascos de polietileno, debidamente identificados con el nombre de la vaca, registro particular (RP), identificación del cuarto (A, B, C, D) siendo A, cuarto anterior derecho, B cuarto anterior izquierdo, C cuarto posterior derecho y D cuarto posterior izquierdo, hora y fecha. Estas muestras fueron utilizadas para realizar CMT (100%) y RCS-I (11%), las

cuales fueron transportadas al laboratorio utilizando hieleras a temperatura de refrigeración (5-7 °C)

3.2 METODOLOGÍA DE LABORATORIO.

3.2.1 Recepción en el laboratorio.

Todas las muestras de leche recolectadas fueron detalladas en una bitácora de recepción, posteriormente pasaron al área de procesamiento donde se les asignó un código numérico, donde se llevó a cabo el RCS-T, RCS-I y el CMT.

Los resultados obtenidos fueron detallados en el libro de procesamiento. (A-6)

3.2.2 Recuento de células somáticas en tanque (RCS-T)

Este se llevo a cabo, mediante el Recuento Microscópico Directo (RMD), utilizando el siguiente protocolo:

El procesamiento de las muestras se inició con una buena homogenización y luego se extendieron 10µl de leche en un área de 1 cm² en una lámina portaobjetos (5 extendidos por lámina). Normalmente se puede fijar al aire, o se puede ayudar con un flameo sobre el mechero. Las muestras fijadas se desengrasaron lavándolas con Xilol y las láminas se colorearon con Azul de Metileno al 1% durante un minuto. Los frotis coloreados se observaron al microscopio utilizando objetivo 40X, procurando recorrer como mínimo 10 campos en diferentes puntos del frotis. El promedio del número de células por campo, se multiplica por el factor microscópico (FM) y el valor obtenido corresponderá al número de cel/ml. (Cotrino, 2006).

El cálculo del FM, se realizó mediante la determinación del diámetro del campo microscópico (d) en milímetros utilizando una lámina micrométrica. Mediante la siguiente fórmula matemática, $FM = 40,000 / 3.1416 \times d^2$, siendo d = mm.

En donde 40,000 es una constante derivada de una fórmula matemática, que relaciona el volumen de leche (10 microlitros, el área del extendido de un 1 cm² y la altura del extendido), la cual se aplico de la siguiente manera:

1. Diámetro del campo con el Objetivo 40X = 360 micras
2. $FM = 40,000 / 3.1416 \times (0.36\text{mm})^2$
 $FM = 40,000 / 3.1416 \times 0.1296$
 $FM = 40,000 / 0.4072$
 $FM = 98,231.83$

Dicho extendido fue observado con el objetivo 40X del microscopio. Se realizó la cuenta de 10 campos, se sacó el promedio de células somáticas contadas por campo (total de células contadas en 10 campos, divididos entre 10).

Luego con el valor obtenido se procedió a realizar el cálculo, promedio de células somáticas por campo multiplicado por el FM (98,231.83), resultando el número de células somáticas presentes en la muestra por ml. (Cuadro 6 y 7).

3.2.3 Prueba de CMT.

Esta se llevó a cabo en todas las vacas en producción de ambas fincas (150), de acuerdo al siguiente protocolo:

Se tomaron 5 ml de leche de cada cuarto y se depositó en cada uno de los pozos correspondiente de la raqueta (A, B, C y D), luego se agregó igual cantidad de solución de CMT a cada compartimiento.

Posteriormente se rotó la raqueta con movimientos circulares hasta mezclar totalmente el contenido, procurando no mezclar por más de 10 segundos, cuya lectura de la prueba debe hacerse rápidamente, ya que la reacción visible desaparece en unos 20 segundos. La reacción recibe una calificación visual, considerando que entre más gel se forme, mayor será la calificación. La raqueta fue lavada después de cada prueba.

Se realizó un registro de cada animal muestreado, incluyendo los resultados de la prueba. (Cuadro 6 y 9).

3.2.4 Recuento de células somática individual (RCS-I)

Con el objeto de validar la técnica del Recuento de Células Somáticas en la leche del tanque se realizó un muestreo aleatorios del 11 % de la población total, realizando el recuento de células somáticas de manera individual por cuarto, la muestra fue tomada de los mismos frascos de donde se corrió la prueba de CMT. Para lo cual se utilizó el mismo protocolo que para el caso de RCS-T. (Cuadro 6 y 8).

3.3 Metodología estadística.

En la presente investigación se realizó la estadística descriptiva, ya que se analizó el 100% de la población de vacas en producción y un 11% para realizar el RCS-I ya que según prevalencia del

25% de mastitis subclínica, con un 95% de confianza la muestra no debe ser menor al 7.33% equivalente a 11 animales).

Para poder establecer la concordancia entre CMT y RCS-I se calculó la frecuencia acumulada para ambas pruebas (11%).

3.3.1 Parámetros en estudio.

Los parámetros evaluados fueron para el Recuento de Células Somática (individual y del tanque) la cantidad de células por mililitro de leche (cel/ml). En la prueba de California para mastitis (CMT), se evaluó la viscosidad que presenta la leche frente al reactivo, tanto una interpretación cualitativa y semi cuantitativa. A la vez también se comparó económicamente entre ambas pruebas, para lo cual se consideró únicamente el costo del reactivo (no se tomó en cuenta la mano de obra).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1 Porcentaje de cuartos infectados con mastitis subclínica mediante la prueba de California para mastitis (CMT).

Regimiento de Caballería: de un total de 70 animales muestreados, equivalente a 280 cuartos, se realizó el CMT a 273 cuartos, de los cuales 119 cuartos resultaron negativos a mastitis subclínica; categoría que va de 0 a 200,000 células por ml. 63 cuartos dieron como resultado “trazas” que va de 150,000 a 500,000 células por ml. 66 cuartos resultaron ser “levemente positivo” que va de 400,000 - 1,500,000 células por ml., 23 cuartos caen dentro del rango “positivo” equivalente a 800,000 - 5,000,000 células por ml. 2 cuartos “altamente positivos”, rango que va de 5, 000,000 células por ml en adelante. En los 7 cuartos restantes no se realizó el CMT ya que de ellos 6 eran cuartos perdidos y 1 presentaba mastitis clínica. (Cuadro A- 3); (figura 1).

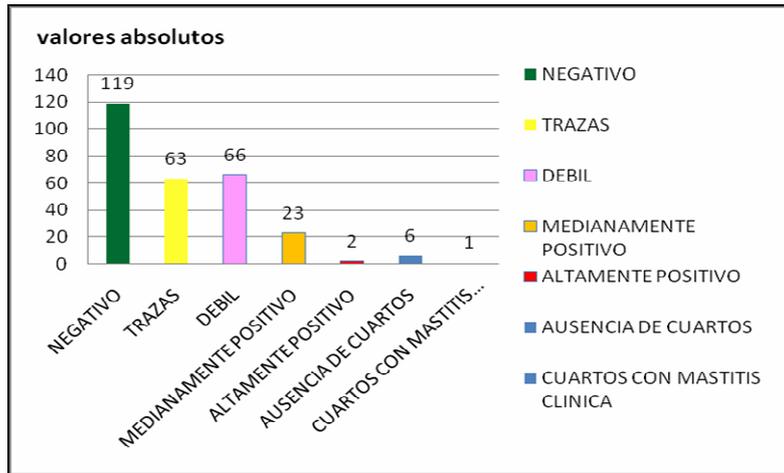


Figura 1. Total de cuartos afectados con mastitis subclínica (Valores Absolutos) en la prueba de CMT. Regimiento de Caballería.

Estos valores equivalen al 43.59% negativos, 23.08% trazas, 24.18 % débilmente positivos, 8.42% positivos, 0.73 % altamente positivos (Figura 2); lo que da un total de 33.33 % de animales con mastitis subclínica en sus diferentes niveles de afección, (Figura 3).

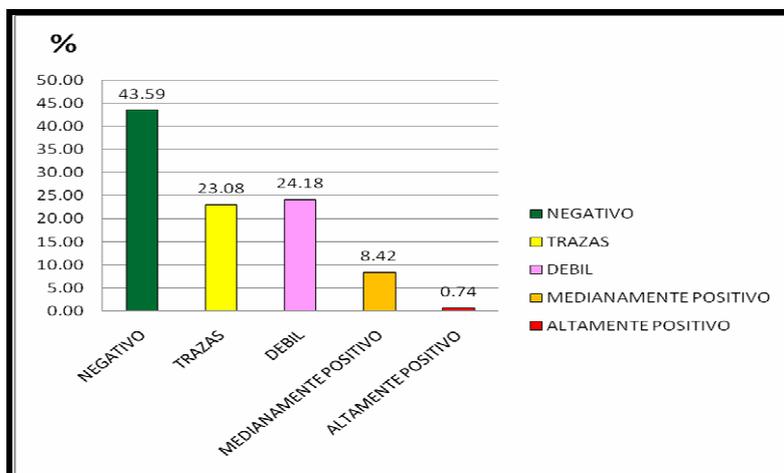


Figura 2. Total de cuartos afectados con mastitis subclínica en la prueba de CMT. (Porcentajes). Regimiento de Caballería.

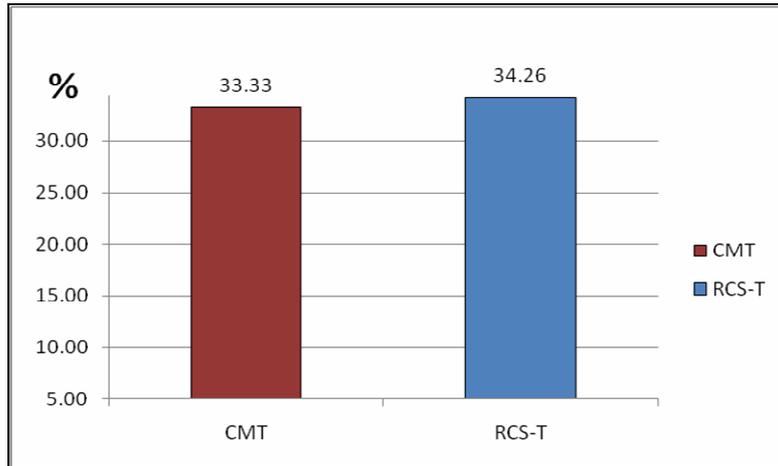


Figura 3. Porcentaje de cuartos afectados con mastitis subclínica en el CMT y RCS-T. Regimiento de Caballería.

Finca San Luís. de un total de 80 animales muestreados, equivalente a 320 cuartos, 311 fueron analizados a través del CMT, de los cuales 164 cuartos resultaron estar “Negativos” a mastitis subclínica; categoría que va de 0 a 200,000 células por ml. 54 cuartos dieron como resultado “trazas” que va de 150,000 a 500,000 células por ml. 54 cuartos resultaron ser “levemente positivo” que va de 400,000 - 1, 500,000 células por ml. 35 cuartos caen dentro del rango “positivo” equivalente a 800,000-5,000,000 células por ml. 4 cuartos “altamente positivos”, rango que va de 5, 000,000 células por ml en adelante. Los 9 cuartos restantes se habían perdidos por historial de mastitis severa. (Figura 4 y 5); (cuadro A-3).

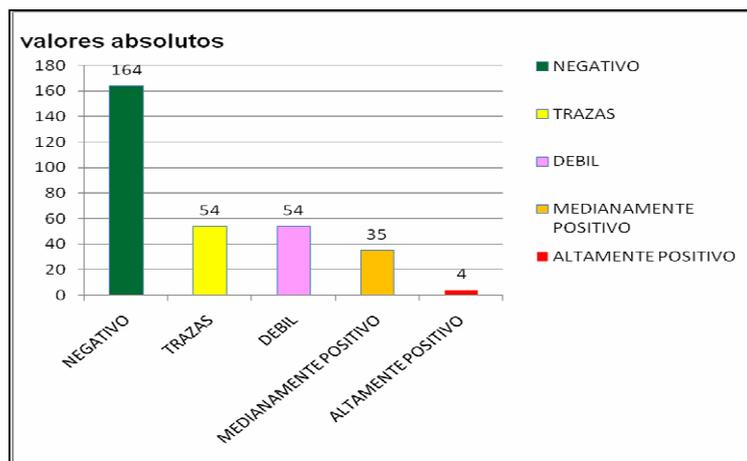


Figura 4. Total de cuartos afectados con mastitis subclínica en la prueba de CMT. (Valores absolutos). Finca San Luís.

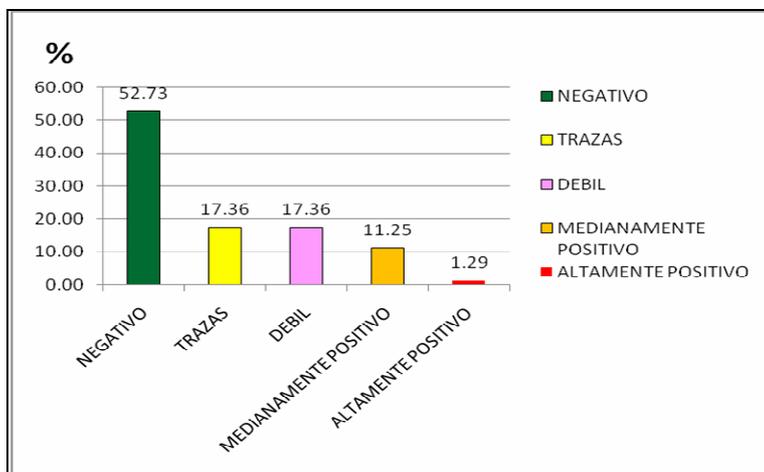


Figura 5. Total de Cuartos afectados con mastitis subclínica en la prueba de CMT. (Porcentajes). Finca San Luís.

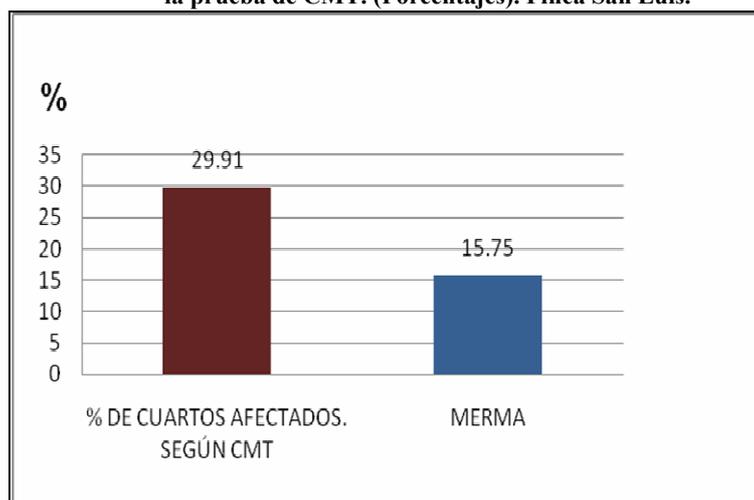


Figura 6. Porcentaje de Cuartos Afectados y su merma según el CMT. Finca San Luís

4.2 Porcentaje de cuartos afectados con mastitis subclínica mediante el Recuento de Células Somáticas Individual (RCS-I). Regimiento de Caballería y Finca San Luís.

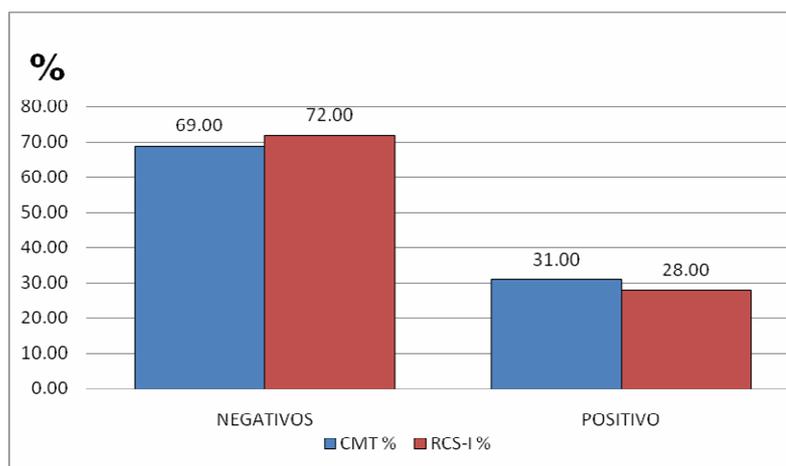
Con el objeto de respaldar la técnica del Recuento de Células Somáticas en el Tanque (RCS-T) se llevo a cabo el RCS-I, por cuarto, el cual fue correlacionado con los resultados de las pruebas realizadas de CMT. (Figura 7). De un total de total de 17 vacas correlacionados equivalente a 68 cuartos. El 69% dieron resultados negativos según el CMT y 72% según RCS-I y un 31% dieron positivo a Mastitis Subclínica en el CMT y un 28% dieron positivos en el RCS-I (Figura 7); esto

significa que ha habido una variación del 3% entre ambas pruebas; tal variación se podría adjudicada a que el CMT es una prueba cualitativa y semicuantitativa y el RCS-I es una prueba cuantitativa y cualitativa, lo que podría traer aparejado una desventaja en el CMT ya que las fronteras entre una categoría y otra pueden ser imprecisas pues dependen de la apreciación subjetiva del operador que la realiza.

Se pudo observar que el resultado del RCS- I (por cuarto) coincide con los resultados del CMT en un 97%, este dato se basa en que solamente dos pruebas equivalentes al 3% dieron resultados distintos entre sí. Este resultado asegura la confiabilidad de la técnica del recuento de Células Somáticas en el Tanque como señala Cotrino (2006), el cual obtuvo un 98% basado sobre todo en la repetibilidad de la misma.

El resultado del recuento de células somáticas individual, garantiza, por un lado, que la prueba de California para Mastitis (CMT), es un reflejo fiel del estado sanitario de los cuartos y que los resultados obtenidos en el Recuento de Células Somáticas en el Tanque (RCS-T) tiene un buen nivel de confiabilidad para tales fines (Cotrino 2006).

Esta información fue utilizada para compararla con las tablas que aplican otros países como EE.UU, Argentina y Colombia, en los que el Recuento de Células Somáticas en el Tanque (RCS-T) es de uso rutinario y se pudo comprobar que las mismas pueden ser usadas en el país para determinar el porcentaje de cuartos afectados con mastitis subclínica. (Cuadro A-1).



**Figura 7. Cuadro Comparativo entre CMT y RCS-I. (Porcentajes).
Regimiento de Caballería y Finca San Luis.**

4.2.1 Comparación objetiva de resultados del RCS-I y el CMT.

Con el objeto de comparar los resultados de RCS-I y CMT y de determinar la concordancia de ambos, a las series de frecuencias se les calculó la frecuencia acumulada para luego realizar sus respectivas figuras de líneas (figura 8 y 9).

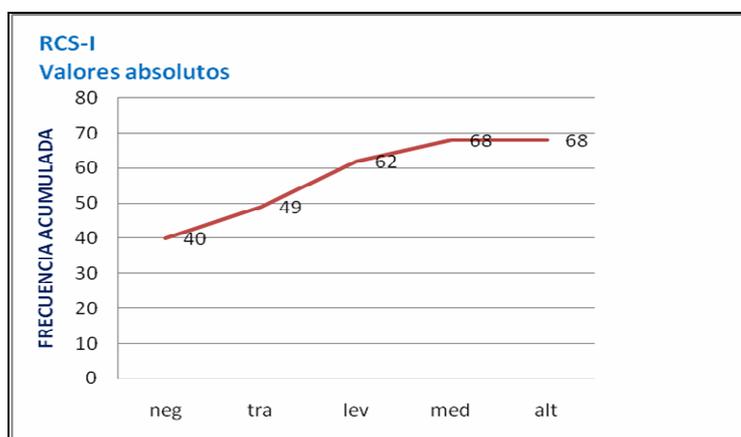


Figura 8. Frecuencia acumulada para la prueba del Recuento de Células Somáticas Individual. (valores absolutos)

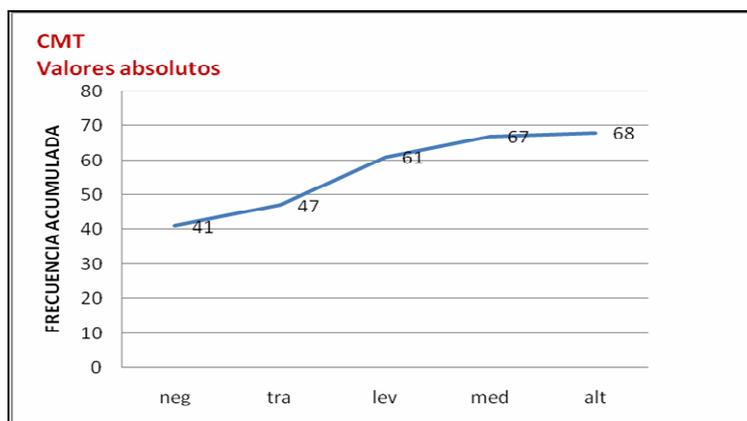


Figura 9. Frecuencia acumulada para la prueba del CMT. Regimiento de Caballería y Finca San Luís. (Valores absolutos).

Al comparar ambas gráficas de líneas se puede observar que las pruebas en estudio presentan resultados similares lo que sugiere que el uso de cualquiera de ellas resultaría indistinto para la detección de los diferentes niveles de positividad (Figura 10).

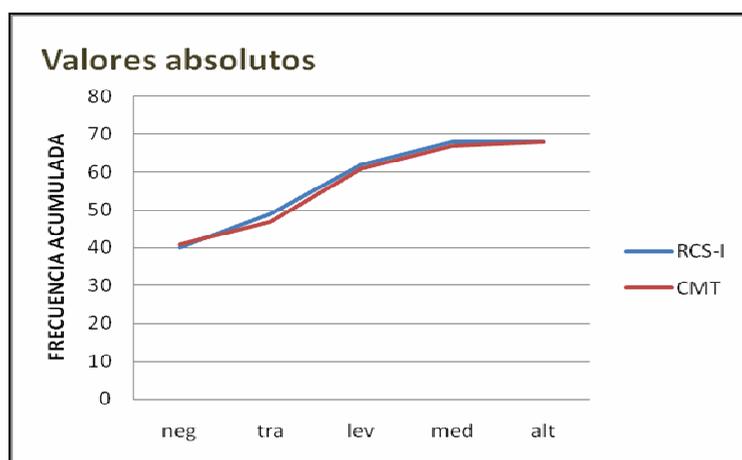


Figura 10. Comparación entre la frecuencia acumulada del CMT y RCS-I. Regimiento de Caballería y Finca San Luís. (Valores absolutos).

4.3 Porcentaje de cuartos afectados con mastitis subclínica mediante el Recuento de Células Somáticas en el Tanque (RCS-T).

Regimiento de Caballería. Para el recuento de células somáticas en el tanque se realizó un muestreo cada 24 horas por tres días consecutivos de lo cual se obtuvo el siguiente resultado:

4.3.1 Día uno.

De los 10 campos contados se obtuvo un total de 117 células lo que equivale al 11.7 células por campo; dicho porcentaje fue multiplicado por el factor de conversión ($FC = 98,231.83$) obteniendo un resultado final de 1,149,312.4 células por mililitro. (*Cálculo del Factor Microscópico*).

4.3.2 Día dos.

De la suma de los 10 campos obtuvimos un total de 103 células, equivalente a 10.3 cel/campo; valor que fue multiplicado por el FC; dando como resultado final 1,011,787.8 células por mililitro.

4.3.3 Día tres.

Para el total de los 10 campos contados obtuvimos un total de 107 células lo que equivale a un 10.7 células por campo; mismo valor fue multiplicado por el FC ya conocido; dando con resultado 1,051,080.5 células por mililitro (cuadro 1 y Figura 11).

Cuadro 1. Recuento de Células Somáticas del Tanque (RCS-T)cel/ml, para los Días 1,2 y 3. Regimiento de Caballería.

| DIA | (RCS-T)cel/ml |
|-----------------|--------------------------|
| 1 | 1149,312 |
| 2 | 1011,787 |
| 3 | 1051,080 |
| PROMEDIO | 1,070,726 ±70,836 |

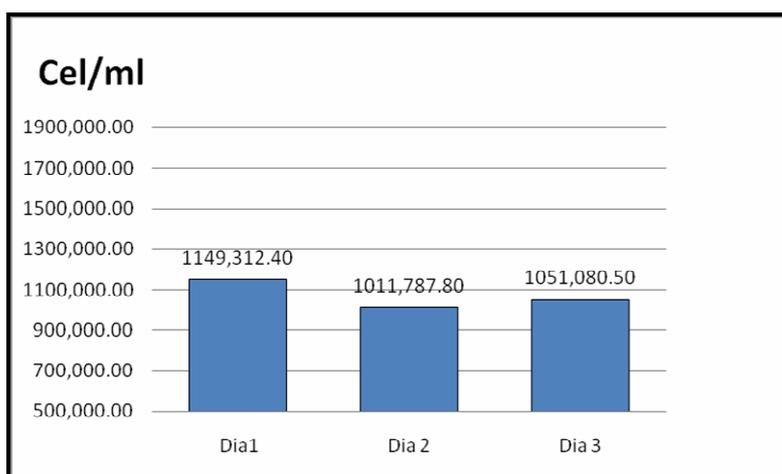


Figura 11. Recuento de Células Somáticas del Tanque (RCS-T) para los días 1, 2 y 3. Regimiento de Caballería.

El promedio del RCS-T de los día 1,2 y 3 fue de 10.9 células por campo lo que equivale a 1,070,726.9 células somáticas por mililitro, que según cuadro de relación entre el RCS-T y el porcentaje de cuartos afectados con mastitis subclínica corresponde a un 34.26%. Lo que equivale a una merma del 19.27% en el total de la producción de leche, (Figura 12 y cuadro A-1).

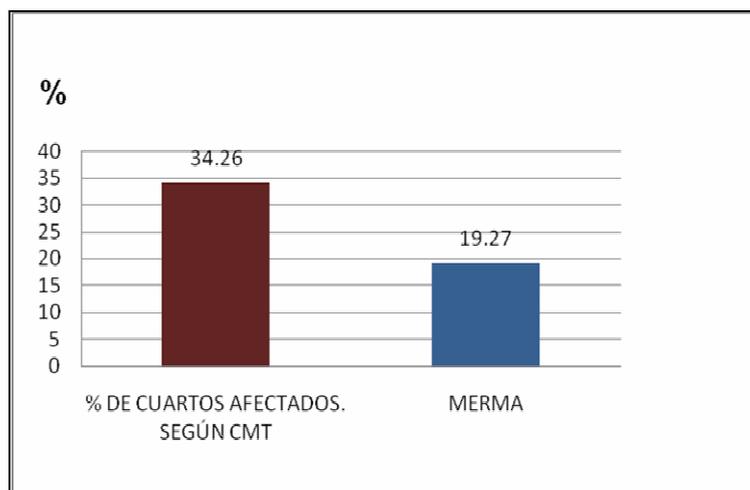


Figura 12. Porcentaje de cuartos afectados y su merma según el Recuento de Células Somáticas en el Tanque. Regimiento de Caballería.

Finca San Luís. Para el recuento de Células Somáticas en el Tanque se realizó un muestreo cada 24 horas por tres días consecutivos de lo cual se obtuvo el siguiente resultado:

4.3.4 Día uno.

De los 10 campos contados obtuvimos un total de 89 células lo que equivale a 8.9 células por campos; dicho resultado fue multiplicado por el Factor de Conversión (FC = 98,231.83) obteniendo un resultado final de 874,263 células por mililitro.

4.3.5 Día dos.

De la suma de los 10 campos obtuvimos un total de 90 células, equivalente a 9.0 cel /campo; valor que fue multiplicado por el FC; dando como resultado final 884,086 células por mililitro.

4.3.6 Día tres.

Para el total de los 10 campos contados obtuvimos un total de 88 células lo que equivale a un 8.8 Cel/campo; mismo valor fue multiplicado por el FC, dando con resultado 864,440. 10 células por mililitro (cuadro 2 y figura 13).

Cuadro 2. Recuento de Células Somáticas del Tanque (RCS-T) cel/ml, para los días 1,2 y 3. Finca San Luis.

| DIA | (RCS-T) cel/ml |
|-----------------|------------------------|
| 1 | 874,263 |
| 2 | 884,086 |
| 3 | 864,440 |
| PROMEDIO | 874,263 ± 9,823 |

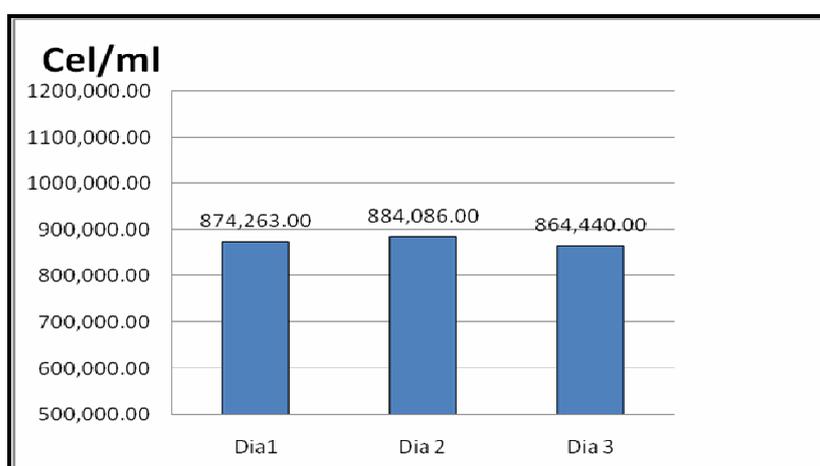


Figura 13. Recuento de Células Somáticas del Tanque (RCS-T) para los días 1,2 y 3. Finca San Luis.

Del promedio del RCS-T de los día 1, 2 y 3 se obtuvo un total equivalente a 874,263 células por mililitro, un 8.9 células por campo, lo que equivale a 28.41% de cuartos afectados por mastitis subclínica, correspondiente a una merma de 15.75% en el total de la producción láctea (Figura 14). Al comparar esto resultados con un estudio realizado en la Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. (2007) obtuvieron un total de 206,630 cel/ml con una diferencia 667,633 cel/ml, comparado con la Finca San Luis, lo cual puede deberse a las prácticas de ordeño y al manejo zoonosanitario que es implementado en estas ganaderías. (Revista Colombiana, 2007)

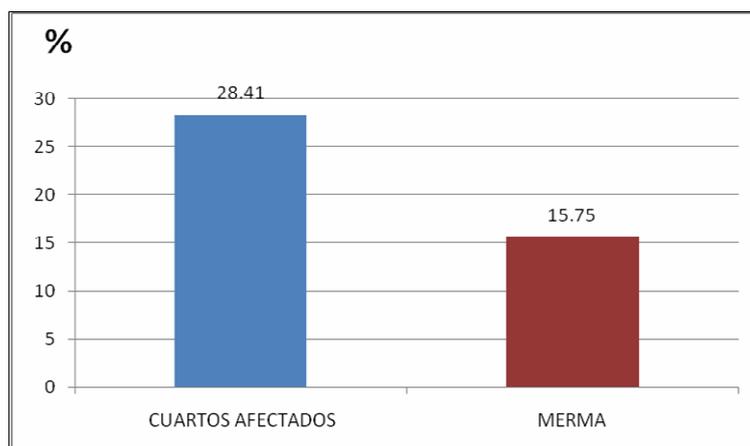


Figura 14. Porcentaje de cuartos afectados y su merma según el Recuento de Células Somáticas en el Tanque. Finca San Luís.

Con el objeto de validar la técnica de RCS-T se tomó una muestra del 11% de la población y se realizaron pruebas pareadas tanto de CMT como del RCS-I (Recuento de Células Somáticas Individual). Se pudo comprobar que existe una concordancia directa que permite establecer que el RCS-T por métodos ópticos, es totalmente confiable y que ha sido realizada por medio de una técnica de campo y de laboratorio correcta. (Figura 15 y 16).

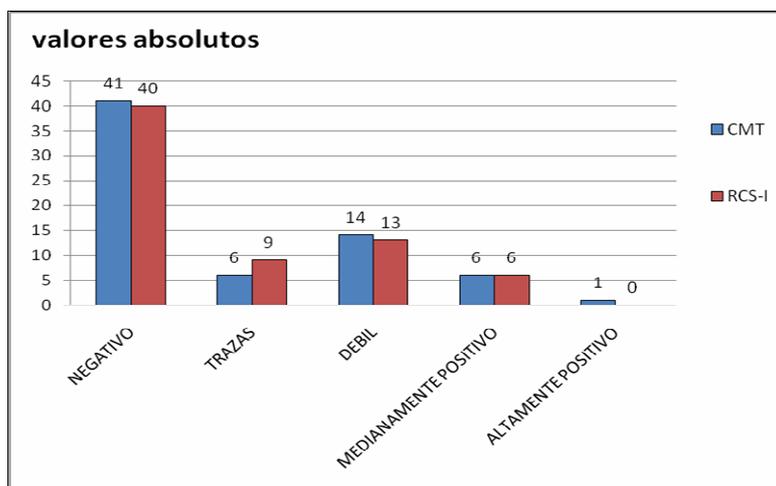


Figura 15. Resultados Comparativos entre las pruebas de CMT Y RCS-I en Valores Absolutos el Regimiento de Caballería y Finca San Luís.

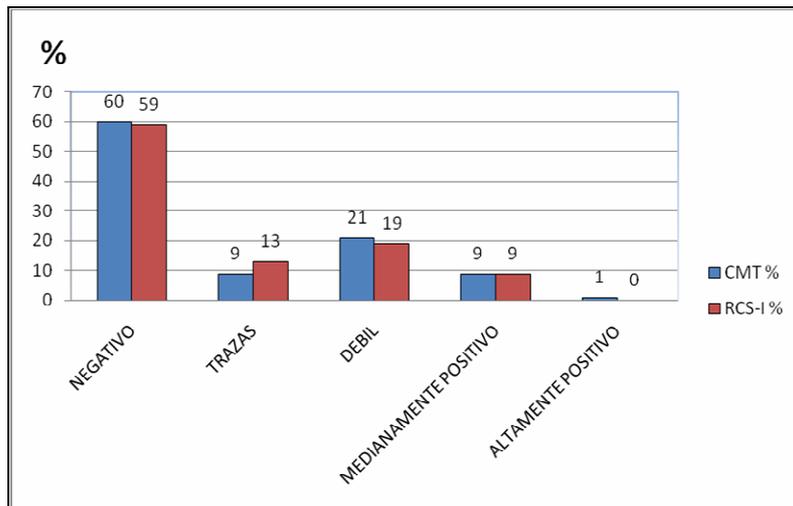


Figura 16. Resultados comparativos entre las pruebas de CMT Y RCS-I. (Porcentajes). Para el Regimiento de Caballería y Finca San Luis.

Finalmente se procedió al RCS-T, obteniéndose el Regimiento de Caballería, 1,070,726.9 células por mililitro y en la finca San Luis, 874,263 células por mililitro, (figura 17) lo que equivale a un 34.26% y 28.41% de cuartos afectados con mastitis subclínica lo que equivale a una merma del 19.27 y 15.75%, respectivamente para el total de la producción láctea. (Figura 18).

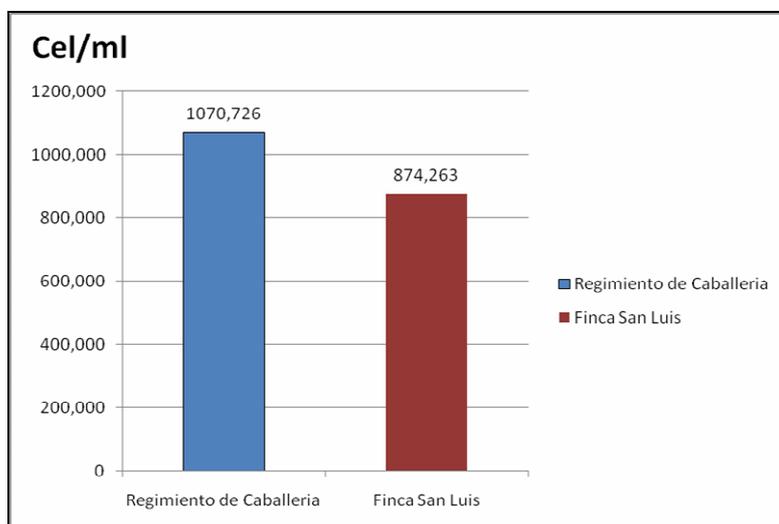


Figura 17. Recuento de células somáticas en el tanque (RCS-T) Para el Regimiento de Caballería y Finca San Luis RCS-T (células por mililitro).

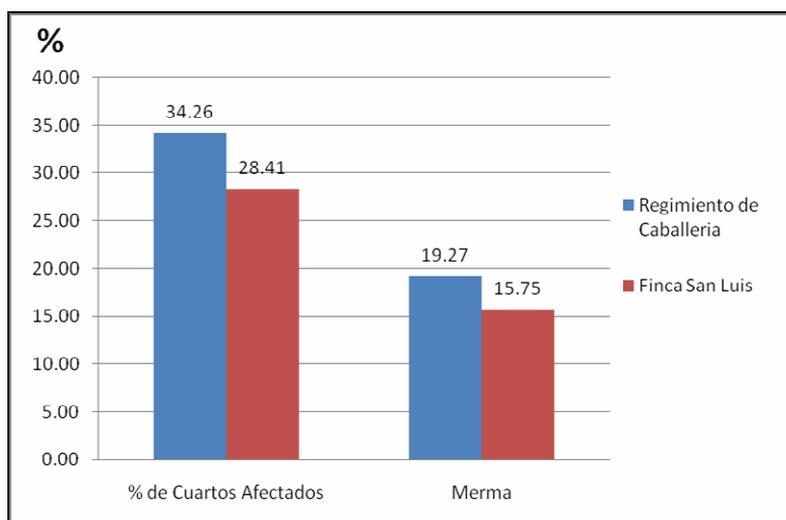


Figura 18. Porcentaje de cuartos afectados y su merma en el RCS-T. Regimiento de Caballería y Finca San Luis RCS-T.

5. COSTOS DE TECNICAS DIAGNÓSTICAS.

Esta se llevó a cabo tomando en cuenta los costos directos para la ejecución de cada una de las pruebas diagnósticas a nivel de las fincas (CMT / RCS-T).

No existe discusión alguna sobre la diferencia de costos entre el CMT y el RCS-T. para un hato de 150 animales en ordeño, el costo directo del CMT fue de \$196.50 (\$1.31 por animal) y para el RCS-T fue de \$15.00, (\$0.10 por animal), sin tomar en cuenta que la primera necesita que sea realizada en cada cuarto en producción y por una persona que posea la capacidad y la experiencia como para dar un resultado que en cierta medida es subjetiva y depende de la apreciación del que lo realiza, sumado a esto el tiempo y el esfuerzo que consume llevar a cabo la prueba en cada uno de los cuartos de los animales en producción. En cambio la segunda tiene un costo, para el mismo hato de \$15.00 con la ventaja que la muestra puede ser tomada por el profesional el día en que se realizan otras actividades clínicas o zootécnicas, ya que la misma no requiere de mucho esfuerzo, ni consume mayor cantidad de tiempo (Cuadro A-4).

6. CONCLUSIONES

1. Luego de comparar los resultados finales del CMT y RCS-T se pudo determinar que existe total similitud entre ambas técnicas y que por fines prácticos y económicos es el RCS-T la técnica idónea para determinar el porcentaje de cuartos con mastitis subclínica en los hatos ganaderos.
2. A pesar de la practicidad y gran utilidad del CMT, la efectividad para la interpretación cuantitativa es un poco ambigua ya que los rangos entre los distintos grupos se entrecruzan, y solo pueden ser definidos exactamente mediante el RCS, tanto individual como en el tanque.
3. El manejo de las rutinas de ordeño en ambos establecimientos (Regimiento de Caballería y Finca San Luis) son inapropiadas. Se ha comprobado que dichas prácticas predisponen a una mayor incidencia de mastitis clínica y subclínica. Es importante aclarar que en el Regimiento de Caballería, las rutinas de ordeño son más deficientes que las de la finca San Luis y esto se ve reflejado en los porcentajes de mastitis subclínica que afectan a cada uno de los hatos ganaderos.
4. El uso de prácticas zootécnicas inapropiadas tales como rutina de ordeño inadecuado, la falta de secados terapéuticos al final de periodo de lactancia, y mal manejo del medio ambiente en que los animales se desarrollo predisponen y desarrollan incidencia y prevaecía de mastitis clínica y subclínica en los hatos lecheros.

7. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda implementar de manera sistemática y constante el RCS-T en la Ganaderías Lecheras, para poder determinar los niveles de mastitis subclínica de una manera efectiva y económica, ya que es esta prueba, en la actualidad, la herramienta más sencilla para tal fin. Dicha prueba se recomienda realizarla mensualmente, para poder así tener un buen control de la sanidad de los cuartos.
2. Implementar de manera constante una rutina de ordeño apropiada, que cuente con la supervisión continua, tanto de parte del profesional encargado como del “mandador” de la propiedad (Anexo 1).
3. En los casos en que se presente mastitis clínica y subclínica y debido a la gran resistencia que se observa a los tratamientos con los antibióticos utilizados de rutina, se recomienda realizar cultivo y antibiograma para utilizar el medicamento específico para tratar tal enfermedad.
4. Es importante que la persona o el laboratorio que se va a dedicar a realizar la técnica del RCS-T, por medio óptico, tenga el entrenamiento suficiente y la correcta supervisión para evitar tener resultados falsos, ya que dicha técnica posee múltiples puntos críticos que podrían producir grandes variaciones e inconsistencias en los resultados.
5. En el caso en el que los niveles de mastitis subclínica, según tablas de RCS-T (Cuadro A-3), superen el 10%, se recomienda la realización del CMT por vaca y por cuarto, ya que por arriba de ese porcentaje comienzan a producirse pérdidas económicas significativas, por mermas en la producción total de leche.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Abel, R; Pinochet, L. 1954. Mastitis estreptocócica, su incidencia en algunas lecherías de localidades próximas a Santiago. Agricultura Técnica. P. 14:11–16.
2. Aliaga, C. 1978. Frecuencia de las especies bacterianas causantes de mastitis bovina en la comuna de Rengo y antibiograma de las especies aisladas. Tesis Medicina Veterinaria. Santiago de Chile. P. 25-32.
3. Arroyo, *et al* 1987. Aislamiento de Nocardia asteroides en un brote de mastitis y su sensibilidad. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. INIFAP-SARH. P 28-37.
4. Avila, Blanco, *et al.* 1991. Mastitis y producción de leche en el trópico húmedo. México. SUA-FMVZ. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. P 218- 221.
5. Avila, *et al.* 1993. Frecuencia anual de mastitis clínica y sus costos en una explotación del Valle de México. Memorias del XVIII Congreso Nacional de Buiatría. México, D.F. P. 239-248.
6. Ávila. 1984. Producción intensiva de ganado lechero. Edit. Continental. México. P. 139-157.
7. Banco Central de Reserva de El Salvador. 2006. Reporte Económico Anual. P. 57-59.
8. Báez. 2002. Estudio epidemiológico de mastitis subclínica bovina en el sector II de Têjaro, Michoacán. México. P. 27-28.
9. Bedolla. 2004a. Mastitis Bovina. Edición No. 41. Editorial Mimeo. México. P.20-36.
10. Bedolla. 2004b. Métodos de detección de la mastitis bovina. Editorial Mimeo. Mexio. P. 18 a 40.

11. Blood *et al.* 1992. Medicina Veterinaria. Edit. Interamericana McGraw-Hill. México. P. 21-54
12. Blowey; Edmonson. 1995. Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche. Edit. Acribia. Zaragoza. P. 208-215
13. Böhm, H. 1995. Heeschen W. Das neue Milchhygienerecht. Edit. Verlag. P. 78 -62.
14. Carrión, M. 2001. Principios básicos para el control de la mastitis y el mejoramiento de la calidad de leche. P. 28-50.
15. Carter R. 1982. Bacteriología y Micología Veterinaria. México. Manual Moderno. P. 19-22.
16. Coles Embert, H. 1968. Patología y diagnostico Veterinario. México, D.F. Edit. Interamericano. P.238 -260.
17. Cotrino Víctor MV. 2006. Diagnóstico y Tratamiento de la Mastitis. Bogotá, Colombia. P. 14-54.
18. Djabri, *et al.* 2002. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta analysis. P.335-357.
19. Fernández del Río. 1997. Mastitis. Tema V. Calidad y eficiencia en la producción de leche. Manual de procedimientos para la ordeña. Mexico DF. Virbac Departamento técnico. P.13-18.
20. Gieseck HW. 1975. The definition of bovine mastitis and the diagnosis of its subclinical types during normal lactation. Proceedings of the IDF seminar on mastitis control. Reading University. Collage of Estate Management. Reading England. P. 101 – 132.

21. Hassman, S; Thieme, D. 1974. Mh. Medicina Veterinaria. P. 29 - 94.
22. Harmon, R. J. 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. J. Dairy Sci. 77:2103-2112.
23. Hale Bramley. 1961. Observation on *Corynebacterium bovis* infection of the bovine mammary gland. II. Natural infection. J Dairy. Res 1-2;51:379- 385.
24. Martínez Jr, *et al.* 2003. Effect of Freezing on Fossomatic Cell Counting in Ewe Milk. J. Dairy. Sci. 86:2583.
25. Mateus Valles, G. 1983. Mastitis en Bovinos. San José Costa Rica. Edit. CATIE. P. 12-31
26. Medina; Montaldo, VH. 2003. El uso de la prueba de conductividad eléctrica y su relación con la prueba de California para mastitis. CNM. V Congreso Nacional de Control de Mastitis. Aguascalientes, Ags. México. P.19-31
27. Ministerio de Agricultura y Ganadería. 2006. Informe de coyuntura. Santa Tecla, El Salvador. P. 1396.
28. Ministerio de Agricultura y Ganadería. 1992. Almanaque Salvadoreño Centro de recursos Naturales, Servicios de Meteorología e Hidrología. San Salvador, El Salvador. P. 48-59
29. Neave, *et al.* 1969. Control of mastitis in dairy herd by hygiene and management. J Dairy. Sci 52-696-707.
30. Norberg, *et al.* 2004. Electrical Conductivity of Milk: Ability to Predict Mastitis Status. J. Dairy. Sci. 87:1099–1107.

31. Osborne, *et al.* 1981 An outbreak of *Pseudomonas mastitis* in dairy cows. *Can Vet J.* P. 22:215-217.
32. Ortiz, R.; Micheo, F. 1975. Programa de mantenimiento preventivo e higienización de equipo de lecherías. Administración de Servicios Agrícolas. Puerto Rico. 17-24
33. Pérez; Bedolla ; Castañeda, VH. 2005. Importancia del conteo de células somáticas en la cría sustentable de vacas productoras de leche Sustentabilidad. Vol. II No 1. Universidad de Guadalajara, Jalisco. México. P. 86-94.
34. Perez DM. 1986. Manual sobre ganado productor de leche. Edit. Villicaña S.A. México. P. 710-744.
35. Perez; Vazquez JR. 1987. Procedimientos para laboratorio para bacteriología y micología veterinarias. México. P. 78-92
36. Philpot W.; Nickerson SC. 1992. Mastitis: El contra ataque Publicado por Surge Internacional. Naperville . U.S.A P. 25-38
37. Philpot; Nickerson, S.C. 1984. Mastitis: El contra ataque. U.S.A. P. 31-42.
38. Radostits, Gay, Blood D, Hinchcliff KW. 2002. Medicina Veterinaria. Mastitis Bovina. Edit. Mcgraw-hill. 9º Edición. Vol 1. Madrid, España. P. 810.
39. Revilla, R.A. 1976 Tecnología de la Leche. Procesamiento, Manufactura y Análisis. Edit. Herrero Hermanos México D.F. P. 11-19.
40. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. Universidad de Antioquia Facultad de Ciencias Agrarias. 2007. Consultado 12 nov.2008. Disponible en [http://CiudadelaRobledo www.rccp.udea.edu.co/v](http://CiudadelaRobledo.www.rccp.udea.edu.co/v)
41. Runells Ar, Monlux Sw, Monlux WA. 1960. Principles of Veterinary Pathology. 5ª ed. Ames. The Iowa State University Press. P. 89-91

42. Saran A; Chaffer M. 2000. Mastitis y calidad de leche. Inter-Médica. Buenos Aires. P.194
43. Smith BP. 1990. Large Animal Internal Medicine. St Louis, Missouri. The C. V. Mosby Co. P. 89–147
44. Smith, K. L., and J. S. Hogan. 1997. Proceedings of Symposium on Udder Health Management for Environmental Streptococci, University of Guelph, Ontario Canada. P. 117-131
45. Thomas; Thiel, C.C. 1971. Machine milking and the control of bovine mastitis. British cattle Vet. Ass: 73–79.
46. Watson. 2006. Standard Methods for The Examination of Dairy Products. 16ª Edición. Specific antibody in milk whey and phagocytosis of *Actynomices pyogenes* by neutophils in vitro. P. 47(2): 253-256.
47. Wolter, *et al.* 2004. Mastitis bovina. Prevención, diagnóstico y tratamiento. Editorial Universitaria. Universidad de Guadalajara. México. P. 146
48. Zarkower; Scheuchenberger, W.J. 1978. EE.UU. Cornell. P. 68-40.

A N E X O S

ANEXO 1. *Recomendaciones oficiales sobre la rutina de ordeño.*

1. Procurar un ambiente limpio y poco estresante para las vacas.

Es importante ser rutinario en las horas y la forma de traer a los animales a la sala de ordeño. Las vacas asustadas o excitadas antes del ordeño pueden alterarla bajada de la leche a pesar de que la rutina sea adecuada. Las hormonas que se liberan al torrente circulatorio durante la reacción al estrés interfieren con la eyección de la leche. El ambiente en el que se ordeñan las vacas provoca estrés Y aumenta el riesgo de incidencia de mamitis. La eliminación de los pelos de las ubres reduce la cantidad de suciedad y heces adheridas, que pueden contaminar la leche. Las ubres con pelos largos son más difíciles de limpiar y secar, y el ordeño con pezones húmedo o sucios aumenta el riesgo de contaminación bacteriana en la leche y la probabilidad de infecciones intramamarias. Antes de iniciar el ordeño, las manos deben limpiarse con jabón y agua, y secarse. Las manos deben limpiarse de ésta manera siempre que se ensucien durante el ordeño. Unas manos limpias, secas y sanas minimizan la transmisión de microorganismos causantes de mamitis entre animales.

2. Examinar la leche y las ubres para detectar inicios de mamitis

La mamitis puede detectarse a través del examen físico de la ubre y la obtención de un poco de leche de cada uno de los pezones. Esta actividad debe realizarse en cada vaca y ordeño, y la leche extraída debe recogerse en un cazo y examinarse para detectar la presencia de coágulos de leche, leche cortada, o con mal olor y otras alteraciones. Los cazos de recolección de ésta leche deben limpiarse y desinfectarse entre cada ordeño para evitar la transmisión de mamitis entre animales. Es frecuente extraer los primeros chorros de leche directamente al suelo de la sala de ordeño para evitar la transmisión de mamitis entre animales. Es frecuente extraerlos primeros chorros de leche directamente al suelo de la sala de ordeño seguido del lavado con la manguera. Nunca debe examinarse la leche en la mano del ordeñador, ya que supone un elevado riesgo de transmisión de mamitis entre vacas.

3. Limpiar los pezones con una solución adecuada o "pre-dip" los pezones con un producto efectivo.

Un método común para la preparación de la ubre para el ordeño es el uso de las mangueras y las manos para eliminar la suciedad. Pero se recomienda mojar únicamente los pezones, ya que mojar toda la ubre dificulta el secado adecuado previo a la colocación de la máquina de ordeño. El ordeño con ubres o pezones mojados aumenta el riesgo de mamitis y el número de microorganismos en la leche. Si se utiliza una sala con pulverizadores hay que asegurarse que los pulverizadores funcionan correctamente y estén ajustados. El tiempo de funcionamiento de los pulverizadores debe ajustarse según el estado de limpieza de las ubres. El tiempo de secado previo a la entrada en la sala de ordeño es crítico. Una vez los animales ya han entrado en la sala de ordeño, deben utilizarse toallas de papel individuales para finalizar el secado de los pezones. Estas normas ayudan a minimizar el riesgo de nuevas infecciones, ayudan al proceso de estimulación de la ubre y mejoran la calidad de la leche ordeñada. El uso de un cubo con una solución limpiadora y toallas individuales es necesario. Las toallas de papel individuales son preferibles a las esponjas o toallitas de tela, ya que éstas últimas aumentan el riesgo de transmisión de enfermedades. El uso de un baño de pezones previo al ordeño es una alternativa atractiva que sólo debe usarse en aquellas explotaciones en las que la ubre llega a la sala del ordeño relativamente limpia. La solución limpiadora debe cubrir toda la longitud del pezón y la solución debe estar en contacto con el pezón durante un mínimo de 30 segundos antes de secarse y colocar las pezoneras.

4 . Secar los pezones completamente con toallas individuales.

Independientemente del método utilizado para limpiar los pezones, es necesario secarlos individualmente. Es recomendable el uso de toallas de papel individuales. Alternativamente, pueden utilizarse toallas de tela individuales. En este caso debe utilizarse una toalla para cada animal, que deberán lavarse, desinfectarse y secarse entre cada ordeño. Lavar los pezones sin secarlos resulta en la acumulación de microorganismos en el extremo del pezón.

Durante el ordeño, el agua contaminada con microorganismos se infiltra por los laterales de las pezoneras y puede resultar en un aumento del riesgo de infecciones. El ordeño con ubres/pezones mojados aumenta el riesgo de mamitis y reduce la calidad higiénica de la leche ordeñada.

5. Colocar las pezoneras entre 1 y 2 minutos después del inicio de la preparación de la ubre

La unidad de ordeño debe colocarse en los pezones tan pronto como el estímulo de eyección de leche tiene efecto. La colocación debe hacerse con cuidado con el fin de reducir la cantidad de aire que entra dentro del sistema. El estímulo natural de eyección de leche causa la máxima presión

intramamaria un minuto después del principio de la estimulación y dura aproximadamente 10 minutos. La mayor parte de las vacas se ordeñan entre 5 y 10 minutos. En consecuencia, conectar la unidad de ordeño entre 1 y 2 minutos después del inicio de la estimulación permite aprovechar al máximo el estímulo natural de la eyección de leche. Es importante que el protocolo de preparación de la ubre sea similar entre ordeños, y que se respeten los tiempos de preparación y espera para la colocación de la unidad de ordeño.

6. Ajustar las unidades de ordeño cuando sea necesario

Es necesario controlar que las unidades de ordeño estén alineadas correctamente para prevenir las pérdidas de vacío. Si las pezoneras están demasiado altas en los pezones, pueden causar irritación. Si las pezoneras están mal encajadas pueden bloquear la salida de la leche y aumentar la cantidad de ésta que permanece en el interior de la ubre después del ordeño. Uno de los aspectos más importantes son las pérdidas de vacío en las nuevas infecciones causadas por la entrada de aire durante el ordeño ocurren al final del ordeño.

7. Cerrar el vacío antes de retirar la unidad de ordeño

La unidad de ordeño debe retirarse tan pronto como ha finalizado el ordeño. En las salas de ordeño con retiradores automáticos es importante verificar que están correctamente ajustados. Si se produce un sobreordeño con máquina correctamente ajustada, la incidencia de mamitis no aumenta. Sin embargo, si los manguitos de las pezoneras no están en condiciones óptimas, o entra aire, las probabilidades de nuevas infecciones aumentan considerablemente durante el sobreordeño.

Es importante la forma cómo se finaliza el ordeño que el momento en que se finaliza. El vacío siempre debe cortarse antes de retirar las pezoneras. La práctica de estirar de las pezoneras con el vacío funcionando debe evitarse porque resulta en entradas de aire que aumentan el riesgo de mamitis. Una de las preguntas frecuentes es cómo afrontar el problema de un cuarto que se ordeña a mayor velocidad que los otros. En general, si la pezonera está en buenas condiciones y no entra aire, la pezonera debe dejarse conectada, porque su retirada causará entradas de aire y aumentará la incidencia de nuevas infecciones. La retirada incorrecta de las pezoneras constituye una amenaza importante para la salud de la ubre.

8. Aplicar un baño de pezones inmediatamente después de la retirada de las pezoneras con un producto efectivo.

El baño de pezones debe realizarse con un producto antiséptico después de cada ordeño, y debe cubrir, como mínimo, el tercio inferior del pezón. Un buen producto destruye los microorganismos, previene la colonización del canal del pezón con microorganismos y elimina las posibles infecciones existentes en el canal del pezón. Existen numerosos productos en el mercado. Numerosos de ellos son capaces de reducir la incidencia de nuevas infecciones en más de un 50%. Es necesario exigir a las empresas que lo comercializan que muestren los resultados de investigación en relación a la efectividad de este producto. Los contenedores del baño de pezones deben mantenerse limpios y en buenas condiciones. Nunca debe devolverse el contenido de una botella de baño de pezones al depósito original. Si el desinfectante se llena de paja u otra suciedad contaminante, desechar su contenido, limpiar la botella y rellenarla con desinfectante nuevo.

El uso de atomizadores una alternativa al baño de pezones. Los resultados son buenos si se utiliza correctamente y consigue la cobertura total del pezón. Un problema frecuente con los atomizadores es que es difícil cubrir completamente el pezón por todos los lados.

Cuadro A-1. Relación entre el RCS-T, el porcentaje de cuartos afectados y el porcentaje de producción.

| (RCS-T)/ml | Porcentaje cuartos Infectados | Porcentaje de merma en la producción |
|------------|-------------------------------|--------------------------------------|
| 200.000 | 6 | 0 |
| 500.000 | 16 | 6 |
| 500.000 | 16 | 6 |
| 800,000 | 26 | 10 |
| 1,000.000 | 32 | 18 |
| 1,500.000 | 48 | 29 |
| 1,800.000 | 58 | 35 |
| | | |

Fuente: Bedolla, 2004b.

Cuadro A- 2. Pérdidas económicas causadas por mastitis.

| PERDIDAS ECONOMICAS CAUSADAS POR MASTITIS | PORCENTAJE DEL TOTAL |
|--|----------------------|
| Valor de la producción lechera perdida | 70% |
| Valor de las vacas perdidas por eliminación Prematura | 14% |
| Valor de la leche desechada o que disminuye de calidad | 7% |
| Tratamiento y gastos Veterinarios | 8% |

Fuente: Runells, 1960

Cuadro A- 3. Interpretación de la prueba de California para mastitis.

| Símbolo | Interpretación | Reacción | Núm.de células/ml |
|---------|-----------------|--|---|
| - | Negativa | Sin evidencia | 0 a 200,000 |
| T | Traza | Precipitación leve | 150,000 – 500,000 |
| 1 | Positivo leve | Sin formación de gel, mezcla espesa | 400,000-1,500,000 |
| 2 | Positiva | Mezcla espesa cierta formación del gel | 800,000-5,000,000 |
| 3 | Positiva fuerte | El gel causa formación de una superficie convexa | > 5,000,000 |
| + | Leche alcalina | Fuerte color morado | Actividad secretora reducida |
| ++ | Leche ácida | Color amarillo | pH 5.2, fermentación de lactosa por bacterias |

Fuente: Belladolla, 2004^a

Cuadro. A- 4. Costos directos del CMT y RCS-T.

| PRUEBA | PRECIO POR CUARTO (No incluye Mano de obra directa) | PRECIO POR ANIMAL (No incluye Mano de obra directa) | TOTAL POR GANADERIA* |
|--|--|--|----------------------|
| California Mastitis Test (CMT) | \$ 0.33 | \$ 1.31 | \$ 196.5 |
| Recuento de Células Somáticas en la Leche del Tanque (RCS-T) | \$ 0.00 | \$ 0.10 | \$ 15.00 |

(*)Ganadería de 150 animales.

Cuadro A- 5. Ficha para la toma de muestra en el campo.

| | |
|-------------------|--------------------------|
| Finca | Regimiento de Caballería |
| Hora | 6:15 a.m. |
| Fecha | 05-Junio-20028 (día uno) |
| Total de Animales | 70 |
| Temperatura | 6 °C |

Cuadro A- 6. Ficha para la recepción de muestra en el laboratorio.

| | |
|--------------------|--------------------------|
| Finca | Regimiento de Caballería |
| Hora | 7:18 a.m. |
| Fecha | 05-Junio-20028 (día uno) |
| Numero de muestras | 1 |
| Examen Solicitado | RCS-T |
| Temperatura | RC-0506-0475 |

Cuadro A-7. Ficha para el procesamiento del Recuento de Células Somáticas en el tanque.

| | |
|----------|------------------|
| Identif. | FICBa |
| RCT-085 | 0510108 |
| 6 | 12 |
| Campo | (Cel/ml) 8 Campo |
| 8 | 8 |
| 2 | 8 |
| 10 | 10 |

Cuadro A- 8. Ficha para procesamiento del Recuento de Células Somáticas individual

| Identif. | Fecha | Examen | PROCESAMIENTO | |
|---------------|-----------------|--------------------|------------------|------------------|
| RCI-085 | 05/06/08 | RCS-T | | |
| Campo | CUARTOS | | | |
| | A | B | C | D |
| 1 | 0 | 8 | 7 | 2 |
| 2 | 0 | 7 | 2 | 2 |
| 3 | 0 | 30 | 2 | 1 |
| 4 | 0 | 19 | 1 | 0 |
| 5 | 0 | 8 | 4 | 4 |
| 6 | 0 | 3 | 7 | 6 |
| 7 | 1 | 0 | 5 | 2 |
| 8 | 3 | 5 | 4 | 3 |
| 9 | 1 | 2 | 6 | 3 |
| 10 | 0 | 29 | 3 | 1 |
| Σ | 5 | 111 | 41 | 24 |
| X | 0.5 | 11.1 | 4.10 | 2.4 |
| X (FC) | 49,115.9 | 1,090,373.3 | 402,750.5 | 235,756.4 |

Cuadro A- 9. Ficha para procesamiento de la prueba de California mastitis test.

| Identif. | Fecha | Examen | PROCESAMIENTO | |
|----------|----------|--------|---------------|--------|
| CMT-085 | 05/06/08 | CMT | | |
| No. | CUARTOS | | | |
| | A | B | C | D |
| 1 | Negativo | Trazas | Trazas | Trazas |