



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**FRECUENCIA Y ETIOLOGÍA DE LA MASTITIS BOVINA
EN CHERÁN, MICHOACÁN**

SERVICIO PROFESIONAL

QUE PRESENTA

SERGIO SIXTOS ENRÍQUEZ

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

ASESOR: MC. JOSÉ LUIS CARLOS BEDOLLA CEDEÑO

Morelia, Michoacán, Marzo de 2011.



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**FRECUENCIA Y ETIOLOGÍA DE LA MASTITIS BOVINA
EN CHERÁN, MICHOACÁN**

SERVICIO PROFESIONAL

QUE PRESENTA

SERGIO SIXTOS ENRÍQUEZ

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

ASESOR: MC. JOSÉ LUIS CARLOS BEDOLLA CEDEÑO

Morelia, Michoacán, Marzo de 2011.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres

Sr. Leobardo Sixtos Huerta (qpd) y Sra. Alicia Enríquez Sánchez por su apoyo económico y moral en todo momento, quienes sin duda alguna sacrificaron todo en la vida por hacer de mí un profesionista.

A mis hermanos

Javier, Edelmira, Bernardina, Genoveva, Melva, Baldomero y Jesús que me han apoyado con su cariño desde que inicie la carrera, alentándome en todo momento a seguir adelante.

A mi esposa

Ma. Del Socorro Hurtado de Sixtos por su apoyo moral en esta fase final de mi carrera.

A mis amigos y compañeros de escuela

En general a todos mis amigos y compañeros que de una u otra manera contribuyeron en mi formación profesional.

A mi asesor

MC. Certificado. José Luis Carlos Bedolla Cedeño que dedico el tiempo suficiente para desarrollar y culminar este trabajo.

A la MVZ. Verónica Sánchez Aguirre. Asesor Técnico de GGAVATT.

Por su gran contribución en el desarrollo de este trabajo y sobre todo por haberme alentado a culminar el mismo.

A las Químico-Farmacobiologo, Rosalva Mejía Alfaro e Irma Rentería Solórzano.

Por sus enseñanzas y apoyo en el trabajo y técnicas de laboratorio.

A los productores de Cherán

Por su gran apoyo y facilidades prestadas para la obtención de las muestras e información de sus hatos lecheros, los cuales fueron esenciales para el desarrollo del presente trabajo.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Por brindarme el espacio y los medios necesarios durante mi formación profesional.

DEDICATORIAS

A mis padres, que me han apoyado en todo momento y guiándome aun en tiempos difíciles.

A mis hermanos, que fueron comprensivos y tolerantes en todos los aspectos.

A mi esposa, por su apoyo y comprensión.

A mis hijos, Nazaret Sixtos Hurtado y Omar Sixtos Hurtado, por ser la razón de mí existir.

A mis sobrinos, a todos en general por su apoyo moral.

El presente trabajo sobre la “Frecuencia y etiología de la mastitis bovina en Cherán, Michoacán” forma parte del proyecto **14.10 Uso de extracto de semillas de cítricos para el control de la mastitis bovina**, financiado por la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo en el programa de Investigación 2010.

ÍNDICE

	Páginas
INTRODUCCIÓN.....	1
MASTITIS BOVINA.....	1
Mastitis clínica.....	2
Mastitis subclínica	4
CLASIFICACIÓN DE LOS AGENTES CAUSANTES DE LA MASTITIS BOVINA.....	5
ESTAFILOCOCOS.....	7
Clasificación de los estafilococos.....	7
Estafilococos Coagulasa Negativos (ECN).....	8
Estafilococos Coagulasa Positivos (ECP).....	9
<i>Staphylococcus intermedius</i>	9
<i>Staphylococcus hyicus</i>	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	10
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	13
<i>Corynebacterium bovis</i>	14
<i>Corynebacteria nonlipophilic</i>	14
<i>Mycoplasma bovis</i>	14
<i>Mycoplasma agalactiae</i>	15
Género <i>Streptococcus</i>	15
Aislamiento e identificación.....	16
<i>Streptococcus agalactiae</i>	17
<i>Streptococcus uberis</i>	17
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	18
<i>Escherichia coli</i>	19
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	21
Hongos y Levaduras.....	21
Algas.....	21

HIPÓTESIS.....	22
OBJETIVOS.....	22
MATERIAL Y MÉTODOS.....	23
Área de estudio.....	23
Material biológico.....	23
Método.....	23
Procesamiento de las muestras en el laboratorio.....	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
CONCLUSIONES.....	31
LITERATURA CITADA.....	32



INTRODUCCIÓN

MASTITIS BOVINA

La Mastitis es una enfermedad altamente prevalente en el ganado lechero, y es una de las enfermedades más importantes que afecta mundialmente la industria lechera; pues ocasiona pérdidas económicas muy fuertes a todos los productores de leche en el mundo () debido a la disminución en el rendimiento de leche y un aumento en el número de tratamientos clínicos y desecho temprano de vacas. Por lo que se ha reconocido, durante algún tiempo, como la enfermedad más costosa en los hatos lecheros (Ceron-Muñoz *et al.*, 2002; Correa y Marin, 2002; Wellenberg *et al.*, 2002; Boulanger *et al.*, 2003).

Es una enfermedad compleja que puede definirse simplemente como una inflamación de la glándula mamaria. Inflamación que es causada más comúnmente por infección intramamaria con un patógeno, pero también puede ser causada por una lesión (herida) y, menos frecuente, por alergia y neoplasias (Kerr *et al.*, 2001; Menzies y Ramanoon, 2001; Bedolla, 2004; Guizar y Bedolla, 2008).

La mastitis bovina normalmente se da como resultado de la infección intramamaria por bacterias que pueden producir la enfermedad de manera clínica o subclínica. Es decir, puede ser acompañada de signos clínicos o no. Una inflamación intramamaria esta asociada con un aumento en el conteo de células somáticas en la leche. Sin embargo, la magnitud del aumento en el conteo de células somáticas (CCS) varía de acuerdo a la bacteria involucrada en la infección intramamaria (Djabri, 2002; Field, 2003).



Mastitis clínica

La mastitis clínica es definida como una anomalía observada por los ganaderos en cualquiera de los dos casos: la leche y/o la ubre. Es un problema que subsiste en muchos hatos lecheros (De Mol, 2000 Tollersrud, 2000).

Se caracteriza por la tumefacción o dolor en la ubre, enrojecimiento, la leche presenta una apariencia anormal y, en algunos casos, hay aumento de la temperatura rectal, letargo, anorexia e incluso la muerte. Además, las bacterias están presentes en la leche, el rendimiento es muy reducido, y su contenido está alterado considerablemente (Barkema *et al.*, 1999; Guizar y Bedolla, 2008).

En algunos casos la inflamación de los cuartos mamarios es acompañada de signos clínicos (signos pronunciados de inflamación mamaria y de enfermedad sistémica), por lo que es diagnosticada entonces como mastitis clínica). La cual puede presentarse de manera aguda y crónica (Djabri, 2002).

En su forma aguda, la mastitis clínica se caracteriza por su condición de aparición súbita, la leche es de apariencia anormal, hay enrojecimiento, tumefacción, y dolor en la ubre, con o sin síntomas sistémicos.

En la forma crónica, se presenta una infección de la ubre de larga duración con leche de apariencia anormal y/o cambios al realizar la palpación del tejido de la ubre (Schrack *et al.*, 2001).



La mastitis clínica debida a *Escherichia coli*, estreptococos ambientales, y *Staphylococcus aureus* continua siendo un problema importante. Y puede ser una condición aguda y dolorosa que afecta el comportamiento animal ((Schukken *et al.*, 1999; Zadoks, 2002).

Durante la primera lactación, este tipo de mastitis, resulta en obvias pérdidas como son disminución en la producción de leche y alteraciones en la composición de la misma (Barker *et al.*, 1998).

En un estudio realizado por Barker *et al.* (1998) demostraron que las vacas con mastitis clínica durante la primera lactación presentaron un prolongado intervalo hasta el primer servicio (94 días) comparado con animales que no presentaron mastitis clínica (71 días). Además, las vacas con mastitis clínica entre el primer servicio y el establecimiento de la gestación tuvieron un aumento en el número de días abiertos y un doble aumento de servicios por concepción (Hockett *et al.*, 2000).

Los costos estimados por mastitis clínica varían dependiendo del país y presupuesto e incluyen los costos del tratamiento y veterinario, la reducida producción de leche durante la parte restante de la lactación, las pérdidas de leche que ha sido desechada debido a contaminación con antibióticos, eliminación temprana, labor extra, disminución de la calidad de la leche e incremento de los riesgos de la enfermedad en el futuro.

Los costos de la mastitis clínica reportados por granjeros de Estados Unidos varían de 108 a 122 dólares por caso, en base a medicamentos y veterinario, preventivos, de trabajo extra, desecho y pérdidas de leche (Heringstad *et al.*, 2000).



Mastitis subclínica

La mastitis subclínica es definida como la presencia de un microorganismo en combinación con un conteo elevado de células somáticas de la leche. El conteo elevado de células somáticas en la leche indica mastitis subclínica (De Mol, 2000; Hultgren, 2002; Tollersrud, 2000; Guizar y Bedolla, 2008).

Este tipo de mastitis no presenta cambios visibles en la leche o ubre. Se caracteriza por el reducido rendimiento de leche (Barkema, 1999), composición alterada de la leche y la presencia de componentes inflamatorios y bacterias en la leche (Heringstad *et al.*, 2000).

Cuando los signos no son visibles, la presencia de patógenos y las modificaciones citológicas de la leche traen como resultado una mastitis subclínica, por lo que las técnicas de laboratorio como la medición del conteo de células somáticas y el cultivo bacteriológico son necesarios para detectar inflamación e infección (Barker *et al.*, 1998; (Djabri, 2002)).

La mastitis, particularmente subclínica y crónica, es la más persistente y más amplia del grupo de enfermedades de importancia por la higiene de la leche en el ganado lechero (Ariznabarreta *et al.*, 2002; Guizar y Bedolla, 2008).

La mastitis subclínica ocurre frecuentemente, y puede conducir a grandes pérdidas económicas debido al reducido rendimiento de leche, y multas a causa de los elevados



conteos de células somáticas presentes en los tanques de leche (Wellenberg, *et al.* , 2002; Guizar y Bedolla, 2008).

En la práctica, los casos de mastitis subclínica con frecuencia no son detectados rápidamente, o pueden incluso no ser reconocidas por el ordeñador (Wellenberg, *et al.* , 2002).

En los Estados Unidos, los costos anuales de la mastitis han sido estimados entre 1.5-2.0 billones de dólares americanos, mientras que las pérdidas de producción de leche, debidas a mastitis subclínica, y los costos elevados por el reemplazo de vacas asociado con un conteo elevado de células somáticas han sido estimados en 960 millones de dólares americanos (Kerr *et al.*, 2001; Wellenberg *et al.*, 2002 Nash *et al.*, 2003).

Según Wellenberg *et al.* (2002), actualmente las pérdidas ocasionadas por ambos tipos de mastitis clínica y subclínica pueden ascender al 20% de la producción potencial.

CLASIFICACIÓN DE LOS AGENTES CAUSANTES DE LA MASTITIS BOVINA

Clásicamente, los patógenos de la mastitis han sido divididos en organismos contagiosos y ambientales; en base a su asociación epidemiológica con la enfermedad y a su proclividad de causar la infección oportunista, persistente o transeúnte, respectivamente (Riffon *et al.*, 2001; Rossitto *et al.*, 2002; Bedolla y Castañeda, 2003). Según Riffon *et al.* (2001) las bacterias responsables de la mastitis bovina pueden ser



clasificadas como contagiosas y ambientales, dependiendo de su reservorio primario y el ambiente contra el cuarto de la glándula mamaria infectada.

Los patógenos contagiosos de primera importancia incluyen al *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium spp.*, y *Mycoplasma spp.* (Riffon *et al.*, 2001; Rossitto *et al.*, 2002; Djabri *et al.*, 2002; Jayarao y Wolfgang, 2003). Estos organismos se transmiten de vaca a vaca, donde el reservorio primario que alberga los patógenos es el animal infectado o el cuarto de la ubre (Rossitto *et al.*, 2002; Zadoks *et al.*, 2001), y la exposición de los cuartos mamarios no infectados se restringe al proceso de la ordeña (Zadoks *et al.*, 2001; Zadoks, 2002; Bedolla y Castañeda, 2003).

Los patógenos contagiosos de la mastitis como el *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* que son infecciosos a nivel individual y a nivel de población (Zadoks, 2002), han sido reportados bajo control en los hatos lecheros a través del uso de prácticas de manejo que utilizan la desinfección de las tetas después de la ordeña, terapia de la vaca seca, desecho, mantenimiento del equipo de ordeño, y terapia antibiótica de las infecciones intramamarias (Rossitto *et al.*, 2002; Bedolla y Castañeda, 2003; Guizar y Bedolla, 2008).

Los patógenos ambientales a diferencia de los contagiosos son transmitidos entre las ordeñas por el ambiente que sirve como la fuente primaria de estos organismos. Los patógenos principales en este grupo son los bacilos entéricos Gram-negativos (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*), *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, y *Enterococcus spp.* (Rossitto *et al.*, 2002; Bedolla y Castañeda; 2003; Guizar y Bedolla, 2008).



La mastitis ocasionada por patógenos ambientales es el principal problema que afecta a muchos hatos lecheros bien manejados, que aplican un programa de control de los patógenos contagiosos de la mastitis (Calvinho *et al.*, 1998; Phuektes *et al.*, 2001).

A pesar de que la mastitis por organismos contagiosos (especialmente *Streptococcus agalactiae*) ha disminuido por mejoramiento en el manejo, las pérdidas económicas debido a la enfermedad pueden continuar porque los organismos causales no pueden ser erradicados del medio ambiente de las vacas lecheras (Nash *et al.*, 2002).

ESTAFILOCOCOS

Los estafilococos, son cocos Grampositivos (de 0.5 a 1.5 μm de diámetro) que se presentan sueltos, en parejas, en pequeñas cadenas (de 3 a 4 células) y más característicamente en grupos irregulares en forma de racimos (su denominación procede del griego *staphylé*, racimo de uvas). Son anaerobios facultativos catalasa positivos, generalmente oxidasa negativos, no esporulados, inmóviles y generalmente no forman cápsula o tienen una limitada formación cápsular (Vadillo *et al.*, 2002; Guizar y Bedolla, 2008).

Clasificación de los estafilococos

Los estafilococos, según produzcan o no la enzima coagulasa, se clasifican en dos grupos: Estafilococos Coagulasa Negativos (ECN) y Estafilococos Coagulasa Positivos (ECP). Existe una buena correlación entre la producción de coagulasa y la capacidad



patógena de los estafilococos, de tal manera que, en general, se considera que los ECP son patógenos y que los ECN no lo son (Vadillo *et al.*, 2002; Guizar y Bedolla, 2008).

En el grupo de los Estafilococos Coagulasa Negativos se incluyen el *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus chromogenes*, y otros como *Staphylococcus sciuris* y *Staphylococcus lentus*.

En el grupo de Estafilococos Coagulasa Positivos se incluyen al *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus aureus*. Estas especies producen procesos patológicos en los animales (Vadillo *et al.*, 2002).

Estafilococos Coagulasa Negativos (ECN)

Los ECN incluyen un numeroso grupo de especies que se caracterizan, como su nombre indica, por no producir coagulasa. Las especies que se presentan en los animales domésticos carecen de clumping factor, no producen ADNasa termoestable en que algunos pueden mostrar actividad hemolítica, ésta suele aparecer lentamente y ser débil (Vadillo *et al.*, 2002).

Aunque se consideran tradicionalmente como no patógenos, desde hace años se sabe que determinadas estirpes pueden comportarse como oportunistas patógenos tanto en los animales domésticos como en el hombre. En los animales domésticos estos patógenos se han asociado básicamente a infecciones intramamarias, que por lo general tienen carácter subclínico, pero también pueden dar lugar de vez en cuándo a mastitis clínicas (Vadillo *et al.*, 2002).



Los ECN se consideran como patógenos secundarios o menores en la mastitis bovina porque generalmente producen infecciones subclínicas con un incremento moderado de recuento de células somáticas (RCS, el indicador de infección mamaria más aceptado). *S. chromogenes*, *S. simulans* y *S. epidermidis*, son las especies más comunes en las infecciones intramamarias bovinas (Vadillo *et al.*, 2002).

Estafilococos Coagulasa Positivos (ECP)

Staphylococcus intermedius

El hábitat natural de la *S. intermedius* es la piel y las membranas mucosas de los carnívoros, y raramente se aísla en el hombre. *S. Intermedius* es coagulasa positiva, pero solo algunas cepas clumping factor positivas. Esta especie se caracteriza también, porque sus colonias no son pigmentadas y por producir ADNasa termoestable y hemolisina beta. Además a diferencia del *Staphylococcus Aureus*, produce betagalactosidasa, no produce acetoina y da lugar a una reacción débilmente positiva o retardada en la producción de ácido a partir de la maltosa. (Vadillo *et al.*, 2002).

Staphylococcus hyicus

S. hyicus es coagulasa variable, negativo para el clumping factor y no hemolítico, produce ADNasa termoestable y una toxina epidermolítica, y sus colonias no son pigmentadas. (Vadillo *et al.*, 2002).



Staphylococcus aureus

El *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) es la principal causa de infección intramamaria en los rumiantes (Bayles *et al.*, 1998; Yugueros *et al.*, 1999; Zadoks *et al.*, 2000; Mullarky *et al.*, 2001) por lo que se le considera el agente causal más importante y frecuente de la mastitis bovina (Ferens *et al.*, 1998; Lammers *et al.*, 2000; Sordelli *et al.*, 2000; Tollersrud *et al.*, 2000; Fitzgerald *et al.*, 2001; dos Santos *et al.*, 2002; Guizar y Bedolla, 2008).

Aunque varios patógenos bacterianos pueden causar la mastitis, el *S. aureus* es el primer agente etiológico en la mayor parte del mundo (Tollersrud *et al.*, 2000), ha surgido como el más prevaleciente, y una vez establecido en la glándula mamaria es muy difícil de erradicar (Sordelli *et al.*, 2000) y causa las pérdidas económicas más considerables en la industria de la leche (Lammers *et al.*, 2000).

En muchos países el *S. aureus* es un patógeno de la ubre, muy importante que causa la mastitis (Bjorland *et al.*, 2001). En 1998 Smith, informo de un brote de mastitis causada por *S. aureus*, en el estado de Washington, en un hato lechero (Middleton *et al.*, 2002); el *S. aureus* y las bacterias estreptococales son los agentes etiológicos más comunes involucrados en los casos clínicos y subclínicos de mastitis en los hatos lecheros de Nueva Zelanda (Guizar y Bedolla, 2008).

El *S. aureus* es el patógeno principal responsable de una amplia gama de infecciones agudas y crónicas. El primer paso en las infecciones por *S. aureus* es la adherencia a las diferentes superficies y colonización de tejidos del organismo infectado. Para este propósito el *S. aureus* presenta una familia de adherencias llamada MSCRMMs



(componentes de la superficie microbiana que reconocen las moléculas adhesivas de la matriz) (Guizar y Bedolla, 2008).

Estas interacciones permiten al *S. aureus* adherirse a una variedad de líneas celulares y promover la invasión y muerte por apoptosis de células epiteliales infectadas. Otro paso en la colonización del *S. aureus* es la formación de una biopelícula. La formación de esta biopelícula es una inquietud importante en las infecciones porque protege a los microorganismos de los leucocitos y antibióticos, llevando a la infección crónica y septicemia. Fenómenos similares ocurren con otras bacterias patógenas, como *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli* y *Haemophilus influenzae* (Cucarella *et al.*, 2002; Guizar y Bedolla, 2008).

El *S. aureus* se reconoce mundialmente como una causa frecuente de infecciones intramamarias subclínicas en las vacas lecheras (Riollet *et al.*, 2001). El reservorio principal del *S. aureus* parece ser el cuarto infectado y la transmisión entre las vacas, normalmente, ocurre durante la ordeña (Akineden *et al.*, 2001), la interacción del *S. aureus* con las células de la glándula mamaria bovina es considerada esencial en el rol que desempeña en la patogénesis de la mastitis (Lammers *et al.*, 1999; Guizar y Bedolla, 2008).

Recientemente se ha demostrado que el *S. aureus* induce la apoptosis en las células epiteliales de la glándula mamaria bovina, indicando que este proceso pudiera estar involucrado en la persistencia o patogénesis de este patógeno (Wesson *et al.*, 1998).



En recientes experimentos que evalúan la invasión y supervivencia intracelular del *S. aureus* en las células del tejido endotelial, epitelial y osteoblasto; se ha indicado que la supervivencia intracelular pudiera contribuir a la persistencia del patógeno, induciendo endocarditis, mastitis bovina y osteomielitis (Gresham *et al.*, 2000).

El *S. aureus* es actualmente uno de los patógenos más difíciles de controlar porque puede extenderse rápidamente entre el hato y puede responder pobremente a una terapia antibiótica convencional (Soltys y Quinn, 1999); la naturaleza crónica de la mastitis bovina por *S. aureus*, indica que algunos productos o componentes de este patógeno pueden interferir en el desarrollo de la inmunidad protectora (Ferens *et al.*, 1998).

Este patógeno puede causar muchas enfermedades en los humanos y animales (Fitzgerald *et al.*, 2001), es el agente causal de muchas infecciones oportunas en los humanos y los animales (Yugueros *et al.*, 1999). Las infecciones debidas al *S. aureus* es de la mayor importancia en la medicina veterinaria y humana (Zadoks *et al.*, 2000). En el humano el *S. aureus* es un patógeno responsable de la septicemia, endocarditis y el síndrome del shock tóxico; ocasionando la mastitis en las vacas y ovejas (Fitzgerald *et al.*, 2001).

El *S. aureus* exporta una gran variedad de enzimas, algunas de las cuales tienen factores de virulencia conocidos (Reed *et al.*, 2001), algunas de estas enzimas son capaces de incrementar las características invasoras del microorganismo y lo protegen de los mecanismos corporales de defensa (Guizar y Bedolla, 2008).

El *S. aureus* sigue siendo un patógeno persistente alrededor del mundo que causa serias infecciones. Las enfermedades que se han asociado con el *S. aureus* son diversas,



yendo de las infecciones en heridas menores a las enfermedades más serias, incluso la endocarditis, osteomielitis y el shock séptico (Wesson *et al.*, 1998).

Staphylococcus chromogenes

El *Staphylococcus chromogenes* (*S. chromogenes*) es considerado un patógeno secundario de la mastitis bovina; sin embargo, muchos estudios recientes, han mostrado la importancia que ha adquirido en la infección de la glándula mamaria bovina. El *S. chromogenes* puede causar infecciones más severas que, en promedio, puede causar otra especie de estafilococos (Devriese *et al.*, 2002; Guizar y Bedolla, 2008).

En un estudio realizado por Zhang y Maddox. (2000); se encontró que no había ninguna diferencia significativa en los parámetros de inflamación entre una infección por *S. aureus* y una infección ocasionada por *S. chromogenes*.

El *S. chromogenes* es una especie que prevalece en la mastitis subclínica, con un impacto bien establecido en el conteo de las células somáticas. En un estudio realizado con 70 muestras de *S. chromogenes* se determinó que todas eran susceptibles a la acción de la neomicina, gentamicina, eritromicina, enrofloxacin, penicilina y a las cefalosporinas, representadas en este estudio por la cloxacilina (Devriese *et al.*, 2002; Guizar y Bedolla, 2008).



Corynebacterium bovis

El *Corynebacterium bovis*, frecuentemente se aísla de la leche de glándulas mamarias de vacas infectadas de mastitis (Hommez *et al.*, 1999; Watts *et al.*, 2000) y es asociado con la reducción en la producción de leche (Watts y Rossbach, 2000). Está relacionado con formas muy apacibles de inflamación mamaria. La única manifestación de esta infección, es un ligero aumento de la cuenta de células somáticas (Hommez *et al.*, 1999).

Corynebacteria nonlipophilic

La *Corynebacteria nonlipophilic* ha sido asociada con mastitis clínica y subclínica en vacas lecheras; se han identificado cuatro especies: El *Corynebacterium amycolatum*, *Corynebacterium ulcerans*, *Corynebacterium pseudotuberculosis* y el *Corynebacterium minutissimum* (Hommez *et al.*, 1999).

Mycoplasma bovis

El *Mycoplasma bovis* induce varias manifestaciones clínicas en el ganado, como la mastitis, artritis y pulmonía; se ha extendido mundialmente, sobre todo en Europa y América del Norte, produciendo grandes pérdidas económicas en la industria lechera y en la producción de carne (Brank *et al.*, 1999).



Mycoplasma agalactiae

El *Mycoplasma agalactiae* es el principal agente causal de la agalactia contagiosa. Este síndrome es caracterizado por la agalactia, la mastitis, la artritis y a veces la Queratoconjuntivitis. Causa severas pérdidas económicas, particularmente en los hatos de ganado lechero, debido a que el *Mycoplasma agalactiae* es persistente y muy contagioso, que hace casi imposible la producción regular de queso (Fleury *et al.*, 2001).

Género *Streptococcus*

El término *Streptococcus* (Streptós, trenzado; kókkos, grano) fue utilizado por primera vez por Billroth, en 1874. Para describir unos microorganismos de forma cocácea, dispuestos en cadena. Son células esféricas u ovoides, con un diámetro de 0.5 a 2 μm , que se dividen en un plano y pueden quedar adheridas y formar parejas o bien cadenas largas cuando crecen en medios de cultivo líquido. A excepción de algunas especies, son generalmente inmóviles y no capsuladas (Vadillo *et al.*, 2002; Guizar y Bedolla, 2008).

Los estreptococos son organismos Gram-positivos, de catalasa negativa, que frecuentemente son aislados de la glándula mamaria bovina y de tanques de leche cruda (Sawant *et al.*, 2002).

Algunos organismos que pertenecen al género *Enterococcus* y *Streptococcus* en particular el *Enterococcus faecium*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus equinus* y el *Streptococcus uberis*, han sido bien documentados como



agentes etiológicos de mastitis bovina y sus resultados han provocado severas pérdidas económicas a la industria lechera (Sawant *et al.*, 2002).

Los estreptococos son, probablemente, el segundo grupo en importancia, después de los estafilococos, responsables de la mastitis. Aunque el *Streptococcus agalactiae*, el *Streptococcus uberis* y el *Streptococcus dysgalactiae* son las especies más frecuentemente identificadas, otra especie de estreptococos, el *Streptococcus parasanguinis*, ha sido implicado en las infecciones de la glándula mamaria (Las Heras *et al.*, 2002 Guizar y Bedolla, 2008).

Aislamiento e identificación

Para el aislamiento de los estreptococos se utilizan medios enriquecidos con sangre o suero y medios de cultivo selectivos, que pueden llevar en su composición cristal violeta, sulfato de talio y, en ocasiones, sustancias antimicrobianas; la incubación se realiza a 37 °C en aerobios o microaerofilia durante 18 a 24 horas, transcurridas las cuales se pueden observar colonias con un diámetro de 0.5 a 2 mm, de bordes regulares, transparentes u opacas y convexas. En medios de cultivo con sangre, los estreptococos pueden producir distintos tipos de hemólisis: Hemólisis β que se caracteriza por una lisis total de los hematíes, hemólisis α , que corresponde a una decoloración incompleta alrededor de la colonia, rodeada de una zona de tonalidad verdosa de 1 a 3 mm, y hemólisis γ o ausencia de hemólisis. La capacidad hemolítica de la bacteria se debe a dos enzimas: la estreptolisina O (que se inactiva en presencia de oxígeno) y la estreptolisina S (que permanece estable en presencia de oxígeno, y cuya producción es inducida por el suero) (Vadillo *et al.*, 2002; Guizar y Bedolla, 2008).



Streptococcus agalactiae

El *Streptococcus agalactiae* es considerado una de las mayores causas de infecciones intramamarias bovinas. Es un patógeno muy contagioso de la glándula mamaria, donde puede sobrevivir por largos períodos de tiempo (Martínez *et al.*, 2000); esta bacteria es considerada una de las mayores causas de infecciones intramamarias bovinas particularmente en América del Norte (Poyart *et al.*, 2001).

En los países donde se ha controlado el *Streptococcus agalactiae*, los patógenos más importantes son el *Staphylococcus aureus*, el *Streptococcus dysgalactiae* y el *Streptococcus uberis*. En general las especies normalmente aisladas, a nivel mundial, de estafilococos coagulasa negativos parecen ser de *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermidis* y de *Staphylococcus simulans*. Algunas diferencias en la patogenicidad entre las diferentes especies de ECN han sido observadas. Así, se encuentra al *Staphylococcus simulans* más frecuentemente asociado con las infecciones clínicas que las otras especies y asociado con la reacción de una inflamación aumentada (Møller *et al.*, 1999; Guizar y Bedolla, 2008).

Streptococcus uberis

El *Streptococcus uberis* es una bacteria patógena medioambiental que induce, en una proporción significativa, la mastitis clínica bovina en todo el mundo (Johnsen *et al.*, 1999; Phuektes *et al.*, 2001); Por consiguiente la mastitis medioambiental se ha vuelto un gran problema (Phuektes *et al.*, 2001; Guizar y Bedolla, 2008).



El *Streptococcus uberis* es un importante patógeno medioambiental involucrado en los casos de mastitis subclínica y clínica durante el periodo de lactación temprana y el periodo seco, y es responsable del 12 al 14% de la mastitis clínica en vacas lactantes (Smits *et al.*, 1998).

En el Reino Unido es responsable de alrededor del 20% de todos los casos de mastitis bovina (Johnsen *et al.*, 1999); sin embargo Ward *et al.* (2001), afirman que es el responsable del 33% de los casos detectados de mastitis bovina. En Dinamarca podrían relacionarse el 23% de los casos de mastitis en los hatos lecheros con la infección por este patógeno (Johnsen *et al.*, 1999).

Se han diferenciado 31 especies del género *Streptococcus* incluidas las especies *S. uberis* y *S. parauberis*, ambas especies son bien conocidas como agentes causales de mastitis bovina (Hassan *et al.*, 2001; Guizar y Bedolla, 2008).

Streptococcus dysgalactiae

La mastitis causada por patógenos medioambientales es un gran problema que afecta a los hatos lecheros. De entre los patógenos medioambientales, el *Streptococcus dysgalactiae* ha sido frecuentemente aislado de las infecciones intramamarias durante la lactación y el período seco (Calvinho *et al.*, 1998; Guizar y Bedolla, 2008).

El *Streptococcus dysgalactiae* es una de las especies bacterianas más importantes aislada en la mastitis bovina. El de la especie hemolítica, es un patógeno muy común en la mastitis clínica y subclínica (Vasi *et al.*, 2000).



La prueba serológica de Lancefield a la bacteria *Streptococcus dysgalactiae*, del grupo C, la identifica como uno de los patógenos más comunes de mastitis bovina, que causa pérdidas económicas más grandes en la industria de la leche (Vasi *et al.*, 2000; Song *et al.*, 2001).

Este patógeno es muy capaz de sobrevivir en la boca, vagina y piel de los animales saludables que pastan. Debido a su situación medioambiental, los métodos de higiene normales y la terapia del antibiótico son menos eficaces previniendo las infecciones por *Streptococcus dysgalactiae* que las infecciones por otro patógeno contagioso (Vasi *et al.*, 2000; Song *et al.*, 2001; Guizar y Bedolla, 2008).

Escherichia coli

La mastitis medioambiental es causada por bacterias coliformes. La mayoría de las bacterias coliformes son clasificadas como *Escherichia coli* (*E. coli*). La mastitis ocasionada por la *E. coli* es normalmente esporádica y las señales clínicas varían desde muy severa, incluso formas fatales, a mastitis apacible, donde las vacas tienen solo señales locales en la ubre (Kaipainen *et al.*, 2002; Guizar y Bedolla, 2008).

La mastitis es un problema importante en la industria lechera y la mastitis producida por *E. coli* es sobre todo la principal enfermedad en las vacas (Correa y Marín, 2002).

La razón para la importancia de la mastitis por *Escherichia coli* es su creciente incidencia y los síntomas severos. Este aumento puede ser debido al uso rutinario de la



terapia de la vaca seca, la cual es eficaz contra el organismo contagioso Gram positivo, pero no contra el patógeno medioambiental como *E. coli*. La infección de la ubre por este patógeno probablemente es resultado de contaminación fecal (Correa y Marín, 2002; Guizar y Bedolla, 2008).

De la gran variedad de patógenos microbianos que pueden causar la mastitis bovina, la *E. coli* y la *Klebsiella pneumoniae* son los patógenos medioambientales más frecuentemente aislados de las infecciones intramamarias y son los principales causantes de la mastitis clínica (Barkema *et al.*, 1998; Lin *et al.*, 1999).

La *E. coli* ha sido clasificada como un agente patógeno medioambiental que induce la mastitis clínica, que es caracterizada por una intensa concentración de neutrofilos, que lleva a la eliminación de las bacterias (Riollet *et al.*, 2000; Guizar y Bedolla, 2008).

La tasa de mastitis clínica ocasionada por este coliforme varía entre los países. En Finlandia menos de 20%, pero en Israel más del 60% de casos de mastitis son causados por coliformes (Kaipainen *et al.*, 2002).

Diversos factores de virulencia detectados a partir de bacterias *E. coli* patogénicas ocasionan infecciones del tracto urinario, diarrea, septicemia y meningitis en animales y humanos. La mastitis bovina es semejante a la infección del tracto urinario en que la infección es ascendente, causada por bacterias del ambiente (Kaipainen *et al.*, 2002).



Arcanobacterium pyogenes

El *Arcanobacterium pyogenes* es un habitante común de los tractos respiratorio superior, urogenital y el gastrointestinal de muchas especies animales domésticas. Sin embargo, una herida física o microbiana a la ubre puede ocasionar una variedad de infección supurativa de tipo piogénico, como la mastitis en las vacas y cabras lecheras (Jost *et al.*, 2001; Guizar y Bedolla, 2008).

Hongos y levaduras

La incidencia de mastitis debida a hongos es usualmente muy baja en los hatos lecheros, pero algunas veces puede ocurrir en proporciones epizoóticas (Krukowski *et al.*, 2000).

Diversas especies de levaduras han sido reportadas en muchos países como causantes de mastitis. La infección fungal de la glándula mamaria es predominantemente causada por levaduras del género *Cándida*. Los hongos no son un agente extraño en la mastitis bovina y son frecuentemente considerados en la mastitis medioambiental debido a la pobre higiene animal (Krukowski *et al.*, 2000; Guizar y Bedolla, 2008).

Algas

La Protothecosis es una forma severa de mastitis en ganado bovino causada por las algas descoloridas del género *Prototheca* (Roesler *et al.*, 2001).



HIPÓTESIS

Es factible que la frecuencia de mastitis bovina en Cherán, Michoacán sea elevada, debido a la ausencia de prácticas de higiene y desinfección de la ubre de las vacas antes y después del ordeño.

OBJETIVOS

Determinar la frecuencia y etiología de la mastitis bovina en Cherán Michoacán, mediante la prueba de California (CMT).

Identificar los agentes patógenos causantes de mastitis bovina.



MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

El presente estudio se realizó del mes de Octubre 2010 a Enero de 2011, en el municipio de Cherán, Michoacán, el cual se encuentra localizado al noroeste del estado en las coordenadas 19°41' de latitud norte y 101°57'30" de longitud oeste, a una altura de 2,428 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con Zacapu al sureste con Nahuatzen; al suroeste con Paracho y al noroeste con Chilchota.. Su clima es templado húmedo con lluvias en verano. La precipitación pluvial anual es de 930.5, mm³, con una temperatura media anual de 14.8 °C. (Inegi, 2002).

Material biológico

Se tomaron muestras de 11 establos lecheros los cuales cuentan con 3 - 10 vacas por establo. Los animales que se utilizaron para la toma de muestras fueron 50 vacas en producción de la raza Holstein-Friesian, de 3 partos en promedio y una producción promedio de leche al día de 20 litros, las cuales se explotan bajo el sistema de producción lechera en pequeña escala. Tres de estos establos con ordeña mecánica y 8 con ordeña manual.

Método

Para la determinar la frecuencia de la mastitis en los animales, se utilizó la prueba de California (CMT). Para ello, se llevo a cabo primeramente el siguiente procedimiento:



Toma de muestras. Las muestras se recolectaron directamente del pezón antes del ordeño de la tarde por lo que se procedió primeramente a lavar con agua los pezones sucios, evitando así arrastrar las bacterias de la zona superior de la ubre hacia la piel del pezón. Enseguida se realizó el secado de los pezones con toallas de papel desechable dejándolos limpios para tomar la muestra, se desecharon los primeros chorros de leche que tienen gran importancia, debido a que pueden contener bacterias; y se realizó la desinfección de las puntas de los pezones con toallas desechables y alcohol etílico al 70%.

Una vez hecho lo anterior, se procedió a realizar la prueba de California, para lo cual se utilizó una paleta de plástico depositando en ella una muestra de leche de cada cuarto, se mezcló con un reactivo de nombre comercial Diagmastin (Alquil-Aril-Sulfonato más Púrpura de Bromocresol), haciendo movimientos rotativos, la leche de los cuartos infectados forman un gel, el cual refleja la cantidad de células somáticas (leucocitos y células epiteliales) de la leche, por lo que los resultados se leen como Negativos, Traza, 1, 2 y 3, según la cantidad de gel que se forma en el recipiente.

La prueba (CMT) se realizó en la segunda ordeña del día en un horario de 4-6 pm. Se utilizó una hoja de registro de la prueba de California para control de mastitis.

Procesamiento de las muestras en el laboratorio

El procesamiento de las muestras de leche de los pezones fue realizado al día siguiente del muestreo de acuerdo con el National Mastitis Council, 1999; Saran y Chaffer, 2000; y Sears y Mc Carthy, 2003. Es decir, después de un enfriamiento a 4°C en el laboratorio de bacteriología de la USAD de la FMVZ-UMSNH. Las muestras fueron



sembradas en agar sangre con azida (Bioxon), y agar 110 estafilococos (Bioxon). Las placas de agar fueron incubadas a 37°C y examinadas después de 24 y 48 hrs. Los aislamientos de estafilococos fueron resembrados en agar con sangre de borrego e identificados a través de la morfología, la tinción de Gram, la prueba de catalasa, la prueba de coagulasa de plasma de conejo, así como la prueba de manitol y gelatina.

Asimismo, todos los aislamientos de *Staphylococcus aureus* fueron identificados por los patrones de hemólisis después de 24 hrs. de incubación a 37°C. La hemólisis fue registrada como alfa hemólisis, y beta hemólisis, doble hemólisis (alfa +beta), y negativa (no hemólisis).

Las colonias que desarrollaron en agar McConkey y azul eosina de metileno, se identificaron por su morfología microscópica y pruebas bioquímicas.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para determinar la frecuencia de mastitis subclínica se utilizó la prueba de California para mastitis (CMT). Se muestrearon un total de 382 cuartos, de los cuales 270 resultaron negativos a la prueba de California.

28 vacas de un total de cincuenta, fueron las que resultaron afectadas: Es decir, que presentaron reacción positiva de un cuarto o más. El número de cuartos afectados con mastitis subclínica (112) fueron: delantero derecho, 28; trasero derecho, 27; delantero izquierdo, 32; trasero izquierdo, 25 (Cuadro 1).

Cuadro 1. Frecuencia y porcentaje de cuartos afectados con mastitis

Grado de infección	Cuartos				Total	%
	DD	TD	DI	TI		
Negativos	68	68	64	70	270	70.68
Trazas	11	15	20	14	60	15.71
1	9	4	6	3	22	5.76
2	5	2	4	7	18	4.71
3	3	6	2	1	12	3.14
Mastitis clínica	0	0	0	0	0	0.00
Cuartos afectados	28	27	32	25	112	29.32
Cuartos totales	96	95	96	95	382	100.00
Cuartos ciegos	0	2	0	0	2	

Fuente: Investigación directa, 2010-2011.



En base a lo anterior, la frecuencia de mastitis subclínica encontrada en Cherán, Michoacán, durante el periodo de estudio fue de 112 (29.32%) cuartos afectados, la cual resulta elevada en comparación con lo que señalan (Philpot y Nickerson, 1992), ya que en estudios realizados en Estados Unidos, en la mayoría el nivel de infección fue del 12%. Y de acuerdo a la Dairy Herd Improvement Association (DHIA), ésta señala que un nivel aceptable de prevalencia por hato por año es de un 15% (Dahi, 1988).

Sin embargo, el porcentaje encontrado en este estudio es bajo en comparación con lo reportado por Tena (1999), el cual encontró que la prevalencia de ganado afectado durante el periodo de estudio fue de un 80.31%. El estudio mencionado fue realizado en 8 establos de 13 vacas en producción de Téjaro, Michoacán.

Por otra parte, los resultados del examen bacteriológico de las muestras de leche de los cuartos de la glándula mamaria de las 127 vacas en ordeña, demostraron que en un total de 85 muestras se identificaron 15 (17.65%) aislamientos de *Staphylococcus aureus*, principal agente causante de mastitis bovina contagiosa, que ocasiona las pérdidas económicas más considerables a la industria lechera en el mundo (Lammers, 2000), 50 (58.82%) correspondieron a estafilococos coagulasa negativos, los cuales representan el grupo de bacterias aisladas más frecuentemente (Zecconi, 2002), de las granjas lecheras en estudio, 9 (10.59%) fueron identificados como estreptococos esculina positivos, mientras que el resto 11 (12.94%) fueron identificados como coliformes (Cuadro 2).



Cuadro 2 Patógenos identificados en las muestras de leche recolectadas de vacas con mastitis subclínica en Cherán, Michoacán.

Microorganismos	No. de muestras	%
Estafilococos coagulasa positivos (<i>S. aureus</i>)	15	17.65
Estafilococos coagulasa negativos	50	58.82
Estrep. Esculina positivos	9	10.59
<i>Acinetobacter</i>	4	4.70
<i>Moraxella</i>	4	4.70
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	1.18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1.18
<i>Serratia</i>	1	1.18

Fuente: Investigación directa, 2010-2011.

En un estudio realizado por Tirante y col. En Argentina, encontraron una Prevalencia de *Staphylococcus aureus* de 31. 57% (Tirante, 1998).

Una predominancia de mastitis causada por *Staphylococcus aureus* en vacas ha sido también reportado por (Bedolla *et al.* 2005). En este estudio realizado en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, se encontró que el *Staphylococcus aureus* y los estafilococos



coagulasa negativos fueron las bacterias más frecuentemente aisladas de las vacas con mastitis en un 27 y 73% respectivamente.

En el presente trabajo, todos los aislamientos de *Staphylococcus aureus* fueron identificados por los patrones de hemólisis después de 24 hrs. de incubación a 37°C. Asimismo, la hemólisis fue registrada como α , β , doble ($\alpha + \beta$), y negativa (no hemólisis), como lo señalan Saran y Chaffer, (2000); Boerlin *et al.* (2003); Zschock *et al.* (2004); Bedolla *et al.* (2004).

En otro estudio realizado por Bedolla *et al.* (2007) en Cotzio, Michoacán, se encontró también que los principales agentes patógenos causantes de mastitis en los hatos lecheros fueron los estafilococos coagulasa negativos, los cuales se encontraron en un 39% de las muestras, seguidos por los *Streptococcus spp* encontrados en un 36% de éstas. Lo cual demostró que la mastitis es causada principalmente por la falta de higiene en los corrales y durante el proceso de la ordeña, ya que estos patógenos no son propios de la glándula mamaria sino que son transmitidos por el ordeñador a la vaca por contacto directo.

Asimismo, Resendiz *et al.* (2007) en un estudio realizado en Maravatío, Michoacán encontraron que el *Staphylococcus epidermidis* fue el patógeno más comúnmente identificado (31% de las muestras), siendo este el principal agente ambiental, mientras que por otro lado identificaron también al *Staphylococcus aureus* solamente en un 12.7% del total de muestras realizadas.

Por otra parte, los resultados del examen bacteriológico de las muestras de leche de los cuartos de la glándula mamaria de las 78 vacas en ordeña obtenidos por Galeana



et al., (2007) realizado en Patzcuaro, Michoacán, identificaron 64 (18.44%) aislamientos de *Staphylococcus aureus*, el cual es considerado el principal agente causante de mastitis bovina contagiosa, que ocasiona las pérdidas económicas más considerables a la industria lechera en el mundo, mientras que el 24.49% (85) correspondieron a estafilococos coagulasa negativos, los cuales representaron el grupo de bacterias aisladas más frecuentemente. Un 6.91% (24) correspondieron a estreptococos esculina positivos, 0.57% a *Eschericia coli* y el resto 122 (35.46%) fueron identificados como otros patógenos causantes de mastitis.

En síntesis, como se puede pues observar en estos últimos 3 estudios realizados en diferentes municipios del estado de Michoacán, los estafilococos coagulasa negativos son los patógenos más frecuentemente identificados en el laboratorio, por lo que se deben tomar las medidas adecuadas de higiene, limpieza y manejo en los hatos lecheros por parte de los productores para de esta manera evitar excesivas pérdidas económicas.



CONCLUSIONES

Se concluye que la frecuencia de mastitis subclínica en este municipio fue de un 29.32%, lo que representa un problema serio para los productores participantes en este estudio, ya que los niveles encontrados son moderadamente altos en comparación con otros estudios realizados por otros investigadores, por lo tanto, las pérdidas económicas que ocasiona en la producción láctea resultad ser elevadas.

Por otra parte, se encontró que los agentes causantes de la mastitis en los hatos lecheros en estudio, es causada principalmente por estafilococos coagulasa negativos, seguida por el *S. aureus*, agente principal causante de la mastitis contagiosa, que es una de las enfermedades más costosas y prevalentes en el ganado lechero y difícil de erradicar, así como por los estreptococos esculina positivos y bacilos coliformes. Por lo que se recomienda implementar un programa adecuado de control de la mastitis que comprenda las medidas adecuadas en el uso de desinfectantes de la ubre, higiene y desinfección de los pezones antes y después de la ordeña, desecho, mantenimiento y lavado adecuado de los utensilios y del equipo de ordeño, así como una terapia antibiótica intramamaria adecuada de las infecciones.



LITERATURA CITADA

Aaerstrup, F. M. and Jensen N. M. 1997. Prevalence and Duration of Intramammary Infection in Danish Heifers During the Peripartum Periodo J. Dairy Sci. 80:307-312.

Akineden, Ö., Annemüller, C., Hassan, A. A., Lämmner, C., Wolter, W. y Zschöck, M. 2001 Toxin Genes and other Characteristics of *Staphylococcus aureus* Isolates From Milk of Cows with Mastitis. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology.

Almeida, R. A, Matthews, K. R., Cifrian, E., Guidry, A. J. and Oliver, S. P. 1996. *Staphylococcus aureus* invasion of bovine mammary epithelial cells. J. Dairy Sci. 79:121-126.

Ariznabarreta, A., Gonzalo, C., San Primitivo, F. 2002. Mycrobiological Quality and Somatic cell Count of Ewe Milk with Special Referente to Staphylococci. J. Dairy Science. 85:1370-1375.

Barkema, H. W., Schukken, Y. H., Lam, T. J. G. M., Briboer, M. L., Benedictus, G., Brand, A. 1999. Management Practices Associated with the Incidence Rate of Clinical Mastitis. J. Dairy Sci. 82: 1643-1654.

Barker, A. R., Schrick, F. N., Lewis, M. J., Dowlen, H. H., Oliver, S. P. 1998. Influence of Clinical Mastitis During Early Lactation on Reproductive Performance of Jersey Cows. J Dairy Sci. 81:1285–1290.



Bayles, K. W., Wesson, C. A., Liou, L. E. , Fox, L. K., Bohach, G. A., y Trumble, W. R., 1998. Intracelular *Staphylococcus aureus* Escapes the Endosome and Induces Apoptosis in Epithelial Cell. *Infection and Immunity*. 66: 336-342

Bedolla, C. C. y Castañeda, V. H. 2003. Agentes patógenos causantes de la mastitis bovina. *Cuatro Vientos*. No. 38:27-29.

Bedolla, C. C. 2004. Mastitis Bovina. *Cuatro Vientos* No. 41 febrero-marzo. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. pp. 24-25.

Bedolla, C. C., Mejía, A. R., Renteria, S. I., Conejo, N. J. y Castañeda, V. H. 2005. Métodos para la identificación de *Staphylococcus aureus* aislados de leche de vacas con mastitis del municipio de Tarímbaro, Michoacán, México. XII Congreso Latinoamericano de Buiatría y VII Jornadas Chilenas de Buiatría. Valdivia, Chile. 15 al 18 de Noviembre.

Bergonier, D. 2003. Mastitis of dairy small ruminants. *Vet. Res.* 34(5) 689 - 716.

Bedolla, C. C., Lucas, A. G., Mejía, A. R., Edith García, C. E., Cortés, I. F., Castañeda, V. H., Castañeda, V. M. A., José Guadalupe Pérez, C. J. G., Juan Carlos Serratos, A. J. C., Wolter, W. 2007. Etiología de la mastitis bovina en Cotzio, Michoacán. IV Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia. Realizado del 26 al 28 de Mayo de 2007 en León, Guanajuato.



Bjorland, J., Sunde, M. and Steiner, W. 2001. Plasmid-Borne smr Gene Causes Resistance to Quaternary Ammonium Compounds in Bovine *Staphylococcus aureus*. Journal of Clinical Microbiology. 39:3999-4004.

Blowey, R. y Edmonson, P. 1999. Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche. Ed. Acribia, S. A. Zaragoza (España). 208 pp.

Boerlin, P., Kuhnert, P., Hussy, D., Schaellibaum, P. 2003. Methods for identification for *Staphylococcus aureus* isolates in case of bovine mastitis. Journal of Clinical Microbiology. 41(2):767 a 771.

Bjorland, J., Sunde, M., and Steinar, W. 2001. Plasmid- Borne smr Gene Causes Resistance to Quaternary Ammonium Compounds in Bovine *Staphylococcus aureus*. Journal of Clinical Microbiology. 39: 3999-4004.

Boulangier, D., Bureau, F., Mélotte, D., Mainil, J., Lekeux, P. 2003. Increased Nuclear Factor F e B Activity in Milk Cells of Mastitis – Affected Cows. J. Dairy Sci. 86:1259-1267.

Bradley, J. y Green, J. 2001. Adaptation of *Escherichia coli* to the Bovine Mammary Gland Journal of Clinical Microbiology. 39:1845-1849.

Brank, M., Le Crand, D., Poumarat, F., Bezille, P., Rosengarten, R. y Citti, C. 1999. Development of a Recombinant Antigen for Antibody Based Diagnosis of Mycoplasma Bovis Infection in cattle. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 6: 861-867



Brooks, G., Batel, J., Morse, S. 2002. Microbiología Médica. Ed. Manual Moderno, S. A. de C. V. México, DF. pp. 114-118.

Calvinho, L. F., Almeida, R. A and Oliver, S P. 1998. Potential virulence factors of *Streptococcus dysgalactiae* associated with bovine mastitis Veterinary Microbiology. 61:93-110

Ceron-Muñoz, M., Tonhati, H., Duarte, J., Oliveira, J., Muñoz-Berrocal, M., Jurado-Gómez, H. 2002. Factors Affecting Somatic Cell Counts and Their Relations with Milk and Milk Constituent Yield in Buffaloes. J. Dairy Sci. 85:2885-2889.

Correa, M. G. P., Marin, J. M. 2002. O-serogroups, eae gene and EAF plasmid in *Escherichia coli* isolates from cases of bovine mastitis in Brazil. Veterinary Microbiology. 85:125-132.

Correa, M. G. P. y Marin, J. M. 2002. O-serogroups, eae gene and EAF plasmid in *Escherichia coli* isolates from cases of bovine mastitis in Brazil. Veterinary Microbiology. 85: 125-132.

Cucarella, C., Tormo, M. A, Knecht, E., Amorena, B., Lasa, I., Foster, T. J. and Penadés, J. R. 2002. Expression of the Biofilm-Associated Protein Interferes with Host Protein Receptors of *Staphylococcus aureus* and Alters the Infective Process. Infection and Immunity. 70:3180-3186.



Dahi, J. C. 1988. Calidad de la leche y mejoramiento de la producción. The Dairy Equipment. Division of Dec. Internacional, Inc. p. 150.

De Mol, R. M. 2000. Chapter 1 "A framework for automated dairy cow status monitoring". Automated detection of oestrus and mastitis in dairy cows. PhD thesis. Wageningen University, Netherlands: 1-11.

Devriese, I. A., Baelea, M., Venechoutteb, A., Haesebroucka, M. F. 2002. Identification and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus chromogenes* isolates from intramammary infections of dairy cows. *Veterinary Microbiology*. 87: 1775-182.

Djabri, B., Barielle, N., Beaudeau, F., Seegers, H. 2002. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta analysis. *Vet. Res.* 33:335-357.

Dos Santos, J. N., Netto dos Santos, K.R., Gentiline, E., Sordelli, D., de Freire Bastos, M. C. 2002. Phenotypic and genetic characterization of bacteriocin-producing strains of *Staphylococcus aureus* involved in bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*. 85: 133-144.

Ferens, W. A., Davis, W. C., Hamilton, M. J., Park, Y. H., Deobald, C. F., Fox, L. and Bohach, G. 1998. Activation of bovine Lymphocyte Subpopulations by Staphylococcal Enterotoxin C. *Infection and Immunity*. 66: 573-580.



Field, T. R., Ward, P. N., Pedersen, L. H. , and James, A., Leigh, J. A. 2003. The Hyaluronic Acid Capsule of *Streptococcus uberis* Is Not Required for the Development of Infection and Clinical Mastitis. *Infection and Immunity*. 71(1):132-139.

Fitzgerald, R. J., Monday, S. R., Foster, T. J., Bohach, G. A., Hartigan, P. J., Meaney, W. J., y Smyth, C. J. 2001. Characterization of a Putative Pathogenicity Island from Bovine *Staphylococcus aureus* Encoding Multiple Superantigens. *Journal of Bacteriology*. 183: 63-70.

Fleury, B., Bergonier, D., Berthelot, X., Schlatter, Y., Frey, J. y Viles, E. M. 2001. Characterization and Analysis of a Stable Serotype-Associated Membrane Protein of *Mycoplasma agalactiae*. *Journal of Clinical Microbiology*. 39: 2814-2822.

Galeana, T., Cisneros, J. J., Solís, E. I., Ortega, V. M., González, E., Mejía, R, Rentería, I. y Bedolla, C. 2007. Etiología de la mastitis bovina en el municipio de Pátzcuaro, Michoacán. IV Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia. Realizado del 26 al 28 de Mayo de 2007 en León, Guanajuato.

Gresham, H. D., Lowrance, J. H., Caver, T. E., Wilson, B.S., Cheung, A. L. and Lindberg, F. P. 2000. Survival of *Staphylococcus aureus* Inside Neutrophils Contributes to Infection. *The Journal of Immunology*. 164:3713 -3722.



Guizar, F. J. I. y Bedolla, C. J. L. C. 2008. Determinación de la prevalencia de mastitis bovina en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, mediante la prueba de California - Determination of the prevalence of bovine mastitis in the municipality of Tarimbaro, Michoacan, by means of the California test). Revista electrónica de Veterinaria. Vol. IX No. 10. pp.1-34.

Hassan, A. A., Khan, I. U., Abdulmawjood, A. y Lämmler, C. 2001. Evaluation of PCR Methods for Rapid Identification and Differentiation of *Streptococcus uberis* and *Streptococcus parauberis*. Journal of Clinical Microbiology. 39: 1618-1621.

Heringstad, B., Klemetsdal, G., Ruane, J., 2000. Selection for mastitis resistance in dairy cattle: a review with focus on the situation in the Nordic countries. Livestock Production Science. 64:95-106.

Hockett, M. E., Hopkins, F. M., Lewis, M. J., Saxton, A. M., Dowlen, H. H., Oliver, S. P., Schrick, F. N. 2000. Endocrine profiles of dairy cows following experimentally induced clinical mastitis during early lactation. Animal Reproduction Science. 58:241-251.

Hommeiz, J., Devriese, L. A., Venechoutte, M., Riegel, P., Butaye, P., y Haesebrouck, F. 1999. Identification of Nonlipophilic *Corynebacterium* Isolated from Dairy Cows with Mastitis. Journal of Clinical Microbiology. 37: 954-957.

Hultgren, J. 2002. Foot leg and udder health in relation to housing changes in Swedish dairy herds. Preventive Veterinary Medicine. 53:167-189.



INEGI. (Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática). Anuario Estadístico del Estado de Michoacán. 2002. Censo General de Población y Vivienda. 85 pp.

Johnsen, L. B., Poulsen, K., Kilian, Mogens. y Petersen, T. E. 1999. Purification and Cloning of a Streptokinase from *Streptococcus uberis*. *Infection and Immunity*. 67: 1072-1078.

Jost, B. H., Songer, J. G. y Billington, S. J. 2001. Cloning, Expression, and Characterization of a Neuraminidase Gene from *Arcanobacterium pyogenes*. *Infection and Immunity*. 69: 4430-4437.

Kaipainen, T., Pohjanvirta., Shpigel, N. Y., Shwimmer, A., Pyörälä, S., Pelkonen, S. 2002. Virulence Factors of *Escherichia coli* isolated from bovine clinical mastitis. *Veterinary Microbiology*. 85: 37-46.

Kerr, D. E, Plaut, K., Bramley, A. J., Williamson, C. M., Lax, A. J., Moore, K. 2001. Lysostaphin expression in mammary glands confers protection against staphylococcal infection in transgenic mice. *Nature Biotechnology*. 19:66-70.

Krukowski, H., Tietze, M., Majewski, Rózan'ski, P. 2000. Survey of yeast mastitis in Dairy herds of small-type farms in the Lublin region Poland. *Mycopathologia*. 150: 5-7.



Lammers, A., Nuijten, P. J. M., Kruijt, E., Stockhofe-Zurwieden, N., Vecht, U. Smith. H. E. y van Zijdeveld, F. G. 1999. Cell tropism of *Staphylococcus aureus* in bovine mammary gland cell cultures. *Veterinary Microbiology*. 67: 77-89.

Lammers, A., Kruijt, E., van de Kuijt, C., Nuijten, P. J. M. and Smith, H. E. 2000. Identification of *Staphylococcus aureus* genes expressed during growth in milk: a useful model for selection of genes important in bovine mastitis? *Microbiology*. 46:981-987.

Las Heras, A., Vela, A. I., Fernández, e., Legaz, E., Domínguez, L. y Fernández-Garayzábal, J. F. 2002. Inusual Outbreak of Clinical Mastitis in Dairy Sheep Caused by *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus*. *Journal of Clinical Microbiology*. 40: 1106-1108.

Lin, J., Hogan, J. S. y Smith, K. L. 1999. Antigenic Homology of the Inducible Ferric Citrate Receptor (FecA) of Coliform Bacteria Isolated from Herds with Naturally Occurring Bovine Intramammary Infections. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 6:920-927.

Martinez, G., Harel J., Higgins, R., Lacouture, S., Daignault, D. y Gottschalk M. 2000. Characterization of *Streptococcus agalactiae* Isolates of Bovine and Human Origin by Randomly Amplified Polymorphic DNA Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*. 38:71-78.

Medina, R. J. J. 2002. Prevalencia e identificación de agentes etiológicos causantes de mastitis en el municipio de Vista Hermosa, Mich. Tesis de Licenciatura. FMVZ-UMSNH. 72 pp.



Menzies, P. I., Ramanoon, S. Z. 2001. Mastitis of sheep and goats. *Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice*. 17(2):333-358.

Middleton, J. R., Fox, L. K., Gay J. M., Tyler, J. W. and Besser, T. E 2002. Influence of *Staphylococcus aureus* Strain-type on MammaryQuarter Milk Somatic Cell Count and N-acetyl-a-D-glucosaminidaseActivity in Cattle from Eight Dairies. *J. Dairy Sci*. 85:1133-1140.

Møller, F. A., Daugaard, H. L., Jensen, N. E., 1999. Characterization of *Staphylococcus simulans* strains isolated from cases of Bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*. 66:165-170.

Nash, D. L., Rogers, G. W., Cooper, J. B., Hargrove, G. L., Keown, J. F. 2003. Heritability of Intramammary Infections at First Parturition and Relationships with Sire Transmitting Abilities for Somatic Cell Score, Udder Type Traits, Productive Life, and Protein Yield. *J Dairy Sci*. 86:2684-2695.

National Mastitis Council, INC. 1999. *Laboratory Handbook on Bovine Mastitis*. Revised Edition. NMC. Madisson. 222 pp.

Philpot, W. N. y Nickerson, S. C. 1992. *Mastitis: El contra ataque*. Surge International. Naperville, IL. USA.

Phuektes, P., Mansell, P. D., Dyson, R. S., Hooper, N. D., Dick, J. S. y Browning G. F. 2001. Molecular Epidemiology of *Streptococcus uberis* Isolates from Dairy Cows with Mastitis. *Journal of Clinical Microbiology*. 39:1460-1466.



Poyart, C., Pellegrini, Elisabeth., Gaillot, Olivier., Boumaila, C., Baptista, M. y Trieu-Cuot, Patrick. 2001. Contribution of Mn-Cofactored Superoxide Dismutase (SodA) to the Virulence of *Streptococcus agalactiae*. *Infection and Immunity*, 69(8): 5098-5106

Radostits, O. M., Gay, C. C., Blood, D. C. and Hinchcliff, K. W. 2002. *Medicina Veterinaria; tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. 9a ed. Vol. 1. Ed. McGraw - Hill Interamericana. Madrid, España, pp 711 -718.

Rainard, P. Corrales, C., Bere, M., Cochard, Th., Poutrel, B. 2003. Leucotoxis activies of the *Staphylococcus aureus* strains isolates in cows, sheep an goats whit mastitis: importance of Lukm/Lukf-pv- Leucotoxis. *Laboratory diagnostic clinic inmunology*. 10(2);272-277.

Reed, S. B., Wesson, C. A., Liou, L. E., Trumble, W. R., Schlievert, P. M., Bohach, G. A.,

Reséndiz, M., Hernández, R., Huerta, M., Ambríz, E., Medina, L. A., Arroyo, E. L., Rentería, I., Mejía, R., Bedolla, C. 2007. Agentes patógenos causantes de mastitis subclínica en Maravatío, Michoacán. IV Encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia. Realizado del 26 al 28 de Mayo de 2007 en León, Guanajuato.

Riffon, R., Sayasith, K., Khalil, H., Dubreuil, P., Drolet, M. y Lagace Roberson, J. R. *et al.* 1994. *J.Dairy Sci.* 77, 3354.

Riollet, C., Rainard, P. y Poutrel, B. 2000 Differential Induction of Complement Fragment and Inflammatory Cytokines during Intramammary Infections with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. 7:161-167.



Roesler, U., Scholz, H. y Hensel, A. 2001. Immunodiagnostic Identification of Dairy Cows Infected with *Prototheca zopfii* at Various. *Journal of Clinical Microbiology*. 39:539-543.

Rossitto, P. V., Ruiz, L., Kikuchi, Y., Glenn, K., Ruiz, K., Watts, J. L. and Cullor, J. S. 2002. Antibiotic susceptibility patterns for environmental streptococcus isolated from bovine mastitis in central California dairies. *J. Dairy Science*. 85:132-138.

Saran, A. y Chaffer, M. 2000. Mastitis y calidad de leche. *Inter.-Médica*. Buenos Aires. 194 pp.

Sawant, A. A., Shreekumar R. P. and Jayarao, B. M., 2002. Evaluation of Feve Selective Media For Isolation of Catalase-Negative Gram-positive Cocci from Bulk Tank Mil. *J. Dairy Sci*. 85:1127-1132.

Sears, P. M. y McCarthy, K. K. 2003. Diagnosis of mastitis for therapy decisions. *Vet Clin Food Anim*. 19: 93-108.

Schrack, F. N., Hockett, M. E., Saxton, A. M., Lewis, M. J., Dowlen, H. H., Oliver, S. P. 2001. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J. Dairy Sci*. 84:1407-1412.

Schukken, Y. H., Leslie, K. E., Barnum, D. A., Mallard, B. A., Lumsden, J. H., Dick, P. C., 1999. Experimental *Staphylococcus aureus* Intramamary Challenge in Late Lactation Dairy



Cows: Quarter and Cow Effects Determining the Probability of Infection. *Journal Dairy Science*. 82:2393-2401.

Smits, E., Burvenich, C., Guidry A. J. and Roets, E. 1998. In Vitro Expression of Adhesion Receptors and Diapedesis by Polymorphonuclear Neutrophils during Experimentally Induced *Streptococcus uberis* Mastitis. *Infection and Immunity*. 66:2529-2534.

Soltys, J. y Quinn, M. T., 1999. Selective Recruitment of T-Cell Subsets to the Udder During Staphylococcal and Streptococcal Mastitis: Analysis of Lymphocyte Subsets and Adhesion Molecule Expression. *Infection and Immunity*. 76:6293-6302.

Song, X., Perez-Casal, J., Bolton, A. and Potter, A, A. 2001. Surface Expressed Mig Protein Protects *Streptococcus dysgalactiae* against Phagocytosis by Bovine Neutrophil. *Infection and Immunity*. 69:6030- 6037.

Sordelli, D. O., Buzzola, F. R, Gomez, M. I., Steele-Moore, L., Berg, D., Gentilini, E. Catalano, M., Reitz, A. J., Tollersrud, T., Denamiel, G., Jeric, P. and Lee, J. C. 2000. Capsule Expression by Bovine Isolates of *Staphylococcus aureus* from Argentina: Genetic and Epidemiologic Analyses. *Journal of Clinical Microbiology*. 38: 846-850.

Takeuchi, S., Maeda, T., Hashimoto, N., Imaizumi, K., Kaidoh, T., Hayakawa, Y. 2001. Variation of the agr locus in *Staphylococcus aureus* isolates from cows with mastitis. *Veterinary microbiology*. 79:267-274.



Tena, M. M. 1999. Estudio epizootiológico de la mastitis en hatos lecheros en sistemas de explotación familiar. Tesis de Maestría. Morelia, Michoacán. pp. 56-82.

Tirante, J., Bas, D., Pol, M., Olivieri, R., Vandoni, R., Chávez, J. 1998. Prevalencia y etiología de infecciones intramamarias en vacas de 38 hatos lecheros en Argentina. Congreso Panamericano de Control de Mastitis y Calidad de la Leche. Yucatán, México. pp. 122-124.

Tollersrud, T., Kenny, K., Reitz, A. J. Jr. and Lee, J. C. 2000. Genetic and Serologic Evaluation of Capsule Production by Bovine Mammary Isolates of *Staphylococcus aureus* and Other spp. From Europe and the United States. *Journal of Clinical Microbiology*. 38: 2998-3003.

Vadillo, S., Piriz, S., Mateus, E. 2002. Manual de microbiología veterinaria. Ed. Mc Graw Hill. Madrid. Primera ed. pp. 431-439.

Vasi, J., Frykberg, L., Carlson, L. E., Lindberg, M. y Guss, B. 2000. M-Like Proteins of *Streptococcus dysgalactiae*. *Infection and Immunity*. 68:294-302.

Watts, J. L., De Lowery., Teel, J. F, y Rossbach, S. 2000 Identification of *Corynebacterium bovis* and other coryneforms isolated from bovine mammary glands. *J. Dairy Sci*. 83:2373-9.

Watts, J. L y Rossbach, S. 2000. Susceptibilities of *Corynebacterium bovis* and *Corynebacterium amycolatum* Isolates from Bovine Mammary Glands to 15 Antimicrobial Agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 44:3476-3477.



Wellenberg, G. J., van der Poel, W.H.M and Van Oirschot, J. T. 2002. Viral infections and bovine mastitis: a review. *Veterinary Microbiology*, Article 2361, pp. 2-21.

Wesson, C. A., Liou, L. E., Todd, K. M., Bohach, G. A., Trumble, W. R. and Bayles., K. W., 1998. Staphylococcus aureus Agr and Sar Global Regulators Influence Internalization and Induction of Apoptosis. *Infection and Immunity*. 66:5238-5243.

Yugueros, J. M., Soriano, A. C., Salazar, M. S., Moral, C. H., Ramos, S. S., Smeltzer, M.S. y Carrasco, G. N. 1999. Rapid Identification and Typing of Staphylococcus aureus by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of the aroA Gene. *Journal of Clinical Microbiology*. 37: 570-574.

Zadoks, R.N, B.E. Gillespie, H.W. Barkeman, O.C. Sampimon, S. P. Oliver. And y H. Schukken. 2002. Clinical, epidemiological and molecular characteristics of *Streptococcus uberis* infections in dairy herds. 130:335-349.

Zecconi, A. y Piccinini, R. 2002. Intramamary infections: epidemiology and diagnosis. XXVI World Buiatrics Congress: 346-359.

Zhang , S. y Maddox, C. W., 2000. Cytotoxic Activity of Coagulase-Negative Staphylococci in Bovine Mastitis. *Infection and Immunity*. 68:1102-1108.