

2007

Control de mastitis causada por staphylococcus en bovinos de raza holstein utilizando una bacterina autógena

David Sanchez Murillo
Universidad de La Salle, Bogotá

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

Citación recomendada

Sanchez Murillo, D. (2007). Control de mastitis causada por staphylococcus en bovinos de raza holstein utilizando una bacterina autógena. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/102

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Medicina Veterinaria by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

**CONTROL DE MASTITIS CAUSADA POR STAPHYLOCOCCUS EN BOVINOS
DE RAZA HOLSTEIN UTILIZANDO UNA BACTERINA AUTÓGENA.**

Presentado por:

David Sanchez Murillo

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
BOGOTÁ D.C.**

**CONTROL DE MASTITIS CAUSADA POR STAPHYLOCOCCUS EN BOVINOS
DE RAZA HOLSTEIN UTILIZANDO UNA BACTERINA AUTÓGENA.**

Trabajo de grado presentado por

David Sanchez Murillo

COD. 14991131

Director

Dr. José Luis Azumendi - Médico Veterinario

**UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
BOGOTÁ D.C.**

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. OBJETIVOS	3
1.1 OBJETIVO GENERAL	3
1.2 OBJETIVO ESPECIFICO	3
2. GLANDULA MAMARIA	4
2.1 ANATOMIA DE LA GLANDULA MAMARIA	4
2.2 ESTRUCTURA DE LA GLANDULA MAMARIA	7
2.3 IRRIGACIÓN SANGUÍNEA Y ESTRUCTURAS CAPILARES	9
2.3.1 Sistema Arterial	9
2.3.2 Sistema Venoso	10
2.3.3 Sistema Linfático	12
2.3.4 Inervación de la Ubre	13
2.4 FISIOLÓGÍA DE LA LACTACIÓN	13
2.5 DEFENSAS DEL PEZÓN Y DE LA GLANDULA MAMARIA CONTRA LA MASTITIS	14
3. FISIOPATOLOGÍA DE LA GLANDULA MAMARIA DURANTE EL PERIODO SECO	22
4. MASTITIS	25
4.1 DEFINICIÓN	25
4.2 FISIOPATOLOGIA	25
4.3 ESTABLECIMIENTO DE LA ENFERMEDAD	27
4.4 PATOGENIA	30
4.4.1 Fase de invasión	30
4.4.2 Fase de infección	30
4.4.3 Fase de inflamación	31
4.5 TRANSMISIÓN	31

4.6	AGENTES ETIOLÓGICOS	33
4.6.1	Microorganismos contagiosos	33
4.6.1.1	<i>Streptococcus agalactiae</i>	35
4.6.1.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	36
4.6.1.3	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	36
4.6.1.4	<i>Streptococcus uberis</i>	37
4.6.2	Microorganismos ambientales	38
4.6.2.1	Bacterias coliformes	38
4.6.3	Microorganismos oportunistas	39
4.7	CLASIFICACIÓN DE LAS MASTITIS	39
4.7.1	Mastitis Subclínica	40
4.7.2	Mastitis Clínica	41
4.7.2.1	Mastitis subaguda	42
4.7.2.2	Mastitis aguda	42
4.7.2.3	Mastitis crónica	43
4.8	DIAGNOSTICO	44
4.8.1	Examen físico de la ubre	45
4.8.2	Aspecto de la leche	45
4.8.3	Prueba de California mastitis	46
4.8.4	Cultivo Bacteriano	49
4.8.5	Epidemiología	49
4.9	PRINCIPALES METODOS DE CONTROL	50
4.9.1	Mantenimiento y uso adecuado de la maquina de ordeño	50
4.9.2	Sellamiento	50
4.9.3	Tratamiento temprano de casos clínicos	50
4.9.4	Secado adecuado de los animales	51
4.9.5	Eliminación de vacas con mastitis crónica	52
4.10	TERAPIAS ANTIBIÓTICA INTRA MAMARIA DE SECADO	52
4.11	TRATAMIENTO	53
5.	VACUNAS	56
5.1	VACUNACION	56

5.2	USO DE VACUNAS EN LA PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN POR <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> EN LA VACA LECHERA.	57
6.	CELULAS SOMATICAS	58
6.1	FACTORES QUE AFECTAN EL NUMERO DE CELULAS SOMATICAS	63
6.1.1	El Personal	63
6.1.1.1	Sellado de pezones después del ordeño	63
6.1.1.2	Eliminación de vacas crónicas	63
6.1.1.3	Secado	64
6.1.1.4	Organización de los ordeños	64
6.1.1.4	Manejo del hato	64
6.1.2	Edad	65
6.1.3	Etapas de la Lactancia	65
6.1.4	Estación del Año	66
6.1.5	Variación Durante el Día	66
6.1.6	Higiene	67
6.1.7	Equipo de Ordeño e Instalaciones	67
6.1.8	Medio Ambiente	67
7.	MATERIALES Y METODOS	69
7.1	MATERIALES	69
7.2	METODOLOGIA	70
7.2.1	Localización	70
7.2.2	Población Y Muestra	70
7.2.3	Métodos Y Procedimientos	70
8.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	76
8.1	RESULTADOS DEL CONTEO DE CELULAS SOMATICAS	76
8.2	RESULTADOS DE CALIFORNIA MASTITIS TEST	77
8.2.1	Vacas Marcando con CMT Positivo	77
8.2.2	Pezones Afectados	79
8.2.3	Porcentaje de Pezones Afectados	80

8.2.4 Pezones Marcaron 3 o mas cruces en la Prueba de Mastitis	
California Test	81
8.3 RESULTADOS REPRODUCTIVOS	82
8.4.1 Vacas Primer Servicio	82
8.4.2 Vacas Repetidoras	83
8.4.3 Vacas Cargadas	85
8.4.4 Días Abiertos	86
8.4.5 Servicio por Concepción	87
8.5 PRODUCCIÓN DE LECHE	88
CONCLUSIONES	89
RECOMENDACIONES	90

LISTA DE FIGURAS

	Pág
Figura No 1. Mecanismo de defensa del pezón	15
Figura No 2. Conformación del pezón	17
Figura No 3. Vía de entrada y distribución de la infección	26
Figura No 4. Formas de contaminación	32
Figura No 5. Prueba de California Mastitis Test	48
Figura No 6. Conteo de Células Somáticas	76
Figura No 7. Resultados de vacas que marcaron positivo al CMT	78
Figura No 8. Pezones afectados	79
Figura No 9. Porcentaje de Pezones Afectados	80
Figura No 10. Pezones que marcaron 3 o mas cruces	81
Figura No 11. Vacas Preñadas con solo un Servicio	82
Figura No 12. Número Vacas Repetidoras	83
Figura No 13. Porcentaje de Animales que Repitieron Celo	84
Figura No 14. Número de Vacas Cargadas	85
Figura No 15. Porcentaje de Vacas Cargadas	85
Figura No 16. Número de Días abiertos	86
Figura No 17. Número de Servicios por Concepción	87
Figura No 18. Promedio de Producción de Leche	88

LISTA DE TABLAS

	Pág
Tabla No 1. Tipos de microorganismos	34
Tabla No 2. Composición de la leche cuando la vaca presenta Mastitis	46

DIRECTOR

Dr. JOSE LUIS AZUMENDI

JURADO

Dr. GERMAN RODRIGUEZ

JURADO

Dra. MARIA TERESA GAVIRIA

RESUMEN

El objetivo de este trabajo es comprobar la eficacia del control de mastitis con una bacterina autógena, elaborada a partir del agente etiológico que se aisló en la misma finca donde se hizo el estudio. El comportamiento se evaluó teniendo en cuenta el conteo de células somáticas (CCS) y la prueba de California Mastitis Test (CMT), en estos dos parámetros se basa el estudio. Para esto se escogieron dos grupos al azar conformado cada uno por 15 vacas, uno de vacas sanas o que presentan mastitis subclínica (Grupo A) y otro grupo de vacas enfermas que presentaron mastitis clínica (grupo B). A cada grupo se le hizo un seguimiento aproximado de un mes donde se pudo aislar el agente causante de la infección y con base en esto hacer la vacuna. En la semana en que se le aplicó la primera dosis a cada animal de la vacuna se empezaron a hacer CCS en muestras de leche. Al mismo tiempo en el ordeño se le hacía un examen por palpación para evaluar la consistencia y se le hacía la prueba de CMT. Luego una muestra de leche era transportada al laboratorio, allí con una gota de leche en un lámina después de un procedimiento se hacía el CCS. Esto se hizo una vez por cada ocho días, durante 6 semanas consecutivas, luego pasó hacerse cada 15 días por un mes, para que diera un total de 8 muestreos. El grupo A mostró un CCS al comienzo de 124.667 células somáticas/ml, mientras que el grupo B dio 872.667 de células somáticas/ml, con un elevado número elevado de pezones que dieron positivo a la CMT, a los ocho días se les hizo la segunda aplicación de la vacuna y se hizo el CCS dando un incremento en ambos grupos de células somáticas. A los ocho días se observó un incremento en el CCS en el grupo A recuento dio 199.467 cs/ml y en el grupo B 1.097.67 cs/ml y un número de pezones que marcaron positivo tuvo un incremento muy insignificante que fue de 78 de la semana anterior a 88. A la semana número 10, al término del estudio los resultados que se obtuvieron fueron, en el grupo A fue 99.733 cs/ml y del grupo B 623.333 cs/ml y los número de pezones que marcaron positivo bajaron hasta 51. El CCS en la vacas del grupo B, tiende a seguir bajando hasta llegar a un nivel normal de CS.

ABSTRACT

The objective of this work is to verify the effectiveness of the control of mastitis with an autogenous bacterin, elaborated from the etiologic agent isolated itself in same property where the study became. The behavior was evaluated considering the count of somatic cells (CSC) and the test of California Mastitis (CMT), on these two parameters is based the study. For this two groups chose themselves at random conformed each one by 15 cows, one of healthy cows or that presented subclinical mastitis (Group A) and another group of ill cows that presented clinical mastitis (Group B). To each group a pursuit was made him more or less of a month where the agent could be isolated cause of the infection and on the basis of this to make the vaccine. In the web that I a applied to him dose of the vaccine began to make CSC in samples of milk. At the same time in the milking towards a palpation to see the consistency of udder and him to him towards the test of CMT, son this milk sample was transported to the laboratory, whit a drop of milk in laminates there after a procedure towards the CSC in the microscope. This was made once by every eight days, during 6 weeks consecutive, son sep to be made every 15 days by a month, so that it gave a total us of 8 samplings. The group to in the beginning showed a CSC of 124.667 of somatic cells/ml, whereas group B gave 872.667 of somatic cells/ml, whit elevating, teh number high of nipples that gave positive to the CMT, to the eight days the second application of the vaccine was done to them and an increase in both groups was made the CSC giving us of somatic cells. The eight diasse the observe an increase in the CSC in the group to count gave 199.467 cs/ml and in 1.097.667 group Bcs/ml and a number of nipples that maarked positive had a very insignificantly increase that was of 78 of the web previous to 88. to the web number then at the end of the study results that were obtained were, in the group to cs/ml was 99.733 and of 623.333 group B cs/ml and the number of nipples that marked positive lowered up to 54. the CSC in the cows od group B tends to continue lowring until arriving at a normal level of SC.

INTRODUCCION

En la actualidad, a la vaca lechera se le exige una producción más elevada. Gracias a genética se han conseguido ubres muy desarrolladas y productivas pero también muy sensibles a la mastitis.¹

La mastitis es hoy en día una de las enfermedades que se presenta con gran frecuencia en los hatos lechero y genera grandes pérdidas.

La mastitis es una inflamación de la ubre, causada por uno o varios agentes infecciosos, el agente infeccioso que se encuentra con mas frecuencia es el *Staphylococcus aureus*, seguido por el *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Mycoplasma sp* y *Corynebacterium bovis*.

¹ KLEINSCHROTH R Ernst, RABOLD Kart, DENEKE Jurgen; 1991; La Mastitis; Pag 6

También se puede presentar por microorganismos ambientales *Streptococcus no agalactiae* y *Enterobacterias*, o por microorganismos oportunistas como los *Staphylococcus coagulasa* negativos.

Esta enfermedad se presenta en dos formas, una clínica y otra subclínica siendo la primera la que más causa lesión a la ubre.

El momento más difícil de detectar este problema es cuando está en la fase subclínica, ya que casi no muestra síntomas y solo se detecta por la elevada concentración celular en la leche o por la variación de su composición química. Esto hace que no se detecte el problema a tiempo.

La forma clínica si es muy evidente, contrario a la anterior, ya que en esta fase es donde los presentan los signos de esta enfermedad tales como inflamación de la ubre, enrojecimiento, dolor a la palpación y además de las alteraciones de la leche como es la presencia de grumos, pus e incluso sangre.

La prevención es el primer paso en una lucha que será constante contra la mastitis.

Unas de las formas de prevenir y controlar esta enfermedad es teniendo un buen manejo del hato y de las instalaciones.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el comportamiento de la mastitis en bovinos de raza Holstein al inmunizarlos con la cepa de *Staphylococcus aureus* aislada en la misma finca.

1.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Evaluar el comportamiento del recuento de células somáticas.

Evaluar el comportamiento clínico de los animales experimentales.

Probar la efectividad de una bacterina autogena para el control de la mastitis por *Staphylococcus*.

2. GLANDULA MAMARIA

2.1 ANATOMIA DE LA GLANDULA MAMARIA

Las estructuras que la vaca utiliza para producir leche se encuentran localizadas en la ubre, la cuál es una derivación de una glándula sudorípara sumamente modificada.

Como tal, el revestimiento interno de los pezones y de los conductos de la glándula mamaria es esencialmente piel modificada.

La leche es producida por células que revisten los alvéolos, pequeñas estructuras sacciformes situadas profundas en el interior de la glándula mamaria. Rodeando a los alvéolos, existen células mioepiteliales o musculares.

Cuando se produce el estímulo para la bajada de leche, estas células se contraen, exprimiendo leche desde los alvéolos hacia los conductos.

Desde allí, la leche fluye hacia la cisterna de la glándula (o ubre) y después hacia el propio pezón, donde se encuentra lista para ser extraída de la ubre.

Naturalmente, en el intervalo entre un ordeño y el siguiente, en las vacas de más elevada producción en particular, habrá algo de leche almacenada en los conductos, en las cisternas y en los pezones.²

² BLOWEY Roger, EDMONDSON Peter; 1995; Control de la Mastitis en Granjas de Vacuno de Leche: Pag 7

La ubre está compuesta por cuatro cuartos o glándulas mamarias la cual esta recubierta por la piel. Cada cuarto es una glándula secretora de leche separada, la que escurre por su propio pezón.

La apariencia de la ubre es muy variada, dependiendo de la edad del animal y de su estado funcional, así como de las características individuales y raciales.

Un surco mediano en la superficie de la piel y de variada profundidad demarca los cuartos derechos de los izquierdos.

En ocasiones y en animales viejos, se puede apreciar también un leve surco delimitante entre los cuartos anteriores y posteriores por la superficie de la piel de la ubre.

En vacas lecheras de alta producción, la ubre alcanza grandes dimensiones, llegando a pesar más de 80 kilos. El tamaño no es un buen indicador de productividad. Ciertas características de conformación, tamaño, forma y posición de los pezones tienen importancia práctica en la determinación de la compatibilidad de la ubre al ordeño manual o mecánico e incluso a la adaptabilidad de tipo lechero en programas de selección genética.³

La mayor parte de la superficie dorsal de la ubre está conformada para corresponder a la pared abdominal; por debajo de la pelvis es más irregular y se encuentra comprimida entre las extremidades posteriores.

La suspensión de la ubre se obtiene por fuertes ligamentos suspensores planos que se amarran al hueso pélvico y a fuertes tendones de los músculos abdominales en la región de la pelvis.

³ SARAN Arthur, SHAFFER Marcelo; 2000; Mastitis y Calidad de Leche; Pag 2

Las fibras del ligamento lateral o externo se extienden sobre los costados derecho e izquierdo de la ubre y se juntan con fibras del ligamento medial o central que pasa entre los dos medios: izquierdo y derecho de la ubre.

Los ligamentos se encuentran conectados con los tejidos conectivos profundos de la ubre por bandas fibrosas y entramadas de tejidos.

Los medios derecho e izquierdo de la ubre en realidad están suspendidos por fuertes cabestrillos ligamentosos al hueso pélvico.

Las superficies opuestas de los dos ligamentos medios y centrales están sujetas juntas por tejido conectivo.

Las fibras del ligamento medial son elásticas, en cambio las del ligamento lateral son rígidos .

A medida que la ubre se va llenando con leche y aumenta su peso, el ligamento medial se estira, quedando fijas las fibras del ligamento lateral, causando la abertura hacia fuera en la posición del esfínter de los pezones, característica de la ubre repleta previo al ordeño.

La glándula mamaria está conectada con la cavidad abdominal sólo mediante los canales inguinales, dos pasajes estrechos y oblicuos a través de la pared abdominal, uno a cada lado, a través de los cuales pasan a la ubre vasos sanguíneos y linfáticos y troncos nerviosos.⁴

⁴ SISSON, J. Anatomía de los animales domésticos. Tomo I. Pag 4542

2.2 ESTRUCTURA DE LA GLANDULA MAMARIA

La estructura detallada de la ubre sólo puede ser determinada a través del examen microscópico, mediante técnicas histológicas especiales. De esta forma se pueden diferenciar los alvéolos y los conductos lácteos.

Los alvéolos son saquitos muy pequeños en forma de pera, compuestos de una sola capa de células epiteliales sobre la membrana basal fina. El alveolo tiene entre 0.1 a 0.2 mm de diámetro. Cuando está distendido, puede llegar a 0.5 mm.⁵

La cavidad interna del alvéolo se proyecta al sistema evacuador de la glándula mediante un conducto propio que desemboca en uno de mayor diámetro, al cual confluyen los conductos de los alvéolos vecinos.

Al grupo de alvéolos vecinos que desembocan en un conducto común se les denomina acinos.

Conductos comunes se combinan formando anchos conductos lactíferos convergentes a la cisterna de la ubre o de la leche en la parte inferior de la glándula, por encima del pezón.

Los conductos lactíferos poseen una luz irregular, alternando secciones anchas con otras más estrechas. Las partes anchas que pueden tener un lumen de 3 cm o más se pueden palpar desde la superficie cuando están repletas de leche y se les denomina “nudos de leche”.

⁵ SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo; Op Cit; pag 3-4

Esta convergencia del sistema conductor de la leche en la parte inferior de la glándula le da a está al corte una apariencia de esponja.

La cisterna de la glándula mamaria o cisterna de la leche tiene una capacidad de varios cientos de mililitros y se comunica con la cisterna del pezón a través de una constricción por un reborde mucoso que se proyecta hacia adentro y al centro alrededor de la base del pezón.⁶

Este pliegue está formado en la submucosa por un anillo venoso de variada prominencia, denominada anillo cricoides.

La posición, orientación, tamaño y forma de los pezones es muy variable. Por lo general son estructuras cilíndricas de cerca de 8 cm de largo, con una pared de algo menos de 1 cm de grosor, que aumenta hacia la parte inferior, donde es atravesada por el canal del pezón o conducto papilar, que comunica la cisterna del pezón con el exterior.

La pared del pezón esta dividida en capas. La capa exterior está formada por el tegumento seco, no contiene glándulas de la piel y es muy sensible. La capa mediana consiste en una mezcla de tejido conectivo con ligamentos musculares lisos y con mucha vascularización venosa que forma una especie de masa eréctil que se congestiona cuando se manipula el pezón.

La tercera capa es mucosa, con tinte amarillento fuera de la zona del canal del pezón. En su parte superior la capa mucosa forma pliegues permanentes en todas las direcciones.

En su parte inferior los pliegues son menos prominentes y tienden a desaparecer cuando la cisterna del pezón se encuentra distendida.

⁶ BLOWEY Roger, EDMONDSON Peter; 1995; Op Cit: Pag 12-14

El revestimiento blanco del canal del pezón está marcado por varias crestas longitudinales finas, que irradian de la apertura interna y forman las “roseta de Fürstenberg”, una estructura de difícil observación al corte postmortem y que contribuye al mantenimiento de la leche en la cisterna del pezón.

El canal del pezón se mantiene normalmente cerrado por un esfínter formado por la conglomeración de fibras de tejido muscular liso de la pared del pezón, cuya función es reforzar por una condensación de tejido elástico alrededor de la apertura del canal.⁷

2.3 IRRIGACIÓN SANGUÍNEA Y ESTRUCTURAS CAPILARES

2.3.1 Sistema Arterial: Casi toda la irrigación sanguínea de la ubre procede de las arterias pudendas externas; cada una de ellas irriga la mitad de la mama. Procedentes de la cavidad abdominal, penetran en la mama a través del canal inguinal.

Al entrar en la glándula mamaria forman una flexión sigmoide, probablemente para facilitar el descenso de la ubre cuando se llena de leche. Las pudendas externas son ramas de las arterias iliacas externas que proceden de la aorta.

Las iliacas internas, que irrigan las regiones genital y pudenda, son también ramificaciones de la aorta. Las perineales proceden de las iliacas internas e irrigan una porción muy pequeña de la parte posterior de los cuartos traseros.

Las arterias mamarias son prolongación de las pudendas externas una vez que éstas han penetrado en la glándula mamaria. La arteria mamaria de cada lado envía una pequeña rama al nódulo linfático supra mamario y a la

⁷ SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo;Op Cit; pag 5

parte superior de los cuartos posteriores. La arteria mamaria se bifurca en dos grandes ramas, la arteria mamaria anterior o craneal, y la posterior o caudal.

Antes de bifurcarse en las ramas anterior y posterior; y la posterior, la arteria mamaria da una pequeña rama, la arteria subcutánea abdominal, que avanza hacia delante e irriga la pared abdominal ventral, situada inmediatamente por delante de la ubre.

Ramificaciones de las arterias mamarias craneal y caudal se extienden lateral y ventralmente y se subdividen numerosas veces, quedando cada alveolo rodeado por múltiples arteriolas; suministran sangre al tejido conjuntivo y a los pezones. No se observan anastomosis entre las arterias de las dos mitades de la ubre.⁸

2.3.2 Sistema Venoso: En el sistema venoso, la sangre de cada una de las dos mitades de la ubre sale por dos venas, la pudenda externa y subcutánea abdominal, o vena de la leche. La pudenda externa forma una flexión sigmoide inmediatamente por debajo del canal inguinal, se bifurca en las ramas craneal y caudal y se divide y subdivide después, siguiendo sus ramificaciones la trayectoria de las correspondientes arteriolas.

La sangre que abandona la ubre por la vena pudenda externa fluye a través de la iliaca externa y la cava posterior hasta el corazón. La vena abdominal subcutánea es continuación de la rama craneal la vena mamaria, abandona la ubre por su borde anterior. Avanza por la superficie ventral de la cavidad abdominal. Ambas venas abdominales subcutáneas se dirigen hacia delante y atraviesan la pared abdominal a los lados del cartílago xifoides. Los puntos

⁸ SISSON, J. Op Cit. Tomo I. Pag 4542

por donde estas venas penetran en la cavidad abdominal se les conoce con el nombre de “fuentes de leche”.

Tras su entrada en la cavidad abdominal se dirigen hacia delante para unirse a las tóricas internas y desembocar con ellas en la cava anterior.

Ramas de las venas mamarias craneal y caudal, derecha e izquierda acaban formando un circulo venoso en la base de la ubre. Ramificaciones de las mamarias caudales se anastomosan en la base posterior de la misma y otras de la subcutánea adicional lo hacen unos cuantos cm por delante de la base. Dada la dirección de las válvulas en la venas es dudoso que haya un libre flujo de sangre entre las dos mitades de la ubre.

En la vaca, la sangre puede salir de la ubre por las venas subcutáneas abdominales o por pudendas externas. La vía que sigue exactamente depende de la posición del animal; parece que sigue la abdominal subcutánea cuando la vaca esta de pie. Cuando esta comprimido una de las dos venas principales, la sangre fluye por la otra.

En vacas la porción craneal de la abdominal subcutánea tiene de 6 a 14 válvulas dirigidas hacia el corazón y la porción caudal de 1 a 5 dirigidas hacia la ubre. En los animales jóvenes la sangre fluye hacia las mamas en la porción caudal de la vena. Durante la gestación y la lactación, el tamaño de las venas aumenta y las válvulas dejan de funcionar, permitiendo a la sangre fluir en cualquier dirección.

La producción de leche demanda gran cantidad de nutrientes, traídos a la ubre por la sangre. Para producir 1 litro de leche, 400 a 500 litros de sangre deben pasar por la ubre⁹.

⁹ SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo; Op Cit; Pag 4

Además, la sangre lleva hormonas que controlan el desarrollo de la ubre, la síntesis de leche, y la regeneración de células secretoras entre lactancias (durante el periodo seco)¹⁰.

2.3.3 Sistema Linfático: La linfa es un fluido claro que proviene de tejidos altamente irrigados por la sangre. La linfa ayuda a balancear el fluido circulando hacia adentro y hacia fuera de la ubre y ayuda a prevenir infecciones. Algunas veces, el incremento de flujo sanguíneo en el comienzo de la lactancia conduce a una acumulación de fluidos en la ubre hasta que el sistema linfático es capaz de remover este fluido adicional. Esta condición, llamada edema de ubre, es mas prevalente en novillas de primer parto y vacas mas viejas con ubres pendientes.

El sistemas linfático de la ubre consta de vasos y ganglios. Los vasos conducen el fluido tisular o linfa, desde los espacios tisulares a los ganglios linfáticos y lo devuelve a la circulación venosa. Una estructura en forma de válvula , localizada al final del conducto torácico, impide la regurgitación de la sangre al sistema linfático. Esta y otras válvulas del sistema linfático obligan a la linfa a fluir exclusivamente en la dirección del sistema sanguíneo venoso.

Los ganglios linfáticos filtran la linfa, eliminando de ellas sustancias extrañas, y la transfieren a vasos de mayor tamaño que finalmente la conducen al sistema venoso, vía el conducto torácico, inmediatamente antes del corazón. Los ganglios linfáticos proporcionan además leucocitos a la linfa.

La ubre suele poseer un ganglio linfático grande en cada una de sus dos mitades, este ganglio es llamado ganglio supramamario, situado inmediatamente detrás del canal inguinal. La linfa, después de atravesar el

¹⁰ SISSON, J. Op Cit; Pag 1867

ganglio supramamario, abandona la ubre por uno o dos vasos linfáticos que atraviesan el canal inguinal para reunirse a otros vasos de esta naturaleza.

2.3.4 Inervación de la Ubre: La inervación de la ubre esta dada por receptores nerviosos que se encuentran en la superficie de la ubre y son sensibles al contacto y a la temperatura. Durante la preparación de la ubre para el ordeño, estos receptores son estimulados y se inicia la “bajada de la leche”, reflejo por el cual permite la liberación de leche.

Las hormonas y el sistema nervioso se encuentran también involucrados en la regulación del flujo sanguíneo a la ubre.

Por ejemplo, cuando una vaca se encuentra asustada o siente dolor físico, la acción de la adrenalina y del sistema nervioso reducen el flujo de sangre a la ubre, inhiben el reflejo de “bajada de la leche” y disminuyen la producción de leche. Los nervios derivan de los inguinales y del plexo mesentérico caudal simpático.¹¹

2.4 FISIOLÓGÍA DE LA LACTACIÓN

Puede dividirse en dos fases: la secreción láctea, que es la producción de constituyentes lácteos por células alveolares y el paso de ellos a la luz alveolar.

Este es un proceso continuo mientras el alvéolo no se encuentre completamente distendido por su luz repleta de leche.

La segunda fase es la eyección láctea desde la luz alveolar hacia los vasos recolectores y las cisternas de la ubre y del pezón, donde la leche puede ser

¹¹ SISSON, J. Op Cit; Pag 1056

evacuada por el ternero o en el ordeño. La eyección láctea ocurre en respuesta al impulso nervioso desencadenado por el ternero o el ordeño y por lo tanto, es un proceso continuo.¹²

La reducción de la frecuencia del ordeño disminuye la producción y puede causar alteraciones, ya que se deja leche en el conducto pezón, siendo los conductos más cortos los que tienen mayor riesgo de mastitis.¹³

Además la terapia rutinaria de vacas secas puede estar asociada con un aumento de la tasa de mastitis coliforme en la fase inicial de la lactancia¹⁴.

2.5 DEFENSAS DEL PEZÓN Y DE LA GLANDULA MAMARIA PARA MASTITIS

Teniendo en cuenta la frecuencia con que los pezones, y especialmente los extremos de los pezones, son contaminados por bacterias, resulta sorprendente que las infecciones de mastitis no sean más frecuentes.

Una de las defensas mas importantes del pezón es la piel que posee un revestimiento de epitelio escamoso estratificado cuya superficie está formada por células muertas rellenas de queratina. Dicha capa se renueva cada 15 a 30 días. Además tiene otro factor coadyuvante que es el pH de la piel es ligeramente ácido. **Ver Figura No 1**

¹² SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo; Op Cit; Pag 5-6

¹³ BLOWEY Roger, EDMONDSON Peter; 1995; Op Cit: Pag 17

¹⁴ RODRÍGUEZ M. German; 1988; La Mastitis Bovina y el Potencial para su Control en la Sabana de Bogota, Colombia; Pag 9

Además en la piel existen ácidos grasos que son bacteriostáticos, estos, impiden el crecimiento de las bacterias. No obstante, éstas pueden ser eliminadas mediante lavado continuo, especialmente utilizando detergentes, y ésta es una de las razones de por qué en la actualidad cada vez son más las personas que utilizan la “limpieza en seco” antes del ordeño, en vez de lavar los pezones.

La superficie de la piel normalmente intacta también puede estar puesta en peligro por cortes, grietas, fisuras, magulladuras, lesiones de la viruela, etc.

En este caso, las bacterias son capaces de multiplicarse en la superficie de la piel que se convierte en reservorio de las infecciones de la mastitis. Éste es especialmente el caso de organismos como *Streptococcus dysgalactiae* y *Staphylococcus aureus*.¹⁵

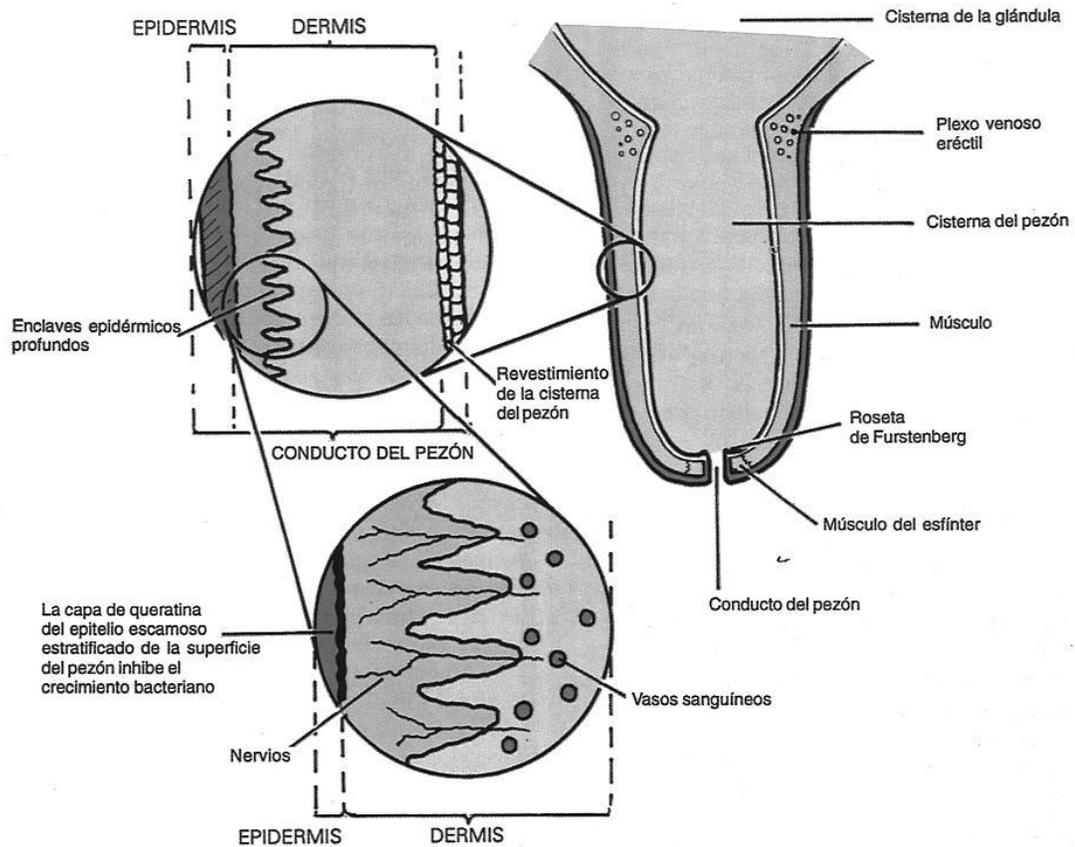
El mantenimiento de una piel del pezón intacta y sana es una de las funciones del emoliente existente en los baños de los pezones para después del ordeño.

El conducto del pezón también está revestido con epidermis queratinizada y por ello está dotado de propiedades de defensa parecidas a las de la piel del pezón.

Estas propiedades antibacterianas del conducto del pezón son sus propiedades más eficaces cuando el conducto está cerrado. Sucede esto cuando la actividad del músculo del esfínter ha motivado que los pliegues contiguos del epitelio estratificado engranen entre sí y formen un cierre hermético. **Ver Figura No 2**

¹⁵ BLOWEY Roger, EDMONDSON Peter; 1995; Op Cit: Pag 21

FIGURA No 2. Conformación del pezón



BLOWEY. Roger, EDMONDSON. Peter; Control de la Mastitis en Granjas de Ganado Vacuno de Leche; 1999; Pag 27

Después del ordeño, en el conducto es segregado un tapón de cera, que de este modo sustituye a cualquier tapón de cera, que de este modo sustituye a cualquier tapón residual de leche reduciendo más las probabilidades de que las bacterias penetren en el conducto del pezón durante el tiempo que media entre terminación de un ordeño y el comienzo del siguiente.

Transcurren como mínimo 20 a 30 minutos para que el extremo del pezón se cierre totalmente y de aquí que con frecuencia se aconseje que los pezones de las vacas se deben mantener limpios y que no se debe permitir que los

animales se acuesten hasta que no hayan transcurrido por lo menos 30 minutos después del ordeño.

Las vacas cuyos conductos de los pezones son cortos (esto es, con longitud vertical corta) y las que tienen un diámetro amplio de la sección transversal, son más sensibles a la mastitis.

Las vacas con conductos de los pezones abiertos se ordeñan con mayor rapidez. Como quiera que es probable que éste sea un rasgo heredado, existirá una sensibilidad genética a la mastitis.

Indudablemente, las producciones aumentarán aún más en el futuro y de aquí que podamos esperar ver aumentos correspondientes de la sensibilidad a la mastitis.. será un reto para todos nosotros proporcionar condiciones óptimas de alojamiento, de funcionamiento de las ordeñadoras mecánicas y del tratamiento para controlar la mastitis.¹⁶

La actividad del flujo del ordeño, a saber, la corriente de leche a través del conducto del pezón, elimina las bacterias. Esta eliminación es parte integrante del mecanismo de la defensa natural que contribuye a reducir el riesgo de mastitis.

Esto es especialmente cierto por lo que se refiere a organismos adherentes como *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus* para los cuales se cree que un mecanismo de invasión es el crecimiento lento a través del conducto del pezón. Por tanto, las vacas que son ordeñadas tres veces por día generalmente son menos sensibles a la mastitis que las vacas que son ordeñadas dos veces por día.¹⁷

¹⁶ BLOWEY Roger, EDMONDSON Peter; 1995; Op Cit: Pag 22

¹⁷ Ibid Pag 24

Si el microorganismo o partícula extraña logran atravesar la piel y los epitelios, se pone en marcha la segunda línea de defensa que esta constituida por células entre las que encontramos a los leucocitos, específicamente los neutrófilos, cuya función consiste en reconocer las bacterias y a continuación disparar sistemas de alarma que inducen una respuesta más vigorosa del animal, desencadenando una movilización de gran número de polimorfonucleares que entran en la leche. Dentro de estas células encontramos las siguientes:

Fagocitosis ó leucocitos del sistema retículo endotelial que se originan en la medula ósea; los polimorfonucleares neutrófilos (de vida corta) y los monocitos, se originan en la sangre; y en los tejidos se originan los macrófagos, que se diferencian a partir de los monocitos. Todos ellos fagocitan y destruyen los agentes infecciosos que logran atravesar las superficies epiteliales.

Células asesinas naturales (células NK): son leucocitos que se activan por los interferones inducidos por respuestas a virus. Reconocen y lisan células “enfermas”, infectadas por virus o malignizadas (cancerosas).

Por esa razón se encuentra que las células somáticas, principalmente macrófagos y linfocitos, están aumentadas en número como respuesta al daño que están produciendo las bacterias al nivel de la ubre.

Adicionalmente el tejido mamario sintetiza localmente IgA, aunque muchas de las células que la producen derivan de precursores originados en el tubo digestivo. Una vez estas células colonizan la glándula mamaria, suministran una fuente de anticuerpos contra los microorganismos patógenos intestinales. Por el contrario, la IgG1 se transfiere de manera selectiva por un

mecanismo de transporte activo desde el suero, y sólo una pequeña proporción es sintetizada por mecanismos locales.¹⁸

En caso de colonización bacteriana en la glándula mamaria lactante, tiende a ser lavada con rapidez por la leche, la cual las lleva al exterior. Si la colonización sucede en el interior de la glándula que se encuentre en el período seco, entonces se genera una respuesta inmunitaria local, en la cual predomina IgA e IgG1.

En el interior de la ubre también existen varios mecanismos sumamente eficaces que coadyuvan en la eliminación de las bacterias y con frecuencia impiden que se creen infecciones. A estos mecanismos se les puede clasificar en mecanismos de la defensa intrínseca, que son sistemas que existen continuamente en la ubre, y en sistemas inducibles, que entran en acción en respuesta a la invasión bacteriana.

Uno de los mecanismos de defensa intrínseca mas importantes es la lactoferrina. Está es una proteína que fija hierro. En la ubre seca no lactante, la lactoferrina impide el crecimiento de las bacterias por eliminar el hierro de las secreciones de la ubre.

También en la leche se encuentra enzimas que son capaces de inhibir el crecimiento, tal es el ejemplo de la lactoperoxidasa, que en presencia de tiocianato y de peróxido de hidrógeno inhibe el crecimiento de algunos agentes patógenos Gram positivos y destruye algunos patógenos Gram negativos.

Los complementos que el término general que se emplea para designar una serie de proteínas que, cuando actúan conjuntamente, producen efecto de

¹⁸ TIZARD, Ian; Inmunología Veterinaria; Pag 290

cascada que se traduce en la destrucción de determinadas cepas de bacterias Gram negativas, como es *E. Coli* .

El *E. Coli* es uno de los diversos coliformes que pueden ser agrupados en cepas suero-sensibles (destruidas por el complemento) y en cepas suero-resistentes (no destruidas). Se ha comprobado que es probable que produzcan mastitis solamente las últimas.

Por tanto, si una cepa de *E. Coli* suero-sensible es aislada en una muestra de leche, es probable que sólo sea una cepa contaminante, y no una causa de mastitis.¹⁹

En la leche normal, existe una diversidad de tipos diferentes de células, pero ninguno de ellos puede de ningún modo destruir las bacterias. El número total de células puede ser contado y se expresa como el recuento de células somáticas (SCC).

Hay quienes opinan que si los recuentos de células somáticas son excesivamente bajos, en ese caso las vacas son más propensas a desarrollar la forma sobreaguda y mortal de la mastitis por *E. Coli* y otros tipos de mastitis.

La diferencia entre un recuento de inicial de 50.000 o de 250.000 células por ml es casi insignificante durante la mitad de la lactación, cuando es probable que en la mastitis clínica los recuentos de células se eleven hasta 100.000.000 por ml en unas pocas horas. Parece ser que el factor decisivo es la rapidez con la cual las células pueden ser movilizadas hacia la ubre (más que el número existente al principio)²⁰ .

¹⁹BLOWEY Roger, EDMONDSON Peter; 1995; Op Cit: Pag 25

²⁰BLOWEY Roger, EDMONDSON Peter; 1995; Op Cit: Pag 30

3. FISIOPATOLOGÍA DE LA GLANDULA MAMARIA DURANTE EL PERIODO SECO

Hacia el final de la lactación, el número de células secretoras de los alvéolos disminuye lentamente, alcanzando un mínimo al principio del período seco. Las células alveolares no mueren, sino que simplemente se contraen, de modo que el espacio existente en los alvéolos desaparece y la ubre está formada por una porción mayor de tejido conjuntivo.

Si la vaca no es secada del todo, la producción de la lactación siguiente puede ser del orden de un 25 a 30% más baja.²¹

Del periodo de secado depende de gran parte una buena lactancia y la prevención de la mastitis, que muchas veces se adquiere durante el periodo seco; lo cual puede ser debido a la expresión clínica de infecciones que existían antes del secado, y a nuevas infecciones establecidas durante el período seco, principalmente durante las primeras semanas..

Las secreciones de la ubre en vacas durante el periodo seco contienen lactoferrinas que evitan el crecimiento de los organismos. La susceptibilidad de la glándula mamaria a la infección parece aumentar durante los periodos de transición, al final de la lactancia y al termino del periodo seco, e iniciación de la nueva lactancia.

²¹ BLOWEY Roger, EDMONDSON Peter; 1995; Op Cit: Pag 20

La secreción de la ubre de vacas secas es serosa y los componentes antibacteriales lactoperoxidasas, tiocianato, peróxido de hidrógeno y lactoferrina, se incrementan en cantidad al terminar la lactación. (MEJIA, G. 1995).

La secreción de la glándula mamaria involucionada es rica en macrófagos, polimorfonucleares, linfocitos, inmunoglobulinas y lactoferrina. Todos estos componentes se han relacionado como factores de resistencia a la infección intra mamaria. La secreción contiene, así mismo, bajas concentraciones de grasa, caseína, lactosa y citrato; componentes que pueden ser utilizados por las bacterias invasoras para promover su crecimiento.

La concentración de citrato en la leche es elevada, pero decrece lentamente durante la involución temprana; por el contrario, la concentración de lactoferrina es baja y se incrementa durante la involución. El citrato y la lactoferrina parecen estar recíprocamente relacionadas. La relación citrato/lactoferrina es máxima en leche normal disminuyendo durante la involución temprana y es mínima en la secreción de la glándula completamente involucionada.

La relación citrato/lactoferrina se interpreta como un indicador del grado de involución mamaria. A medida que el parto se aproxima, la concentración de lactoferrina en la secreción mamaria decrece, mientras la concentración de citrato se incrementa, sugiriendo que la glándula mamaria será más susceptible a infección por coliformes.²²

Los macrófagos son el tipo de célula predominante en leche normal antes o después del ordeño mecánico y en secreción de vacas secas. El calostro muestra un gran incremento de leucocitos polimorfonucleares en ausencia de

²² RODRÍGUEZ VIVAS. Roger Iván; Enfermedades de Importancia en Producción Animal; 2005; Pag 368 – 369

cualquier infección detectable bacteriológicamente y los linfocitos están siempre presentes.

La capacidad migratoria de los macrófagos se incrementa desde el secado hasta 40 y 50 días del periodo seco, las células sanguíneas tienen actividad migratoria similar a la del periodo seco ya establecido. La mayor capacidad fagocítica de polimorfonucleares y macrófagos ocurre en el periodo seco temprano. Se sugiere que la alta población de células fagocíticas protege la glándula no lactante solo del desarrollo de mastitis crónica.

Para el secado de la vaca se aconseja secarla con una producción menor de 6 de litros; en un animal con una producción mayor aumenta el riesgo de mastitis, el método de secado de las vacas afecta el contenido bacteriano y celular de la leche; el ordeño intermitente e incompleto usualmente resulta en mayor recuento bacteriano y celular durante el periodo seco que el cese completo del ordeño.

Las vacas que producen gran cantidad de leche al final de la lactancia son más susceptibles a una nueva infección intra mamaria. Una vez la producción se reduce a 5 litros de leche diarios es seguro el método abrupto para inducir el secado.

La suspensión del ordeño incrementa la presión intralveolar en la glándula, lo cual causa la formación de lisosomas en las células epiteliales secretoras. Las enzimas y otras proteínas en los lisosomas son responsables de la degeneración auto fagocítica de las células epiteliales secretoras de las células, además hay un gran flujo de células fagocíticas la cual causa degeneración heterofagocítica del tejido secretor.²³

²³ CARDOZO, German. TAFUR, McAllister; Eficacia de dos Tratamientos en la Prevención y Tratamiento de la mastitis bovina durante el periodo seco;1987. Pag 8.

4. MASTITIS.

4.1 DEFINICIÓN

Mastitis es el nombre técnico que se le da al proceso inflamatorio de la glándula mamaria o ubre.

La enfermedad puede aparecer como mastitis subclínica, es decir, sin síntomas apreciables, o bien como mastitis clínica, con signos evidentes de la enfermedad (tumefacción o endurecimiento del sector mamario correspondiente, alteraciones en la leche).²⁴

La mastitis es la enfermedad más común en las vacas adultas lecheras. Durante un año 3 de cada 10 vacas presentan inflamación clínica aparente de la glándula mamaria. Del total de vacas afectadas el 7% sale adelante y el 1% muere como consecuencia de la enfermedad. Alrededor del 25% de las pérdidas económicas se le atribuye directamente a la mastitis.²⁵

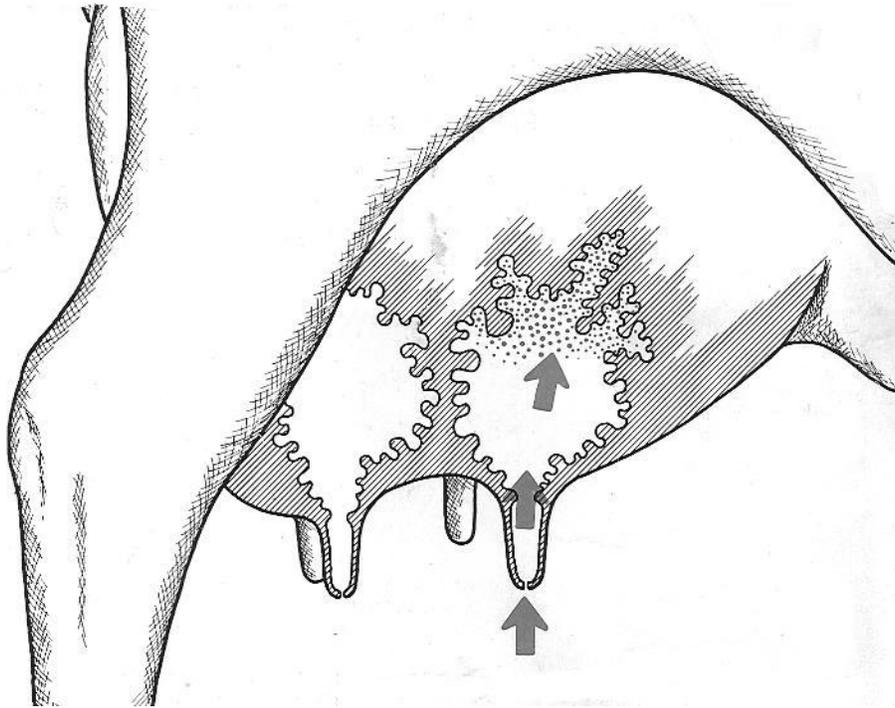
4.2 FISIOPATOLOGIA

La inflamación es la reacción del organismo ante los elementos desencadenantes del proceso como: bacterias y sus toxinas, parásitos, productos químicos, acciones mecánicas (golpes, choques, presiones), calor, frío, etc. mediante la inflamación, el organismo intenta eliminar las influencias patológicas. **Ver Figura No 3**

²⁴ KLEINSCHROTH R Ernst, RABOLD Kart, DENEKE Jurgen; 1991; La Mastitis; Pag 7

²⁵ SMITH. Large Animal Internal Medicine. Pag 1020.

FIGURA No 3. Vía de entrada y distribución de la infección



KLEINSCHROTH Ernst, RADOLD Karl, DENEKE Jurgen; La Mastitis; EDIMED; 1991; Pag. 8

En las fases iniciales del proceso inflamatorio existe una alteración de la circulación en la región inflamada. Este trastorno (disminución del aporte sanguíneo, éstasis venoso) tiene como consecuencia que las células del territorio afectado vean reducido el aporte de oxígeno y elementos nutricios.

El obstáculo a la circulación de retorno producirá una acumulación de productos metabólicos de deshecho así como de sustancias tóxicas y lesivas para los tejidos.

Otra consecuencia de la alteración circulatoria es la exudación de plasma y elementos celulares de los vasos sanguíneos, que llegan a los tejidos

produciendo su edematización. Aparece así una hinchazón considerable que dificulta aún más la circulación y la nutrición celular.

Durante este proceso, parte de los tejidos sufre una destrucción por células especiales de la sangre. Los tejidos necrosados son sustituidos por tejido de cicatrizal o de relleno. Este tejido de relleno no puede realizar las funciones del tejido primitivo, siendo ésta la causa, junto a la aparición de nódulos o induraciones, de una pérdida de la capacidad funcional.

La inflamación puede detectarse o comprobarse a través de la sintomatología que ocasiona. Los síntomas son simplemente las desviaciones del estado sano normal y consiste en enrojecimiento, hinchazón y dolor.

En relación con la intensidad del proceso sobre el estado general, la duración del mismo y el estado reactivo del organismo, la inflamación toma un curso evolutivo variable y unas características peculiares según cada caso.²⁶

4.3 ESTABLECIMIENTO DE LA ENFERMEDAD

La causa inmediata de las mastitis es la infección de la ubre con gérmenes patógenos que, a través del canal del pezón, llegan al tejido glandular multiplicándose en el mismo.

El paso de la barrera del canal mamilar puede realizarse mediante dos vías posibles:

²⁶ KLEINSCHROTH R Ernst, RABOLD Kart, DENEKE Jurgen; 1991; Op Cid; Pag 6

La contaminación con gérmenes existentes en la leche que proceden del cuarto afectado, durante el ordeño, especialmente si se trata de un ordeño ciego.

La proliferación de los gérmenes en el canal sucede con mayor frecuencia en el intervalo entre ordeñados y durante el periodo seco. La mayor parte de las infecciones se dan en el periodo seco.

El reservorio más importante de gérmenes es la glándula infectada, a donde llegan las bacterias transportadas por los trapos, las manos, las vasijas o el reflujo de la leche del cuarto infectado. La infección puede provenir del suelo también, la paja u otras vías, como por ejemplo insectos.

El riesgo de infección se haya determinado por el número de gérmenes patógenos, la frecuencia del contacto con la glándula mamaria con los microorganismos, la patogenicidad del germen y la capacidad defensiva específica de la ubre del animal.

Las influencias desfavorables del medio ambiente (errores en el ordeño, máquinas de ordeñar mal arregladas, animales en malas condiciones de estabulación y alimentación, entre otros). Conducen a un debilitamiento de la capacidad defensiva de la ubre y favorecen a la infección, de la misma forma que la favorecen la higiene insuficiente, las lesiones de la teta y la proliferación de gérmenes alrededor del animal.

No todas las infecciones producen obligatoriamente una inflamación de la ubre.

Ante la infección o enfermedad de la ubre, el organismo responde con una reacción defensiva, como un mayor aporte de leucocitos con el fin de neutralizar los gérmenes. Las reacciones defensivas pueden influir en el curso de la enfermedad de la ubre, en la siguiente forma:

Eliminación de los gérmenes → Normalización del estado general.

Proliferación de los gérmenes → Anulación de las funciones defensivas → Progresión de la inflamación → Mastitis subclínica → Mastitis clínica.²⁷

Algunas bacterias pueden avanzar dentro de la ubre atacando y colonizando nuevos tejidos; otras pueden moverse por medio de la corriente de leche producida por el movimiento de la vaca. Las bacterias dañan primero los tejidos que recubren los grandes tubos colectores de leche. Las bacterias pueden enfrentarse con leucocitos presentes naturalmente en bajas cantidades de leche.

Estas células son la segunda barrera de defensa, debido a que pueden englobar y destruir a las bacterias. Aun así, durante este proceso, los leucocitos liberan sustancias que atraen a más leucocitos desde el torrente circulatorio hacia la leche. Si las bacterias no son totalmente destruidas, pueden continuar multiplicándose y comenzar a invadir los pequeños conductos y áreas alveolares.

Las células secretoras de leche que son dañadas por las toxinas, liberan sustancias irritantes que conducen a un incremento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos. Leucocitos adicionales se mueven al lugar de la infección. Ellos penetran el tejido alveolar en gran medida moviéndose entre tejido secretor de leche dañado. Fluidos, minerales y factores de coagulación también se mueven dentro del área infectada. La leche coagulada también puede cerrar conductos y, en efecto, aislar las regiones infectadas.

²⁷ KLEINSCHROTH R Ernst, RABOLD Kart, DENEKE Jurgen; 1991; Op Cid; Pag 8-9

4.4 PATOGENIA:

El desarrollo de la mastitis se puede clasificar en tres etapas:²⁸

4.4.1 Fase de invasión

Presencia y densidad de población de las bacterias causales en el medio. La tasa de infección del cuarto y el grado de contaminación de los pezones.

La frecuencia de contaminación de los pezones especialmente de la punta del pezón, depende de la buena higiene en el ordeño. Del grado de lesión de los esfínteres de los pezones, que facilita la entrada de bacterias al conducto glandular. La causa principal se le atribuye al diseño de la máquina de ordeño, a la adaptación, conservación y el uso apropiado de la misma, el cuidado de los pezones y el posible reflujo de leche hacia la ubre desde la copa de ordeño durante el ordeño.

Tono del esfínter del pezón, principalmente el post ordeño, cuando este se relaja.

Presencia de sustancias antibacterianas en el conducto glandular.

4.4.2 Fase de infección

Tipo de bacteria, que determina su capacidad de multiplicación en la leche y adhesión al epitelio mamario.

²⁸ BLOOD, D. Medicina Veterinaria. Pag 542.

Susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos que se emplean normalmente.

Presencia de sustancias protectoras en la leche.

Leucocitosis intensa preexistente, causa de una previa mastitis o un trauma físico.

Etapa de lactación, la infección se produce mas fácilmente en el período de secado, debido a la ausencia de flujo físico.

4.4.3 Fase de inflamación

Patogenicidad y capacidad invasora de los tejidos por parte de las bacterias causales.

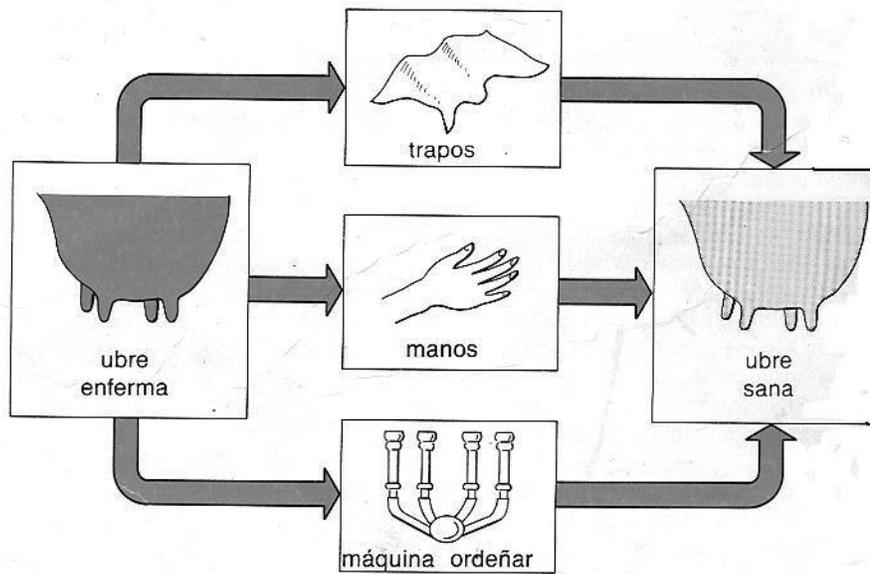
La susceptibilidad de los tejidos mamarios a las bacterias.

4.5 TRANSMISIÓN

En un intento por controlar los diferentes tipos de infecciones, es importante considerar la fuente y formas de transmisión de la enfermedad. Los organismos que causan la mastitis viven en diferentes ambientes (materia fecal, cama, piel, entre otros). La limpieza general de las vacas y su alojamiento, como también los buenos procedimientos de manejo especialmente en el ordeño , son formas efectivas de controlar la difusión de la mastitis. **Ver Figura No 4**

FIGURA No 4.

Formas de contaminación



KLEINSCHROTH Ernst, RADOLD Karl, DENEKE Jurgen; La Mastitis; EDIMED; 1991; Pag. 8

La frecuencia con la que aparece cada uno de los tipos etiológicos de mastitis varía según la capacidad del microorganismo para establecer una infección en el tejido mamario²⁹

La capacidad de producir un estado mastítico depende de dos grupos importantes de factores:

Características bacterianas que ayudan al microorganismo para sobrevivir en el medio cercano a la vaca y la capacidad de adhesión al epitelio mamario y al mismo tiempo la resistencia que el microorganismo ha creado al tratamiento con antibiótico muchas veces por su uso indiscriminado o porque no se le suministra un tratamiento apropiado.

²⁹ BLOOD, D.Op Cid. Pag 542

Mecanismos de transmisión que depende del grado de infección del medio, la eficiencia del personal y del aparato de ordeño, la susceptibilidad de la vaca, que se relaciona con: la fase de lactación , edad de la vaca, nivel de resistencia hereditaria (relacionado con la forma del pezón y anatomía del conducto) y lesiones en el pezón, especialmente del orificio.

4.6 AGENTES ETIOLÓGICOS

Los agentes causantes de la mastitis bovina son microorganismos que habitan en la ubre de la vaca y sus alrededores. Más de 200 microorganismos han sido implicados como causantes de infección intra mamaria, siendo los más importantes bacterias Gram-positivas como *Staphylococcus* y *Streptococcus* y Gram-negativas pertenecientes a las Enterobacterias. De acuerdo con su epidemiología, pueden dividirse en tres grupos: contagiosos, ambientales y oportunistas.³⁰ **Ver Tabla No 1.**

4.6.1 Microorganismos contagiosos

La fuente de los microorganismos contagiosos es la ubre de la vaca afectada, diseminándose a partir de ésta hacia otras vacas. El lugar donde se produce el contagio es la sala de ordeño. Este grupo incluye bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* y *mycoplasma sp.*³¹

Los más importantes dentro de este grupo son el *S. aureus* y *S. agalactiae*, siendo agentes causales de mastitis subclínica, contribuyendo en gran parte

³⁰ BLOWEY Roger, EDMONDSON Peter; 1995; Op Cit: Pag 34

³¹ SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo; Op Cit; Pag 11

a los recuentos elevados de células somáticas a nivel de la explotación, aunque también pueden causar mastitis de tipo clínico.

Una característica común de los microorganismos contagiosos es la de colonizar y crecer en la piel de la ubre y dentro del canal del pezón. Esta característica contribuye a su naturaleza contagiosa y al hecho de que la incidencia de mastitis por estas bacterias es alta en aquellos establecimientos lecheros ³²

Tabla No 1.

TIPOS DE MICROORGANISMOS		
CONTAGIOSO	Staphylococcus aureus Streptococcus agalactiae Mycoplasma sp Corynebacterium bovis	
AMBIENTALES	Streptococcus no - agalactiae Enterobacterias Otros	Streptococcus dysgalactiae Streptococcus uberis Escherichia coli Klebsiella pneumoniae Enterobacter aerogenes Mycoplasma sp Corynebacterium bovis Pseudomonas aeruginosa Serratia Marcescens Prototheca zopfii Especies de candida Arcanobacterium pyogenes
OPORTUNISTAS	Staphylococci coagulasa negativo	

³² ANDREWS, H.A; Sanidad del Ganado Vacuno Lechero; 2005; Pag 242.

4.6.1.1 *Streptococcus agalactiae*

Este agente etiológico por lo común es citado como obligatorio de la glándula mamaria; sin embargo puede sobrevivir por cortos períodos en el ambiente y en las manos de los ordeñadores. Es un agente altamente contagioso, causando sobre todo mastitis subclínica, con aumento del recuento de células somáticas. Esta entidad debe considerarse como enfermedad de rebaño. Por lo tanto el daño ocasionado por este agente se observará en la disminución de la producción lechera en las vacas afectadas.³³

Se disemina principalmente durante el ordeño por medio de la máquina de ordeño, las manos contaminadas del operador, materiales (tela) utilizados para lavar la ubre. Este organismo puede infectar también la ubre de una ternera joven si ha sido alimentada con leche contaminada. La infección permanece en forma indefinida en la glándula mamaria de la novilla.

También puede presentarse como mastitis clínica con síntomas leves a moderados o con cambios en la leche como presencia de grumos o coágulos. Además de los clásicos puntos de control de mastitis, es posible lograr la erradicación de esta bacteria dentro de la ganadería, mediante un tratamiento donde se aíslen todos los animales portadores del grupo de ordeño y sean tratados con antibiótico. El tratamiento se repite después de exámenes bacteriológicos de control, hasta que no se detectan portadores en la explotación.³⁴

³³ SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo; Op Cit; Pag 22.

³⁴ Ibid; SARAN; Pag 23.

4.6.1.2 *Staphylococcus aureus*

En muchos países *S. aureus* es la causa más común de infección subclínica aunque no necesariamente de mastitis clínica. No suele causar mastitis sobreaguda, generalmente produce una enfermedad crónica con algunos casos de mastitis clínica, debido a que responde mal a la terapia antibiótica es la más persistente de las infecciones, frecuentemente dura varios meses e incluso años. Las principales ubicaciones primarias de las bacterias son los cuartos infectados, aunque las bacterias colonizan fácilmente lesiones cutáneas sobre el pezón y el orificio del conducto del pezón. Generalmente se disemina de la misma forma que el *S. agalactiae*.³⁵

Los signos de este tipo de mastitis varían según la enfermedad causada. En el caso de la mastitis subclínica son muy inespecíficos, como flóculos en la leche sólo se observan con la copa de fondo oscuro o reacciones positivas en CMT. Con el tiempo este tipo de mastitis se convierte en crónica, detectándose mediante palpación debido a la fibrosis causada.

4.6.1.3 *Streptococcus dysgalactiae*

La prevalencia de infecciones por *S. dysgalactiae* en los rebaños suele ser baja, si bien provoca una enfermedad más aguda que la producida por *S. aureus* y *S. agalactiae*, aunque su epidemiología es similar. Esta bacteria reside en la glándula mamaria pero la gran diferencia con las anteriores es que sobrevive en el medio ambiente, lo que hace pensar que estaría a mitad de camino entre los microorganismos contagiosos y ambientales.³⁶

³⁵ Ibid; ANDREWS; PAG 245.

³⁶ ANDREWS, H.A; Op Cid; Pag 246

La bacteria se aísla en la piel del pezón y en las tonsilas, siendo así que la succión de los pezones que se realiza entre las terneras o novillas puede difundir el germen. Su asociación con lesiones es particularmente importante y los brotes en los rebaños de mastitis clínica por este agente suele estar asociado con vacas que presentan muchas lesiones en los pezones y ubres sucias.

También se le encuentra como contaminante en mastitis gangrenosa causada por *Arcanobacterium pyogenes* y en mastitis aguda con *S. aureus*.³⁷

4.6.1.4 *Streptococcus uberis*

Después de los coliformes, esta bacteria es la de mayor importancia entre los agentes ambientales causantes de mastitis. Es de gran relevancia en sistemas estabulados donde se lo puede encontrar en la cama donde se tumba la vaca; así mismo se aísla en labios, patas y piel de la ubre.

Este agente presenta algunas similitudes con *S. dysgalactiae*; es un causa común de infección de vacas secas, provocando mastitis aguda clínica en los inicios de la lactación y dispone de ubicaciones extramamarias para su crecimiento, aunque existen diferencias importantes. La más importante de las mismas consiste en que *S. uberis* no suele colonizar la piel lesionada del pezón y su respuesta a la terapia con antibióticos es mucho menor que la de *S. dysgalactiae*.

³⁷ SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo; Op Cit; Pag 18

4.6.2 Microorganismos ambientales

Los microorganismos ambientales, por otra parte viven en los alrededores de la vaca y acceden a la ubre en los intervalos entre ordeños. Pertenecen a este grupo bacterias tales como *Streptococcus no agalactiae* y *Gram-negativos*, sobre todo *coliformes*, siendo estos dos grupos los agentes responsables de infecciones intra mamarias más importantes del grupo. La infección causada por los microorganismos ambientales es de corta duración si se compara con aquella causada por los contagiosos, siendo principalmente mastitis de tipo clínico. Como ya se comentó, la fuente de estos microorganismos es el entorno, por ejemplo, cama, estiércol, aguas estancadas, restos de comida y también las agujas y cánulas contaminadas de uso intra mamario.

4.6.2.1 Bacterias coliformes

Las bacterias coliformes son habitantes normales del suelo e intestino de las vacas. Se acumulan y multiplican en la materia fecal y en la cama. Los coliformes pueden causar mastitis solamente si las partículas contaminadas del medio ambiente entran en contacto con la ubre. A diferencia de las anteriores bacterias, los coliformes no se adhieren a los conductos y al alvéolo de la ubre, se multiplican rápidamente en la leche y producen toxinas que son absorbidas dentro del torrente circulatorio. Como resultado, las infecciones por coliformes conducen a mastitis clínicas agudas.³⁸

La mastitis subclínica por coliformes no es frecuente y los análisis microbiológicos en ejemplares de un rebaño pueden no detectar ni un solo caso incluso si la mastitis clínica por coliformes es la principal causa de mastitis en el rebaño. La razón de esto consiste en que la mastitis por

³⁸ SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo; Op Cit; Pag 18

coliformes tiene una duración corta. Las infecciones suelen llegar a ser clínicas en un día o dos y a menos que se conviertan en sobreagudas la infección es eliminada rápidamente durante el proceso inflamatorio.³⁹

La temperatura corporal de la vaca puede elevarse a 40°C, inflamación del cuarto afectado y se volverá sensible al tacto. Los mecanismos de defensa de la vaca pueden eliminar las bacterias de la ubre, pero las toxinas permanecen y la vaca puede llegar a morir. Las vacas libres de otras bacterias causantes de mastitis (*Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*) parecen ser más susceptibles a las bacterias coliformes.

4.6.3 Microorganismos oportunistas

Los microorganismos oportunistas se encuentran en la piel de la ubre y pezones. Pertenecen a este grupo los *Staphylococci coagulasa negativos*, que adquirieron importancia a raíz del descenso en la prevalencia de microorganismos tales como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*, es decir, son el resultado del buen trabajo realizado en cuanto a control de microorganismos contagiosos se refiere.⁴⁰

4.7 CLASIFICACIÓN DE LAS MASTITIS

De acuerdo con la sintomatología, pueden diferenciarse dos formas de mastitis:

³⁹ ANDREWS, H.A; Op Cit; Pag 246

⁴⁰ SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo; Op Cit; Pag 14

4.7.1 Mastitis Subclínica:

La mastitis subclínica es sutil y más difícil de detectar que la mastitis clínica. La vaca parece saludable, la ubre no muestra ningún signo de inflamación y la leche parece normal. A pesar de eso, los microorganismos y células blancas de la leche (células somáticas) que combaten las infecciones se encuentran elevadas en gran número. Además, se pierde más leche debido a mastitis subclínicas porque la gran mayoría de los casos son subclínicos (en promedio, por cada caso clínico, existen de 20 a 40 subclínicos)⁴¹. La reducción en la producción de leche debido a mastitis subclínica tiende a persistir por un largo período de tiempo y afecta la producción de las vacas infectadas.

El control de las mastitis subclínicas es más importante que el simple tratamiento de los casos clínicos ya que las vacas que presentan casos subclínicos son reservorios de organismos que conducen a infecciones de otras vacas; la mayor parte de los casos clínicos comienzan como subclínicos; por lo tanto, controlar los casos de mastitis subclínica es la mejor forma de reducir los casos clínicos.

Es posible que las mastitis subclínicas se curen espontáneamente, pero no siempre es previsible tal eventualidad.

Una forma especial de la mastitis subclínica es la irritación de la ubre o alteración de la secreción (mastitis aséptica). Su causa no se halla en la infección por gérmenes, sino en la influencia de factores ambientales como golpes o bien ordeños equivocados y duraderos. También puede ser consecuencia de afecciones generales.⁴²

⁴¹ ANDREWS, H.A; Op Cid; Pag 157

⁴² KLEINSCHROTH R Ernst, RABOLD Kart, DENEKE Jurgen; 1991; Op Cid; Pag 13

El impacto de la mastitis va junto con la leche, más allá de las puertas de la explotación lechera. Los cambios en la composición de la leche (reducción de calcio, fósforo, proteína y grasa, e incrementos de cloro y sodio) reducen su calidad. Además, los antibióticos utilizados en el tratamiento de la mastitis son una preocupación industrial y de salud pública importante. La presencia de residuos de antibióticos en la leche interfiere con el proceso de fabricación de muchos productos lácteos (quesos y otros productos fermentados). Los sabores indeseables reducen el valor de los productos lácteos y la presencia de bajos niveles de antibióticos puede causar problemas de salud a los consumidores.⁴³

4.7.2 Mastitis Clínica

Las mastitis clínicas se reconocen por la existencia de signos visibles de la inflamación. Los síntomas van desde discretas variaciones de la norma (disminución de la cantidad de leche del cuarto afectado y ligera alteración de la leche) hasta la completa desaparición de los caracteres propios de la leche, pérdida de la producción de la misma y trastornos graves del estado general.

Los síntomas clínicos, es decir, visibles, son siempre indicativos de una enfermedad grave, cuya evolución no es previsible. Es rara la curación espontánea. Las posibilidades de curación son tanto más favorables cuanto más pronto se pongan en marcha las medidas curativas. En los casos crónicos la curación es más difícil. Las mastitis clínicas, por tanto, tras la aparición del primer síntoma, deben ser tratadas sin tardanza por el veterinario.

⁴³ BENNET, Rick. Manejo de la Mastitis clínica. 2003. Pag 65

El cuadro clínico y la evolución del proceso puede estar determinado en ocasiones por el germen causal, si bien la sintomatología por sí misma no permite conocer con seguridad el germen responsable.

De acuerdo con el curso evolutivo de la enfermedad y el grado de la sintomatología, pueden diferenciarse tres formas de mastitis clínicas: subaguda, aguda y crónica.

4.7.2.1 La mastitis subaguda describe una evolución relativamente leve y con frecuencia solapada de la enfermedad. Las alteraciones de la ubre de la vaca son poco intensas y consisten generalmente en una disminución de la cantidad de leche producida con ligeras alteraciones de sus propiedades (leche acuosa y con grumos).

4.7.2.2 La mastitis aguda evoluciona con acusada sintomatología inflamatoria. En la ubre se aprecian, con mayor o menor intensidad, hinchazón, enrojecimiento, temperatura superior a la normal, dolor a la palpación y endurecimiento de los tejidos. La producción de leche se ve considerablemente disminuida y, en ocasiones, suprimida. La leche, que es difícil de extraer y sólo en pequeñas cantidades, presenta alteraciones visibles. Puede ser acuosa, serosa, sanguinolenta, mucosa, purulenta y pastosa. También puede tener una coloración amarillenta, grisácea o pardorrojiza. Con frecuencia, las mastitis agudas se acompañan de fiebre, inmovilidad del animal que reposa sobre el vientre y diarreas.⁴⁴

⁴⁴ KLEINSCHROTH R Ernst, RABOLD Kart, DENEKE Jurgen; 1991;Op Cid; Pag 7

Todos los síntomas de mastitis indican la existencia de una enfermedad grave. La curación espontánea con recuperación total de la ubre es sumamente rara.

Casi siempre la enfermedad da lugar a una lesión permanente de la ubre (formación de nódulos, endurecimiento y engrosamiento, abscesos, desaparición del cuarto) con pérdida definitiva de la leche.

La participación de los gérmenes es muy variable, casi siempre se trata de infecciones mixtas.

Las alteraciones patológicas de la ubre dificultan la llegada de los medicamentos al foco de la infección. El proceso está relacionado con la virulencia del germen por lo que, en el tratamiento, hay dos hechos fundamentales los cuales son; la elección de un medicamento eficaz y la rapidez en el inicio del tratamiento.

4.7.2.3 La mastitis crónica es la que presenta inflamación de la ubre de larga evolución, a menudo no se ve, sin alteraciones del estado general.

La leche no siempre está alterada visiblemente. A veces presenta pequeños grumos o bien es de color azulado, aunque también puede tener aspecto mucoso o una coloración amarillenta, parda o grisácea.

El contenido celular de la leche siempre está aumentado. La producción es variable. En los casos no muy acentuados apenas disminuye la cantidad de leche; si la evolución es crónica y purulenta, la producción de leche cesa por completo.

Las alteraciones del tejido glandular son más o menos apreciables. Consisten en nódulos cicatrizantes, formación de abscesos o encapsulación de las zonas inflamadas. Casi siempre, la palpación permite reconocer, en la ubre vacía los nódulos circunscritos o las induraciones. También se observan a veces abombamientos de la piel en a ubre, engrosamientos fibrosos del cuarto correspondiente y retracciones localizadas. Los nódulos duros son, en ocasiones, abscesos que pueden abrirse hacia el interior de la ubre o bien hacia el exterior.

En las mastitis crónicas pueden desaparecer los gérmenes en el curso de la enfermedad, pero las alteraciones tisulares persisten. También la pérdida de tejido productor de leche será una secuela permanente.

Los gérmenes suelen sobrevivir en el tejido inflamado, por lo que son eliminados con la leche y pasan a los trapos y otros utensilios del ordeño. Con ello la infección se transmite a animales sanos. Las vacas con mastitis crónicas son una fuente de infección para el resto de las vacas. Bajo la influencia de factores ambientales desfavorables, las mastitis crónicas pueden sufrir un proceso de agudización.⁴⁵

4.8 DIAGNOSTICO

Actualmente existen distintos métodos para la detección de mastitis, principalmente se basan en los cambios físicos y químicos en la composición de la leche, como los que se mencionan a continuación:

⁴⁵ KLEINSCHROTH R Ernst, RABOLD Kart, DENEKE Jurgen; 1991; Op Cid; Pag 113-15

4.8.1 Examen físico de la ubre

Los signos de mastitis aguda incluyen cuartos inflamados, asimétricos, con temperatura elevada y dolor al tacto. Los cambios de tamaño y la presencia de tejido cicatrizal pueden ser detectados más fácilmente luego del ordeño, cuando la ubre se encuentra vacía.

4.8.2 Aspecto de la leche

La observación de los primeros chorros de leche permite la detección de leche anormal que debe ser retirada del consumo. La leche anormal puede mostrar decoloración (aguado), descamaciones, o coágulos. Se debe tener la precaución, al remover esta leche de la ubre, de no salpicar esta leche contaminada en las patas, cola o ubre del animal. Además, el operador no debe de coleccionar estos primeros chorros de leche en la palma de la mano debido al riesgo de transferir bacterias de un cuarto a otro y de una vaca a otra. En los establos donde la leche se ordeña en el mismo lugar donde se alojan las vacas, la primera leche es volcada en una taza especial o plato. En las salas de ordeño, puede ser volcada directamente al piso para ser lavada inmediatamente luego de ser evaluada. **Ver Tabla No 2**

Tabla No 2. Composición de la leche cuando la vaca presenta mastitis

<i>Componentes principales</i>	<i>Nivel normal</i>	<i>Cambio</i>
Grasa (%)	3,45	-
Proteína (%)	3,61	-
Lactosa (%)	4,85	-
Componentes de la grasa:		
Ácidos grasos libres (mEq/L)	0,6-0,8	++
Pauta de ácidos grasos (mg/g de grasa)		
C4-C12	126,4	+
C16-C18	708,4	-
Fracciones de la proteína (mg/mL)		
Caseína total	27,9	--
Proteína total del suero	8,5	+++
Caseínas (mg/mL)		
α -s ₁ -caseína	13,3	---
β -caseína	10,6	---
κ -caseína	1,6	++
Proteínas del suero		
β -lactoglobulina	4-4,25	---
α -lactalbúmina	1,03-1,22	---
Albúmina sérica	0,08	+++
Inmunoglobulina total	0,25-0,3	+++
Aniones y cationes (mg/100 mL)		
Na	57	++
K	172,5	-
Cl	80-130	+++
Ca total	136	---
Mg total	18	---
P	26	---
Conductividad (mM NaCl)	<53	+(+)
Enzimas		
Mayoría de enzimas lácteas		++(+)

+ incremento hasta 10 veces - reducción hasta el 10%
 ++ incremento hasta 100 veces -- reducción hasta el 25%
 +++ incremento hasta 1.000 veces --- reducción hasta el 75%

ANDREWS, H.A; *Sanidad del Ganado Vacuno Lechero*; 2005; Pag 242

4.8.3 Prueba de California mastitis (CMT)

Es una técnica indirecta que permite a nivel de campo efectuar un examen de la situación sanitaria el hato respecto a la mastitis. Su sensibilidad y confiabilidad es alta, con ella es posible detectar la mastitis subclínica inaparente al examen clínico de la ubre y físico de la leche, además es semicuantitativo en cuanto se refiere al recuento de celular en leche, lo que a

su vez proporciona una idea aproximada de la magnitud de la infección presente en un cuarto.

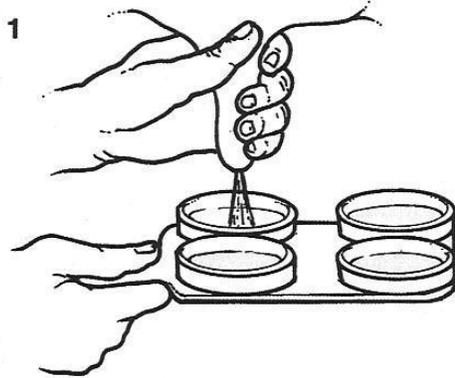
La prueba consiste en el agregado de un detergente a la leche, el alquil-aril sulfato de sodio, causando la liberación del ADN de las células presentes y este se convierte en combinación con agentes protéicos de la leche en una gelatina. A mayor presencia de células se libera una mayor concentración de ADN, por lo mayor será la formación de gelatina, traduciéndose en la lectura e interpretación del resultado como el grado más elevado de inflamación. Además, la prueba posee un colorante (púrpura de bromo-cresol) que indica los cambios de pH ocurridos en la leche a raíz de la inflamación.⁴⁶

La forma de hacer la prueba es: se descarta de cada pezón los tres primeros chorros de leche, se recolectan aproximadamente 5 ml de cada uno de los cuartos glandulares en los comportamientos de una paleta plástica diseñada para tal propósito, posteriormente se añade a cada división una cantidad igual de reactivo, luego en forma muy suave se mezclan la leche y el reactivo, mediante una ligera rotación de la paleta, mantenida en posición horizontal.

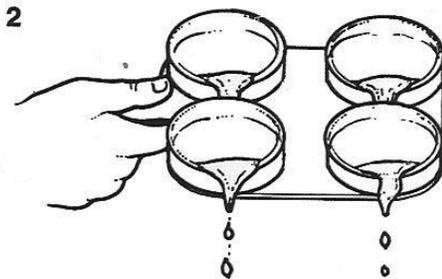
Si la leche es normal, la mezcla permanece líquida, si es sospechosa se forma una gelatina muy poco densa que tiende a quedarse en el fondo del comportamiento a lo que se denomina trazas. La reacción (+) se manifiesta por la presencia de un gel mucoso, en la (++) el gel se torna denso y floculento, en la (+++) el gel se vuelve viscoso y pegajoso y en la (++++) el gel es tan denso y pegajoso que se adhiere fuertemente a la pared de la paleta. **Ver Figura No 5.**

⁴⁶ SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo; Op Cit; Pag 51

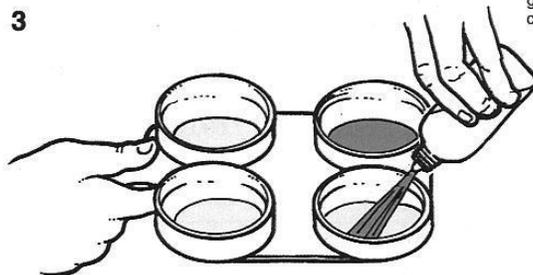
FIGURA No 5. Prueba de California Mastitis Test



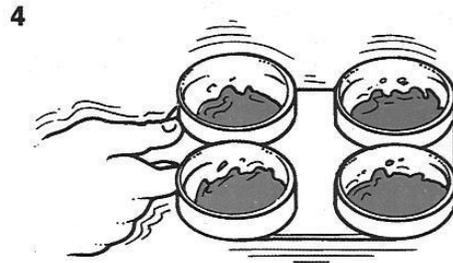
1
Se desecha la leche del preordeño y se ordeñan uno o dos chorros de leche de cada cuarterón en cada una de las placas de la paleta



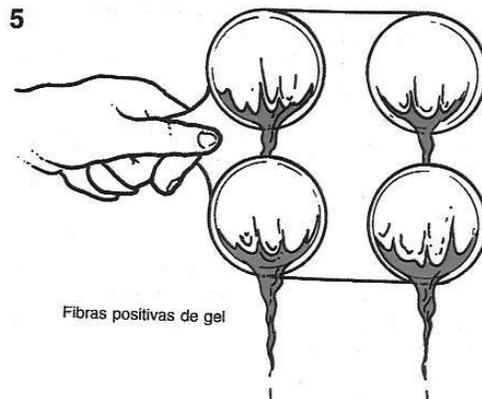
2
Se desecha la leche sobrante



3
Se añade a la leche un volumen igual del reactivo de la CMT



4
Se mezclan la leche y el reactivo



5
Fibras positivas de gel

Las soluciones se examinan en cuanto a la presencia de una reacción de formación de «gel» o de «mucilago»: las «fibras» gelatinosas indican un cuarterón con un recuento elevado de células

Cómo realizar la prueba de la mastitis de California (CMT).

4.8.4 Cultivo Bacteriano

Generalmente, esta prueba se desarrolla en vacas seleccionadas para las que los conteos de células somáticas de muestras compuestas revelan un problema persistente serio. Los cultivos de leche de una vaca individual identifican la especie de bacteria, por lo tanto es la forma más confiable para decidir un tratamiento óptimo con antibióticos para una vaca en particular.

Los cultivos de bacterias en la leche pueden ser útiles para cuantificar las bacterias e identificar los organismos causantes de mastitis y altos conteos de células somáticas. Con más frecuencia, una mezcla de diferentes tipos de bacterias es encontrada, pero algunas veces, una especie de bacteria puede predominar (ejemplo *Streptococcus agalactiae*). Si los conteos bacterianos se encuentran elevados (>50.000 bacterias/ml), un cultivo puede proveer claves para la fuente de contaminación. La presencia (o ausencia) de organismos específicos ayuda a formular recomendaciones para prevenir la difusión de organismos específicos ayuda a formular recomendaciones para prevenir la difusión de organismos que se encuentran en el hato. Los hatos bien manejados poseen conteos bacterianos de menos de 1.000 células/ml.⁴⁷

4.8.5 Epidemiología

La prevalencia de la mastitis en los rebaños depende de muchos factores, que no son conocidos en su totalidad, aunque los más importantes parecen ser los que influyen sobre el grado de exposición de las ubres de las vacas a los patógenos. Sin embargo, las amplias diferencias existentes en los rebaños en los niveles y pautas de infección no pueden ser debidas en su totalidad a variaciones en la exposición a los patógenos. Factores adicionales

⁴⁷ VELASCO. M. Joel; Ventajas e Inconvenientes del Tratamiento de Mastitis Subclínica Durante la Lactancia; Pag 17

influyen sobre la susceptibilidad de las vacas; unos son de origen genético (bovino y bacteriano), otros fisiológicos (edad y etapa de lactación). Los factores físicos afectan a la penetración de las bacterias a través del conducto del pezón, y la nutrición del ganado y los niveles de estrés en el rebaño pueden suponer una parte.⁴⁸

4.9 PRINCIPALES METODOS DE CONTROL

El Nacional Mastitis Council recomienda un programa de 5 puntos⁴⁹:

4.9.1 Mantenimiento y uso adecuado de la maquina de ordeño.

El equipo de ordeño se debe mantener en forma adecuada, evaluando su funcionamiento según las indicaciones de la empresa fabricante. Como medidas importantes se destacan el cambio regular de los manguitos de goma de las pezoneras del equipo (cada 1000-1200 ordeños), realizar un sistema de limpieza después de cada ordeño del equipo e instrumental del ordeño, además de programas rigurosos de limpieza semana y mensual.

4.9.2 Sellamiento.

El sellamiento se hace con productos yodados, procurando usar productos que no resequen la piel del pezón para evitar que se produzcan heridas. Este procedimiento se hace tan pronto como se ordeñe la vaca.

⁴⁸ ANDREWS, H.A; Op Cid; Pag 251

⁴⁹ ARMENTEROS A., Mabelin; Prevención de la Mastitis Bovina: La Desinfección de los Pezones Post-ordeño

4.9.3 Tratamiento temprano de casos clínicos.

Los casos clínicos de mastitis se deben tratar lo mas rápido posible, siempre teniendo en cuenta su relación de costo-beneficio. Es importante, en lo posible, diagnosticar el microorganismo causante de la infección y realizar el antibiograma del patógeno, con el fin de recomendar el plan terapéutico adecuado. Si se efectúa la terapia intra mamaria, debe realizarse la desinfección del pezón, para evitar la introducción física de bacterias contaminantes de la piel por el canal del pezón y hacia la cisterna del mismo.

No tratar vacas con infecciones crónicas que no responden al tratamiento. Este tipo de infecciones conviene tratarlas en el período de secado.

Es de suma importancia prestar atención al período de espera del antibiótico (período de retirada), en el cual no se puede comercializar la leche después del tratamiento, según lo especificado por el laboratorio fabricante del producto y los reglamentos de la industria lechera local.

4.9.4 Secado adecuado de los animales.

De acuerdo con la decisión de secar la vaca según un programa prefijado, se debe ir reduciendo la producción de la vaca hacia el secado, para luego realizar un secado drástico o paulatino, pasando de dos a un ordeño por día.

En la mayoría de los programas de control de mastitis se considera el tratamiento de todos los cuartos con un antibiótico de secado de acción prolongada. Es conveniente llevar a cabo estudios de los patógenos para los cuales se realiza el tratamiento de secado. Muestrear la explotación y realizar antibiograma de las bacterias responsables de los altos recuentos celulares nos dará la pauta si el tratamiento de secado con cánula corta (2-3 mm) para evitar la lesión del recubrimiento de queratina del canal del pezón. Debe

efectuarse a continuación la desinfección del pezón, con productos aprobados. Las vacas en período seco deben mantenerse en un patio limpio y adecuado. Se recomienda observar las ubres durante el período seco deben y desinfectar pezones. 1 o 2 veces antes del parto.

4.9.5 Eliminación de vacas con mastitis crónica.

Las vacas con afección crónica son las portadoras de los patógenos contaminantes brindando además recuentos de millones de células somáticas y por lo tanto conviene eliminarlas.

Se recomienda descartar vacas de más de 3 lactancias infectadas crónicamente con *S. aureus* u otros agentes que no responden al tratamiento antibacteriano, así como vacas con recuentos de células somáticas elevados (por ejemplo >500.000) durante períodos prolongados.⁵⁰

4.10 TERAPIAS ANTIBIÓTICA INTRA MAMARIA DE SECADO

El segundo procedimiento para controlar los patógenos es el uso de antibióticos intra mamarios. Se utiliza antibióticos de lenta liberación; el tratamiento es altamente efectivo contra *Streptococcus spp.* y *Staphylococcus spp.* la eficacia contra *S. aureus* es limitada. La terapia de secado no es efectiva para microorganismos Gram negativos o infecciones por *Mycoplasma spp.* el mejor control para la mastitis contagiosa es romper la cadena del agente infeccioso, este debe estar acompañado por la eliminación de la fuente de infección, ya sea mediante tratamiento o por aislamiento del agente y estricta sanidad a la hora del ordeño. Estas mastitis clínicas causadas por patógenos ambientales son las mas prevalentes en

⁵⁰ SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo; Op Cit; Pag 99-105

datos con buen manejo y bajo conteo de células somáticas. Los coliformes estas incluidos en esta categoría.

4.11 TRATAMIENTO

En todo el mundo, el tratamiento antibiótico contra la mastitis sigue siendo el procedimiento más común y aceptado para la terapia de la mastitis clínica y subclínica, con la meta de reducir las enormes pérdidas ocasionadas por la enfermedad, debidas a la disminución en la producción de leche por los cuartos afectados, un menor precio diferencial debido a la baja calidad de la leche, los honorarios del veterinario, el desecho de la leche de vacas tratadas y la eliminación prematura de vacas afectadas con pérdida de potencial genético.

A pesar del uso masivo de productos antibacterianos, está ampliamente reconocido que el tratamiento antibiótico no es satisfactorio en todas las vacas. Con el incremento de la preocupación pública en todo lo relacionado con la salubridad de los alimentos, se sabe hoy en día de la presión de los organismos legislativos con el objetivo de controlar y justificar el uso de drogas terapéuticas en el ganado lechero y reducir la incidencia de residuos en la leche.

Las drogas antiinflamatorias no esteroideas se recomendaron para el tratamiento de la mastitis clínica aguda, solas o como terapia de apoyo del tratamiento antibacteriano. La eliminación de la infección intra mamaria continúa siendo la mayor expectativa de la terapia antibacteriana.

La excreción de drogas antibacterianas en la leche depende de un número de parámetros fisicoquímicos tales como pH, liposolubilidad y unión a proteína. Estos parámetros pueden cambiar como consecuencia de enfermedades que pueden causar cambios locales o sistémicos en la

distribución de la droga y por consiguiente, en su disponibilidad. Procesos como la mastitis aguda pueden modificar de manera considerable la farmacocinética de drogas antibacterianas debido al aumento en la temperatura corporal, deshidratación y acidosis metabólica, incluyendo los residuos en la leche.

Se establece con frecuencia que la mastitis clínica puede ser resuelta sin intervención terapéutica. Esto es válido sólo en casos leves de mastitis colibacilar. La limitada disponibilidad de drogas antibacterianas adecuadas para el tratamiento de la mastitis clínica es un factor que impide el manejo efectivo de la enfermedad.

Parte de las razones del limitado éxito del tratamiento antibiótico de la mastitis clínica debida a Gram-negativos, se puede explicar por el hecho de que el veterinario se enfrenta más a menudo con casos de shock inducidos por endotoxina que con casos de infección y edema, el ordeño frecuente 4 o más veces por día, puede facilitar el paso a la leche de antibióticos administrados por vía parenteral tales como gentamicina, ticarcilina, polimixina B y colistina. La elección de la droga específica debe depender de experiencias clínicas en la ganadería y de la disponibilidad de productos antibióticos adecuados para tal fin.

La limitada efectividad de la terapia contra la mastitis y el riesgo de residuos en la leche renovaron el interés en los tratamientos alternativos, siendo uno de ellos el homeopático, basado en la teoría que una sustancia que puede causar a dosis tóxica una serie de síntomas clínicos en individuos sanos, puede utilizarse a dosis homeopáticas para curar individuos que presentan los mismos síntomas.

Otra forma posible de prevenir la mastitis podría incluir un tratamiento que no sólo elimine a la bacteria causante sino que optimice la capacidad protectora

de la glándula mamaria. Se comprobó que incluso antibióticos que no son muy efectivos en la curación de la mastitis pueden eliminar bacterias del cuarto infectado. El papel del sistema de defensa del organismo huésped es el de eliminar las bacterias patógenas restantes y prevenir de esta manera la reinfección.⁵¹

⁵¹ SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo; Op Cit; Pag 99-105

5. VACUNAS

5.1 VACUNACION

La vacunación tiene como cometido aumentar la concentración de inmunoglobulinas en sangre o en leche contra patógenos específicos. De ese modo la inmunización puede inhibir el crecimiento de una bacteria o neutralizar las toxinas causantes del daño mamario.

En el caso del *S. aureus*, las evidencias que la bacteria produce un polisacárido seudocapsular extracelular antifagocítico han orientado hacia esa dirección a muchos investigadores en el desarrollo de una vacuna contra la bacteria. Por esa razón, los nuevos trabajos de desarrollo de la vacuna contra *S. aureus* describen el cultivo de la bacteria en medios apropiados que estimulen la síntesis de los componentes seudocapsulares, en ciertos casos con el agregado de antígenos que promuevan también la formación de anticuerpos contra las toxinas alfa o beta de la bacteria. Los ensayos realizados con este tipo de vacunas demostraron la reducción en nuevas infecciones.⁵²

En el caso de vacunas contra mastitis causadas por coliformes, el descubrimiento de cepas mutantes gram-negativas posibilitó el desarrollo de vacunas. Una vacuna de este tipo basada en una bacterina de una cepa mutante de *E. coli* junto con el adyuvante incompleto de Freund, ha demostrado en ensayos de campo diferencias significativas en la reducción

⁵² SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo; Op Cit; Pag 131

de mastitis clínica por *E. coli* a favor del grupo vacunado con dicho inmunógeno.

Otro tipo de vacuna basado en una cepa mutante *Salmonella typhimurium* Re-17, similar a *E.coli* en su potencial para estimular protección contra antígenos centrales comunes, también reveló disminución en los casos de episodios clínicos de mastitis y en su duración cuando se comparan grupos vacunados con no vacunados.

El éxito demostrado por este tipo de vacunas, sugiere en un futuro cercano incluir vacunación contra ciertos agentes causales en los planes de lucha contra mastitis.⁵³

5.2 USO DE VACUNAS EN LA PREVENCIÓN DE LA INFECCIÓN POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN LA VACA LECHERA.

La función básica de los polimorfonucleares es la actividad de fagocitosis así como su participación en la modulación de la estimulación de linfocitos y la señalización de la respuesta a los linfocitos estimulados. Los linfocitos T presentes en la glándula mamaria tienen dos poblaciones: T_h2+Bot y Bot2+Bot cooperadores e inductores, y T supresores y citotóxicos que expresan los antígenos CD2, CD4, y CD8. por lo general las inmunoglobulinas que se encuentran en la leche provienen de la síntesis local de IgA e IgE. Se reconoce un mecanismo diferente para la IgG, la cual proviene de la sangre y se concentra en la glándula mamaria por transporte selectivo de receptores específicos, con predominio de IgG-1 sobre IgG-2, que se considera importante para la opsonización y la fagocitosis por los neutrófilos, como la IgM, si se compara con la IgA.

⁵³ SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo; Op Cit; Pag 131

La inmunización local en la glándula mamaria durante la involución glandular que se produce en el periodo seco proporciona una sólida inmunidad contra el desafío de cepas virulentas de *S. aureus*, lo que produce altos niveles de anticuerpos IgA e IgM. Esta respuesta se mejora con la aplicación parenteral del antígeno. La evaluación de la respuesta inmunitaria y su relación con la resistencia a la infección de la glándula mamaria por *S. aureus*, vinculada con los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad clase I del bovino, reveló que el alelo W3 produce niveles elevados de anticuerpos del isotipo IgG en respuesta a la infección, en tanto que los alelos W4, W7 y W26 muestran bajos niveles de IgG en leche y suero, y el alelo CA42 incrementa el riesgo de *S. aureus* en la glándula mamaria.⁵⁴

La cápsula de *S. aureus* afecta al reconocimiento antigénico de la pared celular e inhibe el reconocimiento de la bacteria por los neutrófilos. Aunque la aplicación del antígeno capsular en el ganglio linfático supramamario incrementa la producción de anticuerpos IgG-1 e IgG-2, la aplicación intra mamaria del antígeno estimula la producción de IgM e IgG-1. Los niveles de las IgG-2 en la vaca declinan al parto, en tanto que la concentración de IgG-1 permanece constante. La incubación in vitro de IgG-1 e IgM en la prueba de fagocitosis muestra una reducción de la fagocitosis en presencia de IgG-1. Asimismo se observa una reacción cruzada en la opsonización entre cepas de *S. aureus* capsulares y difusas con el tipo compacto.

La aplicación de una bacterina inactivada de *S. aureus* en el tiempo de secado seguida de una segunda aplicación intra mamaria dos a seis semanas antes del parto incrementa la concentración de IgA e IgM en la leche. De igual modo la infusión intra mamaria de un toxoide de hemolisina

⁵⁴ RODRÍGUEZ VIVAS. Roger Iván; Enfermedades de Importancia en Producción Animal; 2005; Pag 368 – 369.

alfa durante el proceso de involución de la glándula mamaria durante el periodo de secado aumenta los niveles de antihemolisina alfa, con un efecto protector al desafío en lactaciones subsecuentes. Con base en este efecto se probaron diferentes formas de aplicación de los antígenos de *S. aureus*. Su administración por vía supramamaria incrementó la reacción periférica policlonal de anticuerpos y la de preparaciones de cultivos de *S. aureus* con suedocápsula y toxoide de hemolisinas alfa y beta en vaquillas redujo en forma sensible la presentación de la mastitis subclínica y clínica al comparar la frecuencia con los grupos experimentales.

Los estudios realizados para desarrollar una vacuna para prevenir la infección intraglandular por *S. aureus* son alentadores; su aplicación resulta de utilidad en los hatos con un alto nivel de infección por cepas productoras de hemolisinas alfa y beta que cursan con variantes capsulares participantes en nuevas infecciones de animales susceptibles en el periodo seco y al inicio de la lactación. Según algunos autores los resultados que se obtienen son variables por el efecto de dilución de los anticuerpos en la leche y las características propias del líquido que afectan la opsonización y el ataque de fagocitosis por leucocitos durante la lactación. Durante el periodo seco este efecto tiende a ser más favorable para la protección humoral y celular de la glándula mamaria. Los tipos de vacunas que se emplean con mayor éxito incluyen las bacterinas con los fagotipos I, II, III IV y V adicionadas con toxoide de hemolisina alfa y paredes bacterianas incluida la cápsula.

En la prevención de las infecciones cruzadas por biotipo humano se prueban vacunas de proteína recombinante adicionales con citocinas. Los resultados favorables de la vacunación se atribuyen también a la aplicación durante el periodo de secado, lo que permite el desarrollo de niveles de anticuerpos locales más elevados. Aunque se cree que el efecto del adyuvante es menor, algunos atribuyen a ciertos adyuvantes una mayor diferenciación en la

proporción de los isotipos IgA e IgG-2 que se consideran importantes en la inmunidad local.

Es posible que la vacunación de los animales susceptibles contribuya a disminuir la tasa de nuevas infecciones en las vacas durante el periodo de secado bajo un programa de prevención y control de la mastitis por *S. aureus*.⁵⁵

⁵⁵ RODRÍGUEZ VIVAS. Roger Iván; Enfermedades de Importancia en Producción Animal; 2005; Pag 368 – 369.

6. CELULAS SOMATICAS

El recuento de células somáticas (células del organismo, para diferenciarlas de las células bacterianas que lo invaden) es el número de células existentes en la leche. Se utiliza como indicadores de la infección de la ubre.

Las células somáticas se encuentran en la leche de casi todas las vacas lecheras con una población de células por mililitro que varía drásticamente de un animal al otro. Se cree que las ubres son más sanas cuanto más bajo sea el número de células somáticas. Habitualmente este número es más elevado en las vacas que paren por primera vez, en las que han parido recientemente, y en las que entran en la etapa estéril, aun sin tener una infección. Existen dos grandes grupos de células somáticas: los leucocitos y las células epiteliales. Cuando se produce la infección mamaria. Los microorganismos, sus toxinas y los tejidos dañados causan alteraciones de los vasos sanguíneos provocando el pasaje de leucocitos de la sangre a la leche, lo que es acompañado por un flujo de proteínas plasmáticas y cloruros hacia la leche que se torna alcalina.

La prueba de "Mastitis California Test" los lecheros utilizan para detectar las células somáticas y contar su población en la leche de la que se sospecha que puede estar infectada. Si el número de células es demasiado alto, la leche se tiene que desechar, y así se repite este procedimiento hasta que el problema se encuentra bajo control.

Trabajos de diferentes grupos de investigación aseguran que el 30-35% de las vacas lecheras tienen algún tipo de mastitis. Las pérdidas por esta

enfermedad están estimadas entre 150 a 200 U\$ por vaca por año y el 70% de ellas son por las mastitis subclínicas.⁵⁶

Entre las pérdidas siempre se mencionan la leche descartada, el mayor costo de reposición, los tratamientos veterinarios y el menor precio de la leche. Pero la más importantes y la que más daño hace al bolsillo del productor es la menor producción de leche debido a la lesión o destrucción de los tejidos productores por las bacterias presentes.

El recuento de Células somáticas, o SCC para abreviar, se mide en miles de células por ml de leche. Cuando la leche de todas las vacas en el hato se mezcla, como en el tanque a granel, el conteo de células somáticas en una muestra compuesta es un buen indicador de la prevalencia de la mastitis en el hato. Un conteo de células somáticas mayor de 200.000 células/ml indica la presencia de mastitis subclínicas. Los conteos de células somáticas por debajo de 400.000 células/ml son típicos de los hatos que poseen buenas prácticas de manejo, pero que no hacen un particular énfasis en el control de la mastitis. Los hatos que poseen un programa de control efectivo de las mastitis poseen en forma consistente conteos por debajo de las 100.000 células/ml.⁵⁷

Conteos de células somáticas mayores de 500.000 células/ml indican que un tercio de las glándulas se encuentran infectadas y que la pérdida de leche debido a mastitis subclínica es mayor de 10%.

Existe una gran variación en el número y tipo de células en los momentos de la lactación y en especial al principio y final de la misma. Los recuentos

⁵⁶ VELASCO Molina Joel; Conteo de Células Somáticas y Calidad de Leche. 2002;

⁵⁷ BLOWEY Roger, EDMONDSON Peter; 1995; Op Cit: Pag 135-137

inferiores a 250.000 células/ml se consideran por debajo del límite indicador de inflamación.⁵⁸

6.1 FACTORES QUE AFECTAN EL NUMERO DE CELULAS SOMATICAS

6.1.1 El Personal.

El hombre a través del correcto manejo puede bajar el número de células somáticas, como también pueden transformar en generador de aumentos sino cumple con las pautas mínimas.

Las principales medidas que se deberían tomar son:

6.1.1.1 Sellado de pezones después del ordeño. Después del ordeño el canal del pezón queda abierto por un tiempo que varía entre 30 minutos y 2 horas. En ese lapso los microorganismos pueden colonizar el canal y provocar nuevas infecciones. La aplicación de productos antisépticos confiables es una buena medida preventiva para disminuir las infecciones intramamarias. En esta práctica es recomendable sumergir las dos terceras partes del pezón en la solución inmediatamente después de retirar las pezoneras.

6.1.1.2 Eliminación de vacas crónicas. Es considerada un vaca crónica aquella que presenta más de dos casos clínicos en la misma lactancia y dichos casos se presentan con un intervalo de por lo menos quince días.

Estas vacas cuando son tratadas pasan de una mastitis clínica a una subclínica y luego nuevamente vuelven al primer estado. Esto es debido a que con el tratamiento solo se obtiene la cura clínica y no la cura

⁵⁸KELMUT, Kraft; Métodos de Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria de Mamíferos domésticos; Pag 156.

bacteriológica. Estas vacas aportan un elevado recuento de células somáticas al tanque y por más productoras que sean se sugiere la eliminación de las mismas por las pérdidas económicas que ocasionan y por ser las principales fuentes de contagio para el hato sano.

6.1.1.3 Secado. Se deben tratar los cuatro cuartos de todas las vacas al secado. El mismo se tiene que hacer dos meses antes de la fecha probable de parto. Sólo aquellas vacas que tienen una baja de producción y se encuentren infectadas podrán ser secadas tempranamente. Ello significa a lo sumo un mes antes de lo normal con la finalidad de eliminar con más posibilidades la infección de la vaca.

El objetivo del tratamiento intra mamario es la prevención de las mastitis clínicas a partir del secado y la cura de las mastitis subclínicas de la lactancia anterior para que después del parto entren con bajos recuentos de células somáticas. Al realizar este tratamiento con un antibiótico de larga duración aumentan las probabilidades de curación. Si en la tercera semana post parto el CCS es bajo indicará que la terapia de secado ha sido efectiva, de lo contrario la terapia o el ambiente no ha sido el adecuado.

6.1.1.4 Organización de los ordeños. Es conveniente ordeñar en primer lugar el hato sano (especialmente las novillas) y al final las vacas en tratamiento para impedir la diseminación y agilizar la rutina de ordeño.

6.1.1.4 Manejo del hato. Los malos tratos del personal, los acarrees rápidos, y las agresiones de los perros han mostrado que incrementan el número de células somáticas.

6.1.2 Edad

El número de lactancias no aumenta por sí mismo el recuento de células somáticas, pero a mayor edad, hay mayor oportunidad de infecciones; estas son de mayor duración y causan mayor daño a los tejidos. Por lo tanto el aumento de células somáticas con la edad es fundamentalmente de origen infeccioso. Las novillas normalmente tienen un recuento de células somáticas de 100.000 y 150.000 cel/ml. Con el correr de las lactancias las vacas presentan un mayor recuento de células somáticas. Esto es debido a un incremento de la prevalencia de mastitis como también a una menor respuesta a los tratamientos. Sin embargo, cualquiera sea la lactancia el conteo de vacas sanas no debería superar las 200.000 cel/ml en tanque.

6.1.3 Etapa de la Lactancia

Aun en ausencia de infección, existe una tasa de descarga de células a la leche dependiente de factores fisiológicos y hormonales. En las dos primeras semanas después del parto, los niveles celulares suelen estar aumentados. Del mismo modo, hacia el final de la lactancia aumenta la concentración de células somáticas, pero en este caso sería más importante en vacas infectadas. Un elevado recuento de células somáticas en leche en los días siguientes al parto puede considerarse normal, sin que ello signifique un estado infectivo. La causa es un aumento de leucocitos al momento del parto, que con el correr de las semanas se normaliza y las células bajan rápidamente.⁵⁹

También la probabilidad de infección aumenta a medida que avanza la lactancia, especialmente después de los 200 a 250 días. Algunas vacas pueden tener un incremento en el recuento de células somáticas sin que

⁵⁹ VELASCO Molina Joel; Op Cip. 2002;

ellas tengan mastitis. Esto generalmente ocurre inmediatamente antes del secado o cuando la producción baja a ser menor de 5 litros y por efecto de concentración aumentan las células somáticas.

Pero a pesar de lo anterior en las vacas que no están infectadas no hay grandes cambios en el recuento de células a lo largo de la lactancia.⁶⁰

6.1.4 Estación del Año

Hay una tendencia al aumento de células somáticas durante el verano, posiblemente por los siguientes factores: Estrés calórico y aumento de la contaminación bacteriana de las ubres por las condiciones climáticas propicias. Las vacas con mastitis subclínicas responden con mayores elevaciones de los recuentos celulares durante el periodo estival.

6.1.5 Variación Durante el Día

Depende del volumen de leche producido con relación al intervalo entre ordeños. En vacas individuales, según diferentes estudios, se encontraron variaciones entre veinte y sesenta por ciento entre el ordeño de la mañana y el de la tarde. Los recuentos son menores durante el ordeño de la mañana.

⁶⁰ SARAN Arthur, CHAFFER Marcelo; Op Cit; Pag 131

6.1.6 Higiene

El objetivo es ordeñar pezones limpios, secos y bien estimulados. Se deben lavar los pezones y secarlos con toallas individuales. Las manos del ordeñador son una fuente importante de contaminación bacteriana, por ello es necesario que el ordeñador utilice guantes para reducir esta fuente de contagio. También se deben limpiar con abundante agua todo el estiércol que proviene de las vacas que se están ordeñando.

6.1.7 Equipo de Ordeño e Instalaciones

El equipo de ordeño es un factor que contribuye en gran medida a la incidencia de mastitis en el rodeo si no está correctamente dimensionado o el control y mantenimiento es deficiente. La máquina de ordeñar está diseñada para trabajar bajo las condiciones especificadas por el fabricante.

- Capacidad de la bomba de vacío: si no existe suficiente vacío en el sistema se debe verificar si la capacidad de la bomba está acorde con el equipo.
- Regulador de vacío y el sistema de pulsado: si estos componentes no funcionan bien las fluctuaciones de vacío harán que pequeñas gotas de leche contaminadas por patógenos de mastitis sean trasladadas a los cuartos sanos de cuartos infectados a través de las pezoneras.

6.1.8 Medio Ambiente

Se pueden realizar prácticas sencillas para reducir la exposición de los pezones a los microorganismos patógenos al contar con un medio ambiente lo más higiénico y seco posible. Hay que evitar que las vacas se echen o

atraviesen lugares con barro en las dos horas post-ordeño. Para ello las vacas deben tener comederos a su disposición en lugares limpios y fáciles de lavar.⁶¹

⁶¹ ANDREWS, H.A; Op Cid; Pag 249

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 MATERIALES

- ❖ 30 Vacas raza Holstein, distribuidos en dos grupos.
- ❖ 50 Tubos con tapa esterilizados.
- ❖ Nevera portátil.
- ❖ Microscopio.
- ❖ Laminas porta objetos.
- ❖ Aceite de inmersión.
- ❖ Coloración de Azul de Newman.⁶²
- ❖ Reactivo MCT.
- ❖ Paleta para la prueba de MCT.⁶³
- ❖ Paquetes de algodón.
- ❖ Alcohol.
- ❖ 10 Cajas de petri.
- ❖ Asas redondas.
- ❖ Agar Sangre.
- ❖ Agar Salado Manita.
- ❖ Agar Mc Conkey.
- ❖ Mechero de Bunsen.
- ❖ Guantes estériles.

⁶² LOCQUIN. M; Manual de Microscopia; Pag 186

⁶³ PHILPOPT W.N; Mastitis managment; pag 1:73

7.2 METODOLOGIA.

7.2.1 Localización:

El presente estudio se realizó en la finca San Pedro, ubicada en la población de Zipaquirá en la vereda de Barandillas, que presenta una topografía plana, una humedad relativa promedio de 60%, una altura sobre el nivel del mar de 2400 metros, temperatura promedio de 15 grados Centígrados y precipitación media anual de 2700 milímetros.

7.2.2 Población Y Muestra:

La población en esta finca es de 80 vacas en ordeño, el estudio se llevó a cabo en muestreos estadísticos de 30 animales escogidos completamente al azar y divididos en dos grupos; uno con mastitis clínica y otro sin mastitis clínica, donde se completo el grupo de casos de mastitis subclínica.

7.2.3 Métodos Y Procedimientos:

Se ubicó un predio donde las vacas que estaban sufriendo de mastitis Clínica y subclínica causada por *Staphylococcus aureus*. Se hicieron pruebas clínicas de la ubre por palpación y prueba de Mastitis California (CMT). Los cuartos que marcaron reacción superior a 1+ en CMT se les tomó muestra.

De las vacas afectadas se tomaron muestras de leche en tubos estériles con 0.5 cc de Púrpura de Bromocresol al 0.5%. De estas muestras se llevaron 9.5 ml de leche de los cuartos afectados, después de la desinfección del pezón y el descarte de los primeros 4 o 5 chorros de leche, estas muestras se

transportaron refrigeradas hasta el laboratorio, siguiendo el método de Hotis⁶⁴.

Todas las muestras se identificaron con el número del animal y del cuarto donde se obtuvo la muestra y se registró en una tabla de resultados del examen clínico de la ubre por cada animal examinado.

Una vez, en el laboratorio se realizó el recuento de células somáticas de acuerdo a la siguiente técnica:

Previamente aislada la muestra e identificada la lamina con el número del animal, en una placa portaobjetos se hizo un extendido de un cm de diámetro con 10 microlitros de leche utilizando el mechero de Bunsen para evitar la contaminación de la muestra.

Posteriormente se dejó secar la lámina de una día para otro, hasta obtener el secado total de la misma. Se cubrió el frotis con Xilol (grado reactivo) para lograr el desengrase de la lamina, se escurrió el exceso de Xilol por gravedad y se dejó secar a temperatura ambiente.

Los frotis que se procesaron se cubrieron con una Coloración de Azul de Newman⁶⁵ durante 2 minutos; para posteriormente eliminar el exceso de colorante por gravedad y lavar con agua.

Se ponen a secar las láminas a temperatura ambiente y posteriormente se realizó la lectura con un objetivo de inmersión un mínimo de 20 campos dentro del frotis de cada animal para posteriormente establecer un promedio de células somáticas por campo.

⁶⁴ COFIN David L.;1959 La Prensa medica Mexicana

⁶⁵ KRAFT Helmut; 1999; Métodos de Laboratorio en Medicina Veterinaria en Animales Domesticos; pag 94:160

Este número de células se multiplicó por 374.000, que es una constante establecida para el volumen de leche manejado, el área del extendido y el área del campo del microscopio.^{66, 67}

$$F = \frac{\text{Area del Frotis}}{\text{Area del Campo}} \times 1000$$

Una vez calculado el número de células somáticas por ml de leche, se anotaron los resultados en los registros de cada animal de acuerdo al cuarto en estudio.

A la vez que se montaron las laminas para el recuento de células somáticas, se sembró en la cabina de flujo laminar por agotamiento en superficie de agar Salado Manita, agar Sangre y agar Mc Conkey, inoculando un ml de leche homogenizada en cada una de las cajas.

Las muestras, que han sido manipuladas de acuerdo a las normas bacteriológicas, para evitar contaminaciones, se incubó a 37 °C por 24 horas y trascurrido este tiempo se anotaron los resultados de la apariencia macroscópica de la muestra (acido, neutro alcalino con presencia o ausencia de sedimento color ladrillo), posteriormente se les hizo conteo de unidades formadoras de colonias en cada uno de los medios.

Trascurrido este tiempo se identificaron las colonias aisladas y en el caso de obtener una morfología macro y microscópica compatibles con cocos en crecimiento puro, se les hizo la prueba de catalasa y los catalasa positivos se les hizo la tipificación del *Staphylococcus* teniendo en cuenta su capacidad

⁶⁶ HUMANCOPE; 2005; Manual Microscopio; pag 50:62

⁶⁷ STEWART James; 2002; Calculo Transcendentes Tempranas; pag I:II

de hemólisis, coagulasa, fermentación del manitol, producción de pigmentos y resistencia a la polimixina B y ureasa. El *Staphylococcus aureus* es positivo a la prueba de coagulasa, prueba de la hemólisis, producción de pigmentos, fermentación del manitol y resistente a la polimixina B (300 unidades por disco) y en la prueba de la reacción de la ureasa es débil.

De acuerdo a estas técnicas se seleccionó la finca que presentó mastitis por *Staphylococcus aureus* y se inició el proceso de selección de los animales.

Para el muestreo se seleccionó la finca y se determinó el número de muestras a procesar, se utilizó el programa EPINFO de la OMS,⁶⁸ utilizando un 99.9% de confiabilidad y un 80.0% de confiabilidad.

Obteniendo un total de muestras de 13 para animales con mastitis clínica y 13 para animales con mastitis subclínica.

Por efectos de ampliar la confiabilidad de los muestreos se amplió a 15 animales en cada grupo.

Se les hizo el seguimiento de las variables dependientes numeradas anteriormente y se anotaron los resultados de todos los animales del hato en tablas para luego ser analizadas.

De los animales seleccionados al azar se tomaron muestras de leche como se describió anteriormente para realizar pruebas de recuento de células somáticas, aislamiento de microorganismos potencialmente patógenos para la ubre y recuentos de microorganismos aerobios en la leche.

⁶⁸ FLEIIS, “Statistical Methods for Rates and Proportions”, 2nd Ed., Wiley, 1981, pp. 38:45

Este procedimiento se realizó semanalmente durante 12 semanas tomando las cuatro primeras semanas como control y aprovechando este tiempo para la preparación de la bacterina que se aplicó en la semana 5 y 6.

Una vez aislado e identificado el *Staphylococcus aureus*, se sembró en caldo nutritivo durante 48 horas a 37 °C.

Cuando se alcanzó un número elevado de gérmenes determinados por turbidimetría⁶⁹, se tomaron muestras de cada frasco para evidenciar la pureza del cultivo; en caso de estar puro el cultivo se inactivó con formaldehído (2 * 1000) a la concentración final.

Se tomó 1 ml de las soluciones inactivadas y se inoculó en 20 ml del caldo nutritivo, que se incubó a 37 °C por 48 horas como prueba de esterilidad.

Evidenciada la esterilidad, se centrifugó cada cultivo inactivado a 900 gravedades por 15 minutos en tubos estériles para descartar el sobrenadante y resuspender el botón con solución salina estéril y como coadyuvante se utilizó hidróxido de aluminio, de manera que se obtenga un mínimo de masa desecada de 30 microgramos por mililitro y se realizaron tres lavados con solución salina estéril, después del último lavado se envasó la vacuna en frascos de ampolla y se realizó una nueva prueba de esterilidad.

La vacuna que se obtuvo se aplicó intramuscular profunda a razón de un ml por animal, a los animales seleccionados se revacunaron a los 8 días.

Una vez aplicada la vacuna y por un lapso de 7 semanas se realizará el seguimiento de los animales con los mismos parámetros ya descritos y con las mismas técnicas.

⁶⁹ KOLMER, John. A.; Clinical Diagnosis By Laboratory Examination; 1944; Pag 1088-1090.

Como datos adicionales, se revisó durante el mismo período de 12 semanas la producción, días abiertos, estados reproductivos del animal, calidad de leche, número de lactancias de cada animal y etapa de lactancia que se encontraban.

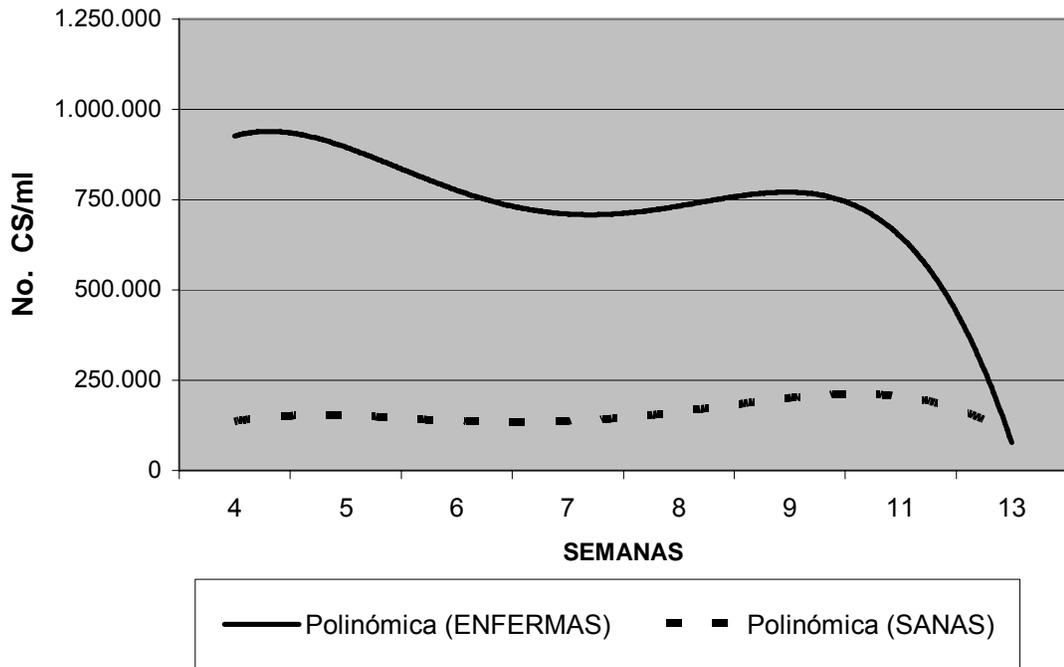
8. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

8.1 RESULTADOS DEL CONTEO DE CELULAS SOMATICAS

Los datos se presentan en los anexos del 1 al 11, en este capítulo se presentarán graficados los datos que mostraron significancia estadística, y lo que se graficó en esta figura es la parte polinómica, para que se viera una línea homogénea y poder interpretar con mayor facilidad.

Todos los datos se analizaron de acuerdo a las técnicas de análisis operacional de varianza, análisis de t, estadística descriptiva y correlaciones.

Figura No 6. Conteo de Células Somáticas



FUENTE: DATOS OBTENIDOS EN EL CHEQUEO

En la vacas sanas se encontró que los recuentos de células somáticas (RCS) durante el lapso del experimento se ubicaron por debajo del valor de corte (250.000 RC/ml) lo que demuestra que en este grupo no aparecieron casos nuevos de mastitis. El leve incremento que se observa el RCS es factible que se deba a la reacción del sistema inmune hacia la infección, mientras tanto en las enfermas se encontró que el RCS inicial fue en promedio de 1.097.067 células somáticas ($P \leq 0.95$), posteriormente se observó que dicho recuento disminuye durante el tiempo de experimentación hasta llegar a 598.400 promedio de células somáticas ($P \leq 0.95$) en el último muestreo, evidenciando de esta manera que el proceso inflamatorio que sufrían las glándulas mamarias de estos animales disminuyó a los valores tolerables en el RCS. De acuerdo con estos resultados es factible concluir que el sistema inmune si reaccionó y controló la infección.

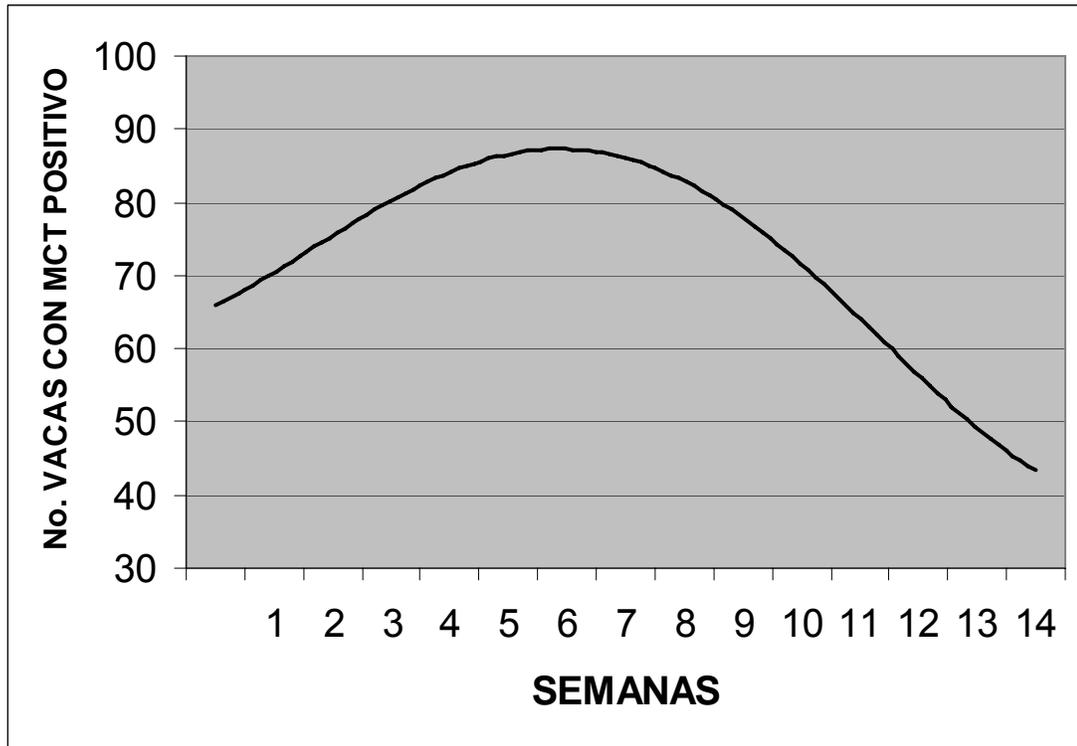
8.2 RESULTADOS DE CALIFORNIA MASTITIS TEST

Los datos se presentará en el anexo número 12.

8.2.1 Vacas Marcando con CMT Positivo

Se dieron como animales que marcaron positivos, a los que en la prueba de mastitis test formaron trazas o marcaron mas de 2 cruces, la primera semana en la que se empezó el tratamiento marcaron positivo 68 vacas de una población de aproximada de 100 vacas, viendo un incremento sustancial al empezar el desarrollo de la enfermedad. Por este incremento fue que este predio fue escogido en el estudio que se realizo para hacer las pruebas con la vacuna. **Ver Figura No 7**

Figura No 7. Resultados de vacas que marcaron positivo al CMT.



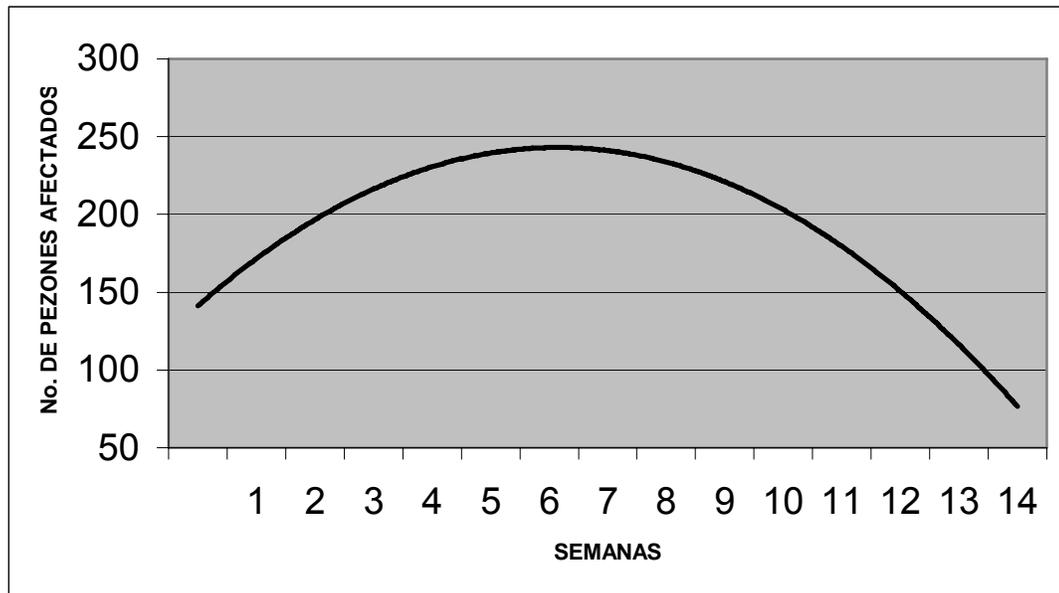
FUENTE: DATOS OBTENIDOS EN EL CHEQUEO

Se vacunó en la semana cuarta repitiendo la misma dosis a la quinta semana, teniendo un aumento considerable en los próximos quince a veinte días, posiblemente por la respuesta inmunológica del animal, durante este tiempo el total de vacas que resultaron positivas fue de 86, siendo este el número mas alto que se llegó a encontrar.

Al cabo de la semana octava se observa una disminución en los pezones que marcaron al comienzo con la prueba de mastitis test, hasta llegar a la semana catorce donde solo 47 vacas marcaron positivo.

8.2.2 Pezones Afectados

Figura No 8. Pezones afectados



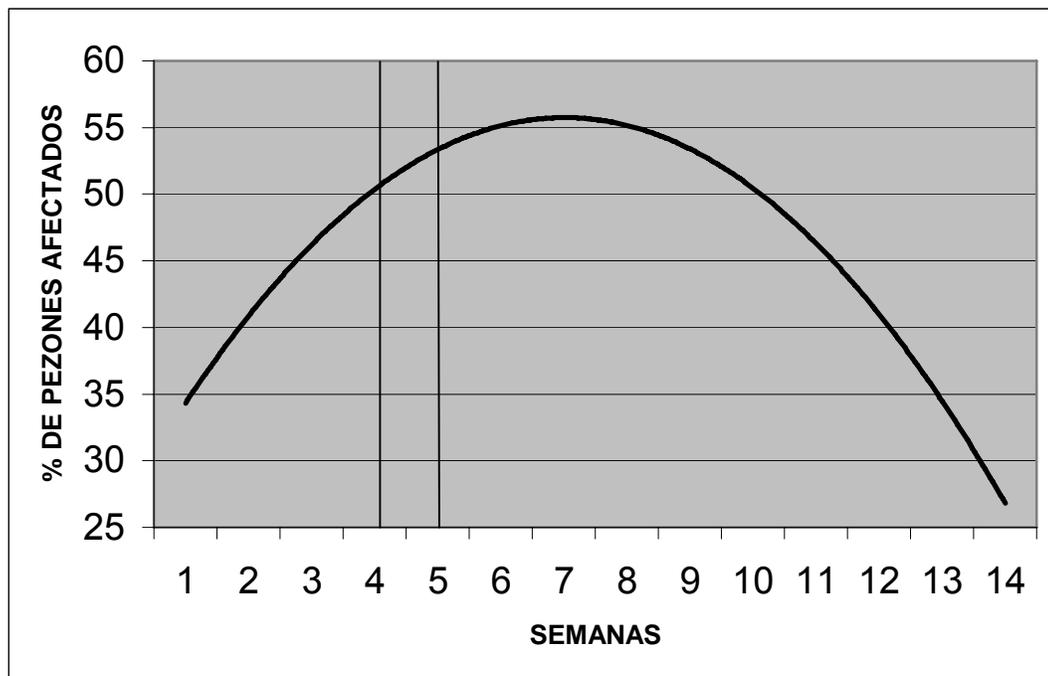
FUENTE: DATOS OBTENIDOS EN EL CHEQUEO

Se tomaron como pezones afectados, a todos los pezones en los que se observó una o más cruces, la figura es similar al anterior con un grupo más elevado que empezó con 137 pezones que dieron positivo y alcanzó hasta 270, estos valores incluyeron más número de pezones afectados ya que se incluyen todos los que dieron positivo.

Esto nos indica que en el hato se presenta gran porcentaje, tanto, de mastitis clínica como subclínica, puede ser porque algunas vacas están empezando a desarrollar la enfermedad y no presentan signos clínicos visibles, y las que presentaban signos clínicos ya fueron muchas tratadas, sin tener una buena respuesta.

8.2.3 Porcentaje de Pezones Afectados

Figura No 9. Porcentaje de Pezones Afectados



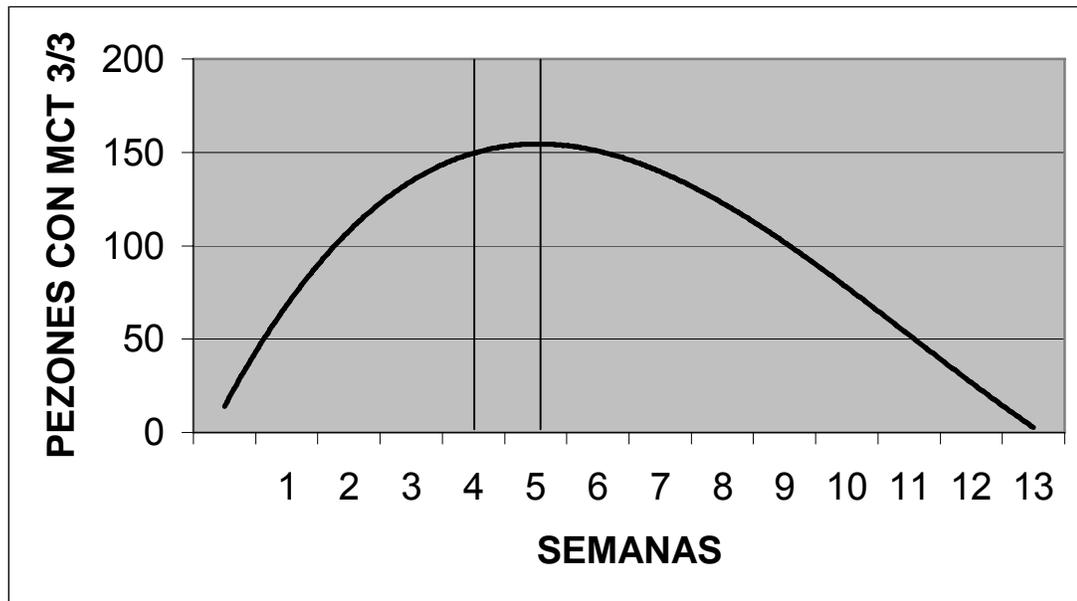
FUENTE: DATOS OBTENIDOS EN EL CHEQUEO

Lo que muestra esta gráfica es el porcentaje total de pezones que están afectados, tomando los cuatro pezones de cada vaca a la que se le hizo la prueba y se promediaron. Teniendo en cuenta que se llegó a tener entre el 55 y el 60% del total de los pezones afectados del hato y ningún pezón perdido.

Casi todas estas gráficas tienen un comportamiento similar, ya que se tomó toda la población del hato en sí, la cual tuvo el mismo efecto ante la vacuna y la misma mejoría.

8.2.4 Pezones con 3 o más cruces a la Prueba de Mastitis California

Figura No 10. Pezones que marcaron 3 o más cruces



FUENTE: DATOS OBTENIDOS EN EL CHEQUEO

Los pezones que en la CMT dieron tres o más de tres cruces, son de vacas que ya presentaban mastitis Clínica, aportando estas un gran número de células somáticas.

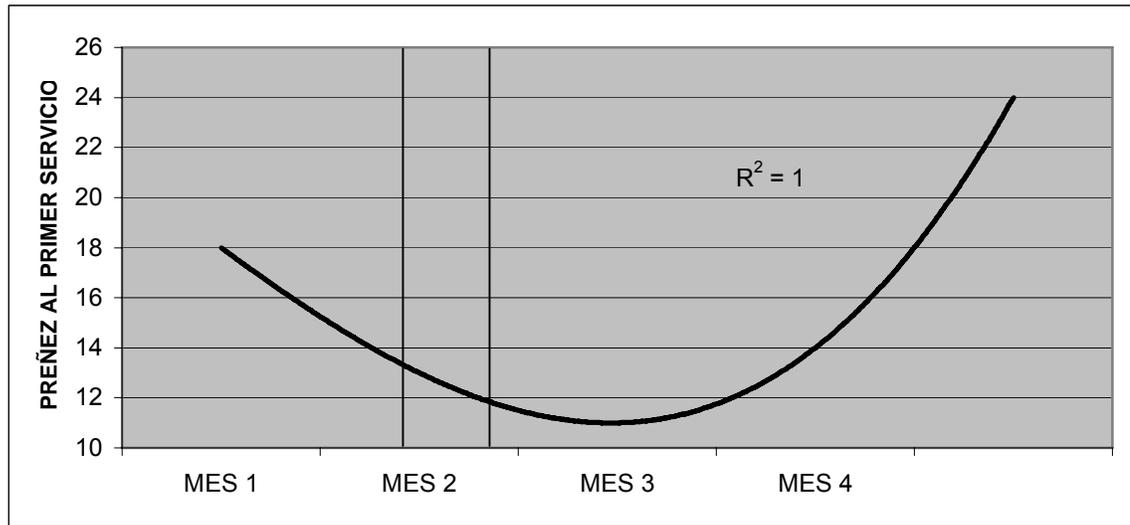
En la figura se observa que la semana cuarta y quinta que fue en la que se vacunó, el problema se incrementó, ya que un mes antes los pezones que marcaron 3 o más de tres fueron 10, al momento que se le suministró la vacuna alcanzó un poco más de 150 pezones, a la octava semana empezó a disminuir el número de pezones en los que se observaban tres cruces, esto sucede, mientras que el sistema inmune reaccionaba.

8.3 RESULTADOS REPRODUCTIVOS

Los datos se presentarán en el anexo número 13

8.3.1 Vacas Primer Servicio

Figura No 11. Vacas Preñadas al Primer Servicio.



FUENTE: DATOS OBTENIDOS EN EL CHEQUEO

El número de vacas preñadas al primer servicio tuvo una disminución tanto al empezar el problema como en el momento a la vacunación.

Es muy probable que mientras la enfermedad se desarrolló, un marcado número de vacas, que no quedaron cargadas en el primer servicio, quedaron vacías hasta que se controló la enfermedad.

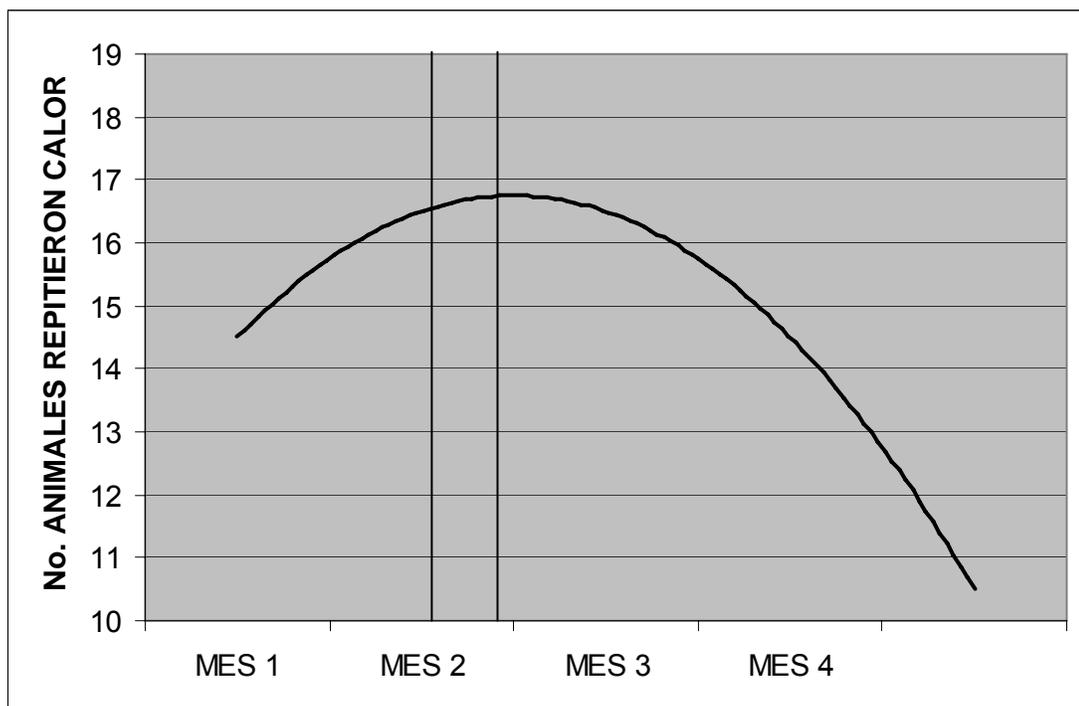
Aquí se hizo una progresión a 6 meses ya que la correlación es muy confiable ($R= 1$), para que indicara que el número de vacas que quedaron gestantes con un solo servicio a la décima semana es igual al número de vacas que se cargaron con un servicio al empezar hacerse el estudio; pero que a décimo sexta semana tienen un incrementó de vacas gestantes.

Por esta razón es posible pensar que este fenómeno se presento porque las vacas preñadas se confirman a los 45 días en la mayoría de los casos.

Teniendo en cuenta estos 45 días a partir de la vacunación, vemos que en el cuarto mes ya se empieza a subir el número de vacas cargadas con un servicio.

8.3.2 Vacas Repetidoras

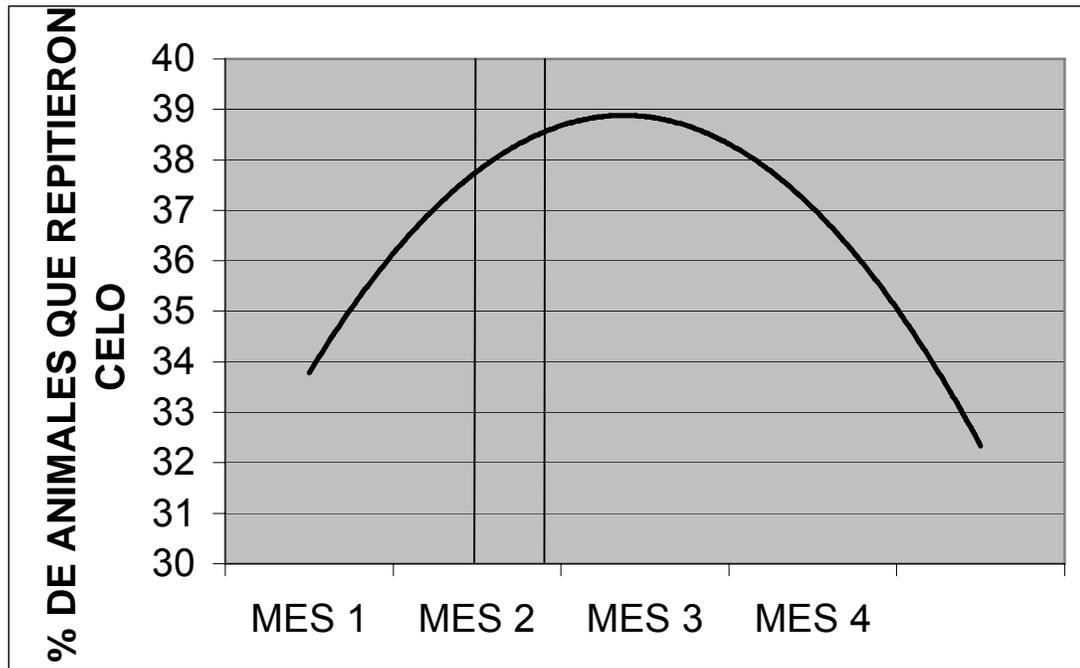
Figura No 12. Número Vacas Repetidoras



FUENTE: DATOS OBTENIDOS EN EL CHEQUEO

Este cuadro muestra cuando las vacas empiezan a enfermar, hay un número mayor de vacas que no quedan preñadas, teniendo su máximo punto quince días después de la aplicación de la vacuna, después de ese punto, empieza a haber una disminución muy marcada. Que es cuando el mismo sistema inmunológico ataca al agente etiológico y controla la enfermedad.

Figura No 13. Porcentaje de Animales que Repitieron Celo

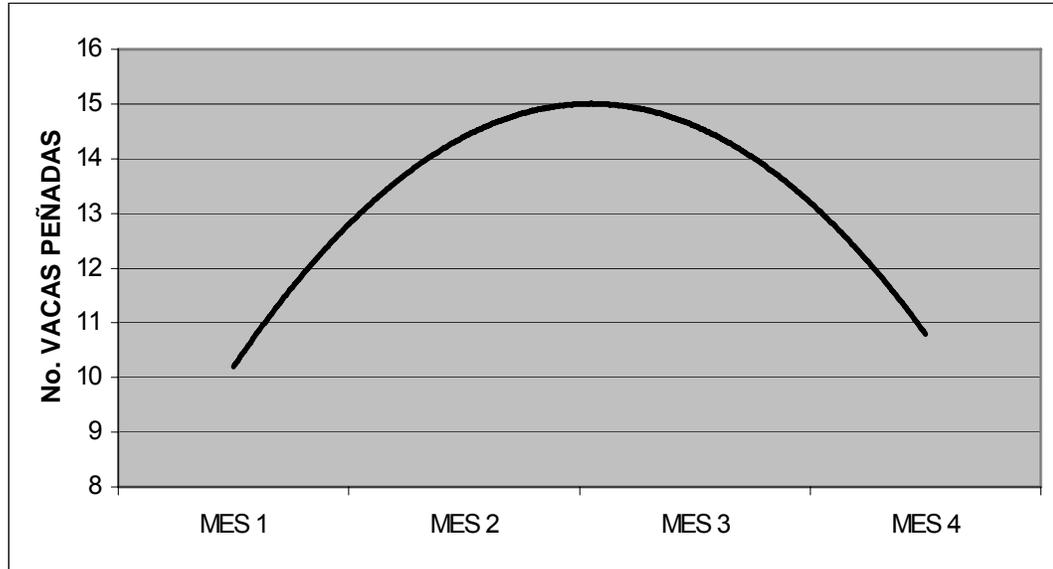


FUENTE: DATOS OBTENIDOS EN EL CHEQUEO

Esta figura se obtuvo de los mismos datos anteriores, pero ya contando la población total y expresándola en porcentaje, este dato muestra el comportamiento del rebaño.

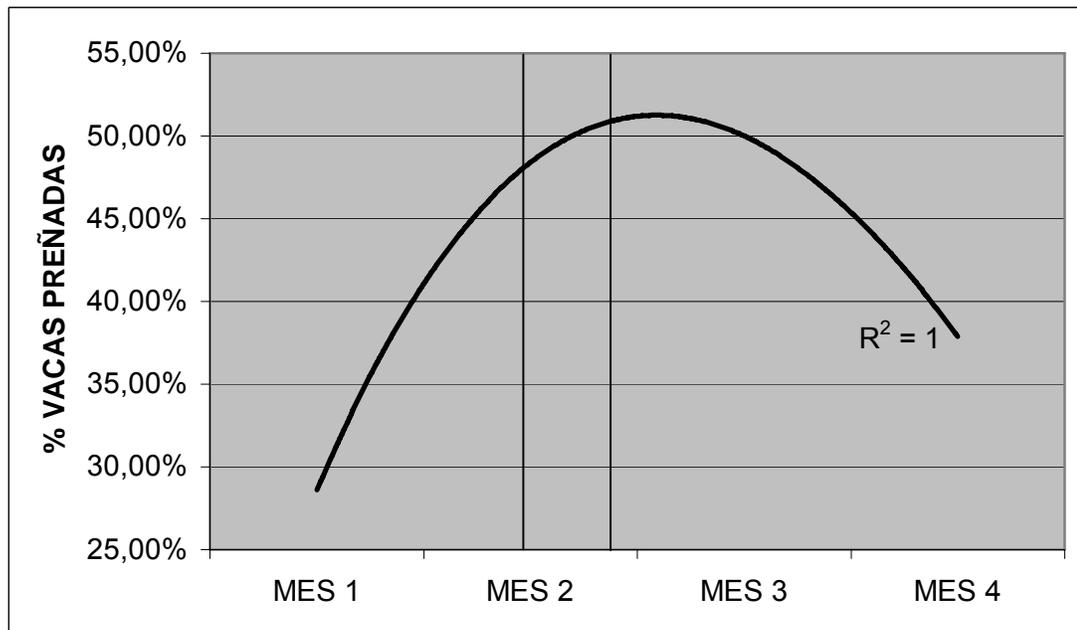
8.3.3 Vacas Cargadas

Figura No 14. Número de Vacas Cargadas



FUENTE: DATOS OBTENIDOS EN EL CHEQUEO

Figura No 15. Porcentaje de Vacas Cargadas



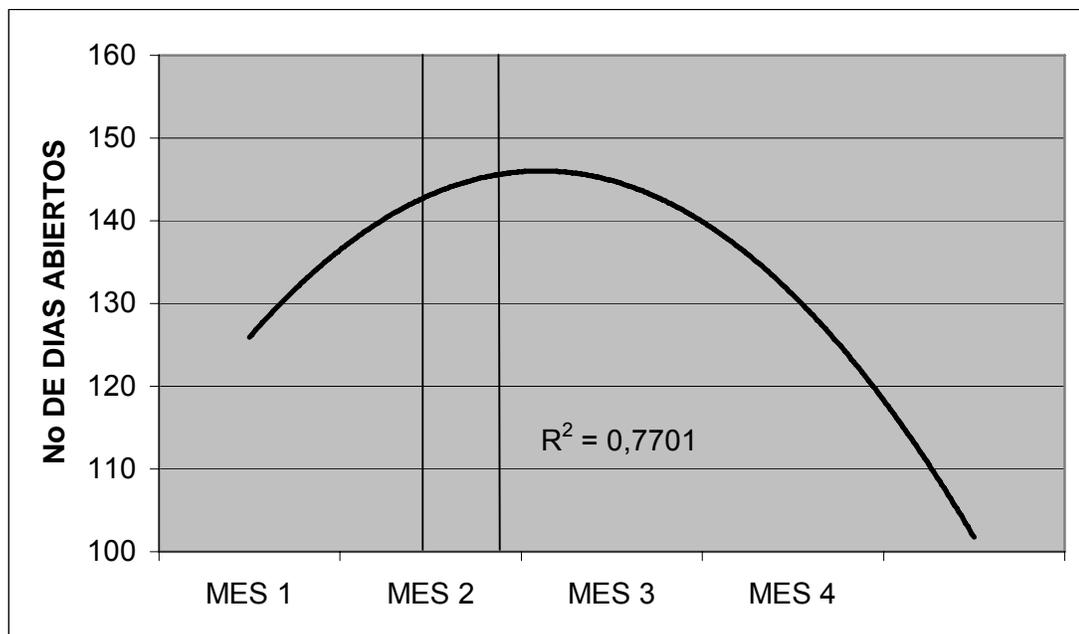
FUENTE: DATOS OBTENIDOS EN EL CHEQUEO

Estas dos figuras ilustran, que cuando empezó la enfermedad hay un incremento en las vacas preñadas, esto se debe a que las vacas fueron inseminadas entre los dos últimos meses, antes que se presentara la enfermedad y se confirmaron por ese tiempo; ya que según la literatura las vacas son confirmadas a los 45 a 60 días post inseminación.

Al cabo del final del segundo mes ya se empieza a notar una disminución del número de vacas preñadas por que el primer y segundo mes del estudio las vacas no quedaron gestantes, posiblemente por la presentación de la enfermedad entre 45 a 60 días de desarrollo y las vacas que son chequeadas en ese tiempo aparecen no gestantes.

8.3.4 Días Abiertos

Figura No 16. Número de Días abiertos



FUENTE: DATOS OBTENIDOS EN EL CHEQUEO

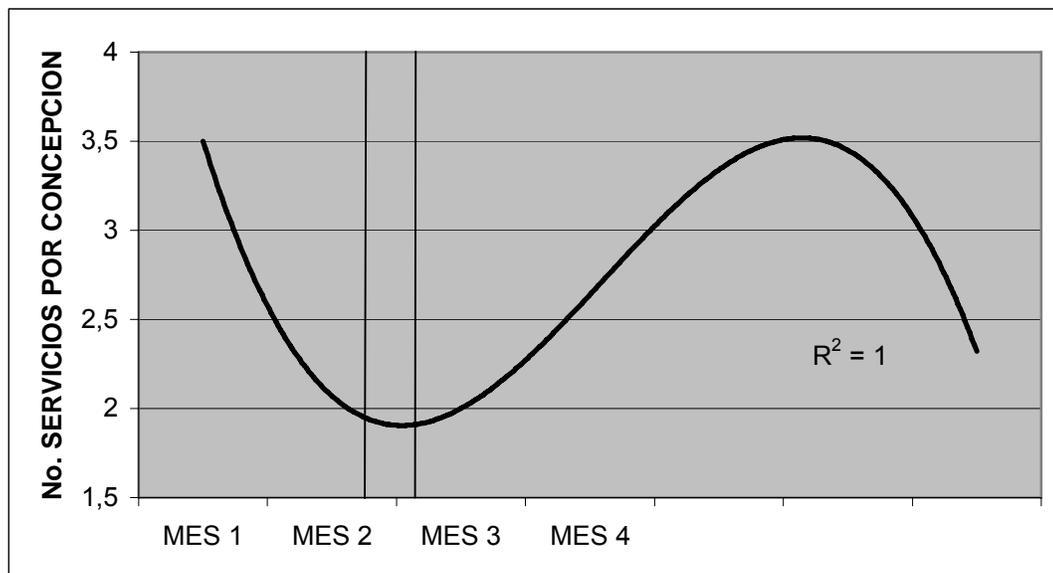
Los días abiertos aumentan a medida que la enfermedad se hace mas aguda hasta mas o menos, al mes que se les aplico la vacuna, a medida que se va

controlando la enfermedad los días abiertos disminuyen, mostrándonos la relación que tiene el aumento de días abiertos con la mastitis.

Lo mismo pasa con la siguiente figura que se mostrará a continuación, entre más días abiertos, hay más servicios para poder cargar la vaca, pues si la vaca no esta en buenas condiciones muy probablemente no demostrara un celo muy fuerte, ese es uno de los muchos puntos que interfieren en que la vaca quede cargada con pocos servicios.

8.3.5 Servicio por Concepción

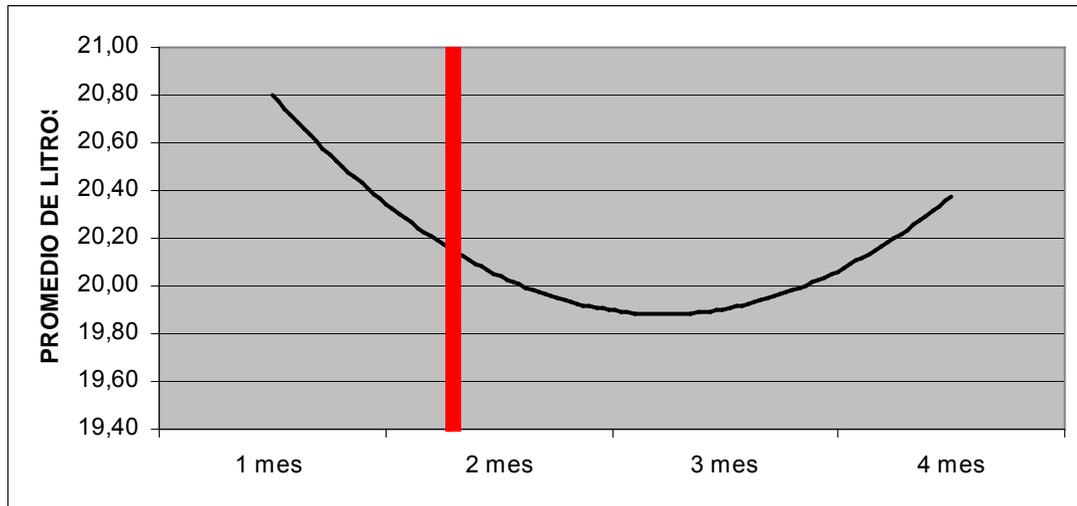
Figura No 17. Número de Servicios por Concepción



FUENTE: DATOS OBTENIDOS EN EL CHEQUEO

8.4 Producción de Leche

Figura No 18. Promedio de Producción de Leche del Hato, Los datos se presentarán en los anexos números 14, 15, 16 Y 17.



FUENTE: DATOS OBTENIDOS EN EL CHEQUEO

Esta gráfica nos indica que la producción de leche disminuye notablemente cuando se empieza a presentar la enfermedad, a medida que la enfermedad se va desarrollando, la disminución en la producción de leche también disminuye.

Dos semanas después de la vacunación la producción se mantiene, teniendo un aumento a la cuarta semana después de haber vacunado

CONCLUSIONES

- ❖ La vacuna que se elaboró a partir del agente etiológico que se aisló en la misma finca, es una muy buena herramienta tanto para el tratamiento como la prevención de la mastitis clínica.
- ❖ El conteo de células somáticas, tuvo un valor significativo. Ya que mostró al inicio de la respuesta un cuadro mas agudo que luego fue disminuyendo a medida que el sistema inmune reaccionaba hasta llegar posiblemente a ser controlada la enfermedad.
- ❖ La reproducción de la vaca posiblemente se afecta cuando se presenta un cuadro de mastitis clínica, este punto se sumaria a las grandes perdidas económicas ya que las vacas no quedan gestantes fácilmente, presentando un aumento en los días abiertos y un aumento en los servicios por concepción. Esto se le sumaría a las grandes perdidas económicas por baja producción y mala calidad de la leche.

RECOMENDACIONES

- ❖ La mejor forma de prevenir y controlar la mastitis es por medio de un buen manejo, teniendo dos factores de gran importancia como lo son unas buenas normas higiénicas y un buen mantenimiento de la maquinaria que se utiliza en el ordeño.
- ❖ Utilizar la vacuna como forma preventiva en animales sanos o con mastitis subclínica, en hatos donde se presente mastitis.
- ❖ Teniendo en cuenta que la vacuna se prepara a partir de la leche mastítica, esto hace que sea específica a la población donde se obtuvo la muestra.

BIBLIOGRAFÍA

ASCARI. S; Evaluación de la Aceptación y Efectividad de un Programa de Control de Mastitis Basado en Higiene y Terapia de Vacas Secas; Tomado de:

www.bibliofcv.veter.ucv .ve.

ARMENTEROS A., Mabelin; Prevención de la Mastitis Bovina: La Desinfección de los Pezones Post-ordeño; Tomado de:

www.monografias.com /trabajos36

ANDREWS, H.A; Sanidad del Ganado Vacuno Lechero; 2005; Pag 242

BLOWEY. Roger, EDMONDSON. Peter; Control de la Mastitis en Granjas de Ganado Vacuno de Leche; Ed Acribia S.A; Zaragoza, España; 1999.

CALDERON. Alfonso, DONADO. Pilar; Cuantificación de Factores de Riesgo de Mastitis Asociados al Funcionamiento de Equipos de Ordeño; Tomado de:

www.unal.edu.co

COFIN, David; La Prensa Mexicana; Mexico; 1959; Pag 42.

DAVIS. Richard F.; La Vaca Lechera su cuidado y Explotación; Ed. LIMUSA; México; 1995. Pag 226-227

ESTRADA. E, PERALTA. L, RIVAS.P; Manual de Técnicas Histológicas; AGT EDITOR SA. México,1982; Pag 82-90.

HELMUY, Kraft. Métodos de laboratorio clínico en medicina Veterinaria de mamíferos domésticos. Ed. acribia, Zaragoza, España. 1998

KLEINSCHROTH Ernst, RADOLD Karl, DENEKE Jurgen; La Mastitis; EDIMED; España; 1991; Pag: 1-89

KOLMER, John. A.; Clinical Diagnosis By Laboratory Examination; Ed. Appleton Century Company; Londres 1944; Pag 1088-1090.

LOCQUIN. M; Manual de Microscopia; Ed Labolsa; Barcelona, España; 1985; Pag 186.

RODRÍGUEZ MARTINEZ. German; La Mastitis Bovina y el Potencial para su Control en la Sabana de Bogota, Colombia; ICA; Bogota, Colombia; 1988; Pag 89.

RODRÍGUEZ VIVAS. Roger Iván; Enfermedades de Importancia en Producción Animal; Ed. Mc Graw Hill Interamericana; México; 2005

REUBEN, Rose. Manual clínico de Bovinos. Primera Edición. Ed. Mc Graw Hill Interamericana, México. 1995. Pag. 607-611

SARAN Arthur, Chaffer Marcelo; Mastitis y calidad de leche; Intermedica editorial; Bogota; Colombia; 2002. Pag 189

SMITH, Bradford; Large Animal Internal Medicine; 3er Edición; Ed. MOSBY; USA; 2002. Pag 1019-1032

PHILIP M Sears, KATEK Mc Carthy; Diagnosis of Mastitis for Therapy Decisions, The Veterinary Clinics of North America- Food Animal Practice; Marzo 2003; Vol. 19; No 1; Pag 93-109

PHILIP M Sears, KATEK Mc Carthy; Investigation of Mastitis Problems on Farms, Management and treatment of Staphylococcal mastitis, The Veterinary Clinics of North America- Food Animal Practice; Marzo 2003; Vol. 19; No 1; Pag 47-74.

PHILIP M Sears, KATEK Mc Carthy; Management and Treatment of Staphylococcal Mastitis, The Veterinary Clinics of North America- Food Animal Practice; Marzo 2003; Vol. 19; No 1; Pag 171-187.

PHILIP M Sears, KATEK Mc Carthy; Management of Dry Cow in Control of Peripartum Disease and Mastitis, The Veterinary Clinics of North America- Food Animal Practice; Marzo 2003; Vol. 19; No 1; Pag 171-187.

PHILPOT W.N ; Mastitis Managment, Ed Babson Bros SO Pag 73.

QUINN P.J, CARTER M.E. MARKEY B., CARTER G:R; Clinical Veterinary MicrobiologyEd. WOLFE; 1994; Londres; pag 118:121.

SISSON. S, GROSSMAN. J.D; Anatomía de los Animales Domésticos; Quinta Edición; Ed. MASSON; Barcelona, España; Pag 1055. 1982.

STEWART James; Cálculo Transcendentes Tempranas; Cuarta Edición; Editorial Math Learning; España; 2002; pag I:II

TIZARD. Ian R; Inmunología Veterinaria; Cuarta Edición; Ed. Mc Graw Hill Interamericana; México; 2000. Pag 59. 250.

VADILLO S., PIRIZ S., MATEOS E.; Manual de Microbiología Veterinaria; Ed Mc Graw Hill interamericana; Madrid, España, 2002. pag 451

VAN Horn H. H., Wilcox C .J.; Large Dairy Herd Management; Ed American Dairy Science Association; 1992.; Pag 10

ANEXOS

Anexo No 1. Análisis Operacional de Varianza de dos Factores con Varias Muestras por Grupo

RESUMEN	CCS 2	CCS 3	CCS 4	
	0			
Cuenta	15	15	15	15
Suma	2992000	1122000	2244000	2992000
Promedio	199466,667	74800	149600	199466,667
Varianza	3,73E+10	2,3979E+10	5,595E+10	3,73E+10
	374000			
Cuenta	15	15	15	15
Suma	16456000	8228000	10472000	13464000
Promedio	1097066,67	548533,333	698133,333	897600
Varianza	1,9076E+12	1,5719E+11	3,5702E+11	6,1545E+11
	Total			
Cuenta	30	30	30	30
Suma	19448000	9350000	12716000	16456000
Promedio	648266,667	311666,667	423866,667	548533,333
Varianza	1,1473E+12	1,455E+11	2,7718E+11	4,4117E+11
ANÁLISIS DE VARIANZA				
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>
Muestra	1,7841E+13	1	1,7841E+13	58,0247596
Columnas	2,3658E+12	6	3,943E+11	1,2823626
Interacción	1,2534E+12	6	2,0889E+11	0,6793838
Dentro del grupo	6,0265E+13	196	3,0748E+11	
Total	8,1726E+13	209		

RESUMEN	CCS 6	CCS 7	CCS 8	Total
	0			
Cuenta	15	15	15	105
Suma	2618000	3118000	1496000	16582000
Promedio	174533,333	207866,667	99733,3333	157923,81
Varianza	1,1723E+11	2,8823E+11	4,929E+10	8,4411E+10

	374000			
Cuenta	15	15	15	105
Suma	10846000	8976000	9350000	77792000
Promedio	723066,667	598400	623333,333	740876,19
Varianza	1,6918E+11	3,1572E+11	1,7318E+11	5,2986E+11
	<i>Total</i>			
Cuenta	30	30	30	
Suma	13464000	12094000	10846000	
Promedio	448800	403133,333	361533,333	
Varianza	2,1608E+11	3,3101E+11	1,783E+11	
ANÁLISIS DE VARIANZA				
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>		
Muestra	1,0765E-12	3,88934041		
Columnas	0,26700432	2,14507168		
Interacción	0,66646628	2,14507168		
Dentro del grupo				
Total				

Anexo No 2. Estadística Descriptiva de Vacas Sanas

	CCS 1	CCS 2	CCS 3	CCS 4
Media	124666,667	199466,667	74800	149600
Error típico	59602,0667	49866,6667	39982,2818	61073,9443
Mediana	0	374000	0	0
Moda	0	374000	0	0
Desviación estándar	230837,812	193132,77	154850,712	236538,369
Varianza de la muestra	5,3286E+10	3,73E+10	2,3979E+10	5,595E+10
Curtosis	2,625	-2,30769231	0,8974359	1,26373626
Coefficiente de asimetría	1,79155091	-0,1489609	1,67208193	1,40738731
Rango	748000	374000	374000	748000
Mínimo	0	0	0	0
Máximo	748000	374000	374000	748000
Suma	1870000	2992000	1122000	2244000
Cuenta	15	15	15	15
Mayor (1)	748000	374000	374000	748000
Menor(1)	0	0	0	0

	CCS 1	CCS 5	CCS 6	CCS 7	CCS 8
Media		199466,667	174533,333	207866,667	99733,3333
Error típico		49866,6667	88404,1513	138620,203	57323,4321
Mediana		374000	0	0	0
Moda		374000	0	0	0
Desviación estándar		193132,77	342387,806	536873,737	222012,698
Varianza de la muestra		3,73E+10	1,1723E+11	2,8823E+11	4,929E+10
Curtosis		-2,30769231	3,64629688	9,89688573	4,78479519
Coefficiente de asimetría		-0,1489609	2,0462065	3,07407718	2,27296845
Rango		374000	1122000	1996000	748000
Mínimo		0	0	0	0
Máximo		374000	1122000	1996000	748000
Suma		2992000	2618000	3118000	1496000
Cuenta		15	15	15	15
Mayor (1)		374000	1122000	1996000	748000
Menor(1)		0	0	0	0

Anexo No 3. Estadística Descriptiva de Vacas Enfermas

CCS 1		CCS 2	CCS3	CCS4
Media	872666,667	1097066,67	548533,333	698133,333
Error típico	188478,284	356617,649	102369,911	154276,124
Mediana	748000	748000	374000	748000
Moda	374000	374000	374000	748000
Desviación estándar	729973,255	1381174,21	396476,961	597508,86
Varianza de la muestra	5,3286E+11	1,9076E+12	1,5719E+11	3,5702E+11
Curtosis	0,95913462	8,97713537	-1,06965284	2,17441781
Coefficiente de asimetría	1,25377354	2,89837595	0,10023419	1,21934599
Rango	2618000	5236000	1122000	2244000
Mínimo	0	374000	0	0
Máximo	2618000	5610000	1122000	2244000
Suma	13090000	16456000	8228000	10472000
Cuenta	15	15	15	15
Mayor (1)	2618000	5610000	1122000	2244000
Menor(1)	0	374000	0	0

CCS 1	CCS5	CCS 6	CCS7	CCS 8
Media	897600	723066,667	598400	623333,333
Error típico	202559,358	106202,119	145079,315	107449,154
Mediana	748000	748000	374000	748000
Moda	374000	374000	374000	748000
Desviación estándar	784509,018	411319,04	561889,771	416148,783
Varianza de la muestra	6,1545E+11	1,6918E+11	3,1572E+11	1,7318E+11
Curtosis	1,63609118	-0,67553904	4,78713963	-0,00955849
Coefficiente de asimetría	1,4744856	0,14814875	1,96572356	0,41213355
Rango	2618000	1496000	2244000	1496000
Mínimo	0	0	0	0
Máximo	2618000	1496000	2244000	1496000
Suma	13464000	10846000	8976000	9350000
Cuenta	15	15	15	15
Mayor (1)	2618000	1496000	2244000	1496000
Menor(1)	0	0	0	0

ANEXO No 4.

PRIMER MUESTREO DE CCS Y CMT

No.	Vaca No.	CCS/Vaca	California Mastitis Test			
			DI	DD	TI	TD
1	412	0	-	-	-	-
2	419	0	3	1	1	1
3	432	0	-	-	1	1
4	436	374.000	-	-	-	-
5	457	374.000	1	2	3	3
6	839	0	2	2	-	-
7	849	0	1	-	-	2
8	862	0	-	-	-	-
9	863	0	-	-	-	-
10	874	0	-	-	-	1
11	877	0	-	-	-	-
12	904	0	-	-	1	-
13	907	0	-	-	-	-
14	909	748.000	-	3	-	-
15	911	374.000	-	-	-	-
16	267	374.000	2	1	2	3
17	591	748.000	3+	3+	3+	3+
18	667	374.000	3+	1	3+	3+
19	685	1.870.000	3	3	3+	3+
20	701	374.000	3	1	3+	3
21	743	0	-	3	2	3
22	750	2.618.000	3	3	3	3
23	752	374.000	-	1	2	2
24	768	748.000	3+	3+	3+	3+
25	784	1.122.000	3	3	3	3
26	785	1.122.000	3	3	3	3
27	799	374.000	3+	1	2	2
28	833	374.000	3	3	3	3
29	840	1.870.000	3	3	3	3+
30	854	748.000	3	-	-	-

ANEXO No 5.

SEGUNDO MUESTREO DE CCS Y CMT

No.	Vaca No.	CCS/Vaca	California Mastitis Test			
			DI	DD	TI	TD
1	412	0	-	-	-	-
2	419	0	3	1	1	1
3	432	374.000	-	1	-	-
4	436	374.000	1	1	-	-
5	457	0	-	1	-	-
6	839	374.000	1	3	-	-
7	849	374.000	-	-	-	-
8	862	0	-	-	-	-
9	863	0	-	-	-	-
10	874	0	-	-	-	-
11	877	374.000	-	-	-	-
12	904	374.000	-	-	3+	3
13	907	0	-	-	-	-
14	909	374.000	-	3	-	-
15	911	374.000	1	3	-	-
16	267	374.000	1	2	2	3
17	591	748.000	3+	3+	3+	3+
18	667	374.000	3+	3+	3+	3+
19	685	1.122.000	3+	-	3+	3+
20	701	374.000	3	1	1	3
21	743	374.000	3	3	3	3
22	750	5.610.000	3	3	3	3
23	752	1.122.000	3+	3+	3+	3+
24	768	1.122.000	3	3	1	1
25	784	748.000	3	-	2	3
26	785	748.000	3	2	2	2
27	799	374.000	3	3+	3	3
28	833	374.000	3	3	3	3
29	840	2.618.000	1	3	3	3
30	854	374.000	1	1	-	-

ANEXO No 6.

TERCER MUESTREO DE CCS Y CMT

No.	Vaca No.	CCS/Vaca	California Mastitis Test			
			DI	DD	TI	TD
1	412	374.000	-	-	-	-
2	419	0	3	-	-	-
3	432	0	-	-	-	-
4	436	0	-	-	-	-
5	457	0	-	2	3	-
6	839	0	-	2	3	-
7	849	0	-	-	-	1
8	862	0	-	-	-	-
9	863	0	-	-	-	-
10	874	374.000	-	-	-	-
11	877	0	-	-	-	-
12	904	0	-	-	3+	3+
13	907	0	-	1	-	-
14	909	0	-	-	-	-
15	911	374.000	-	1	1	-
16	267	374.000	2	3	2	3+
17	591	748.000	3+	3	3+	3
18	667	374.000	2	-	3	3+
19	685	0	3	-	3+	3+
20	701	0	3	-	3+	3+
21	743	1.122.000	3	3	3+	3
22	750	748.000	1	3	3	2
23	752	374.000	3+	3+	3+	3+
24	768	1.122.000	1	1	1	-
25	784	748.000	3+	-	3	3+
26	785	374.000	2	1	-	-
27	799	0	3	3	3	3
28	833	748.000	3+	1	3	3
29	840	1.122.000	-	-	3	3+
30	854	374.000	2	-	-	-

ANEXO No 7.

CUARTO MUESTREO DE CCS Y CMT

No.	Vaca No.	CCS/Vaca	California Mastitis Test			
			DI	DD	TI	TD
1	412	0	-	-	-	-
2	419	0	1	-	-	-
3	432	374.000	-	-	-	1
4	436	0	-	-	-	-
5	457	0	-	1	1	-
6	839	0	-	3	-	-
7	849	0	-	-	-	1
8	862	748.000	1	-	-	-
9	863	0	-	-	-	-
10	874	374.000	-	-	-	-
11	877	374.000	-	-	-	-
12	904	0	-	-	-	1
13	907	0	-	-	-	-
14	909	374.000	-	2	-	-
15	911	0	-	-	-	-
16	267	1.496.000	1	3+	3+	3+
17	591	748.000	3+	3	3	3
18	667	374.000	3	3	3	3+
19	685	0	3+	2	3+	3+
20	701	748.000	3	-	3	2
21	743	374.000	1	3	2	2
22	750	748.000	3+	3+	2	2
23	752	748.000	3+	3+	3+	3+
24	768	748.000	2	2	2	1
25	784	1.122.000	2	-	-	-
26	785	748.000	1	1	-	-
27	799	374.000	-	-	-	-
28	833	0	3+	-	-	-
29	840	2.244.000	-	1	3+	3+
30	854	0	-	-	-	-

ANEXO No 8.

QUINTO MUESTRO DE CCS Y CMT

No.	Vaca No.	CCS/Vaca	California Mastitis Test			
			DI	DD	TI	TD
1	412	0	-	-	-	-
2	419	374.000	3	1	-	-
3	432	374.000	-	1	-	-
4	436	374.000	1	1	-	-
5	457	0	1	2	3	-
6	839	374.000	1	3	-	-
7	849	0	-	-	-	-
8	862	374.000	-	-	-	-
9	863	374.000	-	-	-	-
10	874	0	-	-	-	-
11	877	0	-	-	-	-
12	904	0	-	-	3+	3
13	907	374.000	-	-	-	-
14	909	374.000	-	3	-	-
15	911	0	-	-	-	-
16	267	1.122.000	1	2	2	3
17	591	374.000	2	2	-	-
18	667	374.000	3+	3+	3+	3+
19	685	2.618.000	3+	-	3+	3+
20	701	1.122.000	3	1	1	3
21	743	1.122.000	3	3	3	3
22	750	374.000	3	3	3	3
23	752	748.000	3+	3+	3+	3+
24	768	1.122.000	3	3	1	1
25	784	374.000	3	-	2	3
26	785	374.000	3	2	2	2
27	799	374.000	3	3	3+	3
28	833	2.618.000	3+	-	-	-
29	840	748.000	1	3	3	3
30	854	0	1	1	-	-

ANEXO No 9.

SEXTO MUESTREO DE CCS Y CMT

No.	Vaca No.	CCS/Vaca	California Mastitis Test			
			DI	DD	TI	TD
1	412	374.000	-	-	-	-
2	419	0	3	1	-	-
3	432	0	-	1	-	-
4	436	0	1	1	-	-
5	457	0	1	2	3	-
6	839	0	1	3	-	-
7	849	0	-	-	-	-
8	862	0	-	-	-	-
9	863	748.000	-	-	-	-
10	874	374.000	-	-	-	-
11	877	0	-	-	-	-
12	904	0	-	-	3+	3
13	907	0	-	-	-	-
14	909	1.122.000	-	3	-	-
15	911	0	-	-	-	-
16	267	1.122.000	1	2	2	3
17	591	374.000	2	2	-	-
18	667	374.000	3+	3+	3+	3+
19	685	1.122.000	3+	-	3+	3+
20	701	748.000	3	1	1	3
21	743	748.000	3	3	3	3
22	750	748.000	3	3	3	3
23	752	374.000	3+	3+	3+	3+
24	768	1.122.000	3	3	1	1
25	784	748.000	3	-	2	3
26	785	374.000	3	2	2	2
27	799	0	3	3	3+	3
28	833	1.496.000	-	-	-	-
29	840	1.122.000	1	3	3	3
30	854	374.000	1	1	-	-

ANEXO No 10.

SEPTIMO MUESTREO DE CCS Y CMT

No.	Vaca No.	CCS/Vaca	California Mastitis Test			
			DI	DD	TI	TD
1	412	0	-	-	-	-
2	419	0	-	-	-	-
3	432	0	-	-	-	-
4	436	0	-	-	-	-
5	457	0	-	-	-	-
6	839	0	-	-	-	-
7	849	0	-	-	-	-
8	862	0	-	-	-	-
9	863	748.000	-	-	-	-
10	874	374.000	-	-	-	-
11	877	0	-	-	-	-
12	904	0	-	-	-	-
13	907	0	-	-	-	-
14	909	1.996.000	-	2	-	-
15	911	0	-	-	-	-
16	267	1.122.000	2	2	2	2
17	591	374.000	2	2	2	2
18	667	374.000	-	-	-	-
19	685	374.000	-	-	3	-
20	701	374.000	1	-	-	-
21	743	0	1	1	1	1
22	750	748.000	1	2	2	1
23	752	374.000	-	-	-	-
24	768	374.000	-	-	-	-
25	784	748.000	2	-	2	2
26	785	374.000	2	-	2	-
27	799	0	1	1	1	1
28	833	1.122.000	3	-	2	2
29	840	2.244.000	2	1	2	2
30	854	374.000	1	1	-	-

ANEXO No 11.

OCTAVO MUESTREO DE CCS Y CMT

No.	Vaca No.	CCS/Vaca	California Mastitis Test			
			DI	DD	TI	TD
1	412	0	-	-	-	-
2	419	0	-	-	-	-
3	432	0	-	-	-	-
4	436	0	-	-	-	-
5	457	0	-	-	-	-
6	839	748.000	-	-	-	-
7	849	0	-	-	-	-
8	862	0	-	-	-	-
9	863	0	-	-	-	-
10	874	0	-	-	-	-
11	877	0	-	-	-	-
12	904	374.000	3	1	2	1
13	907	0	-	-	-	-
14	909	0	-	2	-	-
15	911	374.000	-	-	-	-
16	267	748.000	2	2	2	2
17	591	374.000	2	2	2	2
18	667	374.000	-	-	-	-
19	685	748.000	-	-	P	-
20	701	748.000	-	-	3	-
21	743	374.000	1	-	-	-
22	750	1.122.000	1	2	2	1
23	752	374.000	2	-	2	2
24	768	748.000	2	-	2	-
25	784	1.496.000	1	1	1	1
26	785	748.000	1	1	1	1
27	799	0	-	-	-	-
28	833	374.000	-	-	-	-
29	840	1.122.000	3	-	2	2
30	854	0	2	1	2	2

ANEXO No 12.

PRUEBA DE CMT A TODO EL HATO

Semana	Vacas Marcando	Pezones Afectados	Pezones Marcaron
			3
1	68	157	32
2	65	134	50
3	79	217	101
4	78	191	116
5	88	258	162
6	89	270	177
7	87	237	162
8	79	207	116
9	77	219	114
10	84	238	122
11	86	263	100
12	51	109	9
13	56	148	27
14	51	136	15

ANEXO No 13.

REGISTROS REPRODUCTIVOS DEL HATO DURANTE EL ESTUDIO

	1 MES	2 MES	3 MES	4 MES
Vacas de Primer Servicio	18	13	11	14
Vacas Repetidoras	14	18	15	15
Vacas Cargadas	10	15	14	11
Días Abiertos	124	149	139	133
Servicio por Concepción	3.50	2.,07	2.00	2.64
Porcentaje de Preñez	28.6%	48.4%	50%	37.9%

ANEXO No 14.

REGISTRO DE PRODUCCION DE LECHE DEL HATO DURANTE EL PRIMER MES DE ESTUDIO

Día	# de Vacas	P. Total	Promedio
1	111	2333	21,02
2	111	2270	20,45
3	111	2282	20,56
4	109	2278	20,90
5	109	2272	20,84
6	109	2189	20,08
7	110	2244	20,40
8	110	2299	20,90
9	112	2284	20,39
10	112	2322	20,73
11	112	2285	20,40
12	112	2279	20,35
13	104	2342	22,52
14	104	2086	20,06
15	104	2185	21,01
16	104	2204	21,19
17	104	2152	20,69
18	104	2219	21,34
19	104	2196	21,12
20	104	2182	20,98
21	104	2205	21,20
22	106	2254	21,26
23	106	2198	20,74
24	107	2206	20,62
25	107	2285	21,36
26	107	2219	20,74
27	108	2262	20,94
28	108	2215	20,51
29	108	2226	20,61
30	108	2247	20,81
31	108	2237	20,71

ANEXO No 15.

REGISTRO DE PRODUCCION DE LECHE DEL HATO DURANTE EL SEGUNDO MES DE ESTUDIO

Día	# de Vacas	P. Total	Promedio
1	107	2261	21,13
2	107	1129	10,55
3	107	2158	20,17
4	107	2182	20,39
5	107	2193	20,50
6	107	2218	20,73
7	106	2150	20,28
8	106	2129	20,08
9	106	2171	20,48
10	106	2079	19,61
11	106	2162	20,40
12	106	2226	21,00
13	106	2148	20,26
14	107	2192	20,49
15	107	2229	20,83
16	109	2219	20,36
17	109	2170	19,91
18	109	2325	21,33
19	109	2234	20,50
20	109	2258	20,72
21	109	2168	19,89
22	109	2204	20,22
23	109	2182	20,02
24	108	2209	20,45
25	108	2137	19,79
26	108	2234	20,69
27	108	2174	20,13
28	108	2111	19,55
29	108	2134	19,76
30	108	2162	20,02

ANEXO No 16.

REGISTRO DE PRODUCCION DE LECHE DEL HATO DURANTE EL TERCER MES DE ESTUDIO

Día	# de Vacas	P. Total	Promedio
1	108	2194	20,31
2	108	2237	20,71
3	109	2204	20,22
4	109	2117	19,42
5	109	2196	20,15
6	110	2189	19,90
7	110	2159	19,63
8	107	2204	20,60
9	107	2216	20,71
10	107	2239	20,93
11	109	2255	20,69
12	109	2225	20,41
13	109	2092	19,19
14	109	2034	18,66
15	109	2134	19,58
16	109	2140	19,63
17	110	2177	19,79
18	110	2191	19,92
19	113	2222	19,66
20	113	2242	19,84
21	113	2231	19,74
22	115	2235	19,43
23	115	2291	19,92
24	117	2289	19,56
25	117	2342	20,02
26	117	2343	20,03
27	117	2323	19,85
28	117	2375	20,30
29	117	2350	20,08
30	117	2347	20,05
31	117	2356	20,13

ANEXO No 17.

REGISTRO DE PRODUCCION DE LECHE DEL HATO DURANTE EL CUARTO MES DE ESTUDIO

Día	# de Vacas	P. Total	Promedio
1	117	2335	19,96
2	117	2378	20,32
3	117	2270	19,40
4	117	2318	19,81
5	105	2326	22,15
6	103	2219	21,54
7	103	2120	20,58
8	103	2159	20,96
9	103	2144	20,82
10	103	2125	20,63
11	103	2214	21,50
12	103	2190	21,26
13	103	2206	21,42
14	103	2194	21,30
15	103	2107	20,46
16	103	2149	20,86
17	107	2116	19,78
18	107	2102	19,64
19	107	2207	20,63
20	107	2033	19,00
21	107	2037	19,04
22	107	2090	19,53
23	107	2104	19,66
24	107	2221	20,76
25	107	2124	19,85
26	107	2035	19,02
27	107	2282	21,33
28	108	2132	19,74
29	108	2148	19,89
30	108	2148	19,89
31	108	2123	19,65