

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



MASTITIS POR MYCOPLASMOSIS

PRESENTA

ALEJANDRO GÓMEZ ESQUIVEL

TESINA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR:

MC. Francisco J Carrillo Morales

TORREÓN, COAHUILA

MARZO DEL 2009

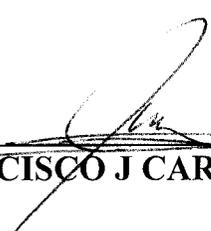
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**TESINA
MASTITIS POR MYCOPLASMOSIS**

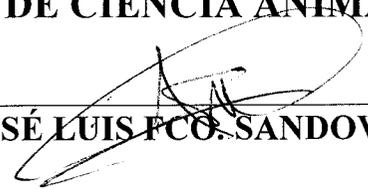
APROBADO POR EL COMITÉ

PRESIDENTE DEL JURADO



MC FRANCISCO J CARRILLO MORALES

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL**



MC. JOSÉ LUIS PCO. SANDOVAL ELÍAS

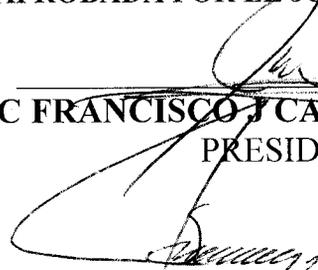
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



TESINA

MASTITIS POR MYCOPLASMOSIS

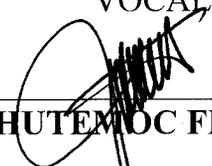
APROBADA POR EL JURADO EVALUADOR



MC FRANCISCO J. CARRILLO MORALES
PRESIDENTE



MVZ. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO
VOCAL



MVZ. CUAHUTEMOC FELIX ZORRILLA
VOCAL



MC JOSÉ LUIS FCO. SANDOVAL ELÍAS
VOCAL SUPLENTE

AGRADECIMIENTOS.

A mi padre dios por haberme dado la fuerza, valor y esperanza de haber terminado mi carrera.

A mis padres por haberme dado los medios y la confianza y por haberme apoyado en los momentos difíciles durante toda mi carrera.

A mi esposa por haber estado con migo siempre, por toda su pasiensa y disposición.

A todos mis hermanos por que creyeron en mi.

A todos mis tíos, primos y amigos que me apoyaron siempre en todos los trabajos y tareas.

A todos mis maestros que me instruyeron en esta carrera.

Y a mi escuela por todos los servicios que me dio.

DEDICATORIAS

A mis padres Irene y Juan Antonio.

A mi esposa Nadia.

A mi hijo Luis Alejandro

A mis hermanos:

Rosi

Sonia

Juani

Toño

Miguel

Adriana

David

Índice

Agradecimientos	I
Dedicatorias	II
Resumen	1
Título: Mastitis por Micoplasmosis.	2
Introducción.	2
Objetivo.	3
Revisión de literatura.	4
Definición de Mastitis.	4
Etiología de la Mastitis.	6
Patógenos Contagiosos.	7
Patógenos Oportunistas.	7
Epizootiología de los patógenos contagiosos.	8
Patógenos ambientales.	9
Aspectos generales de Micoplasmosis	10
Microbiología.	10
Cepas de Micoplasmas	13
MASTITIS CAUSADA POR MICOPLASMA	13
Especies de micoplasmas.	13
Reseña Histórica.	14
Epidemiología	17
Patogenia.	20
Signos clínicos más comunes en la mastitis:	21
Galactoforitis aguda.	21
Galactoforitis crónica	22
Mastitis apostematosa.	22
Diagnóstico	22
Tratamiento	22
Impacto económico.	23
Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera mundial.	23
Clasificación de la mastitis.	24
Mastitis clínica.	24
Mastitis subclínica.	26

Pruebas para el diagnóstico de mastitis.	28
Cultivo Microbiológico	29
CONTROL DE MASTITIS	30
Genéticos	31
Nutricionales	32
Higiene durante el ordeño	32
Equipo de Ordeño	33
Personal en zona para ordeño	33
Encargado.	33
Ordeñadores.	34
Procedimientos para el diagnóstico de la mastitis bovina	34
Inspección.	34
Palpación.	34
Percusión.	34
Auscultación.	34
Olfación.	35
Colección de muestras de leche	35
Cloro en leche.	35
Determinación de pH en leche	35
Determinación de albúmina sérica en leche	35
Conductividad eléctrica.	36
Determinación del número de células somáticas.	36
Prueba de California para Mastitis (CMT)	37
Procedimiento para la prueba de CMT	37
Interpretación de las pruebas para mastitis	38
Procedimiento para la Prueba de Wisconsin para Mastitis (WMT).	39
Métodos.	40
Estudio de hato	41
Antisépticos para pezones	41
Antecedentes de mastitis por mycoplasma.	43
Conclusiones.	61

Resumen

La mastitis por *Mycoplasma* se caracteriza por presentación de cuadros clínicos severos que generalmente afectan a más de una glándula mamaria, con pérdida cuantiosa en la producción de leche, casos que son resistentes a los tratamientos. La infección puede ser introducida al hato por un animal infectado, o aparecer como consecuencia de la infección en glándula mamaria a través del equipo de ordeño; después se puede propagar por medio del personal de ordeña, las pezoneras de las ordeñadoras mecánicas y por soluciones que usualmente se emplean para el lavado de las ubres. Las épocas o condiciones frías y húmedas aumentan la incidencia de la infección, ya que los *Mycoplasma* s pueden sobrevivir más tiempo en esas condiciones. Bedolla, C. C. (4) 2005.

Los *Mycoplasmas*, son considerados como bacterias incompletas que carecen de pared celular, son pleomórficos observándose generalmente de forma esferoidal o filamentosa, tamaño menor a las 500 milimicrómetro, son aeróbios, su desarrollo se da bien en leche aún con presencia de elevadas cantidades de leucocitos.

El objetivo de esta tesina es Mostar la importancia que tiene esta enfermedad que carece de tratamiento específico y describir las características más importantes de mastitis por *Mycoplasma* en las explotaciones lecheras, sobre la base de estudios realizados en diversas partes del mundo y en México. Los síntomas clínicos, diagnóstico, epidemiología, y un plan de acción son presentados.

Palabras claves: Mastitis, *Mycoplasma bovis*, diagnóstico

Palabras claves: Mastitis, *Mycoplasma bovis*, diagnóstico

Título: Mastitis por Mycoplasmosis.

Introducción.

La industria lechera es una de las principales empresas de producción animal de México aportando millones de pesos por año, el cual corresponde a un gran porcentaje del Ingreso Bruto Agropecuario (Sagarpa). A pesar de ello, la industria lechera es afectada por varios factores. Entre éstos se destacan la baja eficiencia en producción de leche a nivel establo, la tendencia decreciente en las ventas de leche fresca y la presencia de enfermedades en los hatos lecheros. Entre las principales enfermedades que afectan al ganado lechero en México se encuentra la mastitis. *Shim, E. H., R. D. Shanks, y D. E. Morin. 2004.*

La mastitis bovina está considerada como una de las enfermedades más complejas y costosas de las que afectan a la industria láctea. Su complejidad se debe a los numerosos y variados agentes patógenos que pueden causarla, la variedad y magnitud de la respuesta que puede producirse en el animal infectado, los múltiples factores que influyen en su ocurrencia y los resultados encontrados en las medidas de control. Aunque su erradicación es virtualmente imposible, algunos programas de control permiten reducirla a niveles aceptables, debido a la disminución en el rendimiento de leche y un aumento en el número de tratamientos clínicos y desecho temprano de vacas Rabello *et al.*, 2005. Ceron-Muñoz *et al.*, 2002. Por lo que se ha reconocido, durante algún tiempo, como la enfermedad más costosa en los hatos lecheros (Correa *et al.*, 2002; Boulanger *et al.*, 2003).

Los trabajos de investigación realizados en la Comarca Lagunera en torno a la mastitis se han enfocado en la identificación de los microorganismos patógenos causantes de la misma, como el *Mycoplasma*, pruebas de sensibilidad y evaluación de estos patógenos a diferentes antibióticos, prácticas de manejo y la tasa de incidencia de mastitis, comparación de diversos desinfectantes para el

control de la misma así como la determinación de la relación cuantitativa entre los RCS y la producción de leche Lala, 2006.

La mastitis por *Mycoplasma* se caracteriza por presentación de cuadros clínicos severos que generalmente afectan a más de una glándula mamaria, con pérdida cuantiosa en la producción de leche, casos que son resistentes a los tratamientos.

Son varias las cepas de *Mycoplasmas* capaces de producir mastitis, entre las que se mencionan: *M. bovis*, *M. bovirhinalium*, *M. alkalescens*, *M. canadense*, *M. californicum*, *M. arginini*, *M. bovirhinalis*, *M. dispar*, *M. laidlawii*, *Ureaplasma*. Considerándose entre los más agresivos el *Mycoplasma bovis*.

Las enfermedades causadas por *Mycoplasma* s en el ganado, aunque su papel es por lo general subestimado son de gran importancia. Haciendo caso omiso de *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC, el agente causal de CBPP- que es por cierto el único OIE la lista A de enfermedades bacterianas *Mycoplasma* otras especies pueden causar masivas respiratorias, venéreas y otras enfermedades también. Entre estos *Mycoplasma bovis* es el más importante y la mayoría de patógenos bovinos *Mycoplasma* en Europa y América del Norte.

La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria que se produce como respuesta al daño causado por diferentes agentes agresores, microorganismos y sus toxinas, productos químicos, traumas, temperaturas extremas, etc. La gran mayoría de los casos de mastitis se debe a la penetración de microorganismos, generalmente bacterias.

En los países desarrollados la rentabilidad de las explotaciones lecheras depende del mantenimiento de bajos niveles de mastitis y la producción de leche de buena calidad, a fin de evitar penalizaciones y acceder a los pagos de incentivos por calidad de leche.

Objetivo.

Este documento describe las características de las infecciones intramamarias contagiosas, los esfuerzos de manejo y procedimientos específicos

de control para reducir la tasa de nuevas infecciones por estos organismos, así como también un programa de control de la mastitis contagiosa paso por paso.

Revisión de literatura.

Definición de Mastitis

La mastitis se define como una inflamación de la glándula mamaria en respuesta a traumas o a una invasión de la ubre por microorganismos *Ma et al., 2000* que, generalmente, ganan acceso a la glándula mamaria a través del esfínter del pezón. Como resultado, se observa una inflamación de la glándula mamaria, acompañada de cambios físicos, químicos y microbiológicos, que ocasionan un incremento en la concentración de células somáticas y cambios patológicos en el tejido mamario (CNM, 1996). *Ma, et al.,2000. Effects of somatic cell count on quality and shelf life of pasteurized fluid milk. J. Dairy Sci. 83:264-274.*

La mastitis se caracteriza por hinchazón, fiebre, enrojecimiento, dolor e interrupción de las funciones normales de la ubre. Como efecto de la inflamación ocurre inhibición de las fases tempranas de la vasodilatación, edema, migración celular, proliferación de fibroblastos y deposición de colágeno. El primer cambio patológico que se observa en las vacas con mastitis es el aumento en la permeabilidad capilar de los tejidos de la glándula mamaria, lo cual puede afectar la barrera sangre-leche y permitir el paso de proteínas del suero de la sangre a la leche. El cloruro de sodio y otros compuestos aumentan en la leche debido al paso de la sangre hacia ésta, causando que el pH normal de 6.6 aumente hasta 6.9 (Harmon, 1994). Como mecanismo de compensación osmótica se reduce la síntesis de lactosa a medida que aumenta la concentración de cloruro de sodio en la leche (Auldist y Hubble, 1998). Citados por Curbelo R., 2007.

Los cambios patológicos y fisiológicos que ocurren en la glándula mamaria durante las infecciones intramamarias, junto con la identificación de organismos

patógenos involucrados, constituyen los criterios básicos para el diagnóstico de mastitis. Avila, T, S. et al.,1993.

La inflamación es un mecanismo de protección de la glándula para ayudar a eliminar los microorganismos y sus toxinas y reparar los tejidos afectados. Los síntomas principales incluyen fiebre sistémica, hinchazón de la ubre, enrojecimiento de la ubre, dolor e interrupción de las funciones normales de la glándula mamaria y aumento en los niveles de células somáticas en la leche (Gallin et al., 1992; Kehrlí y Shuster, 1994).

La estimación de los (RCS) recuento de células somáticas, es la medida más común para la determinación indirecta del nivel de mastitis infecciosa en vacas lecheras. Los RCS pueden ser medidos en muestras de leche de los cuartos de vacas individuales o del tanque de almacenamiento de la finca. Éstos se consideran un buen estimador de la calidad de la leche (Lukas et al., 2005). Es por esto que los RCS en muestras de tanque de almacenamiento de las fincas se incluyen como una de las pruebas rutinarias regulatorias para el mercadeo de la leche grado A. El reglamento sanitario local ha adoptado la reglamentación de calidad de los Estados Unidos para la clasificación de leche grado A, cuyo límite máximo es de 750,000 células/ml en los RCS de muestras de tanque (US Dep. of Health and Human Services, 1997).

Los ganaderos o el abasto de leche que no cumplan con esta especificación podrían ser excluidos de la clasificación de leche grado A y por ende de la oportunidad para el mercadeo interestatal de leche.

Los trabajos de investigación realizados en torno a la mastitis han enfocado en la identificación de los microorganismos patógenos causantes de la misma, pruebas de sensibilidad de estos patógenos a diferentes antibióticos, evaluación de prácticas de manejo y la tasa de incidencia de mastitis en regiones específicas, comparación de diversos desinfectantes para el control de la mastitis

así como la determinación de la relación cuantitativa entre los RCS y la producción de leche (Pantoja et al., 1996).

M. bovis aislado por primera vez en los EE.UU. de la leche de una vaca con mastitis en 1961 (Hale et al., 1962). En primer lugar, se obtuvo el nombre *Mycoplasma bovimastitidis* entonces *Mycoplasma agalactiae* subsp. bovis, a causa de los cuadro clínico similar a la de agalactia contagiosa causada en las ovejas *M.agalactiae*. Más tarde, tras el examen del 16S ribosomal RNA fue elevado a especie y recibió el nombre de *Mycoplasma bovis* (Askaa y Erno, 1976).

Etiología de la Mastitis.

Se han identificado más de 130 especies, subespecies y serovares de bacterias causantes de la enfermedad; sin embargo, más del 75% de los casos se deben a microorganismos GRAM Positivos, particularmente especies de los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus*. La enfermedad tiene dos formas básicas de presentación: clínica y subclínica que, por lo general, no son más que fases del proceso inflamatorio.

En la forma clínica se presentan evidentes signos de inflamación como tumefacción, rubor, dolor, cambios notables en la secreción y eventualmente, signos sistémicos como fiebre, pérdida del apetito y depresión.

La forma subclínica se caracteriza por la existencia de inflamación sin los signos macroscópicos que permiten reconocerla, por lo que generalmente pasa desapercibida, a pesar de ser 20 a 50 veces más frecuente que la forma clínica.

En México, todos los estudios señalan una alta prevalencia de mastitis subclínica, que afecta a más del 25% de los cuartos y más del 50% de los animales, mientras que la prevalencia de casos clínicos generalmente es menor al 3%. Desde el punto de vista epidemiológico, los patógenos causantes de la mastitis se han clasificado en los siguientes tres grupos, de acuerdo a su origen y forma de transmisión en el rebaño. Los organismos causantes de mastitis han sido clasificados en patógenos contagiosos y ambientales de acuerdo con sus

características de distribución e interacción con el pezón y su canal. Los patógenos contagiosos viven y se multiplican en la glándula mamaria y la piel del pezón, se transmiten de animal a animal principalmente durante el ordeño e incluyen a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis* y a especies de *Mycoplasma*. Los patógenos ambientales son aquellos cuyo reservorio primario es el lugar donde viven las vacas. *Watts J.1988.*

Estos organismos constituyen un grupo heterogéneo de géneros y especies bacterianas, siendo los más frecuentemente aislados los estreptococos y las bacterias coliformes. Los estreptococos ambientales (EA) causantes de mastitis bovina incluyen *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus equinus* (anteriormente caracterizado como *Streptococcus bovis*), *Streptococcus equi*, *Streptococcus parauberis* y *Streptococcus canis*. Dentro de estos, *S. uberis* y *S. dysgalactiae* son los más prevalentes, causando infección intramamaria (IIM) favorables. *Streptococcus dysgalactiae* puede comportarse tanto como un patógeno ambiental como contagioso.

Patógenos Contagiosos.

Streptococcus agalactiae, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma bovis*, y *Corynebacterium bovis*; Patógenos Ambientales, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Arcanobacterium pyogenes* y muchos otros agentes. *Watts J.1988. Etiological agents of bovine mastitis, Vet. Microbiol. 16:41-66. 1988.*

Patógenos Oportunistas.

Staphylococcus hycus, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus intermedius* y muchas otras especies de estafilococos, que forman parte de la flora normal de piel. *Watts J.1988. Etiological agents of bovine mastitis, Vet. Microbiol. 16:41-66. 1988.*

Epizootiología de los patógenos contagiosos.

La fuente principal de estos patógenos son los cuartos de ubre infectados y su transmisión ocurre durante el ordeño a través de las manos del ordeñador, paños de secado y pezoneras. En este grupo de microorganismos se ubican: *Streptococcus agalactiae* el cual es un parásito estricto de la ubre bovina, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis* y *Mycoplasma bovis*. Los dos primeros son los que prevalecen en explotaciones que carecen de programas de control de mastitis y buenas prácticas de ordeño. *Streptococcus agalactiae* generalmente causa una mastitis aguda que, en ausencia de tratamiento, tiene un curso crónico y subclínico, con eventuales episodios clínicos.

El microorganismo induce un alto grado de inflamación, con gran aumento en el contenido de células somáticas. *Staphylococcus aureus* generalmente causa mastitis subclínica de larga duración, con episodios clínicos recurrentes, gran aumento en el contenido de células somáticas y eliminación clínica del agente; las infecciones crónicas no responden a los antibióticos y se recomienda la eliminación de los animales crónicamente infectados. *Corynebacterium bovis* es frecuentemente aislado del canal de pezón; causa mastitis subclínica con muy bajo grado de inflamación; es uno de los agentes más frecuentes en establos en los que no desinfectan pezones. ***Mycoplasma bovis*** y otras especies de *Mycoplasma* s causan agalactia y un desmejoramiento general en los animales afectados; suele afectar las cuatro glándulas y diseminar rápidamente en el rebaño.

En general, el pronóstico es malo y suele requerir la eliminación de los animales afectados.

Patógenos ambientales.

La fuente de infección es el ambiente de las vacas. Estos microorganismos provienen del suelo, heces, camas de los animales, aguas contaminadas y no dependen del momento del ordeño para ganar acceso al extremo del pezón; pueden provocar infecciones en cualquier momento, pero más frecuentemente en el período de seca y más probable en el lapso peri-parto. Los organismos coliformes como *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* y *Klebsiella pneumoniae*, por lo general causan mastitis clínica, a veces aguda o hiperaguda, limitada a un cuarto y de corta duración (menor de 10 días).

Las mastitis por organismos coliformes son difíciles de diagnosticar por cultivo debido al bajo número de microorganismos que se eliminan en la leche (menos de 100 bacterias/ml) y la brevedad de la infección. Los estreptococos y enterococos que habitan en las vacas y su ambiente como *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus bovis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans*, entre otros, pueden causar cuadros subclínicos y también clínicos de diferente intensidad, desde leves hasta agudos, tanto en vacas en lactancia como secas, pero la infección es más frecuentemente en el período de seca. Causan infecciones de corta duración (menos de 30 días), pero un poco más prolongadas que las ocasionadas por coliformes. (Watts J. *Etiological agents of bovine mastitis, Vet. Microbiol.* 16:41-66. 1988).

Los patógenos ambientales (coliformes, estreptococos ambientales y enterococos) suelen ser un problema en las explotaciones lecheras en las que se han aplicado eficientemente programas de control de la mastitis contagiosa y en países con clima estacional que obliga a la estabulación de los animales por varios meses. En establos en las que se han controlado e incluso erradicado los patógenos contagiosos, la incidencia de casos clínicos debidos a patógenos ambientales suele aumentar, a veces, de manera alarmante. *Arcanobacterium pyogenes* es el agente causal de la llamada “mastitis de verano”, cuadro clínico poco frecuente en nuestro país, que se caracteriza por graves alteraciones en la

glándula y la secreción y que puede ser transmitido por moscas. Otros microorganismos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Nocardia asteroides*, *Prototheca* y muchos otros que habitan en el ambiente de la vaca, pueden eventualmente causar cuadros clínicos, pero con muy baja frecuencia. Las fincas con problemas causados por patógenos ambientales suelen tener bajos recuentos celulares en leche de tanque. (Watts J. 1988. *Etiological agents of bovine mastitis*, *Vet. Microbiol.* 16:41-66).

La fuente más importante de infección es la piel de la vaca, la frecuencia de infección es mayor en el período de secado, durante el cual la piel del pezón no está expuesta a los germicidas usados en la desinfección post-ordeño. La frecuencia de infecciones causadas por los **patógenos oportunistas** es alta para el momento del parto, pero baja rápidamente durante la lactancia.

Aspectos generales de Mycoplasmosis

La Mycoplasmosis es una enfermedad infecciosa que afecta a varias especies animales. Es causada por microorganismos del género *Mycoplasma*, que pertenece a la clase Mollicutes, orden Mycoplasmatales y familia Mycoplasmatacea. Los *Mycoplasma* s son microorganismos pleomórficos, carecen de pared celular, miden de 200 a 500 nm, crecen en medios sólidos y líquidos, y utilizan glucosa como fuente de energía. Para su crecimiento se utilizan medios adicionados de proteínas y complejos nutritivos, también se utiliza penicilina y acetato de talio como inhibidores de bacterias contaminantes.

Microbiología.

Los *Mycoplasma* s no están clasificados como virus ni bacterias, sino como organismos intermedios en algún punto intermedio. Que van en tamaño de 0,2 micrómetros a 1, se los más pequeños organismos vivos capaces de auto-replicación. Los *Mycoplasma* s se agrupan en virtud de la clase Mollicutes, en el sentido de "soft la piel." Este nombre es en referencia al hecho de *Mycoplasmas*

no tienen la capacidad genética para producir una pared celular, componente de la mayoría de las bacterias. Sin una celda como pared para proporcionar una estructura rígida. Los Mycoplasmas pleomórficos pueden fácilmente cambiar de forma y pueden aparecer en forma de pera o circular. La falta de una pared celular también ayuda a explicar, las infecciones por Mycoplasma por qué no responden bien a la terapia antibiótica. Comúnmente utiliza los beta-lactámicos, tales como las penicilinas al interferir con la formación de la pared celular.

La falta de una pared celular niega la eficacia de esas drogas. Otro factor importante que contribuye a la resistencia a los medicamentos comunes para la mayoría de las infecciones de Mycoplasma es la capacidad del organismo para cambiar su superficie proteínas. Normalmente, el sistema inmunológico desarrolla anticuerpos dirigidos contra determinados proteínas en la superficie del organismo. Si estas proteínas se alteran, los nuevos anticuerpos debe ser producido. Los Mycoplasmas se encuentran en todas partes el medio ambiente y han sido cultivadas de los seres humanos, los alimentos, los animales, las plantas y el suelo. Hasta la fecha, el único Mycoplasma especies se han detectado en el ganado vacuno, ovejas, cabras, cerdos, pollos, pavos, perros, gatos, caballos, y los roedores. Cada especie de acogida específicamente, es decir una infección mycoplasmal en un caballo no puede ser transmitido a una vaca, o viceversa.

En ganado bovino es posible aislar varias especies de *Mycoplasma*, de ellas, *Mycoplasma alkalences*, *M. bovigenitalum*, *M. bovis*, *M. californicum* y *M. canadense* provocan mastitis, artritis, neumonías, otitis y problemas reproductivos, entre otras manifestaciones. Barile, M. F. 1983. Boughton, E. 1978. *Arginine hydrolysis*, p. 345-349. S. Razin and J.G. Tully (ed.). *Methods in Mycoplasmology*, Vol. 1. Academic Press, Inc. New York. Boughton, E. 1978. *Mycoplasma bovis mastitis*. *Vet. Rec.* 103:2270-2271.

El nombre mollicutes se deriva del latín mollis (suave) y cutes (piel), y todas estas bacterias carecen de una pared celular, la genética y la capacidad de

sintetizar peptidoglycan. A pesar de la falta de una pared celular, Mycoplasma y parientes han sido clasificados en el filo *Firmicutes* que consta de bajo G + C bacterias Gram-positivas como *Clostridium*, *Lactobacillus*, y *Streptococcus* basado en la 16S rRNA gen análisis.

Los miembros de Mollicutes cultivadas actualmente están organizados en cuatro órdenes: Acholeplasmatales, Anaeroplasmatales, Entomoplasmatales y Mycoplasmatales. El orden Mycoplasmatales contiene una sola familia, Mycoplasmataceae, que contiene dos géneros: Mycoplasma y Ureaplasma.

Históricamente, la descripción de una bacteria que carecen de una pared celular fue suficiente para clasificar al género Mycoplasma y, como tal, es la más antigua y más grande de género de la clase con cerca de la mitad de la clase de especies (107 válidamente descritas) Limita por lo general a cada una de acogida y con muchos anfitriones albergar a más de una especie, algunos patógenos y algunos comensales.

Características

En estudios posteriores, muchas de estas especies se consideran filogenéticamente distribuidos entre por lo menos tres órdenes. Un criterio para limitar la inclusión dentro del género Mycoplasma es que el organismo tiene un huésped vertebrado. De hecho, el tipo de especies, *M. Mycoides*, junto con otras importantes especies de Mycoplasma s como *M. Capricolum*, es evolutivamente más estrechamente relacionado con el género Spiroplasma en la orden Entomoplasmatales que a los demás miembros del género Mycoplasma. Esta y otras discrepancias probablemente siguen sin resolverse debido a la extrema confusión que el cambio pueda generar entre los médicos y las comunidades agrícolas.

El resto de especies del género Mycoplasma se dividen en dos grupos taxonómicos no, hominis pneumoniae y, sobre la base de secuencias de genes 16S rRNA. El grupo hominis contiene grupos filogenéticos de la *M. Bovis*, *M. Pulmonis*, y *M. Hominis*, entre otros. El grupo pneumoniae contiene los grupos de *M. Muris*, *M. Fastidiosum*, *U. Urealyticum*, la actualidad unculturable *haemotrophic mollicutes*, a que se refiere oficiosamente como *haemoplasmas*

(recientemente transferido de los géneros Haemobartonella' y Eperythrozoon, y el M. Pneumoniae clúster. Este grupo contiene las especies *M. Alvi* (bovina), *M. Amphoriforme* (humanos), *M. Gallisepticum* (aviar), *M. Genitalium* (humanos), *M. Imitans* (aviar), *M. Pirum* (incierto / humanos), *M. Testudinis* (tortugas), y *M. Pneumoniae* (humanos). La mayoría, si no todas estas especies comparten algunas características únicas de otra que incluye un archivo adjunto de organélos, homólogos de la *M. Pneumoniae*.

Ariznabarreta, A. et al., 2002, Báez, G. J. J. 2002. Bedolla, C. C. 2005).

MASTITIS CAUSADA POR MYCOPLASMA

Cepas de *Mycoplasma* s

Son varias las cepas de *Mycoplasma* s capaces de producir mastitis, entre las que se mencionan: *M. bovis*, *M. bovirhinalis*, *M. alkalescens*, *M. canadense*, *M. californicum*, *M. arginini*, *M. bovirhinalis*, *M. dispar*, *M. laidlawii*, *Ureaplasma*. Considerándose entre los más agresivos el *M. bovis*.

Especies de *Mycoplasma* s.

Hay varias especies de *Mycoplasma* s que colonizan la especie bovina en diferentes sitios. Algunas de ellas se consideran patógenas, mientras que otras son presentes en la flora normal. Las enfermedades causadas por *Mycoplasma* s en el ganado por lo general se subestima de gran importancia. Haciendo caso omiso de *Mycoplasma mycoides* subsp. *Mycoides* y otros especies de *Mycoplasma* causan problemas respiratorios y reproductivos y otras enfermedades. Entre estos *Mycoplasma bovis* es el más importante en Europa y América del Norte. Este organismo es una causa importante de neumonía bovina, mastitis (Byrne et al., 2000), artritis aborto, y trastornos reproductivos y la reducción de la fecundidad in Vitro. En raras ocasiones puede ser aislado de otras enfermedades, tales como la otitis, abscesos meníngeos Los gastos de *M. bovis* a la mastitis se estima que son mucho más elevados (\$ 108 millones),

(Rosengarten y Citti, 1999). También otros países como Francia, Gran Bretaña, Italia, Canadá e Israel han aislado *M. bovis* de sus hatos lecheros con mastitis clínicas y subclínicas. En la República mexicana, si bien son frecuentes los brotes de mastitis clínicas y subclínicas refractarias a los tratamientos convencionales, poco se ha informado hasta el momento de aislamientos de *Mycoplasma* s como agentes responsables de los mismos.

Reseña Histórica.

Mycoplasma bovis aislado por primera vez en los EE.UU. de la leche de una vaca con mastitis en 1961 (Hale et al. 1962). En primer lugar, se obtuvo el nombre *Mycoplasma bovimastitidis* entonces *Mycoplasma agalactiae* subsp. *bovis*, a causa de los cuadro clínico similar a la agalactia contagiosa del ganado ovino causado por *M. agalactiae*. Más tarde, tras el examen del 16S ribosomal RNA fue elevada a la categoría de especies Rango y recibió el nombre de *Mycoplasma bovis*. Rosengarten, R., and C. Citti. 1999.

En el año 1963 se observaron los primeros casos de mastitis por *Mycoplasma* s en los Estados Unidos de Norteamérica (EUA). A partir de 1970 y hasta el momento, en muchos tambos de diferentes estados de EUA han diagnosticado mastitis por *M. bovis*. González, R. M., et al., 1992.

Antecedentes de mastitis por *Mycoplasma*, es sólo en las últimas décadas que los productores han reconocido la intratable forma de la neumonía, la artritis, y mastitis causada por diversas especies de *Mycoplasma*. El primer caso de *Mycoplasma mastitis* se produjo en Inglaterra en 1960. Un año más tarde, en 1961, el primer brote en los Estados Unidos se produjo en Connecticut, seguido de varios casos en Nueva York. California documentado por primera vez su *Mycoplasma* casos de mastitis en 1964.

Hoy en día, la enfermedad es prevalente en todas las principales regiones lecheras de los Estados Unidos, especialmente California, Nueva York, Pennsylvania, Florida, Arizona, Idaho, y Washington. Las estadísticas actuales, estiman que el 1% a 4% de todos los EE.UU. en las industrias lácteas, al menos existen una vaca infectada.

En México, Ávila T. S, *et al.*, 1993, Informaron sobre el aislamiento de *Mycoplasma* spp en un hato lechero ubicado en el Estado de México; Hernández *et al.*, 1993. Describieron un brote de mastitis causado por *M. bovis* en un hato lechero del mismo estado; Barajas *et al.*, observaron prevalencia de *M. bovis* mayor a 50% en bovinos en el trópico de México; Castro. Informa del aislamiento de *M. spp* proteolítico de un brote de mastitis en un hato lechero en Tizayuca, Hidalgo, México.

Infante, M, *et al.*, en 1999, reportan el aislamiento de *Mycoplasma* canadense en el estado de Jalisco.

Entre las mastitis causadas por los *Mycoplasma* s, ***Mycoplasma bovis*** es el más frecuente, además se le encuentra en mucosas y en secreciones de los tractos respiratorio y urogenital. *Mycoplasma bovis* ha sido descrito como el agente etiológico de mastitis, artritis, neumonías e infertilidad en ganado bovino. A su vez, esta especie ha sido la más frecuentemente aislada entre los *Mycoplasma* s productores de mastitis bovinas.

La mastitis por *Mycoplasma* se caracteriza por presentación de cuadros clínicos severos que generalmente afectan a más de una glándula mamaria, con pérdida cuantiosa en la producción de leche, casos que son resistentes a los tratamientos. La infección puede ser introducida al hato por un animal infectado, o aparecer como consecuencia de la infección en glándula mamaria a través del equipo de ordeño; después se puede propagar por medio de los ordeñadores, las pezoneras de las ordeñadoras mecánicas y por soluciones que usualmente se emplean para el lavado de las ubres. Bayoumi, F. A. *et al.*1988. Las épocas o condiciones frías y húmedas aumentan la incidencia de la infección, ya que los

Mycoplasmas pueden sobrevivir más tiempo en esas condiciones. Bedolla, C. C. (4) 2005.

Los signos clínicos de mastitis aparecen días después de la infección, la cual puede darse en cualquier fase de lactancia; el antecedente es una mastitis aguda en uno o más cuartos, que a la palpación se perciben calientes, hinchados, edematosos o duros, las secreciones varían en su aspecto.² Por lo regular, la primera secreción puede ser acuosa y tener “copos” de un material arenoso.¹¹ Transcurridos varios días, las secreciones se pueden convertir en un exudado purulento. Si la enfermedad progresa, los conductos galactóforos desarrollan metaplasia escamosa, y algunos conductos y acinus se llenan de exudado granulomatoso. Bedolla, C. C.(4) 2005.

La mastitis aguda por *M. bovis* se disemina en un periodo corto, la producción de leche disminuye drásticamente, salvo en los casos subclínicos.^{1,2} Tradicionalmente, el único método de diagnóstico de rutina ha sido el aislamiento e identificación de *M. bovis*, que requiere de dos a diez días.

En la actualidad existen otras técnicas de diagnóstico: reacción en cadena de la polimerasa (PCR), hibridación in situ. Asimismo, hay técnicas inmunoenzimáticas (ELISA) para detectar antígenos y anticuerpos contra *M. bovis*. La técnica de ELISA para detectar anticuerpos es rápida, requiere de uno a dos días para obtener resultados, su alta especificidad y sensibilidad es mayor a otros métodos como la inhibición de la hemoaglutinación. La prueba detecta anticuerpos de los 13 a los 720 días posinfección. La especificidad no revela reactividad cruzada con sueros hiperinmunes de otras especies de *Mycoplasma*, excepto una pequeña reacción con *Mycoplasma arginini*. Con reactivos comerciales de ELISA para detectar anticuerpos en contra de otras especies de *Mycoplasma*, se ha observado sensibilidad de 96% y especificidad de 98%.¹⁶

El diagnóstico de mastitis asociada con *M. bovis* representa un problema, ya que por lo regular suele realizarse sólo hasta después de haber descartado otras etiologías; además, el tiempo que transcurre para ello hace que generalmente cuando se determina la causa, ya existen signos clínicos y lesiones graves, por lo que resulta más complicado y costoso su tratamiento. Por esta razón, es necesario buscar alternativas de diagnóstico que identifiquen la infección en casos de mastitis subclínicas, de manera fácil, rápida y económica. Por lo anterior, se buscó evaluar una prueba de ELISA indirecta, para determinar su efectividad en el diagnóstico de mastitis subclínica asociada con *M. bovis*. Bedolla, C. C., y Castañeda, V. H. 2003.

Epidemiología

En la epidemiología de este padecimiento es importante tener en mente que el microorganismo podrá establecerse en vías respiratorias o en el aparato reproductor, persistir por meses y alcanzar a la ubre por vía sistémica para manifestarse con cuadros clínicos de mastitis como agente primario o secundario.

La mastitis causada por *Mycoplasma* es un problema mundial. Fox et al., 2005.

Entre las diferentes especies de *Mycoplasma* s que infectan a los bovinos, *Mycoplasma bovis* es el patógeno más común y causa de la mastitis. La prevalencia de *Mycoplasma* inducida por la mastitis se considera subestimado debido a su largo período de incubación antes de la aparición de síntomas clínicos (Jasper, 1981) y su persistencia después del cese de los signos clínicos, ambas de las cuales dificultan su identificación como el agente causal en un determinado caso de mastitis.

En estudios realizados en el 2002 del Sistema Nacional de Control de Sanidad Animal Lechero (USDA), el 7,9% de los productos lácteos de muestras de tanque de leche positivo en las pruebas de *Mycoplasma*, *M. bovis* representa el 86% de las muestras positivas (USDA-APHIS, 2002).

El porcentaje más alto (9,4%) en las industrias lácteas de pruebas positivas para *Mycoplasma* se encontraban en las regiones occidentales de los Estados Unidos. La distribución de *Mycoplasma* no se limita a esta región, sin embargo, debido a las muestras positivas se recuperaron de un 76% de los encuestados. Debido a que los rebaños en esta encuesta fueron incluidos en la muestra sólo una vez, la prevalencia de *Mycoplasma* fue probablemente subestimados.

Mycoplasma bovis causa pérdidas económicas considerables para la industria láctea, la mastitis por *Mycoplasma bovis* da resultados en la disminución de la producción de leche, la disminución de la calidad de la leche, Las pérdidas económicas se han estimado a 450 dólares enfoque en la leche perdido valor por sí solo caso de mastitis clínica causada por *Mycoplasma* . Porque no son eficaces los antibióticos o vacunas que han sido aprobados para el tratamiento o prevención de IMI causada por *M. bovis*, el sacrificio se recomienda para controlar la enfermedad, sin embargo, esto se traduce en considerables costos de reposición de animales al productor. *Nicholas y Ayling, 2003.*

Mycoplasma es un patógeno altamente contagiosa que puede propagarse de vaca a vaca por las manos de ordeñadores y fomites, tales como la leche, jergas en la sala de ordeño etc. La naturaleza contagiosa de este agente patógeno se observa por su alta prevalencia en rebaños con un historial de mastitis con *M. bovis*. En el marco de una vaca infectada, *Mycoplasma* se pueden propagar vía hematogena a varios distal sitios. Además de la glándula mamaria, *M. bovis* se conoce a colonizar otros sitios de ganado y para inducir artritis, neumonía y trastornos genitales. *Nicholas y Ayling, 2003.* Efectos sobre la acogida varían ampliamente de un animal a animal en términos de severidad, número de cuartos infectados, y la duración de la infección subclínica con leve a predominio de infecciones.

El establecimiento de la infección se rige, en parte, por la naturaleza de la

respuesta de acogida a invadir el organismo. Es bien sabido que *Escherichia coli* IMI sigue un curso clínico en comparación con la de *Staphylococcus aureus* o *M. bovis*. La infección por *E. coli* Intramamaria es de carácter agudo y, en general, borra a los pocos días. Por el contrario, IMI por *Staph. aureus* o *M. bovis* es a menudo menos grave, pero los resultados en una infección crónica que puede persistir durante la vida del animal. Otros investigadores han establecido que el diferencial de la respuesta inflamatoria suscitó durante *E. coli* y *Staph. aureus* IMI se corresponde con la resolución de la infección, *Riollet et al., 2000; Bannerman et al., 2004*. En comparación con *Staph. aureus*, la IMI por *E. coli* provoca una aguda respuesta de citoquinas inflamatorias y el aumento de la activación del complemento. Cabe destacar, en particular, *Staph. aureus* IMI se caracteriza por la total ausencia de producción de IL-8, o factor de necrosis tumoral (TNF), y la disminución global de la respuesta inflamatoria característica de *Staph. aureus* IMI se correlaciona con su capacidad para persistir en la glándula. Estos datos indican que hay patógenos que dependen de la variabilidad en el país del tipo de respuesta inmune innata a IMI. *Riollet et al., 2000; Bannerman et al., 2004*.

La capacidad de reconocer por motivos compartidos a diversos agentes patógenos permite al sistema inmune innato, responder a una multitud de agentes patógenos. Estos patógenos muestran diversos patrones moleculares asociados, que incluyen la membrana celular de bacterias y componentes de la pared de LPS, como el peptidoglicano, ácido lipoteichoico, y la activación de macrófagos-lipopeptide 2 kDa (Aderem y Ulevitch, 2000). Lipopolisacárido, un componente altamente proinflamatorio de todas las bacterias gram-negativas incluyendo *E. coli*, es reconocido por Toll-like receptor (TLR). Peptidoglicano *Yoshimura et al., 1999*, y ácido lipoteichoico, *Schroder et al., 2003*. Dentro de la pared celular del *Staphylococcus aureus* y otras bacterias, y lipopeptidos dentro de la membrana celular de *Mycoplasma*, son reconocidos por TLR-2 en concierto con TLR-1 o TLR-6, *Omuetti et al. 2005*. Por lo tanto, la capacidad de reconocer los elementos conservados expresados por una serie de bacterias permite al sistema inmune innato de responder a un gran número de bacterias con sólo un limitado

repertorio de elementos de reconocimiento. *Nishiguchi et al., 2001; Seya y Matsumoto, 2002.*

En relación con otros importantes patógenos de mastitis, se sabe poco sobre la naturaleza de la respuesta inmune innata intramamaria a la infección por *M. bovis*. Debido a *M. bovis* se establece como una infección crónica similar a *Staphilococo aureus*, y como inmunoestimulador que contiene componentes que activan el mismo receptor inmune similares a los componentes que se encuentran en el *Staphilococo aureus*, esto da hipótesis de que la respuesta inflamatoria provocados por *M. bovis*, se asemejan a la producida por *Staphilococo. aureus*.

Patogenia.

El microorganismo alcanza a la vaca donde puede establecerse y posteriormente progresar vía sistémica afectando al aparato respiratorio, reproductor, ubre, articulaciones, etc., o bien ser trasladado directamente a la glándula mamaria por el meato del pezón durante las diferentes actividades realizadas por el hombre con la vaca en ordeño. En la glándula mamaria afectada el microorganismo es responsable de la presentación de necrosis tisular muy pequeña.

Los microorganismos pueden invadir el canal del pezón por distintas vías: (1) Entre ordeños las bacterias pueden avanzar por el canal del pezón por multiplicación, (2) pueden ingresar por la presión física ejercida sobre la punta del pezón cuando la vaca se mueve, (3) durante el ordeño mecánico pueden ser impulsados hacia el canal del pezón o desde el mismo hacia el interior de la cisterna del pezón, por los impactos que causan las fluctuaciones de vacío contra el orificio del pezón y (4) durante la aplicación de un antibiótico pueden ser empujados físicamente a través del canal del pezón por la inserción completa de la cánula. *Philpot y Nickerson, 2000.*

La invasión microbiana de la glándula mamaria ocurre siempre siguiendo la vía del conducto del pezón y a primera vista, el desarrollo de la inflamación

después de la infección se refleja como un fenómeno natural. Sin embargo, la aparición de la mastitis es más compleja de lo que este concepto puede indicar y quizás resulte más satisfactorio explicarla en términos de tres etapas: invasión, infección e inflamación.

Etapas de invasión.- es aquella en la que el microorganismo pasa del exterior de la ubre a la leche que se encuentra en el interior de la cisterna del pezón.

Etapas de infección.- este es el momento en que los microorganismos se multiplican rápidamente e invaden el tejido mamario; se establece una población bacteriana que se disemina por toda la glándula, dependiendo de la patogenicidad del microorganismo.

Etapas de inflamación.- todo lo anterior deriva en una inflamación (mastitis) y aumenta notablemente la cuenta leucocitaria en la leche ordeñada.

Signos clínicos más comunes en la mastitis:

Galactoforitis aguda.- se manifiesta con la presencia de grumos de fibrina y pus, sin alteración de las constantes fisiológicas de la vaca, no existe modificación en la conducta, no hay alteraciones de alimentación, no se presenta inflamación manifiesta en el o los cuartos afectados no existen signos de dolor y solo se aprecia en ocasiones una ligera asimetría en los cuartos afectados, los tolondrones pueden aparecer al inicio, a la mitad o al final del ordeño. En este cuadro es donde la prueba del tazón de fondo oscuro es indispensable.

Galactoforitis crónica.- la presentación clínica es igual al caso anterior de galactoforitis aguda, siendo la única diferencia, la reincidencia del proceso. Aquí el tratamiento es a base de inmunoterapia específica y de cefalosporinas. *Reza, 2000.*

Mastitis apostematosa.- este cuadro se manifiesta con proceso abscedativo múltiple, que va desde microabcesos hasta abscesos del tamaño de una naranja, los cuales derivan constantemente tanto hacia el exterior como hacia la cisterna de la glándula, por lo que se observa pus franca en lugar de leche al exprimir el o los cuartos afectados, este material purulento tiene las características de exudados de *Actinobacillus pyogenes*. Reza, 2000.

Diagnóstico

Con base al análisis de la eficiencia con que se realizan las prácticas de manejo durante el ordeño, la anamnesis comprendida en la historia clínica, cuadro sintomático, examen microscópico de un frotis de leche teñido con la técnica de Giemsa, Wright-Leishman, o estudio con anticuerpos fluorescentes en busca del agente etiológico, se funda el diagnóstico presuncional, que sumado al resultado del cultivo bacteriológico de las muestras de leches para el aislamiento e identificación del *Mycoplasma*, así como los resultados de los estudios epidemiológicos realizados en el hato y pronóstico de la problemática, se establece el diagnóstico.

Tratamiento

Los análisis de susceptibilidad *in vitro*, reportan que el microorganismo es sensible a: eritromicina, kanamicina, cloromicetina, tetraciclinas, norfloxacina, tiamulina, lincomicina y tilosina. Sin embargo, no es recomendado el tratamiento en estos cuadros clínicos de mastitis, ya que en primer lugar el riesgo de difusión del microorganismo en el hato es muy elevado; en segundo lugar, muchas vacas de las que se curan aparentemente quedan como portadoras o crónica.

Impacto económico.

La mastitis bovina es una enfermedad de distribución mundial y ha sido catalogada como la más costosa de todas las enfermedades que afectan al ganado lechero. En los Estados Unidos se ha estimado que los productores de leche pierden 2 billones de dólares anuales debido a la mastitis y en México , diferentes estimaciones, apuntan también a pérdidas millonarias. El tremendo impacto económico de la mastitis se deriva de la reducción en la producción de leche, el descarte de la leche no comerciable, los costos de los reemplazos, costo de servicios veterinarios y tratamientos, labor extra, depreciación en los animales. Adicionalmente, la mastitis causa alteraciones en la composición láctea que tienen un impacto negativo en el rendimiento de la leche y en la calidad y vida útil de los productos derivados.

Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera mundial.

La mastitis bovina esta considerada como la enfermedad que más pérdidas económicas ocasiona a los productores lecheros, pues su presencia en los establos se refleja en gastos excesivos en medicamentos para el productor y una disminución en los ingresos por decremento de la producción, que generalmente deberían percibirse dentro de la explotación *Medina, 2002*.

La mastitis de la vaca, junto a los trastornos de la fertilidad, constituye la causa más importante de la falta de rentabilidad de una explotación. Amplios estudios, realizados en los países productores de leche como son: Israel, Francia, Estados Unidos de América, entre otros, han mostrado que un 50% de todas las vacas padecen mastitis, que, principalmente, son de tipo subclínico.

Las pérdidas ocasionadas por esta enfermedad pueden agruparse de la siguiente manera: Disminución de la producción, descarte de leche, costo de

medicamentos, honorarios veterinarios, trabajo extra, pérdida de potencial genético *Halasa et al., 2007; Saran y Chaffer, 2000*.

La mastitis continua siendo la enfermedad más prevalente y costosa de los bovinos lecheros en la mayor parte del mundo. Las vacas lecheras comparten su ambiente con microorganismos y es inevitable que algunos de ellos entren a la glándula mamaria y causen mastitis *Saran y Chaffer, 2000*.

Sin embargo, *Romero 2004*, menciona que los costos de mastitis en Estados Unidos son de alrededor de 107 a 180 dólares por vaca y en total las pérdidas anuales de la mastitis han sido estimadas entre 1.5 a 2 billones de dólares americanos *Kerr et al., 2001; Wellenberg et al., 2002; Nash et al., 2003; Biesenkamp-Uhe et al., 2007*, u 11% de la producción de leche americana total.

Mucho de los costos se le atribuye a la reducida producción de leche, la leche descartada, los reemplazos de vaca/año, los costos obvios para los tratamientos médicos veterinarios *Kerr et al., 2001; Nash et al., 2003*.

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

Clasificación de la mastitis.

La mastitis bovina normalmente se da como resultado de la infección intramamaria por bacterias que pueden producir la enfermedad de manera clínica o subclínica, es decir, puede ser acompañada de signos clínicos o no *Dos Santos et al., 2002; Field et al., 2003*.

Mastitis clínica.

La mastitis clínica es la enfermedad más común y más costosa en la producción de leche en los países industrializados *Osteras, 2006*. Se caracteriza por la tumefacción o dolor en la ubre, enrojecimiento, la leche presenta una apariencia anormal y, en algunos casos, hay aumento de la temperatura rectal, letargo,

anorexia e incluso la muerte. Además, las bacterias están presentes en la leche, el rendimiento es muy reducido, y su contenido está alterado considerablemente *Heringstad et al., 2000*.

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

En su forma aguda, la mastitis clínica se caracteriza por su condición de aparición súbita, la leche es de apariencia anormal, hay enrojecimiento, tumefacción, y dolor en la ubre, con o sin síntomas sistémicos *Djabri et al., 2002*. Afecta a las vacas lecheras en todo el mundo y tiene un impacto sustancial en la economía de las granjas, calidad de la leche y en el bienestar de las vacas *Morin, 2004*.

En la forma crónica, se presenta una infección de la ubre de larga duración con leche de apariencia anormal y/o cambios al realizar la palpación del tejido de la ubre *Morin, 2004*.

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

En el Reino Unido, es una causa importante de la enfermedad en el ganado lechero y continúa siendo una importante carga financiera en la industria lechera. La incidencia de mastitis clínica en este país es aproximadamente de 40 casos por cada 100 vacas por año o 1'000,000 de casos anualmente (Hillerton y Kliem,

2002; Green *et al.*, 2004). Según Heringstad *et al.* (2000), el número de casos de mastitis clínica por 100 vacas al año fue de 56, 32, 30 y 21 en Dinamarca, Finlandia, Noruega y Suiza respectivamente.

En varios estudios realizados en California, Michigan y Ohio las incidencias de mastitis que se encontraron fueron de 30, 33 y 37 casos por 100 vacas por año respectivamente. Estas estimaciones incluyen las mastitis reportadas por los dueños y tratadas por los veterinarios (Hillerton y Kliem, 2002).

Las pérdidas causadas por mastitis clínica se clasifican como sigue:

- A.-Pérdida por baja producción del animal enfermo.
- B.-Pérdida de producción de leche por desecho de la misma, durante la eliminación del medicamento.
- C.-Frecuentemente hay un perjuicio duradero en el rendimiento lechero de la vaca, por el uso de medicamentos o la presencia de la enfermedad
- D.-Costos de medicamentos y del Médico Veterinario.
- E.-Aumento en los costos de la mano de obra.

Mastitis subclínica.

La mastitis subclínica es definida como la presencia de un microorganismo en combinación con un conteo elevado de células somáticas de la leche

La mastitis subclínica es sutil y difícil de corregir, la vaca parece saludable, la ubre no muestra ningún signo de inflamación y la leche parece normal, sin que existan cambios organolépticos en la misma. El número de células somáticas en la leche, indicativo de la respuesta inflamatoria, se encuentra elevado, al igual que el número de bacterias, lo que va acompañado de una disminución del nivel de producción de la secreción láctea, así como de la alteración de la composición de dicho producto. Comúnmente es de larga duración, difícil de tratar con los antibióticos, difícil de detectar, reduce drásticamente la producción de leche, afecta adversamente la calidad de leche, y puede servir como un reservorio para infectar a otros animales en el rebaño lechero,

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

La mastitis, particularmente subclínica y crónica, es la más persistente y más amplia del grupo de enfermedades de importancia por la higiene de la leche en el ganado lechero, Ariznabarreta *et al.*, 2002. La mastitis subclínica ocurre frecuentemente, y puede conducir a grandes pérdidas económicas debido al reducido rendimiento de leche, y multas a causa de los elevados conteos de células somáticas presentes en los tanques de leche. En la práctica, los casos de mastitis subclínica con frecuencia no son detectados rápidamente, o pueden incluso no ser reconocidas por el Ordeñador. Kauf, A, *et al.*, 2007.

Es imperativo para los granjeros lecheros y sus asesores veterinarios enfocar su principal atención al control de la mastitis subclínica debido a que:

- (1) es 15 a 40 veces más prevalente que la mastitis clínica;
- (2) usualmente precede a la mastitis clínica.
- (3) es de duración prolongada.
- (4) es más difícil de detectar debido a la naturaleza oculta de la enfermedad.
- (5) reduce significativamente la producción láctea.
- (6) afecta adversamente la composición de la leche y
- (7) constituye un reservorio de patógenos causantes de mastitis que pueden diseminarse a otras vacas en el hato. Kauf, A, *et al.*, 2007.

Tabla 2. Impacto económico de la mastitis en Estados Unidos

Pérdidas	Porcentaje
Disminución en la producción	64.00
Descarte de leche después del tratamiento	14.00
Costo de medicamentos y honorarios profesionales	8.00
Muertes y descarte prematuro.	13.00
Trabajo extra	1.00

Fuente: Modificado de Saran y Chaffer, 2000.

Pruebas para el diagnóstico de mastitis.

La inflamación de la glándula mamaria involucra una serie de cambios en la composición de la leche, que sirven de base para las muchas pruebas de diagnóstico que se han desarrollado. Uno de los cambios más precoces es el aumento en el número de células somáticas que normalmente es menor a 200.000 cél/ml y que durante el proceso inflamatorio supera las 500.000 cél/ml Este incremento es la base de muchos métodos de diagnóstico entre los cuales se encuentran el Recuento de Células Somáticas, la Prueba para Mastitis de California (CMT, con sus siglas en inglés) y la Prueba para Mastitis de Wisconsin (WMT, con sus siglas en inglés).

El CMT es una prueba de campo económica, sencilla y rápida, que detecta con buena sensibilidad y especificidad el estado de salud de la ubre, mediante una estimación gruesa del contenido de células somáticas. Se basa en la gelificación que tiene lugar cuando el ADN es liberado de las células somáticas presentes en la leche por la acción de un detergente aniónico como el alkyl-aril-sulfonato de sodio; por tanto, a mayor contenido celular en la leche, mayor gelificación. En la Comarca lagunera, la prueba ha sido evaluada y ampliamente recomendada como una herramienta útil en los programas de control y vigilancia de mastitis, especialmente cuando se aplica y registra cada mes. Su principal desventaja es la subjetividad implícita en la lectura de los resultados. Scaramelli AM.1999.

El Recuento de Células Somáticas (RCS) es el método aceptado para el diagnóstico de la mastitis a nivel de cuartos y animales, así como para la vigilancia de la situación de la mastitis en las fincas y es uno de los principales parámetros para evaluar la calidad de la leche producida. Ofrece una serie de ventajas sobre los métodos anteriores, entre ellas: el procedimiento puede automatizarse, puede aplicarse sobre muestras preservadas y es mucho más preciso, objetivo y repetitivo.

Las principales desventajas son el alto costo de los equipos, la necesidad de constante revisión técnica y el requerimiento de personal entrenado, lo que obliga a centralizar los servicios; como consecuencia, otra desventaja es que resulta difícil el acceso inmediato a los resultados. *González Z. 2002.*

Durante la inflamación se producen otros cambios en la leche como son la presencia de albúmina sérica bovina, el incremento en la concentración de sodio y cloruros, el aumento en la conductividad eléctrica, la disminución en el contenido de lactosa y potasio y la presencia o aumento en la concentración de una serie de proteínas séricas y enzimas.

Cultivo Microbiológico. Es la única prueba que permite identificar los agentes causales presentes en la finca, así como los cuartos y animales infectados. Esta información permite diseñar o modificar programas de control, identificar los factores predisponentes, establecer la dinámica epidemiológica en la finca, evaluar la efectividad de las medidas de control y orientar la estrategia terapéutica. Las mayores desventajas del cultivo son su laboriosidad, tiempo que consume, requerimiento de personal entrenado y elevado costo.

Las muestras de leche de cuartos individuales o muestras compuestas de los cuatro cuartos, pueden obtenerse en cualquier momento, pero se recomienda hacerlo inmediatamente antes o después del ordeño. Deben muestrearse el mayor número posible de cuartos mamarios y animales que resulten positivos (mayor a 2

ó 3 +) a alguna prueba indirecta como el CMT, siguiendo los pasos indicados en el Cuadro 1. Todos los casos clínicos deben ser sistemáticamente cultivados.

CONTROL DE MASTITIS

El establecimiento y desarrollo del programa de control de mastitis debe tener como propósito principal lograr la producción de leche de calidad, cuidando la salud y vida productiva de las vacas.

En el estudio para el diagnóstico integral del hato comprendemos las siguientes áreas:

- 1.- Identificación del modelo de explotación.
- 2.- Localización según la región ecológica y microclima.
- 3.- Modelos de instalaciones, mantenimiento y condición sanitaria.
- 4.- Actividades de manejo desarrolladas durante ordeño.
- 5.- Composición del grupo de vacas y condición de las glándulas mamarias.
- 6.- Estudios bacteriológicos y de susceptibilidad a quimioterapéuticos.
- 7.- Calidad de leche producida.
- 8.- Manejo y condición de vacas secas.
- 9.- Manejo de ganado en tratamiento por mastitis.
- 10.- Quimioterapéuticos y su uso en otras actividades sanitarias.
- 11.- Capacidad y eficiencia del equipo para ordeño.
12. - Diagnóstico integral.

Una vez iniciado un programa de control de mastitis, es posible recurrir al cultivo y enumeración de patógenos específicos en la leche del tanque, prueba que resulta mucho más económica y permite obtener una estimación razonablemente buena sobre.

- a) la calidad bacteriológica de la leche producida.
- b) el número de animales infectados con patógenos contagiosos (*S. agalactiae* y *S. aureus*).

c) el grado de contaminación bacteriana de la leche y el nivel de exposición de las vacas durante el ordeño.

d) la probabilidad de que el recuento de células en la leche del tanque se encuentre elevado. Además, en fincas en las que se han erradicado los patógenos contagiosos, el cultivo de la leche del tanque constituye un método de vigilancia efectivo y económico.

Manual de Ganadería Doble Propósito, 2005. Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina. Pág., 331.

Para el control de la mastitis se requiere conocer por lo menos:

1. Frecuencia, severidad y microorganismos prevalentes en los cuadros clínicos.
2. Dónde y cuándo se están dando las infecciones glandulares

Por lo anterior se tienen que conocer y evaluar las condiciones ambientales donde se aloja al ganado, donde se realiza la práctica de ordeño y el material y métodos aplicados en este proceso de producción.

CONTROL DE MASTITIS

Genéticos.

Es un hecho que algunas vacas presentan una mayor susceptibilidad a la mastitis que otras. Los factores estructurales del canal del pezón son importantes en la regulación de la entrada de microorganismos. Algunos autores afirman que si el tono de las estructuras anatómicas de la apertura del pezón es reducido lo que es un carácter heredable, la resistencia a la entrada de los microorganismos será menor y seleccionando genéticamente vacas con diámetro pequeño del canal del pezón, la frecuencia de mastitis disminuirá (Dodd y Neave, 1951) (Mc Donald, 1977). Sin embargo, el tono del pezón determina la velocidad de ordeño de la

vaca. Mientras más fuerte sea el tono, menor es la velocidad de ordeño. Esto no concuerda con los esquemas actuales de manejo en la explotación, pues se busca agilizar el ordeño e incrementar la producción láctea.

El canal del pezón está recubierto por una capa de epitelio escamoso estratificado, que está cubierto a su vez por queratina y por una capa de material seroso compuesta por desechos epiteliales y leche que forman un tapón. Por lo tanto, es posible que haya en el tapón una sustancia inhibitoria del crecimiento de microorganismos; también contribuye el hecho de que al quedar abierto el conducto del pezón, la penetración de microorganismos al interior de la glándula se facilite. El elemento de inhibición antes señalado actúa contra *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*.

Otros factores inhibidores de crecimiento bacteriano aumentan en la inflamación; uno de ellos es la lactoferrina, proteína que compite con los microorganismos que requieren hierro. También se encuentran factores inmunológicos como linfocitos T y B, inmunoglobulinas, leucocitos, neutrófilos y polimorfonucleares, elementos efectivos en algunas infecciones por coliformes.

Nutricionales

La alimentación actual de la vaca lechera está destinada a mantener un alto nivel de producción; esto constituye un factor de tensión fisiológico que puede provocar mastitis clínica en vacas con antecedentes de infecciones o mastitis subclínica.

Higiene durante el ordeño

Los procedimientos de higiene durante el ordeño como son: lavado de la ubre y pezones con agua potable y desinfectante, secado con toallas desechables

antes de cada ordeño, higiene de la unidad de ordeño con especial atención en el interior de las pezoneras mediante la aplicación de chorro de agua y desinfección o sellado de los pezones con material que haya mostrado capacidad para bloquear el crecimiento y desarrollo microbiano, previenen la transmisión de microorganismos entre vacas y disminuye la población microbiana sobre la piel del pezón.

Al adquirir un desinfectante para pezones es aconsejable que se conozca su capacidad de controlar la microflora existente en el medio donde se aplicará. Después de terminado el ordeño del ganado se deberá eliminar los restos del desinfectante y lavar bien los recipientes.

Equipo de Ordeño

En nuestros días los sistemas para ordeño han evolucionado buscando reducir el número de trabajadores destinados al manejo de las unidades en ordeño, mejorando la capacidad del equipo y las condiciones sanitarias durante el proceso de ordeño. Cuando el funcionamiento del equipo es ineficiente así como las condiciones sanitarias con que se realizan las actividades de ordeño, la máquina ordeñadora puede tomar parte en la presentación de mastitis al transportar microorganismos, establecer éstos y/o lesionar al pezón.

Personal en zona para ordeño

El personal que labora en la zona para ordeño está integrado por:

Encargado. Quien tiene como función cuidar que toda actividad realizada durante el ordeño se haga bien.

Arreador. Quien trae el grupo de vacas a la zona para ordeño y lo regresa a sus respectivos alojamientos.

Ordeñadores. En explotaciones especializadas en producción de leche y localizadas en las regiones templadas y semiáridas de México, este personal conoce del ordeño mecánico pero ejecuta las actividades con diferentes grados de eficiencia ya que carecen de entrenamiento específico. En explotaciones de doble propósito, localizadas en las regiones tropicales húmedas de México, el ordeño se hace manualmente, con el empleo de diferentes métodos de ordeño como son: "mano llena", "pellizco" y "pulgar", siendo recomendable el primer método, pero son pocos los ordeñadores que lo emplean ya que la mayoría aplica una combinación de los tres métodos mencionados.

El personal que labora en la zona para ordeño, constituye uno de los elementos más importantes en el modelo de producción, sin embargo, es poca la atención que la administración de los establos pone en la selección y supervisión de este personal.

Procedimientos para el diagnóstico de la mastitis bovina

La exploración física de la ubre se hace aplicando los métodos de:

Inspección. Consiste en ver y observar, empleando el sentido de la vista. Puede llevarse a cabo en dos formas:

Inmediata. Es decir a simple vista.

Mediata. Empleando equipos de iluminación, radiología y aparatos de mensuración

Palpación: La palpación se hace utilizando el tacto. Puede ser inmediata en la que se emplea el tacto al tocar o hacer presión, o mediata mediante cateterismo valiéndonos de una sonda o cánula o de un bisturí de campana

Percusión. Procedimiento exploratorio como un auxiliar en la identificación de abscesos, quistes, estenosis de ductos, enfisema, etc.

Auscultación. Es escuchar aplicando el oído. Habiendo gas entre piel y tejido celular subcutáneo al palpar la glándula, podemos escuchar por medio del sentido auditivo la crepitación que acusa la presencia del gas (Cabrera-Valtierra, 1962).

Olfacción. Este es un procedimiento de exploración que nos permite percibir por medio del sentido del olfato a la ubre, así como a las muestras de leche que ocasionalmente tienen olores característicos, que sugieren alteraciones y etiologías específicas.

Colección de muestras de leche

La muestra de leche es obtenida para hacer diferentes pruebas relacionadas a mastitis: subclínica, clínica y composición de la misma, por lo tanto, la muestra se toma durante el ordeño de la vaca, dependiendo el momento, según el propósito perseguido con la muestra se pueden realizar las siguientes pruebas:

Cloro en leche. En la leche la relación lactosa- cloro es influenciada por:

Estado lactacional

En casos de mastitis el contenido de cloro en la leche tiende a incrementarse en proporción a la lactosa, lo que ocasiona en la leche un sabor ligeramente salado. Un método confiable para determinar el contenido de cloro en leche es el potenciómetro, que consiste en cuantificar los iones cloro usando electrodos específicos.

Determinación de pH en leche. El pH identificado en calostro es de 6.4, en tanto que en la leche es de 6.5 -6.8, cantidad que a media lactación es de 6.6 - 6.7, y al final es de 6.8 o mayor. También se ha considerado que la leche que proviene de glándulas mamarias afectadas por mastitis el pH es alcalino (6.9) lo que se atribuye a la disminución de la lactosa e incremento de sales que pasan de sangre a la leche Para determinar el pH en la leche podemos emplear:

Púrpura de bromocresol, azul de bromotimol, potenciómetros, escala de valoración en papel indicador de pH

Determinación de albúmina sérica en leche. Uno de los primeros cambios en vacas con mastitis fue la presencia de albúmina sanguínea en leche, atribuida al

aumento de permeabilidad capilar en el proceso inflamatorio. Garza, *et al.*, (1974), encontraron que los valores de albúmina sérica en la leche fueron proporcionales a la gravedad de la inflamación de la glándula mamaria.

Para determinar la tasa de albúmina sérica en la leche se sugiere llenar con este líquido aproximadamente tres cuartas partes de un tubo de microhematocrito; enseguida se sella con fuego el lado del tubo que contiene leche y se centrifuga a 12000 x G durante 5 minutos (Yañez, 1980). A continuación se rompe el tubo abajo de la separación grasa-leche y con la leche descremada se procede a la determinación de albúmina sérica, empleando la técnica descrita por Richterich, (1970). Se considera que la leche proviene de animales positivos a mastitis cuando contiene más de 0.20 mg/ml.

Conductividad eléctrica. La secreción láctea de una glándula mamaria con mastitis tiene una alta conductividad eléctrica por el elevado contenido electrolítico, especialmente en iones de sodio y cloro; lo que se presenta como uno de los primeros signos en la mastitis, siendo esto un elemento útil en el diagnóstico, considerando que niveles superiores a 6.9 m/cm^2 entre 20-30°C son anormales.

Determinación del número de células somáticas.

Esta prueba se puede realizar de una forma directa o indirecta: Examen microscópico y cálculo del número de células Colocar laminilla con frotis sobre platina del microscopio, usando el objetivo calibrado.

Enfocar el campo a estudiar, contando el número de células presentes y anotar el total de células observadas, repetir la actividad recorriendo los campos con un seguimiento al patrón dibujado por la sutura (cenefa). Al alcanzar aproximadamente 50 células, es sugerible cambiar de zona de observación.

Calcular el número de células, lo que hacemos considerando todo campo estudiado y sacando el promedio de células por campo, resultado que se multiplica por el factor microscópico lo que resultará en el número de células por mililitro.

Ejemplo: 35 campos estudiados, con 70 células

$70/35 = 2.0$ células por campo

$2.0 \times 300 \times 300 = 600,600/\text{ml}$ células

Células/ml = 600,600

El CNM ha propuesto una reducción progresiva del límite máximo de células somáticas en la leche del tanque de almacenamiento de 750,000 a 600,000, de 600,000 a 500,000 y de 500,000 a 400,000 en un periodo de 4 años (Norman et al., 2000). Para entrar en vigor, esta propuesta tendría que ser aprobada por la Conferencia Interestatal de Mercaderes de Leche y por la Administración Federal de Drogas y Alimentos, lo cual no ha ocurrido hasta el presente. Los Estados Unidos de América es el país que mantiene el nivel máximo más óptimo para los RCS, por lo cual se espera que en un futuro cercano adopte medidas regulatorias más estrictas para mantener la competitividad comercial de productos lácteos. Aguado, J. A. 2001. Conteos somáticos en leche. Nueva estrategia bacteriológica en leche. (Citado en: febrero 22 de 2005).

Prueba de California para Mastitis (CMT)

En las infecciones por bacterias, de los vasos localizados en el área afectada escapan leucocitos, siendo generalmente ésta, una respuesta celular proporcional a la severidad de la infección. Cullen (1966), menciona que las cuentas de células somáticas mayores a 500,000/ml indican mastitis subclínica. La prueba de CMT, identifica la presencia de ácido desoxirribonucleico de las células somáticas en la leche.

Procedimiento para la prueba de CMT

Para hacer la prueba de CMT, se toma el instrumento (paleta para CMT) por el mango dirigido hacia la cola de la vaca, se descartan los dos primeros chorros de leche de cada pezón y seguidamente se colectan en cada una de las charolas de plástico (debiendo estar la superficie bien pulida y uniforme), 2 ml de

leche de cada glándula y se anexan a cada uno de los compartimientos la misma cantidad del reactivo de California, cuidando que la proporción de reactivo a leche sea igual, de inmediato se mezclan la leche y el reactivo mediante un movimiento rotatorio suave, haciendo la lectura de la reacción alrededor de los 7 segundos, momento en que alcanza el pico la reacción.

Interpretación de las pruebas para mastitis

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

Son múltiples las aplicaciones de esta prueba, a continuación se enumeran algunas de éstas:

1. Identificación de vacas con mastitis subclínica en las glándulas mamarias
2. Determinar la frecuencia de vacas con mastitis subclínica en el hato

3. Conocer a las vacas candidatas a padecer de infecciones latentes
4. Identificar vacas de elevada producción que se encuentran en alto riesgo de presentar cuadros clínicos de mastitis
5. Determinar con buena aproximación el número de células somáticas en leche
6. Predecir el grado de irritación prevalente en la (s) glándula (s) afectada (s)
7. Permite percatarnos del estado de salud que guardan las ubres ordeñadas en el hato
8. Esta prueba puede contribuir con signos útiles para la elaboración del cuadro sindrómico al buscar un diagnóstico y pronóstico en brotes de mastitis
9. Sugerimos la clase del microorganismo causante del daño glandular
10. Es un instrumento útil en el monitoreo del comportamiento del programa de control de mastitis establecido para el hato
11. Predecir las posibles mermas en producción de leche según el grado de irritación y número de células somáticas en leche

Procedimiento para la Prueba de Wisconsin para Mastitis (WMT).

Se basa en la viscosidad de la mezcla del reactivo de California que ha sido diluido 1:1 con agua destilada y que se combina con la leche.

Material. Tubo de plástico calibrado de 12.5 x 125 mm, que tiene lateralmente un orificio para entrada de aire de 65 mm, y tapa para la boca del tubo que en el centro presenta un orificio de 1.15 mm.

Gradilla con capacidad de sujetar a los tubos.

Jeringa calibrada en ml

Reloj con segundero

Reactivo de California diluido con agua destilada 1:1

Muestra de leche

Métodos. La leche en cantidad de 2 ml, se agrega en el tubo de plástico al que previamente se le han incorporado la misma cantidad del reactivo ya diluido y posteriormente se coloca el tapón del tubo.

Las muestras son agitadas por 10 segundos, con movimientos gentiles y repetidos hacia el frente y abajo hasta que los tubos quedan casi en posición horizontal, evitando la salida del producto por el orificio lateral, pero con la agitación procuramos la adecuada mezcla de la leche y el reactivo en el tiempo determinado.

Dejar reposar los tubos en posición vertical por 20 a 30 segundos.

La rejilla es tomada e invertida, quedando el tapón del tubo hacia el suelo por un tiempo de 15 segundos.

Posteriormente, la rejilla conteniendo las muestras se regresa a su posición original y se deja reposar por 2-3 minutos permitiendo un adecuado escurrido.

Proceder a la lectura de la columna de líquido remanente. Una columna inferior a 10 mm, indica conteo celular menor a 500,000 células/ml de leche; 20 mm corresponderán entre 500,000 a 900,000 células/ml de leche; y más de 20 mm indican cuentas mayores a 1,000,000 (Schalm *et al.*, 1971). Pérez (1982), menciona para este método, la siguiente relación en milímetros de la columna con el número de células/ml.

Mililitros	Células/ml	
5	0	75,000
10	75,000	190,000
15	190,000	350,000
20	350,000	570,000
25	570,000	830,000
30	830,000	1,200,000
>30	>1,500,000	

Estudio de hato

En el estudio para el diagnóstico integral del hato comprendemos las siguientes áreas:

- 1.- Identificación del modelo de explotación.
- 2.- Localización según la región ecológica y microclima.
- 3.- Modelos de instalaciones, mantenimiento y condición sanitaria.
- 4.- Actividades de manejo desarrolladas durante ordeño.
- 5.- Composición del grupo de vacas y condición de las glándulas mamarias.
- 6.- Estudios bacteriológicos y de susceptibilidad a quimioterapéuticos.
- 7.- Calidad de leche producida.
- 8.- Manejo y condición de vacas secas.
- 9.- Manejo de ganado en tratamiento por mastitis.
- 10.- Quimioterapéuticos y su uso en otras actividades sanitarias.
- 11.- Capacidad y eficiencia del equipo para ordeño.
- 12.- Diagnóstico integral.

Antisépticos para pezones

Etimológicamente el término antiséptico proviene de anti=contra y sepsis=putrefacción. Los antisépticos son agentes químicos que al aplicarse tópicamente sobre el tejido vivo, podrán evitar la reproducción de los microorganismos existentes, afectar el metabolismo de éstos o matarlos y entonces se dice que la acción es germicida. Neave, *et al.*, (1969), y Pankey, *et al.*, (1984), reportan que después del ordeño la inmersión de los pezones en antisépticos representó una práctica importante en el control de mastitis.

En los establos localizados en el altiplano de México el uso de los antisépticos posterior al ordeño en la actualidad es una práctica común. Sin embargo, tenemos conocimiento de situaciones que han causado alarma entre los propietarios de explotaciones motivadas al observar irritaciones severas en los

pezones de los animales y consecuentemente dificultad para que el ganado acepte normalmente la práctica de ordeño. Este hecho se refleja de inmediato en el decremento importante en la producción de leche. Con el uso de antisépticos pocos conocidos o probados, se corre el riesgo no solamente de dañar los pezones, sino que el producto no tenga la capacidad inhibitoria necesaria para evitar el desarrollo *in vitro* de los microorganismos.

Por otra parte, en la mayoría de los casos la única ventaja que ofrecen es el bajo precio. Los antisépticos comúnmente disponibles para el ganadero son en la mayoría de los casos eficaces contra *Streptococcus* y *Staphylococcus* pero poca acción tienen contra coliformes. Cuando nos enfrentamos a un problema de mastitis de origen ambiental, es necesario atender las condiciones sanitarias de los alojamientos de las vacas, las prácticas de manejo para preparación del ganado al ordeño, higiene del equipo para ordeño mecánico, así como de toda actividad relacionada al ordeño.

Consideraciones para adquirir un antiséptico:

Identificar los antisépticos disponibles en el mercado.

Que el producto esté aceptado para su distribución comercial por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.

Conocer la composición cualitativa y cuantitativa de los elementos que contiene el producto.

Que el producto sea eficaz en condiciones de laboratorio para matar los microorganismos aislados en las muestras de leche provenientes del hato en cuestión y que son considerados como responsables de los casos de mastitis que se presentan en el hato.

Después de ser aplicado deberá mantener la actividad germicida en el pezón, por el tiempo requerido en tanto el conducto recupera su condición normal.

El antiséptico seleccionado no deberá dañar a los pezones.

Este producto no deberá alterar la calidad de la leche ni tampoco ser tóxico para el consumidor.

Permitir la identificación del pezón expuesto al antiséptico.

El producto deberá ser fácilmente removido en la preparación del pezón para el ordeño.

Precio razonable con respecto al costo de producción y programa de control de mastitis.

Antecedentes de mastitis por mycoplasma.

Tolboom RK, et al., en 2008, de Dierenkliniek Deventer en Holanda reportan en su estudio las características más importantes de mastitis por Mycoplasma en las explotaciones lecheras, se describen sobre la base de dos estudios realizados, reportan los síntomas clínicos, diagnóstico, epidemiología, y un plan de acción. En los rebaños investigados, Mastitis por Mycoplasma se caracteriza por múltiples sectores afectados que no responde al tratamiento con antibióticos y / o agentes antiinflamatorios. Lo más sorprendente fueron un sedimento de arena de color marrón, y el arroz, como la estructura de la leche de los animales afectados. Los síntomas clínicos que diferían en los dos rebaños afectados. El diagnóstico se basa en la investigación bacteriológica de muestras de leche y de líquido sinovial tomadas de las vacas infectadas. Los animales fueron sacrificados inmediatamente, y los rebaños fueron monitorizados mediante repetidas pruebas de muestras de leche a granel. Se llegó a la conclusión de que la consecuencia de mayor tamaño de los rebaños de ganado vacuno en los Países Bajos es una mastitis subclínica, La Mastitis por Mycoplasma clínica puede ser diagnosticado con más frecuencia que en el pasado. Para esta caso de mastitis, los agricultores y los veterinarios aconsejan la elaboración de un plan de acción conjunto, la incorporación de aspectos tales como el diagnóstico a nivel de vaca, directo sacrificio de los animales afectados, la higiene durante el ordeño, incluyendo post-ordeño desinfección del pezón, y la rutina el seguimiento de la leche a granel. Leche cruda no debe administrarse a los terneros etc. entre otras cosas.

Tijdschr Diergeneeskd. 2008 Feb 1; 133 (3):96-101. Mycoplasma mastitis en vacas lecheras]

Riffon R, et al., del Departamento de Microbiología e Inmunología, de la Facultad de Medicina, Universidad de Montreal, Montreal, Quebec , en el año 2001 desarrollan una prueba rápida y sensitiva para la detección de los principales agentes patógenos de la mastitis bovina, que es la fuente más importante de la pérdida para la industria lechera. Una prueba rápida y específica para la detección de los principales agentes patógenos de mastitis bovina no está realmente disponible. Se desarrollaron, Sondas moleculares de PCR a reaccionar con el ADN bacteriano de la leche de los bovinos, directa y rápida para la detección de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus parauberis*, y *Streptococcus uberis*, *M. bovis*.

Dos juegos de cebadores específicos fueron diseñados para cada uno de estos microorganismos y parece discriminar la estrecha filogenética entre especies bacterianas (por ejemplo, *S. agalactiae* y *S. dysgalactiae*). Además, dos series de primers universals fueron diseñados para reaccionar como controles positivos con todos los principales agentes patógenos de mastitis bovina. fueron comparados La sensibilidad de la prueba de *S. aureus* utilizando ADN extraído de la leche con y sin pre-PCR lisis enzimática paso de células bacterianas. El límite de detección del ensayo fue $3,125 \times 10^2$ UFC / ml de leche cuando *S. aureus* ADN fue extraído con la pre-PCR enzimática paso en comparación con el 5×10^3 UFC / ml de leche en ausencia del pre-PCR enzimática paso. Este último umbral de sensibilidad es todavía compatible con su uso como una herramienta eficaz en el diagnóstico de la mastitis bovina, lo que permite la eliminación de costosos reactivos. Las dos pruebas PCR evitan engorrosos y largos pasos de cultivo, se puede realizar en cuestión de horas, y son sensibles, específicos y confiables para la detección directa en la leche de las seis o más frecuentes bacterias causantes de mastitis bovina. *J Clin Microbiol.* 2001 Jul; 39(7):2584-9.

Olde Riekerink RG et al., en el año del 2006, en Atlantic Veterinary College de University of Prince Edward Island reportan la Prevalencia de patógenos en mastitis contagiosa en el tanque de leche en Prince Edward Island. En donde el objetivo de este estudio fue 1) estimar la prevalencia de los agentes patógenos de

rebaños con mastitis contagiosa en leche a granel en las explotaciones lecheras, 2) determinar la asociación entre la leche a granel y los resultados de los medios de cultivos de leche a granel y de células somáticas (BMSCC), Y 3) investigar la de leche a granel en repetidos cultivos. Tres muestras de leche a granel se obtuvieron a intervalos semanales de 258 PEI todos los hatos lecheros y fueron cultivadas mediante métodos de laboratorio de rutina. la prevalencia Acumulativa de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, y ***Mycoplasma spp. (M. bovis y M. alkalescens)*** fue del **74%, 1,6% y 1,9%, respectivamente**. Lotes de leche de células somáticas de *S. aureus* de rebaños positivos fue superior a la negativa de los rebaños. Acuerdo de *S. aureus* aislamiento entre el 3 pruebas consecutivas fue moderada ($\kappa = 0,46$). *Mycoplasma bovis* y *M. alkalescens*, en leche a granel se reporta por primera vez en Prince Edward Island, en Canadá desde 1972. *Can Vet J.* 2006 Jun; 47(6):567-72.

Le Grand D. et al., del laboratorio de Patología del ganado, en la Escuela National Veterinaria de Lyon, 1 Avenue Bourgelat, Marcy l'Etoile, France, realizaron en el año 2002, un estudio de la prevalencia a la infección por *Mycoplasma bovis* en Francia se evaluó por medio de una encuesta serológica de ganado vacuno en amamantamiento, mediante una prueba de ELISA. La encuesta incluyó 824 rebaños seleccionados al azar en ocho condados francés y un total de 32,197 animales de más de un año de edad. En cada condado, el número de rebaños probado estadísticamente se determinó sobre la base de la hipótesis de que alrededor del 40 por ciento de los rebaños están infectados. La proporción de los rebaños que contengan al menos un animal infectado oscilaron entre 28 a 90 por ciento dependiendo del condado. Entre los 32.197 sueros prueba, la tasa de infección animal osciló entre el 2 por ciento y 13 por ciento. En rebaños infectados, el número medio de animales positivos por cada rebaño fue entre el 10 y el 20 por ciento, y la infección se distribuyó de manera desigual entre las zonas de prueba. *The Veterinary Record, Vol 150, Issue 9, 268-273*

Nicholas R A, y Ayling R D. En el Reino unido, en el 2003, hacen una descripción en su artículo sobre el diagnóstico y control de *Mycoplasma bovis*

que es uno de los principales patógenos que causa enfermedades respiratorias, mastitis y artritis en el ganado pero a menudo pasado por alto. Se encuentra en todo el mundo y se ha extendido a nuevos ámbitos, entre ellos Irlanda y partes de América del Sur, en la última década. En Europa, es responsable de al menos un cuarto a un tercio de neumonía del ternero, si bien esto puede ser una estimación por el menor número de laboratorios para un seguimiento regular de *Mycoplasma* s. Al igual que todos los mollicutes, *M. bovis* es de por sí refractario a ciertos grupos de antibióticos, ya que no poseen una pared celular; además, se está acumulando evidencia de que las cepas de *M. bovis* se están volviendo resistentes a los antibióticos, incluyendo la tetraciclina, tilmicosina y espectinomicina, que tradicionalmente es utilizado para su control. No hay vacunas actualmente disponibles para el control de las infecciones por *M. bovis*. *Res Vet Sci.* 2003 Apr;74(2):105-12.

McAuliffe L, et al., en 2004, del grupo *Mycoplasma*, del Department of Statutory and Exotic Bacteria, Veterinary Laboratories, en el Reino Unido. Reportan un análisis epidemiológico molecular de cepas de *Mycoplasma bovis* del Reino Unido en muestra de dos cepas genéticamente distintas. *Mycoplasma bovis* es un patógeno importante de interés veterinario que causa neumonía, artritis, mastitis en animales infectados. En este trabajo se investigó la diversidad genética de 53 aislamientos recogidos en el Reino Unido entre 1996 y 2002 con análisis de técnicas de electroforesis (PFGE), amplificación de fragmentos polimórficos (AFLP), y amplificación al azar de ADN polimórfico (RAPD). Además, la influencia de la variable de proteínas de superficie (VSP) en los perfiles de los perfiles generados con técnicas de caracterización molecular. En Ambos análisis AFLP y RAPD los aislados separados en dos grupos distintos, pero PFGE mostró menos congruencia con las otras técnicas. No había una clara relación entre el origen geográfico o el año de aislamiento de los aislamientos y los perfiles elaborados. se observó, que no existe correlación entre VSP y perfiles de cualquiera de las técnicas de tipificación molecular. Se propone que RAPD y AFLP son herramientas valiosas para la caracterización molecular de *M. bovis*.

J Clin Microbiol. 2004 Oct; 42(10):4556-65

Kusiluka LJ, et al., en el 2000. Del Department of Veterinary Microbiology, Royal Veterinary and Agricultural University, Frederiksberg, Denmark, realizaron, un estudio sobre la prevalencia de mycoplasmas en neumonías en pulmones de bovinos, se realizó en el material presentado con fines de diagnóstico en el Laboratorio Veterinario danés de Copenhague Dinamarca.

Entre los 50 casos examinados 43 (86,0%) se comprobó que estaban infectados con Mycoplasma s. La prevalencia por Mycoplasma s y Ureaplasma spp. Fue de (72,0%), M. dispar (48,0%) y M. bovis (24,0%). Otros Mycoplasma s como bovirhinis M. (20,0%) y M. bovirhinis (6,0%). Entre los pulmones infectados por múltiples especies predominantes fueron las infecciones (76,7%) de una sola especie, con el (23,3%) con M. dispar-Ureaplasma (25,6%), M. bovis-Ureaplasma (18,6%) y M. dispar-M. bovirhinis-Ureaplasma (11,6%) siendo las combinaciones mas frecuentes, de acuerdo a los informes Parece que existe una creciente prevalencia de M. bovis (24,0%) en comparación con informes anteriores (0.6-2.0%), lo cual pone una atención especial a este Mycoplasma . Electroforesis de gel (PFGE), se realizo análisis de campo de 11 cepas de M. bovis a partir del 9 de diferentes granjas puesto de manifiesto diferentes perfiles, excepto para 2 cepas que se recuperaron de la misma explotación. Debido a Mycoplasma s pertenecientes a la M. mycoides grupo no se ha tropezado durante este estudio, parece que la población de ganado Danés es aún libre de este grupo de Mycoplasma , a pesar de su presencia en algunos otros países europeos. *Acta Vet Scand. 2000; 41(2):139-46. Increasing prevalence of Mycoplasma bovis in Danish cattle.*

Kauf AC, et al., del Bovine Functional Genomics Laboratory, USDA, Beltsville, USA. En el año 2007, Realizan un estudio para caracterizar la respuesta inmune innata, local y sistémica de las vacas lecheras por Mycoplasma bovis. un patógeno de creciente preocupación para la industria lechera. Diez vacas Holstein fueron infectadas por infusión en un cuarto con M. bovis y estudiado a los diez días. En la fase aguda la síntesis de proteínas, refleja el primer parámetro de la respuesta sistémica a la infección, la que se indujo en 108

h de la infección, se demuestra con el aumento de las concentraciones circulantes de lipopolisacárido la proteína de unión y el suero amiloide A. Transitoria. Se observó neutropenia de 84 a 168 h posinfección, mientras que un estado constante de linfopenia y trombocitopenia se observó a partir de 84 h hasta el final del estudio. Las células somáticas de la leche inicialmente aumentó en 66 h de M. bovis infusión y se mantuvo elevado, en relación con el control (tiempo 0) las concentraciones, durante el resto del estudio. El aumento de las concentraciones en leche de BSA, reflejan un aumento de la permeabilidad del epitelio mamario-barrera endotelial, lo cual fue evidente dentro de 78 h de infección y se mantuvieron a partir de 90 h hasta el final del estudio. Las concentraciones en leche de varias de citoquinas, incluyendo IFN-gamma, IL-1beta, de IL-10, IL-12, factor de crecimiento tumoral-alfa, y factor de necrosis tumoral-alfa, se elevan en respuesta a la infección durante un período de varios días, mientras que el aumento en la leche de IL-8, fueron de una duración más limitada.

La activación del complemento, se refleja por el aumento de las concentraciones en leche de complemento factor 5 bis, también fue observado durante varios días.

A pesar de la indicación de estos cambios que se han observado en las vacas montando una respuesta inflamatoria prolongada a una infección intramamaria de M. bovis, en donde todos los sectores sigue siendo infectados a lo largo del estudio con la persistencia de altas concentraciones de esta bacteria. De este modo, una sostenida respuesta inflamatoria no es suficiente para erradicar M. bovis de la glándula mamaria y puede reflejar la continua lucha de la acogida a este agente patógeno. *J Dairy Sci. 2007 Jul; 90(7):3336-48*

Núñez D.C, et al., en el 2008 realizan un estudio de detección y aislamiento de mastitis bovina subclínica por Mycoplasma mediante ELISA indirecta.

El objetivo de este trabajo fue determinar la efectividad de una prueba de ELISA en suero para el diagnóstico de la mastitis bovina subclínica causada por Mycoplasma bovis, teniendo como prueba de referencia el aislamiento del microorganismo a partir de muestras de leche. Se obtuvieron 225 muestras de

sangre y de leche provenientes de hatos del Estado de México, Coahuila e Hidalgo, todos en México. Ciento treinta y nueve muestras (61.8%) resultaron positivas a mastitis subclínica mediante la prueba de Wisconsin, y de ellas sólo en seis se aisló *M. bovis*. A través de la prueba de ELISA, 72 muestras resultaron positivas (32.0%). Todos los animales con aislamiento positivos también fueron positivos a la prueba de ELISA. Con un punto de corte mayor o igual a 100, se obtuvo sensibilidad de 83.3% y especificidad de 83.56%, aunque el valor predictivo (VP) (+) se asoció con baja prevalencia. La técnica de ELISA podría ser utilizada como prueba tamiz para la detección de mastitis asociada con *M. bovis*, particularmente en hatos con frecuencias elevadas (> a 10%), esto con el fin de mejorar un valor predictivo positivo, lo que permitiría establecer mejores diagnósticos en casos donde las pruebas más comunes no dan un resultado concreto, sobre todo si se considera que la prueba de ELISA es práctica, rápida y económica. *Veterinaria México, ISSN 0301-5092, Vol. 39, Nº. 2, 2008*

Detección de mastitis bovina subclínica por *Mycoplasma* mediante ELISA indirecta y aislamiento *Veterinaria México, ISSN 0301-5092, Vol. 39, Nº. 2, 2008, pags. 161-171*

Filioussis G, et al., 2007. Del Laboratorio de Microbiología y enfermedades infecciosas, de la Escuela de Medicina Veterinaria, de la Universidad de Thessaloniki, Thessaloniki, Grecia. Reportan en el año 2007 el aislamiento de Mycoplasma bovis detectado en 18 de 219 (8,2%), muestras de leche recogidas de casos de mastitis clínica bovina en el norte de Grecia entre noviembre de 1997 y marzo de 1999. Los casos ocurrieron en 2 de 37 (5,4%) rebaños examinados. El microorganismo se aisló de muestras de leche a granel (BTS) de los dos hatos positivos, pero no fue aislado de 111 muestras recogidas de leche de las vacas clínicamente sanas de los 37 rebaños. Los aislamientos fueron identificados como M. bovis por análisis de reacción en cadena de polimerasa (PCR). Otros microorganismos también fueron aislados del M. bovis de muestras positivas. Todas las vacas positivas a M. bovis fueron importadas a Grecia procedentes de otros países europeos. Vet J. 2007 Jan; 173(1):215-8.

Roy JP, et al., junio del 2008. Del Département de Sciences Cliniques, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe, Québec, Reportan un primer informe de una infección intramamaria causada por *Mycoplasma bovis* a la séptima semana de edad en terneros Holstein. El ternero fue presentado inicialmente con un peso teniendo cojera en la extremidad posterior izquierda. El examen clínico reveló no sólo una artritis séptica de los tarsos, sino también una infección que afecta a la parte trasera derecha de la glándula mamaria. La fuente de *M. bovis* no se ha encontrado, pero la explicación más probable es propagación de la infección del tarso izquierdo. Este caso demuestra que la mastitis por *Mycoplasma* puede ocurrir en pre-destete de terneros, lo cual podría desempeñar un papel en la epidemiología de la mastitis por *Mycoplasma* en vacas lecheras. *Vet J.* 2008 Jun;176(3):403-4.

Pfützner H, S Busch, et al., informaron en este documento en 1979 reportan la aparición de mastitis enzoótica en tres poblaciones de ganado lechero. Los brotes fueron causados por *Mycoplasma bovis*, *Acholeplasma laidlawii*, *Acholeplasma axanthum* así como de una cepa no identificada de la familia de mycoplasmataceae. Todos los animales con respuesta positiva a pruebas de *Mycoplasma* se identificaron y seleccionaron después se les realizaron cultivos, y pruebas repetitivas de las muestras de leche de todos los lactantes las vacas secas y novillas, así como con la evaluación del órgano de muestras obtenidas de las vacas sacrificadas. Regular la limpieza y desinfección de los sitios de las vacas y pistas de ganado, leche así como la desinfección de ubres y tazas de ordeño estuvieron muy bien en toda la acción de control en los casos de mastitis por *Mycoplasma* enzoótica. *Arch Exp Veterinarmed.* 1979; 33(5):685-97.

Pfützner h. y Sachse k., en el año 1996 en su artículo *Mycoplasma bovis* como agente de mastitis, neumonía, artritis y trastornos genitales en el ganado vacuno describen los síntomas de las diversas enfermedades causadas por *M. bovis* así como el curso característico del proceso infeccioso. Con el fin de arrojar

luz sobre el origen y propagación de la infección, los autores describen asimismo las propiedades principales del agente patógeno y sus reservorios, y resumen los resultados obtenidos

Las enfermedades de los bovinos causadas por *Mycoplasma bovis* pueden engendrar considerables pérdidas económicas en las actividades de producción pecuaria. Mientras que en el caso de lecherías de gran tamaño este patógeno es responsable sobre todo de mastitis resistentes a cualquier forma de tratamiento, en granjas más pequeñas las enfermedades micoplasmáticas más frecuentes son la artritis y la neumonía en terneros. Por otra parte, este agente también es responsable de trastornos genitales. La única forma de controlar con eficacia la infección por *M. bovis* reside en la aplicación de medidas adecuadas en una fase lo más temprana posible. Dado que la inmunoprofilaxis y el tratamiento con antibióticos se han demostrado ineficaces, las medidas de control deben comprender la introducción de normas estrictas de higiene, la limitación del movimiento de animales pertenecientes a rebaños infectados y el sacrificio de aquellos ejemplares con signos clínicos de la enfermedad o que excreten el virus (estos últimos sólo en el caso de las mastitis y los trastornos genitales). experimentalmente sobre los modos de transmisión a los órganos sensibles.

Examinan también en detalle las ventajas e inconvenientes de los métodos de diagnóstico utilizados actualmente, pues la práctica de un diagnóstico efectivo es requisito indispensable para la introducción de medidas precoces de control. La ausencia de pruebas para la detección de *Mycoplasma s* en los protocolos de análisis bacteriológico de rutina de muestras clínicas constituye un grave defecto. Ello imposibilita la detección de algunas infecciones por *M. bovis* y por ende un adecuado control de los posibles brotes. Los autores hacen por último algunas recomendaciones prácticas para la prevención y control, entre ellas la formación de rebaños libres de *Mycoplasma s*. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz, 1996, 15 (4), 1477-1494

Pfützner H, y D. Schimmel .Realizan estudios de mastitis bovina por *Mycoplasma* , con ensayo de diversos medios de cultivo y métodos de cultivo

para el aislamiento de Mycoplasma de muestras de leche. Los Medium-I caldo, Medio-B caldo, caldo y Weissensee mycoplasma caldo así como Medium-I agar, Mediano B-agar, agar LMR fueron probados y utilizados para su aplicabilidad para el cultivo de mycoplasma de muestras de leche, utilizando técnicas directas e indirectas. No es información fiable sobre la incidencia de Mycoplasma. Su uso en combinación con la técnica de cultivo indirecta se recomienda para el diagnóstico de rutina. Arch Exp Veterinarmed. 1979; 33(3):419-28.

Cerdá R, y Xavier J, de La Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina. En el año 2000, Reportan el primer informe en la República de Argentina de el aislamiento de Mycoplasma bovis durante un brote de mastitis bovina en una granja lechera en la provincia de Buenos Aires. Varias especies de Mycoplasmas producen diversas enfermedades en diferentes especies animales y M. bovis ha sido descrito como una causa de mastitis, artritis, neumonía y la infertilidad en el ganado. Por otra parte, esta especie ha sido el más frecuentemente aislado agente de la producción de mastitis bovina.

El objetivo del estudio que reportan fue aislar y tipificar cepas de Mycoplasmas de un brote de mastitis clínica en una granja lechera de la Provincia de Buenos Aires. De total de 279 muestras que fueron estudiadas, 276 muestras de leche de vacas con mastitis clínica que no responden a terapia antibiótica, 1 tanque de leche y 2 hisopos prepucio de los toros).

Las cepas aisladas de Mycoplasma (n = 12) se caracterizan en este estudio por análisis bioquímicos, estudios serológicos y análisis electroforético de los perfiles de proteínas (SDS-PAGE). Sobre la base de estos estudios, las cepas aisladas fueron identificadas como Mycoplasma bovis. Este es el primer informe del aislamiento de este microorganismo en la republica de Argentina.

Rev Latinoam Microbiol. 2000 Jan-Mar; 42(1):7-11.

Infante Martínez F, y Aguado J, Eduard Jasper D. De la División de Graduados, UAM Agronomía y Ciencias, Universidad Autónoma de Tamaulipas, México. En 1999. Reportan un Brote de mastitis debido a *Mycoplasma californicum* y *Mycoplasma canadiense* en un hato lechero comercial en el estado de Jalisco, México, con 282 vacas en lactancia de repente comenzó a tener un problema con mastitis clínica atípica, Se mostraron 28 casos graves de mastitis purulenta duro con glándulas mamarias hinchadas, pero sin signos sistémicos de enfermedad Algunas de las vacas. Los casos no son sensibles a los antibióticos.

La evidencia sugiere que el mal funcionamiento de máquinas de ordeño y otras prácticas de gestión pueden haber contribuido a propagar la infección y aumentar el número de casos clínicos. El cultivo de la leche de las vacas afectadas y tanque de leche resultaron con colonias de *Mycoplasma* que fueron identificados como *Mycoplasma californicum* y *Mycoplasma canadense*. Este es el primer informe y el aislamiento de estos *Mycoplasma* s en México y América Latina. Las 28 vacas positivas fueron sacrificadas y segregadas, sin embargo, el propietario al no seguir las recomendaciones para aplicar otras medidas preventivas, las pérdidas fueron mucho mayores y 177 vacas fueron sacrificadas.

Rev Latinoam Microbiol. 1999 Jul-Sep ; 41(3):117-20.

Byrne WJ, et al., Del Central Veterinary Research Laboratory, Dublin, Ireland. En el año 2000. Utilizan Un ELISA indirecto para detectar anticuerpos frente a *Mycoplasma bovis* en muestras de leche recogidas en una finca con mastitis por *M bovis*. Los anticuerpos fueron detectados en muestras de nueve vacas que habían desarrollado clínico *M bovis* mastitis. Leche de sólo tres constantemente el antígeno negativo vacas positivo en las pruebas de anticuerpos *M bovis*. Estos resultados indican el potencial valor de la ELISA indirecta para la detección de las vacas que han ido surgiendo recientemente, *M bovis* mastitis durante las primeras fases de un brote. *Vet Rec. 2000 Mar 25; 146(13):368-9.*

Kokotovic B, et al., del Laboratorio Veterinario Danés, en Dinamarca Copenhagen, en el año de 1999. Realizaron un estudio utilizando el método de Fragmento amplificado-polimorfismo de la longitud (AFLP) que es un conjunto de

huellas dactilares-genoma método basado en la amplificación selectiva de los fragmentos de restricción.

El potencial del método para la caracterización de Mycoplasmas se ha investigado en un total de 50 cepas de origen humano y animal, incluida la *Mycoplasma genitalium* (n = 11), *Mycoplasma pneumoniae* (n = 5), *Mycoplasma hominis* (n = 5), *Mycoplasma hyopneumoniae* (n = 9), *Mycoplasma flocculare* (n=5), *Mycoplasma hyosynoviae* (n = 10), y *Mycoplasma dispar* (n = 5). AFLP plantillas fueron preparados por la digestión de ADN mycoplasmal con BglIII y MfeI endonucleasas de restricción y posterior ligadura de sitio correspondiente de adaptadores específicos. La amplificación de las plantillas de AFLP con un conjunto único de los primers non selective resultado reproducible en las huellas dactilares de aproximadamente 60 a 80 fragmentos de tamaño en el rango de 50 a 500 bp.

El método fue capaz de discriminar las cepas analizadas en especies e intraspecies así como los niveles. Cada una de las especies probadas *Mycoplasma* desarrollado un patrón de bandas totalmente diferentes de los obtenidos a partir de otras especies objeto de análisis. Sutil intraspecies genómica se detectaron diferencias entre las cepas de todas las especies analizadas *Mycoplasma*. El grado de polimorfismo varió notablemente entre las analizadas *Mycoplasma* s, que comprende los niveles de patrón de similitud de 61,7% detectado entre cepas de *M. dispar* a 95,9% detectado entre cepas de *M. genitalium*. Los resultados del presente estudio demuestran la alta potencia discriminatoria de la AFLP análisis, lo que sugiere la posible aplicabilidad de este método para la caracterización molecular de *Mycoplasma* s. *J Clin Microbiol.* 1999 Oct; 37(10):3300-7.

Castro-Alonso A, Rodríguez F, et al., en el 2008, del Departamento de Patología Veterinaria, Facultad de Veterinaria, ULPGC Trasmontaña, en Arucas, Gran Canaria, España. Realizaron un estudio para correlacionar el curso clínico de la mastitis por *Mycoplasma* con su respuesta inmune, en glándulas mamarias,

de 15 cabras en lactancia fueron inoculando con 10 (10) unidades formadoras de colonias (ufc) de *Mycoplasma agalactiae* (M.a). Antes de sacrificar los animales en 5, 15 o 45 días post-inoculación (dpi), los títulos de anticuerpos en la sangre de Ma y en la leche las colonias M.a y el conteo de células somáticas fueron controlados. Las colonias de M.a en la glándula mamaria y el CCS en la leche aumentó a más de 10 (12) ufc / ml en 5dpi. Durante este período, una respuesta inmune innata la participación de los neutrófilos y los macrófagos se observó, y M.a antígeno apareció en el epitelio acinar degenerado. Desde 7dpi, una respuesta de anticuerpos específicos coincidió con la reducción de *Mycoplasma* s viable en la leche. La respuesta inmune humoral es limitada; de 37dpi, todos los animales resultado negativo para anti-Ma anticuerpos, y alrededor de 10 (8) ufc / ml se cobertizo. Los resultados indican una pronta respuesta inmune a la inoculación Ma incapaces de controlar mycoplasmal invasión. La consiguiente respuesta humoral, a pesar de la reducción de la carga de *Mycoplasma* , conduce a la persistencia crónica de la infección. *Res Vet Sci. 12 Agosto 2008.*

González RN, y Wilson DJ. En 2003, del Departamento de Población de Medicina y Ciencias de diagnóstico de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Cornell, Ithaca, NY, EE.UU. en su artículo., mastitis *Mycoplasma* I en vacas lecheras nos dan una serie de indicaciones que se deben tener en cuenta debido a que es una enfermedad de persistencia muy contagiosa que puede causar graves problemas económicos en los rebaños afectados. La compra de sustitución de las novillas y vacas es con frecuencia el origen de los brotes de mastitis *Mycoplasma* I anteriormente en *Mycoplasma* libre de los rebaños. Al Comprar vacas y novillas deben ser puestas en cuarentena y la prueba de mastitis *Mycoplasma* I antes de la admisión regular del hato. La Detección de *Mycoplasma* en las vacas infectadas por el cultivo de la leche es sencilla, aunque hay problemas de sensibilidad para su detección en muestras de leche que son inherentes a la naturaleza de la enfermedad y los procedimientos de laboratorio. Después de la detección de las vacas infectadas, la mejor manera de proteger el rebaño es el cultivo de todas las vacas en el hato, las vacas con mastitis clínica, y

todas las novillas y vacas después del parto y antes de entrar en el hato de ordeño. El control de mastitis mycoplasmal requiere prueba y el sacrificio de las vacas positivas si es posible. Cuando un gran número de vacas están infectadas, con estricta segregación adecuada de gestión es una opción, sin embargo, los animales en este grupo nunca debe volver a entrar en el rebaño libre de Mycoplasma. El funcionamiento del equipo de ordeño y procedimientos de ordeño deben ser evaluados cuidadosamente y cualquier defecto corregido. No hay tratamiento. y la vacunación no ha demostrado ser eficaz para prevenir, o disminuir la incidencia, o mejorar los signos clínicos de mastitis Mycoplasma I.

Con los Residuos de la leche no se deberían alimentar a los terneros sin pasteurización. M bovis puede causar otras patologías en los animales de diferentes edades en una granja, incluida la neumonía, la artritis, e infecciones del oído. La supervivencia de Mycoplasmas en los distintos microambientes del establo debe investigarse más a fondo por su impacto sobre la epidemiología de la enfermedad. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2003 Mar; 19 (1):199-221

Cai HY, Bell-Rogers P, Parker L, Prescott JF. Del Animal Health Laboratory, Laboratory Services Division, Department of Pathobiology, University of Guelph, Ontario, Canada. En el 2005 desarrollan un tiempo real de reacción en cadena de polimerasa (PCR), en el ensayo se utilizaron sondas de hibridación en un LightCycler plataforma fue desarrollada para la detección de Mycoplasma bovis a partir de mastitis bovina de leche y neumónica en los tejidos del pulmón. El límite de detección fue 550 unidades formadoras de colonias (ufc) / ml de leche y 650 mg cfu/25 de tejido pulmonar.

Un grupo de Mycoplasma bovis y de otros de bacterias de origen bovino fueron probados y sólo cepas de M. bovis fueron positivos, con un pico de fusión de 66,6 grados C. Mycoplasma agalactiae PG2 también fue positiva y podría ser distinguido debido a que tuvo un pico de fusión de 63,1 grados C. En las pruebas de validación de muestras clínicas, la relativa sensibilidad y especificidad fue del 100% y 99,3% para las leches y el 96,6% y 100% para el tejido pulmonar. El uso de M. bovis PCR en tiempo real, el M. bovis cultivo positivo muestras de leche se

estima que contiene entre 5×10^4 y $7,7 \times 10^8$ ufc / ml y el *M. bovis* cultivo positivo entre el 1 de pulmones $\times 10^3$ y 1×10^9 cfu/25 mg. Aislamiento, confirmado con la PCR en tiempo real y una colonia prueba de anticuerpos fluorescentes, puso de manifiesto que en el rebaño, la proporción de muestras positivas para el aislamiento de *M. bovis* en muestras de leche mastitis presentado a la Mastitis Laboratorio, Laboratorio de Salud Animal, Universidad de Guelph, Ontario, Canadá, fue del 2,4% (5 / 201). Llegamos a la conclusión de que esta sonda basada en PCR en tiempo real es un ensayo sensible, específico y rápido método para identificar la infección por *M. bovis* en los animales bovinos de leche y neumónica pulmones. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2005, Vol 17, Issue 6, 537-545

Wilson DJ, et al., en el 2007 , del Department of Animal, Dairy and Veterinary Science, Utah State University, Logan, UT 84321, USA. Reportan y describen una inusual historia en el caso de 9 vacas lecheras en un hato de primera lactancia con hinchazón en la extremidad anterior y cojera. Mastitis y artritis y la Infección por *Mycoplasma* fueron diagnosticados. Los hallazgos clínicos, como Hinchazón de los conjuntos carpiano, edema difuso subcutáneo de las articulaciones carpiana y metacarpofalangeal, cojera en la extremidad anterior se puso de manifiesto en 9 vacas de primera lactancia, vacas de 7 a 21 días después del parto. Las Pruebas de diagnóstico revelaron que 3 de 3 muestras de leche de tanque al azar resultaron con mastitis clínica, 2 muestras de líquido obtenido a partir de las articulaciones artríticas, y muestras de los pulmones y el bazo de una vaca que había muerto arrojó resultados positivos para *Mycoplasma* spp. El análisis de la secuencia de ácidos nucleicos por el uso de un ensayo de PCR en el conjunto de fluidos y tejidos del pulmón confirmaron la infección por *Mycoplasma bovis*.

Las vacas afectadas fueron tratados con la administración IM de flunixin meglumina y dexametasona durante 3 días. Todas las vacas no respondieron al tratamiento (3 vacas murieron y los otros 6 fueron sacrificadas). La relevancia

clínica por *Mycoplasma* puede causar infecciones inusuales al principio de los signos clínicos o de una historia atípica.

Se sugiere que cuando el ganado lechero, incluidos los que residen en recintos cerrados, que presenten cojera, inflamación de la articulación metacarpofalangeal carpiano u otras articulaciones y edema de la porción distal de la pierna, o poliartritis, la infección por *Mycoplasma* spp deben ser investigada.

El retraso en el diagnóstico de infecciones mycoplasmal en ganado vacuno lechero puede dar lugar a importantes pérdidas financieras y el establecimiento subclínico y crónico de vacas portadoras. *J Am Vet Med Assoc.* 2007.

Ghazaei Cet al., del Departamento de Medicina Veterinaria, Mohaghegh Institución, la Universidad de Ardabili, Irán. En el 2006 reporta casos de mastitis por *Mycoplasma* en vacas lecheras en la región de Moghan Ardabil Estado, Irán. Casos de mastitis bovina debido a *Mycoplasma bovis* se diagnosticaron en Ardabil Estado, Irán. La investigación se llevó a cabo con el objetivo de establecer el alcance de las infecciones por *Mycoplasma* en vacas lecheras en el Estado de Ardabil. Se obtuvieron Muestras de leche a partir de 80 vacas con mastitis clínica fueron cultivadas en el laboratorio para detectar la presencia de *Mycoplasma* s. Del mismo modo, 48 muestras a granal-tanque de leche fueron examinadas para detectar la presencia de *Mycoplasma* s. Un caldo de Hayflick modificado fue utilizado para aislar a los *Mycoplasma* s y inmunoperoxidase una prueba utilizada para la identificación de especies de los aislados. *Mycoplasma bovis* fue aislado a partir de 39 muestras (48,75%) de mastitis clínica y de 48 muestras del tanque de leche. Esto indicó que las infecciones por *Mycoplasma* en ubre son más frecuentes en vacas lecheras en el estado de Aradabili. Previo a otros estudios realizados. *J S Afr Vet Assoc.* 2006 Dec; 77(4):222-3.

Pinnow CC, et al. En el 2001, realizaron un control de mastitis por mycoplasma y la detección de *Mycoplasma bovis* con un conservante tratada en muestras de leche. Para Lo cual se obtuvo la toma individual de muestras de leche de vaca para su cultivo y la identificación de *Mycoplasma bovis*. Este

muestreo es largo y costoso. Actualmente, en algunos hatos de vacas, la muestra mensual en el hato lechero mejora con un conservante que se añade a esta leche matando a *M. bovis*. En este trabajo, se validó con una prueba de reacción en cadena de polimerasa anidada (PCR), procedimiento que permite una rápida verificación de la conservación de leche tratada térmicamente. La especificidad del ensayo de PCR anidada fue confirmada por pruebas de ácidos nucleicos aislados de otros organismos filogenéticamente relacionadas con *M. bovis* o comunes a la leche. Una comparación ciega contra el paso del cultivo sobre el terreno en 53 muestras de leche se determinó su sensibilidad en muestras de leche dando lugar a un 5,1 equivalentes ufc por mililitro. El análisis de estos resultados demostró que el ensayo de PCR anidada fue tan sensible como el cultivo tradicional y puede ser utilizado con conservantes de leche tratada térmicamente. *J Dairy Sci.* 2001 Jul;84(7):1640-5.

Ghadersohi A, et al., del Department of Microbiology and Immunology, Australian Institute of Tropical Veterinary and Animal Sciences, James Cook University, Townsville. Australia. En 1999. Realizaron un estudio preliminar de prevalencia de mastitis por *Mycoplasma bovis* en ganado lechero australiano, en donde con una prueba de PCR (MB-PCR) fue utilizada para investigar su asociación con un alto conteo de células somáticas (SCC), que son un indicador de mastitis subclínica y uno de los factores de baja calidad de la leche. Un total de 186 y 167 rebaños fueron sometidos a estudio, con el 43% y el 62% de rebaños positivos de *M. bovis* en Victoria y el norte de Queensland, respectivamente. 52 vacas con la persistencia de altos RCS fueron probados por MB-PCR y el cultivo bacteriológico para investigar la asociación de *M. bovis* con los principales agentes patógenos de mastitis (MMP). *M. bovis* se detectó en el 77% de las vacas de las cuales 19% solo había *M. bovis* sin ningún tipo de otras bacterias, el 17% de *M. bovis* en combinación con los principales agentes patógenos de mastitis y el 40% había *M. bovis* en combinación con los no-principales patógenos de mastitis. Concluyen que *M. bovis*, está muy extendida en el ganado lechero y tiene el potencial de producir enfermedad por sí sola o predisponer a la ubre a las

enfermedades causadas por la mastitis y los principales agentes patógenos del medio ambiente. Estos estudios han revelado hasta ahora, una alta prevalencia de *M. bovis* en ganado lechero en el norte de Queensland y Victoria en Australia, que no habían sido reconocidos. Estos estudios iniciales también dan una clara asociación entre *M. bovis* y los elevados conteos de de células somáticas.

Vet Rec. 2000 Mar 25; 146(13):368-9.

Infante F, et al., de la División de Estudios de Postgrado, UAM Agronomía y Ciencias, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Reynosa, México. en el 2002 Realizan un estudio con el objetivo de evaluar la mejora del ensayo immunobinding (IBT), utilizando anticuerpos monoclonales para identificar *Mycoplasma bovis* infectados naturalmente en la leche. La IBT y la mejora de IBT son muy específicos y tuvo una sensibilidad inmunológica de 5×10^3 unidades formadoras de colonias por mililitro. Los resultados de los 2 métodos de acuerdo a las 130 muestras analizadas de leche. Sin embargo, la IBT requiere 158 min, mientras que la mejora de IBT requiere sólo 110 min. Además, la mejora de IBT utiliza pequeñas cantidades de anticuerpos y conjugados.

Can J Vet Res. 2002 Oct; 66(4):282-4.

Byrne WJ, et al., en el año 2000 del laboratorio central de investigación veterinario de Dublin Irlanda, realizaron una prueba de ELISA indirecta para detectar anticuerpos frente a *Mycoplasma bovis* en muestras de leche recogidas en una granja de vacas con mastitis por *M. bovis*. Los anticuerpos fueron detectados en muestras de nueve vacas que habían desarrollado mastitis clínica por *M. bovis*. Leche de sólo tres vacas dieron positivo en las pruebas de anticuerpos a *M. bovis*. Estos resultados indican el valor potencial de la prueba de ELISA indirecta para la detección de vacas con infección reciente de mastitis con *M. bovis* durante las primeras fases de un brote.

Vet Rec. 2000; 146 (13):368-9.

Lee KH, et al., Del Departamento de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Taiwán, N ° 1, Sec. 4, Roosevelt Road, Taipei City, Taiwán. Desarrollaron de un nuevo biochip para la detección rápida y múltiple de siete agentes patógenos que causan mastitis en muestras de leche de bovinas. De manera eficiente a prevenir y tratar la mastitis bovina y minimizar su efecto sobre la industria láctea, una prueba específica sensible y rápida es necesaria para la identificación de los patógenos causantes de mastitis. En este estudio, un biochip capaz de detectar 7 agentes patógenos de especies comunes que causan mastitis, incluidos *Corynebacterium bovis*, *Mycoplasma bovis*, *Staphylococcus aureus* y el *Streptococcus* spp. *S. agalactiae*, *S. bovis*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis* y, dentro de 6 horas se desarrolló. La técnica se basa en la amplificación de ADN de genes específicos de los patógenos blanco y consta de 4 etapas básicas: extracción de ADN de bacterias, reacción en cadena de polimerasa, hibridación de ADN, y la reacción calorimétrica. Para examinar la exactitud y la especificidad de este biochip, una prueba preliminar con un cuarto al azar 82 muestras de leche fueron analizados y comparados con los resultados de los métodos microbiológicos convencionales realizadas simultáneamente. Los resultados de todos sino 1 muestra analizada por el biochip estaban de acuerdo con los analizados por la bacteriología. El biochip podría ser un posible instrumento para el diagnóstico rápido para patógenos que causan mastitis en la leche y el suministro de información para un tratamiento más eficaz para curar la mastitis. *J Vet Diagn Invest.* 2008 Jul;20(4):463-71.

Conclusiones.

Hoy en día en la Comarca Lagunera siendo la región más productiva de leche en México Ninguna lechería esta inmune a la posibilidad de contraer mastitis por *Mycoplasma* y las circunstancias que permiten que esto pase pueden variar tremendamente, y de acuerdo a estadísticas de carácter personal próximas a publicar en la revista nacional Técnica Pecuaria en México. De 240 establos

visitados en la comarca lagunera. Se obtuvieron resultados positivos en un 13% a Mycoplasma, la mayoría de vacas provenientes del norte de EE.UU.

Literatura

Abdullah Al-HA, y Fadl EA, del Laboratorio de Sanidad Animal, Al-Marai empresa lechera, PO Box 8524, 11492 Riad, Arabia Saudita, en el año 2006, reportan mastitis por *Mycoplasma* en los rebaños de ganado lechero en Arabia Saudita. Vet Rec. 2006 Jul 15; 159 (3) :88-9.

Adkinson, R. W., R. H. Gough, R. Graham, and A. Yilmaz. proposed changes in bulk tank somatic cell count 84:370-374.2001

Aderem, A., and R. J. Ulevitch. 2000. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. Nature 406:782–787.

Andresen s Hans.; Mastitis: Prevención y Control, Perú 2001; Págs.: 55-64 <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v12n2/a10v12n2.pdf>.

Aguado, J. A. 2001. Conteos somáticos en leche. Nueva en leche. E-campo homepage: <http://www.e-campo.display.php/uuid>. (Citado en: febrero 22 de 2005).

Al-ani fk and Vestweber jge. Udder edema: An updated review. Vet Bull 1986;56 (9): 763-769.

Alfonseca SE. Aplicación de la técnica estandarizada de Kirby-Bauer para determinación de susceptibilidad a quimioterapéuticos con *S. aureus* aislados de mastitis bovina (tesis de licenciatura). Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1991.

Andresen S, H. mastitis: prevención y control Rev Inv Vet Perú 2001; 12(2): 55-64

Anderson KL, Hunt E. Update on Bovine Mastitis. Vet. Clin. North Amer.: Food Anim. Pract. 9(3):421-559. 1993.

Ariznabarreta, A., Gonzalo, C., San Primitivo, F. 2002. Microbiological Quality and Somatic Cell Count of Ewe Milk with Special Reference to Staphylococci. J. Dairy Sci. 85:1370-1375.

ARROYO GG, HERNANDEZ AL, PEREZ DM. Aislamiento de *Nocardia* asteroides en un brote de mastitis y su sensibilidad. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria; 1987 octubre 24-26: México, D. F. INIFAP-SARH.

Auldism MJ, Hubble IB. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. Aust. J. Dairy Technol.. 53:28-36. 1998.

Auldism MJ, Hubble IB. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. Aust. J. Dairy and monitor subclinical mastitis incidence. J. Dairy Sci. 88:3944–3952.

Auldist, M.J. and I.B. Hubble. 1998. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. Aust. J. Dairy Tech. 53: 28-36. Citados por Curbelo R., 2007.

Avila t, s., Blanco, o., Romero a, t. Mastitis y producción de leche en el trópico húmedo. México: SUA-FMVZ Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM 1991.

Avila t, s, Gasque g r, Cano c p, Baños ca, Fuentes h v. Frecuencia anual de mastitis clínica y sus costos en una explotación del Valle de México. Memorias del XVIII Congreso Nacional de Buiatría; 1993 noviembre 11-13; México, D.F. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1993: 239-244.

Avila t s, Gaytan g g, Gasque g r, Cano c p, Baños c a, Fuentes h v. Prevalencia de mastitis clínica y sus costos durante la primavera en una explotación típica del valle de México. Memorias del XVII Congreso Nacional de Buiatría; 1992 agosto 13-15; Villahermosa (Tabasco) México. México (D. F.): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1992.

Avila t s, Ruiz s h, Hurley d, Smith f. Correlación entre las condiciones del equipo, higiene y microorganismos aislados de la leche de vacas de establos del Valle de México, Memorias del X Congreso Mundial de Buiatría; 1978 agosto 16-19 Celaya (Guanajuato) México. 1978: 544-557.

Báez, G. J. J. 2002. Estudio epidemiológico de mastitis subclínica bovina en el sector II de Téjaro, Michoacán. (Tesis de licenciatura). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Morelia, Michoacán, México. 40-4.

Barker, R. M. y Yang, T. J. 1998. Chemotactic Activities in Nonmastitic and Mastitic Mammary Secretions: Presence of Interleukin-8 in Mastitic but Not Nonmastitic Secretions. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. 5:82-8.

Barile, M. F. 1983. Arginine hydrolysis, p. 345-349. In: S. Razin and J.G. Tully (ed.). Methods in Mycoplasmaology, Vol. 1. Academic Press, Inc. New York.

BARNUM AD. Pathogenesis of bacteria infection in animals. Carlton Gyles and Charles Thoen. Ames Iowa: Iowa State University Press, 1986.

Bannerman, D. D., M. J. Paape, and A. Chockalingam. 2006. *Staphylococcus aureus* intramammary infection elicits increased production of transforming growth factor-alpha, beta1, and beta2. Vet. Immunol. Immunopathol. 112:309-315.

- Bannerman, D. D., A. Chockalingam, M. J. Paape, and J. C. Hope. 2005. The bovine innate immune response during experimentally-induced *Pseudomonas aeruginosa* mastitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 107:201215.
- Bannerman, D. D., M. J. Paape, J. P. Goff, K. Kimura, J. D. Lippolis, and J. C. Hope. 2004a. Innate immune response to intramammary infection with *Serratia marcescens* and *Streptococcus uberis*. *Vet. Res.* 35:681–700.
- Bannerman, D. D., M. J. Paape, W. R. Hare, and J. C. Hope. 2004. Characterization of the bovine innate immune response to intramammary infection with *Klebsiella pneumoniae*. *J. Dairy Sci.* 87:2420–2432.
- Bannerman, D. D., M. J. Paape, J. W. Lee, X. Zhao, J. C. Hope, and P. Rainard. 2004c. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* elicit differential innate immune responses following intramammary infection. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 11:463–472.
- Bailey, K., D. Hardin, J. Spain, J. Garret, J. Hoehne, R. Randle, R. Ricketts,. 1997. An economic simulation study of large scale dairy units in the Midwest. *J. Dairy Sci.* 80:205-214.
- Bedolla, C. C. 2005. “Problemática de la mastitis en Michoacán”. Curso Internacional Teórico Práctico. “Avances en el diagnóstico y control de la mastitis bovina. FMVZUMSNH
- Bedolla, C. C. 2005. “Problemática de la mastitis en Michoacán”. Curso Internacional Teórico Práctico. “Avances en el diagnóstico y control de la mastitis bovina. FMVZUMSNH.
- Bedolla, C. C., y Castañeda, V. H. 2003. Agentes patógenos causantes de la mastitis bovina. Cuatro vientos. N° 38. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Pp. 27-29. “Problemática de la mastitis en Michoacán”. Curso Internacional Teórico Práctico. “Avances en el diagnóstico y control de la mastitis bovina. FMVZUMSNH.
- Bedolla, C. C., y Castañeda, V. H. 2003. Agentes patógenos causantes de la mastitis bovina. Cuatro vientos. N° 38. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Pp. 27-29.
- Biesenkamp-Uhe, C., Li, Y., Hehnen, H. R., Sachse, K. y Kaltenboeck, B. 2007. Therapeutic *Chlamydophila abortus* and *C. pecorum* Vaccination Transiently Reduces Bovine Mastitis Associated with *Chlamydophila* Infection. *Infection and Immunity.* Vol. 75 (2): 870-877.
- Byrne, W., B. Markey, R. McCormack, J. Egan, H. Ball, and K. Sachse. 2005. Persistence of *Mycoplasma bovis* infection in the mammary glands of lactating cows inoculated experimentally. *Vet. Rec.* 156:767–771.

BLOOD DC, HENDERSON AJ, RODOSTITS OM. Medicina Veterinaria. 5a. Ed. México: Interamericana McGraw-Hill, 1983.

BLOOD DC, RADOSTITS OM, ARUNDEL HJ, GAY CC. Medicina Veterinaria. México: Interamericana McGraw-Hill, 1992.

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

Barile; S. Razin; J. G. Tully and R.F. During the period of 1972 -1990. Gourlay, R. N. y C. J. Howard. 1979. Cornell Vet. 82:29. 8. Bovine mycoplasmas. En Whitcomb (ed.). p.49-102 The Mycoplasmas, Vol 2. Academic Press, New York.

BROION DR, SCHULTZ LH. Physiological and environmental factors affecting the California mastitis test under field condition. J Dairy Sci 1963;46:197.

BROWN WR, MORSE EG, NEWBOULD SHF, SLANETZ WL. Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Mastitis. Washington D.C: National Mastitis Council Inc, 1969.

Carrión, G. M. 2002. Principios básicos para el control de la mastitis y el mejoramiento de la calidad de la leche. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional de Michoacán. pp. 6-20, 55.

CARROL EJ. Environmental factors in bovine mastitis. JAVMA 1977;170,10 (2):1143-1145.

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

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

CHAVEZ AHR. Pérdidas en la producción de leche relacionadas con la mastitis subclínica en la región de Martínez de la Torre Veracruz. (tesis de licenciatura). D. F (México): Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1989.

Citti, C., A. Lischewski, K. Siebert-Gulle, and R. Rosengarten. 2000. Limitation of pulsed field gel electrophoresis analysis for the typing of *Mycoplasma bovis*, p. 46-49. In J. B. Poveda, A. Fernandez, K.-E. Johansson, and J. Frey (ed.),

Mycoplasmas of ruminants: pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics, vol. 5:. European Commission, Brussels, Belgium.

Chen, C. J., C. J. Juan, M. L. Hsu, Y. S. Lai, S. P. Lin, and S. N. Cheng. 2004. *Mycoplasma pneumoniae* infection presenting as neutropenia, thrombocytopenia, and acute hepatitis in a child. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 37:128–130.

De Oliveira, A. P., Watts, J. L., Salmon, S. A., Aarestrup, F. M. 2000. Department of Animal, Dairy and Veterinary Science, Utah State University, Logan, UT 84321, USA.

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

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

Douglas, L., Fenwick, S. G., Pfeiffer, D. U., Williamson, N. B., Holmes, C. W. 2000. Genomic typing of *Streptococcus uberis* isolates from cases of mastitis, in New Zealand dairy cows, using pulsed- Φ eld gel electrophoresis. *Veterinary Microbiology.* 75: 7- 41.

Heringstad, B., Klemetsdal, G., Ruane, J. 2000. Effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Veterinary Quarterly.* 29 (1): 18-31. 23. Selection for mastitis resistance in dairy cattle: a review with focus on the situation in the Nordic countries. *Livestock Production Science.* 64:95-106.

Ferraro L. Análisis de prevalencia de mastitis subclínica en vacas lecheras en Venezuela, mediante las pruebas de California Mastitis Test y Bacteriología. Trabajo de Ascenso. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Pp. 80. 1992.

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

Fox, L. K., J. H. Kirk, and A. Britten. 2005. Mycoplasma mastitis: A review of transmission and control. *J. Vet. Med. B, Infect. Dis. Vet. Public Health* 52:153–160.

FOSTER TL, ASHWORTH US, LUEDECKE LO. Relationship between California Mastitis Test reaction and production of milk from opposite quarter. *J Dairy Sci* 1967;50:675.

FRANK NA, POUNDEN WD. The effect of diethylstilbestrol and progesterone on the growth of four mastitis-producing bacteria. *Am J Vet Res* 1961;22:32.

Freundt, E. A. 1983. Culture media for classic mycoplasma, p. 127- 135. In: S. Razin y J. G. Tully (ed.).

Gallin, J. M. Goldstein, and R. Snyderman. 1992. *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. 2nd ed. Raven Press. New York, NY.

Gardella, R. S., R. A. Delgiudice y J. G. Tully. 1983. Immunofluorescence. En: S. Razin and Tully J.G. (ed.). *Methods in Mycoplasmaology*, p. 431- 439 Vol. 1. Academic Press Inc. New York.

GARZA RJ, RIOS ME, ARRIOLA J. Proteínas plasmáticas sanguíneas en la leche de vacas con mastitis. *Not Med Vet* 1974;74:391.

GASQUE GR, CANO CP, BAÑOS CA, FUENTES HV. Frecuencia anual de mastitis clínica y sus costos en una explotación del Valle de México. *Memorias del XVIII Congreso Nacional de Buiatría*; 1993 noviembre 11-13; México, D.F. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1993: 239-244.

GAYTAN GG. Mastitis clínica, evaluación de la frecuencia, presentación y costos durante otoño en una explotación típica del Valle de México (tesis de licenciatura). México, D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1992.

GIESECK HW. The definition of bovine mastitis and the diagnosis of its subclinical types during normal lactation. *Proceedings of the IDF seminar on mastitis control*. Reading University. Collage of Estate Management, Reading England, 1975.

Gonen, E., Nedvetzki, S., Naor, D. y Shpigel, N. Y. 2008. CD44 is highly Lactating Dairy Cattle. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. Vol. 50(9): 2912-2918. 20.

GONZALES GGA. Pérdidas en la producción de leche relacionadas con la mastitis subclínica en vacas Holstein-Friesian (tesis de licenciatura). México, D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1991.

GONZALEZ AF. Higiene de la ubre al momento del ordeño y su relación con la presentación de mastitis subclínica (tesis de licenciatura). México, D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1978.

GONZALEZ NR, CULLOR SJ, JASPER ED, FARVER BT, BUSHNELL BR,

OLIVER MN. Prevention of clinical coliform mastitis in dairy cows by a mutant *Escherichia coli* vaccine. Can J Vet Res 1989;53:301-305.

González Z. 2002. Utilidad del Recuento electrónico de células somáticas en leche de tanque para estimar calidad de leche y prevalencia de mastitis en cuatro fincas de los estados Aragua y Falcón. Tesis de Maestría. Postgrado en Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. Pp. 134.

González, R. M., P. M. Sears y R. A. Merrill. 1992. Mastitis due to mycoplasma in the state of New York, during the period of 1972 -1990. Cornell Vet. 82:29.

GRAY DM, SCHALM OW. The mastitis variable in milk yield as estimated by the California Mastitis Test. Am J Vet Res. 1962;23:541.

Green, M. J., Green, L. E., Schukken, Y. H., Bradley, A. J., Peeler, E. J., Barkema, H. W., de Haas, Y., Collis, V. J. y Medley, G. F. 2004. Somatic Cell Count Distributions During Lactation Predict Clinical Mastitis. J. DairySci. 87:1256–1264.

Harmon, R. J. 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts in: Symposium: Mastitis and genetic evaluation for somatic cell count. J. Dairy Sci. 77:2103-2112.

HELLER M, BERTHOLD E, PFUTZNER H, LEIER R, SACHSE K. Antigen capture ELISA using a monoclonal antibody for the detection of *Mycoplasma bovis* in milk. Vet Microb 1993;37:127-133.

HERNANDEZ VML. Bacterias aisladas en las pezoneras y porción distal de los pezones durante el proceso de ordeño en varios establos con ordeño mecánico localizados en la comarca lagunera (Tesis de licenciatura). México, D.F. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1979.

HILLERTON JE, BRAMLEY AJ. Carriage of *Corynebacterium pyogenes* by the cattle nuisance flies *Hydrotaea irritans* (Fallén) and *Musca autumnalis* (de geer) Vet Parasitology 1985;18:223-228.

Hillerton, J. E. y Kliem, K. E. 2002. Effective Treatment of *Streptococcus uberis* Clinical Mastitis to Minimize the Use of Antibiotics. J. Dairy Sci. 85:1009-1014.

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

HOGAN JS, SMITH KL, TODHUNTER DA. Rate on environmental mastitis in

quarters infected with *Corynebacterium bovis* and *Staphylococcus* species. J Dairy Sci 1988;71:2520-2525.

HONKANEN-BUZALSKI T, BRAMLEY AJ. Observation on *Corynebacterium bovis* infection of the bovine mammary gland. II. natural infection. J Dairy Res 1984-2;51:379-385.

HONKANEN-BUZALSKI T, GRIFFIN TK, DODD FH. Observation on *Corynebacterium bovis* infection of the bovine mammary gland. I. natural infection. J Dairy Res 1984-1;51:371-378.

Hotzel, H., K. Sachse, H. Pfitzner, B. Demuth y A. Pflitsch. 1993. Detection of *Mycoplasma bovis* using in vitro deoxyribonucleic acid amplification. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 12:581-591.

Infante Martínez F, y Aguado J, Eduard-Jasper D. Mastitis outbreak due to *Mycoplasma californicum* and *Mycoplasma canadense* in a commercial dairy herd in the state of Jalisco, México. Rev Lati am Microbiol. 1999 Jul-Sep;41(3):117-20.

Jasper, D. E. 1977. Mycoplasma and Mycoplasma Mastitis. JAVMA, Vol. 170, Nº 10 (2).

Jasper, D. E. 1979. Bovine mycoplasmal mastitis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 175:1072.

Jasper, D. E. 1981. Bovine mycoplasmal mastitis. Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 25: 121-157.

Jasper, D. E. 1982. The role of Mycoplasma in bovine mastitis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 181:158.

Jasper, D. E., J. M. Al-Aubaidi, y J. Fabricant. 1974. Isolation of Mycoplasma from preputial washings of mastitis. Cornell Vet. 64:407.

JUAREZ E, RUIZ SH, AVILA TS. Relación entre la prueba de California y los tipos de bacterias, aisladas de vacas Holstein-Friesian, del Valle de México. Memorias del VI Congreso Nacional de Buiatría; 1980 septiembre 12-14; Mérida (Yucatán) México. México, (DF) Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C. 1980..

Kehrli, M. E. and D. E. Shuster. 1994. Factors affecting milk somatic cells and their

Moore, K. 2001. Lysostaphin expresion in mammary glands confers protection against staphylococcal infection in transgenic mice. Nature Biotechnology. 19:66-70.

Kauf, A, et al., 2007. Innate Immune Response to Intramammary *Mycoplasma bovis* Infection. J. Dairy Sci. 90:3336–3348

KIRK JH, BARTLETT PC. Nonclinical *Pseudomonas aeruginosa* mastitis in a dairy herd. JAVMA 1984;184(6):671-673.

Kissi, B., S. Juhos, y L. Stipkovits. 1985. Effect of mycoplasma contamination of bull semen on fertilization. Acta. Vet. Hung. 33:107.

KUMAR DN, GARG. Isolation of mycoplasma F-38 from the milk of mastitis cows. Vet Rec 1991;128:429.

Loor, J. J., Jones, G. M. y Bailey, T. L. 2002. Aspectos básicos sobre el desarrollo de mastitis (II parte). Ganadería intensiva. Editorial Agro

LOPEZ HR. Contribución al estudio del edema de la ubre en vacas Holstein-Friesian que se encuentran bajo un sistema de explotación intensiva (Tesis de licenciatura). México, D.F. México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1981.

Ma. et al., 2000. Effects of somatic cell count on quality and shelf life of pasteurized fluid milk. J. Dairy Sci. 83:264-274.

McAuliffe L, B Kokotovic, Ayling RD, Nicholas RA. Análisis epidemiológico molecular de cepas de *Mycoplasma bovis* del Reino Unido en muestra de dos cepas genéticamente distintas. J Clin Microbiol. 2004 Oct; 42 (10) :4556-65.

Manual de Ganadería Doble Propósito, 2005. Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina. pag,331

Manual de Ganadería Doble Propósito. 2005 Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina / 333

Martinez, G., Harel, J., Higgins, R., Lacouture, S., Daignault, D. Mastitis and genetic evaluation for somatic cell count. J. Dairy Sci. 77:2103-2112.

Medina, R. J. 2002. Prevalencia e identificación de agentes etiológicos causantes de mastitis en el Municipio de Vista Hermosa, Michoacán. (Tesis de licenciatura). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Morelia, Michoacán, México 39-41 y 83.

Miranda mre, Lopez rm, Garcia so, Oviedo bg. Bacterias asociadas a la mastitis bovina, Estudio Recapitulativo. Memorias del XVIII Congreso Nacional de Buiatría; 1993 noviembre 11-13; Mexico, D.F.

Morin, D. E. 2004. Acute mastitis: revisiting the goals of therapy. 23rd World Buiatrics Congress. Québec, Canada. July 11-16.

MORSE GE, PLATANOV I. Basic studies of bovine mastitis, the role of the tit canal as a barrier to infection with *Streptococcus agalactiae*. J Dairy Sci 1964;47:196.

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

NATIONAL MASTITIS COUNCIL: Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Mastitis. Washington, D.C: NMC, Inc. 1979. Nature 227:6680-685.

Nicholas, R. A., and R. D. Ayling. 2003. *Mycoplasma bovis*: Disease, diagnosis, and control. Res. Vet. Sci. 74:105–112.

NESTOR KE, HEMKEN RW, HARMON RJ. Influence of sodium chloride and potassium bicarbonate on udder edema and selected blood parameters. J Dairy Sci 1988;71(2):36-372.

NICKERSON SC, HEALD WC. Histopathologic Response of the bovine mammary gland to experimentally induced *Staphylococcus aureus* infection. Am J Vet Res 1981;42(8):1351-1335.

NOMURA T, MORIYA H, KIKUCHI N, HIRAMUNE T. Cápsular type of Klebsiella associated with mastitis in Japan. Jap J Vet Sci 1989;51(6):1287-1289.

OLIVER PS, HORTON AK, NICKERSON CS. Adherence of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* to bovine mammary aprenchymal cells. J Dairy Sci 1987;70(1):259.

OLIVER SP, BUSHE T. Etiological Agents of Bovine Mastitis. Vet Microb. 1988;16(1):41-46.

[Olde Riekerink RG](#), [Barkema HW](#), [Veenstra S](#), [Poole DE](#), [Dingwell RT](#), [Keefe GP](#). Prevalence of contagious mastitis pathogens in bulk tank milk in Prince Edward Island. [Can Vet J](#). 2006 Jun; 47(6):567-72.

Omueti, K., 2005. Domain exchange between human Toll-like receptors 1 and 6 reveals a region required for lipopeptide discrimination. J. Biol. Chem. 280:36616–36625.

PEREZ DM, CASTILLO RF, CAMPOS RV, MURILLO SE. Análisis de la leche. Métodos físico-químicos para el diagnóstico de la mastitis subclínica. Fascículo 1. Técnica y productos Agropecuarios Texcoco.1982.

PEREZ JA, VAZQUEZ JR.: Procedimientos para laboratorio para bacteriología

y micología veterinarias. México: UNAM-FMVZ, 1987.

Pfutzner H. 1984. Die *Mycoplasma bovis* infection des rindes. Mh. Vet. Med. 39: 217-220.

Philpot WN, Nickerson SN. Mastitis: Counter Attack. Babson Bros. Co., Naperville, IL. 150 pp. 2000.

POCIEECHA JZ. Influence of *Corynebacterium bovis* on constituents of milk and dynamics of mastitis. Vet Rec 1989;125(25):628.

PORRAS AA. Aislamiento de Prototheca en un brote de mastitis bovina. Vet Mex 1994; 25 1).Pract. 9(3):421-559. 1993.

Riffon R, Sayasith K, Khalil H, Dubreuil P, Drolet M, 2001. Development of a rapid and sensitive test for identification of major pathogens in bovine mastitis by PCR. J Clin Microbiol. 2001 Jul;39(7):2584-9.

Riollet, C., P. Rainard, and B. Poutrel. 2000. Differential induction of complement fragment C5a and inflammatory cytokines during intramammary infections with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 7:161–167.

Rivera el, Pérez f. Diferentes pérdidas económicas por mastitis en un establo lechero. Memorias del X Congreso Nacional de Buiatría. Acapulco, (Guerrero) México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1984:211-213.

Rothbaver d I, Buchner e c, Well sj. Effect of vaccination with *E. coli* on the incidence of acute mastitis. The bov pract 1988; 23:112-115.

Rosengarten, R., and C. Citti. 1999. The role of ruminant mycoplasma in systemic infection, p. 14-17. In L. Stipkovits, R. Rosengarten, and J. Frey (ed.), *Mycoplasmas of ruminants: pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics*, vol. 3. European Commission, Brussels, Belgium.

Sanchez i, Rosell r. Principales fuentes de infección de micobacterias atípicas en unidades bovinas. Rev J Cub.Cie Vet 1983;14(1):29-33.

Scaramelli AM. Mastitis Bovina: Aspectos relativos al diagnóstico a través de Métodos Indirectos y el Cultivo Microbiológico. Trabajo de ascenso. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Cuerpos I. Pp 213. 1999.

Scaramelli AM. Mastitis Bovina: Aspectos relativos al diagnóstico a través de Métodos Indirectos y el Cultivo Microbiológico. Cuerpo II. Diagnóstico microbiológico de la mastitis bovina -Manual Práctico-Trabajo de ascenso.

Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. Pp 207. 1999.

SHAH NM, KHER NH, DHOLAKIA MP, SIMARIA MB. Studies on *Staphylococci* in udder of cattle. Indian Vet J 1985; 62:458-460.

SCHULTZE D, BRASSO BW. Characterization and identification of *Mycobacterium smegmatis* in bovine mastitis. Am J Vet Res 1987;48(5):739-742.

Seya, T., and M. Matsumoto. 2002. A lipoprotein family from *Mycoplasma fermentans* confers host immune activation through Toll-like receptor 2. Int. J. Biochem. Cell Biol. 34:901–906.

Shim, E. H., R. D. Shanks, and D. E. Morin. 2004. Milk loss and treatment costs associated with two treatment protocols for clinical mastitis in dairy cows. J. Dairy Sci. 87:2702-2708.

SMITH ER, HAGSTAD VH. Infection of the bovine udder with coagulase-negative *Staphylococci*. Prev Vet Med 1986;4:35-43.

SORDILLO M, OLIVER SP, DOANE RM. Duration of experimentally induced *Coynebacterium bovis* colonization of bovine mammary glands during the lactating, non lactating and peripartum periods. Am J Vet Res 1989;50(2).

SUMANO LH, OCAMPO CL. Farmacología Veterinaria. México: McGraw-Hill, 1991.

TODHUNTER D, SMITH LK, HOGAN SJ. Growth of gram negative bacteria in dry cow secretion. J Dairy Sci 1990;73:363-372.

Universidad de Caldas; IV Seminario Internacional en Reproducción y Metabolismo en Bovinos con Énfasis en Sanidad Mamaria; agosto 28 y 29 de 2003. WIKIPEDIA La Célula Somática.

Valde, J. P., L. G. Lawson, A. Lindberg, J. F. Agger, H. Saloniemi, and O. Osteras. 2004. Cumulative risk of bovine mastitis treatments in Denmark, Finland, Norway and Sweden. Acta Vet. Scand. 45:201-210.

WACKIE PD, POLLACK AD, RODGERS PS, LOGAN FE. Phage typing of *Staphylococcus aureus* associated with subclinical bovine mastitis. J Dairy Res 1987;54:1-5.

WATSON ED. Specific antibody in milk whey and phagocytosis of *Actynomices pyogenes* by neutophils in vitro. Rec Vet Sci 1989;47(2): 253-256.

Watts J. 1988. Etiological agents of bovine mastitis, Vet. Microbiol.16:41-66.

WATTS LH, NAIDU SA, WADSTROM WT. Collagen Binding, Elastase production and slime production associated with coagulase-negative *Staphylococci* isolated from bovine intramammary infections. *J Clin Microb.* 1990; 28(3):580-583.

YAÑEZ RBM, RUIZ SH, AVILA TS, GARZA RJ. Sensibilidad a la prueba de california, cuenta de células somáticas, tasa de albúmina sérica y número de unidades formadoras de colonias para detectar mastitis subclínica en el ganado bovino lechero. Memorias del VI Congreso Nacional de Buiatría; 1980 septiembre 12-14; Mérida (Yucatán) México.

Riffon R, Sayasith K, Khalil H, Dubreuil P, Drolet M, Lagacé J. Development of a rapid and sensitive test for identification of major pathogens in bovine mastitis by PCR. J Clin Microbiol. 20 Jul;39(7):2584-9.

Olde Riekerink RG, Barkema HW, Veenstra S, Poole DE, Dingwell RT, Keefe GP. Prevalence of contagious mastitis pathogens in bulk tank milk in Prince Edward Island. Can Vet J. 2006 Jun;47(6):567-72.