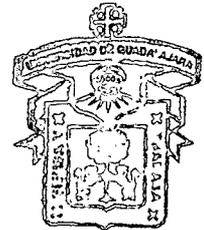


UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y SENSIBILIDAD A
ANTIMICROBIANOS DE GERMESES PATOGENOS EN VA-
CAS CON MASTITIS CLINICA; EN EL MUNICIPIO DE
JALOSTOTITLAN, JAL.

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

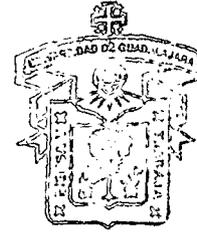
P R E S E N T A

CARMINA VARELA CASTANEDA.

ASESOR M.V.Z. MINERVA SOTO ROSALES.

GUADALAJARA, JALISCO JULIO 1987.

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

I N D I C E

CONTENIDO	PAGINA
INTRODUCCIÓN -----	1
OBJETIVOS -----	10
MATERIAL Y METODOS -----	11
RESULTADOS -----	15
DISCUSION -----	25
CONCLUSIONES -----	28
RESUMEN -----	29
BIBLIOGRAFIA -----	30

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

AISLAMIENTO, IDENTIFICACION Y SENSIBILIDAD
A ANTIMICROBIANOS DE GERMENES PATOGENOS EN
VACAS CON MASTITIS CLINICA; EN EL MUNICI--
PIO DE JALOSTOTITLAN, JAL.

INTRODUCCION

El término mastitis se refiere a la inflamación de la glándula mamaria sea cual sea su causa. Este término se deriva del griego Mastós, mama e itis, que denota un proceso inflamatorio (5).

Las causas que desencadenan el proceso de inflamación pueden ser: FISICAS: pisadas, golpes, heridas y otro tipo de lesiones, ordeño deficiente tanto manual como mecánico, secado deficiente al final de la lactancia, uso de sondas no esterilizadas para descargar, implementos de ordeño, especialmente pezoneras no lavadas ni desinfectadas, también se puede producir como secuela por la cirugía que se practica en el esfínter al final de la tetilla para abrir más su conducto (9,23).

QUIMICAS: Térmicas y casi siempre bacteriológicas de la leche y por modificaciones patológicas del tejido glandular (8).

Entre las anomalías más importantes de la leche cabe mencionar, cambio de color y presencia de coagulos y un gran número de leucocitos. La respuesta inflamatoria consiste en un incremento de las proteínas de la sangre y los leucocitos en el tejido mamario y la leche. La finalidad de la respuesta inflamatoria es destruir o neutralizar el irritante, reparar los daños de los tejidos y hacer que la ubre regrese al funcionamiento normal (1).

CARACTERISTICAS GENERALES DE LA MASTITIS

ETIOLOGIA:

Dentro de estas causas bacterianas muchas son a consecuencia directa del mal manejo e higiene de la ordeña, se pueden citar múltiples casos en los cuales se han presentado mastitis (18).

En realidad, no son las bacterias por sí mismas, sino más bien sus toxinas, las que producen la respuesta inflamatoria. La inflamación persistente, produce daños en los tejidos y el reemplazamiento de células secretoras de la ubre con tejido conectivo no productivo (de cicatrización), esta pérdida de tejido reduce la producción de leche (1).

Cabe mencionar que se pueden encontrar bacterias saprofiticas -- comensales en algunas glándulas mamarias " normales " .

Otras bacterias patógenas son:

Streptococcus uberis, Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus - - Zooepidemicus, Streptococcus faecalis, Streptococcus agalactiae Streptococcus infrequens, Streptococcus lactis, Streptococcus pneumoniae; la mayoría pertenecen a los grupos C, D, E, G, L, N y O de la clasificación de Lancefield. Se ha reportado al Streptococcus pyogenes del grupo A, que por ser parásito humano; se supone que éste contaminó la ubre (23).

Staphylococcus aureus, Staphylococcus albus, Staphylococcus citreus, Staphylococcus epidermidis (2.25).

Escherichia coli, Corynebacterium pyogenes, Corynebacterium ulcerans, Klebsiella Sp., Enterobacter aerogenes, Mycobacterium bovis, -- Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium lacticola, Mycobacterium fortuitum, Bacillus cereus, Pasteurella multocida, Pasteurella hemolytica Pseudomona aureginosa, Pseudomona pyocyaneus, Fusobacterium necrophorum, Bacterioides funduliformis, Serratia marcescens, Mycoplasma bovis, Mycoplasma canadensis, Mycoplasma bovigenitalum, Mycoplasma alkalescens, Mycoplasma arginini, Mycoplasma dispar, Mycoplasma agalactiae, -- Acholeplasma laidlawii, Nocardia asteroides, Nocardia braziliensis, -- Nocardia fasciatus, Brucella abortus, Diplococcus pneumoniae, Citrobacter Sp., Clostridium perfringens, Listeria monocytogenes, Proteus vulgaris, Alcaligenes faecalis, Leptospira Sp., Cloxiella burneti (-- Rickettsia). Las infecciones micóticas incluyen Trichosporum Sp., Aspergillus fumigatus, Aspergillus nidulans, Criptococcus neoformans, -- Histoplasma capsulatum, Pichia Sp., además de infecciones por levaduras como Candida Sp., Saccharomyces, Torulopsis Sp.

Las infecciones por algas incluyen, Prototheca trispora, Prototheca zoopfi, Actinomyces bovis, Actinobacillus lignieresii.

Infecciones por virus de la fiebre aftosa, Virus de la Estomatitis Vesicular, Virus de la Viruela Bovina (2,4,8,10,18,21,23,25).

CLASIFICACION DE MASTITIS

En base a su:

Agente etiológico:	Físicos, Químicos, Térmicos, Bacterias Hongos, Algas y Virus.
Duración:	Subaguda, Aguda y Crónica.
Exudado:	Serosa, Catarral, Necrótica, Gangrenosa, Hemorrágica.
Sintomático:	Subclínica, Clínica. (1,2,4,8).

La infección de la glándula mamaria ocurre siempre siguiendo la vía del conducto glandular. Se presentan tres etapas para la aparición de la mastitis, las cuales son:

Invasión.- En esta etapa los microorganismos pasan del exterior de la ubre a la leche que se encuentra en el conducto glandular.

Infección.- Aquí se multiplican los gérmenes e invaden el tejido mamario.

Inflamación.- Dada por la irritación que provocan los gérmenes, en esta etapa aparece la mastitis clínica y aumenta la cuenta leucocitaria en la leche ordeñada.

De estas tres fases, la de prevención de la invasión, brinda las mejores perspectivas para disminuir la frecuencia de mastitis; por tratamiento adecuado sobre todo, mediante el uso de métodos higiénicos convenientes (2,4,8).

Según la resistencia del tejido mamario y de la virulencia de las bacterias invasoras, pueden observarse todos los grados de variación en los signos desde el comienzo gradual, por fibrosis pasando por inflamación aguda sin reacción general, a toxemia grave con signos generales manifiestos (2). Los síntomas de este padecimiento incluyen; anormalidades de la secreción, tamaño, consistencia y temperatura de la glándula mamaria, y con frecuencia, reacción general. (2).

La dilatación quística de los ductos galactóforos se presenta como resultado de un estrechamiento de los ductos debido a procesos inflamatorios crónicos, la secreción se acumula por arriba del estrechamiento, originando un quiste. En las tetas, una inflamación crónica puede dar por resultado cicatrización, estrechamiento y proliferaciones polipoides (2).

DIAGNÓSTICO DE MASTITIS

El diagnóstico de mastitis no es difícil si se efectúa una exploración clínica cuidadosa. Con frecuencia no se practica el examen de la ubre a menos que haya una indicación muy específica, sobre todo -- cuando el animal está echado. El diagnóstico de mastitis depende en gran medida de la identificación de anomalías clínicas de la leche. Otras anormalidades mamarias, entre ellas edema, congestión pasiva, rotura del ligamento suspensorio y hematomas, no suelen acompañarse de anormalidades de la leche a menos que haya hemorragia en la ubre (2).

MÉTODOS PARA REALIZAR UN DIAGNÓSTICO DE MASTITIS

PRUEBAS FÍSICAS:

- 1.- Prueba del Paño Negro.
 - 2.- Prueba del Filtro o Cedazo Metálico.
 - 3.- Prueba Platina Negra.
- (2, 10, 23).

PRUEBAS QUÍMICAS:

- 1.- Cuantificación de Cloruros.
 - 2.- Prueba de Inminodifusión Radial.
 - 3.- Medida pH. Papel Tornasol.
 - * Indicadores.
 - * Potenciómetro.
 - 4.- Prueba de Whiteside Modificada.
- (2, 10).

PRUEBAS BIOLÓGICAS:

- 1.- Prueba leucocitaria.
 - 2.- Prueba de California.
 - 3.- Prueba de Winsconsin.
 - 4.- Prueba de Hotis.
 - 5.- Prueba de Camp.
 - 6.- Diagnóstico bacteriológico - Aislamiento.
 - Cultivo.
 - Tinción.
 - Bioquímica.
 - Identificación.
- (10, 22, 23).

CONTROL DE LA MASTITIS

Los programas actuales de control de la mastitis tienen por objeto la limitación de la frecuencia de la mastitis a un nivel que se pueda lograr desde el punto de vista económico en las circunstancias particulares que existan.

Para ser eficaz, todo programa de control de la mastitis debe:

- 1.- Proporcionar una ventaja económica.
- 2.- Ser accesible a la comprensión y habilidad técnica del establero.
- 3.- Permitir su inclusión en el tratamiento general empleado.
- 4.- Alentar a los criadores, reduciendo rápidamente la frecuencia de mastitis clínica.

Para reducir la duración de la infección:

- A).- Tratar todos los cuartos de todas las vacas en periodo seco.
- B).- Tratar los casos clínicos a medida que se presenten.
- C).- Sacrificar los casos clínicos crónicos.

Para reducir el índice de infecciones nuevas:

- D).- Lavar los pezones después de cada ordeña.
- E).- Mantener en servicio adecuado la máquina de ordeña.
- F).- Lavar las copas después de cada ordeño y antes de ordeñar, enjuagar la ubre con agua corriente.

PERDIDAS ECONOMICAS

Desde hace muchos años se ha reconocido que la mastitis es la enfermedad que representa el problema más difícil de controlar, y que mayores pérdidas económicas ocasiona a la ganadería del país (18). Hay muchos costos que están escondidos y por lo general no son reconocidos sin embargo son reales, y afectan las ganancias netas del productor; -- siendo esta enfermedad el principal factor por lo cual los estableros quiebran. La mayoría de los ganaderos que dicen no tener problemas, -- por lo general no están concientes de la incidencia de esta enfermedad de su hato. Otros dirán que solo han tenido un número x de casos de -- mastitis durante el año, pero esto está basado únicamente en los síntomas clínicos que requieren tratamiento. Por lo tanto el problema mayor está en convencer a los productores que la mastitis clínica es solo -- una parte y que probablemente tengan de 40 a 50 veces más mastitis de lo que piensan (18,23). Por otra parte este problema constituye un -- serio problema de salud pública, ya que el uso incorrecto o indiscriminado de los antibióticos es evidente, y éstos contaminan la leche con niveles cada vez más elevados (23). Es imprescindible que se racionalice el uso de los antibióticos y hay que enfatizar que en relación a la mastitis, los antibióticos son solo auxiliares secundarios en su -- control (23).

Las cuantiosas pérdidas económicas causadas por esta enfermedad -- están determinadas por los siguientes factores:

- 1.- Pérdida de cantidad de leche producida.
- 2.- Alteraciones de la composición química, calidad nutritiva e higiene de la leche.
- 3.- Problemas tecnológicos de la industria lechera.
- 4.- Pérdida por eliminación prematura de animales.
- 5.- Costos de tratamiento y diagnóstico.
- 6.- Reemplazo de animales.
- 7.- Incremento de la mano de obra.

(7,14).

Por lo que se refiere a la incidencia de mastitis en las principales cuencas lecheras de México tenemos lo siguiente:

Calamanda, Qro.	2.11 %.
Celaya, Gto.	53.53 %.
Gómez Palacio, Dgo.	77.7 %.
León, Gto.	60.48 %.
Guadalajara, Jal.	10.3 %.

Según reporta el boletín de Laboratorio de Diagnóstico Dependiente de la S.A.G. (1970) (3).

Esta incidencia no ha tenido uniformidad en todos aquellos investigadores que se han abocado al estudio de esta enfermedad, y mismo -- Rivera Sánchez en 1974 reportó una incidencia de 81.10 %. En otros -- trabajos que se realizaron, como el de Vázquez Garza (1974) reportó una incidencia de 60 a 80 % (18). Fernández (1974), reportó una -- pérdida total, por vaca al año en el D.F. de \$ 771.39 (18).

La producción láctea en México tiene gran importancia económica participando con un 27.9 % en el producto interno bruto del subsector pecuario, ocupando un lugar primordial con respecto a los otros pro-- ductos de origen animal (20), García Montoya y Pérez Fernández (-- 1977), reportaron un muestreo efectuado en 9,910 vacas pertenecientes a establos en la cuenca lechera del Valle de México, una pérdida pro-- medio de 1.431 lts. diarios de leche por vaca y extrapolando estos da-- tos a las vacas que eran 176,000 las que abastecían de leche a la zona metropolitana de la ciudad de México, se encontró una pérdida aproxima-- da de 76'762,400 lts. de leche anuales.

En la actualidad se producen aproximadamente 6'746,000 de lts. a-- nuales, siendo la producción de leche de vaca de 6.475 millones de lts y de cabra 270.4 millonéz de lts. para satisfacer la demanda de una po-- blación de 66'768,000 de habitantes, dándonos un promedio de 120.4 lts. de leche de consumo per-cápita (20).

ANTECEDENTES

ASPECTOS FISIOGRAFICOS:

El municipio de Jalostotitlán se encuentra localizado en la porción media de la región de los altos del Estado, limita al norte con el municipio de Teocaltiche, al sur con el de San Miguel El Alto, al este con el de San Juan de Los Lagos y al oeste con el de Villa Obregón.

Comprende una extensión territorial de 48,144 Has. clasificadas agrológicamente en la forma siguiente:

- 530 Has. De riego.
- 7,429 Has. De Temporal y Humedad.
- 200 Has. De bosques.
- 36,185 Has. De pastizales.
- 3,800 Has. De tierras improductivas.

Su topografía presenta relieves más o menos planos, característicos de la altiplanicie central de país, las altitudes varían entre --- 1500 y 2000 metros sobre el nivel del mar, a excepción del noreste donde predominan altitudes entre 900 y 1,500 mts.

Sus recursos hidráulicos, los constituyen los ríos y arroyos de la subcuenca hidrológica " Río Grande de Belen ", perteneciente a la región hidrológica " Lerma-Chapala-Santiago " .

El clima es semiseco, con otoño, invierno y primavera secos y semicálida con invierno benigno. La temperatura media actual alcanza en promedio de 19.1°C. teniéndose registrada como extremosa una temperatura máxima de 40°C. y una mínima de -10°C.

La totalidad del municipio tiene un régimen pluviométrico inferior a los 800 mm. anuales y en promedio percibe una precipitación --- pruvial anual de 690. 9 mm.

Lo que respecta a ganadería el municipio se caracteriza por tener altas cantidades de ganado de buena calidad sobresaliendo las razas -- Holstein y Criollo. Se estima actualmente un inventario ganadero de -- aproximadamente 35,000 cabezas de las cuales dedican el 45 % a carne y el 55 % a la producción de leche.

La porcicultura es relevante ya que cuenta con más de 86,000 cerdos y el notable desarrollo se debe por una parte a la preocupación -

del productor de mejorar la calidad genética y por otra parte a las condiciones climatológicas favorables del municipio para esta actividad.

Le sigue en importancia la avicultura con más de 73,000 aves y los ovinos con 1,000 cabezas.

La importancia de su comercio se debe a la actividad ganadera e industrial, ya que su producción agrícola por ser baja, se consume en el propio municipio.

Del total de la producción de la leche, el 66 % de su valor se envía a Guadalajara, de su ganado en pie solo cerca del 69 % para su sacrificio al D.F., Guadalajara y Guanajuato.

(26).

OBJETIVOS

- 1.- Aislar e identificar los microorganismos patógenos causantes de las Mastitis Clínicas encontradas en el Municipio de Jalos totitlán, Jal.
- 2.- Establecer la Sensibilidad y Resistencia de las cepas aisladas a los antimicrobianos.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL DE VIDRIERIA:

- Frascos estériles.
- Cajas de Petri.
- Tubos de ensaye.
- Portaobjetos.
- Probeta de 100 ml.
- Matraces Erlenmeyer de 300 ml.
- Tubos de ensaye con tapón de bakelita.
- Vasos de Koplíng.
- Vasos de Precipitado.
- Pipetas de 1. a 10 ml.

MATERIAL GENERAL:

- Algodón.
- Mechero Bunsen.
- Mechero Fecher.
- Autoclave.
- Báscula.
- Estufa de incubación nivelada a 37°C.
- Refrigerador.
- Asas bacteriológicas de platino de punta redonda y recta.
- Maskin tape.
- Gradillas.
- Soporte universal.
- Tela de alambre con asbesto.
- Lápiz graso.
- Microscópio binocular con abjetivo de inmersión.
- Centrífuga.
- Paleta de plástico con cuatro compartimientos.
- Cubeta de plástico.
- Hisopos estériles.
- Aceite de inmersión.
- Iodo al 2 %.

REACTIVOS:

- Cristal violeta.
- Alcohol acetona.
- Safranina.
- Alfa naftol.
- Hidróxido de potasio al 40 %.
- ‡ Rojo de metilo.
- Reactivo de Erlich o Kovacs.
- Púrpura de bromocresol.
- Peróxido de hidrógeno.
- Rojo fenol.

MEDIOS DE CULTIVO:

- Agar gelosa sangre.
- Agar verde brillante.
- Agar Mc. Conkey.
- Caldo nutritivo.
- Caldo infusión corazón cerebro.
- Mueller Hinton.
- - TSI, triple azúcar hierro.
- Citrato de Simmons.
- MIO, motilidad, indol, ornitina.
- LIA, agar, hierro, lisina.
- RM-VP, rojo de metilo-voges Proskauer.

AZUCARES:

- Sorbitol.
- Manitol.
- Salicilina.
- Lactosa.
- Raffinosa.
- Inulina.
- Ramnosa.
- Maltosa.
- Glucosa.
- Trealosa.
- Sucrosa.

MATERIAL BIOLÓGICO:

- 50 muestras de leche problema.
- Sangre de conejo y borrego.
- Plasma humano.
- Sensidiscos con sales de antibióticos, para gérmenes gram positivos como negativos.

METODOLOGIA

Se tomaron 50 muestras de leche en establos rústicos de Jalostitlán, Jal., tomando como porcentaje el 10% de las vacas enfermas de cada establo, así como el 1% de vacas testigo, encontrándose como promedio de 45 a 60 vacas por establo.

La leche fué recolectada de la siguiente manera:

Se procedió a desinfectar la ubre y el pezón con una solución de iodo al 2% y se dejó que actuara 5 minutos. Posteriormente se desecharon los primeros chorros de leche y se recolectó en frascos estériles tomando aproximadamente 20 ml., por muestra. Ahí mismo en el establo se practicó la prueba de California.

Después fueron llevados al laboratorio en una caja de poliuretano al Depto. de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnica de la Universidad de Guadalajara.

En dicho departamento, se separó la leche en tubos de ensaye estériles con el fin de que al tomar el pH no se contaminará toda la muestra. Una vez obtenido el pH, los tubos de ensaye con la leche problema se pasaron a centrifugar a una velocidad de 6,000 RPM durante 10 minutos. Se separó la grasa, se decantó la leche y con el sedimento se procedió a hacer una siembra de un caldo enriquecido con Infusión-Corazón Cerebro, se dejó incubado durante 24 hrs., a una temperatura de 37°C., si no se presentó crecimiento bacteriano, se reincubaron las muestras por 24 horas más.

Después de la siembra se procedió a hacer un frotis con el sedimento sobrante, para hacer una tinción de Giemsa, para realizar el recuento leucocitario.

Después de las 24 hrs. en las cuales se incubó y hubo proliferación bacteriana, en el caldo de enriquecimiento, se procedió a sembrar en medio sólidos; Verde Brillante, Mc. Conkey, Gelosa Sangre por agotamiento de asa y se dejaron incubando 24 hs., a una temperatura de - -

37°C., ya que se observó si existía presencia de colonias bacterianas se practicó tinción de gram, a partir de Gelosa Sangre, para la identificación de las bacterias gram positivas.

Posteriormente se realizaron pruebas bioquímicas mediante la utilización de azúcares (Sorbitol, Manitol, Salicilina, Lactosa, Raffinosa, Inulina, Ramonosa, Maltosa, Glucosa, Trealosa, Sucrosa), para la identificación de ESTREPTOCOCOS, ESTAPHYLOCOCCUS, BACILLOS GRAM positivos.

A partir de Verde Brillante y Mc. Conkey se realizaron también - pruebas bioquímicas a través de medios de cultivo como (TSI, Citrato de Simmons, MIO, LIA, RM-VP), para la identificación de enterobacterias.

Una vez hecha la identificación de los microorganismos, se hizo otra siembra de Caldo Nutritivo, para obtener cepas jóvenes de las colonias ya anteriormente identificadas, y con el fin de realizar una siembra a partir de Mueller-Hinton, procediendo a sembrarla con un hisopo estéril impregnado del cultivo, e incubándolo a 37°C. por 24 hs. Después se obtuvieron los resultados basandose en el área de inhibición de crecimiento bacteriano ante la presencia del antibiótico, tomándose en base Resistencia Total y Sensibilidad Total.

RESULTADOS

Se trabajaron un total de 50 muestras, de las cuales 36 fueron tomadas a partir de vacas con síntomas de mastitis clínica y de 14 aparentemente sanas.

La prueba de California realizada en el establo, en 39 vacas - nos indicó que la mayor incidencia de mastitis se encontraba entre el 1ro. y 3er. grupo, dando una positividad de +, ++, +++, según la clasificación de la prueba de California (CTM). En 11 animales -- que fluctuaban entre el 4to., 5to. y 6to. parto presentaron una positividad ++, a +++ dando un 8.3 % aproximadamente, solo se obtuvo un caso con máxima positividad ++++ .

(Gráfica No. 1).

Por lo que respecta al pH, se obtuvo un mínimo de 5.65 y un máximo de 7.07, en las muestras problemas oscilando un porcentaje mayor en 12 casos con 6.644 y 8 casos con 6.786, siendo un pH muy cercano al neutro (Gráfica No. 2).

El pH de las muestras testigo osciló entre 5.72 a 7.07 presentándose un porcentaje mayor en 5 casos con 6.665 y 2 casos con 7.07 la mayoría de éstas obtuvieron un pH similar a la de las muestras - problema (Gráfica No. 3).

En el recuento leucocitario se obtuvo lectura de 500,000 cel.-ml. la menor y la mayor de 2'000,000 cel/ml., encontrándose el mayor número de casos entre 500,000 a 1'375,000 cel/ml. (Gráfica No. 4). De las células observadas para el recuento leucocitario las de mayor porcentaje fueron los eosinófilos, siguiéndoles en orden decreciente monocitos, neutrófilos, basófilos, (Gráfica No. 5).

Por lo que respecta al aislamiento de bacterias se presentaron variaciones encontrándose:

De 35 muestras - Enterobacterias, siendo un 70 %.

De 21 muestras - Bacterias gram positivas, correspondiendo a un 42 % (Tabla No. 1).

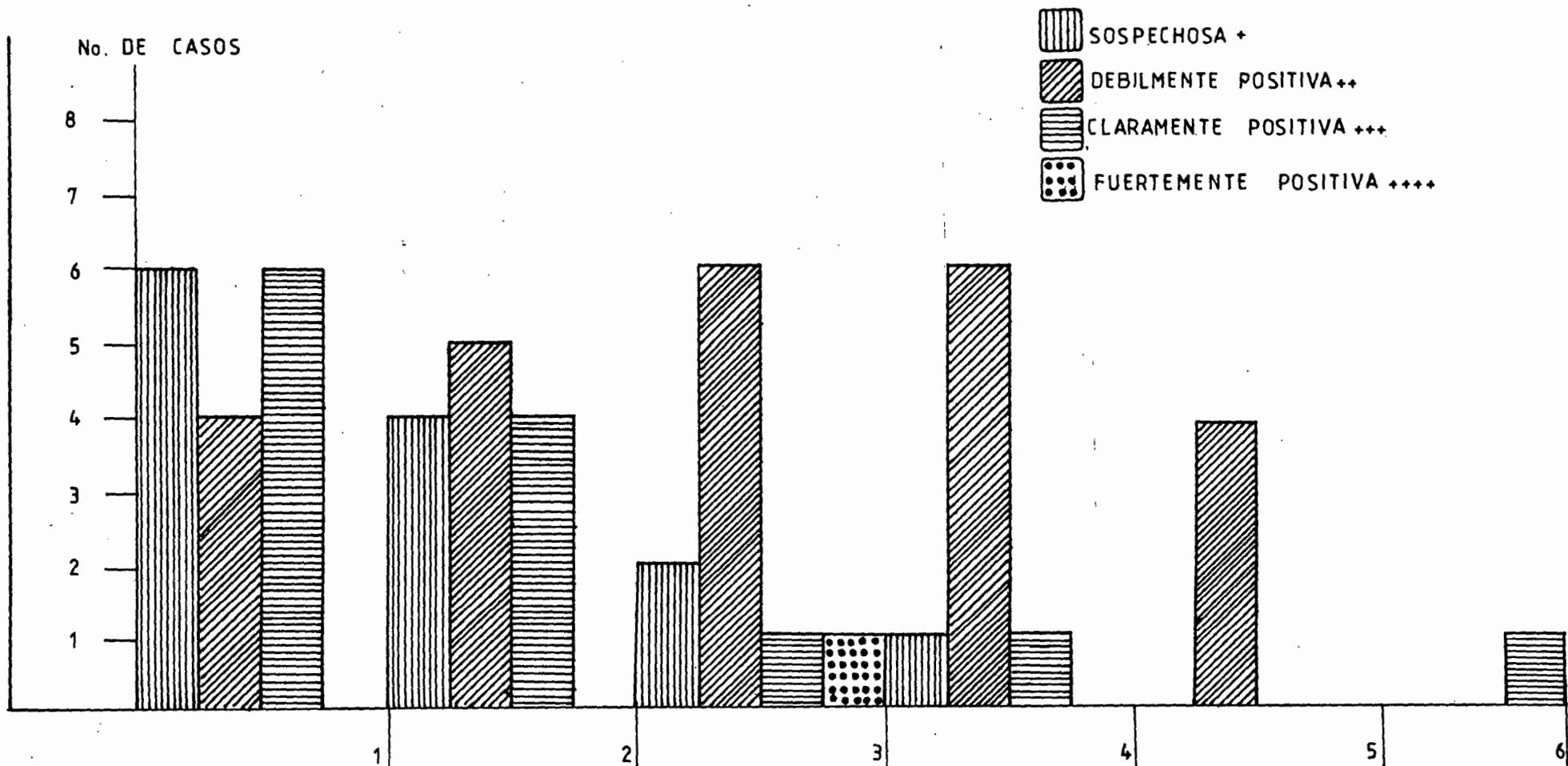
En las muestras trabajadas, los resultados hacia la Resistencia o sensibilidad a algún antibiótico se describe en la tabla 2 y 3.

TABLA No. 1	
MICROORGANISMOS AISLADOS EN LAS MUESTRAS PROBLEMA	
ENTEROBACTERIAS	%
<i>Enterobacter agglomerans</i>	20
<i>Escherichia coli</i>	12
<i>Salmonella arizona</i>	10
<i>Citrobacter diversus</i>	8
<i>Enterobacter aerogenes</i>	4
<i>Escherichia vulneris</i>	4
<i>Klebsiella oxitoca</i>	4
<i>Shigella sonnei</i>	4
<i>Salmonella pullorum</i>	2
<i>Citrobacter freundii</i>	2
	<hr/> 70
BACTERIAS GRAM POSITIVAS	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	6
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2
<i>Streptococcus faecalis</i>	2
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	2
<i>Staphylococcus saprofiticus</i>	22
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	8
	<hr/> 42

TABLA No. 2		
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD PARA BACTERIAS GRAM NEGATIVAS		
<u>ANTIBIOTICO</u>	<u>RESISTENCIA</u>	<u>SENSIBILIDAD</u>
Ampicilina	100 %	0 %
Carbencilina	95 %	5 %
Cefalosporina	85 %	15 %
Furadantina	80 %	20 %
Cefotaxima	80 %	20 %
Tetraciclina	80 %	20 %
Sulfametoxazol-Trimetropin	80 %	20 %
Acido Nalidixico	60 %	40 %
Cloranfencicol	55 %	45 %
Amikacina	45 %	55 %
Gentamicina	45 %	55 %
Colimicina	35 %	65 %
Vease gráfica No. 6		

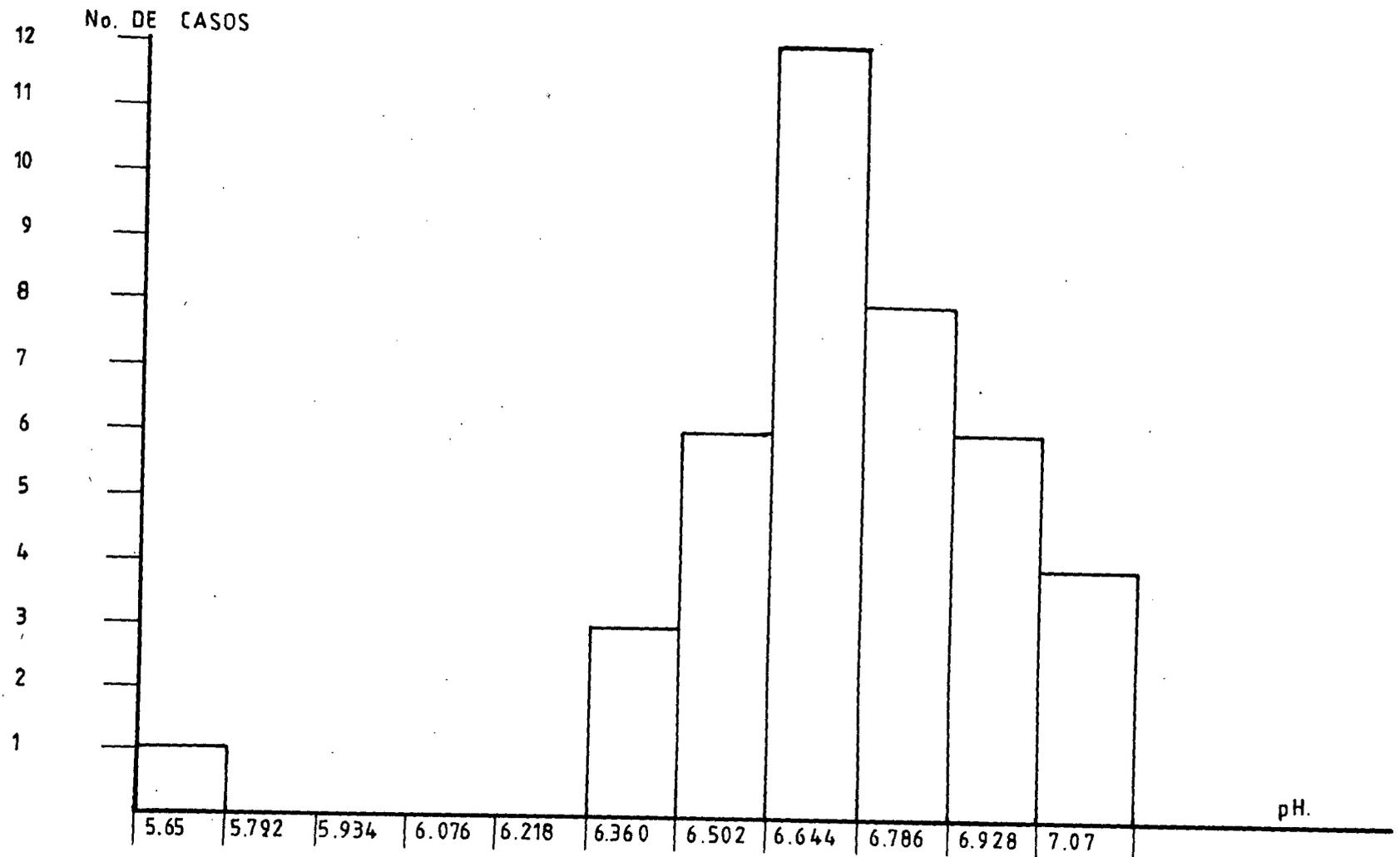
TABLA No. 3		
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD PARA BACTERIAS GRAM POSITIVAS		
<u>ANTIBIOTICO</u>	<u>RESISTENCIA</u>	<u>SENSIBILIDAD</u>
<i>Tetraciclina</i>	15.3 %	84.6 %
<i>Kanamicina</i>	15.3 %	84.6 %
<i>Gentamicina</i>	15.3 %	84.6 %
<i>Cefotaxima</i>	38.4 %	61.5 %
<i>Sulfametoxazol-Trimetropin</i>	61.5 %	38.4 %
<i>Estreptomicina</i>	76.9 %	23.07%
<i>Cefalosporina</i>	84.6 %	15.3 %
<i>Penicilina</i>	84.6 %	15.3 %
<i>Lincomicina</i>	84.6 %	15.3 %
<i>Ampicilina</i>	84.6 %	15.3 %
<i>Eritromicina</i>	84.6 %	15.3 %
<i>Vease gráfica No. 7</i>		

RESULTADO DE LA PRUEBA DE CALIFORNIA (CMT) EFECTUADA
A NIVEL ESTABLO EN EL MPIO. DE JALOSTOTITLAN, JAL.



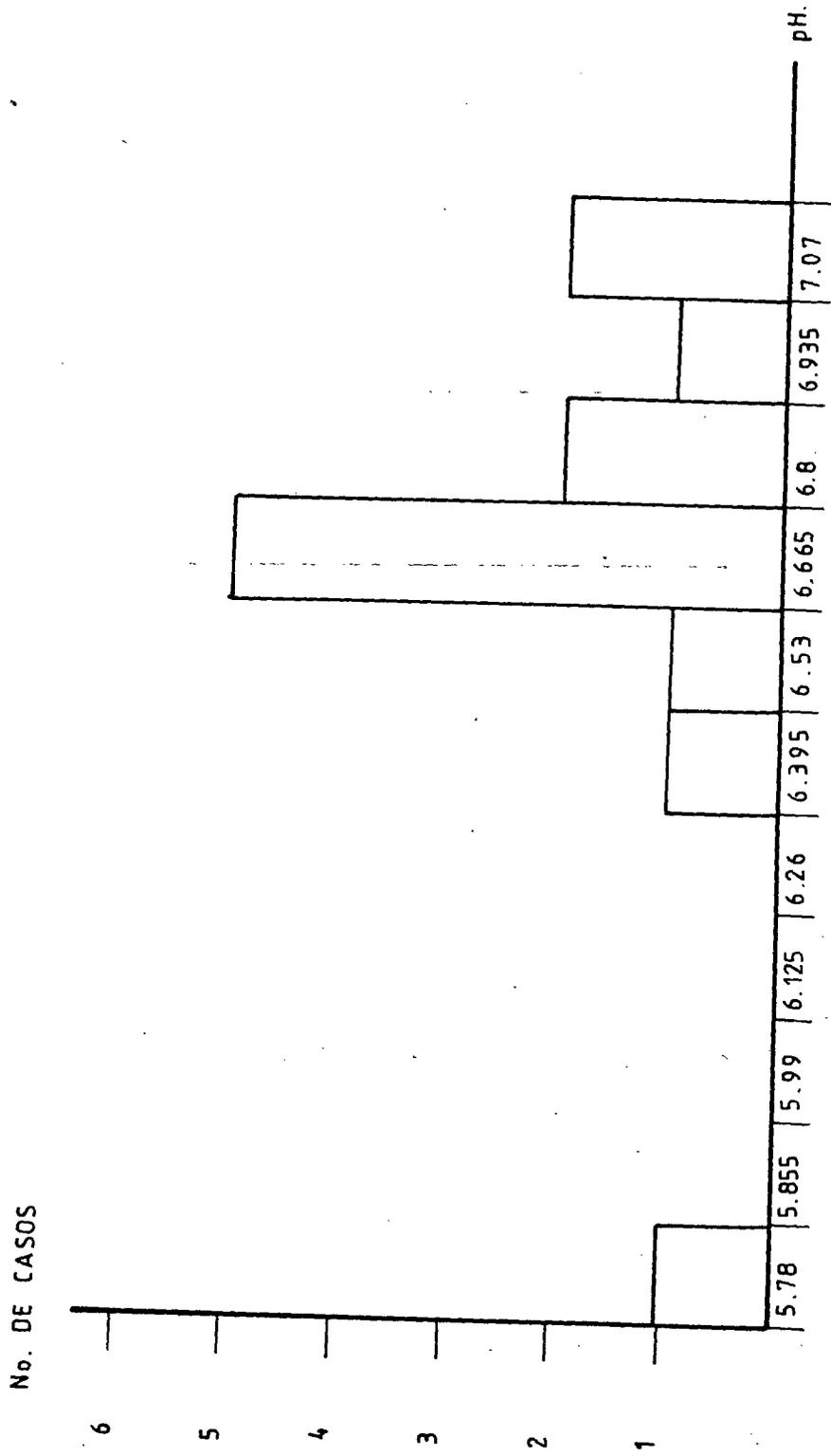
GRAFICA 1

pH. OBTENIDO DE LAS MUESTRAS PROBLEMA



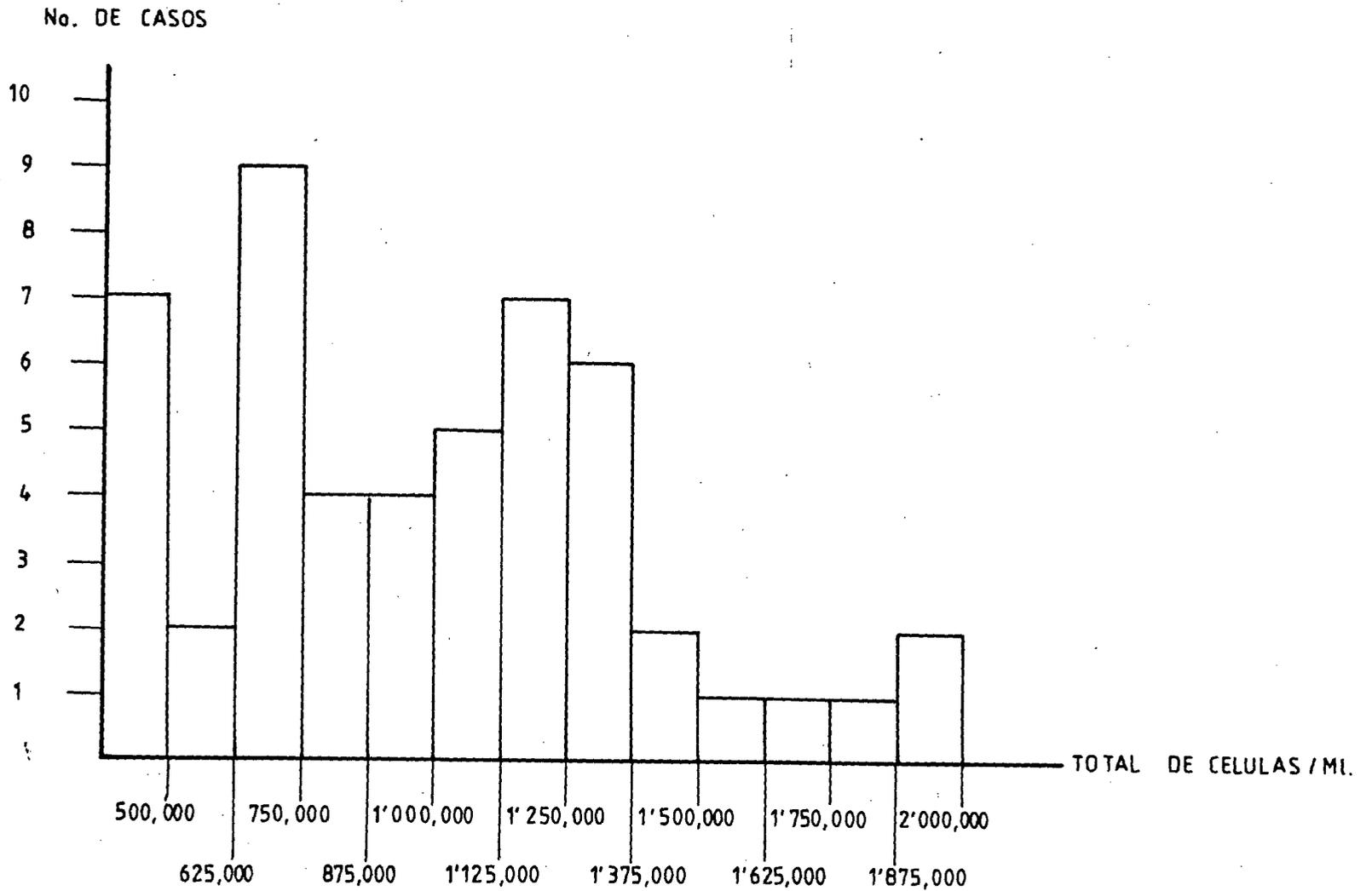
GRAFICA 2

PH. OBTENIDO DE LAS MUESTRAS TESTIGO



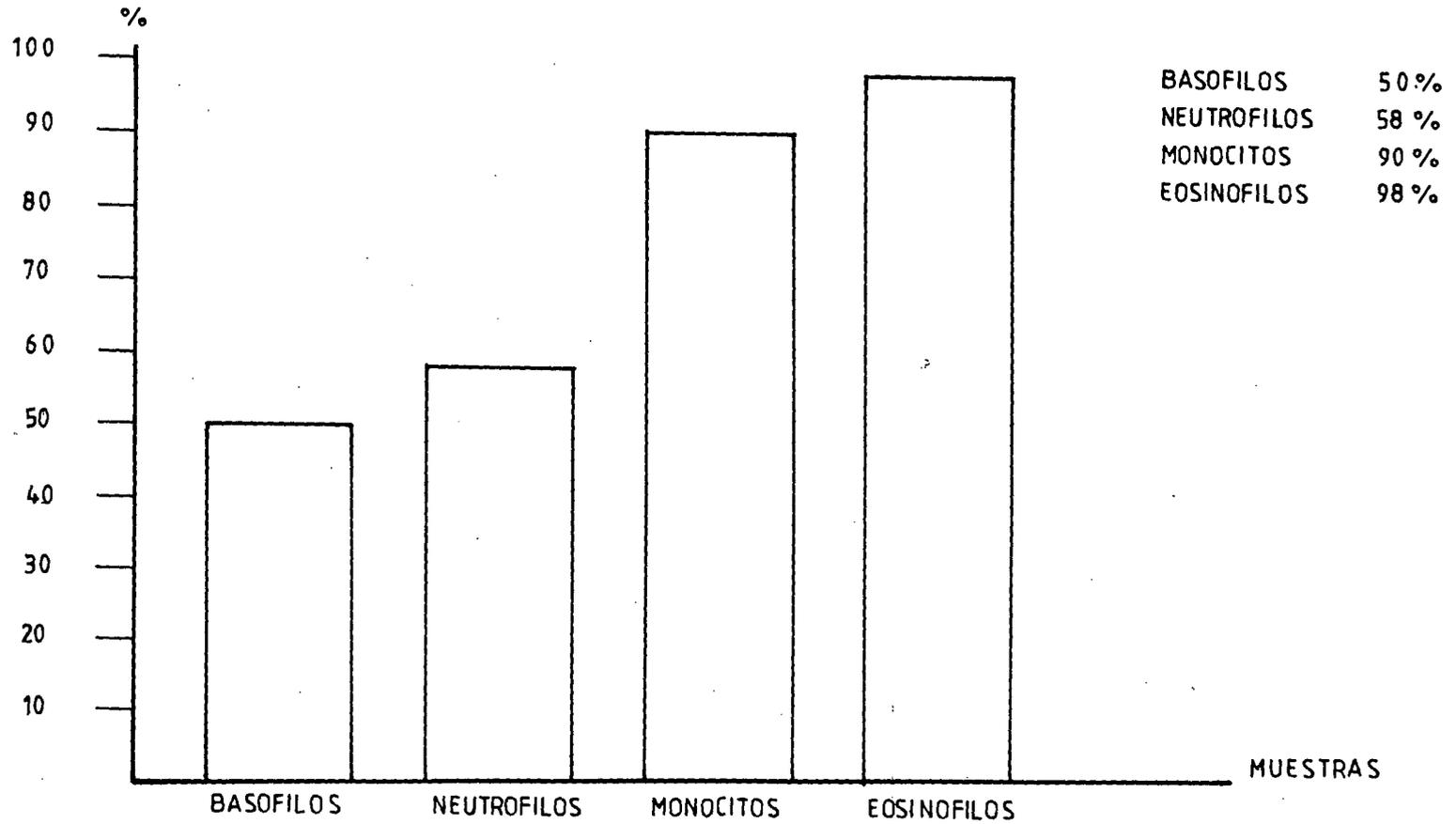
GRAFICA 3

NUMERO DE CELULAS LEUCITARIAS POR MI. ENCONTRADO EN LAS MUESTRAS DE LECHE OBSERVADAS



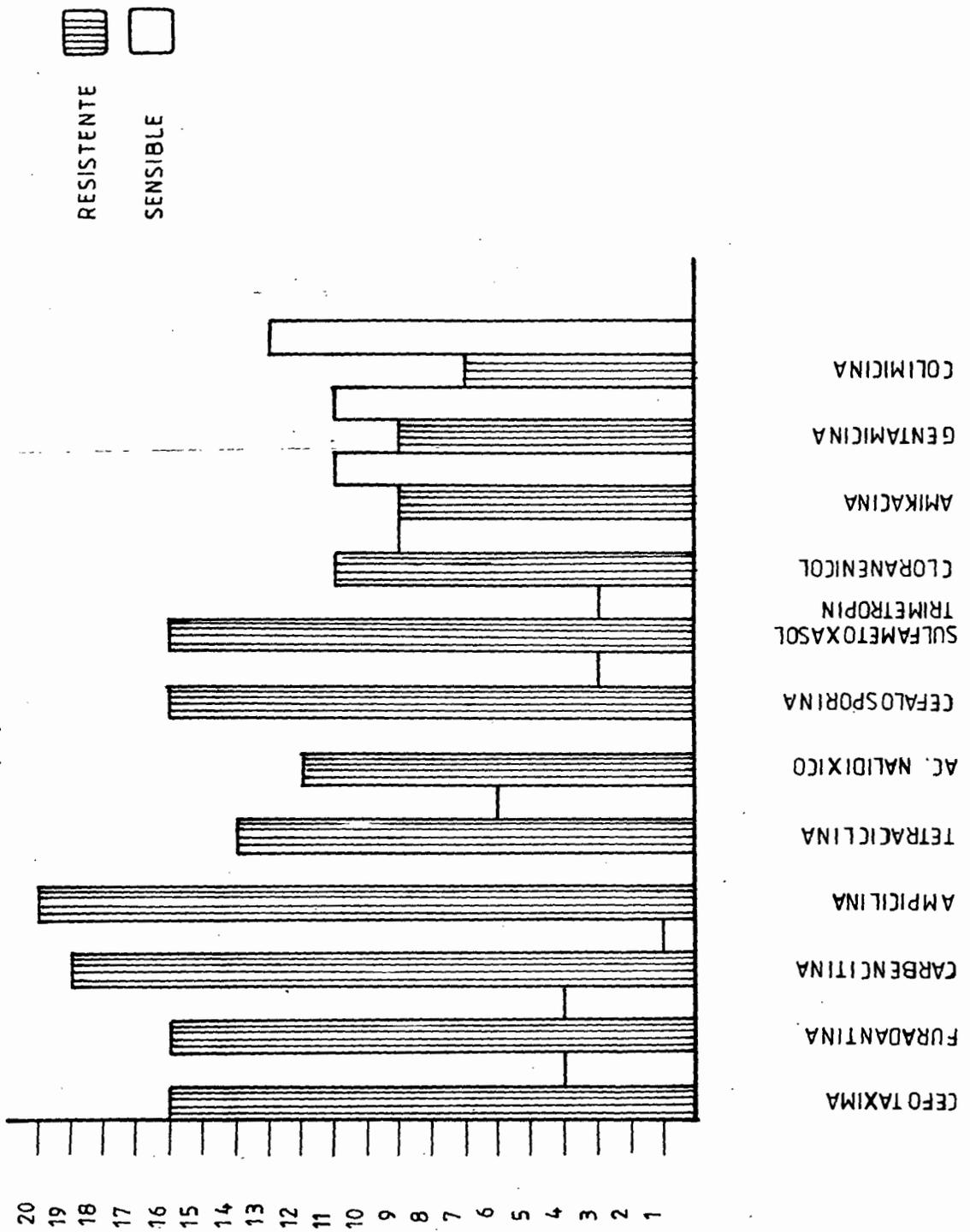
GRAFICA 4

PORCENTAJE DE CELULAS LEUCOCITARIAS ENCONTRADAS
EN LAS MUESTRAS PROBLEMA



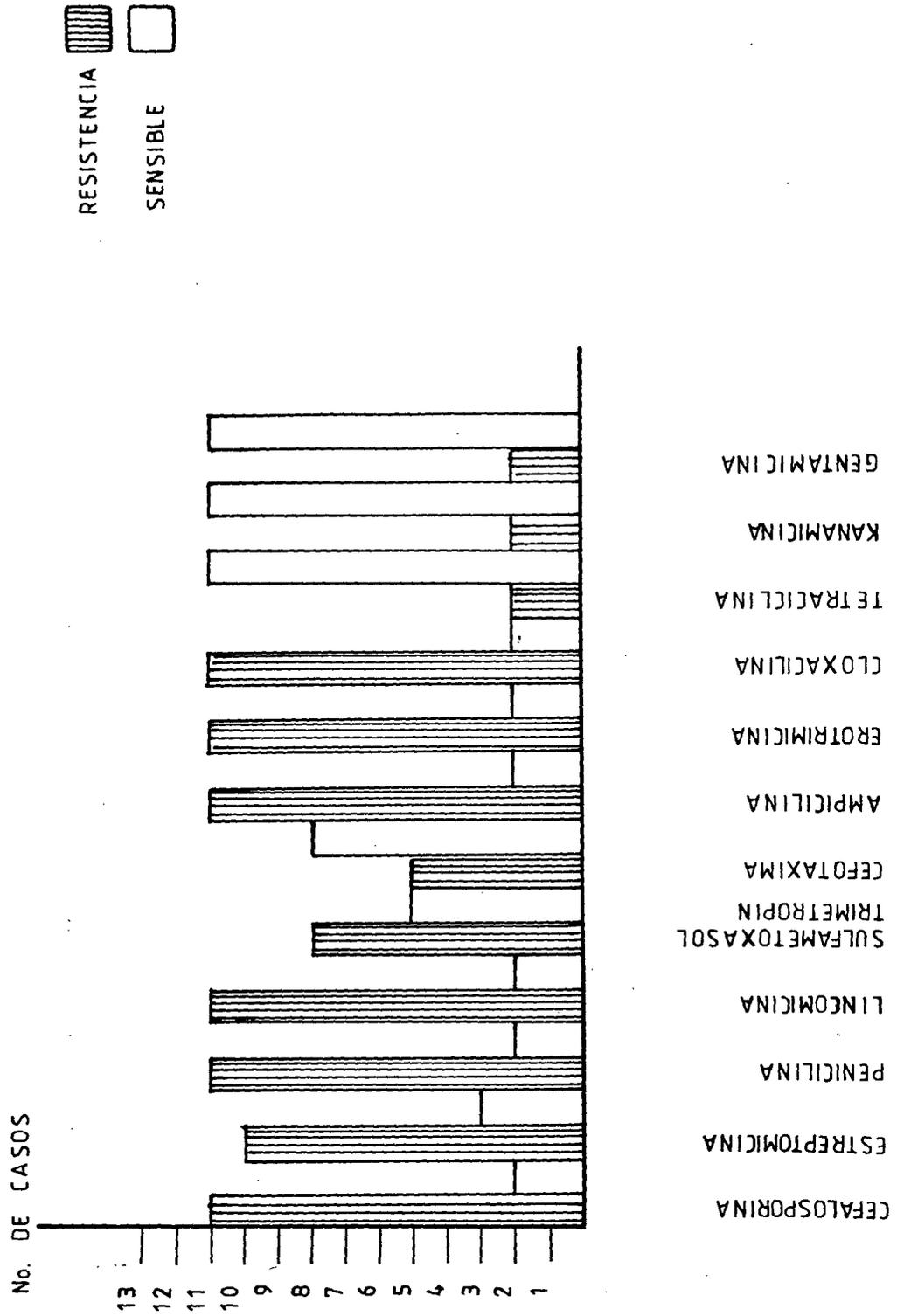
GRAFICA 5

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS
 PARA GERMENES GRAM (-) AISLADOS



GRAFICA 6

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD Y RESTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS
 PARA GERMESES GRAM (+) AISLADOS



DISCUSION

Tomando en cuenta los resultados de las muestras que se procesaron en el presente trabajo, la prueba de California, la cual es una de las más utilizadas en nuestro medio; se obtuvo variaciones en relación a las muestras testigo puesto que nos presentó negativo los resultados al momento de ejecutar dicha prueba, dándolo como positivo a la siembra. Esto puede ser debido a que el reactivo de púrpura de bromocresol, hubiera tenido algún tiempo de preparado.

En varios estudios realizados con anterioridad, se encontró que la incidencia de mastitis se encuentra entre el 1er y 5to. parto (19). En esta prueba se detectó un alto índice de mastitis entre el primero y tercer parto, por lo que se refiere a los demás partos, se presentó una disminución. Pudiendo ser esto debido a que entre más edad y partos tengan, menos producción de leche habrá, así como las características de la leche, ya no son tan óptimas para una infección repentina. También puede ser que el mecanismo de defensa está altamente capacitado para intervenir ante dichas infecciones.

El valor normal de pH fluctua entre 6.6 y 7.5, siendo éste un compuesto muy rico en nutrientes como: proteína, carbohidratos, lípidos, por lo cual su descomposición es más rápida. En raras ocasiones, señalan algunos autores que la bacteria Streptococcus agalactiae produce una leche ácida al transformar la lactosa en ácido láctico (19).

En las muestras testigo el pH fluctuó entre 5.72 y 7.07 presentándose con mayor incidencia de 6.665 y 7.07. Esto puede ser debido a la variación de la reacción normal de la leche, se haya una reacción alcalina, con disminución del grado de acidez en alteraciones inflamatorias de la mama, incluso a pesar de no haber alteraciones físicas en la glándula, y hay reacción ácida en toda leche normal tras largo reposo en la de 1 a 3 semanas antes del parto y en el calostro (24).

El recuento leucocitario guarda estrecha relación con los valores aproximados establecidos en relación a la prueba de California, ya que por medio de la formación del gel se puede calcular el número de células blancas aproximadamente.

Estudios realizados comparativamente en leches con elevadas cantidades de leucocitos corresponden a un proceso de mastitis, aunque puede ser indicativo de otros cambios fisiológicos o patológicos por ejemplo: presencia de leche colostrál, enfermedades infecciosas que afectan el organismo de la vaca. Se considera también que una leche normal contiene de 200,000 a 500,000 cel/ml. y si exceden ya se considera una leche anormal (12).

Al realizar este conteo se obtuvo un elevado porcentaje de Eosinófilos, siguiéndolo monocitos neutrófilos y basófilos. Estas células blancas actúan ante la presencia de una reacción inmunológica, ejercen su función cuando dejan el torrente circulatorio y penetran al tejido afectado, éstos intervienen de alguna manera en los fenómenos anafilácticos, tanto en los tejidos que son sitios de regiones alérgicas como en la sangre de los animales que sufren alergia e inflamación (13, 16).

Por lo que respecta a los gérmenes aislados, según reportado -- por Nai (1957), es muy grande la variedad de géneros que están involucrados en los procesos de mastitis, señalando este autor que los más frecuentes son Pseudomonas, Escherichia coli, Aerobacter, Staphylococcus aureus, Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus uberis y otros Bstreptococos (19). En nuestro trabajo los gérmenes aislados en la leche problema, fueron el 70% de enterobacterias, sobresaliendo en mayor porcentaje el Enterobacter agglomerans. siguiéndole Escherichia coli y Salmonella. En lo que se refiere a las bacterias gram positivas, se obtuvieron un 30 % de Staphylococcus sobresaliendo Staphylococcus saprofiticus y Staphylococcus epidermidis. De Streptococos se lograron aislar en un 12 % obteniéndose en mayor número Streptococcus agalactiae.

En cuanto a los antibióticos empleados para el tratamiento de las mastitis, se puede citar que existen en el mercado una gran varie -

dad de ellos, los cuales se usan en forma indiscriminada por el ganadero, provocando que los gérmenes adquieran resistencia ante dichos antibióticos, ya que como se ha informado, los compran sin tener conocimiento de cómo actúan y sin saber que tipo de germen está proliferando en la ubre, ya que solo se guían porque en otra ocasión dió resultado el tratamiento o también porque es el más barato.

Simertskii (27), en su trabajo sobre sensibilidad de antibióticos a Staphylococcus en mastitis, encontró que el 100% de 96 cepas de este microorganismo fueron sensibles a Eritromicina y 94% a Penicilina, seguido por Neomicina y Novoviocina, 58 % fueron resistentes a Oleandomicina (27).

En los resultados obtenidos en el presente trabajo se puede observar que existe gran resistencia a Ampicilina 100 %, y siguiéndole en orden decreciente la Carbencilina Cefalosporina, Sulfamotaxazol - Trimetropin, Cefotaxima, Furadantina.

Se obtuvo mayor porcentaje de sensibilidad con la Colimicina, - siguiéndole Gentamicina.

En los gérmenes gram positivos se encuentra resistencia a Cefalosporina, Penicilina, Lincomicina, Ampicilina, Eritromicina, Cloxacilina, y sensibilidad a Tetraciclina, Kanamicina y Gentamicina.

CONCLUSIONES

- De los resultados obtenidos, la mayor positividad a la prueba de California fué entre el 1ro;-3er. parto.
- En pH osciló entre 6.44 y 7.86, tanto de las muestras problema como las muestras testigo, siendo un pH cercano al neutro.
- Por lo que respecta al recuento leucocitario se obtuvo un rango de 500,000 a 1'375,000 células por mililitro.
- De las bacterias aisladas, se encontraron un 70 % de bacterias gram negativas y un 42 % de bacterias gram positivas. De las 50 muestras trabajadas, en trece de las mismas se encontraron presentes 2 o 3 -- gérmenes, tanto gram positivos como gram negativos.
- De estas bacterias, predominaron las bacterias gram negativas: Enterobacter agglomerans 20 %, Escherichia coli 12 %, Salmonella arizona 10 %. En las bacterias gram positivas predominó Staphylococcus saprofiticus 22 % y Streptococcus agalactiae con un 6%. Dando como resultado que las bacterias citadas en la literatura, siguen predominando; pero en este trabajo se encuentran en menor porcentaje y aumentando en un número mayor las Enterobacterias.
- Los antibióticos a los que las bacterias aisladas presentaron mayor resistencia, fueron: Ampicilina 100 %, Carbencilina 95 %, Cefalosporina Cloxacilina, Eritromicina, Lincomicina 85 %, Furadantina 80 %, Estreptomicina 77 %.
- Una mayor sensibilidad se observó en: Gentamicina, Tetraciclina, Kanamicina 85 %, Colimicina 65 %, Amikacina 55 %.

RESUMEN

La elaboración de este trabajo se realizó en el municipio de Jalostotitlán, Jal., y en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara, tomando al azar 14 establos rústicos, muestreando solamente el 10 % del total de vacas clínicamente enfermas y 1 % de muestras testigo.

Se realizó la prueba de California en cada establo para detectar el problema, posteriormente se recolectaron las muestras en frascos estériles y fueron llevados al laboratorio de Bacteriología en cajas de poliuretano con refrigerantes, una vez ahí se procedió a la toma de pH. Se centrifugó las muestras, se separó la grasa y se decantó el sobrenadante y del sedimento se hizo una simbra a partir de Caldo Nutritivo agregándole Infusión Corazón Cerebro para enriquecer el medio, posteriormente se realizó con el mismo sedimento la tinción de Giemsa para el recuento leucocitario.

Dejando 24 horas en incubación el Caldo Nutritivo, se realizó la siembra en medios sólidos de Gelosa Sangre, Mc Conkey y Verde Brillante incubándolos por 24 hrs. a una temperatura de 37°C. Una vez identificadas las colonias se procedió a hacer la tinción de gram a partir de Gelosa Sangre y pruebas bioquímicas a partir de Verde Brillante y Mc Conkey, incubándolos a 37°C. por 24 hrs., interpretando los resultados y clasificando el tipo de Enterobacterias encontradas. También se realizaron pruebas bioquímicas a partir de azúcares para la identificación de las bacterias gram positivas.

Después se obtuvieron cepas jóvenes sembrándolas en Caldo Nutritivo, para proceder a la prueba de sensibilidad de dichos gérmenes, realizándose mediante un hisopo estéril impregnándolo del crecimiento bacteriano joven y colocando el disco con los diferentes antibióticos en un medio de agar Mueller-Hinton, dejándose incubar por 24 hrs. a 37°C., dando lectura transcurrido este tiempo, interpretando los resultados como resistentes (R) o sensibles (S), según el área de inhibición alrededor de cada antibiótico respectivamente.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Bath D.L., Dickinson F.N.
GANADO LECHERO / D.L. Bath, F.N. Dickinson
México 1982, Segunda Edición, Ed. Interamericana.
Págs. 357, 358, 359, 360.
- 2.- Blood D.C., Henderson J.A.
MEDICINA VETERINARIA / D.C. Blood, J.A. Henderson
México 1985, Sexta Edición, Ed. Interamericana.
Págs. 378, 388, 391, 396, 401, 403, 405, 406, 491, 494, 495, 496, 497 -
498, 499, 500, 525, 526.
- 3.- Bush B.M.
MANUAL DE LABORATORIO DE ANALISIS CLINICOS / B.M. Bush.
España 1982, Ed. Acribia.
Págs. 144, 154.
- 4.- Carter G.R., Charles C. Thomas.
PROCEDIMIENTO DE DIAGNOSTICO EN BACTERIOLOGIA Y MICOLOGIA -
VETERINARIA / G.R. Carter, Thomas C. Charles.
Zaragoza 1980, Ed. Acribia..
Págs. 24, 32, 34, 38, 44, 45, 80, 81, 82, 84.
- 5.- Ensminger E.M.
ZOOTECNIA GENERAL / M.E. Ensminger.
Argentina 1973, Ed. Ateneo.
Pág. 434.
- 6.- Etgen William M., Reaves Paul.
GANADO LECHERO, ALIMENTACION Y ADMINISTRACION / M. William.
Etgen, Paul Reaves.
México 1985, Ed. Limusa.
Pág. 302.

- 7.- Revista M.V.Z.
EVALUACION DE PERDIDAS ECONOMICAS POR MASTITIS SUBCLINICA DE TECTADA EN LA PRUEBA DE CALIFORNIA (CTM) DURANTE 20 PRUEBAS REALIZADAS UNA CADA MES / M.V.Z. Revista.
México 1982, Vol. IV, No. 14.
Págs. 1, 6.

- 8.- Foley A.C., Bath D.L.
EL GANADO LECHERO, PRINCIPIOS PRACTICOS, PROBLEMAS Y BENEFICIOS / A.C.C. Foley, D.L. Bath.
1982, Ed. Interamericana.
Págs. 358, 359, 360.

- 9.- Frandson R.P.
ANATOMIA Y FISIOLOGIA DE LOS ANIMALES DOMESTICOS / R.P. Frandson.
México 1976, Segunda Edición, Ed. Interamericana.
Pág. 367.

- 10.- Frappe Muciño Rene César.
MANUAL DE INFECTOLOGIA VETERINARIA, ENFERMEDADES BACTERIANAS Y MICOTICAS / César René Frappe Muciño.
México 1986, Tercera Edición, Editor Méndez Oteo.
Págs. 113, 115, 116, 119, 122, 123.

- 11.- García Montoya E.J., Pérez Fernández L.F.
PERDIDAS ECONOMICAS POR MASTITIS SUBCLINICA, EN EL VALLE DE MEXICO / E.J. García Montoya, L.F. Pérez Fernández.
Bovínorama 1974, Vol. No. 22.
Págs. 21, 22.

- 12.- Gil Munguía Herlinda.
PRUEBA COMPARATIVA DE EFECTIVIDAD DE LA CALIFORNIA MASTITIS
TES (CTM) PARA DIAGNOSTICO DE MASTITIS SUBCLINICA / Her-
linda Gil Munguía.
Tesis Profesional F.M.V.Z.
Guadalajara, Jal., 1975.
- 13.- Ham Arthur.
TRATADO DE HISTOLOGIA / Arthur Ham.
México 1975, Ed. Interamericana.
Págs. 235, 236, 238, 245, 247.
- 14.- Dr. Heinrich Von Baer.
XIX CURSO REGIONAL DE CAPACITACION LECHERA.
Laboratorio de Microbiología de la Leche.
Instituto Tecnológico de la Leche.
México, Octubre 1973.
- 15.- Heidrich J.H., Renk W.
ENFERMEDADES DE LAS GLANDULAS MAMARIAS EN LOS ANIMALES DOMES-
TICOS / J.H. Heidrich, W. Renk.
Ed. Labor S.A. 1969.
Págs. 167, 169, 172.
- 16.- Maxine M. Benjamin.
MANUAL DE PATOLOGIA CLINICA DE VETERINARIA / Benjamin M. ---
Maxine.
México 1984, Primera Edición, Editorial Limusa.
- 17.- Marek-Mocsy.
DIAGNOSTICO CLINICO DE LAS ENFERMEDADES INTERNAS DE LOS ANI-
MALES DOMESTICOS / Marek, Mocsy.
Ed. Labor
Págs. 459, 460.

- 18.- MEMORIAS DEL PRIMER CURSO DE ACTUALIZACION SOBRE MASTITIS -
BOVINA.
México 1982, U.N.A.M.
Págs. 1, 5, 10, 13, 14, 21, 30, 33, 41.
- 19.- MEMORIAS DEL CURSO DE MASTITIS BOVINA.
MEXICO 1982, U.N.A.M.
División de Estudios de Postgrado.
Págs. 3, 13, 24.
- 20.- MEMORIAS DEL PRIMER CURSO DE ACTUALIZACION SOBRE MASTITIS -
BOVINA.
México 1981, U.N.A.M.
División de Estudios Superiores.
- 21.- Merchant I.A., Packer R.A.
BACTERIOLOGIA Y VIROLOGIA VETERINARIA / I.A. Merchant, R.A.
Packer.
España 1975, Tercera Edición, Ed. Acribia.
Págs. 222, 232, 242, 248, 263, 287, 290, 291, 330, 350, 385,
453, 546.
- 22.- MEXICO HOLSTEIN / Revista del Ganado Lechero.
FUNCION DE LAS CELULAS SOMATICAS EN LA LECHE.
México, Sept. 1985, Vol. 16 No. 9.
Págs. 58, 62, 63, 64.
- 23.- Pérez Domínguez Marcelo.
MANUAL SOBRE GANADO PRODUCTOR DE LECHE / Marcelo Pérez D.
México 1981, Primera Edición, Ed. Diana.
Págs. 698, 700, 710, 711, 718.

- 24.- Pérez Gavilán Jorge, Pérez Gavilán José.
BIOQUIMICA Y MICROBIOLOGIA DE LA LECHE / José y Jorge Pérez G.
México 1984, Ed. Limusa.
Pág. 131.
- 25.- Runnels R.S., Nonlux W.S.
PRINCIPIOS DE PATOLOGIA VETERINARIA / A.R. Runnells, W.S. Monlux
México 1982, Primera Edición, Ed. C.E.C.S.A.
Págs. 670, 671, 672, 673.
- 26.- S.P.P. / I.N.E.G.I. (Secretaría de Programación y Presupuesto, -
Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática), --
Dirección Regional de Occidente.
ASPECTOS FISIOGRAFICOS DEL MUNICIPIO DE JALOSTOTITLAN, JAL. 1984.
- 27.- Trigo Pérez Miguel.
SENSIBILIDAD DE OCHO ANTIMICROBIANOS Y UN NITROFURANO IN-VITRO -
EN MASTITIS BOVINA / Miguel Trigo Pérez..
Tesis Profesional F.M.V.Z.
Guadalajara, Jal., 1972.