

MASTITIS BOVINA: GENERALIDADES Y MÉTODOS DE DIAGNOSTICO

Fernández Bolaños, Omar Fernando¹, Trujillo Graffe, José Eduardo¹, Peña Cabrera, John Jaiver¹, Cerquera Gallego, Jefferson¹ y Granja Salcedo, Yury Tatiana². 2012. Revista Veterinaria REDVET 13(11).

1.-Estudiante de V año de Medicina Veterinaria Zootecnia de la Universidad de La Amazonia, Florencia, Colombia.

2.-Estudiante de Maestría en Zootecnia de la Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de la Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho', CEP: 14884-900, Jaboticabal – SP.

Contacto: fernando_mvz@hotmail.com

www.produccion-animal.com.ar

RESUMEN

La mastitis bovina es una respuesta inflamatoria de la glándula mamaria a una agresión. Ejerce un gran impacto en la producción animal, bienestar animal y la calidad de la leche producida. Se caracteriza por la entrada de células somáticas, principalmente neutrófilos polimorfonucleares, en la glándula mamaria y por un aumento en el contenido de proteasa en la leche. Esta enfermedad puede clasificarse de acuerdo al grado de la inflamación y a las lesiones locales e implicaciones sistémicas en la vaca. En términos generales; se clasifica en “Mastitis Subclínica” y “Mastitis Clínica”. Se han identificado aproximadamente 140 especies de patógenos causantes de mastitis, dentro de los primeros, los principales son *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* y *Mycoplasma* siendo el canal del pezón su principal vía de entrada a la glándula. Dentro de los métodos de detección de la mastitis bovina existen las pruebas químicas, como la prueba de conductividad eléctrica de la leche. Las pruebas biológicas, como son la prueba de California para mastitis, la prueba de Wisconsin, el diagnóstico bacteriológico por los métodos de aislamiento, cultivo, tinción, pruebas bioquímicas e identificación y el conteo de células somáticas por microscopía directa y el somaticell. Otros métodos utilizados actualmente por su rapidez y efectividad son los fluoro-opto-electrónico como el fossomatic y el counter coulter, los cuales tienen una aplicación universal y el DeLaval cell counter. La presente revisión pretende estudiar los conceptos generales de la mastitis bovina, sus diferentes agentes etiológicos, posibles tratamientos y diversos métodos de detección de la enfermedad.

INTRODUCCIÓN

La mastitis es un proceso inflamatorio de la glándula mamaria y es comúnmente una consecuencia de una infección microbiana causada por patógenos que penetran a la glándula a través del canal del pezón. Se caracteriza por diferentes cambios ya sea físicos o químicos de la glándula mamaria (Seegers et al, 2003; Zhao y Lacasse, 2008).

Es considerada una enfermedad altamente prevalente en el ganado lechero, y es una de las más importantes que afecta mundialmente la industria lechera; pues ocasiona pérdidas económicas muy fuertes a todos los productores de leche en el mundo debido a la disminución de la calidad y cantidad de leche producida y un aumento en los costos de tratamiento y servicios veterinarios, y pérdida de animales (Correa et al., 2002; Ceron-Muñoz et al., 2002; Wellenberg et al., 2002; Tomasinsig et al., 2010).

Por tal razón la importancia de este documento donde se realiza la caracterización de cada uno de los agentes causales de esta enfermedad de gran transcendencia a nivel mundial.

MASTITIS BOVINA

Varios autores han definido la mastitis, como la respuesta inflamatoria de la glándula mamaria a una agresión, (Kerr y Wellnitz, 2003; Bannerman et al., 2004; Hansen et al., 2004). Es probablemente la más costosa de las enfermedades infecciosas endémicas que afecta al ganado lechero, ejerciendo un gran impacto en la producción animal, bienestar animal y la calidad de la leche producida (Hillerton y Berry, 2005). Se caracteriza por la entrada de células somáticas, principalmente neutrófilos polimorfonucleares (PMN), a la glándula mamaria y por un aumento en el contenido de proteasa en la leche producida (Kerr y Wellnitz, 2003).

Esta enfermedad, es reconocida comúnmente por signos clínicos, elementalmente por las anomalías en la leche y la ubre. Los síntomas clínicos incluyen una disminución en la producción de leche, aumento en el número de leucocitos, composición y apariencia alterada (grumos) de la leche, fiebre, cuartos mamarios enrojecidos, hinchados e hipertérmicos (Perez et al., 2004; Hillerton y Berry, 2005). Sin embargo vacas con mastitis subclínica no muestran ninguna señal obvia de la enfermedad (Kerr y Wellnitz, 2003), y a menudo presentan una disminución en la producción de leche, un conteo elevado de leucocitos y un aumento en el contenido de bacterias en la leche (Hansen et al., 2004; Hillerton y Berry, 2005).

La mastitis bovina puede clasificarse de acuerdo al grado de la inflamación y a las lesiones locales e implicaciones sistémicas en la vaca. En términos generales; se clasifica en “Mastitis Subclínica” y “Mastitis Clínica”.

MASTITIS SUBCLÍNICA

La mastitis subclínica se caracteriza por la presencia de un microorganismo en combinación con un conteo elevado de células somáticas en leche, esta puede desarrollar fácilmente una inflamación y no tener tratamiento (Sakemi, et al., 2009; Gallegos y Moncada, 2011).

Este tipo de mastitis no presenta cambios visibles en la leche o ubre. Apenas se percibe una reducción en el rendimiento de la leche, siendo alterada su composición por la presencia de componentes inflamatorios y bacterias (Gallegos y Moncada, 2011).

Esta presentación de la enfermedad es la más persistente en el ganado lechero; Ocorre frecuentemente, y puede conducir a grandes pérdidas económicas no solo por la reducción de la producción, también por los elevados conteos de células somáticas presentes en los tanques de leche (Ariznabarreta et al., 2002). En la práctica, los casos de mastitis subclínica con frecuencia no son detectados rápidamente, o pueden incluso no ser reconocidas por el ordeñador (Wellenberg et al., 2002). Para identificar estos casos de mastitis se hace necesario las técnicas de laboratorio como la medición del conteo de células somáticas y el cultivo bacteriológico (Sixtos, 2011).

MASTITIS CLÍNICA

La mastitis clínica es definida como una anormalidad en la glándula mamaria de la vaca o la leche, que puede ser fácilmente observada (Tollersrud et al., 2000). Se caracteriza por la tumefacción o dolor en la ubre, enrojecimiento de la misma, la leche puede presentar 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, lo que reduce el rendimiento y la calidad considerablemente (Heringstad et al., 2000).

En los casos en que la inflamación de la ubre es acompañada de signos clínicos es diagnosticada entonces como mastitis clínica (Djabri et al., 2002). La mastitis clínica puede presentarse de forma aguda y se caracteriza por su aparición súbita. En la forma crónica, se presenta una infección de larga duración, con leche de apariencia anormal y/o cambios al realizar la palpación del tejido de la ubre (Schrick et al., 2001).

ETIOLOGÍA

Se han identificado aproximadamente 140 especies causantes de mastitis, que se dividen en patógenos contagiosos y ambientales; dentro de los primeros, los principales son *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* y *Mycoplasma*; siendo su principal vía de entrada es el canal del pezón (Radostits et al., 2002).

Los géneros más frecuentes de patógenos ambientales, cuyo reservorio es el ambiente donde permanecen los animales y no las glándulas mamarias infectadas, son *Streptococcus ambientales* y en menor medida los coliformes (Soca et al, 2005). Contrariamente los patógenos contagiosos, tienen su hábitat en la glándula mamaria bovina y se transmiten de ubre a ubre principalmente durante el ordeño de las vacas. Estos microorganismos se han adaptado a las condiciones de la ubre, desarrollando estrategias para evadir el sistema inmune y permanecer en la mama (Leigh et al. 1990; Almeida et al. 1999; Bradley & Green 2001; Guinane et al. 2010).

Staphylococcus aureus: (*S. aureus*) es la principal causa de infección intramamaria en los rumiantes (Mullarky et al., 2001; Zadoks et al., 2002;) por lo que se le considera el agente causal más importante y frecuente de la mastitis bovina (Sordelli et al., 2000; Tollersrud et al., 2000; Fitzgerald et al., 2001; dos Santos et al., 2002). No es un patógeno obligado de la ubre, ya que se puede encontrar también en lesiones de la piel de los pezones, en las manos de los ordeñadores, en las camas en los equipos de ordeño. (Calderón A. Rodríguez V.2008). Es una bacteria en forma de coco Gram + coagulasa positivo, coloniza las heridas de la piel y las hiperqueratosis producidas como consecuencia del ordeño en los esfínteres de los pezones (Wolter et al., 2002).

Este microorganismo vive dentro o fuera de la ubre (Rodríguez, 2002), y su carácter contagioso hace que se propague en la ganadería (si no se toman las medidas apropiadas de control), lo convierten en un agente importante en el recuento elevado de células somáticas, siendo este su gran impacto negativo en la producción y calidad de la leche (Saran y Chaffer, 2000).

Los signos varían según el tipo de mastitis causada. En caso de la mastitis subclínica son muy inespecíficos, como flóculos en la leche solo observable con la copa de fondo oscuro o reacciones positivas en la prueba de California. Con el tiempo este tipo de mastitis se convierte en crónica, detectándose mediante palpación debido a la fibrosis causada (Saran y Chaffer, 2000).

Streptococcus: Esta bacteria es el agente clásico asociado con la mastitis bovina y es altamente contagioso. Es el único representante del grupo B Lancefield (B-estreptococos) (Wolter et al., 2004). Estos son, probablemente, el segundo grupo en importancia, después del *Staphylococcus aureus*, responsable de la mastitis. Aunque el *Streptococcus agalactiae* (*S. agalactiae*), el *Streptococcus uberis* y el *Streptococcus dysgalactiae* son las especies más

frecuentemente identificadas, otra especie de estreptococos, el *Streptococcus parasanguinis*, ha sido implicado en las infecciones de la glándula mamaria (Las Heras et al., 2002).

Este grupo de agentes infecciosos son organismos catalasa negativa, que frecuentemente son aislados de la glándula mamaria bovina y de tanques de leche cruda. Crecen en cadenas en leche y en medios líquidos (Dinsmore, 2002). Es un patógeno intramamario obligado de los bovinos (Keefe et al., 2000; Estuningsih et al., 2002), donde puede sobrevivir por largos periodos de tiempo y raramente es encontrado fuera de la glándula mamaria (Dinsmore, 2002).

Las cepas del *S. agalactiae* es considerado una de las mayores causas de infecciones intramamarias bovinas. Es un patógeno contagioso de la glándula mamaria, donde puede sobrevivir por largos períodos de tiempo (Martínez et al., 2000); Según Estuningsih et al., (2002) esta bacteria es conocido mundialmente como el principal patógeno contagioso que ocasiona la mastitis subclínica bovina y puede ser tratado económicamente utilizando terapia masiva durante la lactación.

Para un patógeno intramamario obligado como este agente, la ubre es reconocida como la única fuente razonable del organismo donde se puede encontrar, y consecuentemente en la leche. Sin embargo los aislamientos son tomados comúnmente en los tanques de depósito y el ganado que no es identificado actúa como reservorio de la infección (Flacklam, 2002).

Mycoplasma: Existen varias especies de *Mycoplasma* que afectan al ganado bovino y son las siguientes: *M. bovis*, *M. alkalescens*, *M. arginini*, *M. bovis genitalum*, *M. californicum*, *M. canadense*, *M. capricolum*, *M. bovis hirnis*, *M. dispar*, Grupo bovino 7 y F – 38 y que pueden causar mastitis en vacas lecheras y el *Acholeplasma laidlawii* el cual es considerado como contaminante saprofito, especialmente en épocas lluviosas y se puede encontrar en leche de tanque frío pero no es causante de mastitis. No es patogénico (Radostits et al., 2002).

Puede alojarse en varios órganos del cuerpo, como serían, pulmones, articulaciones, oídos, ojos, cerebro, genitales y glándulas mamarias. En cuanto a la mastitis puede presentarse clínica o subclínicamente. La mastitis causada por *Mycoplasma* spp es caracterizada por una baja repentina en la calidad y producción de la leche (Butler, 2000). Esta puede tener una apariencia de agua de coco, o tener aspecto seroso amarillento con presencia de hojuelas de maíz flotando. (Aguado S, 2004).

Agentes oportunistas: Otros grupos de bacterias que provocan la mastitis son los denominados estafilococos coagulasa negativos (ECN). Estas bacterias son de elevado interés, debido a que al día de hoy son los microorganismos más frecuentemente aislados en vacas y novillas de los rebaños, y en la actualidad se consideran patógenos emergentes de la mastitis bovina (Pyörälä S. et al., 2009). Normalmente estos microorganismos se encuentran en la piel sana del pezón y en las manos del ordeñador. A menudo son denominados microorganismos oportunistas, ya que habitan zonas donde les es sencillo colonizar el canal del pezón y penetrar hasta los tejidos secretores (Mannini et al., 1999).

Hay más de 50 especies de estafilococos coagulasa negativos y quizás sea un error observar su comportamiento como grupo y no como especies individualmente. Aunque no se consideran un grupo de bacterias tan patógenas como los principales causantes de mastitis, su patogenicidad y la resistencia a tratamientos antimicrobianos varían dependiendo de la especie de ECN (Pyörälä S. et al., 2009). Las especies más comunes de ECN aisladas de mastitis bovina son *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermitis*, *Staphylococcus hyicus* y *Staphylococcus simulans*.

Especies como *S. epidermitis*, *S. saprophyticus*, *S. simulans* y *S. warneri* pertenecen a la flora bacteriana normal de la piel del pezón, mientras otras como *S. xylosum* y *S. sciuri* parecen provenir del ambiente. *S. chromogenes* puede colonizar la piel del pezón y también otros lugares del cuerpo del animal como el pelaje, la vagina y el canal de pezón (Navarro, C. 2011).

Parece ser que hay diferencias en cuanto a la patogenicidad de las distintas especies de ECN que se investigan mediante técnicas de diagnóstico molecular (Zadoks y Schukken, 2006). Taponen et al., (2009) encontraron especies con diferente susceptibilidad antimicrobiana y diversos factores de virulencia de ECN aislados de mastitis bovina.

Aunque por lo general las infecciones por ECN suelen ser leves o de tipo subclínico, se ha demostrado también que pueden causar procesos más graves y persistentes y provoca un aumento en el recuento de células somáticas y una disminución en la calidad y producción de la leche debido al daño causado al tejido mamario (Taponen S. et al., 2009).

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

El período de mayor susceptibilidad de la glándula mamaria a estos patógenos es el secado. Algunas de estas infecciones por estreptococos ambientales pueden volverse crónicas. En los casos clínicos se observan, en general, signos moderados. Los métodos de control de estos patógenos incluyen terapia de vaca seca y desinfección del pezón pre y post ordeño (Douglas et al., 2000).

Las bacterias Gram negativas *E. Coli*, *Klebsiella* spp., y *Enterobacter* spp., son habitantes normales del suelo e intestino de las vacas. Se acumulan y multiplican en la materia fecal y en la cama, pueden causar una variedad de síntomas de la enfermedad, desde una simple inflamación local, hasta severos cuadros de enfermedad y muerte (Perez et al., 2003). Una vez que las bacterias pasan el conducto del pezón durante la lactación, los mecanismos de defensa celular y humoral determinan la supervivencia de la bacteria y la duración y severidad de la infección.

Las principales levaduras causantes de mastitis son *Cryptococcus neoformans* y *Cándida albicans*. Esta mastitis se desarrolla principalmente en 80% de los casos relacionados con una terapia inmoderada de antibióticos o como consecuencia de heridas en los pezones. No existe una terapia efectiva. Las prototecas principalmente *Prototheca zopfii*, son algas sin color que se encuentran cercanas a las vacas; no tienen propiedades patógenas. En inflamaciones de la ubre pueden ser introducidas durante un tratamiento local con antibióticos especialmente cuando la punta del pezón no fue correctamente desinfectada-contaminados o almacenados por largo tiempo. La tasa de curación terapéutica para estos patógenos causantes de mastitis (levaduras, *Pseudomonas*, micoplasma, *Prototheca* etc.) es prácticamente cero, independientemente del tratamiento (McDougall et al, 2007). La curación de una vaca con mastitis por prototecas en general no es posible. Se recomienda sacrificar los animales infectados (Wolter et al., 2004).

TRATAMIENTO DE LA MASTITIS

Es muy difícil para los veterinarios determinar si los tratamientos de mastitis tienen éxito porque no hay un resultado estándar que se utilice para determinarlo (Ávila, 2010). Para la mayoría de los ganaderos, el objetivo práctico del tratamiento es producir rápidamente una reducción en los síntomas clínicos, eventualmente reducir el recuento de células somáticas (RCS), prevenir la recurrencia de nuevos casos clínicos y mantener el rendimiento esperado de leche. La interpretación de los resultados del tratamiento puede ser confusa porque la mayoría de los casos de mastitis causadas por los patógenos se presentan con signos clínicos leves o moderados. Cuando las vacas presentan casos leves de la mastitis, los signos clínicos normalmente desaparecen en 4-6 días, independiente del tratamiento. Sin embargo, la desaparición de los síntomas clínicos no siempre indica que la infección ha sido tratada con éxito. Mientras que la leche puede aparecer visualmente normal, muchos de estos casos puede simplemente haber pasado a un estado subclínico y mantener el RCS elevado. Este hecho es especialmente cierto para los patógenos Gram positivos (Hoe y Ruegg, 2006).

Las tasas de curación bacteriológica se utilizan generalmente en los estudios de investigación como el principal indicador de la eficacia del tratamiento, pero pocos ganaderos o veterinarios evalúan la desaparición de los agentes patógenos de las glándulas afectadas. La capacidad de lograr una curación bacteriológica depende del patógeno, la gravedad de caso, la variación en la respuesta inmune en las vacas, la eficacia del protocolo de tratamiento y la prontitud de iniciar el tratamiento (Hillerton y Berry, 2003). En un estudio, la curación bacteriológica fue de 7 veces más probable en los casos de mastitis que se dan por primera vez en comparación con los casos recurrentes (Pinzón- Sánchez et al., 2010).

FACTORES DE LA VACA QUE INFLUYEN EN LOS RESULTADOS DEL TRATAMIENTO

La relación entre la incidencia de infecciones intramamarias causadas por patógenos del medio ambiente y el n° de partos del ganado (o la edad) ha sido bien estudiada en los últimos 25 años (Smith et al., 1985). Las vacas más viejas tienen un mayor riesgo de tener tanto mastitis subclínica como clínica y varios estudios han indicado que las vacas de más lactaciones responden peor al tratamiento en comparación con el ganado joven.

El efecto del n° de partos debe ser considerado por los veterinarios antes de iniciar el tratamiento de mastitis; Se han encontrado tasas de curación clínica y bacteriológica del 39% para animales de primera lactación y de 26-30% para vacas multíparas (Pyorla et al., 1998; Deluyker et al., 1999). Seguidamente Sol et al., 2000, McDougall et al, 2007a & b, informaron que la curación bacteriológica después de la terapia de mastitis fue menor en las vacas multíparas.

DIFERENCIAS ENTRE PATÓGENOS

Si bien es difícil tener un análisis microbiológico de muestras de leche previo en todas las situaciones, sabemos que son muchas las bacterias que causan la mastitis y la probabilidad de curación está muy influenciada por las características del agente patógeno. Mientras que algunos casos ocasionalmente experimentan una curación espontánea, la tasa de curación terapéutica para algunos patógenos causantes de mastitis (levaduras, *Pseudomonas*, micoplasma, *Prototheca* etc.) es prácticamente cero, independientemente del tratamiento. McDougall et al, (2007) señala las diferentes tasas de curación bacteriológica dependiendo de los agentes patógenos después del tratamiento: *S. uberis* (89%, n = 488 casos); *S. Dysgalactiae* (69%, n = 32 casos); *S. aureus* (33% = 40 casos), y *SCN* (85%, n = 71).

DURACIÓN DEL TRATAMIENTO

La duración adecuada del tratamiento con antibiótico en mastitis no ha sido bien definida y varía dependiendo del agente causal. Existen evidencias que señalan que la administración prolongada de antibióticos aumenta la tasa de curación para los patógenos que tienen la capacidad de invadir el tejido secretor (*S. aureus* y algunos estreptococos del medio ambiente) (Pinzón- Sánchez et al., 2010).

MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LA MASTITIS BOVINA

Observación y palpación de la ubre

En la mastitis subclínica, la ubre de la vaca permanece aparentemente sana, la leche que produce, a simple vista, es una leche normal, pero una infección incipiente puede estar dañando el tejido glandular y provocando por lo tanto una alteración en la leche que esta produce. La infección puede provocar inflamación de uno, varios cuartos o de toda la glándula, aumento de la temperatura en el área afectada, así como enrojecimiento de la zona y dolor, estos eventos provocan que el sistema inmune del animal actúe tratando de aliviar el problema, además de lograr la mayoría de las veces mantener la infección únicamente en el área afectada sin alterar otros órganos o sistemas del animal.

Cuando se encuentran todos o alguno de los síntomas enumerados se puede interpretar como un caso de mastitis clínica, donde además se encuentran cambios importantes en la leche que produce el tejido afectado, estos cambios pueden consistir en alteración del color, aparición de grumos, coágulos sanguinolentos, coágulos con pus, o una leche más acuosa, entre otros (Pérez et al., 2005).

Pruebas químicas

Entre éstas se encuentran: la conductividad eléctrica de la leche, papel indicador de mastitis y la prueba de Whiteside. Respecto a la conductividad eléctrica CE, el procedimiento químico es muy variable y hasta cierto punto subjetivo por lo que no es recomendable como prueba única (Pérez et al., 2005).

Conductividad eléctrica de la leche

La Prueba de Conductividad Eléctrica (PCE) se ha utilizado como un indicador de la mastitis durante la última década, se basa en el aumento de conductividad eléctrica de la leche debido a su mayor contenido electrolítico especialmente iones de sodio y de cloro y se ha desarrollado como un método para monitorear el estado de la mastitis en la vaca. Se le encuentra como parte de algunos equipos de ordeño computarizados dentro de las salas de ordeño así como también en forma de medidores portátiles, lo que permite el monitoreo individual por cuarto (Medina y Montaldo, 2003).

Según Radostits en el 2002, esta técnica es importante porque mide la lesión, como es el caso del recuento celular. Sin embargo, sus limitaciones probablemente restringen su uso a vacas de producción elevada que se mantienen en rebaños pequeños, o en laboratorios con auto analizadores. Se puede emplear una combinación de la detección de mastitis subclínica tomando como base la conductividad eléctrica de la leche, la producción láctea, el número de parto y los días de lactación, como un modelo logístico de regresión como instrumento de análisis en un rebaño con una incidencia alta de mastitis subclínica. El aparato disponible que se promociona con más frecuencia, basado en la medición de la conductividad eléctrica de la leche, es un dispositivo que se sostiene con la mano y tiene una copa empotrada donde se lanzan los chorros de la leche (Radostits, 2002).



Permite la identificación de la mastitis clínica con precisión, pero en el caso de las mastitis subclínicas, la precisión es solo del 50% en comparación con los métodos estándar. Este instrumento proporciona una lectura digital del resultado de la PCE y representa una alternativa a la Prueba de California para Mastitis (CMT) como

prueba de monitoreo de la mastitis subclínica al lado de la vaca (Medina y Montaldo, 2003). Aunque a veces da como resultado un gran número de falsos positivos o de falsos negativos, por lo que no es muy confiable (Wolter et al., 2004).

PRUEBAS BIOLÓGICAS

Dentro de éstas se encuentran: la prueba de California para mastitis, prueba de Catalasa, prueba de Wisconsin, prueba de CAMP y el monitoreo de células somáticas, así como el diagnóstico bacteriológico por los métodos de aislamiento, cultivo, tinción, bioquímica e identificación (Pérez et al., 2005; Bedolla et al., 2007).

Prueba de California para Mastitis (CMT)

La Prueba de California para Mastitis (CMT, por sus siglas en inglés) ha sido empleada durante décadas y sigue siendo la prueba más utilizada a nivel de campo para el diagnóstico de mastitis en el ganado bovino lechero (Medina y Montaldo, 2003; Bedolla, 2004).

Es una prueba sencilla que es útil para detectar la mastitis subclínica por valorar groseramente el recuento de células de la leche. No proporciona un resultado numérico, sino más bien una indicación de si el recuento es elevado o bajo, por lo que todo resultado por encima de una reacción vestigial se considera sospechoso (Blowey y Edmonson, 1995). Los resultados pueden ser interpretados en cinco clases (Figura 2): desde el resultado negativo en el que la leche y el reactivo siguen siendo acuosos, hasta el recuento de células más elevado en el que la mezcla de la leche y el reactivo casi se solidifica. Esto se determina en relación a la reacción de gelificación (Tabla 1) (Bedolla, 2004).



Tabla 1. Interpretación de resultados de la Prueba de California para Mastitis

Score	Significado	Descripción De La Reacción	Interpretación (Rcs / MI)
N	Negativo	La mezcla permanece en estado líquido y homogéneo.	0-200.000
T	Trazas	Hay algo de engrosamiento. La reacción es reversible y la viscosidad observada por primera vez tiende a desaparecer.	150.000-500.000
1	Ligeramente Positivo	La mezcla espesa, pero no hay formación de gel en el medio de la paleta y la viscosidad observada tiende a persistir. La mezcla cae poco a poco.	400.000-1.500.000
2	Positivo	Gel se formará en el centro de la paleta durante el movimiento giratorio. El gel se acumula en la parte inferior de la paleta cuando el movimiento giratorio se interrumpe. Cuando se vierte la mezcla la masa gelatinosa cae y puede dejar un poco de líquido en el pocillo.	800.000-5.000.000
3	Muy Positivo	Gel se formará en el centro de la paleta y se pega en el fondo del pocillo, pero no a un lado. Cuando se vierte la mezcla, se cae sin dejar líquido detrás.	>5.000.000

Fuente: SERVET TALAVERA, 2012

La prueba consiste en el agregado de un detergente a la leche, el alquilauril sulfonato de sodio, causando la liberación del ADN de los leucocitos presentes en la ubre y este se convierte en combinación con agentes proteicos de la leche en una gelatina. A mayor presencia de células se libera una mayor concentración de ADN, por lo tanto mayor será la formación de la gelatina, traduciéndose en nuestra lectura e interpretación del resultado como el grado más elevado de inflamación (Medina y Montaldo, 2003).

Prueba de Wisconsin para Mastitis (WMT)

La Prueba de Wisconsin para Mastitis (WMT), fue diseñada para el uso en el laboratorio, y es utilizada para el conteo de células somáticas en muestras de leche fresca mezclada o leche de tanques de enfriamiento, así como para muestreo de vacas individuales. Se utiliza una solución similar a la que se emplea con la prueba de California (CMT), pero en contraste con esta última, los resultados se miden cuantitativamente dependiendo de la viscosidad (Fernández, 1997; Bedolla, 2004).

Los resultados se relacionan con la escala graduada en mililitros y su valor de células somáticas, para ello se emplea una tabla específica para la prueba (Tabla 2) (Fernández, 1997).

Tabla 2. Interpretación para prueba de Wisconsin

Wisconsin (Milímetros)	Conteo Celular Somático	Wisconsin (Milímetros)	Conteo Celular Somático
3	140.000	19	920.000
4	165.000	20	990.000
5	195.000	21	1.055.000
6	225.000	22	1.130.000
7	260.000	23	1.200.000
8	300.000	24	1.200.000
9	340.000	25	1.360.000
10	380.000	26	1.440.000
11	420.000	27	1.525.000
12	465.000	28	1.610.000
13	515.000	29	1.700.000
14	565.000	30	1.800.000
15	620.000	31	1.920.000
16	675.000	32	2.030.000
17	730.000	33	2.030.000
18	790.000	34	2.800.000
19	855.000	35	2.800.000

Adaptado de: Philpot, 2001.

PRUEBAS BACTERIOLÓGICAS

Los cultivos en laboratorio son necesarios para identificar los organismos específicos que se encuentran comprendidos en un caso clínico de mastitis y para distinguir los animales sanos de aquellos que presentan un caso subclínico. La fidelidad de los resultados de laboratorio depende de los cuidados sanitarios que se tengan durante la toma de muestras y su manipulación posterior (Pérez et al., 2005).

Al extraer muestras se deben descartar dos o tres chorros de leche y se deben asegurar que las tetas estén bien limpias y que se han frotado los extremos de las mismas durante algunos segundos con un algodón húmedo con 70% de alcohol, antes y después de recoger las muestras en un recipiente esterilizado se deben congelar hasta entregarlas al laboratorio. Los procedimientos bacteriológicos son esenciales para la selección de los agentes terapéuticos que tienen especificidad para el germen presente (Pérez et al., 2005).

Conteo de células somáticas por microscopía directa

El recuento microscópico directo de células somáticas de la leche denominado también, método óptico, si bien es de referencia, actualmente es de poca utilidad cuando se trata de un gran número de muestras y se debe trabajar con una metodología más rápida. Sin embargo, aun mantiene su utilidad para los trabajos de investigación (Saran y Chaffer, 2000).

Según Carrion, 2001. El método tradicional de recuento de células somáticas es el “recuento directo” por microscopio utilizando un agrandamiento de 500x. Es un ensayo cuantitativo de laboratorio por el cual se examinan bajo el microscopio utilizando frotis teñidos de leche problema y se cuenta el número de células somáticas. Los tanques de leche a granel con más de un millón de células por mililitro de leche, sugieren que por lo menos el 40% de las vacas de la explotación tienen mastitis.

Los recuentos de menos de un cuarto de millón, indican que no más del 10% de las vacas están clasificadas bajo el número 2 de la escala de calificación en la prueba de California. Este método es más preciso, pero también

el que consume más tiempo y requiere además equipo costoso. Sin embargo, es difícil que una persona alcance a contar más de 10 muestras por hora. Es por eso que los procedimientos directos de recuentos por microscopio deben considerarse anticuados, ya que no pueden utilizarse para analizar un gran número de muestras en poco tiempo y con alta precisión (Carrión, 2001).

Método Somaticell

Este método puede ser utilizado para analizar la leche proveniente de una o muchas vacas, se puede utilizar para el diagnóstico de la mastitis subclínica, o para realizar el programa de manejo de todo el hato durante un mes. En el caso de las muestras individuales de leche, se determina la probabilidad de la presencia de mastitis, también se analiza en la leche de tanque, la calidad de leche del hato, con ello se puede estimar el porcentaje de animales con infección de la glándula mamaria. Se utiliza un Kit con un procedimiento similar al de la prueba de Wisconsin (Figura 3).



Figura 3. Kit somaticell
Fuente: Bedolla et al., 2007

Métodos de conteo electrónico celular

Los métodos electrónicos tienen en la actualidad una aplicación universal, sobre todo en laboratorios de control lechero o dedicados al diagnóstico o investigación de la mastitis, utilizándose aparatos de recuentos celulares como el Bactoscan, Fossomatic (Foss Electric, Dinamarca) y el Counter Coulter (Coulter, Inglaterra) (Saran y Chaffer, 2000).

Método fluoro-opto-electrónico (Fossomatic) y Counter Coulter

Estos dos aparatos poseen alta correlación con la microscopía óptica, por lo que proporcionan una medida segura en el recuento de células somáticas. Sin embargo, se pueden presentar variaciones en el recuento en las mismas muestras cuando se realizan con los dos aparatos debido a la diferencia de operación de cada uno de ellos.

El Fossomatic basa su cálculo en la tinción fluorométrica del material nuclear, mientras que el Counter Coulter cuenta el número de impulsos eléctricos resultantes de las partículas que pasan entre dos electrodos (Djabri et al., 2002). Es decir, cuenta partículas de un diámetro determinado, que para el caso serían las células, pero en el rango de recuento entrarían otras partículas, aumentando ligeramente el valor en comparación con el Fossomatic (Saran y Chaffer, 2000; Bedolla, 2004).

El Fossomatic es un contador específico de ADN basado en un principio óptico de fluorescencia. Debido a que el bromuro de etidio penetra en la célula y forma un complejo fluorescente con el ADN nuclear, cada célula produce un pulso eléctrico que se amplifica y se registra (Martínez et al., 2003).

Procedimiento: Se coloca una muestra de leche de 5 ml de leche a 40° C. En el Fossomatic se tiñen las células somáticas con un colorante fluorescente para obtener una reacción solo con el ADN de las células. Es por eso que las partículas sucias y los glóbulos de los lípidos no se suman al número de las células somáticas. La muestra pasa frente a una luz especial y un detector registra cada célula somática. Entre cada muestra el aparato limpia su sistema de flujo para evitar el efecto del arrastre de una muestra a otra. Todas estas funciones son automáticas (Carrión, 2001).

DeLaval Cell Counter

Es un equipo portátil, que funciona con batería y posee un medidor óptico de células somáticas de la leche. Esto permite estudiar el estado de salud de la ubre de la vaca, también posibilita el estudio de los estándares higiénicos en la leche del tanque. El equipo utiliza cassettes los cuales succionan cantidades pequeñas de leche, ya dentro del cassette, la leche se mezcla con reactivos que llegan al núcleo de las células somáticas, lo cual permite su conteo, mediante un sensor de fluorescencia. Esto se traduce en el número de células somáticas en leche, el cual

aparece rápidamente en la pantalla del equipo. Su principio es similar al utilizado por el equipo Fossomatic y nos da datos precisos sobre el estado de salud de la ubre de la vaca lechera.

La mastitis bovina es un problema persistente de gran impacto tanto la producción animal, la salud pública y sobre todo la economía de la industria lechera. Se caracteriza por ser unas de las enfermedades más comunes, que tiene los índices de morbilidad más altos entre el ganado lechero a nivel mundial.

Los agentes contagiosos más importantes por los que se debe poner más atención son: *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* seguidos de *Streptococcus dysgalactiae*, ya que estos son los que se encuentran con mayor frecuencia en los hatos lecheros y son más difíciles de erradicar una vez ya establecidos en el hato, aunque el *Corynebacterium bovis* es común en los hatos lecheros, solo causa un ligero aumento en la cuenta de células somáticas, *Mycoplasma spp* es también altamente contagioso, pero es raro, ya que se presenta por introducción de ganado nuevo en el hato, y la importancia que van teniendo los agentes como son los denominados estafilococos coagulasa negativos (ECN). Estas bacterias son de elevado interés, debido a que al día de hoy son los microorganismos más frecuentemente aislados en vacas y novillas de los hatos lecheros.

Estos agentes, con excepción de *Mycoplasma spp* usualmente son controlados muy fácilmente con una buena higiene de la ubre, uso correcto de las maquinas ordeñadoras, inmersión de los pezones en antisépticos pos-ordeño y tratamiento de todos los cuartos y todas las vacas al momento del secado.

Por ello, es importante que en todos los sistemas de producción ganadera de leche cuente con programas de prevención, manejo, control, diagnósticos y tratamientos de la mastitis, para garantizar vacas sanas, y así, la leche que se obtenga sea de buena calidad y no represente ningún riesgo para la salud del consumidor.

Los métodos de detección de la mastitis bovina son un recurso o herramienta que permite identificar el tipo de infección ya sea de forma subclínica o clínica que puede presentarse dentro de un hato lechero, el método que se elija para determinar las pruebas será esencial para tener un diagnóstico más preciso.

BIBLIOGRAFÍA

- 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.
- Báez GJJ. 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. Pp 27-28.
- Bannerman DD, Paape MJ, Lee J, Zhao X, Hope JC, y Rainard P. 2004. Escherichia Coli and Staphylococcus aureus. Elicit Differential Innate Immune Responses Following Intramammary Infection. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology.* 11 (3): 463-472.
- Barkema, H. W., Schukken, Y. H., Lam, T. J. G. M., Beiboer, M. L., Benedictus, G., Brand, A. 1997. Management Practices Associated with the Incidence Rate of Clinical Mastitis. *J Dairy Sci.* 82:1643–1654.
- Bedolla CC, Castañeda, VH Y Wolter, W. 2007. Métodos de detección de la mastitis bovina (Methods of detection of the bovine mastitis). REDVET. Revista electrónica de Veterinaria. ISSN 1695-7504. Volumen VIII Número 9
- Bedolla CC. 2004. Métodos de detección de la mastitis bovina. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Mimeo. 8pp.
- Blowey R, y Edmonson P. 1995. Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche. *Acribia.* Zaragoza. 208 pp.
- Butler, J. A. Sicklos, S. A. Johanns, C. J. Rosenbusch, R. F. 2000. pasterization of discard mycoplasma mastitis milk used to feed calves: thermal effects on varius mycoplasma. *J. Dairy Sci.* 83: 2285-2288.
- Calderón A. Rodríguez V. (2008) Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, Vol.21, Nº.4, desde <http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/search/results>
- Carrión GM. 2001. Principios básicos para el control de la mastitis y el mejoramiento de la calidad de leche. Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Michoacán, Departamento de Recursos Naturales Programa de Apoyo a la Ganadería Regional. pp 28-30.
- Cerón F, Tonhati H, Duarte J, Oliveira J, Muñoz-Berrocal M, and Jurado-Gámez 2002 Factors affecting somatics cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. *Journal of Dairy Science.* 85:2885-2889.
- Cucarella, C., Tormo, M. A., Knecht, E., Amorena, B., Lasa, I., Foster, T. J. and Penadés, J. R. 2002. Expression of the Biofilm-Associated Protein Interferes with Host Protein Receptors of *Staphylococcus aureus* and Alters the Infective Process. *Infection and Immunity.* 70:3180 – 3186.
- Deluyker HA, ST Chester, SN van Oye. 1999. A multilocation clinical trial in lactating dairy cows affected with clinical mastitis to compare the efficacy of treatment with intramammary infusions of a lincosin/neomycin combination with an ampicillin/cloxacillin combination. *J Vet Pharm Ther* 22:274-282.
- Dinsmore, R. P. 2002. Biosecurity for mammary diseases in dairy cattle. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice.* 18(1):115-131.
- Djabri B, Barielle N, Beaudeau F, Seegers H. 2002. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta analysis. *Vet. Res.* 33:335-357.
- DVG, Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft. 2000. Leitjinien zur Bekämpfung der Mastitis als Bestandsproblem. 5.Ausfl. Verlag DVG e.V., Gießen.

- Estuningsih, S., Soedarmanto, I., Fink, K., Lammler, C., Wibawan, W. T. 2002. Studies on *Streptococcus agalactiae* isolated from bovine mastitis in Indonesia. *J. Vet. Med.* 49:185-187.
- Fernández del Río JA. 1997. Mastitis. Tema V., en: Calidad y eficiencia en la producción de leche. Manual de procedimientos para la ordeña. Virbac. Departamento técnico. pp. 13-18.
- Fitzgerald, R. J., Monday, S. R., Foster, T. J., Bohach, G. A., Hartigan, P. J., Meaney, W. J. and Smoh, C. J. 2001. Characterization of a Putative Pathogenicity Island from Bovine *Staphylococcus aureus* Encoding Multiple Superantigens. *Journal of Bacteriology.* 183:63-70.
- Flacklam, R. 2002. What happened to the Streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clinical Microbiology Reviews:* 613-630.
- Gallegos, A., Moncada, J., N. 2011. Uso De Extractos De Semillas De Cítricos Para El Control De La Mastitis Bovina.
- Hansen PJ, Soto P, y Natzke RP. 2004. Mastitis and Fertility in Cattle-Possible Involvement of Inflammation or Immune Activation in Embryonic Mortality. *American Journal of Reproductive Immunology.* 51: 294-301.
- Hanson Maureen. Mycoplasma Mastitis: It's everyone's problem. *Bovine Veterinarian*, 2001.
- Hektoen, L.; SA Odegaard, T.; Loken, S.; Larsen. 2004. Evaluation of stratification factors and score-scales in clinical trials of treatment of clinical mastitis in dairy cows. *J Vet Med A* 51:196-202.
- Heringstad, B.; Klemetsdal, G.; Ruane, J. 2000. Selection for mastitis resistance in dairy cattle: a review with focus on the situation in the Nordic countries. *Livestock Production Science.* 64:95-106.
- Hillerton JE, EA Berry. 2003. The management and treatment of environmental streptococcal mastitis. *Veterinary Clinics of N Am. Food Animal Practice* 19 157-169.
- Hillerton, JE y Berry, EA. 2005, Methods of detection of the bovine mastitis. *Journal of Applied Microbiology*, Vol. VIII, Nº 9, 2007.
- Hoe FGH, P L Ruegg. 2006. Opinions and practices of Wisconsin dairy producers about biosecurity and animal well-being. *J Dairy Sci* 89:2297-2308.
- Keefe, G. P., I. R. Dohoo, and E. Spangler. 2000. Herd prevalence and incidence of *Streptococcus agalactiae* in the dairy industry of Prince Edward Island. *J. Dairy Sci.* 80:464-470.
- Kerr DE, y Wellnitz O. 2003. Mammary Expression of News Genes to Combat Mastitis. *J Anim. Sci.* 81 (suppl.3): 38-47.
- Kirk .J. H. DVM. Mycoplasma Mastitis in Dairy Cows. Auburn University. Lloyd H. Lauerman, DVM Ph D. C. S. Roberts Veterinary. Auburn, Alabama. USA. 1994.
- Lago A, SM Godden, R Bey, P Ruegg, K Leslie, R Dingwell. 2008. Effect of Using an On-Farm Culture Based Treatment System on Antibiotic Use and Bacteriological Cure for Clinical Mastitis. Proceedings of the 47th Annual Meeting of the National Mastitis Council, New Orleans, LA, Jan 20-23, pp 164-165.
- Las Heras, A., Vela, A. I., Fernández, E., Legaz, E., Domínguez, L. and Fernández-Garayzábal, J.F. 2002. Inusual Outbreak of Clinical Mastitis in Dairy Sheep Caused by *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus*. *Journal of Clinical Microbiology.* 40:1106 -1108.
- Manini EC, Barell C, Martinez R, Costa AL. Identification and medical importance of coagulase-negative staphylococci species. *Sao Paulo Med J* 1999; 117: 4.
- Martínez JR, Gonzalo C, Carriedo JA, y San Primitivo F. 2003. Effect of Freezing on Fossomatic Cell Counting in Ewe Milk. *J. Dairy Sci.* 86:2583-2587.
- McDougall S, DG Arthur, MA Bryan, JJ Vermunt, AM Weir. 2007a. Clinical and bacteriological response to treatment of clinical mastitis with one of three intramammary antibiotics. *New Zealand Vet J* 55:161-170.
- McDougall S, KE Agnew, R Cursons, XX Hou, CRW Compton. 2007b. Parenteral treatment of clinical mastitis with tylosin base or penethamate hydriodide in dairy cattle. *J Dairy Sci* 90:779-789.
- Medina CM, y Montaldo VH. 2003. El uso de la prueba de conductividad eléctrica y su relación con la prueba de California para mastitis. CNM. V Congreso Nacional de Control de Mastitis. Aguascalientes, Ags., México. 29-31 de Mayo.
- Meiri-Bendek, I., E. Lipkin, A. Friedmann, G. Leitner, A. Saran, S. Friedmann, and Y. Kashi. 2002. A PCR-Based Method for the Detection of *Streptococcus agalactiae* in Milk. *J. Dairy Sci.* 85:1717-1723.
- Michoacán. Servicio profesional. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. 46 pp.
- Morin DE, RD Shanks, GC McCoy. 1998. Comparison of antibiotic administration in conjunction with supportive measures versus supportive measures alone for treatment of dairy cows with clinical mastitis. *J AM Vet Med Assoc* 213:676-684.
- Mullarky I. K., Su, C., Frieze, N., Park, Y. H. and Sordillo, L. M. 2001. *Staphylococcus aureus* agr Genotypes with Enterotoxin Production Capabilities Can Resist Neutrophil Bactericidal Activity. *Infection and Immunity.* 69:45-51.
- Navarro, C. 2011. Mastitis bovina causada por ECN, Artículos Rumiantes Archivo. Edita: Grupo Asís Biomedica, S.L. Andador del Palacio de Larrinaga, 2 50013 Zaragoza).
- Oliver S, RA Almeida, BE Gillespie, SJ Headrick, HH Dowlen, DL Johnson, KC Lamar, ST Chester, WM Moseley. 2004. Extended Ceftiofur therapy for treatment of experimentally-induced *Streptococcus uberis* mastitis in lactating dairy cattle. *J Dairy Sci* 87:3322-3329.
- Oliver S, RA Almeida, BE Gillespie, SJ Ivey, H Moorehead, P Lunn, HH Dowlen, DL Johnson, KC Lamar. 2003. Efficacy of extended pirlimycin therapy for treatment of experimentally induced *Streptococcus uberis* intramammary infections in lactating dairy cattle. *Vet Ther* 4:299-308.
- Oliver SP, BE Gillespie, SJ Headrick, H Moorehead, P Lunn, HH Dowlen, DL Johnson, KC Lamar, ST Chester, WM Moseley. 2004. Efficacy of extended Ceftiofur intramammary therapy for treatment of subclinical mastitis in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 87:2393-2400.
- Pérez CG, Bedolla CC, Castañeda VH. 2005. Importancia del conteo de células somáticas en la cría sustentable de vacas productoras de leche. *Sustentabilidad.* Vol. III, No 1. Universidad de Guadalajara, Jalisco., México. pp. 86-94.

- Pérez CG, Bedolla CC, Castañeda VH. 2007. Métodos de detección de la mastitis bovina. REDVET: 2007, Vol. VIII N° 9.
- Philpot WN. 2001. Importancia de la cuenta de células somáticas y los factores que la afectan. III Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la Leche. Junio de 2001. León, Gto. México. 26 pp.
- Pinzón-Sánchez, C., V. E. Cabrera and P.L. Ruegg. Decision tree analysis of treatment strategies for mild and moderate cases of clinical mastitis. Accepted J Dairy Sci. 2010.
- Pyorla SH, EO Pyorala. 1998. Efficacy of parenteral administration of three antimicrobial agents in treatment of clinical mastitis in lactating cows: 487 cases (1989-1995). J Am Vet Med Ass 212:407-412.
- Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. 2002. Medicina Veterinaria. Mastitis Bovina. Edit. Mcgraw-hill. 9o Edición. Vol 1. Madrid, España. pp 728, 810.
- Rodríguez. C, J. F. 2002. Revisión sobre mastitis en ganado bovino, causa y efectos en la salud animal y pública. Servicio profesional de licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Morelia, Michoacán, México pp. 7-26.
- Rossitto, P. V., Ruiz, L., Kikuchi, Y., Glenn, K., Luiz, K., Watts, J. L. 2002. Antibiotic Susceptibility Patterns for Environmental Streptococci Isolated from Bovine Mastitis in Central California Dairies. J. Dairy Sci. 85:132-138.
- Ruegg PL, DJ Reinemann. Milk Quality and Mastitis Tests. 2002. Bovine Practitioner. 36:41-54.
- Saran, A. Chaffer, M. 2000. Mastitis y calidad de la leche. Ed. Intermédica. Buenos Aires, Argentina. pp 11-16, 23-50.
- Satu Pyörälä, Suvi Taponen, 2009 Coagulase-negative staphylococci-Emerging mastitis pathogens.
- Schrack, F. N., Hockett, M. E., Saxton, A. M., Lewis, M. J., Dowlen, H. H., Oliver, S. P. 2001. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. J. Dairy Sci. 84:1407-1412.
- Seegers, H., Fourichon, C. y Beaudeau, F. 2003. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. Vet. Res. 34:475-491. Servet Talavera. <http://www.servettalavera.es/documentos/CMT.pdf> acceso en Febrero 2012.
- Sixtos, E., S. 2011. Frecuencia y etiología de la mastitis bovina en Cherán.
- Smith BP. 1990. Large Animal Internal Medicine. St Louis, Missouri: The C. V. Mosby Co.
- Smith KL, DA Todhunter, PS Schoenberger. 1985. Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. J. Dairy Sci. 68:1531-1553.
- Sol J, OC Sampimon, HW Barkema, YH Schukken. 2000. Factors associated with cure after therapy of clinical mastitis caused by Staphylococcus aureus. J Dairy Sci 83:278-284.
- Sordelli, D. O., Buzzola, F. R., Gomez, M. I., Steele-Moore, L., Berg, D., Gentilini, E. Catalano, M., Reitz, A. J., Tollersrud, T., Denamiel, G., Jeric, P. and Lee, J. C. 2000. Capsule Expression by Bovine Isolates of Staphylococcus aureus from Argentina: Genetic and Epidemiologic Analyses. Journal of Clinical Microbiology. 38: 846-850.
- Taponen, S.; Pyörälä, S. 2009. Coagulase-negative staphylococci: Emerging mastitis pathogens. Vet. Microbiol. 134:3-8.
- Tollersrud, T., Kenny, K., Reitz, A. J. Jr. and Lee, J. C. 2000. Genetic and Serologic Evaluation of Capsule Production by Bovine Mammary Isolates of Staphylococcus aureus and Other Staphylococcus spp. from Europe and the United States. Journal of Clinical Microbiology. 38:2998-3003.
- Tomasinsig, L., De Conti, G., Skerlavaj, B., Piccinini, R., Maria Mazzilli, D'Este, F., Tossi, A. y Zanetti, M. 2010. Broad-Spectrum Activity against Bacterial Mastitis Pathogens and Activation of Mammary Epithelial Cells Support a Protective Role of Neutrophil Cathelicidins in Bovine Mastitis. Infection and Immunity. Vol. 78 (4): 1781-1788.
- Wellenberg, G.J., van der Poel, W. H. M. and Van Oirschot, J. T. 2002. Viral infections and bovine mastitis: a review. Veterinary Microbiology, Article 2361, pp. 2-21.
- Wolter W, Castañeda H, Kloppert B, y Zschöck M. 2004. Mastitis bovina. Prevención, diagnóstico y tratamiento. Editorial Universitaria. Universidad de Guadalajara. 146 pp.
- Wolter, W. Castañeda, V. Kloppert, B. Zschoeck, M. (2002.) La Mastitis Bovina. desde: <http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2002/912/pdf/p020003.pdf>.
- Zadoks, R. N. 2002. Molecular and mathematical epidemiology of Staphylococcus aureus and Streptococcus uberis mastitis in dairy herds. Dissertation Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine: 2-3, 239.
- Zadoks, R.N., Schukken, Y.H., 2006 Use of the molecular epidemiology in veterinary practice.
- Zhao, X. y Lacasse, P. 2008. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. J. Anim. Sci. 86:57-65.
