



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

MAESTRÍA TECNOLÓGICA EN PRODUCTOS LÁCTEOS

**MÉTODOS DE DETECCIÓN DE MASTITIS BOVINA Y CALIDAD
DE LA LECHE EN UNA UNIDAD DE PRODUCCIÓN**

ITZEL ANTONIA GONZÁLEZ BAÑOS

T E S I N A

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRÍA TECNOLÓGICA

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO

2016

La presente tesina, titulada “Métodos de Detección de Mastitis Bovina y Calidad de Leche en una Unidad de Producción”, realizada por la alumna: Itzel Antonia González Baños, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRÍA TECNOLÓGICA
EN PRODUCTOS LÁCTEOS**


CONSEJO PARTICULAR



CONSEJERO: _____ Dr. Adolfo Bucio Galindo



ASESOR: _____ Dr. Jesús Alberto Ramos Juárez



ASESOR: _____ Dr. Hugo Castañeda Vázquez

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO A 28 DE SEPTIEMBRE DE 2016

MÉTODOS DE DETECCIÓN DE MASTITIS BOVINA Y CALIDAD DE LA LECHE EN UNA UNIDAD DE PRODUCCIÓN

Itzel Antonia González Baños, MT.

Colegio de Postgraduados, 2016

RESUMEN

Los métodos descritos están desarrollados para la detección oportuna de la mastitis bovina y la calidad de leche, ya que repercuten en las unidades de producción e inocuidad de productos o subproductos elaborados a partir de leche con presencia de mastitis bovina. La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria que repercute en la composición física, química y bacteriológica de la leche, así como tejidos glandulares (Pérez *et al.*, 2005). Se identifican dos tipos de mastitis bovina, la mastitis clínica que está asociada con mayor frecuencia después del parto y es observable a simple vista o con palpación (Schrick, 2001) y la mastitis subclínica la cual no se puede detectar a simple vista y es difícil de corregir, la glándula mamaria no muestra signos de inflamación y la leche parece normal sin embargo para este tipo de mastitis existen métodos desarrollados para identificar la presencia de patógenos y modificaciones en la leche (Djabriet *al.*, 2002), mediante estas condiciones la calidad de la leche se puede medir por el contenido nutricional, de microorganismos y de células somáticas (Méndez, 2007). Para llevar a cabo la descripción de cada uno de los métodos se utilizaron 12 vacas cruzadas (Cebú x Holstein) con diferente encaste, en producción de leche, durante la época de seca (mayo a julio del 2016), pertenecientes al Campo Experimental del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco. Se realizaron pruebas en el establo y en el Laboratorio de Alimento del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, para determinar la composición química y microbiológica. La eficiencia de los métodos se describe con las ventajas y desventajas, lo que permite poder identificar un método que se adecue a las necesidades del productor.

Palabras claves: Mastitis clínica, mastitis subclínica, calidad en leche, diagnostico, células somáticas.

METHODS BOVINE MASTITIS DETECTION AND QUALITY OF MILK IN A PRODUCTION UNIT

Itzel Antonia González Baños, MT.

Colegio de Postgraduados, 2016

ABSTRAC

The methods described are oportuns pars developed the detection of bovine mastitis and milk quality, as they impact on production units and safety of products or by-products made from milk with bovine mastitis. Mastitis is an inflammation in the mammary gland which affects the physical chemical and bacteriological composition of milk also glandular tissues (Pérez et al., 2005). Two types of mastitis are identified, this clinical mastitis associated whit childbirth and can be seen with the naked eye (Schrick, 2001), and subclinical mastitis which can not be detected by the naked eye and is difficult to correct , the mammary gland shows no signs of inflammation and the milk seems normal , however, for this type of mastitis there are methods developed to identify the presence of pathogens and modifications in milk (Djabriet *al.*, 2002) and these conditions, the quality of milk can be measured by the nutritional content of microorganisms and somatic cells (Mendez, 2007). To carry out the description of each of the methods 12 crossbred cows (cebu x Holstein) were used with different mating in milk production during the dry season (May to July 2016) , belonging to the Experimental College Graduate Campus Tabasco. Evidence in the stable and Food Laboratory Graduate College Campus Tabasco were conducted to determine the chemical and microbiological composition. The efficiency of the methods described with the advantages and disadvantages, allowing identifying a method that suits the needs of the producer.

Keywords : Mastitis clinical , subclinical mastitis , quality milk , diagnosis, somatic cells.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a todas las personas que formaron parte para la elaboración de esta tesina ya sea de forma directa o indirecta.

A la Sociedad de Productores de Quesos de Poro Genuino de Balancán y al Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, por la iniciativa de aportar a sus socios la posibilidad de mejorar sus productos a través de la adquisición de conocimientos.

Mis agradecimientos a la Sra. Dina Gladis Valenzuela Castillo y el Sr. Urías Moreno Mandujano propietarios de la Quesería San José por haber ofrecido su apoyo y principalmente su amistad, al Dr. Adolfo Bucio Galindo, por la motivación que demostró en todo momento, los consejos y aportes positivos para mejorar como persona, mis asesores Dr. Jesús Alberto Ramos Juárez y al Dr. Hugo Castañeda Vázquez por el aporte de su conocimiento en la elaboración de esta tesina.

De igual forma para mis padres por estar presentes en cada meta cumplida ofreciendo siempre su apoyo, mis hijos y esposo quienes siempre me dieron ánimos para seguir adelante y sobre todo a Dios quien me dio la fortaleza pese a todo a poder culminar un logro más.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis hijos Carlos Antonio y Nicolás Alejandro quienes son mi pilar e inspiración en la vida, espero que luchen por las metas que se propongan y no desistan.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRAC.....	iv
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA	vi
ÍNDICE DE CUADROS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. DELIMITACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
3.- JUSTIFICACIÓN.....	4
4. OBJETIVOS.....	5
3.1.- Objetivo general	5
3.2.- Objetivo específico.....	5
5. HIPÓTESIS.....	5
6. REVISIÓN DE LITERATURA	6
6.1 La Glándula Mamaria de la Vaca.....	6
6.1.1 Histología de la glándula mamaria	8
6.2 La leche, Descripción y sus Componentes	11
6.2.1 Producción de leche de calidad	12
6.3 Mastitis	13
6.3.1 Patogenia.....	14
6.3.1 Mastitis clínica.....	14
6.3.2 Mastitis subclínica	15
6.3.3 Clasificación de los agentes causales de mastitis	16
6.4 Características de la Leche con Mastitis	17
7 MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
7.1 Localización del área de estudio.....	18
7.2 Plan de Toma de Muestras.....	19
7.3 Evaluación del Establo o Unidad de Producción.....	20

7.4 Prueba del Paño Negro	22
7.4.1 Propósito:.....	22
7.4.2 Principio:	22
7.4.3 Materiales y métodos.....	22
7.4.4 Interpretación de resultados	23
7.4.5 Ventajas y desventajas.....	24
7.5 Mastitis Test (CMT):.....	25
7.5.1 Propósito.....	25
7.5.2 Principio	25
7.5.3 Materiales y métodos.....	26
7.5.4 Interpretación de resultados	28
7.5.5 Elaboración de Reactivo para la prueba de California.....	30
7.5.6 Ventajas y desventajas.....	32
6.5 Conteo de Células Somáticas Mediante el Equipo DCC De Laval	32
7.5.1 Propósito.....	32
7.6.2 Principio	32
7.6.4. Ventajas y desventajas	36
7.7 Pruebas de Alcohol	37
7.7.1 Propósito.....	37
7.7.2 Principio	37
7.7.3 Materiales, Reactivos y Métodos	37
7.7.4 Expresión de resultados.....	39
7.7.5 Ventajas y desventajas.....	39
7.8 Reducción de Azul de Metileno.....	40
7.8.1 Propósito.....	40
7.8.2 Principio:	40
7.8.3 Elaboración de la solución de azul de metileno	40
7.8.3 Elaboración del método azul de metileno.....	41
7.8.4 Interpretación de resultados	44
7.8.5 Ventajas y desventajas.....	44
7.9 Reducción de Resazurina.....	45
7.9.1 Propósito.....	45

7.9.2	Principio	45
7.9.3	Materiales y métodos.....	45
7.9.4	Interpretación de resultados	47
7.10	Cuenta directa de células somáticas en la leche	48
7.10.1	Propósito	48
7.10.2	Principio	49
7.10.3	Elaboración del colorante Newman Lampert.....	49
7.10.4	Preparación del frotis para la cuenta directa de células somáticas	51
7.10.5	Lectura del frotis.....	52
7.10.6	Calculo de la concentración	53
7.10.7	Ventajas y desventajas	54
7.11	Analizador de Leche Lactoscan.....	55
7.11.1	Propósito.....	55
7.11.2	Principio	55
7.11.3	Materiales y métodos.....	55
7.11.4	Lectura	56
7.12	Medio de Cultivo.....	59
7.12.1	Propósito	59
7.12.2	Principio.....	59
7.12.3	Preparación de medio de cultivo – Agar sangre	59
7.12.4	Siembra por Estrías En Agar Sangre.....	61
7.12.5	Lectura.....	63
7.12.6	Ventajas y desventajas	64
8	RESULTADOS.....	65
9	CONCLUSIONES	68
10	REVISIÓN DE LITERATURA	69

ÍNDICE DE CUADROS

<i>Cuadro 1 Especificaciones Sanitarias de acuerdo a la NOM-184-SSA1-2002.</i>	11
<i>Cuadro 2 Cambios en la composición de la leche ocasionados por la mastitis. Modificado de (Volter et al., 2004).....</i>	17
Cuadro 3 Formato de supervisión de visita al establo.....	20
Cuadro 4 Materiales utilizados para la prueba del paño negro	22
Cuadro 5 Método utilizado para la prueba del paño negro.....	23
Cuadro 6 Ventajas y desventajas de la prueba de paño negro	24
Cuadro 7 Materiales utilizados para CMT	26
Cuadro 8 Métodos utilizados para MCT	26
Cuadro 9 Interpretación de los resultados de CMT (Melleberger., 2000).....	28
Cuadro 10 Formato de registro de resultados de la prueba de california.....	29
Cuadro 11 Materiales utilizados para el reactivo CTM	30
Cuadro 12 Reactivos utilizados para CTM	31
Cuadro 13 Ventajas y desventajas de la prueba de CTM	32
Cuadro 14 Materiales utilizados en DCC de Laval	33
Cuadro 15 Método utilizado en DCC de Laval	34
Cuadro 16 Ventajas y desventajas en DCC de Laval.....	36
Cuadro 17 Materiales y Reactivos para la prueba de alcohol	37
Cuadro 18 Métodos utilizados para la prueba de alcohol.....	37
Cuadro 19 Cuadros ventajas y desventajas de la prueba de alcohol.....	39
Cuadro 20 Materiales y Reactivos utilizados para la elaboración de la solución de reducción de azul de metileno.....	40
Cuadro 21 Materiales y reactivos para la prueba de azul de metileno.	41
Cuadro 22 Método de la prueba de azul de metileno.....	42
Cuadro 23 Evaluación de resultado de la prueba de azul de metileno	44
Cuadro 24 Ventajas y desventajas de la prueba de azul de metileno	44
Cuadro 25 Materiales utilizados en la reducción de resazurina	45
Cuadro 26 Métodos utilizados en la reducción de resazurina	46

Cuadro 27 Interpretación de resultados de resazurina.....	47
Cuadro 28 Reactivos para la elaboración del colorante Newman Lampert.....	49
Cuadro 29 Método de la preparación del frotis y tinción con colorante Newman-Lampert para la cuenta directa de células somáticas	51
Cuadro 30 Ventajas y desventajas de la cuenta directa de células somáticas	54
Cuadro 31 Material utilizado para el analizador Lactoscan	55
Cuadro 32 Método utilizado para la prueba de lactoscan	56
<i>Cuadro 33 Ventajas y desventajas del Lactoscan.....</i>	<i>58</i>
Cuadro 34 Reactivos utilizados para la preparación del medio de cultivo.....	59
Cuadro 35 Métodos utilizados para la elaboración del medio de cultivo	60
Cuadro 36 Materiales utilizados para la siembra en agar sangre	61
Cuadro 37 Métodos utilizados para la siembra en agar sangre	62
Cuadro 38 Ventajas y desventajas de los medios de cultivo.....	64
Cuadro 39 Resultado en prueba de california/ mastitis test	66
Cuadro 40 Resultado con analizador de leche Lactoscan y DCC de Laval	66
Cuadro 41 Evaluación general de los métodos de detección de mastitis bovina y calidad de la leche.....	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Glándula mamaria o ubre en fase de lactancia	6
Figura 2	División de los cuartos de la glándula mamaria	7
Figura 3	Sistema suspensorio de la glándula mamaria.....	8
Figura 4	Esquema de los alveolos secretores en la glándula mamaria	9
Figura 5	Esquema de la glándula mamaria.....	10
Figura 6	Vista satelital dela unidad de producción de leche del Campo Experimental del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco	18
Figura 7	Instalaciones de la unidad de producción, en Campo Experimental del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco	19
Figura 8	Hato lechero (Cebú x Holstein), en Campo Experimental del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco	19
Figura 9	Ejemplo de resultado Negativo.	29
Figura 10	Ejemplo de resultado con Trazas.....	29
Figura 11	Patrón de coloración.	47
Figura 12	Ejemplo de resultado buena calidad (violeta azulado) izquierda y excelente calidad (azul celeste).....	48
Figura 13	Detalle de la rejilla de la cámara de Neubauer.....	53
Figura 14	Ejemplo de células somáticas vista con objetivo a 40X	54
Figura 16	Interpretación de las lecturas de las colonias.....	63
Figura 17 Beta hemolisis	Figura 18 Alfa hemolisis	Figura 19 Gama hemolisis
.....		
63		

1. INTRODUCCIÓN

El análisis del sector lácteo 2010, elaborado por la Secretaría de Economía del Gobierno de México estima que la población mundial consume anualmente cerca de 500 millones de toneladas de leche en diversas presentaciones con fines de alimento humano, de lo cual corresponde el 85% a leche de vaca y el resto a otras especies. La industria de productos lácteos es la tercera actividad más importante dentro de la rama de la industria de alimentos en México, y su crecimiento depende de la disponibilidad de la leche nacional. La disponibilidad de la leche depende de varios factores entre ellos el tipo de raza, el tiempo de lactación, la edad, y alimentación de los hatos lecheros, un factor importante que pone en riesgo la disponibilidad de la leche es la salud de los hatos lecheros, específicamente la salud de la ubre, que entra en riesgo cuando se encuentran casos clínicos de mastitis.

La mastitis es una respuesta inflamatoria de la glándula mamaria que provoca cambios en la composición bioquímica de la leche. A través de la inflamación y lesiones se puede determinar el grado de la enfermedad. En términos generales se clasifica en “Mastitis Subclínica” no se presenta signos visibles aparente y solo es medido a través de pruebas de células somáticas, así como en reacciones positivas en la prueba de california y “Mastitis Clínica”, esta se detecta mediante palpación debido a la fibrosis causada (Saran y Chaffer, 2000).

La mastitis subclínica ocurre con mayor frecuencia en los hatos bovinos de las unidades de producción lechera; 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 que afectan el rendimiento quesero. Además, los animales que tienen mastitis subclínica, son un reservorio de microbios que pueden infectar a los otros animales (Ariznabarreta *et al.*, 2002).

Los casos de mastitis de origen microbiano son más comunes, dentro de los cuales encontramos a los patógenos contagiosos y los ambientales. Los principales agentes patógenos causales de las mastitis contagiosas son los microorganismos:

Staphylococcus aureus y *Streptococcus agalactiae*, mientras que las infecciones por patógenos ambientales están dadas fundamentalmente por *Escherichiacoli*, *Klebsiella sp*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Psudomonas*, también se encuentra una flora oportunista o patógenos menores como los *Staphylococcus coagulasa negativa* (Porporattoet al., 2010).

La calidad de la ordeña y el control adecuado de la mastitis clínica y subclínica, son factores determinantes en la mayor rentabilidad de la unidad de producción junto a los trastornos de la fertilidad, sin embargo la mastitis sigue siendo, económicamente, uno de los problemas más importantes hoy en día (Martínez et al., 2000).Económicamente debido al aumento en los costos de producción por los tratamientos y asistencia veterinaria. La leche que se encuentra infectada provoca cambios en la composición físico-química y bacteriológica de la leche esto provoca disminución de solidos tales, proteínas, grasa y calcio, al realizar tratamiento con antibióticos la leche tendrá residuos lo que provoca problemas en la salud pública (Corbellini, 2002).

En cuanto a la calidad de la leche esto implica mantener las características propias de la leche, de tal manera que no cause algún daño a la salud del consumidor, así como el rendimiento en la elaboración de subproductos. Una de las causas que altera la calidad de la leche, es la mastitis (Calderón, 2008).

La mejor forma de tratar esta enfermedad es mediante medidas sanitarias preventivas así como la capacitación en el tema por lo cual se requiere informarse y poner en práctica las recomendaciones técnicas sanitarias en base a esto el objetivo es describir los métodos de detección de la mastitis bovina para mejorar la calidad de la leche que se utiliza en la elaboración de quesos en una unidad de producción.

2. DELIMITACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La mastitis clínica se hace presente con mayor frecuencia en las unidades de producción que la mastitis subclínica repercutiendo en la calidad de la leche y de sus subproductos ya que algunos agentes causantes provocan problemas de salud en los humanos, además en vacas que se encuentran en tratamiento y es utilizada la leche para consumo se puede encontrar residuos de antibióticos o químicos. La normatividad vigente y los consumidores cada día exigen leche de calidad provenientes de animales sanos, en el caso de los subproductos las afectaciones que la mastitis causa a la leche son: incremento en el tiempo de cuajado, y disminución de la cantidad de queso producido (Wolter *et al.*, 2004).

Según señala Halasa *et al.*, 2007, Las pérdidas que ocasiona a las unidades de producción de leche se pueden definir de la siguiente manera:

1. Disminución de la producción
2. Descarte de la leche
3. Aumento de los costos por concepto de medicamentos
4. Honorarios veterinario
5. Trabajo extra
6. Pérdida del potencial genético

El presente trabajo describirá los principales métodos de detección de la mastitis bovina, que son de importancia para su rápido diagnóstico, oportunas medidas de control y tratamientos; así como de la calidad de la leche, con esto se pretenden colaborar en el bienestar animal y de la sociedad.

3.- JUSTIFICACIÓN

Es necesario investigar la caracterización de la mastitis bovina y calidad de la leche en una unidad de producción para prevenir la mastitis, ya que repercute en la producción de leche y quesos elaborados con leche no pasteurizada “bronca”, esto podría influir negativamente en la inocuidad del producto y causar daños al consumidor.

Al describir los métodos que se utilizan para detectar la mastitis bovina, ayudará a que la enfermedad no se disemine, por lo que una aplicación de un programa de control y prevención de mastitis reduciría la pérdida económica para los productores.

4. OBJETIVOS

3.1.- Objetivo general

Describir los métodos de detección de la mastitis bovina para mejorar la calidad de la leche que se utiliza en la elaboración de quesos en una unidad de producción.

3.2.- Objetivo específico

- 1) Describir los métodos de detección de la mastitis bovina que se utilizan actualmente.
- 2) Describir las características físico- químicas de la leche con mastitis.

5. HIPÓTESIS

Existen ventajas y desventajas entre los métodos de detección de la mastitis bovina, para evaluar la calidad de la leche en una unidad de producción.

6. REVISIÓN DE LITERATURA

6.1 La Glándula Mamaria de la Vaca

Con la finalidad de producir leche para sus descendencias, asegurar el alimento además de aportar nutrimentos que le permitan desarrollarse y adquirir resistencia durante la primera etapa de vida los mamíferos se han adaptado anatómicamente y fisiológicamente de las glándulas mamarias(Cunningham, 2009).

Las glándulas mamarias son un elemento importante dentro la empresas lecheras y de subproductos, ya que de ello depende su potencial de producción. El avance genético que se ha logrado durante el último siglo, logro incrementar la producción de leche



Figura 1 Glándula mamaria o ubre en fase de lactancia

La ubre está localizada en la ingle de las vacas y consiste en o un grupo de glándulas mamarias llamadas cuartos, estos se encuentran completamente separados uno de otro, conteniendo su propio sistema secretor de la leche, cuando llega a ocurrir alguna infección en un cuarto este no afecta en el interior de la ubre pero si por la teta y sus canales de ahí la importancia en la higiene al momento de la ordeña (Cunningham, 2009).

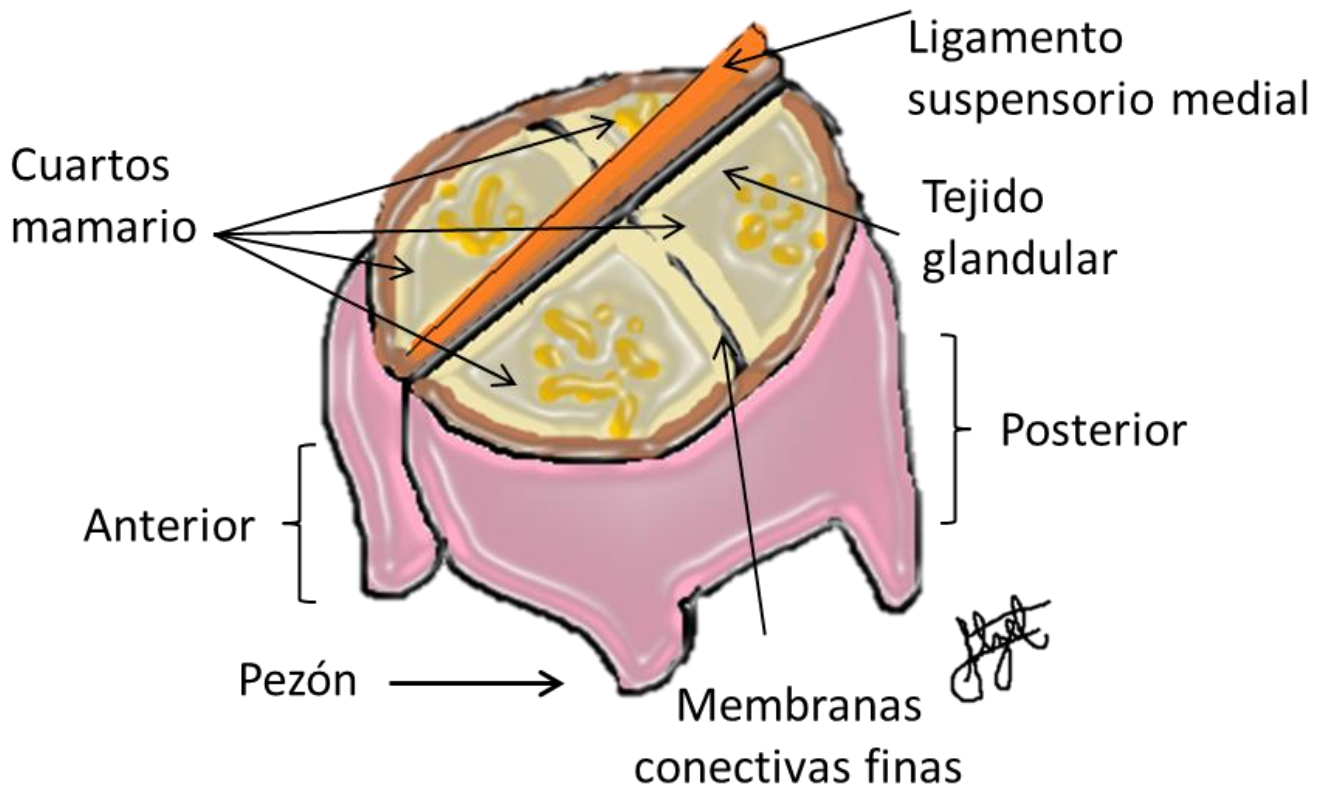


Figura 2 División de los cuartos de la glándula mamaria

El sostén de la ubre está basado en un arreglo de ligamentos que cuelgan hacia el centro y los lados de la ubre. Cuenta con fibras de colágeno duras y tensoras, esto permite el balanceo lateral del animal cuando camina y que la ubre se estire cuando está llena de leche (Cunningham, 2009).

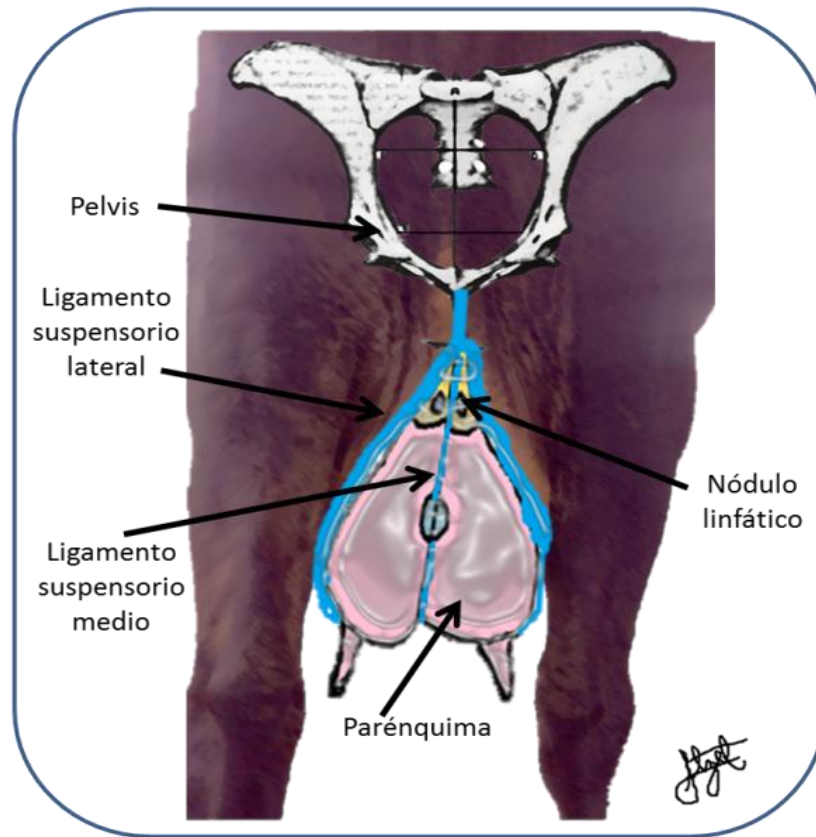


Figura 3. Sistema suspensorio de la glándula mamaria

6.1.1 Histología de la glándula mamaria

Los tejidos que conforman a la glándula mamaria son principalmente tejido secretor y conjuntivo. Las unidades secretoras son pequeños glomérulos en forma de ramos de uva llamadas alveolos, las cuales sintetizan la leche, y es excretada fuera del cuerpo por medio de un sistema de conductos llamados canales alveolares, los capilares sanguíneos y células mioepiteliales rodean el alveolo y la leche secretada fluye hacia la cavidad interna llamada lumen.

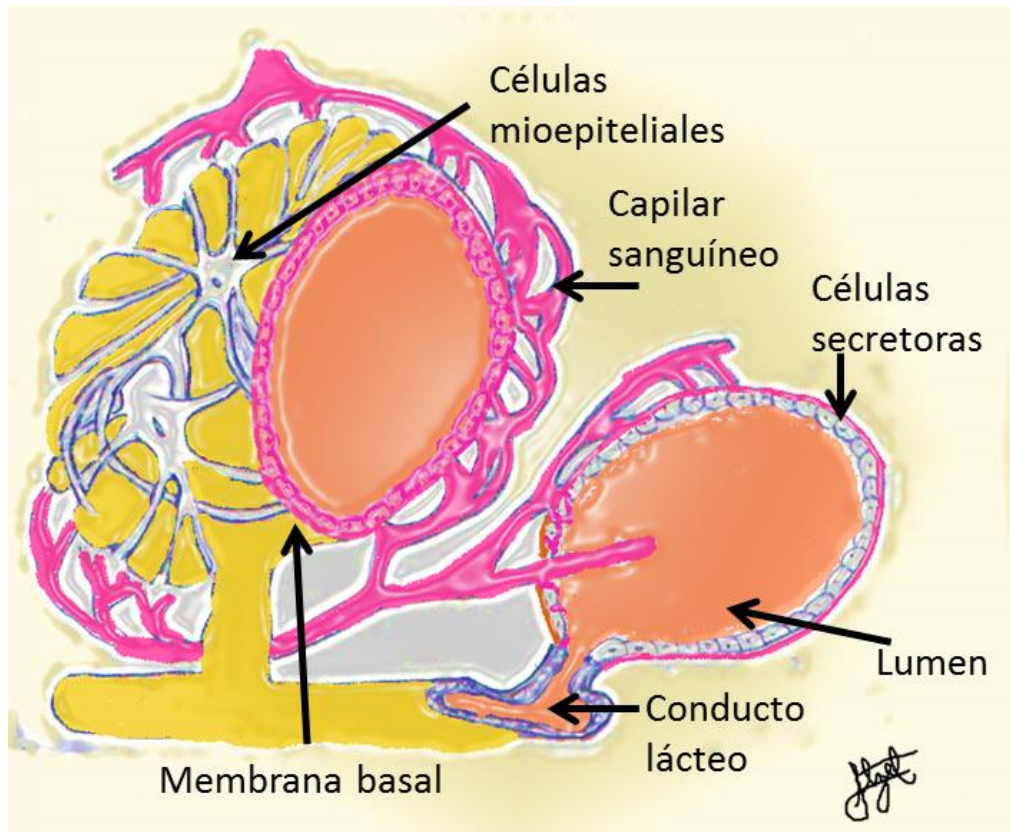


Figura 4. Esquema de los alveolos secretores en la glándula mamaria

Según describe Schmidt (1974), cada alveolo está integrada en grandes rasgos de la siguiente manera:

1. Capilares y vénulas.- estas proporcionan sangre al alveolo y retiran la sangre no utilizada. Los capilares y las vénulas están conectados con arterias y venas de mayor tamaño en la ubre.
2. Células mioepiteliales.- son las responsables de la eyección de la leche. Las células epiteliales absorben nutrientes de los capilares, los transforman en componentes de la leche y los liberan en el lumen del alveolo. El estímulo provocado por el ordeño determina la liberación de oxitocina, que origina la contracción de las células mioepiteliales

3. Lumen.- cavidad interna del alveolo donde se almacena la leche, que es secretada cuando las células mioepiteliales se contraen.

Las funciones del alveolo son:

- Remover los nutrientes de la sangre
- Trasformar estos nutrientes en leche
- Descargar la leche dentro del lumen.

La mayor parte de la leche que se acumula antes del amamantamiento o de la ordeña se almacena en los alveolos, aun cuando los animales poseen áreas agrandadas para el almacenamiento de la leche llamadas cisternas (Cunningham, 2009)

La primera barrera contra las bacterias son los tejidos asociados con el conducto del pezón o canal del pezón e incluyen la piel exterior, el musculo del esfínter, el epitelio escamoso estratificado de la teta y los revestimientos de canales y la queratina, principal importancia que tienen como emolientes y humectantes para el mantenimiento de la piel del pezón sana e intacta. Sin embargo, anomalías tales como cortes, lesiones, proporcionan un entorno para crecimiento de bacterias, especialmente los estafilococos, por ejemplo, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus especies* (Pérez et al., 2005).

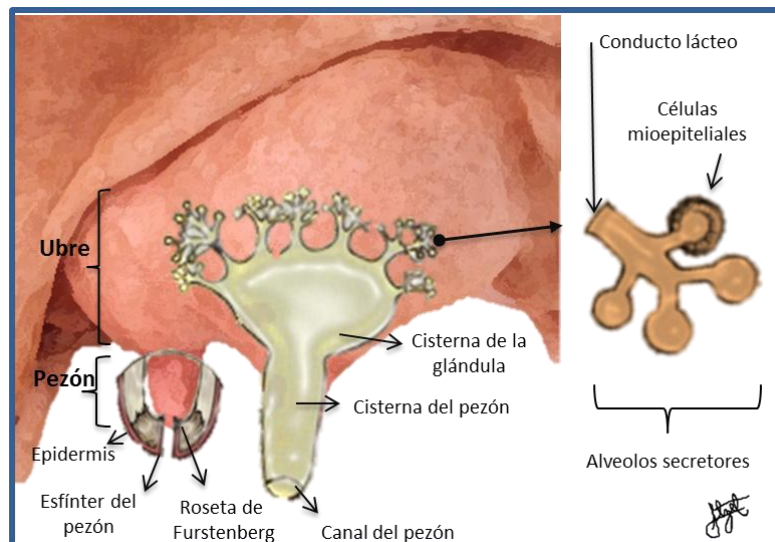


Figura 5 Esquema de la glándula mamaria

6.2 La leche, Descripción y sus Componentes

La leche se define como la secreción natural de las glándulas mamarias de los mamíferos destinada como alimento para sus crías. Entre las especies domésticas existen algunas especializadas en la producción de leche para consumo humano (Estrada, 2011).

De acuerdo con la Norma Mexicana NMX-F-700-COFOCALEC-2004, la leche cruda puede tener una cuenta máxima de bacterias mesofílicas aerobias (BMA) de 1 200 000 UFC/ml para ser considerada apta para consumo humano; mientras mayor sea el contenido de BMA, puede existir un mayor riesgo de contaminación de la leche por patógenos, así como el crecimiento de los mismos en los productos terminados. Por otra parte, la Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994, establece que los quesos deben ser elaborados con la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada, de ésta forma se reducen los riesgos de transmisión de enfermedades causadas por alimentos y se propicia que se procesen productos de la calidad sanitaria necesaria para garantizar la salud del consumidor.

La Norma Oficial Mexicana NOM-184-SSA1-2002, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Especificaciones sanitarias. Establece en el caso de los productos sometidos a pasteurización el siguiente criterio descrito en el siguiente cuadro.

Cuadro 1 Especificaciones Sanitarias de acuerdo a la NOM-184-SSA1-2002.

ESPECIFICACION	LIMITE MAXIMO
Organismos coliformes totales en planta	< 10 UFC/MI
Organismos coliformes totales en punto de venta	< 20 UFC/MI
<i>Salmonella spp.</i>*	Ausente en 25 mL
<i>Staphylococcus aureus</i> *	< 10 UFC/mL en siembra directa
<i>Listeria monocytogenes</i> *	Ausente en 25 mL

6.2.1 Producción de leche de calidad

La calidad es un conjunto de propiedades inherentes a un producto que antes de ser consumido cumple con los aspectos legales, la inocuidad, la vida útil y aceptación sensorial por el consumidor. La calidad de la leche se puede medir por el contenido nutricional, el contenido de microorganismos y el contenido de células somáticas. La calidad nutricional de la leche cruda depende de su contenido de sólidos, tales como proteína, grasa, lactosa, vitaminas y elementos minerales. Por otra parte la calidad microbiológica se refiere a la leche libre de agentes patógenos causantes de enfermedades y con un nivel bajo de contenido de células somáticas, para mantener una buena calidad en la leche es indispensable el control de enfermedades y un adecuado manejo sanitario en todas las etapas desde el ordeño hasta el subproducto final. Uno de los principales factores que afectan a la leche de calidad es a causa de la mastitis, lo cual provoca disminución en la producción y a su vez alteraciones en su composición (Méndez, 2007).

La leche empleada en la elaboración de quesos debe ser de buena calidad, tanto desde el punto de vista químico como microbiológica. Los mismos niveles de higiene que se exigen para la leche líquida de consumo directo deben ser exigidos para la leche destinada a la fabricación de quesos. Además, se debe evitar la presencia de antibióticos que inhiben el desarrollo de las bacterias lácticas que se adicionan a la leche en la quesería. Tampoco se deben utilizar calostros ni leche de animales procedentes de animales enfermos (López, 2004).

Las cualidades que debe tener una leche para su utilización en quesería son:

- a) Debe coagular bien con el cuajo
- b) Debe eliminar bien el suero
- c) Buen rendimiento quesero
- d) Buena calidad microbiológica

La leche de cuartos de la ubre con mastitis, tiene niveles altos de ácidos grasos libres que la leche de cuartos sanos de la misma vaca. Esto puede ser debido a una mayor cantidad de la lipólisis durante el almacenamiento de la materia prima de la leche, pero es a menudo debido a una mayor cantidad de ácidos grasos libres de lo normal en la leche que sale de la vaca. Estos ácidos grasos son resultados de la incorporación incompleta en triglicérido en la glándula mamaria. Su fuga dentro de la leche es el resultado de la interrupción del funcionamiento normal de la célula mamaria durante la infección con mastitis; es más grave la mastitis (es decir, cuanto mayor sea el recuento de células somáticas), mayor será el nivel de ácidos grasos libres (Valera *et al.*, 2005).

6.3 Mastitis

La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria que se caracteriza por los cambios físicos, químicos y bacteriológicos en la leche, así como cambios patológicos en los tejidos glandulares. La leche de animales con mastitis presenta un aumento en el número de células somáticas. Esta enfermedad, es reconocida por las anomalías en la leche y la ubre. Una de las características principales de los síntomas clínicos incluyen una disminución en la producción de leche, aumento de células somáticas, principalmente neutrófilos polimorfo nucleares (PMN), composición y apariencia de la leche principalmente grumos, fiebre, cuartos mamarios enrojecidos, hinchados y calientes (Kerry y Wellnitz, 2003). Estos eventos provocan que el sistema inmune del animal actúe tratando de evitar el problema, logrando en ocasiones mantener la infección evitando alterar otros órganos o sistema del animal. Cuando se encuentran todos o alguno de los síntomas antes mencionados se considera mastitis clínica, cuando se encuentra cambios significativos en la composición de la leche como color, aparición de grumos, coágulos sanguinolentos, coágulos con pus (Pérez *et al.*, 2005).

Son varios los factores conocidos que influyen para que una vaca sea o no infectada. Entre los mismos se encuentran el tipo de bacteria, la estirpe de la bacteria, el número de bacterias transferidas a los pezones, la herencia y el estado de los extremos de los pezones. Vacas con erosiones en los extremos de los pezones son más susceptibles a la infección que vacas con pezones intactos. El primer síntoma es un aumento en el

recuento de leucocitos, seguido por un aumento en el contenido de cloruros de la leche y después un descenso en el contenido de caseína y de grasa, un aumento de pH de la leche, una alteración del estado fluido y un descenso del volumen de leche seriada. Estas alteraciones se consideran como infección no clínica y clínica benigna. Las formaciones clínicas benignas pueden ser detectadas mediante comprobaciones rutinarias en los establos (Schmidt et al., 1974).

6.3.1 Patogenia

La glándula mamaria es infectada a través del conducto glandular, en la etapa de la infección, los gérmenes proliferan e invaden el tejido mamario, lo anterior y el daño causado crea una inflamación y se produce la mastitis clínica (Zadoks, 2002).

6.3.1 Mastitis clínica

La mastitis clínica puede resultar de un arranque repetido o derivarse de la exacerbación de un caso crónico. Puede presentarse en cualquier momento, sin embargo, la mastitis es más frecuente después del parto, resultado de invasión bacteriana debido a heridas en la teta o ubre, inoculación de bacterias vías cánulas en proceso de terapia, o por infección sistémicas. Se reconoce la mastitis aguda por su aparición repentina y por cambios físicos evidentes en la leche (hojuelas, grumos) la secreción de la leche disminuye y puede tener apariencia de suero sanguíneo (Schrick, 2001)

Las características para identificar este tipo de mastitis se pueden clasificar de acuerdo a Schrick (2001) son:

1. Tumefacción o dolor en la ubre,
2. cambios en su tono como enrojecimiento
3. la leche presenta una apariencia anormal
4. Temperatura
5. Letargo
6. Anorexia

Cuando no se conoce la historia clínica, no hay una distinción definida entre mastitis aguda y crónica: los repuntes agudos ocurren crónicos y la mastitis aguda puede persistir lo suficiente para convertirse en crónica. En el caso de mastitis gangrenosa el cuarto afectado esta inicialmente caliente, inflamado y enrojecido, inhibe la producción de leche y solo sale un flujo decolorado y se hace sanguinolento y después puede tornarse una zona de color azul que involucra a la teta y la glándula.

Este tipo de mastitis clínica provoca incomodidad en el animal debido al dolor ocasionado por la inflamación y lesiones en la glándula mamaria lo cual repercute en el comportamiento de los animales, se reporta con más frecuencia durante la primera lactación (Zadoks, 2002).

6.3.2 Mastitis subclínica

La mastitis subclínica resulta de signos no visibles y difícil de corregir, la ubre no muestra ningún signo de inflamación y la leche parece normal, sin embargo existe la presencia de patógenos y modificaciones de la leche (Djabriet *al.*, 2002).

Las características que se presentan para identificar este tipo de mastitis según Valera (2005) son:

1. Número de células somáticas en la leche
2. Disminución del nivel de producción de la secreción láctea
3. Alteración de la composición de la leche

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 (Heringstad *et al.*, 2000; Valera *et al.*, 2005).

El conteo de células somáticas y el cultivo bacteriológico son necesarios para detectar inflamación e infección. En la práctica estos casos de mastitis subclínica no son detectados rápidamente, o no ser reconocida por el ordeñador (Wellenberget *al.*, 2002).

6.3.3 Clasificación de los agentes causales de mastitis

La inflamación que produce la mastitis en respuesta a la invasión de agentes patógenos, a través del pezón se debe a diferentes tipos de bacterias, *micoplasmas*, hongos, levaduras y hasta algunos virus. Sin embargo, las bacterias de los géneros *Staphylococcus*, *Corynebacterium* y algunos gérmenes Gram negativo, son responsables de más de 90% de los casos clínicos y subclínicos. Las bacterias sobreviven en diferentes nichos ecológicos, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcusagalactiae* están asociadas a ubres lesionadas de los pezones y colonización del canal del pezón, del propiciando la transmisión de entre vacas y de los cuarto al momento del ordeño.

Según señala Reza (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 antoja 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:

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

6.4 Características de la Leche con Mastitis

De acuerdo con Wolter *et al.*(2004) además de los altos costos financieros para el ganadero la mastitis tiene una gran importancia del valor higiénico de la leche y de sus subproductos.

Debido a lo siguiente:

- Algunos agentes causales de mastitis son patógenos en humanos
- Puede haber residuos de antibióticos o químicos en la leche por el tratamiento de la ubre
- El consumidor exige que la leche provenga de animales sanos. Para la industria de lácteos son muy significativas las transformaciones causadas por mastitis. El tiempo de cuajo aumenta.

Cuadro 2. Cambios en la composición de la leche ocasionados por la mastitis. Modificado de (Wolter et al., 2004)

Parámetros	Cambio	Causa
Lactosa	Disminución	Disminuye la síntesis
Grasa	Disminución	
Caseína	Disminución	
Proteína del suero	Aumento	Pasan de la sangre
Cloruro	Aumento	
Sodio	Aumento	
PH	Aumento	Paso de las sustancias alcalinas de la sangre

7 MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Localización del área de estudio

Se tomaron datos de la unidad de producción de leche del Campo Experimental del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco. El campo experimental se ubica en el km 21 de la carretera Cárdenas-Coatzacoalcos, en H. Cárdenas, Tabasco México. El sitio se localiza a los $17^{\circ} 59' 15.6''$ de latitud Norte y $93^{\circ} 35' 06.9''$ de longitud Oeste y una altitud de 9 m. El clima es tropical húmedo, con temperatura media anual de 26.2°C , precipitación media anual de 2240 mm, la humedad relativa media mensual es superior al 80 %, (García, 1987). Los análisis químicos y microbiológicos de la leche se realizaron en el laboratorio de Alimento del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco ubicado en el km 3.5 de la carretera Cárdenas- Huimanguillo en H. Cárdenas, Tabasco, México.



Figura 6 Vista satelital de la unidad de producción de leche del Campo Experimental del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco

7.2 Plan de Toma de Muestras

Se utilizaron 12 vacas cruzadas (Cebú x Holstein) con diferente encaste, en producción de leche, durante la época de seca (mayo a julio del 2016). Las vacas en promedio tienen 4 partos y 126 días de lactancia. La ordeña se realiza en la mañana una vez al día y posteriormente, las vacas salen a pastorear en potreros de Camalote (*Paspalum fasciculatum*).



Figuran7 Instalaciones de la unidad de producción, en Campo Experimental del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco



Figura 8 Hato lechero (Cebú x Holstein), en Campo Experimental del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco

Las muestras de leche se obtuvieron directamente de los cuartos de la ubre al momento del ordeño, se realizaron pruebas en el establo como la prueba de paño negro y prueba de california, además se tomaron muestras de leche, se depositaron en una bolsa de plástico estéril, las cuales se identificaron con el número del animal, se llevó a cabo además una encuesta del establo a efecto de controlar la procedencia de los mismo, posteriormente fueron transportadas en una hielera al laboratorio de Alimento del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco para determinar composición la composición química y microbiológica que a continuación se describen:

7.3 Evaluación del Establo o Unidad de Producción

Es conveniente comenzar a evaluar las características básicas de diseño y distribución de facilidades del establo, considerando el flujo de los animales, sala de ordeña, corrales, evaluar la alimentación, tipo de forraje, agua, en cuanto a los registros población, producción y salud.

Con la finalidad de determinar las condiciones de higiene sanitarias de la unidad de producción se utilizó el siguiente formato:

Cuadro 3 Formato de supervisión de visita al establo

Formato de supervisión de visita al establo	
Fecha	
Establo / Unidad de Producción	
Hora de ordeño	
Recolección de la leche	
1. Alimentación	
Alimento base	

Sistema de alimentación	
Calidad del agua	
2. Descripción/ Tipo del establo lechero	
Número de vacas totales	
Número de vacas en producción	
Raza	
Rendimiento	
Tipo de ordeño	
Tipo de maquina ordeñadora, fabrica	
Material de las pezoneras	
Limpieza y recambio de los conductos de la leche	
Capacidad del equipo de ordeño	
Cantidad de ordeñadores con los que cuenta	
Tiempo	
Revisión del equipo de ordeña	
Higiene del establo	

7.4 Prueba del Paño Negro

7.4.1 Propósito:

Determinar la presencia de grumos en la leche


7.4.2 Principio:

Una leche anormal, tiene una reducción de pH, o una alcalinización, que desestabilizan las micelas de caseína, forman coágulos, que se observan como grumos. Los grumos tienen un tamaño que se retiene en el paño, y como este es de color negro es fácilmente observable.



Se realiza durante la preparación de la vaca para la ordeña, haciendo pasar los primeros chorros a través de una malla negra o bien utilizando una cubetilla especialmente diseñada para eso. Es recomendable realizar este procedimiento en todos los ordeños, ya que además de detectar leche anormal, se eliminan bacterias que normalmente se encuentran en mayor cantidad en estos primeros chorros y se estimula la bajada de la leche.

7.4.3 Materiales y métodos

Cuadro 4 Materiales utilizados para la prueba del paño negro

Materiales	
Un paño negro de algodón	
Colador de plástico 15 cm	

Cuadro 5 Método utilizado para la prueba del paño negro

Método	
1. Se lleva a cabo antes del ordeño.	
2. Se extraen los primeros chorros de cada pezón en una cubeta.	
3. Se observa en el paño	

Nota: No tirar los chorros de leche directo al piso ya que este puede contener bacterias patógenas y propicia la transmisión de la enfermedad.

7.4.4 Interpretación de resultados

Durante la observación se puede detectar lo siguiente:

1. No se retiene ninguna partícula en el paño
2. Coágulos
3. Escamas

4. Hilos
5. Materia fibrosa
6. Color anormal
7. Coloración normal

7.4.5 Ventajas y desventajas

Cuadro 6 Ventajas y desventajas de la prueba de paño negro

Ventajas	Desventajas
Es un método práctico que permite la identificación de características anormales en la leche.	Solo es observable en casos agudos de mastitis clínica.

7.5 Mastitis Test (CMT):

7.5.1 Propósito

Este es un método para la determinación semi cuantitativa del número de leucocitos en la leche, de cada uno de los cuartos mamarios.


7.5.2 Principio

Esta prueba es la prueba más utilizada a nivel de campo para el diagnóstico de mastitis en ganado lechero. Esta prueba refleja la cantidad de células somáticas (leucocitos y células epiteliales) en leche. La combinación del ADN de las células en la leche con un detergente (Alquil-Aril-Sulfonato de sodio) y el colorante púrpura de bromocresol como indicador de pH en un recipiente de la paleta especial produce un gel, los resultados se leen como negativos, Traza, 1+, 2+ y 3+ según la cantidad del gel.¹⁴ La prueba de California es un método de diagnóstico que posee una sensibilidad del 97% y una especificidad del 93%


A pH neutro el purpura de bromocresol es purpura, y a pH ácido es amarillo. Una leche excesivamente ácida se ve verde. El jabón líquido rompe las membranas celulares externas y nucleares de cualquier leucocito; el ADN se libera del núcleo y este forma sustancias viscosas y en forma de gel, formando una masa fibrosa. Cuando los animales tienen infección en sus glándulas mamarias, la cantidad de leucocitos incrementa, aumentando también la viscosidad y la formación gelatinosa de la leche, en casos extremos forma una especie de moco.

7.5.3 Materiales y métodos

Cuadro 7 Materiales utilizados para CMT

Materiales	
Paleta de plástico con 4 cubetas de 7 cm de diámetro por 2 cm de alto	
Dosificador con reactivo California Mastitis Test (CMT)	

Cuadro 8 Métodos utilizados para MCT

Método	
1.- Al iniciar el ordeño, colecciona y elimine los primeros chorros de leche	

2.- Extraer del animal 3-4 chorros de cada cuarto



3.-Inclinar la bandeja y nivele la cantidad de leche



4.- Agregar 2 cm del reactivo CMT en cada uno de los depósitos de la bandeja y agite simultáneamente y observe la reacción.



7.5.4 Interpretación de resultados

N= Negativo (no infectado) no hay espesamiento de la mezcla

T= Trazas (Posible infección) Ligero espesamiento de la mezcla. La reacción “Trazas” parece desván ejerce con la rotación continua de la raqueta.

1= Positivo débil (infectado): Definido espesamiento de la mezcla, pero sin tendencia a formar gel. Si la raqueta se rota por más de 20 segundos, el espesamiento puede desaparecer.

2= Positivo evidente (Infectado): inmediato espesamiento de la mezcla se agita, esta se mueve hacia el centro de la copa, exponiendo el fondo del borde externo. Cuando el movimiento se detiene, la mezcla se nivela y cubre todo el fondo de la copa.

3= Positivo Fuerte (Infectado): Hay formaciones de gel y la superficie de la mezcla se eleva (como huevo frito). Esta elevación central permanece aún después de detener el movimiento de rotación de la raqueta de CMT.

Cuadro 9 Interpretación de los resultados de CMT (MelleMBERGER., 2000)

Grado de CMT	Rango de células somáticas	Interpretación
N (Negativo)	0- 200,000	Cuarto sano
T (Trazas)	200,000-400,000	Mastitis subclínica
1	400,000-1,200,000	Mastitis subclínica
2	1,200,000-5,000,000	Infección seria
3	Más de 5,000,000	Infección Seria



Figura 9 Ejemplo de resultado Negativo.



Figura 10 Ejemplo de resultado con Trazas


Cuadro 10 Formato de registro de resultados de la prueba de california

Formato de registro de resultados de la prueba de california	
Fecha:	Hora de ordeño:
Establo / Unidad de producción:	
Raza:	Alimentación:

No.	Número de marcaje	Cuarto	Resultado	Tiempo de lactancia
1		DD		
		DI		
		TD		
		TI		

7.5.5 Elaboración de Reactivo para la prueba de California.

Cuadro 11 Materiales utilizados para el reactivo CTM

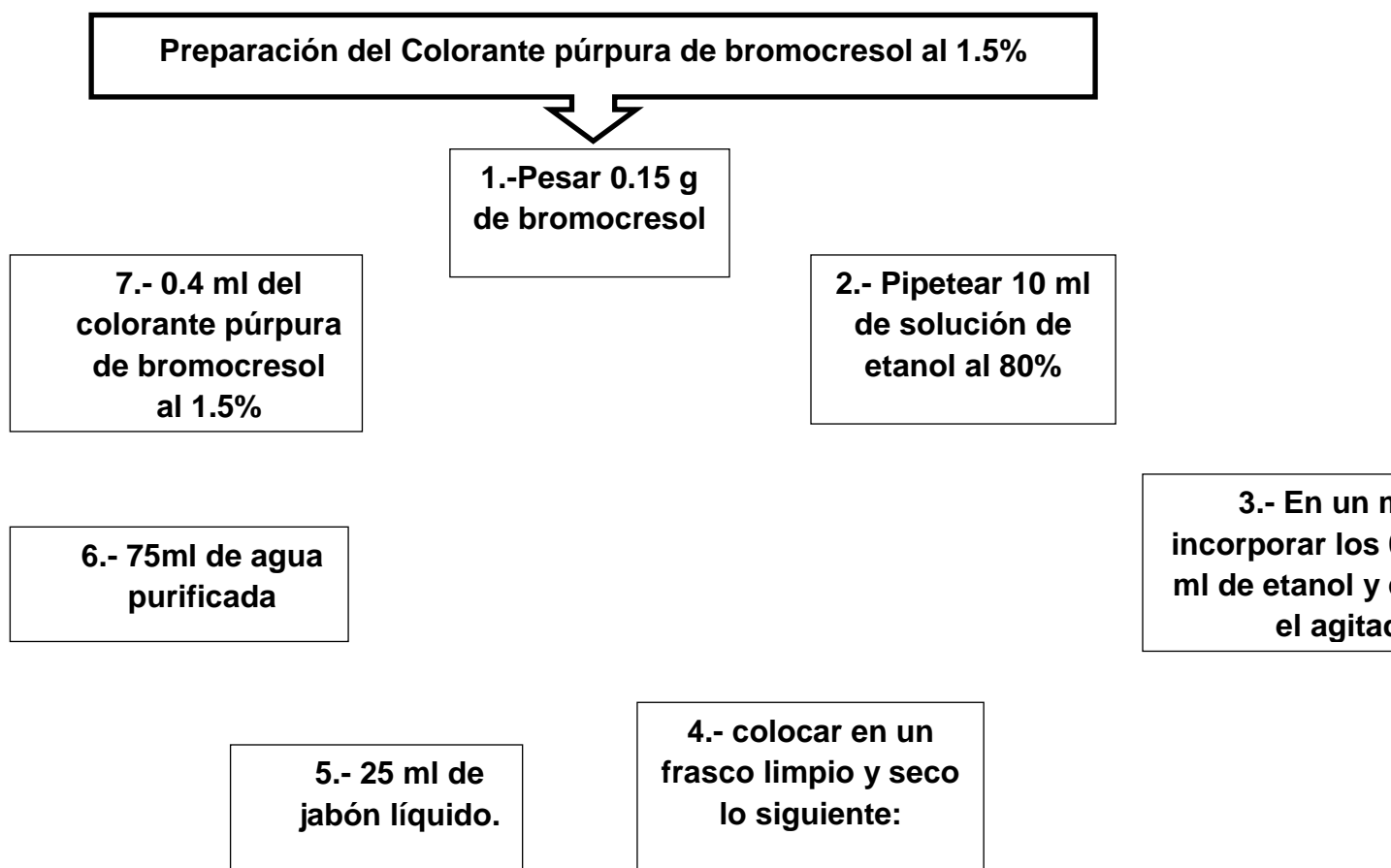
Material de laboratorio	
Matraces Erlen Meyer de 500 ml.	
Probetas graduadas de 100 ml	
Pipetas automáticas 10 – 100 y 100 – 1000 μ L	
Agitador magnético con imán para agitación	
Balanza y papel aluminio	
Envases plásticos.	

Cuadro 12 Reactivos utilizados para CTM

Reactivos	
Compuesto	Cantidad (ml)
Jabón líquido	25
Agua purificada	75
Colorante púrpura de bromocresol al 1.5%	0.4



Diagrama de flujo 1.- Elaboración de reactivo para la prueba de california



7.5.6 Ventajas y desventajas

Cuadro 13 Ventajas y desventajas de la prueba de CTM

Ventajas	Desventajas
En condiciones de campo este método es recomendado dada su utilidad práctica, bajo costo y rápido resultado.	Se debe de contar con experiencia en la lectura del método para determinar el valor de Cs.
Permite realizar un adecuado control de la enfermedad y tendría un posible impacto en el monitoreo de programas preventivos.	Si no se realiza el procedimiento de forma adecuada, se podría tener un falso resultado.

6.5 Conteo de Células Somáticas Mediante el Equipo DCC De Laval

7.5.1 Propósito

Esta prueba se utiliza para el contar el número de células somáticas, que está relacionada con la salud del animal. EL contenido de células somáticas en la leche nos permite conocer el estado funcional y de salud de la glándula mamaria, debido a su estrecha relación con la composición de la leche, es un criterio de calidad muy importante. En el laboratorio de cuentan con distintos métodos que permiten realizar una determinación directa o indirecta de células somáticas (Ruiz Romero, 2016).

7.6.2 Principio

El DCC cuenta el número de células somáticas de la leche de una vaca o un cuarto de vaca, también se puede medir a nivel de tanque. El DCC cuenta las células somáticas ópticamente y de forma automática. Una cámara digital toma una foto de los núcleos de





las células somáticas, que se tiñó en el casete con un reactivo fluorescente específica de ADN y cuenta con núcleos de las células uno a uno. El DCC es un instrumento portátil y su puesta en marcha sólo tarda unos segundos. Inicia con absorber una pequeña cantidad de leche en el casete y la inserta en el DCC. La muestra resultado muestra claramente como células / ml de leche en la pantalla, a sólo 45 segundos después de que el casete se inserta. Es un instrumento muy profesional para el diagnóstico de mastitis. El DCC permite comprobar y monitorear el recuento de células somáticas directamente en granja y tener resultados en menos de un minuto.

7.6.3 Materiales y métodos

Cuadro 14 Materiales utilizados en DCC de Laval

Materiales	
Leche	
De Laval cell counter	
Casetes	

Cuadro 15 Método utilizado en DCC de Laval

Método	
<p>1. Sacar un casete de su bolsa de aluminio.</p>	
<p>2. Mezclar la muestra de leche suavemente girando e invirtiendo el recipiente de muestras unas cuantas veces. La temperatura de la muestra debe estar entre 10°C y 40°C</p>	
<p>3. Colocar la entrada del casete en la muestra de leche</p>	
<p>4. Presionar el pistón</p>	

5. Verificar que la muestra llegue hasta la mitad del recorrido (La leche entra en contacto con los reactivos. Para obtener un resultado el casete debe colocarse en el DCC y comenzar la medición en los 2 minutos)






6. Colocar el casete en el contador de la entrada del casete a la izquierda



7. Cerrar la tapa de inserción de la muestra (la tapa abierta puede modificar a la medición) y pulsar la tecla "RUN" (La pantalla muestra los diferentes pasos sucesivos durante el proceso de medida)



<p>8. Anotar el valor del conteo de células somáticas que aparece en la pantalla</p>	
<p>9. Sacar el casete del aparato y tirarlo</p>	
<p>10. Cerrar la tapa de inserción de la muestra una vez finalizada la medición</p>	

7.6.4. Ventajas y desventajas

Cuadro 16 Ventajas y desventajas en DCC de Laval

Ventajas	Desventajas
<p>Es un método rápido y confiable, se puede realizar en cualquier lugar, se puede utilizar como medida preventiva para mastitis bovina.</p>	<p>Solo es observable en casos agudos de mastitis clínica.</p>

7.7 Pruebas de Alcohol

7.7.1 Propósito


En los centros de acopio de leche y en las industrias esta prueba es clave, y tiene la finalidad de detectar la estabilidad térmica de la leche cruda; es decir, si la leche tiene capacidad de resistir altas temperaturas de procesamientos sin presentar coagulación visible.

7.7.2 Principio

Cuando se mezcla un volumen dado de alcohol con leche, provoca una deshidratación parcial de ciertos coloides hidrofílicos presentes en la muestra, desnaturalizándolos y alcanzando un estado de desequilibrio entre sus dos fases discontinuadas (emulsión grasa y suspensión coloidal) por lo que flocculan. Este alcohol, abajo del cual la leche térmicamente estable no flocculará y por lo tanto la leche resistirá un tratamiento térmico.

7.7.3 Materiales, Reactivos y Métodos

Cuadro 17 Materiales y Reactivos para la prueba de alcohol

Reactivos y materiales:	
Alcohol etílico al 72% v/v	
Tubos de ensayo de 10 ml	
Pipetas	
Probeta	

Cuadro 18 Métodos utilizados para la prueba de alcohol

Método:

1.- Para preparar el alcohol se usa la formula siguiente:

$C_1V_1=C_2V_2$, en donde

C_1 =concentración de etanol concentrada

V_1 =incógnita

C_2 = concentración de etanol deseada

V_2 = volumen de etanol deseada

Ejemplo: para preparar un litro de alcohol al 72% partiendo de alcohol al 96%

$$96\%V_1 = 72\%(1000\text{ml})$$

$$V_1 = \frac{72\%(1000\text{ml})}{96\%}$$

$$96\%$$

$$V_1 = 75 \text{ ml}$$

Al volumen 1 se le incorpora 25 ml de agua destilada para obtener 100ml de concentrado al 72%

2.- Medir 2 ml de muestra



3.- Agregar 2 ml de alcohol étílico al 72% v/v



4.- Mezclar y observar si hay formación de grumos.

7.7.4 Expresión de resultados

La formación de grumos (reacción positiva), es clara evidencia de que la estabilidad de la suspensión coloidal de la leche se encuentra afectada, por lo que no resistirá el proceso térmico de la pasteurización (se expresa el resultado como positivo o negativo).

7.7.5 Ventajas y desventajas

Cuadro 19 Cuadros ventajas y desventajas de la prueba de alcohol

Ventajas	Desventajas
Es un método práctico fácil de utilizar, para evaluar la calidad de leches en tanques.	No especifica el número total de células somáticas.

7.8 Reducción de Azul de Metileno

7.8.1 Propósito

Indicador de la carga bacteriana o células en la leche.

7.8.2 Principio:

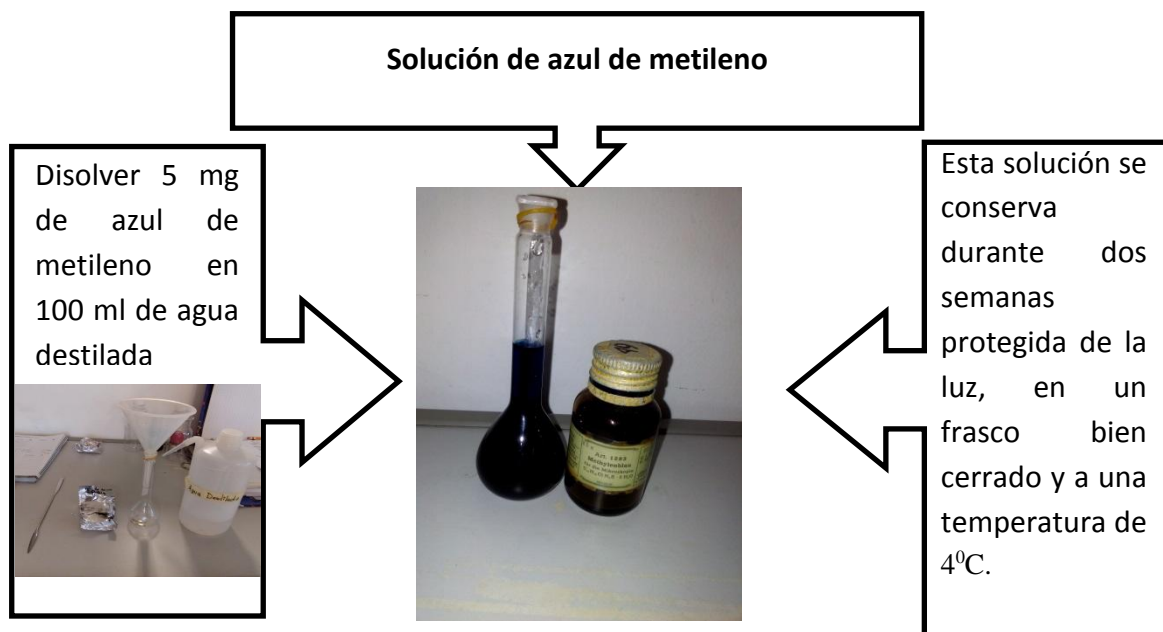
Cuando se añade una pequeña cantidad de azul de metileno a la leche y la mezcla se incuba a 37 °C, se produce una decoloración debida al metabolismo bacteriano, la velocidad a la que se produce el cambio de color es directamente proporcional al número de gérmenes presentes.

7.8.3 Elaboración de la solución de azul de metileno

Cuadro 20 Materiales y Reactivos utilizados para la elaboración de la solución de reducción de azul de metileno

Materiales y Reactivos	
Agua destilada	
Azul de metileno	
Matraz aforado de 100 ml	

Diagrama 2.- Elaboración de solución de azul de metileno


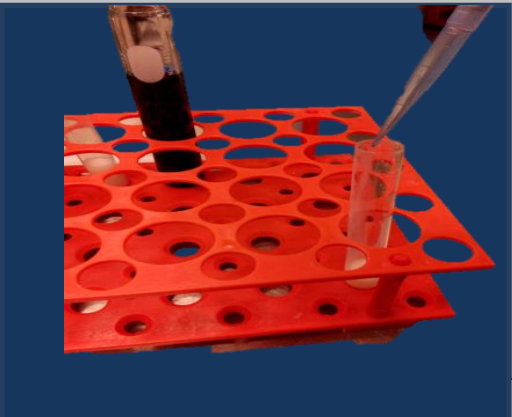





7.8.3 Elaboración del método azul de metileno

Cuadro 21 Materiales y reactivos para la prueba de azul de metileno.

Materiales y reactivos	
Tubos con tapón	
Pipetas graduadas de 10 ml estériles	
Frascos color ámbar con tapón de rosca de 200 ml estériles	
Solución de azul de metileno	
Baño en circulación mecánica a 37°C	

Cuadro 22 Método de la prueba de azul de metileno

Método	
<p>1.- Colocar de manera aséptica 10 ml de la muestra de leche por analizar en un tubo estéril</p>	
<p>2.- Añadir de igual forma 1 ml de la solución de azul de metileno.</p>	

<p>3.- Cerrar el tubo con el tapón e invertir el tubo una o dos veces para mezclar la leche con el colorante.</p>	
<p>4.- Incubar a 37°C en baño de agua, cuidando que el nivel del agua del baño sobrepase el de la mezcla.</p>	
<p>5.- Cuando la leche este decolorada se sacan del baño.</p>	
<p>Registrando el tiempo en el que se ha producido la decoloración</p>	
<p>Los tubos cuyo contenido permanece azul, se invierten una vez cada media hora y se continúa la incubación hasta la desaparición del color azul.</p>	

Es frecuente que en la zona de contacto de la leche con el aire persista una franja coloreada que no se toma en cuenta para la interpretación de la prueba.

7.8.4 Interpretación de resultados

Se puede calcular aproximadamente los resultados de la prueba del azul de metileno de la siguiente forma:

Cuadro 23 Evaluación de resultado de la prueba de azul de metileno

Tiempo de decoloración	Número estimado de bacterias por ml	Calidad de la leche
5 horas	100 000 a 200 000	Buena
2 a 4 horas	200 000 a 2 millones	Buena a regular
Menos de 2 horas	2 a 10 millones	Mala

7.8.5 Ventajas y desventajas

Cuadro 24 Ventajas y desventajas de la prueba de azul de metileno

Ventajas	Desventajas
Es un método para medir la calidad de la leche así como la estimación de bacterias presentes.	El tiempo que se utiliza para la elaboración de este método es de 6 horas aproximadamente por lo que su lectura no es rápida.

7.9 Reducción de Resazurina

7.9.1 Propósito

Para el diagnóstico rápido de mastitis es funcional debido a que las células somáticas presentes en la muestra de leche se reducen al colorante.

7.9.2 Principio


Se produce a partir de una decoloración debido al oxido-reducción. La pérdida de oxígeno se reduce en dos etapas:

- 1.- tonalidades violetas hasta rojiza, el cual es debido a la transformación de resazurina en resofurina.
- 2.- Etapa reversible, decoloración completa en el cual la resofurina se reduce a dihidro-resofurina, por oxidación puede pasar de nuevo a resofurina.

El tiempo con que ocurre la reducción está relacionado con la densidad bacteriana de la muestra de leche.


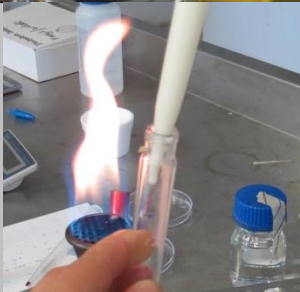

7.9.3 Materiales y métodos

Cuadro 25 Materiales utilizados en la reducción de resazurina

Materiales:	
Tubos calibrados de 10 ml con tapón estériles	
Pipetas graduadas de 10 ml estériles	
Frascos color ámbar con tapón de rosca de 200 ml estériles	

Solución estándar de resazurina	
---------------------------------	--

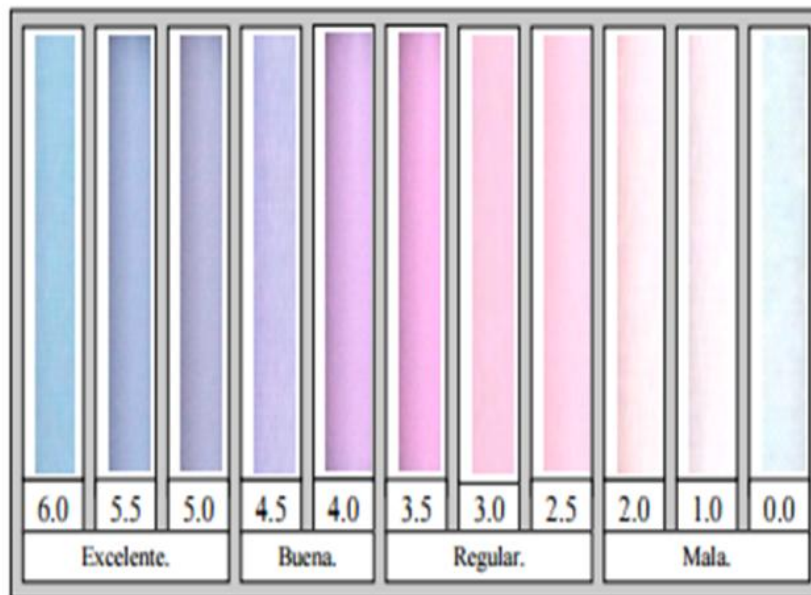
Cuadro 26 Métodos utilizados en la reducción de resazurina

Método	
1.- Preparar la solución estándar de resazurina (Añadir 0.1 g de resazurina en polvo a 200 ml de agua destilada, mezclar y calentar en baño maría por media hora). Conservar a 4°C.	
2.- Diluir en porción de 1/10. Ejemplo: 100 ml de resazurina x 900 ml de agua estéril para 10 ml de muestra de leche	
3.- Para analizar colocar los 10 ml de leche en un tubo estéril y añadir 1 ml de solución de resazurina e invertir la muestra para mezclar.	
4.- Incubar a 37°C en baño maría durante una hora	

7.9.4 Interpretación de resultados

Después de una hora de incubación a baño maría se determina los resultados de acuerdo a la coloración como se observa en la tabla de patrón de coloración.

Figura 11 Patrón de coloración.



Cuadro 27 Interpretación de resultados de resazurina

Calidad	Color	Calidad bacteriana UFC/ml
Excelente	Azul Celeste	< 100,000
Buena	Violeta azulado	100,000 a 500,000
Regular	Violeta rojizo	
Mala	Rojo, rosa, incoloro	>500,000

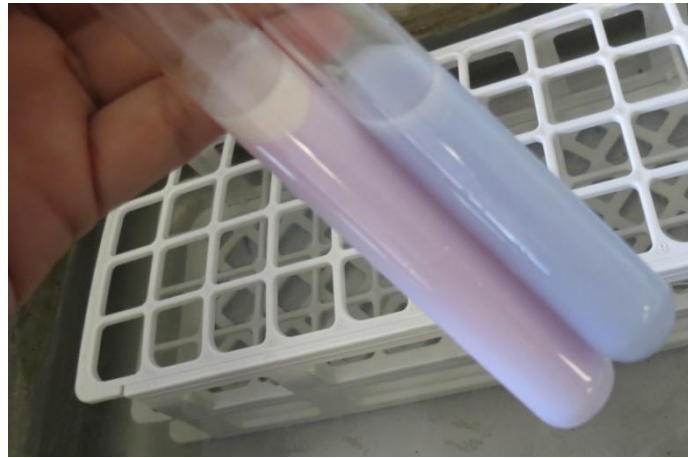


Figura 12 Ejemplo de resultado buena calidad (violeta azulado) izquierda y excelente calidad (azul celeste).

7.9.4 Ventajas y desventajas

Ventajas	Desventajas
Es un método fácil identifica la calidad de la leche, el tiempo es menor que la reducción por azul de metileno	Solo identifica bacterias aerobias

7.10 Cuenta directa de células somáticas en la leche

7.10.1 Propósito

Es la determinación directa o indirecta del número de células somáticas, mediante la Observación al microscopio de un frotis.


7.10.2 Principio

Teñir los núcleos de las células a través de un colorante en el cual se puede observar núcleos de los leucocitos.

7.10.3 Elaboración del colorante Newman Lampert

Cuadro 28 Reactivos para la elaboración del colorante Newman Lampert.

Reactivos	
Etanol 95%	54 ml
Xileno	40 ml
Azul de metileno	0.6 g
Ácido acético glacial	6.0 ml

A photograph of a laboratory bench showing various glassware and reagents. In the foreground, there is a large brown glass bottle, a smaller glass bottle with a blue cap, and a graduated cylinder. In the background, there are stacks of white containers, a blue bottle, and other laboratory equipment. The bench is a light-colored metal surface.

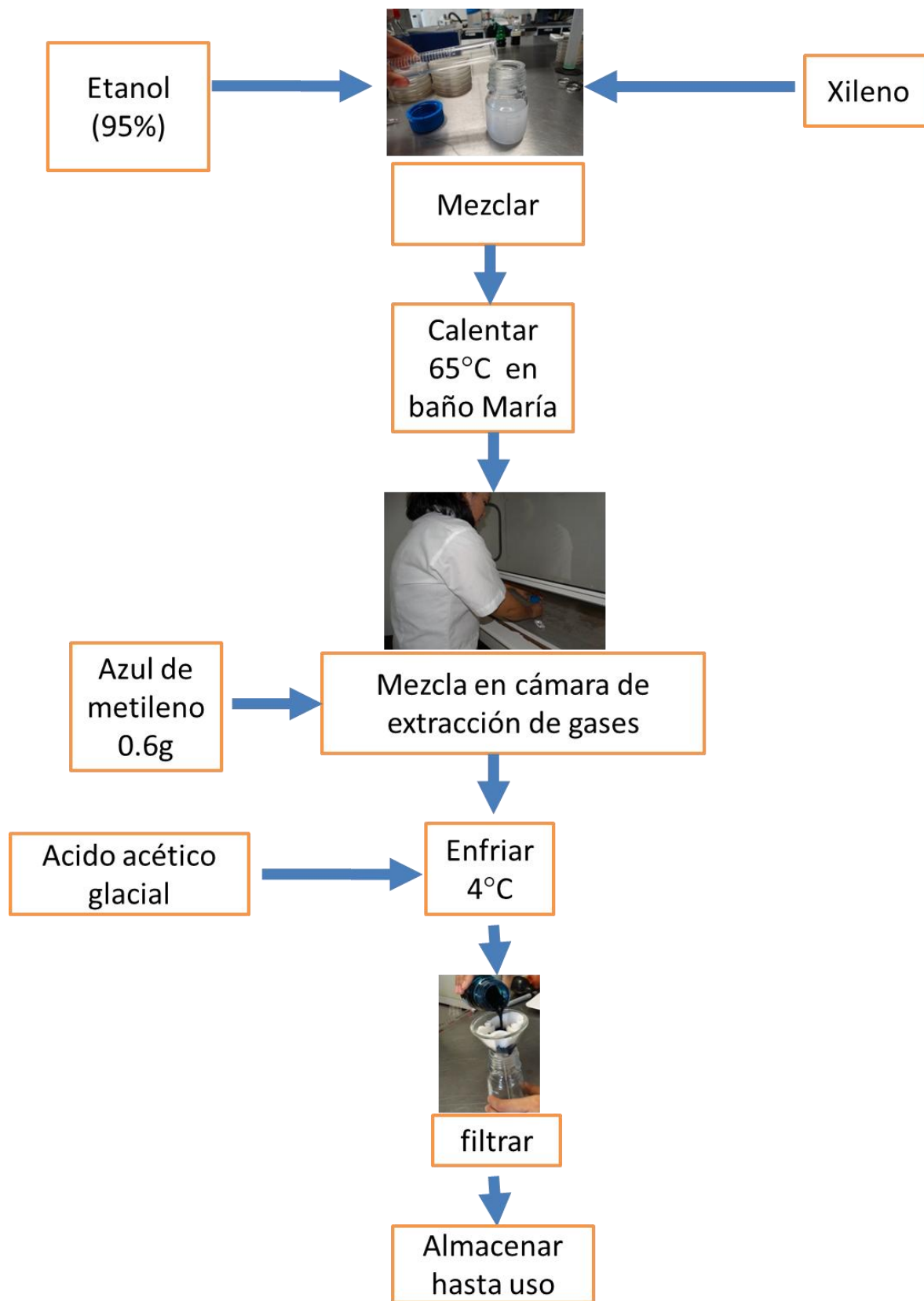
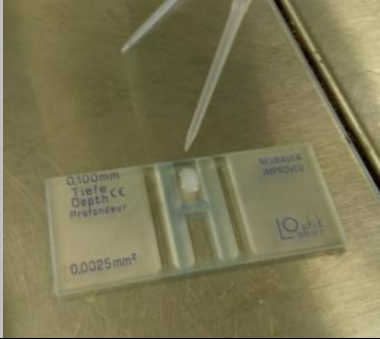




Diagrama 3.- Elaboración del colorante Newman Lampert.

7.10.4 Preparación del frotis para la cuenta directa de células somáticas

Cuadro 29 Método de la preparación del frotis y tinción con colorante Newman-Lampert para la cuenta directa de células somáticas

Método	
<p>1.- Tomar con la micro jeringa 0.01 ml (10 μl) de la muestra (eventualmente diluida),</p> $0.01\text{ml} \frac{(1000\mu\text{l})}{1\text{ml}} = 10\mu\text{l}$	 A Neubauer counting chamber is shown on a metal surface. A pipette tip is positioned above the central well. The chamber has markings for '0,100mm Tiefe / Depth / Profondeur' and '0,0025mm²'. The 'LOptik abo r' logo is visible in the bottom right corner.
<p>2.- Poner 5 μl de leche y 5 ml de agua destilada. Con la punta extender la muestra de manera uniforme sobre toda el área definida garantizando al mismo tiempo que la zona cercana al perímetro este cubierta uniformemente.</p>	 A hand is using a pipette to dispense a liquid sample into the central well of a Neubauer counting chamber. The chamber is placed on a metal surface. A beaker with yellow liquid and a blue bottle are visible in the background.
<p>3.- Dejar el frotis a temperatura ambiente hasta que esté completamente seco</p>	 A Neubauer counting chamber is shown on a metal surface. A thin, uniform layer of the sample is spread across the central well and the surrounding area. The chamber has markings for '0,100mm Tiefe / Depth / Profondeur', '0,0025mm²', and 'NEUBAUER IMPROVED'. The 'LOptik abo r' logo is visible in the bottom right corner.

4.- Agregar 10 μ l de disolución colorante modificada de Newman-Lampert en el frotis seco, por lo menos durante 15 minutos. Secar el frotis a temperatura ambiente



5.- Mojar suavemente el frotis con agua de la llave hasta que todo el colorante excedente se elimine con el lavado.



7.10.5 Lectura del frotis

1. Con el microscopio enfocar en el objetivo de 10x y enfocar el mejor campo visual con el micrómetro el detalle de la rejilla de la cámara de Neubauer
2. Cambiar el objetivo a 40x y enfocar con el micrómetro para identificar las células en cada campo
3. Buscar el primer cuadro donde vaya a realizarse el recuento considerando que si las células tocan el límite superior o el límite izquierdo del cuadro, deben contabilizarse, pero si tocan el límite inferior o el límite derecho no se debe de tomar en cuenta, el conteo se debe realizar en forma de zigzag.

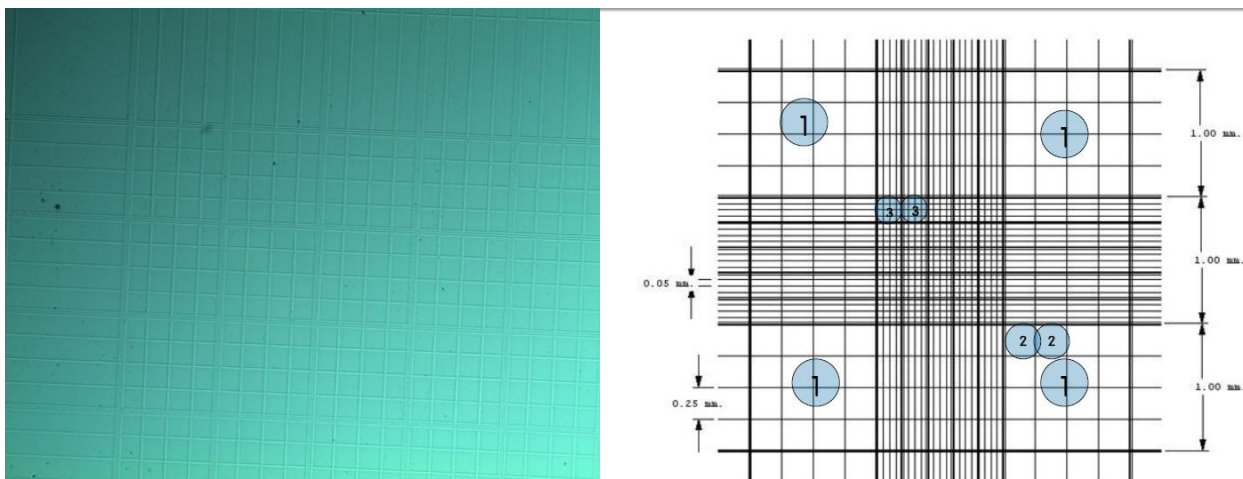


Figura 13 Detalle de la rejilla de la cámara de Neubauer

7.10.6 Calculo de la concentración

A través de la siguiente formula se realiza el cálculo de concentración celular:

$$\text{Concentración (cel. /ml)} = \frac{\text{Numero de células} \times 10,000}{\text{Volumen en ml}}$$

Dónde:

Número de células= la suma de todas las células contadas

Volumen = número total de todos los cuadros donde se realizó el recuento

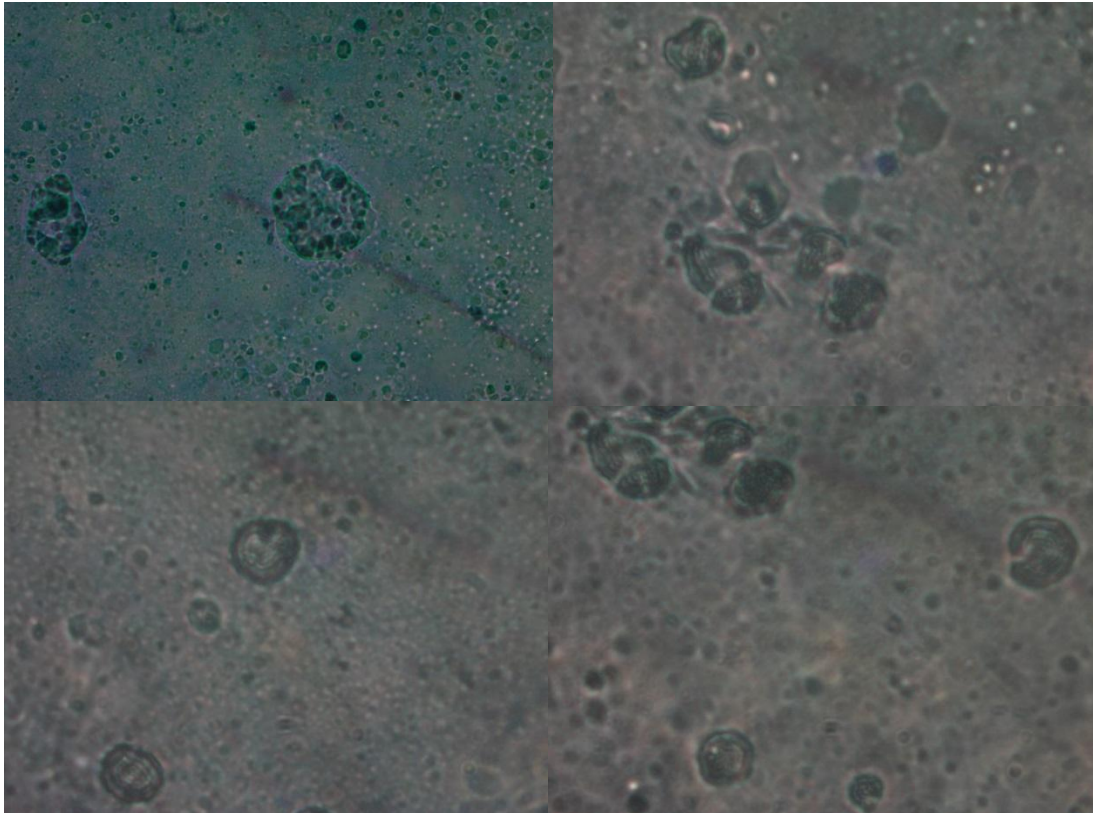


Figura 14 Ejemplo de células somáticas vista con objetivo a 40X

7.10.7 Ventajas y desventajas

Cuadro 30 Ventajas y desventajas de la cuenta directa de células somáticas

Ventajas	Desventajas
Se identifica y se realiza una estimación del contenido de células somáticas presentes en la leche.	El tiempo que se utiliza para la elaboración de este método es de más de 8 horas aproximadamente, es complicada su lectura e identificación, que se logra solo con la práctica.

7.11 Analizador de Leche Lactoscan

7.11.1 Propósito


Analizar de manera rápida la composición de la leche como: grasa, sólidos no grasos, lactosa, porcentaje de agua, temperatura, Ph, así como densidad de la muestra.

7.11.2 Principio



Usa tecnología de ultrasonido lo cual permite que todos los componentes sean medidos al mismo tiempo.

7.11.3 Materiales y métodos

Cuadro 31 Material utilizado para el analizador Lactoscan

Material	
Equipo analizador de Lactoscan	
Muestra de leche y agua destilada	

Cuadro 32 Método utilizado para la prueba de Lactoscan

Método	
1.- Antes de iniciar la leche debe de estar a una temperatura de 15 a 25 C, dos horas después de la ordeña.	
2.- se mezcla la muestra y se vierte en el vasito para colocarlo en el aspirador de muestra.	
3.- Se oprime el botón de “Enter”, el tiempo del análisis es de 60 segundos	
4.- En la pantalla se muestran los resultados oprimir las flechas hacia arriba o hacia abajo para observar todos los resultados	
5.- Realizar dos pruebas de la misma muestra con la finalidad de que el resultado sea confiable y efectuar limpieza entre cada muestra.	

7.11.4 Lectura

Los datos de densidad se muestran en forma abreviada. Ejemplo: resultado = 31.10; la densidad = 1000 + 31.10 = 1031.1 kg/m3

La lectura se realiza dónde

En la página 1

G= medición de GRASA en porciento

S= medición de SOLIDOS NO-GRASOS en porciento

D= medición de densidad en porciento

P= medición de proteínas en porciento

L= medición de lactosa en porciento

A= medición de agua adicionada a la muestra en porciento

En la página 2

T= medición de temperatura de la muestra

Ph= medición de pH de la muestra

PC= medición del punto de congelación de la muestra

S= Valores de sólidos medidos.

En la página 3

L= Medición de lactosa %

7.11.5 Ventajas y desventajas

Cuadro 33 Ventajas y desventajas del Lactoscan

Ventajas	Desventajas
Evalúa la composición de la leche y determina la calidad de la leche de acuerdo a los resultados y comparándolos con el porcentaje correspondiente Se puede hacer a nivel estanque/vaca/ cuarto	Si la limpieza del equipo no se efectúa correctamente puede existir una variación en el resultado. El costo del equipo es elevado.

7.12 Medio de Cultivo

7.12.1 Propósito

Cultivar a los microbios presentes en la leche con sospecha de mastitis. Los medios de cultivo se utiliza para aislar e identificación presuntiva de los microorganismos presentes en muestras positivas en pruebas de calidad de leche.


7.12.2 Principio

El medio de cultivo es un aporte de nutrientes que se requiere para el crecimiento de los microorganismos que sean causante de la mastitis, en este caso se utiliza agar sangre es un medio útil tanto para el aislamiento y cultivo de microorganismos aerobios y anaerobios esto se observa a través de reacciones de hemólisis. En la preparación se utilizó sangre de vaca la cual ayuda a generar colonias de *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus* que producen zonas de hemólisis en estos medios.




7.12.3 Preparación de medio de cultivo – Agar sangre

Cuadro 34 Reactivos utilizados para la preparación del medio de cultivo

Reactivos:	
Lab-Lemcopowder	10.0 g
PeptoneNeutralised	10.0 g
Sodio	5.0 g
Agar base	15.0 g

A photograph showing laboratory reagents on a metal surface. There are three white plastic bottles with red caps, a small orange digital scale, and some aluminum foil packaging. The bottles are labeled with various chemical names and quantities, corresponding to the list in the table.

Cuadro 35 Métodos utilizados para la elaboración del medio de cultivo

Métodos	
1.- Obtención de sangre desfibrada a través de obtención de sangre de ganados sanos almacenados en tubos de ensayo con anticoagulante. (50 ml)	
2.- Pesar cada uno de los reactivos Lab-Lemcopoweder, Peptone Neutralised, sodio, Agar base.	
3.- Hervir un litro de agua destilada e incorporar los reactivos mezclar perfectamente hasta obtener una suspensión homogénea.	
4.- Esterilizar durante 25 minutos a 121°C	
5.- Enfriar a 45-50°C agregar sangre desfibrada al 5% y homogeneizar	

6.- Distribuir en placas uniformemente cuidadosamente de no generar burbujas.



7.12.4 Siembra por Estrías En Agar Sangre

Propósito:

Esta técnica es utilizada para diagnóstico y la identificación de agentes patógenos.



Principio:

La siembra de estría se utiliza para estudiar la morfología y propiedades hemolíticas de colonias aisladas.

Cuadro 36 Materiales utilizados para la siembra en agar sangre

Materiales	
Asa	
Mechero Bunsen	
Placas de cultivo Agar Sangre	

Cuadro 37 Métodos utilizados para la siembra en agar sangre

Método	
1.-Sumergir el asa en alcohol y flamear la longitud del asa hasta la incandescencia y dejar enfriar por unos segundos.	
2.- Tomar con el asa una pequeña Porción de la muestra	
3.- levantar la cubierta de la placa de cultivo y hacer estrías en una cuarta parte, más o menos, del área de la superficie y se tapa la placa.	
4.- Repetir el proceso para las siguientes cuartas partes de la placa	
5.- se pone a incubar	

7.12.5 Lectura

Es posible obtener un cultivo puro a partir de las colonias separadas suficientemente, el éxito depende de la superficie donde se ha distribuido la muestra para el análisis de la morfología de las colonias se determinan a partir de la siguiente manera:

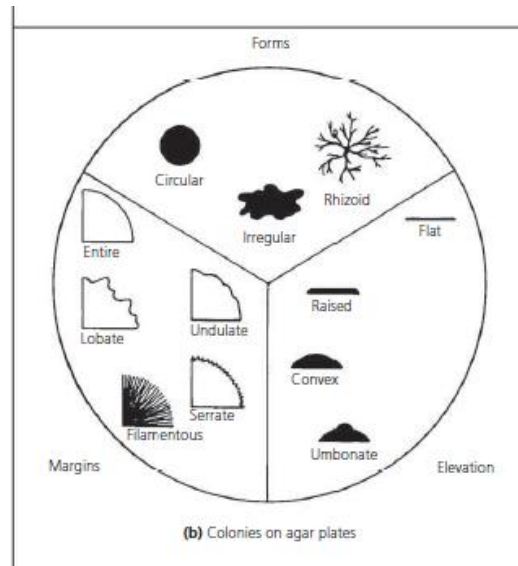


Figura 15 Interpretación de las lecturas de las colonias.

Patrones de hemolisis



Figura 16 Beta hemolisis



Figura 17 Alfa hemolisis



Figura 18 Gama hemolisis

7.12.6 Ventajas y desventajas

Cuadro 38 Ventajas y desventajas de los medios de cultivo

Ventajas	Desventajas
Detectar diferentes tipos de bacterias causantes de mastitis, y efectuar un tratamiento adecuado	Durante la elaboración y preparación puede contaminarse.

8 RESULTADOS

Durante el desarrollo de las descripciones de los métodos de detección de mastitis bovina y calidad de leche en una unidad de producción.

Durante la supervisión realizada al establo del Campo Experimental del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco de lo cual se destaca lo siguiente:

El ordeño se efectúa solo una vez al día, a las 7:00 horas, la recolección se hace diaria, la raza con la que cuenta la unidad es Cebú x Holstein con diferente encaste, la dieta base es camalote (*Paspalum fasciculatum*) sistema de alimentación es a través de pastoreo libre, durante la ordeña alimento balanceado y por la tarde pollinasa con alimento balanceado con respecto a la calidad del agua se considera buena ya que es agua potable. El hato está integrado por un total de 40 vacas de las cuales 12 vacas están en producción, el rendimiento de ordeña por día es de 35 a 40 litros de los cuales corresponde a 2.9 /3.3 litros de producción por animal, el tipo de ordeña es mecánica con maquina eléctrica SIEMENS/ pulsador eléctrico RODEG, el material de las pezoneras es de goma la limpieza se hace cada 15 días y el recambio de piezas solo cuando estas no son funcionales, la revisión del equipo es diaria la capacidad del equipo de ordeño es de 6 vacas, cuentan con dos ordeñadores y se lleva un tiempo de 30 minutos x animal, la higiene del establo en general es muy buena.

Del método de paño negro realizado no se encontró resultado positivo, durante la prueba de california o mastitis Test se encontró cinco resultados positivos con trazas como se observa en la tabla siguiente:

Cuadro 39 Resultado en prueba de california/ mastitis test

No.	Número de marcaje	Cuarto	Resultado	Tiempo de lactancia/días
1	45	DI	T	180
2	13/11	DI	T	30
3	27/11	DD	T	150
4	63/12	DD	T	30
5	64/12	TD	T	90

Cuadro 40 Resultado con analizador de leche Lactoscan y DCC de Laval

Marcaje	Lactoscan										DCC de Laval/ μ l
	G	D	L	S	P	A	T	PC	S	PH	
45	3.2	34.16	4.85	0.82	3.45	0	26	8.542	8.71	3.01	72
13/11	3.2	28.8	4.4	8.1	3.2	0	11.2	0.5	0.7	3.0	396
27/11	3.2	31.98	4.56	8.26	2.3	0	20.0	0.588	0.67	3.01	423
63/12	3.67	38.21	4.68	8.53	3.33	0	12.2	0.544	0.7	3.01	621
64/12	3.21	28.77	4.42	8.06	3.16	0	11.2	0.509	0.66	3.01	396

Se ha demostrado que números elevados de células somáticas, afectan la composición de la leche, esto como consecuencia de la lisis sufrida por leucocitos y bacterias durante la acción de defensa del sistema intramamario contra las infecciones bacterianas.

Durante la prueba de alcohol se genera una deshidratación parcial de los coloides estos se precipitan por el efecto deshidratante del alcohol, que es causado por la presencia de sales, las cuales están presentes en la leche con mastitis y compiten por agua, es un método practico, sencillo y económico.

Las pruebas de resazurina y la de reducción de azul de metileno, identifican únicamente la presencia de bacterias aerobias, debido a que utilizan como principio la reacción óxido-reducción del oxígeno disuelto presente en la leche el cual es consumido por las bacterias y esto permite su reducción. Por lo cual no toma en consideración a bacterias anaerobias, y para el conteo de células somáticas se evalúa de manera indirecta la totalidad de bacterias presentes en la leche siendo las bacterias anaerobias las principales fuentes de infección intramamaria y provoca la mastitis.

Los cultivos elaborados con agar sangre no se identificó aislamiento de patógenos, esto no indica la ausencia de los mismos. En cultivos rutinarios se considera que el *S. aureus* y *S. agalactiae* provienen del interior de la glándula mamaria y no son el resultado de la contaminación externa.

Cuadro 41 Evaluación general de los métodos de detección de mastitis bovina y calidad de la leche

Métodos	Rango de Tiempo	Rango de confiabilidad	Rango Económico	Grado de complejidad
Prueba del Paño negro	Bajo	Bajo	Bajo	Fácil
CMT	Bajo	Alto	Medio	Fácil
DCC de Laval	Bajo	Alto	Alto	Fácil
Prueba de Alcohol	Bajo	Bajo	Bajo	Fácil
Reducción de Azul de Metileno	Medio	Medio	Bajo	Medio
Reducción de Resazurina	Medio	Medio	Bajo	Medio
Cuenta Directa de Células Somáticas	Alto	Alto	Medio	Alto
Lactoscan	Bajo	Alto	Alto	Bajo
Medio de cultivo	Alto	Alto	Medio	Alto

9 CONCLUSIONES

Los métodos descritos en la presente tesina son una fuente de recursos para la detección oportuna de la mastitis bovina así como para el mejoramiento en la calidad de la leche que permite identificar desde el grado de la enfermedad así como el tipo de infección ya sea de forma subclínica o clínica que puede presentarse en una unidad de producción lechera, además permite conocer diferentes métodos el cual servirá en cierto grado esencial para tener un diagnóstico más preciso, este tipo de prevención lograra que los productores tomen las medidas necesarias para evitar que la enfermedad se disemine en el hato.

Se describen las ventajas y desventajas de cada método, lo cual permite que el productor considere el método que se adecua a sus necesidades.

10 REVISIÓN DE LITERATURA

- Ariznabarreta A, Gonzalo, C., San Primitivo, F.2002. Microbiological Quality and Somatic Cell Count of Ewe Milk with Special Reference to Staphylococci. No. pp. 85:1370.
- Ávila S, Gutiérrez A. J, Sánchez J. I, Canizal.E. 2002. Comparación del estado de salud de la ubre y la calidad sanitaria de la leche de vacas ordeñadas manual o mecánicamente. Veterinaria México.
- Ávila T.S. 1984. Producción intensiva de ganado lechero. Anatomía y fisiología de la glándula mamaria. Edit. Continental. México. pp. 139-157.
- Bedolla C.C. 2004. Métodos de detección de la mastitis bovina. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. No. Pp. 8.
- Browning G. F. 2001. Molecular Epidemiology of *Streptococcus uberis*
- Castro, E., E. 2013. Presidente Quesos de Poro Genuino de Balancán SPR de RL de CV.
- Cepero O., Camacho C., Castillo J.C., Salado J.,2005. Conductividad Eléctrica y California Mastitis test en la Detección de Mastitis Subclínica. Revista electrónica Veterinaria REDVET Vol. VI, No. 3. Cuba disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63612812012>
- Charles A. 1984. Ciencia de la leche. Principios de técnica lechera. Edit. CECSA, México.No. Pp. 310.
- Cunningham J.G., Klein B.G. 2009. Fisiología Veterinaria. Editorial ELSEVIER 4ª edición, España. No. Pp. 501-570.

Dissertation Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine: 2-3, 239.

- Djabri, B., Barielle, N., Beaudreau, F., Seegers, H. 2002. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a Meta analysis. Vet. Res. 33: 335-357.
- Escobar A. y Ponce P., 2001 Obtención evaluación de un diagnosticador químico para la determinación de mastitis. Rev. Salud Animal. 23:97-101.
- Estrada M.A. 2011. El libro blanco de la leche. Cámara Nacional de la Industriales de leche. México. No. Pp. 9-20.

- 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.
- Halasa, T., Huijps, K., Osteras, O. y Hogeveen, H. 2007. Economics effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. Veterinary Quarterly. Vol.29. No. pp. 18-31.
- 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.
http://www.ammveb.net/articulos/Tecnicas_alternativas.pdf
Isolates from Dairy Cows with Mastitis. Journal of Clinical Microbiology. 39:1460-1466.
- Kerry D. E, y Wellnitz O. 2003. Mammary Expression of New Genes to Combat Mastitis. J Anim. Sci. 81 (suppl.3): 38-47.
- Marek, J. y Múcsy J. 1973. Tratado de diagnóstico clínico de las enfermedades internas de los animales domésticos. Editorial Labor, S.A. Barcelona. No. Pp. 455
- Martínez, G., Harel, J., Higgins, R., Lacouture, S., Daignault, D. y Gottschalk, M. (2000). Caracterización de aislamientos de *Streptococcusagalactiae* bovino y humano mediante análisis de ADN polimórfico amplificado aleatoriamente. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 38, No. pp. 71-78.
- 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 DM. (1986). Manual sobre ganado productor de leche. Edit. Villicaña S.A., México. No. Pp. 710-744.
- Philpot WN. 2001. Importancia de la cuenta de células somáticas y los factores que le afectan. III Congreso nacional de control de mastitis y calidad de leche, junio del 2001. León Gto. México. No. Pp. 26.
- Phuektes, P., Mansell, P. D., Dyson, R. S., Hooper, N. D., Dick, J. S. and

- Porporatto, C., Felipe, V. Mastitis, 2010. Confort animal y calidad de leche. Eduvim, Argentina, vol. 14.
- Reza, G. L. C. 2000. Mastitis bovina su reconocimiento clínico, programas de prevención y su terapia con anti mastiticos a base de cefapirinas. Mastitis bovina su reconocimiento clínico. México D. F.: 1 13.
- Ruiz Romero, R. A. 2016. Técnicas alternativas para el diagnóstico de mastitis
- Saran, A. Chaffer, M. 2000. Mastitis y calidad de la leche. Ed. Intermédica. No. P.p. 11-16, 23-50.
- Schmidt G.H., Van Vleck L.D. 1974. Bases Científicas de la Producción Lechera. Universidad de Cornell. Editorial Acribia. España. No. Pp. 65-75, 153-167
- Schrick, 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.
- W.R. Kelly. 1972. Diagnóstico clínico veterinario. Compañía Editorial Continental. México. No. Pp. 231.
- Wolter, W., Castañeda, H., Kloppert, B., Zschöck, M. 2004. Mastitis bovina prevención, diagnóstico y tratamiento. Editorial Universitaria. Guadalajara. No. Pp.19.
- Zadoks, R. N. 2002. Molecular and mathematical epidemiology of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus uberis* mastitis in dairy herds.

Páginas Web.

INEGI. Estados Unidos Mexicanos. Censo Agropecuario 2007, VIII Censo Agrícola, Ganadero y Forestal. Aguascalientes, Ags. 2009.
<http://www3.inegi.org.mx/sistemas/tabuladosbasicos/default.aspx?c=17177&s=est>

Mellenber R. 2001, California Mastitis Test (CMT) An Invaluable Tool for manain mastitis.
[http://www.immucell.com/pdf/An InvaluableTool.pdf](http://www.immucell.com/pdf/An%20InvaluableTool.pdf)

Enciclopedia bovina http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/e_bovina/04MastitisBovina.pdf web

<http://infolactea2.arquea.works/wp-content/uploads/2015/03/603.pdf> mastitis bovina y su impacto en la calidad de la leche

<http://www.aproval.cl/manejador/resources/libroblancomail5.pdf> el libro blanco de la leche

http://www.analiticaveterinaria.com/pdf/origen_control_contaminaci%F3n_bacteriana_leche.pdf Origen y control de la contaminación bacteriana en la leche, Escobar, I; Esnal, A; García, M^a. Analítica Veterinaria. Aritzbidea, 18, bajo. 48100 Mungia-Bizkaia. Tf/Fax:94/6744251

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172015000100011&script=sci_arttext Criterios de interpretación para California Mastitis Test en el diagnóstico de mastitis subclínica en bovinos

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_4760_Chaneton.pdf Nuevos enfoques en el diagnóstico, prevención y tratamiento de la mastitis bovina a través del uso de moléculas con acción antimicrobiana Chaneton, Luciano 2010