UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

USO DE UN GERMICIDA EN EQUIPO DE ORDEÑO COMO TRATAMIENTO PROFILACTICO CONTRA MASTITIS EN CABRAS

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE LICENCIADO EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA QUE PRESENTA

PMZ EMMA PATRICIA MERCADO LÓPEZ

DIRECTOR DE TESIS: MVZ. JORGE L. OLMOS VELÁSQUEZ

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QRO. 2007

RESUMEN

Este trabajo de investigación fue realizado con el objetivo de evaluar el uso de un germicida en un equipo de ordeño como medida profiláctica contra mastisis en cabras. La presente investigación se realizó en el centro Productivo Campus Amazcala de la Universidad Autónoma de Querétaro. Se utilizaron treinta y dos cabras nubia de distintas edades para ser ordeñadas con una máquina ordeñadora que consta con cuatro chupones o pezoneras (dos del lado izquierdo y dos del lado derecho). La investigación se dividió en dos etapas en: muestreo testigo y muestreo tratamiento. Se tomaron 90 muestras, durante dos meses; 80 muestras de las mamilas o chupones con hisopos estériles proporcionados por el laboratorio ACLINVET (40 del lado izquierdo y 40 del lado derecho) y 10 muestras directamente del tanque de leche con vasos estériles proporcionados por el laboratorio ACLINVET. Las muestras se llevaron al laboratorio ACLINVET donde se les realizó los estudios bacteriológicos para determinar la frecuencia de aparición de especies bacterianas y el número de unidades formadoras de colonias (UFC). Muestreo tratamiento se realizó cambiando la rutina de ordeño utilizando el germicida en donde las mismas treinta dos cabras nubia eran llevadas a la sala de ordeña, pero antes de ser ordeñadas se lavó la maquina ordeñadora con el germicida (Oxido cloroconcentivo); antes de colocarles los chupones o mamilas a las cabras se les asperjo a los pezones con germicida (Oxidante cloroconcentivo) y una vez que se terminaran de ordeñar todas las cabras en lugar de lavar la máquina con shampoo comercial, se lavaba con Oxidante cloroconcentivo. Se tomaron 160 muestras de las pezoneras o chupones con hisopos estériles proporcionados por el laboratorio ACLINVET y 20 del tanque recolector de leche con vasos estériles proporcionados por ACLINVET, durante 5 meses. En el laboratorio ACLINVET le les realizó pruebas bacteriológicas para determinar la frecuencia de aparición y unidad formadora de colonias. Se realizó pruebas de independencia de Chi-cuadrada comparando muestreo testigo con muestreo tratamiento en el número de veces que aparecieron las especies bacterianas y se realizaron pruebas de T de Student comparando promedios de número de UFC del muestreo testigo con muestreo tratamiento. En los resultados con respecto al porcentaje de aparición de bacterias hubo una disminución de bacterias causantes de mastitis contagiosas al usar el producto Oxido cloroconcentivo, las bacterias ambientales causantes de mastitis tuvieron el mismo porcentaje de aparición tanto en muestreo testigo como en muestreo tratamiento, en tanto a las bacterias ambientales no patógenas aumentaron su presencia porcentual al usar el producto Oxidante cloroconcentivo. Las pruebas de Chi-cuadrada mostraron que en la mayoría de los casos hubo una reducción significativa ($p<0.05$) o altamente significativa ($p<0.01$) en el número de muestras positivas atribuible al tratamiento, solo en *E. aglomerans, E. cloacae, E. hafriae, Enterococos y en Escherichia coli* no se observaron reducciones significativas. La prueba de T de Student mostró una reducción significativa con respecto a *Bacillus sp Klebsiella, pneumoniae, sólo en Enterobacter cloacae, Escherichia coli* se observó un aumento significativo. *Streptococcus agalactiae* no hay significancia.

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

"A tí, OH Dios de mis padres, confieso y te alabo, que me diste sabiduría y fortaleza, y ahora me enseñaste lo que te pedimos; pues nos has enseñado el negocio del rey" (Daniel 2:23).

A mi esposo Gerson Olamendi Vega, mis padres Manuel Mercado H., Clara López S., mis hermanas Clara e Isabel.

A mis Sinodales: MVZ Jorge L. Olmos Velásquez, Dr. Carlos Sosa Ferreira, Sonia Velásquez y Dr. Pedro Gutiérrez por su gran paciencia y apoyo.

Al MVZ Armando Vargas por su apoyo en la realización de esta tesis.

Al laboratorio ACLINVET, en especial a la Q.F.B. Rosario Escobar Castillo.

Al Lic. Armando Robles , ECOCOM BioTecnolohy, S.A. C.A.

Al Sr. Aarón Olamendi, Sra. Josefina Vega, a mis amigas Zoobeyra Méndez y Carolina Villalobos

I. ÍNDICE GENERAL

II. ÍNDICE DE FIGURAS

III. ÍNDICE DE CUADROS

IV. ÍNDICE DE GRÁFICAS

V. INTRODUCCIÓN

La mastitis es uno de los mayores problemas que debe enfrentar el productor de ganado lechero, ya que causa grandes perdidas económicas por: disminución de la producción láctea, desecho de la leche no apta para consumo humano, incremento en el desecho involuntario o la muerte de los animales, gastos de tratamiento como son medicamentos, servicios veterinarios, mano de obra, etc; además el desecho de animales puede originar un retraso en el avance genético del hato.

VI. ANTECEDENTES

1. DEFINICIÓN

La mastitis es una respuesta a una inflamación inespecífica en la ubre de la vaca, borrega y cabra (entre otros rumiantes), es común a causa de tipo bacteriana, cambiante con el tiempo, de distinta variedad, duración, de acuerdo al tipo y concentración de desafió bacteriano (Álvarez 2002, COFOCALEC 2003), se caracteriza por alteraciones físicas, químicas y generalmente bacteriológicas de la leche, produciendo cambios patológicos en el tejido glandular, entre algunos anomalías importantes de la leche cabe mencionar el cambio de color, presencia de coágulos y gran número de leucocitos, aunque algunas casos hay tumefacciones, calor, dolor e induración de la glándula mamaria (Blood 1992).

2. HISTORIA

La mastitis en ganado lechero se ha presentado desde el comienzo de la explotación ganadera, a medida que esta industria se ha ido tecnificando, la importancia y presentación de este proceso también ha ido en aumento, convirtiéndose en uno de los problemas más costosos que enfrenta el ganadero en cualquier parte del mundo (Blood 1992).

3. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA

La ubre caprina y ovina consta de dos partes, mientras que la ubre bovina consiste esencialmente de cuatro partes o cuartos (Bone 1983). Estas partes o cuartos (ya sean de ubre ovina, caprina o bovina) están íntimamente unidos, pero separados por membranas de tal modo que no hay comunicación entre ellos (Ávila 1986).

La ubre está constituida por una cápsula, tejido conjuntivo intersticial, epitelio secretor y un sistema de conductos excretores. La ubre se localiza en la región pélvica y está suspendida entre los miembros locomotores pelvianos, por un sistema de ligamentos (medial y lateral). El ligamento medial es elástico pero los laterales no lo son (Bone 1983).

La unidad funcional secretora es el alvéolo. Un grupo de *alvéolos* rodeados de un septo de tejido conjuntivo forma una unidad llamada *lobulillo*. Los alvéolos que forman el lobulillo se vacían en pequeños conductos dentro del mismo, llamados conductos intralobulillares, los que desembocan en un espacio colector central, del cual emergen los conductos interlobulillares. Un grupo de lobulillos dentro de un compartimiento de tejido conjuntivo forman un lóbulo. Dentro del lóbulo los conductos interlobulillares se unen para formar un

solo conducto intralobular, que al salir del lóbulo se llaman interlobular. Estos conductos pueden unirse directamente a la cisterna de la glándula o unirse a otros antes de entrar a ella (Ávila 1986, Banks 1994). Muchos de los conductos presentan en su inicio y al final un estrechamiento de su luz, mientras que en su parte media se ensanchan. Esto permite, además de almacenar leche, que ésta no caiga a la cisterna de la glándula y del pezón por gravedad. El alveolo está formado por *células glandulares con secreción apócrina*, (Ávila 1986); Aunque solo se refiere a su método de secreción de lípidos, en tanto que los componentes proteicos y de carbohidratos de la leche son elaborados por método merócrino (Banks, 1994); este se encuentra rodeado junto con los conductos por células mioepiteliales contráctiles (Ávila 1986, Cunningham 1996).

Posterior al seno de la glándula, le continua el seno de la teta (Ávila 1986, Banks 1994), El seno de la teta se continúa con el exterior por medio del conducto linear o galactófiro. Su orificio interno está marcado por un repentino cambio a epitelio escamoso estratificado (queratinizado). La túnica mucosa de esta área se organiza en pliegues longitudinales llamadas *Rosetas de Furstenburg* (Banks 1994), los pliegues desaparecen con la expansión durante el ordeño al ejercer presión la leche sobre la pared de la cisterna (Ávila 1986). La cisterna del pezón o seno el la teta se abre por un orificio angosto llamado conducto estriado o meato del pezón este conducto se abre cuando se aplica presión al pezón durante el ordeño, cuando no hay ordeño al meato se mantiene cerrado por fibras musculares lisas circulares, por lo que mantiene excremento, suciedad y bacterias fuera de la ubre (Ávila 1986). El epitelio del conducto del pezón continúa por el orificio externo y continúa con la cubierta epidérmica del pezón (Banks 1994).

4. PROCESO FISIOLÓGICO

Para facilitar el proceso del retiro de la leche, las células mioepiteliales rodean al alvéolo y a los conductos, éstas responden particularmente a la oxitocina y de hecho se contraen cuando son expuestas a la hormona. La síntesis y liberación de la oxitocina de la pituitaria posterior se logra por un reflejo neuroendócrino, que involucra la estimulación táctil de la ubre por la estimulación oral de la cría, estimulación de la ordeña, estímulos sensoriales, auditivos, olfatorios, etc. Los estímulos sensoriales de la ubre son transportados por la médula espinal hacia el hipotálamo. Las neuronas que se encuentran en los núcleos paraventricular y supraóptico son estimulados con el fin de sintetizar la oxitocina y liberarla de sus terminales nerviosas, las cuales se proyectan sobre la eminencia media. La liberación de la oxitocina ocurre en unos cuantos segundos después de que llega el estímulo al hipotálamo, el aumento en la presión de la glándula mamaria se hace evidente dentro de un minuto, luego de la estimulación, a medida que la leche es forzada hacia a fuera de los alvéolos y de los conductos por contracción de las células mioepiteliales (Cunningham 1996). La prolactina también juega una función importante en la secreción de leche, esta es liberada por estímulos sensoriales al manipular el pezón (ordeño). Los estímulos sensoriales son transportados hacia el hipotálamo, en donde se bloquea la síntesis de dopamina, principal inhibidor de la secreción de prolactina, mientras que las neuronas en el núcleo para ventricular son al mismo tiempo estimuladas para producir el péptido intestinal vasoactivo (VIP) que es un estimulante de la liberación de la prolactina. Ocurre una secreción intensa de la prolactina de poca duración, inmediatamente después de iniciar el retiro de la leche (Cunningham 1996).

5. MECANISMOS DE DEFENSA DE LA GLÁNDULA MAMARIA

El meato del pezón representa la primera línea de defensa contra cualquier infección. El interior del canal del pezón está compuesto por un tejido musculoso que sirve como "válvula". La función de esta válvula es mantener el canal del pezón cerrado. Así se previene el flujo de la leche hacia el exterior y la entrada de bacterias hacia el interior de la ubre (Tizar 1996).

Las células que componen el interior del canal del pezón producen una sustancia llamada "keratina". La keratina está compuesta por un material fibroso proteico y ácidos grasos que en conjunto poseen un fuerte poder antibacterial. La keratina es una barrera efectiva contra la introducción de bacterias en la ubre. Durante el ordeño, las bacterias pueden estar presentes cerca del meato del pezón. Estas bacterias pueden originarse debido a la presencia de lodo, tierra, estiércol y humedad. La colonización bacteriana también puede ocurrir si la piel del pezón tiene alguna lesión, si la superficie de las pezoneras o mangueras de conducción de leche están sucias, principalmente si el procedimiento de preparación pre-ordeño no es lo suficientemente sanitario e higiénico (Tizar 1996).

Cualquier trauma que recibiera el pezón también puede afectar su grado de susceptibilidad hacia invasiones bacterianas, colonización, y eventualmente infecciones. Traumas físicos pueden llegar a destruir la keratina. Ciertas actividades que pueden contribuir a causar trauma incluyen: el uso incorrecto de detergentes para lavar los pezones, pezones húmedos, mezcla incorrecta o congelamiento del yodofórico (o solución germicida) usada para sellar los pezones después del ordeño, congelamiento del pezón, insuficiente

estimulación de la bajada de la leche antes del ordeño, insuficiente chequeo de los pezones antes del ordeño, ordeño excesivo, e inserción de cánulas para el chequeo de mastitis dentro del pezón. Condiciones asociadas con un fuerte impacto físico (golpes) contra el meato del pezón pueden llegar a impulsar bacterias hacia el interior de pezones sanos. Durante el ordeño estas condiciones pueden ocurrir cuando: las pezoneras se resbalan de la ubre y caen al piso debido a la perdida de succión (o vacío), un bajo nivel de succión, cuando las pezoneras se retiran demasiado rápido sin que la potencia de la succión haya disminuido, cuando las mangueras cortas que introducen aire entre la pezonera interna de goma y la externa de metal es demasiado corta, cuando las salidas de aire en el pulsador están tapadas, cuando el estado físico de las copas en las pezoneras es malo (demasiado viejas), o cuando la garra de pezoneras no está alineada una vez en la ubre. Después del ordeño, la válvula muscular que rodea el esfínter del pezón permanece abierta por el curso de 1 o 2 horas y cualquier bacteria que este presente durante este tiempo puede ingresar al interior del pezón. Por ejemplo, no rociar o sellar los pezones con un yodofórico o solución germicida adecuadamente después del ordeño o un ordeño sucio, crean un lugar ideal para que las bacterias sobrevivan (Tizar 1996).

La respuesta inflamatoria se inicia una vez que la bacteria ingresa en la ubre, y esto constituye la segunda línea de defensa contra infecciones. Dentro de la ubre, las bacterias se multiplican y producen toxinas, enzimas, y otras sustancias que estimulan la producción de un sin numero de químicos en las células inflamatorias de la vaca que son utilizadas para prevenir la inflamación del tejido mamario. La magnitud con la cual se desarrolla una inflamación en la ubre está influenciada por el tipo de bacteria, los días en lactancia, la edad, la genética, y el estado nutricional de la vaca (Harmon 1994). Leucocitos neutrofilos polimorfonucleares (PMN) y fagocitos son transportados por medio de la sangre desde la médula ósea hacia el tejido donde esta la invasión bacteriana está ocurriendo. Un gran número de PMN son atraídos

hacia el lugar de la invasión por medio de "mensajeros químicos" y otros "agentes químicos" que sirven como señales (se comunican con la médula ósea) originadas en los tejidos afectados por una invasión bacteriana. Desde la sangre, los PMN pueden fácilmente atravesar el tejido mamario y llegar hacia los vasos lactíferos de la ubre donde se acumula la leche. Esto da lugar al incremento en el recuento de células somáticas (RCS; o SCC) en la leche y también puede causar el daño del tejido mamario (Tizar 1996).

En el lugar de la infección, los PMN acaparan a las bacterias y liberan cnzimas que pueden destruir a estos organismos. Los leucocitos presentes en la leche también son capaces de producir y liberar ciertas substancias que atraen más leucocitos hacia el área de infección para luchar contra las bacterias. El recuento de células somáticas se mantiene relativamente alto luego que las bacterias son eliminadas, hasta el momento en que el tejido mamario este completamente sano. Los coágulos que se forman durante el agrupamiento de leucocitos y "factores coagulantes de la sangre" pueden llegar a bloquear los vasos lactíferos menores dentro de la ubre y prevenir un ordeño completo. El daño del tejido mamario y la obstaculización de los vasos lactíferos menores dentro de la ubre pueden llegar a causar la formación de cicatrices en algunos casos. Esto puede resultar en la perdida permanente de esta porción de tejido y de su habilidad para producir leche. En otros casos, la inflamación puede desaparecer rápidamente, el tejido puede curarse, y la función del tejido puede llegar al 100% de lo que era posterior al desarrollo de mastitis (Harmon, 1994).

6. ETIOLOGIA

Independientemente de su clasificación, los agentes más importantes de mastitis son:

- *Streptococcus agalactiae*
- *S. dysgalactiae, S. uberis, S. zooepidemicus, S. pyogenes, S. fecales, S penumoniae.*
- *Staphylococcus aureus y S. epidermidis*
- *Coliformes: E. coli Pseudomonas aeruginosa, especies de Pasteurella, Klebsiellla pneumoniae, Aerobecter aerogenes, etc.*
- *Corynobacterium pyogenes*
- *Mycoplasma*
- *Mycobacterium Bovis*
- *Nocardia asteroides*
- *Cryptoccoccus neoformans*
- *Candida albicans.*
- *Brucella*
- Viral (Trigo 2001)

En la práctica el 70-80% de los casos de mastitis es de naturaleza bacteriana y es la que provoca mayores pérdidas en la ganadería lechera, mientras que el 20-30% restante la causa es no infecciosa, por lesiones traumáticas, disturbios secretorios de base metabólico-nutricional, situaciones de estrés o cambios fisiológicos relacionados con una regresión temprana del epitelio secretor de la ubre (Álvarez 2002).

7. CLASIFICACIÓN

Se clasifica por:

- Su presentación: clínica y subclínica (Ávila 2002, Blood 1992, Merck 1994).
- Tiempo de presentación: aguda, hiperaguda o peraguda, crónica (Merkc 1994).
- Por su epidemiología: ambientales y contagiosas (COFOCALEC 2003, Mora 2002).
- Por su agente etiológico: estafilococos, estreptococos colifirmes, micóticos, virales, etc. (Carter 1994, Merck 2002).
- Desde el punto de vista clínico: catarral, gangrenosa, micótica, apostematosa, flegmosa, granulómatosa (Trigo 2001).
- Mastitis primarias o mastitis secundarias: las Mastitis primaria es causada por varios agentes infecciosos como: Bacterias, *Streptococcus agalactiae, S. dysgalactiae, S. uberis, S. pneumoniae, Staphylococcus aureus, Corynebacterium pyogenes, C. bovis, Pseudomona aeruginosa, Fusobacterium sp, Mycobacterium tuberculosum, Pasteurella multocida, E. coli, Micoplasma sp.* Las Mastitis secundarias se presenta en el transcurso de enfermedades infecciosas como brucelosis, fiebre aftosa, etc., e infecciones causadas por hongos, levaduras y traumatismos (Arthur 1984) (http://www.ceba.com.co/vicarmamitis_o_mastitis.htm).

Cada uno de los microorganismos antes mencionados pueden producir por sí mismos la enfermedad, aunque en algunas ocasiones se presentan mastitis mixtas en donde confluyen dos o más agentes patógenos, los cuales potencian su patogenicidad, por lo tanto las acciones y tratamientos a elegir deberán ser acordes a el tipo de agente o agentes contagiosos, así como la duración del mismo.

http://www.ceba.com.co/vicarmamitis_o_mastitis.htm

8. MASTITIS AMBIENTALES Y CONTAGIOSAS

a. Principales características de bacterias causantes de mastitis contagiosas y ambientales

En el cuadro 1 se muestran las características de los microorganismos causantes de mastitis ambientales y contagiosas.

Cuadro 1

Principales características de los microorganismos contagiosos y medio ambientales

	MICROORGANISMOS CONTAGIOSOS	MICROORGANISMOS AMBIENTALES
ETIOLOGIA	*Staphylococcus aureus, Streptoccoccus agalactiae* (representan el 40% del las infecciones)	*E. coli, Klepsiella, Enterobacter spp, Streptococcus uberis, Streptococcus dysgalactiae, Serratia, Proteus, Pseudomonas, etc.*
Epizootiología	Su reservorio son los cuartos infectados por lo que se disemina de cuarto infectado a cuarto sano, siendo el momento de la ordeña el punto clave del contagio. Pueden causar mastitis clínicas agudas, pero se caracterizan por causar mastitis subclínicas de larga duración no muy agresivas, que pueden tornarse crónicas con presentaciones intermitentes de fase clínicas.	Su reservorio es el medio ambiente, el corral, camas, heces, material vegetal, etc. Se caracterizan por causar mastitis clínicas agudas y sobreagudas, aunque también llegan a crónicas
Patogenia	Tienen capacidad de adherirse al tejido. *S. galactiae* infecta primero	*E. coli* no tiene gran capacidad de adhesión al

	los ductos, causa daño al tejido mamario, provoca reacciones inflamatorias que alteran el drenaje de la leche, la cual se acumula y sirve de cultivo para la misma bacteria, haciéndose así un círculo vicioso. Sino se da el tratamiento adecuado, tiende a tornarse crónico. *S. aureus* causa daño tisular por producción de toxinas inicialmente el daño es por cisterna llegando posteriormente a los alvéolos	tejido, pero se multiplica a gran velocidad. Produce una endotoxina que causa una inflamación muy agresiva de la glándula pudiendo causar toxemia. El daño a la glándula puede causarlo una hora después de la infección. Generalmente los leucocitos son capaces de eliminar la infección en caso contrario puede tornarse crónica.
Signos clínicos	Aunque causan episodios clínicos en muchas ocasiones se mantienen subclínicas. La leche puede no tener cambios o presentar intermitentemente grumos, a demás de que tiende a disminuir la producción de leche, y/o aumentar los conteos celulares somáticos.	*E. coli* en presentación sobre aguda o aguda, causa reacción inflamatoria agresiva en la glándula mamaria que tiene hipertermia e induración del tejido, Se desarrolla toxemia por lo que hay fiebre y puede causar la muerte; la secreción láctea disminuye bruscamente y se observa como suero amarillosos. Generalmente la bacteria es eliminada y la cabra puede recuperarse en pocos días.
Control	Disminuir el riesgo de contagio	Higiene en todas parte

(Blowey 1991, Loor 2003).

b. Mastitis ambiental

Dentro de los patógenos que causan mastitis, los más comunes se pueden encontrar en el medio ambiente en el que el animal se encuentra como: el estiércol, lodo, tierra, el material de acolchonamiento en los establos (paja, aserrín, tierra). Algunos patógenos ambientales son *Streptococcus, E. coli, Klebsiella*, etc. (Loor 2003).

. Los patógenos ambientales son casi siempre responsables del desarrollo de mastitis clínica. Casi el 50% de las infecciones causadas por *Streptococcus agalactiae* presentan síntomas clínicos. Entre el 60% y 70% de las infecciones causadas por patógenos ambientales se mantienen por menos de 30 días y no se las puede detectar fácilmente (Loor 2003).

La mamitis por *Escherichia coli* es estacional, puesto que la mayoría de los casos aparecen en invierno, cuando los animales están estabulados. El parto también es un factor importante en la aparición de mamitis. Por ello la frecuencia con la que aparecen las mamitis medioambientales (por Escherichia coli) aumentan en la primera parte de la lactación en un 40% a 50% (Maxine 1991).

Normalmente las mamitis medioambientales penetran en la ubre por el canal del pezón y causan infección en las 48 horas siguientes o se eliminan rápidamente por los mecanismos de defensa. Prácticamente en todos los casos las coliformes no permanecen en la ubre como origen permanente de la infección (Maxine 1991).

En muchas situaciones de mamitis por coliformes, la temperatura rectal puede aumentar (40-41° C) inicialmente durante un período corto. En muchos casos se presenta: shock endotóxico, diarrea fétida, atonía ruminal, deshidratación, animales débiles y se tumban rápidamente, manteniendo la cabeza hacia abajo y el cuello doblado en forma sigmoidea o dirigida hacia la pared torácica (Téllez 2002).

9. EPIDEMIOLOGÍA

Entre los factores predisponentes a la mastitis se encontraron:

- Los genéticos. En una investigación de 1227 vacas, madres e hijas, se encontró que un 50% de las hijas de madres susceptibles presentaron mastitis en comparación con 25% de vacas hijas de madres no susceptibles.
- La facilidad de ordeño es otra variable estudiada, habiéndose encontrado una mayor susceptibilidad a la presentación de mastitis en las animales que presentaban una mayor velocidad de ordeño (2 minutos).
- Animales Altos productores de leche tienen más riesgo a mastitis agudas o crónicas y lesiones en los pezones, debido a que en la producción de leche acarrea una disminución de los factores de defensa y la posible aparición de mastitis, dado que se rompe el equilibrio entre flora y resistencia.
- Distancia entre extremo del pezón y el suelo.
- En cuanto al manejo se ha encontrado que la mastitis prevalece más cuando los ordeños son manuales que cuando son mecánicos.
- El sistema de manejo de excretas, ya que en estudios realizados en 370 establos se encontró mayor incidencia de mastitis y lesiones del pezón en establos donde se

manejaba el estiércol húmedo a diferencia de aquellos en que se tenían sistemas de manejo de estiércol seco.

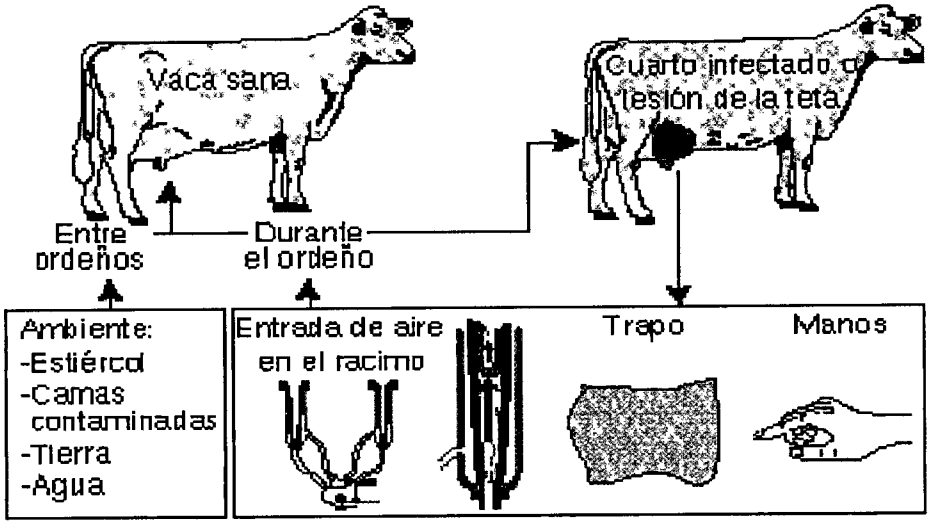
- Otros factores como lo resbaloso del piso, la cama de paja, arena o viruta de madera también influyen en la incidencia de lesiones del pezón y mastitis (Ochoa 1999).

10. TRANSMISIÓN DE LA MASTITIS

En un intento por controlar los diferentes tipos de infecciones, es importante considerar la fuente y formas de transmisión de la enfermedad. Los organismos que causan la mastitis viven en diferentes ambientes (materia fecal, cama, piel, etc.). La limpieza general de los animales y su alojamiento, como también buenos procedimientos de manejo (especialmente ordeño) son formas efectivas de controlar la difusión de la mastitis.

Figura 1

Tres de las principales rutas de transmisión bacteriana durante el ordeño



http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/enfermedades/GA000009en.htm

Cuadro 2

Fuentes más comunes (de la de mayor a menor prevalecía) y formas de diseminación de las bacterias más comunes productoras de mastitis.

Tipo de bacteria	Porcentaje de todas las infecciones	Causa primaria	Principales formas de difusión
Streptococcus agalactiae	> 40%	Ubre infectada	De cuarto a cuarto; vaca a vaca ó De parte en parte; Cabra a cabra durante el ordeño
Staphylococcus aureus	30 – 40%	Ubre infectada, pezón lesionado	De cuarto a cuarto; vaca a vaca ó De parte en parte; cabra a cabra durante el ordeño
Streptococcus agalactiae	5 – 10%	Cama, material, fecal	Medio ambiente del animal
Coliforme	< 1%	Materia fecal	Medio ambiente del animal

http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/enfermedades/GA000009en.htm

11. PATOGENIA

El establecimiento de una infección está determinado por la virulencia de la bacteria y los sistemas de defensa de la glándula mamaria (Hedberto 2001). Cuando en un establo se enfrentan problemas de mastitis debe tenerse en cuenta las dinámicas de los distintos agentes causales, donde los cuartos no infectados un día determinado desarrollan en cuestión de horas

una colonización transitoria del canal del pezón, evolucionando hacia una infección clínica o subclínica, las infecciones subclínicas crónicas pueden convertirse súbitamente en formas clínicas y que existe una sustancial proporción de autocuraciones, ya sea en el estadio de colonización del canal, pueda ser común que pese a los tratamientos, algunos casos clínicos revierta a subclínico como es el caso de *Staphylococcus aureus* (Álvarez 2002).

12. DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD

Las infecciones comienzan cuando los microorganismos penetran el canal del pezón y se multiplican en la glándula mamaria (Hedberto 2001).

a. Invasión del pezón

La invasión del pezón se presenta generalmente durante el ordeño. Los organismos presentes en la leche o en la punta del pezón son impulsados dentro del canal del pezón y de la cisterna cuando existe la entrada indeseable de aire en la unidad de ordeño (desprendimiento o pérdidas de la unidad o remoción de la pezonera sin haber antes cerrado al vacío) (Hedberto 2001).

Luego del ordeño, el canal del pezón permanece dilatado por una o dos horas e inclusive, el canal del pezón dañado puede permanecer parcialmente o permanentemente abierto. Los organismos del ambiente (materia fecal, cama, etc.) o aquellos que se encuentran en lesiones de la piel en la punta del pezón, pueden invadir fácilmente y abrir total o parcialmente el canal (Hedberto 2001).

b. Establecimiento de la infección e inflamación del área dañada

Algunas bacterias pueden avanzar dentro de la ubre atacando y colonizando nuevos tejidos; otras pueden moverse por medio de la corriente de leche producida por el movimiento de la vaca o de la cabra. Las bacterias dañan primero los tejidos que recubren los grandes tubos colectores de leche. Las bacterias también pueden liberar toxinas que le permiten adherirse a las células epiteliales causando daño a los tejidos mamarios (Hedberto 2001).

Los sitios de infección son rodeados por leucocitos y tejido fibroso (Hedberto 2001), Las bacterias se enfrentan con leucocitos (células blancas de la leche) presentes naturalmente en bajas cantidades en la leche. Estas células son la segunda barrera de defensa debido a que pueden englobar y destruir a las bacterias. Aún así, durante este proceso, los leucocitos liberan substancias que atraen a más leucocitos desde el torrente circulatorio hacia la leche.

http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/enfermedades/GA000009en.htm

La pared de tejido fibroso que se forma puede localizar la infección, pero también evita que llegue suficiente cantidad de antibiótico a donde se encuentran las bacterias (Hedberto 2001).

Si las bacterias no son totalmente destruidas, pueden continuar multiplicándose y comenzar a invadir los pequeños conductos y áreas alveolares. Las células secretoras de leche que son dañadas por las toxinas, liberan substancias irritantes que conducen a un incremento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos. Leucocitos adicionales se mueven al lugar de la infección. Ellos penetran el tejido alveolar en gran medida moviéndose entre el tejido secretor

de leche dañado. Fluidos, minerales y factores de coagulación también se mueven dentro del área infectada. La leche coagulada también puede cerrar conductos y, en efecto, aislar las regiones infectadas.

c. Destrucción del tejido alveolar

Algunas veces los microorganismos son eliminados rápidamente y la infección se aclara. En este caso, los conductos tapados se abren y la composición y producción de leche retorna a la normal en varios días. Aún así, a medida que la infección persiste y los conductos se mantienen tapados, la leche encerrada hace que las células secretoras pasen a una etapa de descanso (sin producir) y el alvéolo comienza a reducir su tamaño.

Las substancias liberadas por los leucocitos conducen a una destrucción completa de las estructuras alveolares, que son reemplazadas por tejido conectivo y cicatriza. La destrucción del tejido secretor de leche es, en efecto, la tercera línea de defensa de la vaca para mantener a la infección bajo control.

Por lo tanto a medida que la enfermedad progresa el número de células somáticas en la leche se eleva y se asocia con una reducción (permanente) en la producción de leche.

http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/enfermedades/GA000009en.htm

13. CARÁCTERISTICAS DE ALGUNAS BACTERIAS

Bacillus sp: son bacilos grampositivos, aerobios, esporuladores, se encuentran en abundancia en el suelo, aire, polvo y agua. Están entre los contaminantes más comunes en el medio ambiente. Sin embargo algunas especies como *Bacillus cereus* causan mastitis gangrenosas y abortos (Ávila 1986, Carter 1994, Merck 1994).

Micrococus: son cocos grampositivos, no móviles, se presentan solos o en racimos, de tamaño variable, se encuentran como flora normal en boca, piel, pelo; son arrojados con frecuencia de las glándulas mamarias en apariencia normales, ya que residen en el conducto lácteo (Carter 1994).

Enterobacter cloacae: son bacilos gramnegativos, no esporuladores y móviles. Se le considera patógeno oportunista, se encuentra en el agua contaminada con material fecal. *Enterobacter cloacae* causa mastitis ambientales (Carter 1994, Merck 1994).

Staphylococcus aureus: cocos grampositivos, no móviles, no esporuladores, causan mastitis contagiosas (Hedberto 2001).

Streptococcus agalactie: son cocos grampositivos no móviles, son causa importante de mastitis contagiosa (Ávila 1986, Carter 1994, Merck 1994).

Citrobacter freundii; gramnegativos, tienen vida libre, se encuentran en el suelo, agua, vegetales y madera. Se ha aislado de varias muestras biológicas causando infecciones urinarias en hombres (Carter 1994).

Nocardia sp: Bacilos grampositivos, no móviles, no esporulan, se encuentran distribuidos altamente en el suelo como saprofito, por lo tanto causan mastitis ambientales (Carter 1994).

Escherichia coli: bacilos gramnegativos, se encuentra en el medio ambiente y en la flora normal. La contaminación fecal del agua está señalada por la presencia *Escherichia coli* (Álvarez 2002).

Serratia marcences y Serratia sp: bacilos gramnegativos, se encuentran en suelo, agua, heces. La única especie importante que causa mastitis ambientales es *Serratia marcences (Carter 1994).*

Staphylococcus albus: cocos grampositivos, se encuentran en la flora normal de la boca (Carter 1994).

Streptococus alfa hemolítico: son cocos grampositivos no móviles, que se presentan solos o en pares. Esta bacteria se encuentra como flora normal en boca, nasofaringe, vagina, glándula mamaria y son arrojados con frecuencia de glándulas mamarias en apariencias normales (Carter 1994).

Enterobacter aglomerans: bacilos gramnegativos, tienen vida libre, se encuentran en el suelo, agua, productos vegetales y madera (Carter 1994).

Staphylococus albus: cocos grampositivos que se presentan en pares o cadenas cortas (Carter 1994).

Enterobacter hafriae: bacilos gramnegativos, se encuentran en el medio ambiente (Carter 1994).

Enterococos: son cocos grampositivos, se encuentran como flora normal en vías intestinales y vulva. Puede causar infecciones urinarias en animales (Carter 1994).

Klebsiella ozaenae y Klebsiella pneumonae: son bacilos gramnegativos, causan mastitis ambientales (Álvarez 2002).

Pseudomonas aeruginosa: bacilos gramnegativos. Se encuentran en las heces, es un patógeno oportunista en tejidos debilitados, importante en infecciones mixtas, en particular con estreptococos y estafilococos (Carter 1994).

Xantomonas: gramnegativos que se encuentran en la vegetación o en la madera (Carter 1994).

14. DIAGNÓSTICO GENERAL

Los procedimientos diagnósticos utilizados para la mastitis pueden clasificarse en la siguiente forma:

1. Historial clínico: (anamnesis y reseña).
2. Examen físico del animal incluyendo inspección y palpación de ubre y pezones.
3. Examen físico cuidadoso de la leche.
4. Examen químico de la leche.
5. Examen microscópico de la leche (investigando la presencia de leucocitos y bacterias).
6. Pruebas de cultivo encaminadas a identificar el microorganismo patógeno.

(Coffin 1986, Kelly 1983)

15. DIAGNÓSTICO BACTERIOLÓGICO

Este diagnostico es el más acertado ya que se identifica al agente causal de la mastitis.

El método es el siguiente:

1. Se lava y desinfecta el pezón.
2. Se extraen 2 ó 3 chorros de leche de cada pezón o directo del recipiente de leche y se ponen en recipientes estériles.
3. Se rotulan el recipiente.

La muestra debe enfriarse lo más pronto posible y transportarse el laboratorio en un máximo de 5 días para tener los resultados de las pruebas. En el laboratorio se realizan los siguientes procesos:

- Deben ser calentadas a 25 ° C durante 15 minutos a fin de liberar los microorganismos atrapados en la grasa de la leche.
- Se agita muestra vigorosamente para homogeneizarla.
- Se realizan 2 frotis fijos tiñéndolos con Gram y Ziehl-Neelsen, respectivamente observando y anotando resultados.
- Se inoculan 3 asas de la muestra, en la caja de agar sangre y agar Mc Conkey. Ya partir de esta inoculación se aísla en cultivo puro.
- De aquí se determina género y especie, dependiendo morfología, agrupación y reacción al Gram.

(Coffin 1986, Kelly 1983)

16. IMPORTANCIA ECONÓMICA

La mastitis en Estados Unidos se calcula que la enfermedad produce pérdidas económicas de 185 $ dólares por vaca por año, esta cantidad multiplicada por los 11 millones de vacas que hay en el país equivalen aproximadamente a 2,000,000 millones de dólares por año (García, 2001).

Las pérdidas diarias ocasionadas por mastitis clínica fueron de $4.32 por cabras, y se pierden $20.97 en recuperar una cabra con mastitis clínica

http://www.capraispana.com/enfermedades/mastitis/perdidasmastitis.ht

La mastitis causa perdidas por varios conceptos:

1. Menor producción láctea
2. Costos de tratamientos
3. Leche desechada
4. Desecho prematuro de animales
5. Disminución del avance genético
6. Leche de menor calidad (Ruiz 2000).

Las pérdidas de leche y de ganancias debido a las mastitis clínicas son obvias, la producción de leche cae en forma abrupta y la leche de las vacas tratadas con antibióticos debe ser descartada durante tres o cuatro días. Además, mucho más leche se pierde debido a mastitis subclínicas debido a que:

- La gran mayoría de los casos son subclínicos (en promedio, por cada caso clínico, existen de 20 a 40 subclínicos);
- La reducción en la producción de leche debido a mastitis subclínica tiende a persistir por un largo período de tiempo y afecta la producción de las vacas infectadas.
- El control de las mastitis subclínicas es más importante que el simple tratamiento de los casos clínicos.
- Las animales que poseen casos subclínicos son reservorios de organismos que conducen a infecciones de otros animales;

- La mayor parte de los casos clínicos comienzan como subclínicos; por lo tanto, el controlar los casos de mastitis subclínica es la mejor forma de reducir los casos clínicos.

El impacto de la mastitis va junto con la leche, más allá de las puertas de la explotación lechera. Los cambios en la composición de la lechc (reducción de calcio, fósforo, proteína y grasa, e incrementos de cloro y sodio) reducen su calidad (García 2001).

17. CONTROL Y PREVENCIÓN

Antes de poder desarrollar o evaluar la efectividad de cualquier programa de "prácticas de ordeño y prevención de mastitis" que posee una granja, la persona encargada debe entender el significado y el porqué es necesario tener este tipo de programa (Harmon 1994).

Las mediadas profilácticas sanitarias pueden reducir la incidencia de la presentación de mastitis subclínica, incluyen:

- Limpieza en corrales cada vez que se requiera
- Manejo adecuado del estiércol
- Manejo de fauna nociva (moscas y mosquitos), esta evita estrés del animal y transmisión de bacterias causantes de mastitis.
- Corte de pelo de la ubre, flancos y interna de los miembros locomotores traseros.
- Ventilación adecuada
- Correcta limpieza del equipo de ordeño
- Echaderos limpios y adecuados (Ochoa 1999).

Las características de un germicida para un correcto lavado de la ordeñadora son:

- Elevada potencia germicida
- Amplio espectro antibacteriano
- Baja tensión superficial
- Que mantenga su actividad inicial incluso en presencia de líquidos orgánicos
- Buen índice terapéutico, es decir, que carezca de efectos secundarios indeseables.

(García, 2001)

VII. OBJETIVOS GENERALES

- Evaluar y comprobar la eficacia de un germicida en la maquina ordeñadora, con el fin de reducir la presencia de mastitis provocadas por contaminación a la hora del ordeño.

VIII. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comprender la importancia de esta enfermedad en ganado caprino
- Proporcionar las herramientas necesarias para prevenir mastitis a través de las medidas profilácticas como es la desinfección correcta del equipo de ordeño.

IX. HIPÓTESIS

¿El uso de este germicida disminuirá la presencia de bacterias contagiosas productoras de mastitis en el equipo de ordeño?

X. MATERIAL

a. **Producto:** el producto Oxidante cloroconcentivo es una solución con acción germicida de amplio espectro que está destinada para la desinfección, limpieza, preesterilizante, esterilización y descontaminación del agua, medio ambiente, superficies, equipos, instrumentos, entre otros. Sus características químicas son: Contenido cloro activo 0.05% potencial de hidrogeno, Ph entre 6.5 y 7.5; potencial oxido reducción de +800 Mv hasta +1000 Mv; componentes biocida HClO (ácido hipocloroso oxidante fuerte), ClO^-, ClO_3, Cl_2O_2, $HO^-{}_2O^-$, mineralización de 5-6 gramos. Sus características físicas son: Transparente, olor ligero a cloro, no toxico, elevada potencia germicida, amplio espectro antibacteriano (99%), no pose sustancias que perjudican al animal por lo que no es toxico. La presencia en el Oxidante cloroconcentivo de diferentes oxidantes, por su estructura química y propiedades físicas, priva a los microorganismos de la posibilidad de una mínima adaptación, aún parcial y asegura un alto efecto germicida, incluso en concentraciones pequeñas. Según el mecanismo del efecto germicida el Oxidante cloroconcentivo se parece al plasma de descarga de gas, mientras que los productos de su degradación son sustancias primarias, es decir, el agua ligeramente mineralizada. Los componentes básicos para la obtención del Oxidante cloroconcentivo son el agua de la red y la sal común. Al vaciar el Oxidante cloroconcentivo al alcantarillado, no es necesario neutralizarlo.

b. **Otros productos:** Shampoo comercial, ácido muriático

c. **Cabras:** Se utilizaron 32 cabras sanas actualmente en ordeño, de raza Nubia, con distintas edades y distintos pesos.

d. **Máquina Ordeñadora:** se utilizó una máquina ordeñadora que se compone de 4 chupones, dos del lado izquierdo y dos del lado derecho.

e. **Laboratorio:** el laboratorio que realizó las pruebas correspondientes de bacteriología es el "Laboratorio de Análisis clínicos ACLIVET", ubicado en Av. Universidad # 58, Colonia centro; a cargo de la Q.F.B. Rosario Escobar Castillo.

f. **Material de laboratorio:** 240 hisopos estériles con medio de cultivo, 20 frascos estériles, mismos que fueron proporcionados por el laboratorio.

g. **Hielera:** para trasportar las muestras.

h. **Papelería:** cuadernos, CD, plumas, plumas, Marcadores, Etiquetas.

i. **Una Persona:** que cuida, limpia, ordeña y da de comer a las cabras.

j. **Vehículo:** para transportar las muestras.

k. **Computadora:** para la realización del escrito

XI. METODOLOGÍA, DISEÑO ESTADÍSTICO Y/ O ANÁLISIS DE MUESTRAS

a. Localización

La presente investigación se realizó en el centro Productivo Campus Amazcala de la Universidad Autónoma de Querétaro que se encuentra ubicado al norte del poblado de Amazcala, municipio de El Marqués, en el estado de Querétaro. Dicho centro cuenta con una unidad destinada al desarrollo experimental de producción caprina. Se encuentra a una altitud de 1820 metros a nivel del mar y a 20° 42" latitud norte y 100 ° 16 ° longitud oeste. En esta locación predomina el clima correspondiente a Bek 4444 con clima seco templado BS1kw y seco semiárido Bsoh teniendo una precipitación pluvial anual de 400 a 5000 mm, con temperaturas en el rango de 16 ° a 20 ° y con un periodo de sequía de 6 a 8 meses (COTECOCA 1980).

b. Rutina de ordeña

Treinta y dos cabras nubia de distintas edades fueron sacadas diariamente de su corral de albergue a la 6:00 AM, son conducidas a una manga de manejo de estructura metálica con capacidad de 80 cabezas. De una en una se les colocó la máquina ordeñadora. Cuando la cabra terminó de ordeñar se le retiró la máquina ordeñadora. La cabra regresó por sí sola a su corral o esperó a las compañeras en la zona continua al apretadero (llamado pasillo de control). Una vez que se terminaron de ordeñar todas las cabras se lavó le máquina de ordeño con un Producto comercial y la sala de ordeño es barrida.

Las muestras fueron divididas de la siguiente manera:

c. Muestreo testigo

Se tomaron las siguientes muestras bacteriológicas por 10 días no consecutivos en dos meses:

- Las 4 pezoneras o mamilas de la ordeñadora durante la ordeña, con hisopos estériles (un hisopo por pezonera) utilizando Medio de Stuart como medio de transporte para el laboratorio.
- Las 4 pezoneras o mamilas de la ordeñadora al finalizar la ordeña (inmediatamente después de que se lavó la máquina ordeñadora), con hisopos estériles utilizando Medio de Stuart como medio de transporte para el laboratorio.
- Muestra de leche (aproximadamente 10 ml) en el tanque colector al finalizar la ordeña, en un vaso estéril proporcionado por el laboratorio.

Para la identificación de las muestras, en cada hisopo se anotó solamente una clave de identificación (para el laboratorio), y en un cuaderno se anotó: la clave, la fecha del muestreo, lugar de donde se tomo la muestra (chupón izquierdo o derecho), si se tomo durante la ordeña o al finalizar la ordeña, etc.

En el siguiente cuadro se muestran la las claves que se utilizaron y su significado:

CUADRO 3

Claves y significados de identificación de muestreos

CLAVE	SIGNIFICADO	OTROS
T1	Día del muestreo	Anotando en un cuaderno el día, mes y año del muestreo
A	Chupones derechos	---
B	Chupones Izquierdos	---
I	Durante la ordeña	---
F	Al finalizar la ordeña	---
L	Muestra de leche	Anotando en un cuaderno el día, mes y año del muestreo

Las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Análisis clínicos ACLIVET, donde se realizaron los estudio bacteriológico utilizando los siguientes medios de cultivo: Agar Mc. Conkey, Agar sabouraud y Agar S. A.

Los muestreos testigo se realizaran con la rutina normal de ordeño.

d. Muestreo experimental (primera parte)

Una semana después realizados los muestreos testigo:

1. Se dio una lavada a la máquina ordeñadora con Oxidante cloroconcentivo (sin diluir).
2. Se dejó remojando los tubos de la ordeñadora con Oxidante cloroconcentivo (sin diluir) por 24 hr.

3. Pasando 24 hr. (antes de la ordeña) se le quitó el producto a los tubos de la ordeñadora y se le da un enjuague con agua.
4. Se dio otra lavada con Oxidante cloroconcentivo y un enjuague con agua.
5. Treinta y dos cabras nubia de distintas edades fueron sacadas diariamente de su corral de albergue a la 6:00 AM, son conducidas a una manga de manejo de estructura metálica con capacidad de 80 cabezas.
6. A las cabras se les limpió los pezones con una toallita previamente sumergida en Oxidante cloroconcentivo.
7. Se les colocará las pezoneras o mamilas de una por una, para ser ordeñadas.
8. Cuando la cabra se haya terminado de ordeñar se le retira la máquina ordeñadora. La cabra regresa por sí sola a su corral o espera a las compañeras en la zona continua al apretadero (llamado pasillo de control).
9. Una vez que se terminaron de ordeñar todas las cabras se lavabo la máquina de ordeño con Oxidante cloroconcentivo, dando un enjuague con agua.
10. Se dejaran los tubos, pezoneras o mamilas, en ácido muriático por 1 hora.
11. Pasando la hora se enjuagaran los tubos y pezoneras con agua.

Un día después de la utilización del producto Oxidante cloroconcentivo en la ordeñadora se realizó el siguiente muestreo:

- Las 4 pezoneras o mamilas de la ordeñadora durante la ordeña, con hisopos estériles (un hisopo por pezonera) utilizando Medio de Stuart como medio de transporte para el laboratorio.

- Las 4 pezoneras o mamilas de la ordeñadora al finalizar la ordeña (inmediatamente después de que se lavó la máquina ordeñadora), con hisopos estériles utilizando Medio de Stuart como medio de transporte para el laboratorio
- Muestra de leche (aproximadamente 10 ml) en el tanque colector al finalizar la ordeña, en un vaso estéril proporcionado por el laboratorio.

La forma de identificación será igual a la del muestreo testigo siguiendo el orden de número según el día de muestreo:

Las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Análisis clínicos ACLIVET, donde se les realizó un estudio bacteriológico utilizando los siguientes medios de cultivo: Agar Mc. Conkey, Agar sabouraud, Agar S. A, y Agar sangre.

e. Muestreo experimental (segunda parte)

Una semana después del Muestreo tratamiento primera parte se siguió la siguiente rutina de ordeño:

1. Antes de iniciar la ordeña se lavó la máquina con Oxidante cloroconcentivo a una concentración del 30% sin dar enjuague.
2. Treinta y dos cabras nubia de distintas edades fueron sacadas diariamente de su corral de albergue a la 6:00 AM, son conducidas a una manga de manejo de estructura metálica con capacidad de 80 cabezas.

3. Antes de ser colocadas las pezoneras, a cada cabra se le rociaron los pezones con Oxidante cloroconcentivo al 30%.
4. Se le colocaron las pezoneras para ser ordeñada.
5. Cuando la cabra se terminó de ordeñar se le retiró la máquina ordeñadora. La cabra regresó por sí sola a su corral o esperó a las compañeras en la zona continua al apretadero (llamado pasillo de control).
6. Una ves que se terminaron de ordeñar todas las cabras se lavó la máquina de ordeño con Oxidante cloroconcentivo, al 30% sin enjuagarse.

Se tomaron las siguientes muestras bacteriológicas durante 19 días no consecutivos en cinco meses (es decir un muestreo por semana durante cinco meses):

- Las 4 pezoneras o mamilas de la ordeñadora durante la ordeña, con hisopos estériles (un hisopo por pezonera) utilizando Medio de Stuart como medio de transporte para el laboratorio.
- Las 4 pezoneras o mamilas de la ordeñadora al finalizar la ordeña (inmediatamente después de que se lavó la máquina ordeñadora), con hisopos estériles utilizando Medio de Stuart como medio de transporte para el laboratorio.
- Muestra de leche (aproximadamente 10 ml) en un vaso estéril proporcionado por el laboratorio.

Las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Análisis clínicos ACLIVET, donde se les realizó un estudio bacteriológico utilizando los siguientes medios de cultivo: Agar Mc. Conkey, Agar sabouraud, Agar S. A y Agar sangre.

La forma de identificación fue igual a la del muestreo testigo siguiendo el orden de número según el día de muestreo:

En total se tuvieron los siguientes muestreos:

- Muestreo testigo (inicial, final y de leche)= 90
- Muestreo tratamiento primera parte (inicial, final y de leche)=9
- Muestreo experimental segunda parte (inicial, final y de leche)=171

Total: 270

A estos muestreos se le estimaron las frecuencias de tipos de crecimiento para cada medio de cultivo.

Se realizaron pruebas de:

- Independencia de Chi-cuadrada, comparando muestreo testigo con Muestreo tratamiento primera y segunda parte.
- Pruebas de T de Student comparando muestreo testigo con Muestreo tratamiento primera y segunda parte.

XII. RESULTADOS Y DISCUCIÓN DE RESULTADOS

Durante la investigación o muestreo:

- El muestreo se realizó en época de otoño e invierno, septiembre y octubre para muestreo testigo, noviembre, diciembre, enero, febrero y marzo para muestreo tratamiento. Por lo que la temperatura osciló de 0°C a 17°C.
- No se observaron cabras con mastitis clínicas.
- No se observaron cabras con irritación en el pezón.
- A partir del tratamiento 22 se presentaron partos y se incorporaron estas cabras (cambiándose por cabras secas) a la ordeña.

Cuadro 4

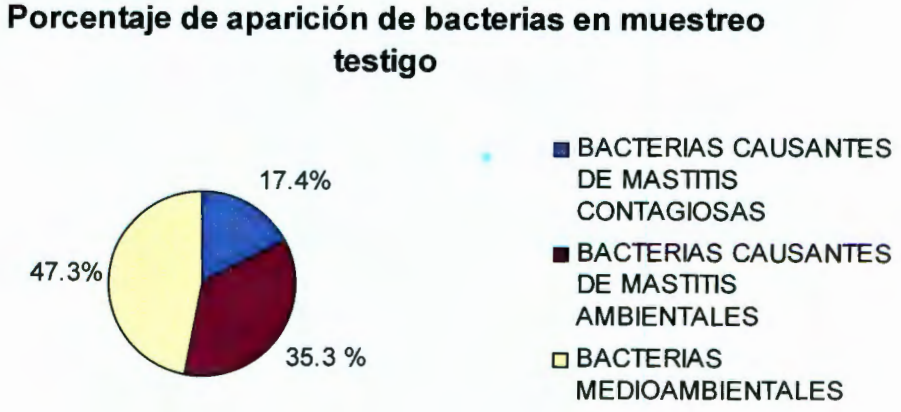
Número de veces que aparecen las bacterias durante todo el muestreo (testigo y tratamiento)

BACTERIA	TESTIGO	TRATAMIENTO
Staphylococcus aureus	17	2
Streptococcus agalactiae	15	23
Escherichia coli	17	46
Klebsiella ozaenae	17	1
Klebsiella pneumoniae	10	8
Enterobacter cloacae	5	20
Enterobacter hafriiae	1	0
Nocardia sp.	10	0
Pseudomonas aeruginosa	5	1
Serratia marcenses	0	1

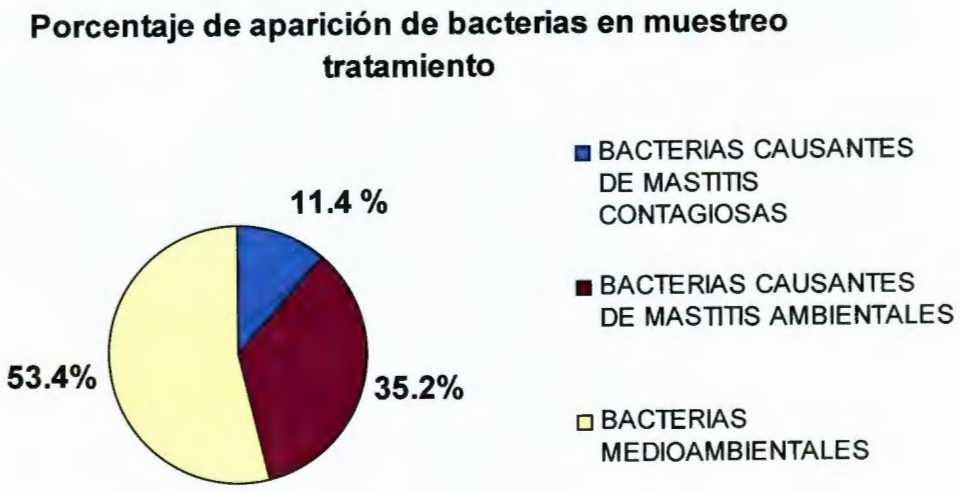
Bacillus sp	56	82
Micrococcus	16	1
Citrobacter freundii.	4	0
Enterobacter agglomerans	4	13
Enterococos	1	3
Serratia sp.	2	0
Staphylococcus albus	2	2
Streptococcus alfa hemolítico	2	15
Xanthomonas	0	1

En el cuadro 4 se muestra el número de veces que aparecen las bacterias en muestre testigo y en muestreo tratamiento. Hubo una disminución de aparición de *Streptococcus agalactiae, Staphylococcus aureus kelbsiella ozaenae, klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Micrococcus, Enterobacter hafriiae, Nocardia sp., Cirtrobacter freundii y Serratia sp.* (cuadro 4). Mientras que *Escherichia coli, Enterobacter cloacae, Serratia marcenses, Bacillus, Enterobacter agglomerans, Sterptococcus alfa hemolítico* hubo un aumento aparente (cuadro 4).

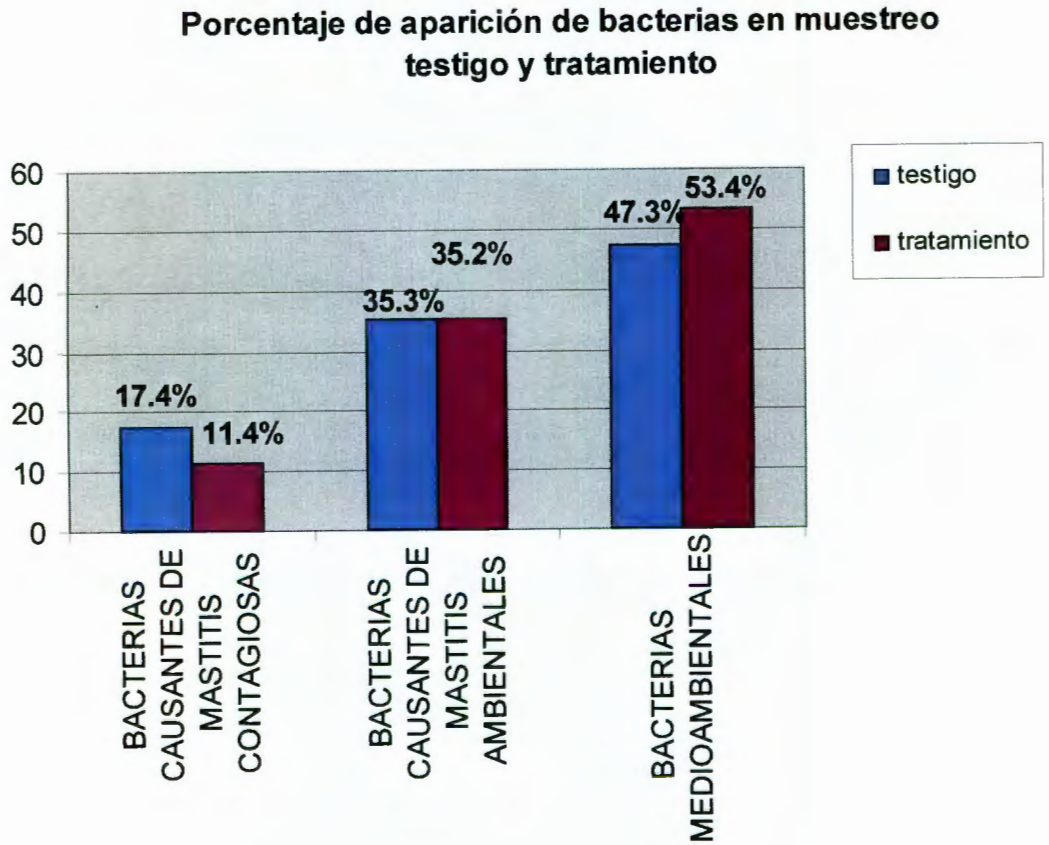
Gráfica 1



Gráfica 2



Gráfica 3



Con respecto al porcentaje de aparición de bacterias en la grafica 3 se muestra que:

- Hubo una disminución de bacterias causantes de mastitis contagiosas al usar el producto Oxidante cloroconcentivo (es decir en muestreo tratamiento).
- Las bacterias ambientales causantes de mastitis tuvieron el mismo porcentaje de aparición tanto en muestreo testigo como en muestreo tratamiento.
- En tanto a las bacterias ambientales no patógenas aumentaron su presencia porcentual al usar el producto Oxidante cloroconcentivo (es decir en muestreo tratamiento) esto se debió a que al disminuir las bacterias contagiosas aumentan las bacterias medio ambientales.

Cuadro 5

Número de veces que aparecen las bacterias por tiempo (al inicial o finalizar la ordeña) durante todo el muestreo (testigo y tratamiento)

BACTERIA	INICIAL TESTIGO	FINAL TESTIGO	INICAL TRATAMIENTO	FINAL TRATAMIENTO
Staphylococcus aureus	8	9	1	1
Streptococcus agalactiae	7	9	12	11
Escherichia coli	10	8	27	19
Klebsiella ozaenae	6	11	1	0
Klebsiella pneumoniae	7	3	6	2
Enterobacter cloacae	3	2	11	9
Enterobacter hafriiae	0	1	0	0
Nocardia sp.	6	4	0	0
Pseudomonas aeruginosa	4	1	1	0

Serratia marcenses	0	0	1	0
Bacillus sp	25	31	44	38
Micrococcus	11	5	0	1
Citrobacter freundii.	3	1	0	0
Enterobacter agglomerans	1	3	4	9
Enterococos	1	0	3	0
Serratia sp.	0	2	0	0
Staphylococcus albus	0	2	2	0
Streptococcus alfa hemolítico	2	0	6	9
Xanthomonas	0	0	1	0

Como puede observarse en el cuadro 5 no hay cambio aparente al iniciar, durante, ni al finalizar la ordeña.

Cuadro 6

Número de veces que aparecen las bacterias por lado (al inicia! o finalizar la ordeña) durante todo el muestreo (testigo y tratamiento)

BACTERIA	TESTIGO (I)	TESTIGO (D)	TRATAMIENTO (I)	TRATAMIENTO (D)
Staphylococcus aureus	11	6	0	2
Streptococcus agalactiae	7	8	13	10
Escherichia coli	9	9	11	35
Klebsiella ozaenae	14	3	0	1
Klebsiella pneumoniae	6	4	2	6
Enterobacter cloacae	1	4	13	7
Enterobacter hafriiae	0	1	0	0
Nocardia sp.	3	7	0	0
Pseudomonas aeruginosa	0	5	1	0
Serratia marcenses	0	0	0	1

Bacillus sp	22	34	36	46
Micrococcus	12	4	1	0
Citrobacter freundii.	2	2	0	0
Enterobacter agglomerans	1	1	7	6
Enterococos	1	0	3	0
Serratia sp.	1	1	0	0
Staphylococcus albus	2	0	1	1
Streptococcus alfa hemolítico	1	1	4	11
Xanthomonas	0	0	1	0

(I) Lado izquierdo de la máquina ordeñadora

(D) Lado derecho de la máquina ordeñadora

Cuadro 7

Valores De Chi cuadrada y significancia con respecto al efecto de tratamiento sobre el número de veces que aparecen las bacterias durante el experimento (testigo y tratamiento)

Bacteria	**Chi-cuadrada**	**Significancia**	**Condición**
Bacilus	7.38	<0.01	Reducción
Citrobacter freundii	8.13	<0.01	Reducción
Enterobacter aglomerans	0.7913	Ns	Ns
Enterobacter cloacae	2.232	<0.01	Aumento
Enterobacter hafriae	2.008	Ns	Ns
Enterococos	0.127	Ns	Ns
Escherichia coli	1.5496	<0.01	Aumento
Klebsiella oceaenae	32.7	<0.01	Reducción
Klebsiella pneumonae	4.324	<0.05	Reducción
Micrococus	30.41	<0.01	Reducción

Nocardia sp	17.97	<0.01	Reducción
Pseudomonas auruginosa	6.92	<0.01	Reducción
Serratia marcences	0.502	Ns	Ns
Serratia sp	4.033	<0.01	Reducción
Staphylococus albus	0.5084	Ns	Ns
Staphylococus aureus	29.26	<0.01	Reducción
Streptococus agalactie	32	<0.01	Reducción
Streptococus alfa hemolítico	4.033	<0.01	Aumento
Xantomonas	0.50209	Ns	Ns

Ns: no significativa

Cuando se analizó la información referente a la aplicación del producto en las mamilas, las pruebas de chi-cuadrada mostraron que en la mayoría de los casos hubo una reducción significativa ($p<0.05$) o altamente significativa ($p<0.01$) en el número de muestras positivas atribuible al tratamiento (cuadro 6). Solo en *E. aglomerans, E. cloacae, E. hafriae, Enterococos y en Escherichia coli* no se observaron reducciones significativas (cuadro 7). En estas bacterias el número de casos positivos fue bajo en el control de ahí que cualquier reducción sería poco relevante.

Staphylococus aureus: esta bacteria causante de mastitis contagiosas tuvo una reducción significativa (cuadro 7).

Citrobacter freundii: Aunque esta bacteria es de poca importancia hubo una reducción significativa al usar el producto Oxidante cloroconcentivo (cuadro 7).

Enterobacter aglomerans: No hay efecto significativo (cuadro 7) al usar Oxidante cloroconcentivo sobre esta bacteria, pero esto puede ser debido a que:

- Al lavarse la máquina ordeñadora con agua esta bacteria puede estar en grandes cantidades en el agua.
- El propio aire puede trasportar a la bacteria y al momento de hacer el muestreo se pudo contaminar la muestra o el chupón.
- Al disminuir bacterias contagiosas da la oportunidad de aumentar bacterias ambientales

Micrococus: presenta una reducción al usar Oxidante cloroconcentivo (cuadro 7), sin embargo es de poca importancia, ya que *Micrococcus* es flora normal del conducto lácteo.

Enterococos: no hubo una disminución significativa (cuadro 7) de esta bacteria con el producto Oxidante cloroconcentivo, sin embargo esta bacteria al encontrarse en la en vías intestinales y en la vulva como flora normal al tomar la muestra la bacteria pudo habarse infiltrado, ya que con el aire esta bacteria puede llegar a contaminar los chupones o las muestras.

Nocardia sp: al usar Oxidante cloroconcentivo hubo una reducción significativa (cuadro 7) de esta bacteria causante de mastitis ambientales.

Pseudomonas auruginosa: hubo una reducción significativa (cuadro 7) de está bacterias oportunista.

Staphylococus albus: no tuvo una reducción significativa (cuadro 7) al usar Oxidante cloroconcentivo, esto pudo haber sido porque esta bacteria se encuentra como flora normal en la boca y el propio ordeñador puede contaminar los chupones al toser o al hablar, incluso la propia muestra se pudo haber contaminado al momento de su obtención o de su siembra.

Streptococcus alfa hemolítico: esta bacteria aumento (cuadro 4) en el muestreo tratamiento (Al usar Oxidante cloroconcentivo) esto se debió a diversos factores:

- Al disminuir bacterias contagiosas de la máquina ordeñadora da oportunidad que bacterias como ***Streptococcus alfa hemolítico*** se incrementen, sin embargo esta bacteria no es nociva ni dañina ya que es arrojado de las glándulas mamarias de forma normal.
- Al incorporar cabras recién paridas a la ordeña estas bacterias se incrementan.

Xantomonas: esta bacterias no tuvo reducción significativa (cuadro 4 y cuadro 7), debido a que esta bacteria se encuentra de forma natural en: la madera y vegetación. El lugar donde se toma la muestra esta llena de vegetación y la sala de ordeña es de madera por lo que posiblemente se contamino la muestra

COMPARACION DE PROMEDIOS DE UFC

Se realizaron comparaciones entre promedios de UFC para aquellas bacterias donde el número de colonias fué relevante, en otras palabras cuando solo aparecieron menos de 15 ocaciones no se realizaron comparaciones.

Cuadro 8

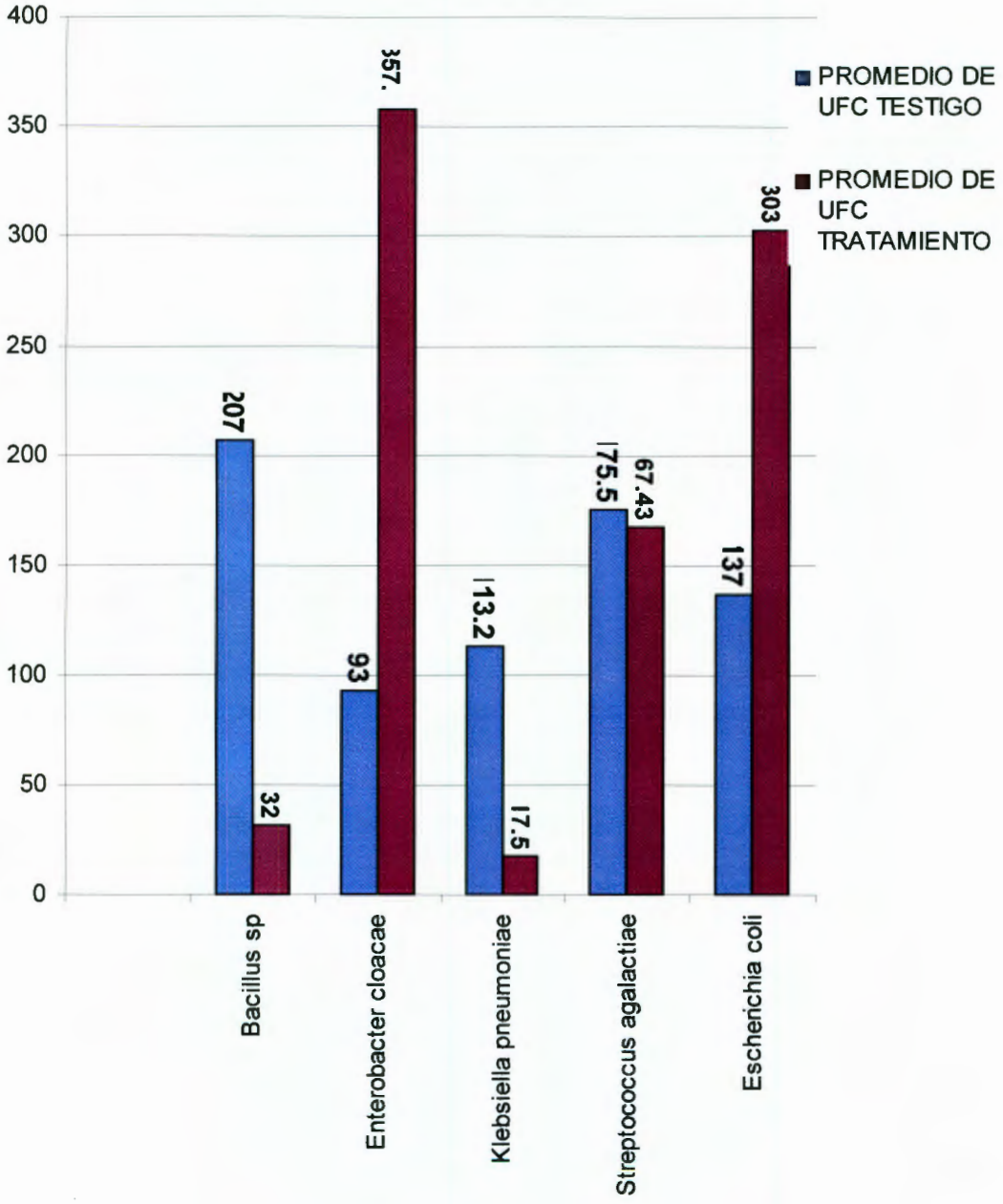
Promedios de UFC en testigo y tratamiento

BACTERIA	PROMEDIO DE UFC TESTIGO	PROMEDIO DE UFC TRATAMIENTO	DIFERENCIA
Bacillus sp	207	32	174
Enterobacter cloacae	93	357.6	-264.6
Klebsiella pneumoniae	113.2	17.5	95.7
Streptococcus agalactiae	175.5	167.43	8.07
Escherichia coli	137	303	-166

Para Bacillus sp, Klebsiella pneumoniae, Steptococcus agalactiae si hubo una disminución significativa de UFC, mientras que para Enterobacter cloacae y Escherichia coli hubo un incremento de UFC (cuadro 8).

Gráfica 4

Promedio de UFC de algunas bacterias



Cuadro 9

Significancias para la Prueba de t de Student en muestreo testigo y tratamiento (en total, comparando inicio y final de la prueba)

bacteria	prueba de t general	prueba de t final	prueba de t inical	significancia
Bacillus sp	2.4571E-14	3.59047E-08	1.10359E-07	Disminución Significativa
Enterobacter cloacae	0.043964295	0.023469214	0.066405066	Aumento Significativa
Klebsiella pneumoniae	0.000499537	0.002312974	0.003479273	Disminución Significativa
Streptococcus agalactiae	0.295393105	0.320619366	0.05284699	Ns
Escherichia coli	0.002448685	0.05903561	0.05903561	Aumento Significativa

En cuanto a las pruebas de T de Student sólo se pudieron realizar con: *Bacillus sp Klebsiella, pneumoniae Enterobacter cloacae, Streptococcus agalactiae, Escherichia coli.* ya que sólo con estas bacterias tienen mayor número de veces de aparición (tanto en testigo como en tratamiento) con los que se pueden realizar la prueba de T de Student; las demás bacterias no se les puede realizar la prueba de T de Student debido a la cantidad de aparición fue menor (en testigo o en tratamiento).

Hubo una reducción significativa con respecto a *Bacillus sp Klebsiella, pneumoniae, sólo en Enterobacter cloacae,* Escherichia coli se observo un aumento significativo. *Streptococcus agalactiae* no hay significancia (cuadro 9).

Los ***bacillus*** encontrados en la máquina ordeñadora se consideran *bacillus* ambientales, ya que durante la investigación o muestreo ninguna cabra presentó mastitis gangrenosa. Sin embargo el efecto del producto Oxidante cloroconcentivo sobre esta bacteria fue significativa; tanto en la prueba de ji- cuadrada (cuadro 7) como de T de Student (cuadro 8) mostraron una reducción significativa. En investigaciones futuras con el producto Oxidante cloroconcentivo habría que ver si también es efectivo contra bacillus cereus como lo fue contra *bacillus sp.*

Enterobacter Cloacae: presentó un incremento significativo en la prueba de Chi-cuadrada (cuadro 7) y en la prueba de T de Student (cuadro 9), esto se dio debido:

- El agua con la que se lava la ordeñadora se contamina con heces fecales de las propias cabras.
- Evitar la contaminación del agua con la que se lava la ordeñadora es un poco inevitable, debido al aire y la cantidad de heces que se encuentran en la sala de ordeñar.
- El propio aire pudo haber transportado heces fecales a la máquina ordeñadora o incluso a la propia muestra al momento de hacer el muestreo.

Streptococus agalactie: hubo una reducción significativa en la prueba de Ji- (cuadro 7) cuadrada, siendo muy importante, ya que esta bacteria es contagiosa. Sin embargo en la prueba de T de Studen no mostró reducción significativa (cuadro 9).

Escherichia coli: esta bacteria no tuvo una reducción significativa (cuadro 7 y cuadro 9), pero eso se debió a varios factores:

- ***E. coli*** al ser una bacteria ambiental y encontrarse en prácticamente en todos lados (heces, suelo, agua, etc) es de difícil radicación.
- Durante la investigación hizo mucho aire y como consecuencia hubo mucho arrastre de polvo, heces, basura, en todo momento; por lo que los chupones (e incluso la misma muestra) pudieron contaminar.
- Las muestras fueron tomadas en época de invierno por lo que la mamitis por *Escherichia coli* aumentan la mayoría de los casos (Maxine, 1991).
- Al cambiar cabras secas por recién paridas a la ordeña aumenta un 40% la aparición de ***Escherichia coli*** (Maxine, 1991).
- Al disminuir las bacterias contagiosas da la oportunidad de aumentar bacterias ambientales como ***Escherichia coli.***

Klebsiella ozaenae y Klebsiella pneumonae: Hubo una reducción significativa al usar Oxidante cloroconcentivo, aunque estas bacterias no son causantes de mastitis contagiosas sino ambientales. Klepsiella pneumonae tuvo una reducción significativa tanto en la prueba de Chi-cuadrada (cuadro 7) como en la de T de Student (cuadro 9).

Cuadro 10

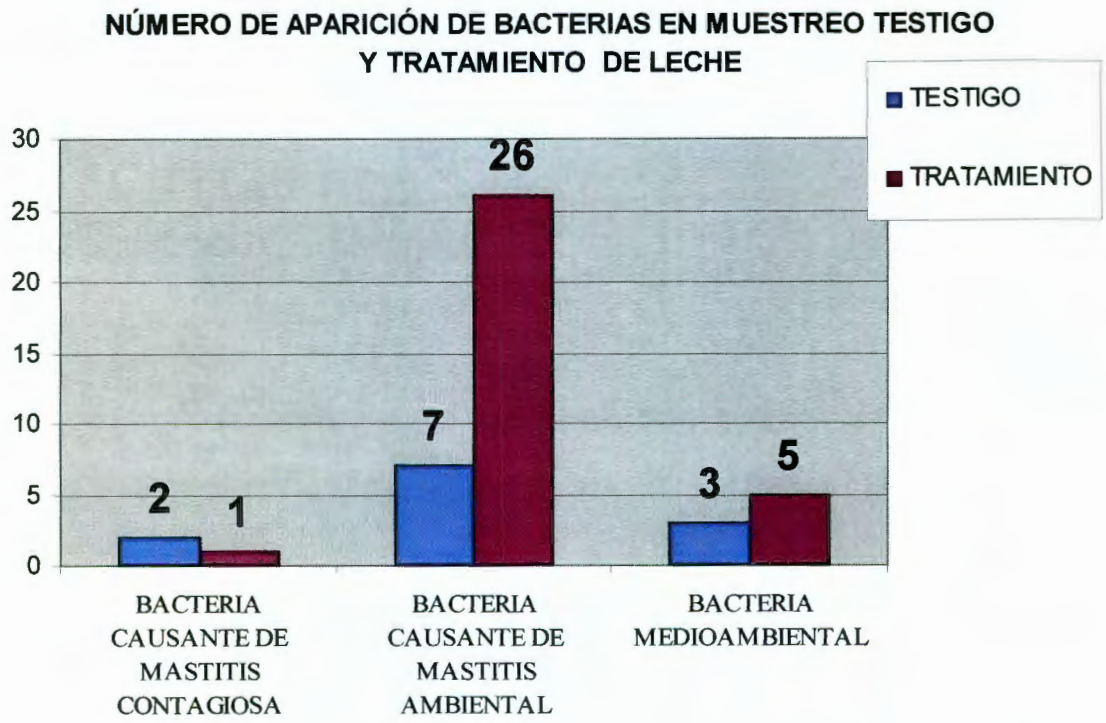
Resultados de muestra de la leche

MUESTRA	BACTERIA	COL/MOL (10^3)
9	*Streptococcus agalactiae*	55
10	*Streptococcus agalactiae*	127
26	*Streptococcus agalactiae*	100
4	*Escherichia coli*	125
5	*Escherichia coli*	289
7	*Escherichia coli*	230

9	*Escherichia coli*	229
10	*Escherichia coli*	366
12	*Escherichia coli*	125
15	*Escherichia coli*	10
16	*Escherichia coli*	52
17	*Escherichia coli*	120
17	*Escherichia coli*	120
18	*Escherichia coli*	70
18	*Escherichia coli*	50
19	*Escherichia coli*	36
20	*Escherichia coli*	60
21	*Escherichia coli*	50
19	*Escherichia coli*	36
20	*Escherichia coli*	60
21	*Escherichia coli*	50
22	*Escherichia coli*	320
23	*Escherichia coli*	70
24	*Escherichia coli*	180
25	*Escherichia coli*	800
26	*Escherichia coli*	920
27	*Escherichia coli*	970
28	*Escherichia coli*	170
29	*Escherichia coli*	6
30	*Escherichia coli*	20
6	*Klebsiella ozaenae*	12
24	*Klebsiella pneumoniae*	10
1	*Pseudomonas aeruginosa*	970
2	*Pseudomonas aeruginosa*	789
3	*Pseudomonas aeruginosa*	890
4	*Pseudomonas aeruginosa*	798

5	*Pseudomonas aeruginosa*	235
6	*Pseudomonas aeruginosa*	739
7	*Pseudomonas aeruginosa*	345
8	*Pseudomonas aeruginosa*	786
11	*Pseudomonas aeruginosa*	124
13	*Pseudomonas aeruginosa*	12
18	*Pseudomonas aeruginosa*	4
1	*Serratia sp.*	25
18	*Enterococos*	120
28	*Enterococos*	120
29	*Enterococos*	60
30	*Enterococos*	70
1	*Corinebacterium sp.*	10
10	*Enterobacter agglomerans*	30
16	*Streptococcus alfa hemolítico*	100

Gráfica 5



En el los resultados de las muestras de leche nos muestra que:

- Hubo una disminución del número de aparición de bacterias causantes de mastitis contagiosas al usar Oxidante cloroconcentivo (en muestreo tratamiento).
- Un aumento de bacterias causantes de mastitis ambientales al usar Oxidante cloroconcentivo (muestreo tratamiento), esto se debió principalmente al aumento de *Escherichia coli* por diversos factores que ya se comentaron.
- Un aumento de bacterias medioambientales al usar Oxidante cloroconcentivo.

XIII. CONCLUSIONES

Al usar el germicida en la máquina ordeñadora (muestreo tratamiento) hubo una disminución de aparición de *Streptococcus agalactiae, Staphylococcus aureus kelbsiella ozaenae, klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Micrococcus, Enterobacter hafriiae, Nocardia sp., Cirtrobacter freundii y Serratia sp.* Mientras que *Escherichia coli, Enterobacter cloacae, Serratia marcenses, Bacillus, Enterobacter agglomerans, Sterptococcus alfa hemolítico* hubo un aumento aparente. Este aumento aparente fue por varios factores.

Para las pruebas de Chii-cuadrada hubo disminución altamente significativa para la mayoría de los cados excepto para *E. aglomerans, E. cloacae, E. hafriae, Enterococos y en Escherichia coli.*

Para las pruebas de T de Student hubo una disminución significativa de UFC para Bacillus sp Klebsiella, pneumoniae, sólo en Enterobacter cloacae, Escherichia coli se observó un aumento significativo. *Streptococcus agalactiae* no hay significancia.

En cuanto a los resultados de las muestras de leche hubo una disminución del número de aparición de bacterias causantes de mastitis contagiosas al usar Oxidante cloroconcentivo, sin embargo hubo un aumento de bacterias causantes de mastitis ambientales y de bacterias medioambientales al usar el producto Oxidante cloroconcentivo, sobre todo del *Escherichia coli,* por diversos factores ya mencionados.

Este germicida no fue irritante para los pezones de las cabras, por lo que no es toxico ni nocivo.

Se recomienda hacer futuras investigaciones con este germicida en:

- Diferentes épocas del año.
- Como sellador y presellador en cabras
- En otros utensilios de la sala de ordeña

XIV. BIBLIOGRAFÍA

Acontecer Lechero, Microorganismos que causan Mastitis, 2(14), México: 49-50.

Álvarez, et al, 2002, La mastitis, orígenes y colonización del canal del Pezón, Acontecer Lechero, México, 2(9): 66-70.

Arthur 1984, Tratado de enfermedades del ganado vacuno, Acribia, España: 366-377.

Ávila, 1986, Producción intensiva de ganado lechero, C.E.C.S.A., México: 114-156

Ávila, 1999, Mastitis endotóxica, Acontecer Bovino, México, 5 (24): 38-44.

Banks 1994, Histología Veterinaria Aplicada, Manual Moderno, México: 430-436

Blowey, 1991. Diseases an disorders of cattle, Wolfe Publishing, England: 179- 192

Blood, 1992, Medicina Veterinaria, Interamericana, 6° edición, México: 491-554.

Bone, 1983, Anatomía y fisiología animal, Manual moderno, México: 412-415.

Carter 1994, Bacteriología y Micología Veterinaria, Manuel moderno, 2° edición, México: 200-204, 222, 254-261, 270-273, 295, 307-335.

Coffin, 1986, Laboratorio Clínico en Medicina veterinaria, Prensa Medica, México: 254 -258.

Cunningham, 1996, Fisiología Veterinaria, Interamericana, 2°Edición, México: 518-536.

COFOCALEC, 2003, Microbiología de Mastitis, Acontecer lechero, México: 2(12): 59

García, 2001, Células Somáticas una advertencia sin darnos cuenta México Holstein, México.

Harmon, R. J. 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. J. Dairy Sci. 77:2103-2112.

Hedberto, 2001, Mastitis producida por *Sthaphyloccoccus Aureus*, Acontecer Lechero, México, 1(2): 68-72.

Kelly, 1983, Diagnóstico Clínico Veterinario, Continental, 5° edición, México: 295 – 304.

Loor, J.. 2003. Aspectos básicos sobre el desarrollo de mastitis Instituto y Universidad Politécnica de Virginia, Blacksburg. EUA

Maxine, 1991, Manual de Patología Clínica Veterinar, Limusa, México:9 – 11.

Merck, 1994, El Manual de Veterinaria, Océano, 4° edición, México: 790-783.

Mora G. 2002, Mastitis Ambiental, Acontecer Lechero, México, 2(8):41-43

National Mastitis Council 40th, 2001, Annual Meeting, USA

Ochoa, 1999, Programas de Control de Mastitis, Acontecer Bovino, México, 5(21): 23-29.

Téllez, 2002, Eficacia clínica y susceptibilidad de microorganismos en mastitis bovina, Acontecer Lechero: México, 3(10): 42-44.

Tizar 1996, Inmunología Veterinaria, Interamericana, México: 79-112.

Trigo 2001, Patología Sistémica Veterinaria, McGraw-Hill, 3° edición, México: 190-197.

http://www.ceba.com.co/vicarmamitis_o_mastitis.htm

http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/enfermedades/GA000009en.htm

http://www.serganaderos.com/temas/mastitis2.htm

http://www.serganaderos.com/temas/masmitis

http://www.serganaderos.com/temas/mastitis2.htm

http://www.capraispana.com/enfermedades/mastitis/perdidasmastitis.htm

http://www.ceniap.gov.ve/bdigital/ztzoo/zt2003/texto/aclavijo.htm