INCIDENCIA DE MASTITIS EN UN HATO LECHERO DETERMINADA POR LAS PRUEBAS DE CALIFORNIA MASTITIS, HOTIS Y CATALASA

Por

CARLOS DAMIAN ESCOBAR BARRIENTOS

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA
Centro de Enseñanza e Investigación
Turrialba, Costa Rica

Febrero de 1967

INCIDENCIA DE MASTITIS EN UN HATO LECHERO DETERMINADA POR LAS PRUEBAS DE CALIFORNIA MASTITIS, HOTIS Y CATALASA

Tesis

Sometida al Consejo de Estudios Graduados como
requisito parcial para optar al grado de

Magister Scientiae

en el

Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA

APROBADA: _____ Consejero
John V. Bateman, Ph.D.

_____ Comité
John Blydenstein, Ph.D.

_____ Comité
Arthur E. Dracy, Ph.D.

_____ Comité
Candelario Ríos, Mag.Agr.

_____ Comité
Adalberto Gorbitz, Ing. Agr.

Febrero de 1967

A mis padres y hermanos

A mi esposa

A mis hijos

BIOGRAFIA

El autor nació en San Ramón, Tarma, Perú. Realizó sus estudios primarios en Matahuasi, terminó sus estudios secundarios en el Colegio Nacional de Nuestra Señora de Guadalupe en Lima. Cursó su carrera de Médico Veterinario en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U. N. M. de San Marcos, Lima, Perú de 1947 a 1951.

De enero de 1952 a octubre de 1953 trabajó en el Banco de Fomento Agropecuario del Perú. De 1954 a 1957 en la Soc. Agr. Ganadera Talandracas Poclús S. A. Piura. De 1957 a 1959 desempeñó su profesión particularmente. En enero de 1960 ingresó como catedrático auxiliar fundador de la Universidad Comunal del Centro Huancayo. En 1962 ascendió a Catedrático Asociado de la Universidad Nacional del Centro. De mayo de 1962 a junio de 1963 fue Decano de la Facultad de Zootecnia. De marzo de 1964 a junio de 1965 desempeñó el cargo de Secretario de la Facultad de Agronomía de la U. N. C. En marzo de 1965 fue ascendido a la categoría de Catedrático principal de Anatomía de los animales domésticos y de Cirugía Veterinaria.

En setiembre de 1965 ingresó al Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, como estudiante graduado en la Disciplina de Zootecnia.

En setiembre de 1966 asistió al V Congreso Panamericano de Medicina Veterinaria y Zootecnia realizado en Caracas, Venezuela.

Terminó sus estudios en febrero de 1967.

AGRADECIMIENTO

Mi sincero agradecimiento al I.I.C.A. Zona Andina por haberme brindado la oportunidad de realizar estudios de post graduado al otorgarme una beca.

A la Universidad Nacional del Centro, Huancayo, Perú por las facilidades brindadas.

A los Doctores William Pounden, John V. Bateman, John Blydenstein, Arthur Dracy e Ings. A. Gorbitz y C. Ríos.

A los Doctores Joaquín Chivilchéz, Agustín Málaga y Alfredo Gambarina de la Universidad Nacional del Centro por haber dictado los cursos de Anatomía Topográfica, Anatomía Comparada de los Animales Domésticos y Cirugía Veterinaria durante mi ausencia.

A los Ings. Hormando Sakamoto O. y Carlos Molestina.

A mis compañeros.

TABLA DE CONTENIDO

INDICE DE CUADROS

INTRODUCCION

En la zona de Turrialba, como en diferentes partes del orbe, el ganado lechero es susceptible a una serie de trastornos y enfermedades, unas veces de naturaleza metabólica o funcional y otras veces de naturaleza infecciosa. Entre las enfermedades infecciosas tenemos la Mastitis bovina, que se caracteriza por la acumulación de leucocitos en la sangre destinados a combatir las bacterias invasoras. Resultado de ello es que la composición de la leche se vuelve más semejante a la de la sangre. Por lo tanto, las pruebas de mastitis se basan: a) en el descubrimiento de los organismos causales (observación directa al microscopio, cultivos en agar-sangre, prueba de Hotis) o b) descubrimiento de los cambios de composición de la leche en sentido más semejante a la sangre (pH más alto, aumento de cloruros y catalasa). La infección puede deberse a cierto número de bacterias; el organismo etiológico más corriente es el Streptococcus agalactiae.

La Mastitis o Mamitis se caracteriza por causar alteraciones de las propiedades físicas, químicas y bacteriológicas de la leche, como consecuencia de un proceso infeccioso de la glándula mamaria, la que se presenta endurecida, dolorosa, algunas veces tumefacta y con aumento local de temperatura, convirtiéndose en un cuadro patológico, produciendo elevadas pérdidas a la industria lechera.

Hay varios tipos de mastitis: a) agudo o parenquimatoso, en su forma moderada, severa e hiper aguda; b) la crónica o catarral, que es la más resistente además de ser vectora en el esparcimiento de las bacterias de vacas enfermas a sanas por medio de los piensos de la cama, las manos del ordeñador, las copas de la máquina ordeñadora

y los forrajes de los potreros; c) la intersticial o traumática en los estados subclínicos, que es difícil identificar por mostrar la leche una apariencia aparentemente normal, aunque contiene microorganismos patógenos.

El presente trabajo tiene por objeto evaluar la incidencia de mastitis en general en el hato lechero del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas, determinar el porcentaje de mastitis estreptocócica, y estudiar la influencia de los forrajes sobre la incidencia de la mastitis.

REVISION DE LITERATURA

La mastitis, desde el siglo pasado, ha causado ingentes pérdidas, a la industria lechera (42) por lo que siempre los hombres de ciencia han buscado nuevos métodos para una detección e identificación inmediata de los microorganismos que causan esta infección.

Uno de los agentes etiológicos que con mayor frecuencia se hallan en los hatos lecheros es del género Streptococcus y de ellos el que más destaca es la especie Streptococcus agalactiae (27). Siguen en orden patogénico Staphylococcus, Corynobacterias pyógenes, Coliformos, Levaduras y Hongos.

Algunos autores citados por Merchant y Parker (18) indican que Nocard y Mollereau aislaron por primera vez en 1884 el Str. agalactiae. En publicaciones sucesivas, de 1885 a 1887, informaron que habían logrado producir cuadros de mastitis en vacas y cabras inoculándolas con esta bacteria. En los años siguientes varios autores describieron numerosos Streptococcus mamarios. Lehmann y Neumann emplearon el nombre de Streptococcus agalactiae en 1890 y Migula, Streptococcus mastitides en 1900, habiéndose adoptado la primera nominación. Rebeca Lancefiel en 1928 señaló que el Streptococcus de tipo hemolitico puede dividirse en grupos, utilizando la reacción de precipitación y empleando como antígeno un carbohidrato específico, designado con el nombre de sustancia "c".

Usando las técnicas de tipificación de Lancefiel, los Streptococcus han sido estudiados por varios investigadores (3, 6, 7, 8,

15, 17, 18, 22, 23, 25, 36, 38, 48), resultando en la formación de grupos designados con letras desde la A hasta la N. En el grupo B se encuentran los Streptococcus de la mastitis, en el que destaca la especie Streptococcus agalactiae.

El Str. agalactiae se halla en donde existen vacas lecheras. La frecuencia de mastitis estreptocócica suele ser alta, llegando al 80 por ciento, pocos hatos lecheros están libres de la enfermedad. Hay muchas causas relacionadas con la propagación de la mastitis (1, 3, 4, 5, 6, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 40, 41) siendo las más frecuentes las de índole interno como externo; constitución y disposición hereditaria, influencias hormonales, estado de lactación y rendimiento lechero de las vacas, ordeñabilidad, edad (más años, mayor susceptibilidad) influencia estacionales, técnica e higiene del ordeño (ordeñadoras mecánicas mal usadas, deficientemente desinfectadas, copas muy usadas) formas de alimentación, cría y manejo (terneras separadas para que no se mamen unas a otras).

Las especies del género Streptococcus son aerobias, incuban optimamente a 37°C, en medios líquidos producen flóculos, en agar sangre producen homólisis alfa o beta. Son muy resistentes a altas temperaturas y muchas veces se hallan presentes en leche mal pasteurizada, a excepción del Streptococcus pyógenes que no resiste altas temperaturas. Se ha demostrado que el Str. agalactiae en ambiente con humedad relativa superior a 60 por ciento, muere a las once semanas. Resiste hasta tres años en humedad relativa de 10 a 25 por ciento.

Se admite que el mayor porcentaje de mastitis en los establos

lecheros es causado por el Streptococcus agalactiae (17).

Palmer, citado por Plastridge (26), en los Estados Unidos halló que el 25 por ciento del ganado lechero tenía mastitis y que las pérdidas en 1950 alcanzaron a 200 millones de dólares. Guthrie (11) encontró que existía un aumento de los procesos infectocontagiosos producidos por bacterias en las glándulas mamarias del ganado bovino lechero, de tal manera que las pérdidas en los Estados Unidos por esta causa subieron de 435 millones de dólares en 1962 a 600 millones de dólares en 1965.

Pounden y colaboradores (33) en Costa Rica estimaron que las pérdidas por mastitis en 1965 alcanzaron a 16.250.000 libras de leche (10 por ciento) en una producción total de 162.500.000 de libras leche año para 65.000 vacas. Si se considerara un precio de ₡0,50 por libra, las pérdidas económicas llegarían a ₡8.125.000 anuales.

Blood y Henderson (3), Chodkowski (4), Davis (5), Leide (14), Spencer y colaboradores (45) coinciden que del 23 por ciento al 50 por ciento de la mastitis en el ganado bovino lechero es causado por Str. agalactiae, ya que estas bacterias se distinguen de todos los otros Streptococcus que se presentan en la leche, debido a que es el único microorganismo de este grupo que necesita de la glándula mamaria para que se perpetue en la naturaleza.

Rivera y Berrocal (37), de la Universidad de Puerto Rico, encontraron que la incidencia de mastitis producida por el Str. agalactiae en 1,453 cuartos de 720 vacas era de 54,18 por ciento, siendo el resto de las incidencias causadas: por Staph albus 26,81 por ciento, por Bacillus subtilis 4,85 por ciento, por E. coli 4,32 por

ciento y el 8,17 por ciento restante por Pseudomonas, Micobacteria tuberculosa, levaduras y hongos. Igualmente informaron que las pérdidas eran elevadas, de 28 dólares por vaca/año.

Murphy, citado por Blood y Henderson (3) en el estado de Nueva York encontró cuadros de mastitis con 23 por ciento de Str. agalactiae, 13 por ciento de otros Streptococcus, 13 por ciento de Staphylococcus patógenos y 1 por ciento de diversos bacilos, con un 50 por ciento restante que no revelaban presencia de microorganismos.

Ferguson, citado por Plastridge (26) encontró que la mastitis era causada en un 24 por ciento por Str. agalactiae, 23 por ciento por Str. dysgalactiae, 15 por ciento por Str. uberis, 10 por ciento por otros Streptococcus, 15 por ciento por Staphylococcus albus, 6 por ciento por Corynobacteria pyogenes, 2 por ciento por Coliformos y el saldo por infecciones mixtas.

Influencia de los forrajes

Varios autores (26, 28, 29, 32) informaron que el incremento de la mastitis es influído por la calidad del forraje; mientras más alto es el contenido de proteína en el forraje, el porcentaje de mastitis aumenta. Estos autores explican que las proteínas de los forrajes verdes tienen una acción estrogénica y que el estrógeno provoca el crecimiento de ductos y canales favoreciendo la entrada de las bacterias a las glándulas mamarias.

Pounden (34) encontró 24 ataques de mastitis en 5 vacas de un grupo de 15, que habían sido alimentadas con gramíneas y leguminosas verdes durante cuatro meses y solo siete ataques de mastitis en dos

vacas de un grupo de 15 que fueron alimentadas con gramíneas y leguminosas ensilados. De estos ataques, el que predominó fue el de Staphylococcus albus, en menor porcentaje Str. agalactiae y luego coliformos. Pounden (27) demostró que los tipos de forraje influían en la incidencia de mastitis, ya que mientras en gramíneas bajaba el número de ataques de mastitis por Str. agalactiae, aumentaban los ataques de mastitis por Staphylococcus o viceversa.

Clasificación de la mastitis

De las diversas clasificaciones de la mastitis, la más adecuada es la de Blood y Henderson (3) quienes afirman que se inicia con un cuadro patológico complejo en el cual se notan tres fases.

1. Invasión. Los microorganismos penetran a través del canal de la teta.
2. Infección. Las bacterias llegan a alcanzar un alto grado de virulencia, presentándose cuadros sub agudos y agudos.
3. Inflamación. A la palpación, la ubre tiene dolor, calor, rubor y tumor.

Spencer y McNutt (43) reconocen tres tipos de mastitis:

a) Mastitis aguda o parenquimatosa, que se caracteriza por la rápida y notable inflamación del cuarto y por los cambios inmediatos y pronunciados en la apariencia de la leche; hay mucha inflamación e hinchazón, calor, enrojecimiento y dolor a la palpación en la región afectada. El estado físico del animal decae, presentándose fiebre o inapetencia, depresión y otros síntomas reveladores al estado septicémico. El

"cuarto" contaminado por esta clase de mastitis produce un líquido turbio, sanguinolento y acuoso, con coágulos de fibrina, caseína o de pus. Esta mastitis puede ser moderada, severa o hiper-aguda.

b) Mastitis intersticial o traumática; se produce a consecuencia de golpes recibidos en la ubre, en donde se advierten inflamaciones de la piel y de los tejidos conectivos sub cutáneos e intersticiales. Si los tejidos lesionados no son invadidos por microorganismos capaces de producir pus, la inflamación puede resultar limitada y pareja, desarrollándose en cambio un flemón purulento de los tejidos conectivos.

c) Mastitis catarral o crónica, es la más común que ataca a la ubre bovina; parece tener un curso subagudo o crónico, e incluso aparece en cualquier etapa de la lactancia. Usualmente ocurre después del calostro y rara vez cuando la vaca ingresa al período seco.

Esta es una inflamación de la membrana mucuosa del interior del sistema excretorio (conjunto de canales y conductos) de la ubre. Suele afectar frecuentemente la cisterna de la glándula provocando aquí congestión, secreción de un exudado de suero, moco o pus, y cambia los tejidos afectados, particularmente por la producción y proliferación del tejido conectivo o conjuntivo. El proceso inflamatorio progresa hasta afectar los alveolos o hacecillos de delicadas células que producen y secretan leche. Los alveolos degeneran y se destruyen causando una reducción progresiva o permanente de

la cantidad de leche del cuarto afectado, al ser reemplazados por un tejido conectivo, incapaz de producir leche. Finalmente el cuarto se atrofia o se reduce de tamaño; y se vuelve improductivo, convirtiéndose en lo que llaman "cuarto manco" o "ciego".

Los síntomas iniciales de la mastitis crónica o catarral se presenta con pequeños coágulos o flóculos en los primeros chorros de leche que se ordeñan del cuarto de la ubre; también esos cuartos suelen aparecer aguados o amarillentos. No obstante, la leche que sigue a estos primeros chorros "aguados" o con coágulos tiene apariencia normal, lo cual indica que solamente la cisterna está afectada. Conforme la enfermedad progresa, la proporción de la leche anormal aumenta a tal punto que, cuando finalmente los alveolos se afectan, lo que se obtiene del cuarto es un líquido turbio, amarillento, con coágulos de caseína o de pus.

METODOS DE ESTUDIO

Localización

Este estudio se realizó en la Disciplina de Zootecnia del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA en Turrialba, Costa Rica. El clima de la zona se caracteriza por una temperatura promedio diaria de 22,31°C y con una humedad relativa de 87,47 por ciento. La lluvia es distribuída durante todo el año y alcanza a 2.688 mm. por año.

Se contó para el estudio con el hato lechero del IICA, en el que predomina la raza Criolla lechera, Jersey y vacas cruzadas entre Jersey y Pardo Suizas con criollas. La edad de los animales fluctuó de 3 a 15 años, asi como también habían de 1 a 12 partos. No se tomó en cuenta el período de lactancia, ni la producción. El número de vacas fue variable, porque mientras unas ingresaban al período seco otras ingresaban a otro período de lactancia. Las vacas se pastorearon en potreros de pasto pangola (*Digitaria decumbens* Stent.) y en potreros de pasto guinea (*Panicum maximum* Jacq.) y calinguero (*Melinis minutiflora* Beauv.).

Los potreros de pasto pangola tenían una extensión de más o menos 22 hectáreas y los potreros de pasto guinea/calinguero una extensión de 55,7 hectáreas. Solamente los primeros recibieron abono a base de una aplicación completa y dos aplicaciones de urea por año.

Incidencia de Mastitis en el hato lechero

El estudio de la incidencia de mastitis en el hato lechero se

llevó a cabo en dos etapas:

En la primera etapa las vacas se dividieron en dos grupos:

a. 58 vacas sanas y 12 vacas infectadas, sumando un total de 70 animales para ordeño mecánico.

b. 19 vacas sanas y 39 vacas infectadas, sumando un total de 58 animales para ordeño a mano.

Tipos de pruebas

Para este trabajo se realizaron las siguientes pruebas:

a. Prueba de California Mastitis (CMT) cada 15 días.

b. Prueba de Hotis y Miller cada 30 días.

c. Prueba de la Catalasa, cada 90 días.

d. Cultivos en agar sangre. El cultivo en agar sangre sirve para evaluar los diferentes tipos de micrococos siendo específico para la identificación de los micrococos.

Pounden* llegó a determinar en la zona de Turrialba que la especie predominante del género Streptococcus era el Str. agalactiae, por esta razón en el presente estudio no se consideró necesario utilizar el método de cultivos en agar sangre.

La segunda etapa del experimento comenzó el 1º de abril de 1966 y se terminó el 30 de setiembre del mismo año. Se realizaron las mismas pruebas de la primera etapa, con excepción de la prueba de cultivos en agar sangre.

---

* Comunicación personal.

Los animales se dividieron en la siguiente forma, ver cuadro 1.

Cuadro 1. Distribución de las vacas por tipo de forraje y por tipo de ordeño.

Potrero	Ordeño a mano Número de vacas		Ordeño mecánico Número de vacas	
	Sanas	Infectadas	Sanas	Infectadas
Pangola	9	28	19	1
Guinea	2	10	30	10
	11	38	49	11

Las muestras de leche se recolectaron cada 15 días para realizar la prueba del CMT y Hotis. En cada muestreo el número de vacas examinadas fue variable ya que mientras unas vacas ingresaban a un período de lactancia, otras salían de este período para ingresar al período seco. Asi en el mes de abril se muestrearon 109 vacas con un total de 424 cuartos. En el mes de mayo se muestrearon 115 vacas con un total de 445 cuartos. En el mes de junio se muestrearon 114 vacas con un total de 441 cuartos. En el mes de julio se muestrearon 107 vacas con un total de 411 cuartos. En el mes de agosto se muestrearon 116 vacas con un total de 449 cuartos y en el mes de setiembre se muestrearon 117 vacas con un total de 452 cuartos.

La reducción en el número de cuartos se debió a que existieron vacas con cuartos mancos, es decir no productivos.

Método de la Prueba del California Mastitis

La prueba del California Mastitis (CMT) (16) es un método indirecto para detectar cuartos infectados con mastitis en general y sirve para determinar el número de células leucocíticas y polimorfos nucleares que se hallan en la leche fresca como resultados de procesos infecciosos. Este método fue empleado por primera vez en 1958 por el Dr. O. W. Schalm de la Escuela de Medicina Veterinaria de California (39). Esta prueba consiste en tomar de cada cuarto glandular de la vaca muestras de dos mililitros de leche, aproximadamente; desechando los primeros chorros con el propósito de eliminar cuerpos extraños. Inmediatamente se agrega una cantidad equivalente de la solución de CMT (Bromocresol al 0,5 por ciento y Saponina), se mezcla mediante un movimiento circular suave y se procede a la lectura de acuerdo a la tabla establecida por Schalm (39, 40), cuyos valores se detallas a continuación.

Símbolo	Significado	Reacción de la mixtura	Cantidad leucocitos por ml
-	negativo	La mixtura líquida no evidencia formación de precipitación	0 - 200,000 0 - 25 por ciento PMN
T	traza	La mixtura líquida forma una ligera precipitación gelatinosa	150,000 - 500,000 30 - 40 por ciento PMN*
1	sospechoso	La mixtura líquida forma una precipitación gelatinosa	400,000 - 1,500,000 40-60 por ciento PMN

Símbolo	Significado	Reacción de la mixtura	Cantidad leucocitos por ml
2	positivo claro	La mixtura líquida forma una fuerte precipitación gelatinosa transparente	800,000 - 5,000,000 60-70 por ciento PMN
3	positivo duro	La formación de la gelatina en la mixtura líquida es dura y la superficie tiende a ser convexa.	mas de 5,000,000

* PMN polimorfos nucleares.

Para los propósitos de este estudio, cuando la leche tiene reacciones al CMT en grado 2,00 o 3,00 se consideraba la prueba positiva para mastitis (9).

Gray y Schalm (10) compararon la producción de vacas sanas con vacas infectadas con mastitis según la prueba del CMT y concluyeron que había un seis por ciento de disminución en la producción lechera cuando la reacción a la prueba del CMT era de trazas, un diez por ciento de disminución en la producción lechera cuando la reacción a la prueba del CMT era de grado 1,00, un 14 por ciento de disminución en la producción lechera cuando la reacción a la prueba del CMT era de grado 2,00 y un 24,5 por ciento de disminución en la producción lechera cuando la reacción a la prueba del CMT era de grado 3,00. Las estimaciones para el hato del IICA se calcularon en base a los trabajos realizados por Gray y Schalm.

Limitaciones en su interpretación

Aunque la solución del CMT es altamente sensible para detectar leucocitos en muestras de leche provenientes de vacas con cuartos infectados, también en esta prueba se forman precipitaciones y formación de una masa gelatinosa hasta por la presencia de partículas extrañas que se hayan en el exterior de la ubre (pelos, polvo). Algunas veces la prueba del CMT no detecta cuadros de mastitis en la leche, de la glándula mamaria infectada con Streptococcus agalactiae, cuando estas bacterias no producen alteraciones químicas en la leche*.

Por estas circunstancias, este método tiene ciertas limitaciones y es necesario completarlo con otras pruebas indirectas.

Método de la Prueba Hotis

Se realizó la prueba de Hotis cada 30 días a partir del mes de abril hasta setiembre de 1966.

El método de la Prueba de Hotis fue empleado por primera vez por Hotis y Miller en 1935 (12) y muchos autores tales como Foster (8), Hotis y Miller (12), McCulloch y Fuller (17), Moro**; Murphy (21), Plastridge (26), Pounden (31), Pulsford (36), Throop y colaboradores (46) y Udall (47) la consideran como prueba efectiva para la identificación de Str. agalactiae. Muchas veces otros Streptococos como el Str. dyagalactiae, Str. uberis, Str. de tipo hemolitico, Str. aurus también dan ligeras reacciones con este método, pero no con las características del Str. agalactiae.

---

* Comunicación personal del Dr. W. O. Pounden.

** Comunicación personal.

Hotis y Miller (12) demostraron que la prueba tenía una efectividad de 95 por ciento. Murphy (21) encontró el mismo porcentaje de efectividad. Pounden y otros, demostraron que la prueba tuvo una efectividad de 85 por ciento en varias regiones de los EE.UU. El mismo autor en los trabajos realizados en Costa Rica encontró un 95 por ciento en la zona de Turrialba.

Para efectuar la prueba, se recogen asepticamente muestras de 10 ml de leche de la vaca. Se agrega 0,5 ml. de la solución de Hotis y Miller (púrpura de bromocresol al 0,5 por ciento) y luego se incuba a 37°C (98,6°F), durante 18 y 24 horas. Si está presente el Str. agalactiae, alrededor de las paredes del tubo de prueba y en el fondo de este se encontrarán grumos y precipitaciones amarillas.

Si son otros Streptococcus, especialmente Str. dyagalactiae y Str. uberis, solo habrá cambios de coloración de la leche por aumento de la alcalinidad y mayor cantidad de cloruros.

Limitaciones en su interpretación

Hay que tener en cuenta la interferencia de posibles contaminantes aunque, si se limita la prueba a un incubación de 24 horas y se utiliza una técnica aséptica para la recolección y manipulación de las muestras, tales efectos se reducirán al mínimo. Para confirmar el tipo de bacterias que se hallan presentes, se procede al examen microscópico directo de la muestra de leche después de la incubación.

Método de la prueba de la Catalasa

La prueba de la catalasa se realizó el 30 de junio y el 30 de

setiembre de 1966, (cada tres meses). Spencer y Simon (44) indican que Tormmsdorff la describió por primera vez en 1906. Es un método indirecto que determina la cantidad de leucocitos presentes en la leche y consiste en recolectar muestras de 10 ml de leche en tubos de ensayo esterilizados con tapas enroscables, y agregar igual cantidad de agua destilada y 1 ml de agua oxigenada. Se mezcla mediante ligeros movimientos y se colocan los tubos de ensayo invertido previo ajuste de las tapas (2). A las tres horas se realiza la lectura: la cantidad de gas formado tiene relación con la cantidad de lecucocitos en la leche ya que estos son formadores de catalasa, la cual libera oxígeno.

Las lecturas se expresan en porcentaje de gas formado, con base a cálculos empleando la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de gas formado} = \frac{\text{Producción de gas x 100}}{\text{cantidad de leche}}$$

Según Burch (2) la interpretación de la prueba de la catalasa es la siguiente.

Catalasa Porcentaje de oxígeno	Cantidad de leucocitos por ml
Menos de 20% de oxígeno	Menos de 500,000 leucocitos
de 20 a 30% de oxígeno	de 500,000 a 1,000,000 de leucocitos
de 30 a 40% de oxígeno	de 1,000,000 a 2,000,000 de "
más de 40% de oxígeno	más de 2,000,000 de leucocitos

Para los propósitos de este estudio, se calificó la producción de 30 a 40 por ciento de gas como reacción sospechosa y la producción de más de 40 por ciento de gas como positiva.

Limitaciones en su interpretación

La interpretación de la prueba de la catalasa es limitada, porque cuadros de mastitis causados por la acción bacterial muchas veces no presentan reacción positiva (44). Otras veces, se produce una reacción positiva a la prueba cuando hay una infección en el organismo animal, no en la parte glandular sino en otra región del cuerpo. Por estas razones solo fue empleado como complemento del CMT y del Hotis en este estudio.

PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

Muestreo preliminar

El resultado de las pruebas de evaluación para los meses de enero, febrero y marzo se presentan en el cuadro 2.

Según la prueba del CMT se obtuvo una reacción positiva de 3,52 por ciento para el mes de enero y de 5,54 por ciento para el mes de marzo, siendo el primero la cantidad más baja y la última la más alta entre los tres meses.

La reacción positiva a la prueba de Hotis fue ascendente ya que en enero se obtuvo 17,61 por ciento y en el mes de marzo 22,18 por ciento.

Prueba de California Mastitis

Los resultados de la prueba CMT por cada mes, de abril hasta setiembre se presentan en el cuadro 3. Los datos que se obtuvieron fueron variables, porque cada mes el número de vacas fluctuaba, tanto en pasto pangola como en pasto guinea calinguero.

Para las vacas pastoreadas en pasto pangola los resultados mostraron que el porcentaje de infección fluctuaban entre 3,62 y 34,38 por ciento. Los datos de abril eran los más bajos para el experimento y los datos de setiembre eran los más altos. Esto se puede explicar porque en abril ingresaron al hato cuatro vacas del lote de las primerizas y en setiembre ingresaron a otro período de lactancia seis vacas infectadas.

Cuadro 2. Reacción positiva a dos pruebas durante el período preliminar de entrenamiento.

Mes	Número de vacas	Número de cuartos*	Cuartos infectados según California Mastitis		Infección según CMT %	Cuartos infectados según-Hotis	Infección según Hotis %
			grado 2**	grado 3***			
Enero	130	511	10	8	3,52	89	17,61
Febrero	122	478	23	1	4,81	95	19,87
Marzo	110	433	20	4	5,54	96	22,18

* cuartos en producción

** calificación con grado dos de infección

*** calificación con grado tres de infección

Cuadro 3. Reacción a la prueba CMT.

Mes	Potrero	Número vacas	Número cuartos	Número cuartos negativos	Número cuartos con trazas	Número cuartos sospechosos**	Número cuartos infectados grado 2 ***	Número cuartos infectados grado 3 ****	Cuartos infectados %	Promedio de cuartos infectados %
Abril	pangola	56	218	75	92	43	2	6	3,62	3,03
	Gúinea*	53	206	75	73	53	4	1	2,44	
Mayo	pangola	54	210	70	86	23	13	18	15,66	16,40
	guinea*	61	235	82	67	46	32	8	17,02	
Junio	pangola	55	214	61	90	37	16	10	12,15	9,70
	guinea*	59	227	90	69	54	8	6	6,16	
Julio	pangola	57	219	50	74	38	53	4	26,00	19,46
	guinea*	50	192	60	70	39	15	8	11,77	
Agosto	pangola	58	225	62	55	75	21	12	14,66	12,02
	guinea*	58	224	84	72	47	14	7	9,37	
Setiembre	pangola	57	221	65	36	44	34	42	34,38	30,53
	guinea*	60	231	64	35	70	51	11	26,83	

* mixtura de pasto guinea calinguero
** cuartos con grado de reacción 1,00 sospechoso
*** cuartos con grado de reacción 2,00
**** cuartos con grado de reacción 3,00 positivos

Para las vacas pastoreadas en pasto guinea, la prueba del CMT nos indicó en abril 2,44 por ciento de cuartos infectados como cantidad mínima y en setiembre un máximo de 26,83 por ciento. Esto se debió a que en abril salieron dos vacas con mastitis en ordeño y en setiembre entraron ocho vacas y dos se contaminaron con mastitis.

El promedio de infección para la prueba del CMT entre los meses de abril a setiembre fue de 15,10 por ciento. Para este cálculo se tomaron en cuenta solamente los cuartos infectados que llegaron a una clasificación de grado 2,00 y 3,00 en la prueba del CMT.

Las pérdidas en producción potencial para la prueba del CMT para mastitis para el período de abril a setiembre se presentan en el cuadro 4.

Estos datos están basados en los valores establecidos por Gray y Schalm (10).

Prueba de Hotis

Los resultados de la prueba de Hotis para cada mes, de abril hasta setiembre, se presentan en el cuadro 5.

Para las vacas pastoreadas en pasto pangola que se examinaron durante el tiempo que duró el experimento los resultados demuestran que los cuartos infectados fluctuaban entre 14,67 por ciento en agosto y de 24,89 por ciento en setiembre. El bajo porcentaje de cuartos infectados que se encontró en agosto con reacción positiva a la prueba de Hotis se debió a que en dicho mes salieron para el período seco cinco vacas infectadas con *Str. agalactiae*. El alto porcentaje que se encontró en setiembre se debe a que ingresaron a otro

Cuadro 4. Pérdidas estimadas en la producción de leche en relación con los resultados de la prueba del CMT.

Mes	Potreros	Total valor CMT	Promedio CMT	Pérdidas de producción potencial estimadas % **
Abril	pangola	109.5	0.50	6.00
	guinea*	101.5	0.49	5.80
Mayo	pangola	153.0	0.73	7.80
	guinea*	162.5	0.69	7.50
Junio	pangola	140.0	0.65	7.20
	guinea*	118.5	0.52	6.50
Julio	pangola	194.5	0.89	9.10
	guinea*	129.0	0.68	7.00
Agosto	pangola	186.0	0.83	8.70
	guinea*	139.0	0.62	6.70
Setiembre	pangola	218.5	1.17	10.12
	guinea*	219.0	0.95	9.60

* mixtura de pasto guinea calinguero

** porcentaje de la producción potencial

Cuadro 5. Infección según la prueba de Hotis, abril-setiembre.

Mes	Potrero	Número de vacas	Vacas infectadas	Número de cuartos**	Cuartos infectados	Porcentaje de cuartos infectados	Porcentaje total de cuartos infectados
Abril	pangola	56	19	218	39	17,89	14,15
	guinea*	53	10	206	21	10,19	
Mayo	pangola	54	24	210	51	24,29	19,77
	guinea*	61	21	235	37	15,74	
Junio	pangola	55	23	214	59	21,57	22,68
	guinea*	59	22	227	41	18,06	
Julio	pangola	57	20	219	46	21,00	19,95
	guinea*	50	17	192	36	18,75	
Agosto	pangola	58	17	225	33	14,67	15,81
	guinea*	58	20	224	38	16,96	
Setiembre	pangola	57	24	221	55	24,89	21,90
	guinea*	60	22	231	44	19,05	

* mixtura de pasto guinea-calinguero.

** cuartos en producción.

período de lactancia al hato lechero cinco vacas infectadas con Str. agalactiae y cuatro que se contaminaron durante el experimento.

Para las vacas pastoreadas en pasto guinea que se examinaron durante el tiempo que duró el experimento los resultados demostraron que los cuartos infectados fluctuaban entre 10,19 por ciento en abril y de 19,05 por ciento en setiembre. El bajo porcentaje de cuartos infectados que se encontró en abril con reacción positiva a la prueba de Hotis se debió a que en dicho mes salieron para el período seco ocho vacas infectadas. El alto porcentaje que se encontró en setiembre se debe a que durante el experimento se infectaron tres vacas que siempre estaban consideradas como sanas.

Prueba de la Catalasa

La prueba de la catalasa se realizó dos veces como complemento de las pruebas del CMT y de Hotis.

En el mes de junio vacas que pastoreaban en pasto pangola tenían 26 cuartos infectados de un total de 214 cuartos, o sea un 12,1 por ciento de cuartos infectados. El número de cuartos infectados de vacas que pastoreaban en guinea era de 11 cuartos de un total de 227, o sea un 4,85 por ciento de cuartos infectados, alcanzando un promedio general de 8,39 por ciento. En el mes de setiembre vacas que pastoreaban en pasto pangola tenían 21 cuartos infectados de un total de 221 cuartos, o sea un 9,50 por ciento de cuartos infectados. El número de cuartos infectados de vacas que pastoreaban en guinea era de 26 cuartos de un total de 231 cuartos, o sea un 11,25 por ciento de cuartos infectados, alcanzando un promedio general de

10,40 por ciento.

La relación que existe entre las pruebas del CMT vs. Hotis se muestra en el cuadro 6.

Cuadro 6. Relación entre la prueba del CMT vs. Hotis.

Mes	Potrero	Cuartos positivos en la prueba Hotis*	Distribución de reacciones según la prueba del california mastitis				
			N	T	S	2**	3**
Abril	pangola	39	5	19	10	1	4
	guinea*	21	8	10	3	-	-
Mayo	pangola	51	18	18	6	3	15
	guinea*	37	16	16	5	7	3
Junio	pangola	59	11	22	11	5	10
	guinea*	43	8	16	9	3	5
Julio	pangola	46	5	11	10	18	2
	guinea*	36	1	13	8	8	6
Agosto	pangola	34	2	1	10	14	7
	guinea*	38	2	18	16	6	6
Setiembre	pangola	55	7	9	16	13	10
	guinea*	44	9	3	20	9	3

* = mixtura de pasto guinea-calinguero

N = cuartos negativos

T = cuartos con trazas

S = cuartos sospechosos

2 = cuartos con reacción de grado dos

3 = cuartos con reacción de grado tres.

Se aprecia que el Str. agalactiae detectado por la prueba de Hotis ocurra en todos los grados del CMT siendo de 49,79 por ciento de los cuartos negativos y con trazas y solamente de 31,32 por ciento en los cuartos con grado 2,00 y 3,00.

Esto puede explicarse con información proporcionada por Pounden*, en la cual indica que la prueba de Hotis detecta la presencia de bacterias en leche, mientras que la prueba del CMT identifica leche que es químicamente anormal, sin referencia específica en la causa de esta anormalidad. La causa puede ser por Str. agalactiae, pero no siempre es asi.

Los resultados de este estudio indican que la prueba de Hotis tiene poca relación con los resultados de la prueba del CMT.

En el cuadro 7 se detalla la relación entre la prueba del CMT y la prueba de la catalasa para los meses de junio y setiembre de 1966. En este resultado se observa que estas dos pruebas difieren en algo ya que de acuerdo al porcentaje de gas formado en la prueba de la catalasa estas reacciones se encuentran distribuídas en todos los grados correspondiente al CMT. Esto se explica por la diferencia que existe en las calificaciones de ambas pruebas, y que coinciden con los resultados obtenidos por Robert y colaboradores (38), Spencer y Simón en EE.UU. (44).

---

* Comunicación personal.

Cuadro 7. Relación entre la prueba de la Catalasa y del CMT.

Mes	Potrero	Valores de la Catalasa	Total de cuartos	California Mastitis				
				N	T	S	2	3
Junio	pangola	0-10	137	54	63	12	4	4
		10,1-20	38	3	15	5	2	3
		20,1-30	11	1	1	7	2	-
		30,1-40	12	-	5	6	-	-
		más de 40	26	3	6	7	8	2
	guinea*	0-10	163	80	53	26	3	1
		10,1-20	29	9	10	7	1	2
		20,1-30	8	-	1	7	-	-
		30,1-40	17	1	3	10	3	-
		más de 40	10	-	2	4	1	3
Setiembre	pangola	0-10	151	52	25	27	15	28
		10,1-20	34	7	6	11	4	6
		20,1-30	7	2	2	-	2	1
		30,1-40	11	3	1	2	3	2
		más de 40	22	1	2	4	10	5
	guinea*	0-10	160	51	28	48	29	4
		10,1-20	25	3	2	13	5	2
		20,1-30	9	1	3	2	2	1
		30,1-40	17	4	1	4	8	-
		más de 40	20	5	1	3	7	4

* = mixtura de pasto guinea-calinguero

N = cuartos negativos

T = cuartos con trazas

S = cuartos sospechosos

2 = cuartos con reacción de grado dos

3 = cuartos con reacción de grado tres.

Casos clínicos

Se obtuvieron ocho casos clínicos, es decir que la infección produjo cuadros típicos catarrales de mastitis. Dos de ellos fueron cuando las vacas ingresaron al período seco, del lote de las de pasto pangola perdiendo una de las vacas dos cuartos. Un tercer caso ocurrió al ingresar la vaca a otro período de lactancia.

Los cinco casos restantes fueron durante el período de lactancia, dos vacas pastoreaban en potreros de pasto guinea en junio y tres vacas pastoreaban en potreros de pasto pangola en setiembre.

Influencia de los forrajes

Los pastos pangola y guinea-calinguero mayormente no dieron una marcada diferencia en la incidencia de mastitis en el hato lechero del IICA.

En los casos donde el forraje influye la incidencia de mastitis (26, 30, 35), generalmente la comparación ha sido entre gramíneas y leguminosas. En este caso es posible que la falta de diferencia se debe a las comparaciones entre gramíneas solamente.

CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se deducen las siguientes conclusiones:

1. El porcentaje de mastitis en general tuvo fluctuaciones durante los meses que duró el estudio. Así mismo el porcentaje de infección estreptocócica.

2. No se puede afirmar si hay diferencia en la incidencia de mastitis debidas a la influencia de los pastos.

3. Según la prueba del CMT, el promedio de mastitis en el hato lechero del Departamento de Ganadería, entre los meses de abril-setiembre de 1966, fue de 15,10 por ciento.

4. Según la prueba de Hotis, el promedio de infección con Str. agalactiae entre los meses de abril-setiembre de 1966, fue de 19,12 por ciento.

5. Hay poca relación entre los cuartos identificados como infectados según una prueba, y los señalados por las otras dos pruebas.

RESUMEN

En el hato lechero de la Disciplina de Zootecnia del Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la O.E.A. en Turrialba, Costa Rica, se determinó el porcentaje de mastitis en general, mastitis Streptococica y la influencia de los forrajes.

Las vacas estudiadas fueron divididas en dos grupos:

a. Vacas sanas e infectadas, pastoreadas en potreros de pasto pangola (Digitaria decumbens Stent).

b. Vacas sanas e infectadas, pastoreadas en potreros de pasto guinea (Panicum maximum Jacq.).

Para la determinación de la mastitis en general se empleó el método del California Mastitis Test. La prueba se realizó a intervalos de 15 días de abril a setiembre. Para la determinación de la mastitis estreptococica se empleó el método de Hotis; la prueba se realizó cada 30 días de abril a setiembre.

Las dos pruebas anteriores se complementaron con la prueba de la catalasa que se hizo cada tres meses.

Los datos que se obtuvieron fueron variables, porque cada mes el número de vacas fluctuaba, tanto en pasto pangola como en pasto guinea.

Los resultados de la prueba del CMT de abril a setiembre para las vacas pastoreadas en pasto pangola demostraron que los cuartos infectados fluctuaban entre 3,62 y 34,38 por ciento de cuartos totales. Los datos de abril eran los más bajos y los datos de setiembre eran los más altos.

Para las vacas pastoreadas en pasto guinea, la prueba del CMT dio en abril 2,44 por ciento de cuartos infectados siendo el más bajo; y de 26,83 por ciento de cuartos infectados para setiembre siendo el más alto.

En las pérdidas estimadas, por la prueba del CMT, para mastitis, se encontró un porcentaje mayor en el hato lechero pastoreado en pasto pangola. En abril fue de 6,00 por ciento y en setiembre de 10,12. La pérdida estimada por la prueba de CMT para mastitis en el hato lechero pastoreado en pasto guinea en abril fue de 5,80 por ciento y en setiembre de 9,60 por ciento.

Los resultados de la prueba de Hotis en el hato pastoreado en pasto pangola fluctuaron entre 14,67 por ciento de cuartos infectados en agosto y de 24,89 por ciento de cuartos infectados en setiembre.

Para el hato pastoreado en pasto guinea los resultados de la prueba de Hotis fueron de 10,19 por ciento de cuartos infectados en abril y de 19,05 por ciento de cuartos infectados en setiembre.

En junio el resultado de la prueba de la catalasa para los cuartos de vacas pastoreadas en pasto pangola fue de 12,1 por ciento y en guinea fue de 4,85 por ciento. El promedio general de infección fue de 8,39 por ciento.

En setiembre, para el hato pastoreado en pasto pangola, se obtuvieron un 9,50 por ciento de cuartos infectados y, para el hato pastoreado en pasto guinea, se obtuvieron 11,25 por ciento de cuartos infectados. El promedio general de infección fue de 10,40 por ciento de infección.

SUMMARY

The incidence of mastitis, and the percentage caused by Streptococci organisms, was determined, and the influence of different forages on the presence of this disease was studied in the milking herd of the Inter-American Instituto of Agricultural Sciences at Turrialba, Costa Rica.

The cows were divided into two groups:

a) Healthy and infected cows grazing Pangola grass (Digitaria decumbens Stent.).

b) Healthy and infected cows grazing Guinea grass (Panicum maximum Jacq.) and Calinguero grass (Melinis minutiflora Beauv.).

The California Mastitis Test (CMT) was used at 15-day intervals from April to September 1966 to determine the presence of the disease. The Hotis test was used to determine the presence of Streptococcal mastitis at 30-day intervals during the same period. These tests were complemented by the Catalase test, every three months.

According to the California Mastitis Test between 3,62 and 34,38% of the quarters of cows feeding on Pangola grass were infected. The lowest infection appeared during April, and the highest during September. The same test showed that cows feeding on Guinea grass had 2,44% of their quarters infected in April, and 26,83% in September.

An estimation of theoretical losses in milk production, using CMT results, indicated that losses for cows feeding on Pangola grass were slightly higer than for those on Guinea grass. These

theoretical losses varied from 6% in April to 10,12% in September. Cows feeding on Guinea grass lost an estimated 5,8% in April and 9,6% in September.

Results of the Hotis test indicated that infected quarters of cows feeding on Pangola grass varied between 14,67% and 24,89% of the total quarters in August and September respectively. Cows feeding on Guinea grass had 10,19% of their quarters infected in April and 19,05% in September.

According to the Catalase test, cows grazing Pangola grass had 12,1% of their quarters infected in June, while only 4,85% were infected in animals on Guinea grass. In September the figures were 9,5% and 11,25%, respectively, for Pangola and Guinea.

LITERATURA CITADA

1. BAIER, W. y WALSER, K. Ubres sanas y técnicas de ordeño. Revista Veterinaria Venezolana 19(3):256-263. 1965.

2. BURCH, C. W. The catalase test. In U. S. Department of Health, Education, and Welfare Public Health Service. Screening Test for the Detection of Abnormal Milk. Washington, s.f. pp. 14-19.

3. BLOOD, D. C. y HENDERSON, J. A. Medicina Veterinaria. 2a. ed. Mexico, Editorial Interamericana, 1965. pp. 301-332.

4. CHODKOWSKI, A. The distribution of Str. agalactiae outside the bovine udder and the servical. Journal of Comparative Pathology and Terapeutics 59:275. 1949.

5. DAVIS, R. La vaca lechera, su cuidado y explotación. México, Wiley, 1963. pp. 226-227.

6. FERGUSON, J. A. The bacteriology of acute mastitis. Cornell Veterinarian 30(3):299-309. 1940.

7. FINCHER, M. E. et al. Enfermedades del ganado bovino. México, Imprenta Benjamín Franklin, 1959. 804 p.

8. FOSTER, E. M. et al. Microbiología de la leche. Trad. del inglés por Ramón Pelazón. México, Centro Regional de Ayuda Técnica, 1965. 145-147.

9. GRAY, D. M. y SCHALM, O. W. California mastitis test results. Journal of the American Veterinary Medical Association 136(5):195-198. 1960.

10. _____ y SCHALM, O. W. The mastitis variable in milk yield as estimated by the California mastitis test. American Journal of Veterinary Research 23(94):541-543. 1962.

11. GUTHRIE, R. S. y GUEST, R. W. Control de la mastitis en el ganado lechero. Agricultural Engineering 45(2):92-93. 1964.

12. HOTIS, R. P. y MILLER, W. T. A simple method for detecting mastitis Streptococci in milk. U. S. Department of Agriculture. Circular Nº 400. 1936. 6 p.

13. JASPER, D. E. Algunos conceptos actuales relacionados con la mastitis bovina. Ganadería (México) Nº 82:9-15. 1962.

14. LEIDE, W. Control of Strep. agalactiae mastitis in cattle. (En alemán) Tierarztl Weschr. (Original no consultado; compendiado en Dairy Science Abstracts 27(16):

15. LITTLE, R. B. Streptococci other than Streptococci agalactiae found in the cow's udder. Cornell Veterinarian 30(4): 482-493. 1940.

16. MARSHALL, R. T., MEINERSHAGEN, F. A. y EDMONDSON, I. E. Detecting mastitis on the farm. Missour University, Extension Division. s.f. 4 p.

17. McCULLOCH, E. C. y FULLER, S. A. A study of Streptococci producing positive hates reactions. Journal of Bacteriology 38:447-459. 1939.

18. MERCHANT,I. H. y PACKER, R. A. Bacteriología y Virología Veterinaria. Trad. del inglés por Miguel Cordero del Campillo. Zaragoza, Editorial Acribia, 1958. pp. 322-324.

19. MINETT, F. C. Studies on bovine mastitis. VII. The control of chronic Streptococci mastitis. Journal of Pathology and Terapeutics 46:131. 1933.

20. _____ et al. Studies on bovine mastitis. I. The Bacteriology of mastitis. Journal of Pathology and Terapeutics 42:213. 1929.

21. MURPHY, J. M. The value of the Hotis test in detecting mastitis Streptococci in milk. Cornell Veterinarian 29:279. 1939.

22. _____ y STUART, O. M. Some results of the application of Streptococcus agalactiae (Cornell 48 Stain) to the bovine teat canal by means of the Hadley-Wisconsin Swab Technique. Cornell Veterinarian 43:465-480. 1953.

23. NAI, D. D., REDAILLI, B. I. y GUALLINI, L. Observations and research on the eradication of contageous mastitis in a large dairy herd. Sociedate Italiani Science Veterinary 16(2):24-27. 1962.

24. THE NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Current Concepts of bovine mastitis. Hinsdale, Ill., s.f. 33 p.

25. NEAVE, F. K., SLOAN, J. K. B. y MATTICK, A. T. R. An outbreak of clinical mastitis involving 26 cows in a herd believed free from Streptococcus agalactiae. Veterinary Record 56: 349. 1944.

26. PLASTRIDGE, W. N. Bovine mastitis; a reviw. Journal of Dairy Science 41:1141-1181. 1958.

27. POUNDEN, W. D. Nutrition and Streptococcus agalactiae activity in milk. Journal of the American Veterinary Medical Association 131(1):65-69. 1939.

28. _____ The possible role of nutrition in mastitis. In Sixty-first Annual Proceedings of the United States Livestock Sanitary Association. s.l., 1959. pp. 183-186.

29. _____ Attempted use of hormones to influence mastitis as measured by California Mastitis test rations and shedding of certain bacteria. Journal of the American Veterinary Medical Association 139:552-554. 1961.

30. _____ Influence forrages on mastitis. Journal of the American Veterinary Medical Association 138(3):146-150. 1961.

31. _____ The control of bovine mastitis. s.n.t. 2 p.

32. _____ y FRANK, NORMA A. Prevalence of bovine mastitis during various stages of lactation. Journal of the American Veterinary Medical Association 138(4):184-187. 1961.

33. _____, BATEMAN, J. V. y AGUIRRE, A. J. Mastitis. Cuánto le cuesta a Costa Rica? Turrialba (Costa Rica) 16(2): 194-195. 1966.

34. _____, FRANK, NORMA A. y VERDERSALL, J. H. Further observations on mastitis in cows: fed legume grass forrages as silage and silage. Journal of the American Veterinary Medical Association 137(1):53-61. 1960.

35. _____ et al. The incidence of mastitis in cows fed legume-grass mixtures as fresh cut crops and as silage. Journal of the American Veterinary Medical Association 132(18): 337-339. 1958.

36. PULSFORD, M. F. The comparative efficiency of a new spot test for the detection of Streptococcus agalactiae in milk samples. Journal of Agriculture Research 6(5):786-795. 1955.

37. RIVERA, H. J. D. y BERROCAL, C. M. La mastitis en los hatos lecheros de Puerto Rico. P.R. Estación Experimental Agrícola. Boletín Nº 160. 1962. 42 p.

38. ROBERTS, S. J. et al. Studies of the Streptococcus agalactiae form of mastitis in dairy cattle. Journal of the American Veterinary Medical Association 143(11):1193-1201. 1963.

39. SCHALM, O. W. The California mastitis test. Yarmouth, Maine, Dairy Research Products, s. f. 5 p.

40. _____ y EDWARDS, S. W. The effect of incomplete milking in chronic mastitis causes by Streptococcus agalactiae. Journal of Dairy Science 26:323. 1943.

41. SCHMIDT, G. H., GUTHRIE, R. S. y GUEST, R. W. Effect of incomplete milking on the incidence of udder irritation and subsequent milk yield of dairy cows. Journal of Dairy Science 47:152-155. 1964.

42. SMITH, H. H. y JONES, T. C. Patología Veterinaria. México, Editorial Hispano Americana, 1962. 1961 p.

43. SPENCER, C. R. y McNUTT, S. H. Pathogenesis of bovine mastitis. II. The pathologie alterations in twenty-five mamary glands. American Journal Veterinary Research 11:188. 1950.

44. _____ y SIMON, J. The catalass California and cell count test for Detecting Abnormalities in milk. American Journal of Veterinary Research 21(83):578-584. 1960.

45. _____ et al. Reservoirs of infection of Streptococcus agalactiae. American Journal Veterinary Research 13:500. 1952.

46. THROOP, B. T., SWANSON, E. W. y MUNDT, J. O. The efficiency of the Hates test in the identification of Streptococcus infections of the udder. American Journal of Veterinary Research 18:93-96. 1957.

47. UDALL, D. H. Prácticas de clínica veterinaria. Barcelona, Salvat, 1950. p. 771.

48. ZARKOWER, H. y NORCROSS, N. L. Sensitivity of the bovine mamary gland to Streptococcus agalactiae extracts Bacterio loty Process 27(8):47. 1965. (Original no consultado; compendiado en Dairy Science Abstracts).

DATE DUE

SEP 23 1986

OCT 7 1986

~~SEP 1989~~

MAR 1990