



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

ESTUDIO CLÍNICO Y ETIOLÓGICO DE LA MAMITIS CRÓNICA EN OVEJAS
DE DESECHO

CLINICAL AND ETIOLOGICAL STUDY OF CHRONIC MASTITIS IN WASTE
SHEEP

Autora

ÁNGELA ARROYO
JIMÉNEZ

Directores

JUAN JOSÉ RAMOS ANTÓN
JESÚS GARCÍA SÁNCHEZ

Facultad de Veterinaria

2019

ÍNDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	6
LA GLÁNDULA MAMARIA	8
• Anatomía externa de la ubre.....	8
• Anatomía interna de la ubre.....	9
• Vascularización.....	10
• Bajada de la leche.....	10
MAMITIS CRÓNICA	11
• Epidemiología.....	11
○ La oveja (hospedador).....	12
○ Ambiente.....	12
○ Manejo y bienestar.....	12
• Etiología.....	13
○ Bacterias gram positivas.....	13
○ Bacterias gram negativas.....	14
○ Hongos.....	14
○ Virus.....	14
• Cuadro clínico.....	15
○ Mamitis subclínica.....	15
○ Mamitis clínicas.....	15
• Detección, prevención y tratamiento.....	15
○ Diagnóstico.....	16
▪ Diagnóstico microbiológico.....	16
▪ Diagnóstico por PCR.....	16
▪ Diagnóstico por Microarray.....	16
▪ Diagnóstico por Luminex.....	16
○ Prevención.....	17
○ Tratamiento.....	18

OBJETIVOS.....	19
MATERIAL Y MÉTODOS.....	20
• Exploración clínica.....	20
○ Inspección.....	21
○ Palpación.....	22
• Toma de muestras y análisis microbiológico.....	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
• Exploración clínica.....	24
○ Asimetría mamaria.....	24
○ Nódulos linfáticos supramamarios.....	24
• Tipos de lesión.....	25
• Aislamiento microbiológico.....	26
• Relación entre la lesión mamaria y el agente aislado.....	27
CONCLUSIONES.....	29
CONCLUSIONS.....	29
VALORACIÓN PERSONAL.....	30
BIBLIOGRAFÍA.....	31

RESUMEN

ESTUDIO CLÍNICO Y ETIOLÓGICO DE LA MAMITIS CRÓNICA EN OVEJAS DE DESECHO

Las mamitis han estado siempre muy presentes entre las preocupaciones de los ganaderos del ovino de leche, pero cada vez más están cobrando importancia en el ovino de carne. Esto es debido a que tienen importantes repercusiones a nivel económico, dada la disminución tanto de calidad como de cantidad de la leche, del aumento de los costes de servicios y tratamientos veterinarios y las pérdidas de animales, siendo una de las principales causas de desvieje.

El estudio se ha llevado a cabo en un total de 97 animales, de entre los cuales 30 fueron diagnosticados de mamitis crónica durante el curso académico 2017/2018 con los animales del Proyecto de Desarrollo Rural (PDR) que llegan al Servicio Clínico de Rumiantes (SCRUM) del Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza. El diagnóstico se ha realizado mediante la exploración física de las ubres compatibles con esta patología, así como la toma de muestras de hisopo directamente de la cisterna del pezón para cultivo y aislamiento microbiológico (post-mortem) y algunas muestras de leche para PCR de Maedi Visna (in vivo).

De las 30 muestras, 20 fueron hisopos para cultivo microbiológico y 10 de leche para PCR de Maedi. En estas 20 muestras, se consiguió un total de 25 aislamientos. Los resultados bacteriológicos obtenidos muestran que el primer grupo de microorganismos aislados son los *Staphylococcus spp.*, con un 75%. De las 10 muestras de leche, solo 6 dieron positivo a Maedi Visna.

Además, se observó que las lesiones predominantes en mamitis crónicas son el aumento de los nódulos linfáticos supramamarios (37%), seguida de la aparición de nódulos (27%), induración (20%); lesiones en la piel (10%) y, en último lugar, las lesiones en el pezón (7%).

ABSTRACT

CLINICAL AND ETIOLOGICAL STUDY OF CHRONIC MASTITIS IN WASTE SHEEP

Mastitis in dairy sheep has been a principal concern for farmers, but is currently gaining importance in meat sheep given its serious consequences economically, due to the declining quality and quantity of milk produced, increased cost of veterinary services and treatments and animal losses. Mastitis is one of the most important reasons for discarding sheep.

The study was conducted on 97 animals, 30 of which were diagnosed with chronic mastitis during the academic years 2017/2018. The diagnosis was made by physical examination of

mammary glands as well as the sampling with swabs (post-mortem) for bacteria culture and isolation or milk (in vivo) and for PCR of Maedi Visna virus.

The total number of isolates was 25 from 20 swabs samples and 6 positive animals to Maedi Visna virus from 10 milk samples. The microbiological results obtained show that the first group of isolated microorganisms are *Staphylococcus spp.* (75%).

In addition, lesions that predominate in chronic mastitis are the increase of supramammary lymphonodes (37%), the presence of nodules (27%), induration of the gland (20%), skin lesion (10%) and teat lesion (7%).

INTRODUCCIÓN

Se denomina mamitis a la inflamación del parénquima mamario. Esta patología ha estado siempre muy presente entre las preocupaciones de los ganaderos de ovino de leche y no tanto entre los productores de ovino de carne, pero cada vez más están cobrando interés entre estos últimos. Esto es debido a que tienen importantes repercusiones a nivel económico, puesto que traen consigo la disminución de la calidad y de cantidad de leche, el aumento de los costes de servicios y de los tratamientos veterinarios y las pérdidas de animales, siendo una de las principales causas de desvieje.

A grandes rasgos, se pueden clasificar las mamitis en clínicas y subclínicas. Las primeras son las que presentan síntomas visibles, provocando una disminución cuantitativa y cualitativa de la leche. A su vez, estas se clasifican en:

- **Mamitis sobreaguda:** en ellas no se llegan a observar síntomas clínicos puesto que se produce una fuerte reacción sistémica, que conlleva a la evolución rápida de la enfermedad y a la muerte del animal.
- **Mamitis aguda:** en este caso se observan signos de inflamación y dolor, llegando a producir cojeras. También se producen cambios en la coloración de la piel de la mama, aumento de la temperatura corporal y la leche se encuentra alterada. Además, los corderos muestran signos de inanición, puesto que las madres no les dejan mamar a causa del dolor.
- **Mamitis subaguda:** en este tipo de mamitis, los síntomas clínicos son menos evidentes que en las agudas.
- **Mamitis crónica:** es la inflamación de la glándula mamaria que se prolonga en el tiempo, llegando a desarrollar lesiones irreversibles en la mama. La ubre se vuelve dura y puede presentar uno o varios abscesos dentro del parénquima y el tejido subcutáneo. También puede darse una inflamación del pezón. La presencia de microorganismos en la leche no es constante, lo que complica el diagnóstico.

Pero las mamitis clínicas representan solo la punta de iceberg, puesto que en las granjas alrededor del 90% de ellas son subclínicas y se caracterizan por la presencia de la inflamación intramamaria sin síntomas apreciables. Son especialmente importantes desde un punto de vista económico ya que, aunque no se manifiesten clínicamente, causan una caída considerable de la producción de leche.

En función del grado de afección, habrá unas repercusiones a nivel sanitario y económico más o menos importantes como pueden ser una enfermedad aguda con lesión irreversible o la muerte del animal afectado. Además, si la producción láctea se ve disminuida, pueden verse corderos con inanición y muerte de los corderos o crecimiento insuficiente de los mismos. A ello hay que sumar el coste de los tratamientos veterinarios.

La mamitis en el ganado ovino de carne es todavía un problema al que no se le da la importancia que realmente tiene, debido a que su visión se limita a los casos clínicos, dejando olvidados los subclínicos, que representan una proporción bastante más elevada respecto al problema de las mamitis clínicas.

La Comunidad Autónoma de Aragón tiene un censo de 1,6 millones de cabezas de ovino, mayoritariamente de la raza rasa aragonesa. La prevalencia de mamitis en ovejas de carne oscila entre el 4 y el 50%, siendo los estafilococos coagulasa negativos las bacterias más prevalentes (*Kirk y Gleen, 1996*).

Por todo ello, con el fin de conocer más de cerca la incidencia de la mamitis crónica en ovejas de desecho procedentes de rebaños de ganado de carne, así como las características clínicas y los principales agentes infecciosos que intervienen en ellas, se plantea este trabajo, que se va a realizar a partir de los animales que llegan al Servicio Clínico de Rumiantes del Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza (SCRUM) durante el anterior curso académico (2017-2018).

LA GLÁNDULA MAMARIA

A continuación, se va a realizar un recordatorio de Las características anatómicas y funcionales de la ubre de la oveja con el fin de comprender mejor la mamitis a lo largo del este estudio.

La ubre es el órgano encargado de elaborar y acumular la leche. La capacidad productiva y la calidad de la misma están influenciadas en gran medida por el funcionamiento y constitución de este órgano.

ANATOMÍA EXTERNA DE LA UBRE

La morfología o estructura externa de ubre es muy variable entre las distintas razas, e incluso entre distintos individuos dentro de una misma raza. Los factores de mayor influencia son la edad, el momento productivo y el tipo de parto.

En el ganado ovino, la ubre está situada en la región inguinal y su forma es globular. Está constituida por dos glándulas independientes localizadas medial y caudalmente al seno inguinal del mismo lado y provistas de un pezón (imagen 1). En el ovino de carne, las ubres son de menor tamaño y con pezones más cortos y finos con respecto a las razas de ovino de leche.

El hecho de que estos animales tengan las dos glándulas mamarias independientes es muy importante de cara a las mamitis, puesto que es posible que presenten solo una de las glándulas afectada, quedando la otra completamente sana.

En este trabajo, se van a seleccionar los animales mediante una exploración física exhaustiva de la ubre, que permitirá apreciar distintas modificaciones externas de su estructura. Algunas de ella, serán un reflejo de lo que está sucediendo en su interior.

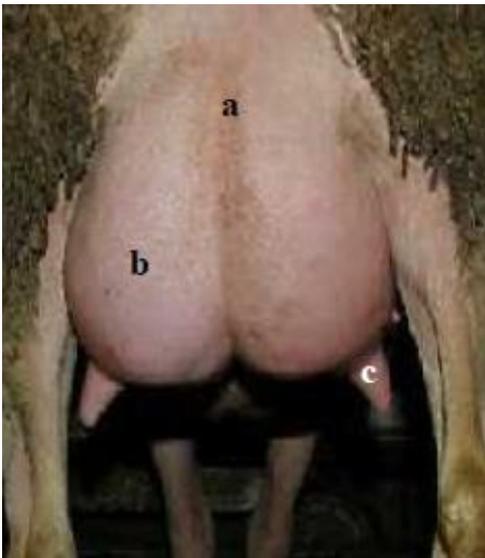


IMAGEN 1: Morfología externa de la ubre de oveja: ligamento suspensor (a), glándula mamaria (b), pezón (c). (Fuente: Caja et al., 2000).

ANATOMÍA INTERNA DE LA UBRE

Como ya se ha citado anteriormente, la oveja presenta dos glándulas mamarias independientes. Estas dos glándulas están recubiertas por una única bolsa epitelial, y cada una de ellas está envuelta a su vez por una bolsa de tejido fibroelástico y separadas por una pared intermedia de tejido conjuntivo (ligamento suspensor). Este ligamento da lugar a la presencia del surco intermamario entre las dos glándulas, jugando un papel importante en el soporte de la ubre en la pared ventroabdominal.

La parte secretora de la glándula es el parénquima glandular, que está constituido por una extensa red de conductos que van desde las estructuras más internas (alveolos) hasta las más externas (imagen 2). Estas últimas son las responsables de la recogida y transporte de la leche, junto con la cisterna (porción glandular) y el pezón (porción papilar).

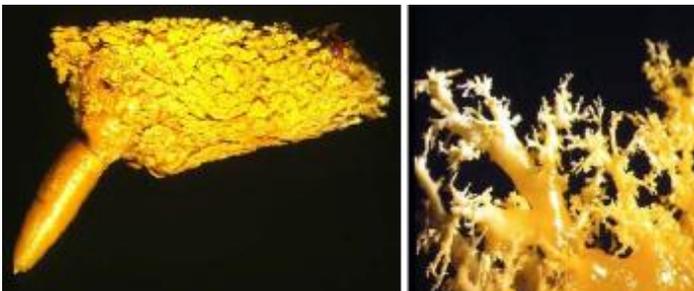
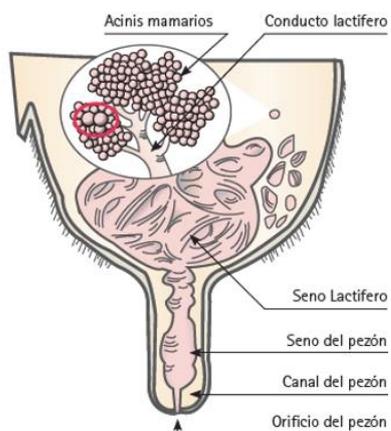


IMAGEN 2: Molde anatómico de la ubre de oveja lechera (izquierda) y detalle del sistema ductal, con sus conductos y alvéolos (derecha) (Fuente: Caja et al., 2000).

De este modo, la unidad funcional de la ubre es el alveolo. Cada alveolo está rodeado por células mioepiteliales, responsables de la eyección de leche. Los alveolos se agrupan en racimos o lobulillos, que a su vez forman los lóbulos (conjunto de lobulillos). De los lóbulos salen los conductos lactíferos de pequeño calibre, que se van uniendo formando así otros de mayor calibre, para finalmente dar lugar a los conductos galactóforos, que confluyen en el



seno galactóforo o cisterna de la leche. En la cisterna, tiene lugar el almacenamiento de la leche, que se vacía en el seno o cisterna del pezón, avanzando por el canal del pezón hasta el orificio del mismo, que comunica con el exterior (imagen 3 y 4). El orificio del pezón es el punto clave por donde pueden entrar microorganismos y agentes externos a la glándula, causando las patologías de la mama.

IMAGEN 3: Glándula mamaria (Fuente: redacción revista Cría y salud. Pág. 36. 2005).

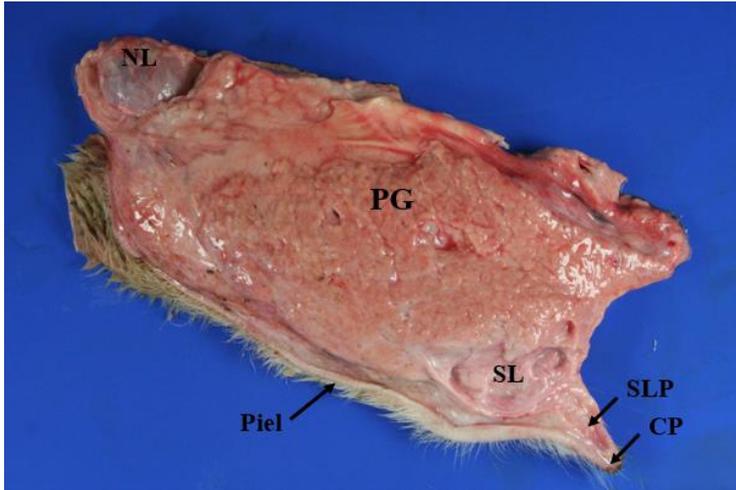


IMAGEN 4: Estructura interna de la ubre (sección parasagital atravesando el pezón): nódulo linfático (NL), parénquima glandular (PG), seno lactífero o cisterna de la glándula (SL), seno lactífero papilar o cisterna del pezón (SLP) y canal del pezón (CP) (Fuente: Ramos, J.J., Ferrer. L.M. 2007).

VASCULARIZACIÓN

El flujo sanguíneo de la ubre llega mayoritariamente por las arterias pudendas externas, que se transforman en mamarias a su paso por el canal inguinal, para llegar a la base de cada mama. Por otro lado, la parte posterior de la ubre se encuentra irrigada por las arterias perineales izquierda y derecha. El drenaje venoso de la ubre es llevado a cabo en su mayor parte por la vena pudenda externa.

Tras el parto, la irrigación de la ubre aumenta cuantiosamente para poder aportar la cantidad de nutrientes necesarios para la síntesis de la leche. Los alveolos se encuentran rodeados de capilares sanguíneos que aportan nutrientes, absorbidos por las células mioepiteliales y transformándose así en componentes de la leche. Posteriormente, serán liberados en la luz de los alveolos.

BAJADA DE LA LECHE

Inicialmente la mama de la oveja está formada por pequeños y rudimentarios conductos, próximos a los pezones y que se van desarrollando a medida que el animal crece hasta el inicio de la pubertad. En ese momento se da un crecimiento y ramificación de estos conductos, sustituyendo el tejido adiposo mamario por un tejido glandular. La diferenciación completa del epitelio alveolar no tendrá lugar hasta el final de la gestación e inicio de la lactación. Cuando esta última finaliza, el epitelio alveolar sufre una apoptosis y la glándula mamaria involuciona y se reestructura.

Como se ha explicado anteriormente, las células mioepiteliales toman del torrente sanguíneo los nutrientes para la síntesis de la leche, que son fundamentalmente glucosa, aminoácidos, ácidos grasos de cadena larga, ácidos acético u beta-hidroxibutírico, vitaminas y minerales.

La actividad de estas células es cíclica, y en cada uno de los ciclos se diferencian tres fases: secreción (síntesis de los componentes de la leche), excreción (liberación de los componentes de leche a la luz del alveolo) y reposo.

La leche excretada permanece almacenada en la glándula mamaria hasta el momento del amamantamiento u ordeño. Así, la glándula mamaria almacena la leche en dos compartimentos: el compartimento alveolar (tejido glandular), que contiene la leche alveolar, y el compartimento cisternal (conductos y cisternas de la glándula y del pezón), que almacena la leche cisternal. El amamantamiento por sí solo puede obtener la leche cisternal exclusivamente, es por eso que para que la leche alveolar se libere, se necesita la contracción de las células mioepiteliales, que provocará la expulsión la leche hacia las cisternas. Este proceso es llamado eyección o “bajada de la leche”.

Para que las células mioepiteliales se contraigan es necesaria a liberación de oxitocina, que es excretada tras recibir estímulos externos como la llamada del cordero o la manipulación de la ubre. Pero si la oveja está estresada, sintetiza adrenalina, que provoca una vasoconstricción e impide la llegada de la sangre y de oxitocina a los alveolos y como consecuencia, se inhibe la eyección.

MAMITIS CRÓNICA

La mamitis es la inflamación del parénquima mamario, que causa cambios fisicoquímicos en la leche. Se trata de un proceso multifactorial en el que interviene el hospedador (en este caso, la oveja), el agente patógeno y el ambiente.

Las mamitis o mastitis se producen, en la mayoría de los casos, como respuesta de la ubre a la entrada por vía ascendente de distintos microorganismos que acceden al interior de la glándula mamaria a través del orificio del pezón. En menor medida, se pueden originar como consecuencia de la llegada de agentes infecciosos por vía hemática. El cuadro clínico y su gravedad varían en función de la capacidad invasora del agente y el tipo, magnitud y duración de la respuesta inmune del hospedador frente al agente patógeno (*Martin y Aitken, 2000*).

EPIDEMIOLOGÍA

En el ovino de carne se pueden encontrar diversos factores que predisponen al desarrollo de la enfermedad, de todos ellos destacan los relacionados con el amamantamiento de las crías (lesiones en el pezón) y el mal vaciado de la leche. A continuación, se van a exponer los diferentes agentes que predisponen al desarrollo de las mamitis.

LA OVEJA (HOSPEDADOR)

Los principales factores relacionados con el animal son:

- **Número de partos:** a mayor número de partos, mayor riesgo.
- **Momento de producción:** una mayor producción implica un mayor riesgo.
- **Tras el secado y días previos al parto.**
- **Inmunidad:** el riesgo de mamitis aumenta cuando el sistema inmune se ve comprometido por otras causas.
- **Anatomía de la ubre:** la ubre tiene sus propios mecanismos defensivos. En primera línea, cuenta con los mecanismos anatómicos (cierre y estructura queratinizada del pezón y piel en buenas condiciones). En segunda línea, cuenta con los mecanismos internos y funcionales (los leucocitos, que forman la barrera celular, enzimas como la lactoferrina o la lactoperoxidasa y otros elementos inmunógenos como las inmunoglobulinas, el sistema complemento, etc.).

AMBIENTE

En este sentido influye la época del año, el manejo, la climatología y otros factores como la presencia de insectos.

MANEJO Y BIENESTAR

El manejo de los animales debe de ser lo más tranquilo posible y las instalaciones han de estar limpias y desinfectadas. En cuanto al manejo alimenticio, se debe aportar una dieta equilibrada, con materias primas de buena calidad, para evitar problemas digestivos y prevenir las deficiencias de vitaminas o minerales. Además, el tipo de secado influye también en el desarrollo de las mamitis, siendo el secado brusco el más indicado para prevenirlas. El secado brusco consiste en apartar súbitamente al cordero de la madre, sin volverlos a juntar. En contraposición, existe el secado progresivo. Esta técnica consiste en separar al cordero de la madre pero no de forma definitiva, sino volviéndolos a juntar durante unas horas al día para que el cordero pueda seguir tetando leche de su madre durante un tiempo más. Esto favorece el crecimiento de los corderos y reduce costes en alimentación de los mismos, pero favorece que el orificio del pezón continúe abierto, exponiendo a la ubre a la entrada de microorganismos patógenos. Además, al estar separados durante varias horas, el cordero vuelve con más ganas a coger la ubre de su madre y puede ocasionarle lesiones por mordiscos.

ETIOLOGÍA

Los principales agentes etiológicos responsables de las mamitis en el ganado ovino son bacterias (los más comunes), virus y hongos (*Ausiana y Guillén, 2006; Prescott et al., 2008*):

BACTERIAS GRAM POSITIVAS

1. **Género *Staphylococcus***: existe una gran diversidad de agentes etiológicos que pueden provocar las mamitis en el ganado ovino, pero este género forma el grupo más aislado.
 - Coagulasa negativo: se trata de microorganismos oportunistas que se encuentran colonizando la piel del pezón. Estos agentes patógenos se relacionan generalmente con mamitis subclínicas y producen elevados recuentos celulares y una disminución en la producción de la leche.
 - Coagulasa positivo: principalmente *S. aureus*. Este microorganismo es ubicuo y contagioso y se puede encontrar tanto en la piel del pezón como en el interior de la ubre. Estas bacterias habitan en la piel y las mucosas del animal y entran en la ubre a través de lesiones cercanas al pezón. Pueden causar mamitis sobreagudas, agudas, crónicas o subclínicas.
2. **Género *Streptococcus***: se trata de un microorganismo ambiental oportunista, cuya prevalencia en las mamitis ovinas es baja. Son patógenos que producen normalmente infecciones agudas. Se encuentran principalmente en las camas sucias y húmedas y en los útiles de las explotaciones. Dentro de este género, encontramos las siguientes especies: *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *S. pyogenes* y *S. bovis*.
3. **Género *Mycoplasma***: principalmente *M. agalactiae*. Es el principal microorganismo causante de la agalaxia contagiosa, síndrome que afecta a las ovejas y cabras y que se caracteriza por un conjunto de síntomas entre los que se encuentra la mamitis, provocando una fuerte bajada de la producción de leche. La presencia de este agente en la explotación es debida, en su mayoría, a la introducción de algún animal infectado.
4. **Género *Corynebacterium***: microorganismos que habitan en el suelo y materia vegetal. Los principales son: *C. diphtheriae*, *C. ulcerans* y *C. pseudotuberculosis*.
5. **Género *Arcanobacterium (Actinomyces)***: principalmente *A. pyogenes*. Son agentes secundarios que causan mamitis agudas y crónicas. Entran en la mama por las heridas y causan una secreción purulenta y abscesos en la ubre.
6. **Género *Enterococcus***: *E. faecalis*, *E. durans*.
7. **Género *Micrococcus***.

BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

1. Enterobacterias:

- Género *Escherichia*: principalmente *E. coli*. Es un microorganismo comensal del tubo digestivo que es oportunista en mamitis. Puede estar presente en la ubre sin producir síntomas o causar cuadros clínicos de difícil control.
- Género *Klebsiella*: principalmente *K. pneumoniae*. Es un agente ubicuo ambiental que puede encontrarse en las mucosas de ciertos mamíferos y en el suelo, agua o plantas.
- Género *Enterobacter*: microorganismos ubicuitarios que pueden colonizar el aparato gastrointestinal de los animales y se pueden encontrar en el agua, plantas o insectos.
- Género *Serratia*: agente infeccioso importante en el ovino de leche.
- Género *Proteus*: patógenos de vías urinarias.
- Género *Shigella*.
- Género *Yersinia*.
- Género *Salmonella*.

2. **Género *Pseudomonas***: son microorganismos que se encuentran en aguas contaminadas y pueden introducirse también por tratamientos de secado poco higiénicos. Se aíslan en pocas ocasiones, pero pueden ocasionar brotes graves de mamitis agudas, a veces gangrenosas.

3. **Género *Mannheimia***: principalmente *M. Haemolytica*. Es un patógeno contagioso transmitido por el amamantamiento de corderos de edades próximas al destete que padecen procesos neumónicos.

HONGOS

1. **Género *Aspergillus***: *A. fumigatus*.

VIRUS

1. **Género *Lentivirus***: virus Maedi Visna. Se trata de un retrovirus causante de mamitis indurativas crónicas. La mama se encuentra aumentada de tamaño, dura a la palpación y el contenido que sale de las cisternas es escaso o inexistente. Provoca una mamitis subclínica que conlleva una disminución de la producción de la leche y a un incremento en el recuento de las células somáticas.

2. **Género *Parapoxvirus***: es el virus causante del ectima contagioso, que causa una infección en las mucosas orales de los corderos que, mediante el amamantamiento, contagian a sus madres, provocando una lesión vesiculopustular.

CUADRO CLÍNICO

Enfocando la mamitis desde un punto de vista clínico, las mamitis crónicas pueden ser subclínicas y clínicas (*Merck, 2007*).

MAMITIS SUBCLÍNICA

Este tipo de mamitis se caracteriza por la presencia de la inflamación intramamaria sin síntomas clínicos apreciables. La manera de detectarlas es mediante la realización del test de california y el cultivo microbiológico o recuento de células somáticas para confirmarlo.

Las mamitis subclínicas son especialmente importantes desde el punto de vista económico, puesto que provocan un descenso importante de la leche y, aunque el ganadero no las detecta, representan aproximadamente un 90% de las pérdidas económicas por mamitis. Otras consecuencias son la mortalidad de los corderos por deficiencias nutritivas o una menor ganancia diaria en peso de los mismos.

MAMITIS CLÍNICAS

Son las mamitis que presentan síntomas. En ellas se da una alteración cuantitativa y cualitativa de la leche, ocasionando una disminución de la producción láctea y cambios en las características organolépticas de la misma. Si la inflamación de la glándula mamaria se prolonga en el tiempo, llega a desarrollar lesiones irreversibles en la mama. La ubre se vuelve dura y puede presentar uno o varios abscesos dentro del parénquima y el tejido subcutáneo, pudiendo darse también una inflamación del pezón. Además, de su interior puede salir contenido purulento. La presencia de microorganismos en la leche no es constante, lo que complica el diagnóstico.

DETECCIÓN, PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO

El motivo principal para la implantación de programas de control de mamitis en las explotaciones es la reducción de la incidencia de mamitis subclínicas, que supondría un incremento notable de la producción en lo referente al crecimiento de los corderos y la disminución de animales de deshecho.

Para el control de las mamitis, es necesario un diagnóstico de las mismas para saber ante qué agentes nos encontramos y cuál es la prevalencia en la explotación.

DIAGNÓSTICO

En primera estancia se realizará un diagnóstico clínico de las mamitis de las ovejas recién destetadas. Éste se realizará mediante un examen visual para detectar atrofas y una exploración mamaria para palpar posibles nódulos. De esta manera, se detectan las mamitis crónicas, eliminando así los animales incurables, que además son focos de diseminación de las mamitis para el resto del rebaño, pero no es posible conocer el agente causal. Existen además otros métodos de diagnóstico, en los que sí es posible aislar el patógeno invasor:

- **Diagnóstico microbiológico:** es un método estándar de diagnóstico en el que se toma una muestra de manera aséptica para ser cultivada en plagas de Agar. Se utilizarán diferentes medios de cultivo en función de la sospecha que se tenga del patógeno. La incubación será de unas 24-48 horas.
- **Diagnóstico por PCR:** es una técnica de detección de secuencias de nucleótidos específica que se basa en la amplificación exponencial, por medio de la enzima polimerasa, de una secuencia determinada. Es una prueba muy rápida (1-3 horas), sensible y específica (*Sánchez et al., 2010*).
- **Diagnóstico por Microarray:** se diferencia de la PCR en el método de detección de la diana. El ADN extraído de la muestra es amplificado por PCR. Una vez amplificado, se incuba en un chip de cristal o silicón donde se han fijado previamente pequeñas secuencias dianas de los patógenos. De esta manera, si la muestra de leche contiene uno de los patógenos que pueden ser detectados con el chip, se indica su presencia con alguna señal (generalmente fluorescente). Dicha técnica se ha utilizado para la detección precoz de patógenos (DNA) de difícil erradicación además de llevar a cabo estudios de virulencia y resistencias de *S. aureus* (*Moneckes et al., 2007*) así como para investigar el tipo de células inmunológicas que intervienen en la mamitis de cualquier rumiante (*Lewandowska-Sabat et al., 2012*).
- **Diagnóstico por Luminex:** es una técnica basada en la detección de unas partículas con diferentes luminiscencias a las que se les han acoplado proteínas, anticuerpos o ácidos nucleicos. Se realiza una amplificación de la muestra por PCR y si está presente en la diana específica, las partículas para esa diana serán detectadas y, como se conoce con qué diana ha sido marcada cada tipo de partícula fluorescente, se podrá identificar el agente patógeno (*Sánchez et al., 2010*).

Por otro lado, un método de diagnóstico muy utilizado, aunque no permite conocer el agente causal, es el recuento de células somáticas. Es muy utilizado tanto de forma directa, mediante

equipos de conteo, como de una manera indirecta con el Test de California (CMT). Este método de diagnóstico permite conocer la presencia o ausencia de mamitis en el rebaño, y es muy importante en el caso de las mamitis subclínicas.

PREVENCIÓN

El contagio de la mamitis se da por varias vías: de ovejas afectadas a su descendencia (corderas de reposición), por corderos “ladrones” de leche o incluso el propio ganadero con sus manos puede ser un vehículo de patógenos. Por todo ello, las medidas higiénicas son imprescindibles, pero también es necesario vigilar a las ovejas que tengan poca leche o los corderos hambrientos o que maman de otras ovejas, porque podrían ser un indicador de que en la explotación está habiendo casos de mamitis.

La erradicación de la mamitis hoy en día no es posible, por lo que lo único que se puede hacer es prevenirla. Para ello, es necesario llevar a cabo un conjunto de acciones en la explotación. En primer lugar, las instalaciones han de estar limpias y desinfectadas y las camas de los animales en buenas condiciones. En cuanto al manejo, el método de secado es muy importante (*Marco et al., 2007*):

- **Tratamiento de secado:** se realiza en caso necesario mediante un tratamiento antibiótico parenteral o con formulaciones antibióticas específicas para el secado. Actualmente, este método está restringido porque implica el uso indiscriminado de antibióticos.
- **Pautas de secado:** la mejor opción es el secado brusco, que consiste en el destete de los corderos sin el posterior vaciado de las mamas de la madre. Además, se somete a la oveja a una restricción alimentaria y, en ocasiones, de agua de bebida durante 24 horas.

Es interesante también la detección de ovejas con mamitis mediante los diferentes métodos de diagnóstico citados anteriormente, con el fin de eliminar las portadoras. Los criterios de eliminación serán los siguientes:

- Animales con una única mama funcional.
- Animales con historial de mamitis clínicas y positivos al test de california.
- Animales con lesiones mamarias que han sido detectadas por palpación.
- Animales de edad avanzada con una producción láctea baja.
- Animales con una mala conformación de la ubre.

Otra posibilidad para la prevención de mamitis sería la vacunación o la utilización de inmunomoduladores, pero en ningún caso estas medidas pueden sustituir a las de manejo.

Es necesario también una alimentación equilibrada con una composición equilibrada de vitaminas y minerales (*Gonzalo et al., 2010*).

TRATAMIENTO

El tratamiento de la mamitis depende directamente de las características clínicas de las mismas y de los agentes causales que la provocan. En el caso de las mamitis subclínicas es recomendable el tratamiento en el destete y no en lactación, como sería el caso de las agudas. Existen estudios que destacan que la reducción de la incidencia de estas mamitis supone un incremento de la producción de leche, cuya repercusión sobre el crecimiento de los corderos y disminución de los animales desechados por esta patología contribuye de forma significativa en la rentabilidad de la explotación (*Marco et al., 2007*).

Los animales que sufran mamitis agudas deberán separarse del rebaño para poder recibir el tratamiento adecuado (pomadas antibióticas y antibióticos sistémicos). Además, si es necesario, se les retirarán los corderos y estos serán alimentados mediante lactación artificial. En el tratamiento de estos animales es muy importante tomar muestras para identificar los microorganismos implicados en el desarrollo de la mamitis. De esta manera, se podrá aplicar un tratamiento específico para ellos y se reducirá el riesgo de aparición de resistencias. En el caso de animales con mamitis crónicas el tratamiento es inútil, puesto que no son reversibles. Lo más aconsejable es la eliminación de estos animales.

OBJETIVOS

La mamitis es un problema infravalorado en el ovino de carne, por ello se va a estudiar más a fondo a lo largo de este trabajo, en el cual plantearemos los siguientes objetivos:

1. Conocer la prevalencia de las mamitis crónicas en ovejas de desecho procedentes de rebaños de ganado de carne.
2. Conocer las características clínicas de las mamitis crónicas por medio de la exploración física de las ubres.
3. Conocer los principales agentes infecciosos que intervienen en el desarrollo de las mamitis crónicas.
4. Estudiar la incidencia de cada tipo de lesión mamaria.
5. Relacionar los tipos de lesión mamaria y los diferentes agentes que las causan.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este trabajo se han elegido aquellos animales que tenían ubres compatibles con mamitis crónicas mediante la realización de un examen físico de las mismas.

El estudio se ha realizado en las instalaciones del Servicio de Experimentación Animal, perteneciente a la Universidad de Zaragoza y ubicado en el campus de la Facultad de Veterinaria, con los animales que han llegado al Servicio Clínico de Rumiantes del Hospital Veterinario de la Universidad de Zaragoza (SCRUM) durante el curso académico 2017-2018. En total se han explorado 97 hembras, de las cuales 30 (31%) presentaban signos de mamitis crónica. Estos animales proceden de distintos rebaños de la Comunidad Autónoma de Aragón que participan en el Proyecto de Desarrollo Rural (PDR) coordinado por Casa Ganaderos. Dicho proyecto pretende averiguar más sobre las causas de desvieje del ganado de los socios de dicha cooperativa.

EXPLORACIÓN CLÍNICA

Tras la llegada de los animales al SCRUM, se les realizó una exploración física completa, poniendo especial interés en las ubres. Pero previo a esta exploración, es importante conocer tanto los datos individuales de cada animal como la información del rebaño en su conjunto. De los datos individuales, los de mayor relevancia son la edad, momento actual de lactación, número de partos y si estos han sido simples o múltiples y la existencia de infecciones antiguas que fueron o no tratadas.

A esta información hay que añadir datos que el ganadero aporta del rebaño: número de ovejas, manejo del cordero, patologías más frecuentes, vacunaciones, alimentación, ventilación de la nave, tipo de cama, densidad de animales y limpieza de las instalaciones y útiles.

En este caso se pudo conocer únicamente los datos individuales ya que las ovejas que son remitidas a la Facultad de Veterinaria de Zaragoza provienen de diferentes explotaciones en las que no se realizó la anamnesis al ganadero.

Los animales que presentaron mamitis crónica tenían una edad comprendida entre los cuatro y los nueve años, la mayoría estaban vacías ya que llegan a la facultad tras el destete.

La exploración clínica de la glándula mamaria se basa principalmente en dos puntos. Primero se realiza una inspección en la cual se aprecian las modificaciones de la ubre. En segundo lugar,

se hace una palpación desde el esfínter y el canal del pezón hasta la piel que recubre la glándula y el tejido glandular.

INSPECCIÓN

En el ovino, la inspección se realiza observando la ubre desde detrás y lateralmente. La estructura externa de la ubre es muy importante y variable según la raza e incluso entre individuos de diferentes edades y momento productivo.

Lo primero que se puede apreciar exteriormente es la piel. Algunas de sus modificaciones son un reflejo de lo que pasa fisiológica o patológicamente en su interior. Solamente en las mamitis agudas se aprecian modificaciones en la piel (enrojecimiento y abultamiento) (imagen 6). Pero también pueden apreciarse en las ubres lesiones o daños medioambientales y cambios en la piel provocados por virus (vesículas, costras y verrugas) y complicaciones bacterianas (pústulas) (imagen 7).



IMAGEN 6: Piel enrojecida y glándula hinchada por mamitis aguda (Fuente: Ramos, J.J., Ferrer, L.M. 2007).

IMAGEN 7: costras en la ubre por impétigo mamario (Fuente: Ramos, J.J., Ferrer, L.M. 2007).



PALPACIÓN

La palpación se debe realizar en las explotaciones tras el destete. Se comienza con la valoración de la piel tomando un pliegue y tirando de él para comprobar su elasticidad y sensibilidad y apoyando el dorso de la mano sobre la glándula para apreciar su temperatura (imágenes 8 y 9). A continuación, se inspecciona el pezón recorriéndolo con los dedos de abajo hacia arriba para valorar toda la longitud del esfínter. Es muy útil también extraer un chorro de leche para apreciar la permeabilidad y dureza del pezón.

La palpación del tejido glandular se realiza para valorar la consistencia y sensibilidad de la glándula mamaria. En condiciones normales el tejido glandular presenta elasticidad y granulación fina, que se va volviendo más gruesa a medida que avanza la edad del animal. En el caso de padecer mamitis agudas, el tejido glandular se vuelve duro y sensible. En los procesos crónicos también aparece duro y, en algunos animales, se detectan nódulos o induraciones.

Por último, son muy importantes también los nódulos linfáticos supramamarios, localizados en la parte superior de la ubre. Estos son la primera barrera de defensa de la mama y aportan información valiosa de su estado. En condiciones normales, su localización resulta difícil. Un aumento de estos nódulos linfáticos es indicador de mamitis (Ramos y Ferrer, 2007).

En esta fase se les tomó también muestras de sangre para hematología. Las ovejas que mostraron signos clínicos de mamitis fueron marcadas para su posterior toma de muestras.



Valoración de la piel de la ubre: (IMAGEN 8, izquierda) elasticidad y sensibilidad (levantar la piel) y (IMAGEN 9, derecha) temperatura. (Fuente: Ramos, J.J., Ferrer, L.M. 2007).

TOMA DE MUESTRAS Y ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

En todos los animales que llegan al SCRUM, se realiza la necropsia, por lo que la toma de muestras fue realizada *postmortem*. Se desinfectó la piel con povidona yodada y se abrió la glándula mamaria afectada con una hoja de bisturí para exponer la cisterna del pezón e introducir directamente en ella un hisopo, de la manera más aséptica posible.

Posteriormente, las muestras fueron llevadas al laboratorio de la Unidad Docente de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza para procesarlas y conocer los microorganismos presentes en ellas. Se incubaron en medio BSH a 37°C y se miró el crecimiento a las 24 y a las 48 horas. Además, se realizó una tinción gram para la identificación de los microorganismos al microscopio y a algunas de ellas se les realizó también otras pruebas bioquímicas (catalasa, oxidasa, coagulasa y manitol). Algunas de las muestras fueron enviadas también a los laboratorios de Exopol (laboratorio veterinario de diagnóstico y autovacunas en Zaragoza).

Por otro lado, de las 97 hembras exploradas se detectaron 10 con las ubres agrandadas y duras que apenas tenían contenido lácteo. Al ser estos síntomas muy específicos de un tipo de mamitis crónica causada por el virus Maedi Visna, se decidió mandar muestras de leche a los laboratorios Exopol para detectar dicho virus por PCR en lugar de tomar muestra con hisopo para cultivo bacteriano.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

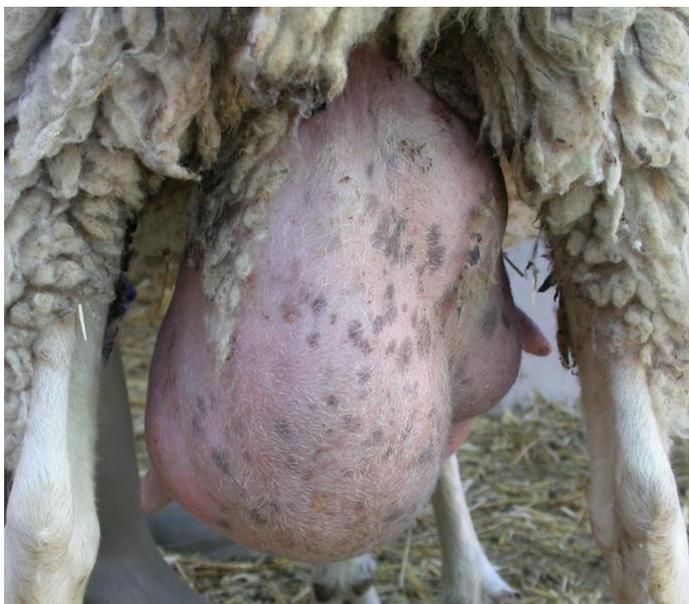
EXPLORACIÓN CLÍNICA

Del total de 97 ovejas hembras recibidas en el Servicio Clínico de Ruminantes durante el curso académico, 30 presentaron signos clínicos de mamitis crónica, lo que supone un 31%.

A continuación se va a proceder a explicar las lesiones observadas durante la exploración de las mamas de estas ovejas que presentaron signos clínicos.

ASIMETRÍA MAMARIA

En ovino la inspección se realiza observando la ubre por detrás, por ello la lesión más notable es la asimetría (imagen 10). Esta afecta a la estructura externa de la ubre y puede deberse a la atrofia o aumento de tamaño de una de las glándulas, a la pérdida de funcionalidad o a



protuberancias que se corresponden con nódulos.

De las 30 ovejas exploradas, 10 (33%) presentaron asimetría en la ubre. Este porcentaje es bajo, lo que nos indica que la mayoría de animales muestran otro tipo de alteraciones, como son el aumento de nódulos linfáticos, lesiones en la piel y/o el pezón, etc.

IMAGEN 10: asimetría mamaria (Fuente: Ramos, J.J., Ferrer, L.M. 2007).

NÓDULOS LINFÁTICOS SUPRAMAMARIOS

El aumento de los nódulos linfáticos supramamarios no siempre va acompañado de otro tipo de alteración en la glándula mamaria.

En este caso, casi la mitad de las ovejas exploradas (43%) presentaron un aumento de los nódulos linfáticos supramamarios, pero todas ellas iban acompañadas de otras lesiones. Es decir, en esta recogida de datos, las 13 ovejas que presentaron alteración de nódulos linfáticos supramamarios también tenían otras alteraciones.

TIPOS DE LESIÓN

Todos los animales que se exploraron mostraron lesiones palpables de algún tipo en la glándula mamaria.

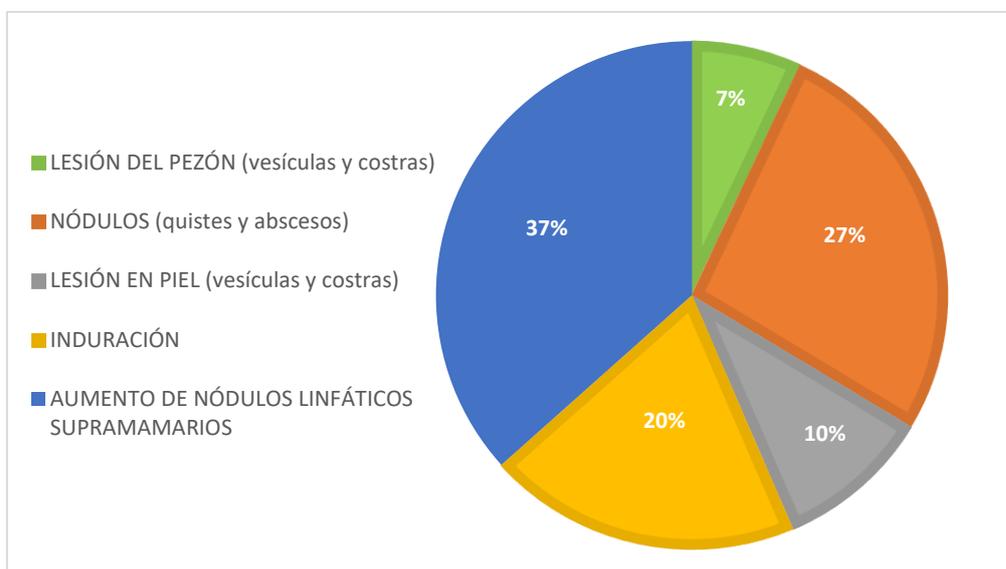


FIGURA 1: Porcentaje de aparición de los tipos de lesión mamaria causada por bacterias.

Las lesiones que se vieron en las 30 ovejas exploradas suman un total de 37, debido a que un mismo animal puede presentar más de un tipo de lesión. En lo referente a las bacterias como agente causal, la lesión con mayor frecuencia de aparición es el aumento de los nódulos linfáticos supramamarios (37%), seguido de la aparición de nódulos (27%), induración (20%) lesiones en la piel (10%) y en último lugar, las lesiones en el pezón (7%). Además, es necesario destacar que con respecto al virus Maedi Visna, la principal lesión observada es la induración, apareciendo en el 100% de los animales positivos a este virus.

Como se desprende de un trabajo en el que participó el Equipo Veterinario de Oviaragón (*Marco et. al., 2012*), en su estudio iniciado en 2008 en 44 explotaciones de ovino de carne de la raza Rasa Aragonesa, donde el tamaño de muestra fue de 1300 animales, los cuales fueron sometidos a palpación y examen visual de las ubres, además de ser tipificados los grupos de lesiones crónicas de mayor prevalencia: atrofas (que en este caso son llamadas asimetrías), induraciones, nódulos y mamas perdidas. De todas las ovejas exploradas, un 24% presentaron dichas lesiones, lo que confirma que se trata de una patología clínica que afecta a un porcentaje importante de animales.

AISLAMIENTO MICROBIOLÓGICO

En las siguientes figuras se puede observar los porcentajes de microorganismos aislados en las glándulas con mamitis crónicas. Primeramente, se mostrarán las bacterias obtenidas de las muestras de hisopo *post-mortem* y, a continuación, los positivos a PCR de Maedi Visna de las muestras de leche *in vivo*.

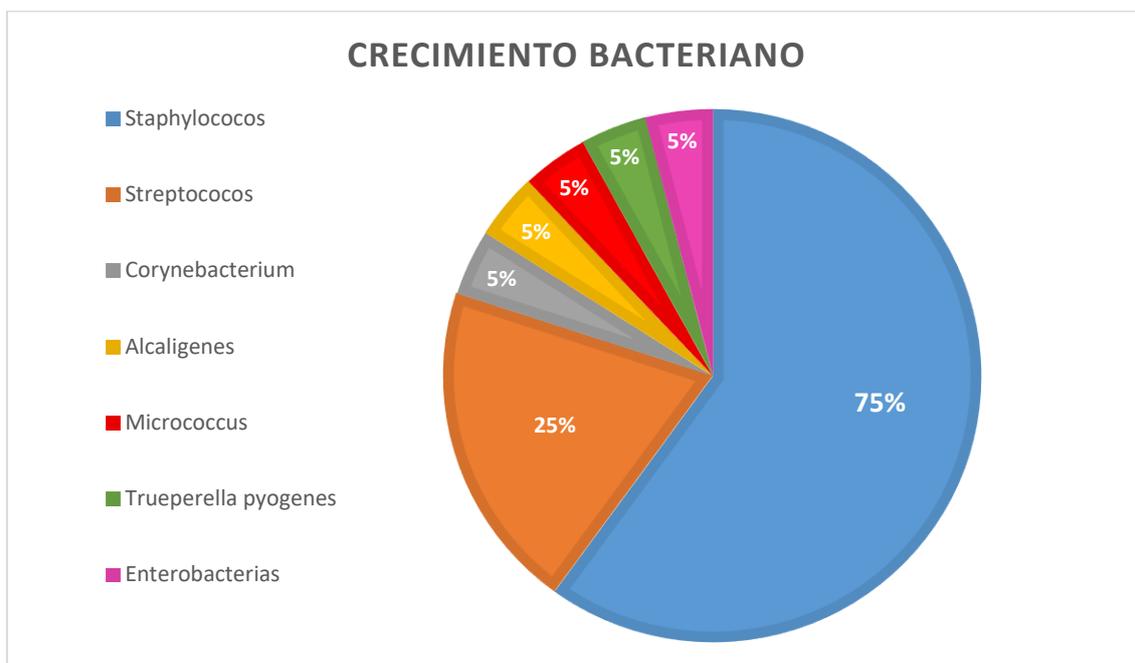


FIGURA 2: Porcentaje de aislamientos bacteriológicos en animales con mamitis crónica.

De las 20 muestras que fueron analizadas, únicamente una resultó negativa, es decir, no hubo crecimiento microbiológico. Por otro lado, de las 19 que sí tuvieron crecimiento, se obtuvieron un total de 25 aislamientos distintos, esto es debido a que hubo muestras en las que creció más de un microorganismo diferente.

A la luz de los resultados, se puede concluir que, en lo referente a las bacterias, el microorganismo más presente en las mamitis crónicas es *Staphylococcus spp*, puesto que el 75% de los animales tomados para el estudio (15 de 20) presentaron esta bacteria en sus ubres. De estos, se sabe que un 27% (4 de 15) son *Staphylococcus coagulasa negativa* y un 27% (4 de 15) son *Staphylococcus aureus*. El otro 47% (7 de 15) corresponden a *Staphylococcus spp*, a los que no se les hizo la prueba de la coagulasa y, por tanto, no se pudo saber de qué tipo eran. Con respecto al total de los animales, los *Staphylococcus coagulasa negativa* representan un 20% (4 de 20), al igual que los *Staphylococcus aureus*. Un 35% (7 de 20) son *Staphylococcus spp*. Siguiendo a estos en importancia aparecen los *Streptococcus spp*, con un 25% (5 de 20). Por último, hubo crecimiento de otras bacterias como *Corynebacterium spp*, *Alcaligenes spp*,

Micrococcus spp, *Trueperella pyogenes* y enterobacterias, representando un porcentaje muy pequeño (5%).

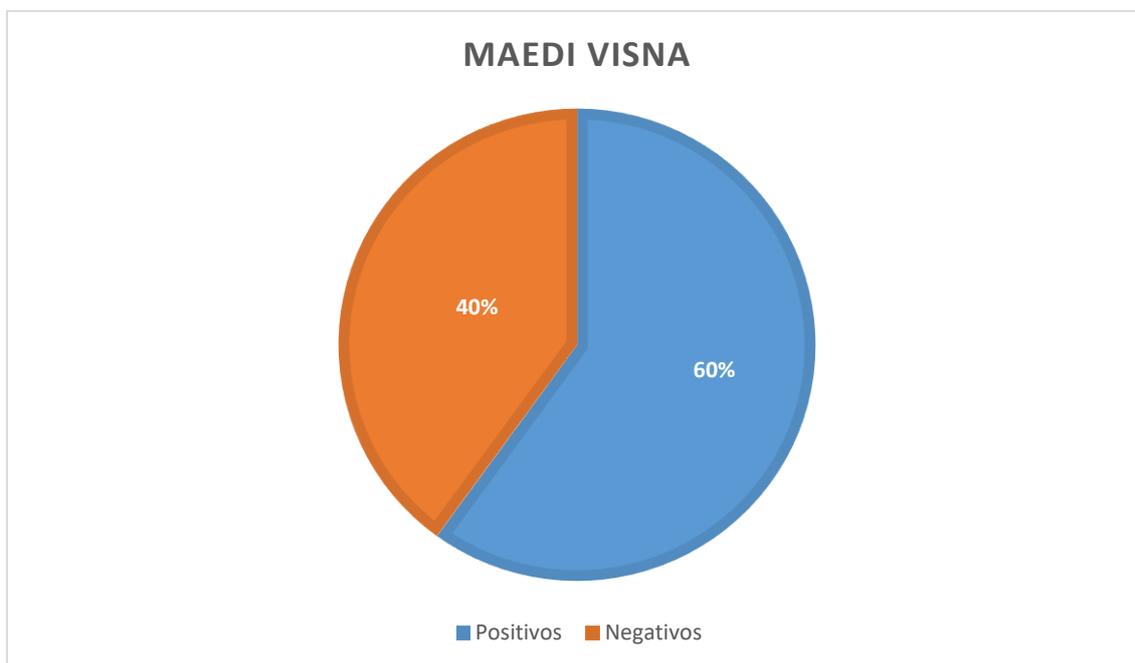


FIGURA 3: Porcentaje de resultados positivos para la PCR de Maedi Visna.

En lo referente a los virus, de las 10 ovejas citadas anteriormente en las que se tomó muestra de leche por sospecha de mamitis crónica por el virus Maedi Visna, 6 dieron positivo a las pruebas de PCR para este virus, lo que supone un 60%. En el total de animales positivos del estudio, esto representa un 20%.

RELACIÓN ENTRE LA LESIÓN MAMARIA Y EL AGENTE AISLADO

A continuación se va a proceder a relacionar la alteración o alteraciones crónicas de la glándula mamaria detectadas por palpación con el total de muestras en las que se aisló un único agente etiológico.

En lo referente a los agentes bacterianos, del total de 20 muestras, solo hubo 11 en las que se aisló un único microorganismo, pero fueron 30 las lesiones crónicas encontradas, lo que significa que un agente puede ocasionar más de una lesión.

De este modo, se puede observar que la lesión principal es el aumento de los nódulos linfáticos supramamarios (37%), donde el principal agente causante es *Staphylococcus spp* (55%), seguido de la aparición de nódulos (27%), ligada al aislamiento de *Staphylococcus spp*. (50%), *Staphylococcus coagulasa negativa* (25%) y *Staphylococcus aureus* (25%). La aparición de induración también es significativa (20%), causada principalmente por *Staphylococcus spp*.

(50%). En menor medida, aparecen las lesiones en la piel (10%) provocadas por *Staphylococcus coagulasa negativa* (67%) y *Streptococcus* (33%), y las lesiones en los pezones (7%) cuyos agentes causales principales son *Staphylococcus spp.* (50%) y *Staphylococcus coagulasa negativa* (50%).

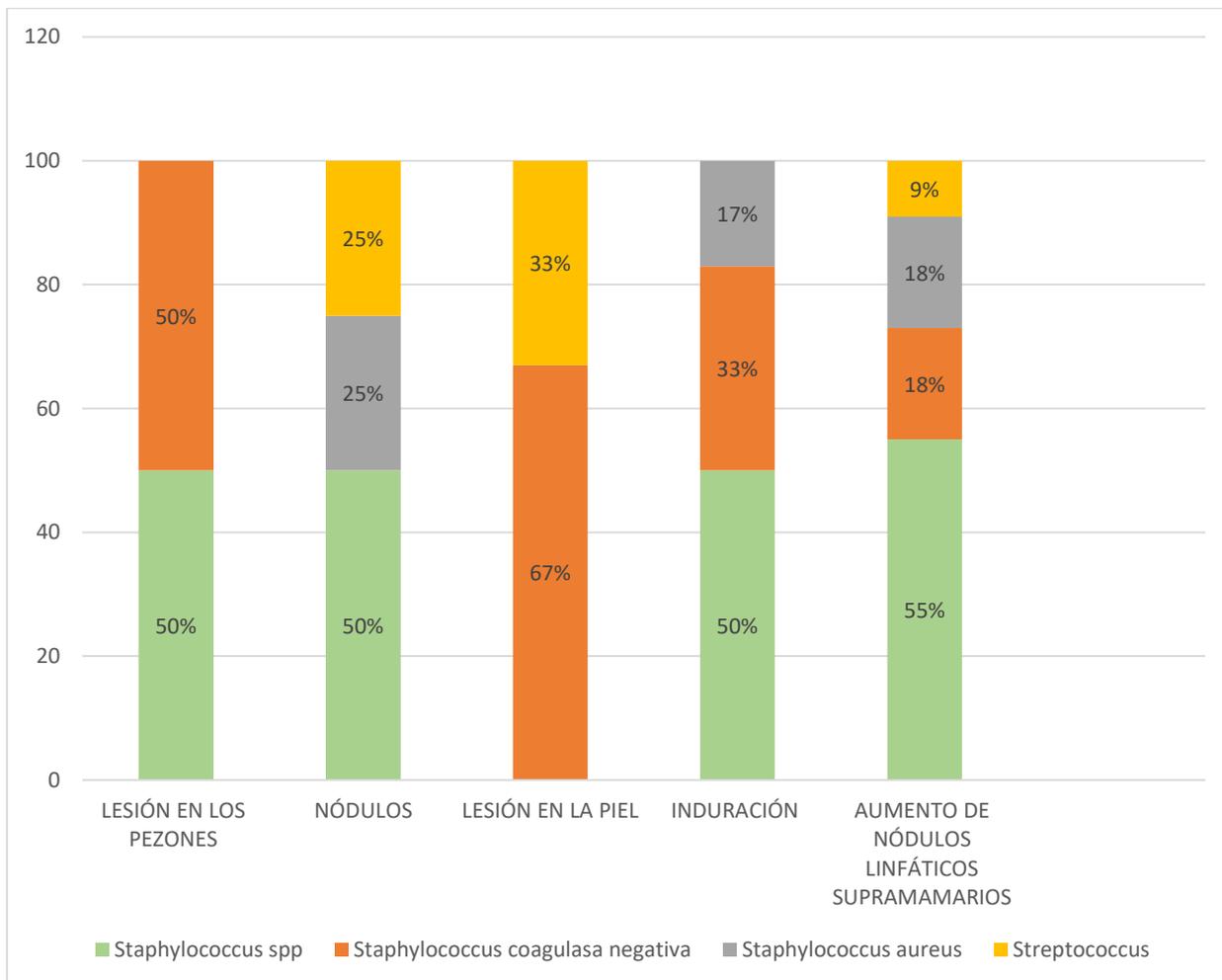


FIGURA 4: Relación del tipo de lesión mamaria con los agentes causales.

Cabe mencionar que de los animales a los que se les tomó muestra de leche para procesarlas en Exopol para detectar Maedi Visna, todos presentaron induración.

CONCLUSIONES

- 1) La prevalencia de mastitis crónicas obtenida en este trabajo (31%) revela que es una de las patologías más frecuentes en animales de desvieje.
- 2) Las lesiones que predominan son el aumento de los nódulos linfáticos supramamarios (37%), seguida de la aparición de nódulos (27%) e induración (20%) en la glándula mamaria; lesiones en la piel (10%) y en último lugar, las lesiones en el pezón (7%).
- 3) Los estafilococos son los microorganismos más prevalentes en las infecciones mamarias causadas por bacterias, representando un 75% de los aislamientos bacterianos totales. Entre los estafilococos a los que se realizó la prueba de coagulasa, aparecen en igual proporción *Staphylococcus coagulasa negativa* y *Staphylococcus aureus* representando un 27% cada uno.
- 4) El virus de la enfermedad de Maedi Visna es también un agente importante causante de las mastitis crónicas, responsable del 20% de las mastitis de este estudio. En todos los casos de mastitis por este virus hubo induración glandular.
- 5) Las diferentes lesiones que aparecen en las ubres están causadas en su mayoría por estafilococos: *Staphylococcus spp*, *Staphylococcus coagulasa negativa* y *Staphylococcus aureus*, aunque los estreptococos también juegan un papel importante.

CONCLUSIONS

- 1) The prevalence of chronic mastitis yielded in this study (31%) shows that is one of the most important reasons of culling.
- 2) The lesions that predominate in chronic mastitis are the increase of supramammary lymphonodes (37%), the presence of nodules (27%), induration of the gland (20%), skin lesion (10%) and teat lesion (7%).
- 3) Staphylococcus microorganisms are the most prevalent group in chronic mastitis infections, representing a 75%, where *coagulase-negative* and *Staphylococcus aureus* represent 27% each one. The other 47% is represented by *Staphylococcus spp*.
- 4) Maedi Visna virus is also very important in chronic mastitis (20% of mastitis in this study). In addition, all animals positive to this virus showed induration.
- 5) *Staphylococcus spp*, *Staphylococcus coagulasa negative* and *Staphylococcus aureus* are the most important microorganisms related with lesions in the mammary gland.

VALORACIÓN PERSONAL

Con la realización de este trabajo de fin de grado he confirmado que la mamitis crónica es un problema muy importante en el ganado ovino de carne que está muy infravalorado si lo comparamos con el ovino de leche. No obstante, se está tomando cada día más en cuenta debido a que es una de las principales causa de desvieje del ganado, provocando grandes pérdidas económicas en los rebaños.

A nivel personal, este estudio me ha permitido conocer más sobre esta patología y mejorar mis habilidades en la exploración física en general y de las ubres en particular, consiguiendo distinguir las ubres sanas de las mamíticas. Además, también me ha permitido recordar y aumentar mis conocimientos en microbiología, procesando las muestras en el laboratorio y observando al microscopio los agentes patógenos que crecían en los cultivos.

En definitiva, ha sido una experiencia enriquecedora que pone el broche final a cinco años de esfuerzos y aprendizaje constante.

Por último, me gustaría agradecer a Juan José Ramos y Jesús García su participación y guía en este trabajo, así como a los ganaderos aragoneses que colaboran cediendo sus animales a la Facultad de Veterinaria de Zaragoza para que los alumnos podamos hacer nuestras prácticas y trabajos de fin de grado. Gracias también a mis compañeros y profesores del SCRUM, por todo el apoyo y ayuda prestada.

BIBLIOGRAFÍA

- Ausina, V., Moreno, S. Tratado SEIMC de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. págs. 253-282, 2ª Ed. Médica Panamericana, Madrid, 2006.
- Caja, M., Such, X., Rovai, M., Molina, M.P., Fernández, N., Torres, A., y Gallego, L. (2000). Aptitud al ordeño mecánico y morfología mamaria en ovino lechero. Pág. 27.
- Gonzalo, C., Ariznabarreta, A., Linage, B., Pérez-Bilbao M., y García-Jimeno M.C. (2010). Monitorización de la sanidad mamaria en el ovino lechero. Tierras de Castilla y León. Ganadería, 170:14-18.
- Lacífero, S. Etiología de mamitis en pequeños rumiantes. Cría y salud, Págs. 36-37, 2005.
- Lewandowska-Sabat, A.M., Günther, J., Seyfert, H.M., Olsaker, I., (2012). Combining quantitative trait loci and heterogeneous microarray data analyses reveals putative candidate pathways affecting mastitis in cattle. Animal Genetics, 43(6):793-799.
- Marco, J.C., Marco, P., Ara, V., Fantova, E., Contreras, A. y Gonzalo, C., (2007). Propuesta de control de mamitis en ovino de carne. Colvema, 66:76-81.
- Marco, J., Riaguas, L., Ruiz, J.M., Fantova, E., Congost, S., (2012). Las mamitis clínicas y subclínicas en ganaderías de ovino de carne en Aragón. Informaciones técnicas; Dirección General de Alimentación y Fomento Agroalimentario, 235:1-12.
- Martin, W.B. y Aitken, I.D. Disease of sheep. pp 75-80, 3ª Ed. Backwell, Tunbridge Wells (UK), 2000.
- Merck, Manual Merck de veterinaria. Volumen I, pp 1100-1109, 6ª Ed. Océano, 2007.
- Monecke, S., Kuhnert, P., Hotzel, H., Slickers, P., Ehrlich, R., (2007). Microarray based study on virulence-associated genes and resistance determinants of *Staphylococcus aureus* isolates from cattle. Veterinary Microbiology, 125(1-2):128-40.
- Prescott, L.M, Harley, J.P, y Klein, D.A. Microbiología. 7ª Ed. Interamericana, Madrid, 2008.
- Ramos, J.J., Ferrer, L.M. La exploración clínica del ganado ovino y su entorno. Págs. 297-323, Ed. Servet, Diseño y Comunicación, S.L. Zaragoza, 2007.
- Sánchez, I., Lázaro, B., Bastida, F., (2010). Ventajas del diagnóstico de mamitis por PCR a tiempo real frente al cultivo bacteriano. Tierras de Castilla y León. Ganadería, 170:49-56.