



Universidad Científica del Sur

Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas

Carrera Medicina Veterinaria y Zootecnia

**Determinación de resistencia antibiótica de patógenos
bacterianos aislados de mastitis clínica bovina de crianza
intensiva en Lurín, Perú**

Tesis para Optar el Grado Académico de Médico Veterinario Zootecnista

GONZALO VILLANUEVA TEJADA

Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia

LIMA - PERÚ

2016

INDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
I. Introducción.....	1
II. Marco teórico.....	3
2.1 Importancia de la producción lechera en el Perú.....	3
2.1.1 Crecimiento actual del sector lácteo.....	4
2.1.2 Estructura de la industria lechera nacional.....	5
2.1.3 Pérdidas Económicas.....	7
2.2 Anatomía y fisiología de la glándula mamaria.....	8
2.3 Inmunología de la glándula mamaria.....	9
2.4 Mastitis.....	10
2.5 Factores de Riesgo de la Mastitis.....	11
2.6 Agentes Etiológicos	14
2.8 Epidemiología.....	18
2.9 Patogenia.....	19
2.10. Signos clínicos.....	21
2.11. Clasificación de la Mastitis.....	22
2.11.1. Mastitis aguda.....	22
2.11.2. Mastitis crónica.....	23
2.12 Diagnóstico	24
2.12.1 Pruebas para el diagnóstico de mastitis.....	24
2.12.2 Cultivo Microbiológico.....	27

2.12.3 Toma de Muestra.....	28
2.13 Tratamiento.....	29
2.14. Tratamiento de mastitis.....	30
2.15 Control y Prevención.....	30
2.15.1 Sellado	31
2.15.2 Control de moscas	32
2.15.3 Vacunación contra Mastitis.....	32
2.16 Mecanismos de adquisición a Resistencia antibiótica	33
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
3.1 Localización y ambiente.....	35
3.2 Población y Muestra	35
3.3 Metodología Diagnóstica.....	35
IV. RESULTADOS	37
V. DISCUSIÓN	42
VI. Conclusiones	45
VII. Recomendaciones	47
VIII. Referencias bibliográficas	48

RESUMEN

El presente estudio tiene como objetivo determinar la resistencia antibiótica de los agentes bacterianos causantes de mastitis clínica en bovinos de cuatro establos de crianza intensiva en Lurín; se colectaron 139 muestras de leche con mastitis clínica en frascos estériles manteniéndolos a 4°C hasta su remisión y procesamiento en el laboratorio de microbiología, se sembraron las muestras en agares Mc conkey y sangre, incubándolos a temperatura de 37°C por 4 horas, donde se procedió a la identificación de las bacterias a través de pruebas bioquímicas resultando *Staphylococcus aureus* (24.84 ± 6.76)%, *Streptococcus agalactiae* (15.92 ± 5.72)%, *Enterobacter aerogenes* (6.37 ± 3.82)%, *Enterobacter cloacae* (3.82 ± 3.00)%, *Bacillus Sp* (3.18 ± 2.75)%, *Bacillus subtilis* (3.18 ± 2.75)%, *Citrobacter freundii* (3.18 ± 2.75)%, *Bacilo G- no fermentador* (2.55 ± 2.46)%, *Shigella Sp* (1.91 ± 2.14)%, *Klebsiella Sp* (1.91 ± 2.14)%, *Staphylococcus Sp* (1.91 ± 2.14)%, *Escherichia coli* (1.91 ± 2.14)%, *Streptococcus faecalis* (1.91 ± 2.14)%, *Serratia marcescens* (0.64 ± 1.24)%, *Pseudomona auriginosa* (0.64 ± 1.24)%, *Proteus vulgaris* (0.64 ± 1.24)%, *Salmonella spp* (0.64 ± 1.24)%, *Proteus mirabilis* (0.64 ± 1.24)%, *Providencia alcalifaciens* (0.64 ± 1.24)%, *Serratia liquefaciens* (0.64 ± 1.24)%, teniendo en cuenta la presencia de levaduras (21.2 ± 6.37)% y negativo a bacterias (1.91 ± 2.14)%; se determinó la resistencia antibiótica de los agentes patógenos más importantes encontrándose que en el establo tres las cepas de *Staphylococcus aureus* presentaban resistencia a Penicilina (65.625 ± 16.46)%; en caso de *Streptococcus agalactiae* presentaron resistencia a Cefalexina (56 ± 19.46)%, Penicilina (56.19.46)%, Cefalotina (52 ± 19.58)%, se encontró asociación estadística significativa ($p < 0.05$) entre estos antibacterianos y el establo 3.

Palabras claves: Bovinos, Mastitis, Aislamiento bacteriano, Resistencia antibiótica

ABSTRACT

The objective of the present study is to determine antibiotics' resistance developed by bacterial agents that produce bovine mastitis in intensive of four farming in Lurin. In this context, 139 samples were collected in sterile vials, keeping them at 4°C while taking them to the Microbiology Laboratory. Then, the samples were sown on agars Mc Conkey and blood, incubating them at 37°C for 4 hours to proceed to the identification of bacteria, resulting in the presence of *Staphylococcus aureus* (24.84 ± 6.76)%, *Streptococcus agalactiae* (15.92 ± 5.72)%, *Enterobacter aerogenes* (6.37 ± 3.82)%, *Enterobacter cloacae* (3.82 ± 3.00)%, *Bacillus Sp* (3.18 ± 2.75)%, *Bacillus subtilis* (3.18 ± 2.75)%, *Citrobacter freundii* (3.18 ± 2.75)%, *Bacilo G no fermenter* (2.55 ± 2.46)%, *Shigella Sp* (1.91 ± 2.14)%, *Klebsiella Sp* (1.91 ± 2.14)%, *Staphylococcus Sp* (1.91 ± 2.14)%, *Escherichia coli* (1.91 ± 2.14)%, *Streptococcus faecalis* (1.91 ± 2.14)%, *Serratia marcescens* (0.64 ± 1.24)%, *Pseudomona auriginosa* (0.64 ± 1.24)%, *Proteus vulgaris* (0.64 ± 1.24)%, *Salmonella spp* (0.64 ± 1.24)%, *Proteus mirabilis* (0.64 ± 1.24)%, *Providencia alcalifaciens* (0.64 ± 1.24)%, *Serratia liquefaciens* (0.64 ± 1.24)%. Considering the presence of yeasts (21.2 ± 6.37) % and the tests being negative to bacteria (1.91 ± 2.14) %, it was determined the antibiotic resistance from the most important pathogens. Therefore, in the stable 3, It was found that *Staphylococcus aures* strains were resistant to Penicillin (65.625 ± 16.46) % while *Streptococcus agalactiae* were resistant to Cefalexin (56 ± 19.46) %, Penicillin (56.19.46) % and Cefalotin (52 ± 19.58) %. The test was taken (p<0.05), being these antibiotics related to stable 3 to be statistically significant.

Key Words: Bovines, Mastitis, Bacterial isolation, Antibiotic resistance

I. INTRODUCCIÓN

La mastitis clínica bovina es una enfermedad infecciosa de la glándula mamaria que suele presentarse con cuadros agudos, dependiendo en la mayoría de casos del periodo de producción animal, donde consecuentemente se verán respuestas inflamatorias, las cuales conllevarán a cambios inadecuados de la composición de la leche ya sean físicos o químicos; se considera la de mayor impacto económico en las ganaderías dedicadas a la producción de leche ya que es una de las enfermedades de mayor importancia; así como también ejerce un problema multifactorial ya que es de difícil erradicación, donde los controles dependerán básicamente de un sistema integrado ejecutando medidas que permitan reducir las tasas de infecciones, así como el tiempo de infección.

La mastitis clínica está caracterizada por presentar inflamación, rubor, calor, dolor y consecuentemente la pérdida inicialmente parcial de la función de los cuartos como también de la glándula mamaria, donde la leche cambiará sus características físicas, presentando coágulos o grumos y el color cambiará hacia amarillo o rojizo, ya sea por la presencia de sangre o pus; cuando se presenta mayor severidad habrá incremento de la temperatura corporal, pérdida de apetito, decaimiento y disminución por completo de la productividad; a diferencia de la mastitis subclínica no habrán signos clínicos en la ubre y una apariencia normal de leche, a pesar de ello el conteo de células somáticas estará incrementado; se estima que la mastitis clínica genera aproximadamente una pérdida monetaria de hasta 50% por compra de medicamentos, entre otros. Los agentes patógenos que se encuentran en la piel del pezón son capaces de ingresar a la ubre y multiplicarse en la glándula mamaria con facilidad, y así también pueden diseminarse a otro animal básicamente al momento del ordeño por diversos factores en este momento; los agentes patógenos comúnmente aislados son *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, llegando a ser responsable de cerca un 75% de los casos con mastitis así como también *Escherichia coli*.

La elección de un antibiótico, debe estar basado al conocimiento primordialmente de un agente patógeno presente, así como tener en cuenta la

sensibilidad de éste frente a sulfonamidas u otros antibióticos que se encuentren en el medio. Los fármacos principalmente utilizados no sólo aquí sino internacionalmente son los macrólidos, tetraciclinas, betalactámicos, aminoglucósidos, sulfonamidas, cefalosporinas; no obstante el uso de estos fármacos ha sido muy manipulado, por lo tanto se han generado resistencias a los principios activos de diversos fármacos, originando terapias indebidas sin resultados, pudiendo resultar en la muerte de los animales que padecen de esta enfermedad; se estima que existen menos barreras para transferir genes de resistencia entre patógenos vinculados, no solo en bacterias de un solo género sino en varias familias, así como la posible transferencia horizontal de bacterias persistentes de hombres a animales y viceversa.

II. Marco teórico

2.1 Importancia de la producción lechera en el Perú

El Perú presenta un sector lácteo activo, desde mediados de la década de los 90, la producción lechera se ha incrementado en más del 4% al año. La importación de los productos lácteos ha avanzado considerablemente, alcanzando un 20% al año de crecimiento en el mercado. Este incremento en la demanda de los productos lácteos se evidencia en el aumento del PBI como consecuencia de las renovaciones estructurales que comenzaron al final de los años ochenta; así mismo la industria productora de lácteos llegó a alcanzar un 8% en el crecimiento económico anual, superando este porcentaje con el paso del tiempo (Vásquez, 1995; Bernet, 1998; Bedolla, 2008).

Dentro del territorio nacional, existen varias provincias las cuales son productoras de leche en menor escala llegando a abastecer aproximadamente la mitad del requerimiento del consumo de leche, sin embargo las consideradas como cuencas lecheras de mayor importancia son Arequipa, que posee un 18% de productividad, tomando en cuenta también a Moquegua y Tacna que conjuntamente hace un promedio de 17%, Cajamarca con 40%, y Lima con 25% (Zavala, 2010; Cuarez, 2015).

Las poblaciones de bovinos que están presentes en los sistemas de producción en el país están conformados básicamente por las razas Brown Swiss, Holstein, Jersey, Cebuinas, con sus diferentes cruces las cuales han sido introducidas de diversas formas con una difusión de cierta forma deficiente ya que se han visto limitadas por el comportamiento productivo y reproductivo de los animales y por las características básicas de los agroecosistemas que presentan una variación ondulante en las regiones altitudinales (MINAGRI, 2007); la raza con mayor manipulación en el sistema de producción lechero en el país, indudablemente es la raza Holstein, que presenta alrededor de 60% de la población bovina en los sistemas de producción intensivo, alcanzando una producción de 6000 litros de leche por campaña compatible con el sistema estabulado; produciendo el mayor volumen de leche de oferta nacional con tendencia a incrementar en productividad (FONDGICARV, 2004)

La ganadería junto a la agricultura, caza y silvicultura representan el 5.7% del valor agregado bruto agropecuario nacional, el cual ha ido incrementando en un 1.5% en el periodo del 2007-2014; en Cajamarca la ganadería representa cerca al 12.4% de la estructura productiva regional; Arequipa muestra el 32.5% en ganadería en cuanto su productividad; Moquegua el 2.2%; Tacna el 6.2% y Lima 15.6% de la productividad agropecuaria; el ganado vacuno en total es alrededor de 253.7 mil animales, en costa existen 27.9 mil animales, en sierra 208.8 mil animales y en selva 16.9 mil animales (INEI, 2012; Inga y Cosavalente, 2014)

La industria lechera produce bienes significativos, fundamentalmente para los agricultores de bajos recursos. Sin embargo se especula que los precios en el mercado mundial para los productos lácteos se incrementen como resultado del acuerdo general sobre aranceles aduaneros y de comercio, los productos peruanos van a confrontar un desafío internacional considerable. Debido a que la adquisición promedio de los productos lácteos es aún demasiado bajo, aproximadamente 65kg per cápita (Scheelhas, 1994; Bernet, 1998).

Se considera a la mastitis bovina como la enfermedad más importante que afecta la industria lechera a nivel mundial, en cuanto a pérdidas económicas se refiere, debido a la reducción en la producción de leche a nivel de los cuartos mamarios afectados (Ortíz *et al.*, 2006; Cerón *et al.*, 2007; Martínez *et al.*, 2007; Castillo *et al.*, 2009; Bastos *et al.*, 2011; Zaror *et al.*, 2011).

El crecimiento histórico del sector lácteo peruano no puede emanciparse de los cambios sociales y económicos a nivel nacional o regional. Los cambios estructurales vinculados al sector lácteo deben ser considerados como una respuesta a las restricciones ecológicas, económicas y sociales que renuevan con el transcurrir del tiempo. Un estudio del acondicionamiento del sector lácteo frente a los cambios y restricciones del pasado permite interpretar mejor su condición actual y futura (Seifert, 1990; Vasquez, 1995; Bernet, 1998)

2.1.1 Crecimiento actual del sector lácteo

En la actualidad el mercado es quien dispone del desarrollo de la industria lechera; donde las principales zonas lecheras deben abastecer constantemente las necesidades de la población. En la última década el sector lácteo ha ido evolucionando crecientemente; ya que en los últimos siete años, el consumo per

cápita de leche se ha ido incrementado de 45 a 65 litros; aunque este índice es bajo en comparación con otros países de Latinoamérica, tal como Argentina donde el consumo aproximado es de 218 litros anuales; o Colombia que sobrepasa los 140 litros al año. Desde el año 1993, el Perú a tenido una dinámica activa del sector lácteo, donde el estado se han ido involucrando continuamente con el desarrollo de esta industria; se tuvo un crecimiento de la comercialización de los productos lácteos desde el año 1997, ya que se ha ido involucrando más la asociación existente entre el mercado, la producción láctea y la política de productividad; teniendo resultados positivos en este rubro (MINAGRI, 1997; Bernet, 1998).

Según el último informe estadístico emitido al Ministerio de Agricultura, el volumen de producción de leche fresca alcanzó un incremento de 1,82%, debido a un incremento en el rendimiento de las vacas que se encuentran en ordeño registrado en las cuencas lecheras comprendiendo a Cajamarca, Arequipa, Lima, Cusco, Puno, y Amazonas (Seifert, 1990; Bernet, 1998; INEI, 2014).

2.1.2 Estructura de la industria lechera nacional

La producción lechera en el Perú está dada básicamente por los pequeños productores. Cerca del 60% tienen menos de 5 hectáreas de tierra. Esto significa que la mayor parte de los productores lácteos poseen ganado vacuno y además realizan labores de labranza dentro de un sistema de producción dirigido a la supervivencia. Por esta razón, la producción de leche es parcialmente baja. Solamente el 10% de todos los productores de leche poseen más de 20 hectáreas, solo un número reducido (20%) ofrece su producto a las plantas industriales. La mayor parte de estos productores (63%) emplean su producto para su consumo familiar, amamantar a sus terneros o para la fabricación artesanal de quesos que mayormente son destinados para ser intercambiados con otros productos (MINAGRI, 2007; Zavala, 2010)

La relación mínima existente de los productores de lácteos que ofrecen sus productos a las plantas de procesamiento industrial se demuestra por el acceso restringido de varios ganaderos a estas plantas. Las plantas industriales, instaladas básicamente en Arequipa, Cajamarca y Lima, se limitan a recolectar toda la leche que se elaboran en estas diferentes zonas lecheras, las distancias

inacabables y los caminos defectuosos complican el transporte (Bernet, 1998). A nivel nacional se ha podido demostrar que el desarrollo de la producción de leche fresca alcanza niveles considerablemente altos, los cuales se han ido evidenciando desde el año 2001 teniendo como resultado 969,693 toneladas (tn) de leche; Cajamarca presentaba un total de 178,559 tn; Lima 179,743 tn; Arequipa 255,292 tn; Moquegua 15,321 tn y Tacna 25,461 tn en dicho año. En el 2006 la producción de leche fresca fue de 1,346,991 tn, donde Cajamarca obtuvo 239,969 tn; Lima 238,193 tn; Arequipa 328,025 tn; Moquegua 16,034 tn; Tacna 22,100 tn de leche fresca en el promedio de producción anualmente. En el año 2010 la producción anual fue de 1'678,372 tn, Cajamarca obtuvo 303,449 tn; Lima 306,876 tn; Arequipa 355,013 tn; Moquegua 15,262 tn; Tacna 26,224 tn. En el año 2014 la productividad lechera fue de 1'182,740 tn; donde Cajamarca tuvo 323,687 tn; Lima 335,965 tn; Arequipa 325,253 tn; Moquegua 16,273 tn; y Tacna 25,042 tn. Los centros de recolección con infraestructura de refrigeración están condicionados a las zonas lecheras con acceso a camiones abastecidos con tanques de refrigeración (Bernet, 1998; MINAGRI, 2007).

Del total de ganado vacuno que se encuentra en el Perú, aproximadamente el 10% son vacas de ordeño en continua producción; la leche es producida en la costa, sierra y selva del territorio nacional. Sin embargo, la leche que se elabora industrialmente se produce en tres regiones esenciales: Arequipa, Moquegua y Tacna con un promedio de 18%, Cajamarca 40% y Lima 25%. El resto de las regiones producen cantidades pequeñas de leche, pero la totalidad producida por estas regiones comprende a la mitad de la leche que se produce en el Perú. Arequipa es considerada la zona lechera más amplia, sin embargo Cajamarca y Lima, ambas producen casi la misma cantidad (Zavala, 2010; Cuarez, 2015)

La cantidad de ganado lechero ha ido incrementando desde el año 2001, teniendo un universo de 536,322 vacas en ordeño por año; donde las ya mencionadas regiones lecheras como Lima contaba con cerca de 52,469 cabezas de ganado en total; Arequipa 82,618 animales; Moquegua 6,468 animales; Tacna 7,495 animales; y Cajamarca 72,314 animales. En el año 2006 hubieron 740,671 animales en el territorio nacional con las mismas características, donde Cajamarca tenía 111,986 animales, Lima 73,854 animales; Arequipa 85,869 animales; Moquegua 6,669 animales; Tacna 7,115. En

el año 2010 hubieron 789,704 animales demostrando que la población iba incrementado al paso de los años considerablemente, donde Cajamarca tenía 131,082 animales al año; Lima 75,086 animales; Arequipa 69,701 animales; Moquegua 5,608 animales; Tacna 7,154 animales. Hasta el año 2014 se evidencio un incremento poblacional de 877,098 animales a nivel nacional; tomando las regiones lecheras como referencia se pudo ver que Cajamarca contaba con 146,926 animales; Lima 78,501 animales; Arequipa 75,738 animales; Moquegua 5,806 animales; Tacna 6,061 animales (MINAGRI, 2007)

2.1.3 Pérdidas Económicas

En la ganadería lechera es necesario mantener correctos valores sanitarios para así generar ganancias y darle rentabilidad al negocio, según condiciones actuales cualquier falla en el aspecto sanitario afectará directamente la calidad de la leche o parámetros reproductivos que generaran perdidas de esta índole en la empresa, disminuyendo la competitividad, rentabilidad y margen de ganancia.

La mastitis es un complejo de enfermedades, la cual origina perdidas a nivel mundial, especialmente en regiones de producción lechera intensiva; siendo una de las principales razones para descarte de la leche producida, y causando hasta un 26.5% de vacas descartadas en el continente americano (MINAGRI, 1997; Castillo *et al.*, 2009).

La mastitis presentan dos tipos de enfermedad y por ende causas de pérdidas económicas; la mastitis clínica donde se evidencia la progresiva disminución de la producción, uso de medicamentos en muchos casos costosos y honorarios del Médico Veterinario a cargo. En el caso de la mastitis subclínica se verá la disminución diaria de la producción lechera, un alto porcentaje de animales afectados con este tipo de mastitis, mano de obra costosa (Bernet, 1998; Castillo *et al.*, 2009). En ambos casos los costos financieros son elevados y está enfermedad tiene una repercusión importante sobre el valor sanitario de la leche y por ende en los subproductos de estos, ya que algunos agentes causales de esta enfermedad son patógenos en humanos; la existencia de residuos de antibióticos por el tratamiento constante; y la exigencia del consumidor de la inocuidad del subproducto (Wolter *et al.*, 2000).

2.2 Anatomía y fisiología de la glándula mamaria

La glándula mamaria es clasificada como una glándula de composición túbulo-alveolar, que está formada por tejido intersticial, parénquima (epitelio secretor), ductos, vasos y nervios (APFA, 2009). Posee una ubicación inguinal con mitades de derecha a izquierda diferenciadas, y cada mitad posee un cuarto anterior y posterior, cada mitad es independiente con su contra parte en lo que respecta al suministro de sangre, nervios, drenado linfático y aparato suspensorio; Existe un surco longitudinal que marca la separación ventral de las mitades. La unidad secretora de leche es el alveolo; un número de estos, agrupados juntos y rodeados por una capa de tejido conectivo, es conocido como lobulillo; la división de tejido conectivo rodea a un número de lobulillos para formar el llamado lóbulo; donde las unidades secretoras de la glándula mamaria están divididas en lobulillos y lóbulos, estos están rodeados por células mioepiteliales contráctiles, que son también llamadas células canasta; estas células se contraen para expulsar leche (también conocida como bajada de la leche) como respuesta a la liberación de oxitocina. Los alveolos se convergen en conductos que conducen la leche a la cisterna dentro de la glándula y finalmente a la cisterna de cada pezón. La expulsión de la leche de cada pezón ocurre a través del canal del pezón, que se mantiene bien cerrado por un esfínter muscular (Meglia, 2001; FAPDA, 2005)

La glándula mamaria posee una serie de mecanismos de defensa para hacerla menos accesible a diversos patógenos infecciosos; los cuales están conformados por la piel de la glándula y su respectivo estrato corneo; el musculo liso que le dará mayor elasticidad del conducto del pezón; así también la presencia de la lactoferrina y lactoperoxidasa quienes conforman el grupo de mecanismos no inmunológicos solubles; al igual que el complemento sérico que a comparación de las anteriores si es inmunológico soluble, como las inmunoglobulinas, células somáticas y las citoquinas que están en la glándula mamaria; Sin embargo debe considerarse que los puntos vulnerables de infección de la glándula son el meato del pezón que debe impedir el ingreso ascendente de microorganismos, y por soluciones de continuidad de la piel, las cuales permiten el ingreso al tejido glandular de agentes infecciosos,

favoreciendo la colonización, invasión, e infección de la glándula mamaria (Meglia *et al.*, 2001; Radostis, 2001).

2.3 Inmunología de la glándula mamaria.

En lo que concierne específicamente a los mecanismos de defensa de la glándula mamaria, esta presenta 2 sistemas, no inmunológico e inmunológico, en el primero se tiene a las defensas anatómicas y solubles, en el segundo la respuesta humoral y celular (Meglia *et al.*, 2001).

La inmunidad adquirida o específica forma un procedimiento de defensa que no solo reconoce y destruye a los patógenos invasores sino que también procesan una memoria del suceso, así que si acontece nuevamente la presencia de ese antígeno el sistema inmunitario reacciona con mayor prisa y eficiencia. los anticuerpos o inmunoglobulina (Ig) son proteínas que ejecutan funciones inmunológicas de diversa índole, son secretadas por las células plasmáticas y son elaboradas por los linfocitos B existen cuatro clases de Ig en los bovinos IgG, IgM, IgA, IgE a la vez existen 3 subclases de IgG que son IgG1, IgG2a e IgG2b, estas Ig pueden ser elaboradas por los tejidos locales de la glándula (IgA, IgM) o en un transcurso de inflamación migran desde el torrente sanguíneo (IgG1, IgG2), las Ig son agentes opsonizadores, previniendo la adherencia de los microorganismos a los tejidos y por ende la colonización, también son agentes neutralizadores y ejecutan actividades sobre las toxinas bacterianas y activan la fagocitosis de los macrófagos y neutrófilos (Saran y Arthur, 2000; Laguna, 2014).

Las células de defensa o células somáticas son células de origen sanguíneo que migran a la glándula mamaria en respuesta de señales antigénicas, para neutralizar la infección y eliminarla, en vacas no infectadas las células somáticas se encuentran en números que no rebasan las 100,000 por mililitro y durante una infección bacteriana de la glándula estas se elevan considerablemente en un periodo de 12 a 24 horas siendo los polimorfonucleares el principal elemento (Laguna, 2014).

2.4 Mastitis

Es la inflamación de la glándula mamaria y de sus tejidos de secreción, que disminuye el volumen en la producción de leche, modificando su estructura, inclusive siendo capaz de modificar sus características físicas y químicas, asimismo afecta la flora bacteriana normal (Radostis, 2002); De acuerdo a su evolución, se puede clasificar en aguda y crónica. En relación a sus manifestaciones clínicas, las cuales pueden ser clínica o subclínica; a pesar que en la mayoría de los casos existe tumor, calor, dolor y rubor de la glándula mamaria, no puede ser diagnosticado con facilidad, ni por observación directa o por la obtención de leche en la copa de ordeño; esta enfermedad causa grandes pérdidas económicas a la industria lechera (Radostis, 2002; Gasque 2008).

La mastitis es la respuesta al daño originado por la presencia de agentes agresores, microorganismos, productos químicos, lesiones traumáticas, temperaturas extremas, entre otros; normalmente los casos se dan por la presencia de agentes patógenos bacterianos considerándola como una enfermedad muy compleja, perjudicial y costosa que afecta a la industria láctea directamente (Gasque, 2008; Pinzón et al, 2009); esta complejidad es debida a la cantidad y variedad de agentes patógenos que la ejecutan, la respuesta que se produce dentro del animal infectado debido a los diversos factores que actúan en su agudeza y los resultados obtenidos en las medidas de control; a pesar de que su eliminación es prácticamente imposible, algunos programas de control pueden aminorarla a niveles tolerables (Andersen, 2001).

En los países desarrollados el beneficio de las exportaciones lecheras obedece al sostenimiento de bajos niveles de mastitis y producción de leche de buena calidad, con la finalidad de prevenir sanciones y someterse a los pagos de incentivo por calidad de leche; los niveles extraordinarios de producción y calidad de la leche obtenida en ciertos países, están relacionados con el reconocimiento de la importancia de la mastitis como causa que condiciona la producción lechera, afectando al rendimiento de las fincas dedicadas a esta explotación; así como también comprometiendo estrictamente los programas de control de mastitis y la calidad de leche; incrementando las políticas lecheras razonables; debido a los sistemas de vigilancia de mastitis y calidad de leche, apoyados por

métodos de diagnósticos, como el cultivo bacteriológico y el recuento de células somáticas en la leche, los cuales se emplean para ejecutar los programas de incentivo y sanciones de esta enfermedad; que generalmente estará dada por microorganismos capaces de penetrar la ubre cuando los trabajadores manipulan indebidamente la máquina de ordeño, ocasionando un proceso inflamatorio leve o severo (Meglia, 2001).

La inflamación de la ubre se determina por cambios en el tejido glandular y en la leche, cuando estos cambios son detectados por inspección y/o palpación, estamos frente a una mastitis clínica si no hay cambios revelados clínicamente, se requiere de métodos de campo o de laboratorio, si los resultados son positivos estamos frente a una mastitis subclínica (Meglia, 2001; Andersen, 2001; Radostis, 2002; Scarmelli *et al.*, 2005).

La mastitis clínica origina pérdidas económicas indiscutibles para el ganadero, lo que incita su intranquilidad para solucionar el problema; el impacto económico de la mastitis subclínica no es manifiesto sin un análisis de pérdidas de producción en un tiempo largo aproximadamente de un año a más, por esta razón es complicado involucrar a los ganaderos en el afán de tomar medidas de control, así mismo se origina un problema poblacional donde intervienen varios factores bastante difíciles de erradicar, debido a ello el control dependerá del empleo de un sistema integral de medidas cuyos propósitos serán; la disminución de la tasa de nuevas infecciones y la disminución del tiempo de infección de cada caso de mastitis (Andersen, 2001; Gasque, 2008).

2.5 Factores de Riesgo de la Mastitis

Al estar identificada como una enfermedad multifactorial, depende de diversos aspectos y uno de ellos son los diversos niveles de vacío tanto bajos que genera interrupciones en la dinámica del ordeño debido al mal uso de la ordeñadora que originará la caída de pezoneras; así como también los niveles altos de vacío que son causados por la carga mecánica muy fuerte al pezón ocasionando el daño del tejido de este; de esta misma forma el cuadro puede progresar debido a los diversos factores que predisponen a esta enfermedad (Wolter *et al.*, 2000; Meglia *et al.*, 2001; Radostis, 2002).

Dentro de los factores que predisponen la presencia y progresión de esta enfermedad se encuentra la edad y el número de partos que estos animales han presentado, ya que el sistema inmune tiende a ser menos activo, repercutiendo en la eficiencia de la respuesta inmune frente al agente causal; el estado de lactación, ya que durante el pico de lactación habrá un incremento productivo significativo, donde la demanda energética tendrá consecuencias negativas en la homeostasis del animal; el balance energético, que se da al inicio de una nueva lactación, donde las exigencias productivas de la vaca hará que movilice las reservas energéticas que esta posee tanto de grasa como de glucosa, ya que el consumo de alimento no será lo necesario para alcanzar los requerimientos del animal; la prevalencia de infecciones en el hato, debido a que la probabilidad de tener una reinfección o infecciones cruzadas, es mayor donde existan animales enfermos con mastitis ya sea de tipo subclínica o clínica (Radostis, 2002); la raza, también es considerada uno de los factores importantes ya que existen animales de carácter estrictamente lechero, serán más propensas a presentar mastitis clínica, debido a un manejo constante, exigencias reproductivas como productivas; las características del ordeño, implican una estrecha importancia en cuanto a la presentación de esta enfermedad debido a que si la rutina de ordeño es inadecuada, ya sea por los equipos en mal estado, mala desinfección de los implementos a utilizar, implicarán una persistencia de la enfermedad (Radostis, 2002; APFA, 2009).

Los problemas existentes, en relación a lo metabólico así como las diversas complicaciones anatómicas tales como la morfología y condición física del pezón en casos donde los pezones no se encuentran adecuadamente bien posicionados pueden generar daño tisular, resequedad, resquebrajamiento, fallas en el esfínter generando la predisposición a adquirir esta enfermedad, debido a que las barreras físicas de defensa de estos no estarán en plena capacidad para actuar como tales (Gasque, 2008); el sustento alimenticio es de suma importancia ya que los animales con un balance energético negativo se verán con condiciones corporales deficientes, debilidad, las cuáles serán las principales características para que el sistema inmunológico de estos animales se deprima considerablemente, dando facilidad a la aparición de mastitis (Radostis, 2002); el medio ambiente, juega un rol sumamente importante

teniendo corrales sin la debida desinfección, mala distribución y mayor cantidad de los animales en un solo corral, mayor cantidad de guano en un solo corral, promoverán la presencia de los diversos agentes patógenos en un hato lechero; de esta misma manera las condiciones y características del manejo de los animales son capaces de generar estrés en los animales por diferentes mecanismos de trabajo, instalaciones inapropiadas por ahorro de espacio, descuido de operarios, visión sanitaria errada, son capaces de generar la aparición de diversas enfermedades como es el caso de mastitis, debido a los agentes depresivos directos presentes (Bernet, 1998; Radostis, 2002; Gasque, 2008).

Generalmente los microorganismos que originan mastitis pueden agruparse en tres categorías, la primera donde los patógenos son capaces de producir una mastitis contagiosa donde encontraremos principalmente a *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo y *Mycoplasmas spp*: la segunda categoría donde los patógenos más comunes son los que están en el medio ambiente de las vacas, donde estarán presentes los coliformes, *Streptococcus* ambientales y *Staphylococcus* coagulasa negativos y la tercera categoría en la que estarán presentes los patógenos no comunes del medio ambiente tales como *Arcanobacterium pyogenes*, levaduras, *Nocardia asteroides*, el alga incolora *Prototheca spp*, entre otros (Meglia *et al.*, 2001; Andersen, 2001).

La acción de los seres humanos llega a influir directamente en la presentación de esta enfermedad, donde existen diversos niveles por ello el primer nivel comprenderá al ordeño mecánico, donde los índices de mastitis siempre son más altos en hatos mal ordeñados, un excelente ordeño depende de algunos elementos tales como la buena aptitud del ordeñador para la labor recomendada, habilidad para identificar a las vacas con las respectivas condiciones y problemas de estas, preparación en el destacado arte del buen ordeño; en el segundo nivel se deberá a la inspección del ordeño mecánico en manos de un buen jefe hábil en la conducción del personal, en la inspección de las técnicas y en el mantenimiento del equipo de ordeño; el tercer nivel implicará al médico veterinario que es el encargado de planificar toda la ejecución desde el punto de vista técnico, las funciones de este serán básicamente en preparar el manual de

procedimientos del ordeño el aseo y desinfección de los equipos, enseñar el correcto manejo de la técnica de ordeño, elaborar con otros técnicos el manual de procedimiento para el cuidado del equipo, hacer cumplir el manual de procedimientos para el control de la mastitis, elegir los implementos tales como las pezoneras, materiales de limpieza y desinfectantes, fármacos que se van a utilizar , así como también capacitar al personal sobre su correcta utilización, ejecutar e inspeccionar los controles sanitarios, resolver en base a los datos obtenidos, la repartición de los lotes de vacas así como el orden del ordeño, decidir en sobre la toma de muestras de leche para cultivo y antibiogramas, realizar análisis estadísticos cada mes sobre monitoreo de mastitis, determinar el rol y técnica de secado de las vacas, determinar la separación de las vacas con problemas de mastitis; el cuarto nivel corresponde a la administración o gerencia, teniendo como función admitir el programa de trabajo técnico del ordeño y el presupuesto de gastos, así como verificar los fondos para la adquisición pertinente de los insumos que se necesiten; por último el quinto nivel: depende de la gerencia general o del dueño que tomara las decisiones dependiendo de la eficiencia y eficacia de la administración empresarial. (Andersen, 2001; Radostis, 2002; Ponce de León, 2010).

2.6 Agentes Etiológicos

La principal causa de esta enfermedad es infecciosa, sin embargo existen otras que suelen originarla; los agentes patógenos infecciosos causantes de mastitis son variados, en los bovinos los agentes causantes más frecuentes son los agentes patógeno bacterianos como *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Pasteurella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Nocardia asteroides*, *Mycoplasma bovis*, *Corynebacterium pyogenes*, *Pseudomonas sp*, *Leptospira sp*, *Serratia sp*, *Klebsiella Sp*, *Fusobacterium sp*; algas, como *Prototheca sp.*; hongos, como *Aspergillus fumigatus*, *Trichosporon sp.* y *Candida sp.*; además de levaduras, como *Cryptococcus neoformansentre* otros a pesar, de que no todas pueden ser aisladas, son conocidas en la presentación de esta enfermedad cabe resaltar que básicamente son patógenos asociados y se aíslan dependiendo del agente que predomine (Andersen, 2001; Radostis, 2002; Gasque, 2008).

2.7 Etiología Bacteriana

En la actualidad se han reportado más de 100 microorganismos como agentes causales de infecciones intramamarias (Porras, 1994), estas serán principalmente producidas por especies de *Staphylococcus*, *Streptococcus* y bacterias gram negativas, donde son básicamente coliformes, tradicionalmente estos microorganismos han sido clasificados en patógenos infecciosos y ambientales; dado a que su asociación epidemiológica con la enfermedad, promueven a originar una infección oportunista, permanente o temporal, respectivamente, lo cual dependerá de su reservorio primario y el ambiente donde se encuentra el cuarto de la glándula mamaria infectada, los patógenos infectocontagiosos más relevantes están conformados por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium spp*, *Mycoplasma spp* (Radostis, 2002), la característica común entre estos microorganismos se debe a que son transmitidos de vaca a vaca, donde el reservorio principal que hospedan los patógenos es el animal infectado o el cuarto de la ubre, y los cuartos mamarios no infectados limitan el proceso del ordeño (Porras, 1994; Gasque, 2008).

Los patógenos contagiosos de la mastitis como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*, que actúan tanto a nivel individual como a nivel de la población, y donde no se realizan la desinfección de los pezones después de ordeñarla, tratamiento de la vaca seca, desecho, mantenimiento del equipo de ordeño, y terapia antibiótica de las infecciones intramamarias. Básicamente pertenecen a este grupo las enterobacterias (*Escherichia coli*, *Klebsiella Spp.*), *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, y *Enterococcus spp* (Porras, 1994; Gasque 2008)

La mastitis originada por patógenos ambientales es considerada como un problema importante ya que afecta a muchos hatos lecheros donde aplican programas de control permanente para poder erradicar a estos agentes patógenos bacterianos tales como *Streptococcus agalactiae* (Radostis 2002), ya que son capaces de generar daños económicos considerables, pudiendo prevalecer en la integridad del medio ambiente en el que se encuentran los animales porque conforman parte de este, aunque cabe resaltar que la presencia de estos en algunos casos es contrarrestada, debido a una mejoría considerable

en el manejo productivo, en algunos casos siendo efectiva pero no en su totalidad; los microorganismos en si presentan una condición muy exigua para producir enfermedad, no obstante son capaces de ingresar por el conducto galactóforo hacia la ubre y causar infecciones muy resistentes que requieren un tratamiento bastante complejo y costoso (Scarmelli *et al.*, 2006).

En cuanto a la manifestación de la afección se ubican al género *Streptococcus* y sus especies tales como tanto *agalactiae* o *dysgalactiae* las mismas que se dan a conocer en formas clínicas y subclínicas, en lo que se refiere a *Streptococcus agalactiae*, este microorganismo se encuentra ubicada en la solución de la leche e igualmente de la ubre; el contagio de este transmisor de bacterias se orienta a expandirse rápidamente en manadas libres luego de una corta exposición, el aspecto distintivo está en el daño producido a la ubres, causándoles de manera eventual y que no desencadenan cambios de mucha importancia; otros como el *Streptococcus uberis*, se detectan en la piel y superficialmente en la ubre, vejiga y vagina, siendo común que no sean contagiados de vaca a vaca, en tanto se ejecutan las tareas de ordeño; la mastitis por *Staphylococcus aureus* es difícil de llevar adelante y de manejar con un tratamiento usual y ordinario, la notoriedad de un buen manejo se logra por medio de acciones profilácticas; siendo este microbio generalmente el origen de la mastitis endémica y elementalmente subclínica, no obstante es factible que ello aparezca y genere brotes intensos o sub-intensos, ello elementalmente en el nivel posterior al parto, se instalan en los órganos dañados y es trasmisible, ello especialmente durante el procedimiento de ordeño, cuando se detecta el contagio y el proceso de medicación no resulta exitoso; por ello se sugiere que se elimine al mamífero con la enfermedad crónica; siendo necesario afirmar que mientras mayor edad posean las vacas, la medicación que se les suministre tendrá cada vez menos resultados favorables (Wolter *et al.*, 2000; Meglia *et al.*, 2001; Restrepo *et al.*, 2012; Peña, 2014; Pereyra *et al.*, 2014).

La mastitis por coliformes es originada por diversos patógenos con microorganismos, que abarcan a *Escherichia coli* como principal encargado del 90% de situaciones vinculadas a la mastitis en este conjunto, el origen más amplio de microorganismos proviene principalmente del ambiente en el que se

encuentra el mamífero, es sabido que comúnmente los coliformes no son transmisibles de animal a animal (Radostis, 2002; Gasque, 2008).

Los sucesos con mayor relevancia se originan en lugares con partes divididas debidamente asfaltada, abandonada, empapada y aglomerada, es allí que el microorganismo de mayor prevalencia es la *Escherichia coli* dado que es parte de las bacterias que se alojan en el intestino, y en consecuencia se ubica en las deposiciones constituyéndose ello en el motivo principal de las enfermedades infecciosas que provienen de aspectos producidos en la vaca, siendo las situaciones más insignificantes las que orientan a un restablecimiento en una cantidad mínima de días, los momentos más crónicos serán las más calificadas para mantenerse en el tiempo (Scamelli *et al.*, 2005; Gasque, 2008).

Entre otros agentes patógenos encontramos al *Mycoplasma bovis* (Nuñez *et al.*, 2008), el cual es causante de cuadros agudos de mastitis, generalmente son incurables con tratamiento habituales; la mejoría espontanea de los animales es la única alternativa para desaparecer la infección, la cual produce descensos agudos de la producción láctea, el sacrificio de estos animales enfermos previamente identificados resulta siendo la mejor opción; el segundo agente importante es el *Clostridium perfringens* que se manifiesta de forma fulminante, donde las secreciones son sanguinolentas y con presencia de burbujas de gas, generalmente esos animales mueren en 20 días, la tercera bacteria que se ve frecuentemente es la *Pseudomonas aeruginosa* que normalmente es de vida saprofítica tanto en tierra como en el agua y es potencialmente patógeno, la mastitis por *Pseudomonas* puede permanecer en fase latente y causar mastitis de tipo agudo, subagudo y agudo sistémico; generalmente tolera al tratamiento utilizado para combatir al *Streptococcus*; el cuarto agente patógeno es *Nocardia* eventualmente puede causar mastitis su tratamiento no es eficaz, y el sacrificio de los animales enfermos es la mejor opción para erradicar al este patógeno en casos severos puede ocurrir la ruptura del tejido afectado apareciendo ulceraciones mamarias (Wolter *et al.*, 2000; Scarmelli *et al.*, 2005; Gasque, 2008).

2.8 Epidemiología.

La infección de cada una de las glándulas mamarias sucede a través del conducto del pezón debido a dos fuentes principales de contaminación, la ubre infectada y el entorno; la contaminación de las manos de los ordeñadores; los paños de aseo y copas de aparatos de ordeño tienden a diseminar rápidamente la infección a los pezones del resto de los animales a través de la leche que procede de los cuartos mamarios infectados, los microorganismos pueden penetrar el canal del pezón por diversos medios a través de los ordeños, las bacterias se multiplican y suelen avanzar por el conducto del pezón; pueden penetrar por presión física efectuada a nivel de la punta del pezón cuando la vaca se mueve mientras se realiza el ordeño mecánico pueden impulsar hacia el conducto del pezón o desde éste hacia el interior de la cisterna del pezón, debido a los impactos que ocasionan las fluctuaciones de vacío contra el orificio del pezón, durante la administración de un antibiótico pueden ser impulsados mecánicamente a través del conducto del pezón por la introducción completa de la cánula (Bedolla, 2008)

La invasión microbiana de la glándula mamaria sucede continuamente siguiendo la vía del conducto del pezón y en primera instancia, el aumento de la inflamación después de la infección se presenta como un fenómeno natural; sin embargo la presencia de mastitis es mucho más compleja en relación con la explicación de su definición, pero resulta más conveniente explicarla en términos más exactos, donde la invasión es dada por el microorganismo que ingresa desde el exterior de la ubre hacia la leche que se localiza en el interior de la cisterna del pezón; la etapa de infección se rige por la propagación de los microorganismos ya que son capaces de invadir rápidamente el tejido mamario; y la población bacteriana tiende a diseminarse por toda la glándula, esto va a depender de que tan patógeno sea el microorganismo, por último la etapa de inflamación que es el resultado de todo lo anterior que se irá incrementando considerablemente y aumentando la cuenta leucocitaria en la leche ordeñada (Radostis, 2002; Scamelli *et al.*, 2005; Bedolla, 2008)

2.9 Patogenia

La infección de la glándula mamaria ocurre a través del conducto glandular, después de la invasión del agente infeccioso, se produce la infección y la inflamación; en la invasión los microorganismos se dirigen del exterior de la ubre al conducto glandular, la infección se debe a la proliferación exhaustiva de gérmenes que invaden el tejido mamario, originando el deterioro del tejido y con este se producirá una inflamación, donde la persistencia de esta llevará a la presentación de una mastitis clínica, que según la severidad y durabilidad, en uno o varios de los cuartos de la ubre pudiendo evidenciar fibrosis, edema inflamatorio y atrofia del tejido mamario, se puede producir un incremento difuso del tejido conectivo, en los casos severos podrá ocurrir gangrena o abscesos en el tejido glandular y la etapa final de la mastitis crónica culmina con la atrofia de la glándula (Porras, 1994; Wolter *et al.*, 2000; Bedolla, 2008).

Existen factores que predisponen a que el animal presente enfermedades, tal como se viene mencionando la mastitis, es una de las enfermedades que más aqueja a un hato lechero es por ello que se debe mencionar al estrés, que implica una inmunosupresión que se evidenciará en el recuento de células somáticas; en cuanto a factores ambientales, se podrá evidenciar que el calor en temporadas de verano implica momentos de estrés en los animales, como también mayor proliferación de los agentes patógenos en las heces calientes y proliferación de moscas que actuarán como vectores significativos para diseminar el patógeno con mayor rapidez (Gasque, 2008; Mazo, 2012); la condición corporal del individuo también efectuará un papel importante ya que en el caso de vacas con peso mayor a lo normal con condición corporal de 4 o 4.5 tendrán mayor predisposición a obstrucciones de los capilares que llevan la sangre hacia la ubre lo cual implica que las células blancas por vía sanguínea suelen llegar con dificultad a los capilares obstruidos, el factor genético forma parte también de uno de los factores predisponentes ya que los animales que no han pasado una previa selección para no estar predispuesto a cantidades idóneas de células somáticas; incrementa la posibilidad de contar con problemas en la producción lechera tales como la mastitis (Porras, 1994; Scarmelli *et al.*, 2005).

El momento de la recolección de la leche posee varios puntos importantes que suelen no estar tan presentes en operarios tales como la desinfección de estos como los utensilios, como los factores técnicos dados por la carga energética que no generan una buena succión de la leche hacia el tanque, según los periodos de reproducción en el que el individuo se encuentre, se propiciará ya sea un incremento o disminución de las células somáticas, como en caso de encontrarse en el parto, disminuirá desde el pico de producción a la mitad de la lactancia, y se incrementará constantemente al máximo en el periodo de secado (Radostis, 2002); la presencia de otras enfermedades de tipo sistémico muy a parte de inmunosuprimir al individuo, tienden a elevar las células somáticas y predisponer a infecciones vinculadas al sistema mamario, sin embargo no es muy frecuente. Otro factor, es la edad ya que teóricamente las vacas de mayor edad deben presentar niveles de células somáticas muchísimo menores que las vacas jóvenes, sin embargo se dan casos en los cuales los individuos han presentado infecciones en el sistema mamario lo cual involucra que haya un mayor cantidad de tejido cicatrizante en la ubre, así como también las terapias constantes frente a este caso, lo cual involucrará que haya mayor cantidad de células somáticas y una persistente predisposición a presentar mastitis (Wolter *et al.*, 2000; Bedolla 2008; Mazo, 2012).

Las vías de transmisión de esta enfermedad se caracterizan por estar asociadas al ambiente en donde el animal se encuentra, ya que la materia fecal está expuesta tanto en la cama, como en los lugares de mayor frecuencia, el orificio del pezón que se encuentra abierto propicia el ingreso del patógeno sin dificultad alguna (Radostis, 2002); esto se suele dar en tres momentos diferentes, durante el ordeño en casos que la ubre no se limpia adecuadamente previo a la succión de la leche abriéndose la entrada del pezón permitiendo que los patógenos de la superficie de la ubre migren con facilidad hacia el canal lactario, en caso de ordeñar un animal infectado y pasar a otro sano no haciendo la asepsia de los elementos a usar correctamente, también una de las formas convencionales de transmisión de esta enfermedad es entre ordeños ya que si no se ha usado un producto eficaz para el sellado del pezón este tendrá contacto con las heces, cama contaminada, entre otros. Existe muy pocas ocasiones donde se evidenciaron la transmisión por vía hematogena llegando hacia la ubre y

originando una infección a este nivel (Scheelhas, 1994; Bernet, 1998; Scarmelli *et al.*, 2006).

El desarrollo de la infección dependerá en sí del organismo, sin embargo por lo general se da una multiplicación muy rápida, la cual promueve una invasión significativa del tejido mamario donde el microorganismo podrá proliferar y generarse en dicha parte una población significativa, luego se diseminará por toda la glándula mamaria, dependiendo del grado de patogenicidad del microorganismo; esto también determinará la capacidad de multiplicarse en la leche y adherirse al epitelio mamario, la capacidad de adherencia del microorganismo dependerá básicamente de la virulencia que este posea; el periodo de secado por lo general permite que haya una etapa más eficiente para la infección ya que el flujo de leche será nulo; así mismo se acepta que la susceptibilidad del individuo es mucho más mayor cuando se promueve a un tiempo prolongado de secado del animal (Bedolla, 2008; Restrepo *et al.*, 2012; Pereyra *et al.*, 2014).

Las consecuencias más importantes al tener un hato de animales con este enfermedad serán principalmente en una disminución considerable en la producción láctea, lo cual afectará notablemente a la demanda de leche que del hato, se evidenciará una menor productividad al tener que prescindir de animales por falta de curación y escaso rendimiento productivo, muy aparte de los gastos de la terapia para controlar la enfermedad; habrá también descarte de leche ya que está no deberá ser utilizada de ninguna manera ya que la presencia de los agentes patógenos seguirá siendo importante y no deba suministrarse a otros animales, el pago no solo en medicamentos sino también en honorarios a veterinarios serán significativos (Saran *et al.*, 2000; Halasa *et al.*, 2007)

2.10. Signos clínicos

La mastitis clínica se caracteriza por presentar inflamación, rubor, calor, y dolor, como consecuencia la pérdida parcial de la función de la glándula mamaria o los cuartos, donde la leche tendrá características físicas totalmente distintas a lo normal, donde se verán coágulos o grumos, el color se tornará de color amarillo o rojizo ya sea por la presencia de sangre o pus; en casos de mayor implicación

habrá incremento de la temperatura corporal y pulso, pérdida de apetito, decaimiento, disminución en la productividad. En comparación a la mastitis subclínica donde no existen signos clínicos en la ubre y apariencia normal de la leche, sin embargo el conteo de células somáticas se encuentra incrementado (Philpot y Nickerson 2000; Radostits *et al.*, 2001).

2.11. Clasificación de la Mastitis.

2.11.1. Mastitis aguda.

Puede ser resultado de un ataque súbito o proceder de la exacerbación de la enfermedad, se puede presentar en cualquier circunstancia, a pesar de ello, la mastitis suele ocurrir después del parto además puede ser consecuencia de la invasión bacteriana producto de las heridas ocasionadas en la ubre; esta suele deberse a la inoculación de bacterias por medio de las cánulas durante el tratamiento, o por infecciones sistémicas; la mastitis aguda se manifiesta por su aparición inesperada y por los cambios físicos notorios en la leche tales como hojuelas, grumos, entre otros; la secreción de leche disminuye y suele tener un aspecto de suero sanguíneo, la inflamación de la glándula varía de un edema leve a una inflamación compacta, caliente y dolorosa que implica uno a más cuartos; normalmente se verán los signos de anorexia, depresión y fiebre; en casos severos de toxemias el animal puede observar paraplejía semejante a la observada en el síndrome de la vaca caída (Bedolla, 2008; Gasque, 2008; Calderón *et al.*, 2011).

Así también se puede presentar una mastitis aguda gangrenosa, donde el cuarto dañado está básicamente caliente, enrojecido e inflamado; la secreción de leche termina y solo una reducida porción de fluido decolorado aparece en la glándula; en poco tiempo el contenido de la glándula se vuelve acuoso sanguinolento y luego de un corto tiempo puede observarse una zona azulada bien delimitada que comprometen la ubre y parte de la glándula; también se presentará un exudado sanguinolento el cual emana incesantemente de los tejidos necrosados; los signos locales son acompañados de fiebre, anorexia, depresión y deshidratación; los casos más graves, la vaca manifiesta signos de toxemia y ocasionalmente se produce la muerte; es por ello que se considera su aparición

después del parto, en este tipo de mastitis suele ser confundido con fiebre de la leche, por lo que es necesario realizar un examen clínico meticuloso (Ponce de León, 2010).

2.11.2. Mastitis crónica

Cuando se desconoce el historial clínico, no existe una diferencia específica entre mastitis aguda y crónica; los inicios agudos, normalmente sobrevienen a casos crónicos, y la mastitis aguda tiende a perdurar lo suficiente para transformarse en crónica (Martínez, 2006); esta generalmente puede ir seguida de un endurecimiento de la glándula y así mismo de la cisterna, originándose un edema tisular, sin embargo lo más típico es la constante o el irregular aspecto de leche acuosa tipo residual y hojuelas, grumos, tolondrones, coágulos y fibriones en los primeros chorros de leche; en caso de la mastitis crónica por *Streptococcus agalactiae* el tejido cicatrizal en la cisterna es típico (Radostis, 2002; Martínez, 2006; Gasque, 2008).

La presentación de tumor, rubor, calor, dolor serán los signos más característicos para definir el cuadro de la enfermedad básicamente, teniendo como consecuencia la pérdida parcial de la función de la glándula mamaria o los cuartos, donde la leche tendrá características físicas totalmente distintas a lo normal, donde se verán coágulos o grumos y el color se tornará amarillo o rojizo ya sea por la presencia de sangre o pus; en casos de mayor implicación habrá incremento de la temperatura corporal y pulso, pérdida de apetito, decaimiento, disminución en la productividad. En comparación a la mastitis subclínica donde no existen signos clínicos en la ubre y apariencia normal de la leche sin embargo el conteo de células somáticas se encuentra incrementado (Philpot y Nickerson 2000; Radostits *et al.*, 2001).

2.12 Diagnóstico

Las situaciones de mastitis clínicas poseen una diagnosis simple de dictaminar, y ello es consecuencia de las transformaciones que se originan en el órgano mamario y su secreción, no obstante que el diagnóstico del origen se obtiene sólo por medio de un cultivo microbiológico de la secreción; para el diagnóstico de este suceso clínico se requiere con el fin de confirmar la presencia de un proceso con inflamación; que como en sucesos anteriormente descritos, el origen de ello es aceptada su presencia por medio del cultivo microbiológico de la misma manera que su trascendencia permitirá definir la aparición de este agente patógeno que como los demás, pueden causar esta enfermedad (Wolter *et al.*, 2000; Bedolla, 2008)

2.12.1 Pruebas para el diagnóstico de mastitis.

La inflamación de la glándula mamaria implica secuencia de cambios en la composición de la leche, que son utilizados como base para las diferentes pruebas de diagnóstico que se han desarrollado (Bedolla, 2008). Una de las modificaciones más prematuras es el incremento en el número de las células somáticas que habitualmente es menor a 200.000 células/ml, mientras que en el proceso inflamatorio estas células superan los 500.000 células/ml. Este aumento es la base de una serie de métodos de diagnósticos por medio del cual halla el Recuento de las Células Somáticas, la prueba para mastitis de California (CMT, con sus siglas en inglés) y la prueba para mastitis de Wisconsin (WMT, con sus siglas en inglés), esta es una prueba de campo económica, sencilla y rápida, que revela con excelente efectividad y especificidad el estado de salud de la ubre, a partir de una evaluación abultada del contenido de células somáticas (Bedolla, 2008; Trujillo *et al.*, 2011). Se fundamenta en la gelificación que produce cuando el ADN es liberado de las células somáticas presentes en la leche por la actividad de un desinfectante aniónico como el alkyl-aril-sulfonato de sodio; en consecuencia a mayor contenido celular en la leche, mayor es la gelificación; esta prueba ha sido valorada y considerablemente recomendada como un mecanismo beneficioso en los programas de control y supervisión de mastitis, principalmente cuando se aplica y registra cada mes. Su desventaja primordial es la subjetividad implícita en la interpretación de los resultados (Concha, 2009).

El Recuento de Células Somáticas (RCS) es el procedimiento aprobado para el diagnóstico de mastitis a nivel de cuartos y animales, así como para la supervisión de la disposición de la mastitis en las fincas y es uno de los principales parámetros para determinar la calidad de la leche obtenida (Bedolla, 2008). Propone una serie de ventajas sobre los procedimientos anteriores, como: el procedimiento puede mecanizarse, puede emplearse sobre muestras conservadas y son mucho más exactos, objetivos y reiterativo; las principales desventajas son el elevado costo de los equipos, la obligación de realizar revisiones técnicas constantes y la demanda de personal capacitado, lo que exige la centralización de los servicios, como resultado, otra desventaja tiene que ver con la obtención de los resultados de forma inmediata; el recuento de células somáticas en leche de cuartos o de ubres, se ha empleado para averiguar de modo rápido y práctico el estado de salud del cuarto o ubre y para supervisar los avances obtenidos en los programas de control de mastitis; el valor límite de RCS que se estima como normal para cuartos de ubres 200.000 cél./ml, entretanto el valor límite de leche compuesta de ubre es de 300.000 cél./ml, aunque la Comunidad Europea estima disminuir el límite a 250.000 cél./ml. El RCS en leche de tanque ha sido universalmente reconocido como un buen estimador del estado de salud de las ubres del rebaño y un magnífico indicador de la calidad y, en ocasión, de la garantía de la leche obtenida. Asimismo, el RCS previamente modificado al marcador o “score” lineal mantiene una relación coherente con los perjuicios a consecuencia de la leche no producida y es usado ampliamente para evaluar dichas pérdidas (Wolter *et al.*, 2000; Gasque, 2008; Bedolla, 2008; Concha 2009)

En condiciones de campo, la mayoría de animales afectados con mastitis pasan desapercibidos en la evaluación clínica, pero podrían ser diagnosticados mediante pruebas de laboratorio y de campo como el California Mastitis Test (CMT). Este es un método muy usado, dada su utilidad práctica, bajo costo y rápido resultado *et al.*, 2006). Los valores del CMT están asociados con el número resultante del recuento de células somáticas (RCS) en la leche de bovino con cuartos mamarios afectados. En el caso de mastitis subclínicas, las células somáticas (CS) migran de la sangre hacia la leche como resultado de la infección, aumentando con la severidad del proceso (Gómez *et al.*, 2015)

Al comenzar un programa de control de mastitis, es válido realizar un cultivo y recuento de patógenos específicos en la leche del tanque, prueba que resulta mucho más económica y permite alcanzar una evaluación racionalmente justa sobre la calidad bacteriológica de la leche producida, el total de animales infectados con patógenos contagiosos como *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus* que son los que se encuentran con mayor frecuencia en esta enfermedad (Peña y Uffo, 2010); el nivel de contaminación bacteriana de la leche y el grado de exposición de las vacas durante el ordeño, la posibilidad que el recuento de células presentes en la leche del tanque se encuentre incrementado; asimismo en fincas donde han logrado la erradicación de los patógenos contagiosos, el cultivo de la leche del tanque determina un método de vigilancia seguro (Gasque, 2008).

Las grandes empresas lácteas en la mayoría de países del mundo, incluyendo Latinoamérica, basándose en los estatutos privados, han constituido programas de pagos de incentivos y penalizaciones, fundamentados en el promedio mensual del RCS; los diversos factores que alteran el contenido de células en leche de tanque resulta complicado fijar un límite universal. En los estados Unidos de Norteamérica el límite es 750.000 cél./ml, en Canadá es de 500.000 cél./ml. y en los países de la Comunidad Europea y Nueva Zelanda, el límite es de 400.000 cél./ml. esos niveles de calidad de leche se ha logrado después de muchos años. Lo conveniente sería que cada país disponga su propio límite, elegido en base a su disposición particular, teniendo en cuenta los aspectos de salud pública implicados; en Venezuela, se ha recomendado un recuento de 1.500.000 cél./ml de leche para comenzar la campaña de control de mastitis y producción de leche de calidad (Scarmelli *et al.*, 2005; Bedolla, 2008, Ravelli *et al.*, 2004)

Durante la inflamación se originan ciertos cambios en la leche como son la aparición de albumina sérica bovina, el aumento en la concentración sodio y cloruros, el incremento en la conductividad eléctrica, la reducción en el contenido de lactosa y potasio y la aparición o incremento en la concentración de una serie de proteínas séricas y enzimas (Martínez, 2006; Gasque, 2008; Ponce de León, 2010).

2.12.2 Cultivo Microbiológico.

Es la única prueba que puede identificar a los agentes causales presentes en los cuartos y animales infectados; esta información permite plantear o rectificar programas de control, reconocer los factores predisponentes, fijar la dinámica epidemiológica en la finca, determinar la efectividad de las medidas de control y encaminar la práctica terapéutica (Ponce de León, 2010). Las desventajas más importantes del cultivo son su laboriosidad, tiempo que se pierde, demanda de personal calificado y alto costo. Las muestras de leche de cuartos individuales o muestras compuestas de los cuatro cuartos, pueden conseguirse en cualquier instante, pero se aconseja realizarlo rápidamente antes o después del ordeño. Se deben tomar muestra del mayor número posible de cuartos mamarios y animales que resulten positivos (superior a 2 ó 3 +) a determinada prueba indirecta como el CMT, todos los casos clínicos deben ser cultivados cuidadosamente (Mateus, 1983; Meglia *et al.*, 2001; Scarmelli *et al.*, 2005; Cerón *et al.*, 2007; Ponce de León, 2010).

La recolección de muestras de leche de tanque para cultivos de patógenos específicos, donde es recomendable que la leche del tanque esté bien mezclada previa a su obtención. La acumulación de evidencias de leche utilizada concreta cultivos de patógeno, en la cual es debidamente sugerido que la leche del tanque esté debidamente muy bien combinada y amalgamada antes de que esta se consiga, es recomendable encontrar evidencias lo más pronto posible luego de ejecutar el proceso de ordeño, dado que el desplazamiento en tanto este entra en proceso de enfriarse y origina una correcta combinación de leche, lo que cual derivara en conseguir modelos más concretos; por ello es deseable la no obtención de muestras desde el tanque, dado que en este espacio se mantienen mejor mantenidos residuos de leche que no ha sido mezclada y con un calor no sugerido para dicho fin, dado que es de requerimiento el encontrar la expansión de microbios; en dicho suceso es casi imposible que se deje fluir galones de leche por medio de la llave precedente a conseguir la muestra; los envases para encontrar las muestras deberán de estar siempre desinfectados, con un cierre absolutamente impenetrable, y considerando optar por poseer las muestras en permanente refrigeración y con una temperatura promedio de 4 grados para un

óptimo traslado al laboratorio (Mateus, 1983; Gasque, 2008; Ponce de León, 2010)

La prueba de Wisconsin se fundamenta en el principio de la prueba de California, aunque es más pausada y elaborada, ya que se basa en la cantidad de drenado de una mezcla de leche y reactivo en un periodo dado, empleando tubos de ensayo equipados con un tapón equilibrado, cuando la viscosidad de la leche es mínima como en casos leves, más rápido es drenado; por el contrario, ante una mayor viscosidad y, por tanto, menor cantidad de mezcla drenada, se interpreta como mayor gravedad; se emplea una tabla para comparar el drenado con su equivalente (Bradley, 2002; Gasque, 2008)

2.12.3 Toma de Muestra

Para un adecuado procesamiento, se recomienda utilizar tubos esterilizados con tapa rosca de cierre hermético, para realizar la recolección se debe mantener la inocuidad del operario de la mejor forma posible es por ello que este deberá lavarse las manos con agua y jabón, ponerse guantes para luego limpiar los pezones con soluciones antisépticas, luego de ello secar los pezones con toallas individuales y desechar uno o dos primeros chorros de leche de cada cuarto de ubre. Es necesario que se empapen los pezones dentro de una combinación germicida en 30 segundos, desecar cada pezón con secadores que sean utilizados de manera individual, limpiando los lados extremos y la abertura del pezón, por medio de un proceso de suma atención y frotamiento con una partícula compuesta por algodón mojado en alcohol de 70% ; es absolutamente sugerente la utilización de un paño por cada pezón, posteriormente a ello proceder al secado del pezón a temperatura ambiental y considerar no manosearlo en el instante que se proceda a purificar y considerar a obtener una muestra, se sugiere comenzar con los ambientes más lejanos y consecuentemente a ello con los más cercanos, extraer la tapa al tubo estéril bajo la ubre, optando por conservarlo muy adecuadamente ladeado para de esta manera se evite el ingreso de residuos no comunes y se proceda a recopilar de manera ágil, un par de chorros de leche, luego desarrollar una presión bastante baja, debiendo tener una cantidad máxima de 2/3 del total de su contenido, para de esta forma se logre que la abertura del tubo tenga una fricción con el pezón,

en cuanto a la cosecha de la muestra deberá considerar iniciar por los más cercanos y posteriormente por los más alejados; considerando cubrir de manera efectiva el tubo, antes de ser transportado y dado ello, la muestra sea posteriormente refrigerada a 4 grados bajo refrigeración en 36 horas como tope, no obstante ello, cuando la muestra no sea considerada a entrar en proceso, se sugiere que esta sea refrigerada a una temperatura de -20° C (Ponce de León, 2010; Hagevoort *et al.*, 2011)

2.13 Tratamiento

A pesar que la previsión de la mastitis es de mucha trascendencia para la medicación, la mayoría de los sucesos vinculados a la mastitis clínica que se originan en los ganados deben ser intervenidos rápidamente como consecuencia de su elevado riesgo. Es por ello que se sugiere un tratamiento quiropráctico para los sucesos de mastitis sean estas agudas o sobreagudas, e igualmente con la aparición de nuevos sucesos endémicos (Gasque, 2008; Concha, 2009).

Es importante comentar que para que una medicación se torne exitosa, se deberá de tener en cuenta las siguientes pautas: escoger el remedio correcto para el tratamiento de la mastitis, basándose en las conclusiones que arrojan las pruebas, una adecuada dosis de medicación a brindar, optando por evitar se eluda la continuidad del suministro de medicación hasta que se consiga su absoluto restablecimiento, la terapia igualmente será un aspecto determinante; no obstante ello el proceso normal en que consiste el tratamiento de la mastitis por medio de la disolución entre las mamas de una medicación en concreto, previamente habiendo considerado el aligeramiento o avenamiento y en cuanto al tratamiento de las mamas tiene como origen la repartición no adecuada y correcta de la medicación en el parénquima glandular, y como consecuencia una fuerte inflamación, lo que no permite que las cavidades mamarias tengan la debida fluidez, sea esto debido por comprensión, coágulos, o según se dé el caso de cómo se origine la afección (Scarmelli *et al.*, 2005; Martinez, 2006).

2.14. Tratamiento de mastitis

La implementación de la utilización elemental de medicamentos que combatan la mastitis puede darse con múltiples alternativas, la Bencilpenicilina G es considerado como muy eficiente y efectivo para contrarrestar los *Streptococcus* los mismos que no han llegado a tener la resistencia contra la penicilina G, en asociación con la estreptomomicina, pues posee un sinérgico incremento de actividad contra *Staphylococcus*; también Cloxacilina que es un medicamento semisintético, y que posee la disposición de quedar fuera de actividad por la enzima lactamasa, originado por los *Staphylococcus* penicilino no vulnerables a la Ampicilina (Calderón *et al.*, 2011; Cota *et al.*, 2014); la Penicilina semisintética es eficiente contra microbios grampositivos y gramnegativos, aun así, es ineficiente contra *Staphylococcus* sólidas ante la penicilina; e igualmente ante la Cefalosporina, la misma que se refiere al conjunto de penicilinas semisintéticas y es eficiente contra los microbios grampositivos y gramnegativos siendo su accionar muy parecido a la penicilina (Radostis, 2002; Calvino *et al.*, 2003; Gasque 2008).

En investigaciones realizadas previamente se pudo identificar que la multi resistencia bacteriana estará más vinculada a la mayor posibilidad para transferir genes de resistencia entre los patógenos vinculados, no sólo en bacterias de un solo género sino de varias familias, así como también la posible transferencia horizontal de bacterias persistentes de hombres a animales y viceversa (Heisig *et al.*, 1995; Molbak *et al.*, 1999).

2.15 Control y Prevención

El manejo y cuidado de la mastitis contempla el uso de un plan total que posea consideraciones limpias, y cuyo propósito es el de reducir significativamente el

requerimiento de recurrencia a la medicación quimio-terapéutico, usualmente muy costosa; un programa completo, se refiere considerar las óptimas situaciones de aseo en ambientes (Ruiz *et al.*, 2011; Voigt *et al.*, 2013; Martínez *et al.*, 2014); la limpieza individual de los operarios deberá de darse con continuidad especialmente en las manos y en consecuencia la salud, considerando para ello tener en cuenta la buena práctica de ordeña, que incorpore el aseo y limpieza de la ubre y pezón, al igual que el secado y sellado de estos con una mezcla que los desinfecte al concluir cada proceso de ordeñamiento, para el cual se deberá de tener en cuenta el correcto uso de las herramientas que nos ayuden a este procedimiento, poniendo en marcha la implementación de evidencias para la localización de la mastitis sea esta clínica o sub clínica como por ejemplo la prueba de California o de Wisconsin, es de mucha consideración una muestra frecuente de leche durante los sucesos clínicos para la implementación de una medicación microbiológica, considerando optar por una medicación de todas las vacas en el momento del secado para la reducción del suceso en el siguiente ordeño, por ello se considerará tener en cuenta el cambiar cada cierto tiempo las pezoneras; por ello se sugiere proceder a ordeñar las vacas agrupándolas a la etapa de lactación, con el propósito de que se evite las contaminaciones del mamífero adulto y la exclusión de sucesos endémicos y transmisibles (Gasque, 2008; Castillo *et al.*, 2009).

2.15.1 Sellado

Para menguar la cantidad de recientes sucesos de mastitis, los factores más trascendentes en el proceso de ordeño es el manejo de los pezones posterior al ordeño, la finalidad del uso de selladores para los pezones es el excluir el resto de gotas que aún están en el pezón para de esa forma desechar la transmisión de bacterias de mastitis por medio de vectores insectos tales como las moscas de una vaca a otra (Mateus, 1983; Radostis, 2002).

La mayoría de los microorganismos que originan mastitis, en cantidades significativamente menores son aquellos que principalmente son incapaces de causar daño al ser humano, o por el contrario son parte del ambiente en cual viven las personas. Es por ello, de la trascendencia en el manejo de la mastitis es elementalmente por el aspecto económico; debiendo considerar para ello que

el buen manejo de la mastitis no tiene costo alguno, sino que al contrario origina ingresos económicos (Castillo *et al.*, 2009; Ponce de león, 2010; Hagevoort *et al.*, 2011).

2.15.2 Control de moscas

Los insectos dípteros tales como las moscas son los más importantes portadores de microorganismos que originan la mastitis y es por ello importante el control adecuado de estos vectores, sea esto por medio de la limpieza de los corrales y el buen manejo en el control de las moscas adultas, lo más importante de todo esto se encuentra en el buen manejo de los estadios larvarios de estos parásitos por medio de un adecuado y correcto manejo del estiércol, a través de larvicidas aplicados, como: pentaclorofenato de sodio, clormetiuron, ciromazina y otros diversos (Andersen, 2001)

2.15.3 Vacunación contra Mastitis

Desde hace ya muchos años atrás se implementó el uso de un toxoide a base de *Staphylococcus aureus* a manera de evitar la mastitis en las vacas originadas por este patógeno, lamentablemente no se obtuvo buenos resultados, anteriormente solamente la vacuna que ha logrado imponerse exitosamente fue la J-5, la misma que se basa en la transformación de *Escherichia coli* en el manejo de mastitis aguda originada por los coliformes (*E. coli*, *Klebsiela*, *Enterobacter* y *Serratia*), con 70 u 80% de reducción en los sucesos clínicos, continuando un plan de 3 vacunaciones de dos mes y 1 mes con antelación al parto y al momento en que este se produce, la transformación J-5 posee determinados carbohidratos que acostumbran a originar sucesos específicos despreciables en los mamíferos que han recibido la vacuna (Andersen, 2001; Chaves, 2004).

Una bacterina (Endovac-bovi) que se utiliza en la transformación de *Salmonella Typhimurium*, liberada de carbohidratos, origina anticuerpos que otorgan cuidado contra *S. typhimurium*, *Pasteurella spp.* y *E. coli*, e igualmente como antígeno opsonizantes que incitan la fagocitosis, usadas en la lucha contra la mastitis por coliformes, es debidamente impulsada por un adyuvante; no obstante ello en las últimas décadas se pudo saber que el *Staphylococcus aureus* al transmitir gérmenes, implementaba creaba una pseudocapsula o micro capsula sobre la

base de exopolisacáridos el mismo que no permitía la fagocitosis, esta pseudocapsula no se crea en los cultivos in vitro; y se han implementado procedimientos que contribuyan a aumentar una solución inmunogénica de los exopolisacáridos, los cuales siendo débiles, igualmente cuidan a los microorganismos en cuanto a la protección de la ubre, y en base al desarrollo e implementación de las más modernas formas de vacunar en la lucha contra la mastitis por *Staphylococcus aureus*, que resultan en la opsonización y la fagocitosis de los microorganismos, no obstante ello aún se encuentra determinada la ubicación de los serotipos capsulares para la elaboración de vacunas con mejores resultados, en este tipo de vacunas se considera tomar importancia a la función de los adyuvantes liposomales, conformados por colesterol y fosfolípidos que contribuyen a la fagocitosis; en Canadá se está implementando el desarrollo de una vacuna contra *Streptococcus agalactiae*, de la cual se tiene fe en el logro de resultados muy favorables (Andersen, 2001; Bradley, 2002; Bradley, 2002).

2.16 Mecanismos de adquisición a Resistencia antibiótica

La resistencia antibiótica es considerada como un fenómeno progresivo caracterizado por una defensa parcial o completa de los microorganismos al efecto del antibiótico; el origen de esta se deberá principalmente al uso indiscriminado e irracional de los antibióticos, así como la implementación de dosis incorrectas o aplicaciones con una duración inapropiada en las terapias; se puede presentar de tres formas; individual, donde habrá una interacción molecular de la célula bacteriana con el material metabólico y genético del antibiótico específico, el cual no siempre estará vinculado a un gen capaz de codificar un mecanismo de resistencia particularmente que por lo general se encuentra en el cromosoma de la bacteria; junto a la poblacional, que estará caracterizado por el comportamiento in vitro de bacterias en evaluación con una concentración determinada de antibiótico en un tiempo establecido, obteniendo la caracterización de un perfil antibacteriano siendo muy importante para la orientación de la terapia médica; y la resistencia poblacional en microorganismos donde la eficacia terapéutica, lugar de origen de la infección, propiedades farmacocinéticas del antibiótico, estado inmunológico del individuo a tratar, entre otros (Bastos *et al.*, 2011; Cota, 2014); donde se debe tener en cuenta así mismo

que habrá un efecto también contra la flora normal por ello se debe tener en consideración las dosis precisas de los medicamentos a utilizar en la terapia establecida para la erradicación de la infección bacteriana (Bedolla, 2008). Los mecanismos de resistencia a antibióticos estará precedido por las barreras de permeabilidad las cuales comprenden la estructura de membrana externa, porinas siendo canales inespecíficos excluyentes del antibiótico por el tamaño molecular, y características físico-químicas del antimicrobiano; se dan dos mecanismos de respuesta que está comprendida por la entrada disminuida debido a la permeabilidad de la membrana interna y externa en los microorganismos, y el flujo activo por la presencia de proteínas de membrana especializadas; otro mecanismo es la alteración del sitio blanco del antibiótico, donde se modifican algunos sitios de la anatomía celular, como la pared celular y subunidades ribosomales; y por último la inactivación del antibióticos la cual se da por la producción de enzimas capaces de hidrolizar al antibiótico tales como B-lactamasas (Daza, 1998; Murray, 2000)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización y ambiente

El muestreo se realizó en cuatro establos de crianza intensiva del distrito de Lurín, colectando las muestras en enero del año 2015, teniendo en consideración los criterios de inclusión diagnóstico por ubre y cambios característicos físicos en la leche. El estudio es de tipo transversal, descriptivo y prospectivo.

El procesamiento de las muestras, aislamiento e identificación de bacterias patógenas se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Científica del Sur.

3.2 Población y Muestra

El muestreo se realizó en cuatro establos de crianza intensiva con alimentación basada en concentrado y forraje (chala), agua y suplementos tanto vitamínicos como minerales; presentando corrales con un área aproximada de 30 m² por vaca; con dos ordeños mecánicos al día, utilizando el 100% de los cuartos afectados con mastitis clínica evidenciados por cambios físicos evidentes, resultando 139 muestras de leche, utilizado como criterio de inclusión para las muestras incluidas en el presente estudio.

3.3 Metodología Diagnóstica

Toma de muestras

El muestreo se realizó en horas de la mañana previa coordinación con el ganadero en horario de ordeño, se tuvo en cuenta los criterios de inclusión como examen físico de la ubre donde se evidenció inflamación, caracterizado por dolor, rubor, calor, y tumor; así como también cambios físicos en la leche. Se realizó la limpieza del pezón con alcohol isopropílico, descartando los primeros cuatro chorros de leche para poder tomar el quinto chorro en frascos estériles, lo cuales se rotularon con datos de procedencia, número de vaca y cuarto afectado; poniendo las muestras en un cooler como medio de transporte, el cual permitió mantener la temperatura a 4°C aproximadamente, hasta llegar al laboratorio y procesar las muestras.

Aislamiento bacteriano

Cada muestra tomada fue sembrada en dos diferentes agares de cultivo. El agar sangre y McConkey, el cultivo se dio por 24 horas a 37°C donde se evidenció el crecimiento de bacterias tipo mesófilas (Concha, 2008).

Para luego proceder a las técnicas de coloración de apoyo (tinción Gram) y las pruebas bioquímicas que nos permitieron llegar al diagnóstico definitivo de la bacteria (Bou *et al.*, 2011).

Determinación de Resistencia Antibiótica - Kirby Bauer

La cepa bacteriana fue transferida a un tubo de 5ml con caldo de tripticasa de soya, luego se incubó este caldo a una temperatura aproximada de 37°C hasta que alcanzó el nivel estándar de turbidez 0,5 en la escala de Mc Farland (Florentín, 2007).

Cinco minutos después, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión. Se inoculó sobre la superficie seca de la placa de agar Muller Hinton, el cual se preparó en una solución óptima sin afectar el pH del mismo; se procedió a inocular con el hisopo en tres direcciones diferentes para así asegurar una distribución uniforme del inóculo; se dejó la placa a temperatura ambiente durante 5 minutos, e inocularon los discos de antibióticos con una pinza estéril, para continuar con la incubación durante 24 horas a 37°C; y la lectura de las zonas de inhibición variaron según el antibacteriano contenido en los discos (Velásquez *et al.*, 2002).

Se determinó los valores categóricos sensibles, intermedios y resistentes de las cepas frente a los antibióticos: Penicilina, Gentamicina, Cefalotina, Enrofloxacin, Amikacina, Estreptomycin, Tetraciclina y Cefalexina.

IV. RESULTADOS

Se determinó en porcentaje la mayor frecuencia de *Staphylococcus aureus* con $(24.84 \pm 6.76)\%$; seguidas de *Streptococcus agalactiae* $(15.92 \pm 5.72) \%$; *Enterobacter aerogenes* $(6.37 \pm 3.82) \%$; se debe considerar que la presencia de las levaduras ha sido en un segundo lugar la más prevalente considerándolas de importancia ya que se presentó en $(21.02 \pm 6.37) \%$ (tabla 1).

Tabla 1. Frecuencia de presentación de agentes patógenos aisladas de leche con mastitis clínica bovina (n=157)

Agente Bacteriano	n	Porcentaje	P \pm IC 95%	
			Valor Mínimo	Valor Máximo
<i>Staphylococcus aureus</i>	39	24,84	18,08	31,6
<i>Streptococcus agalactiae</i>	25	15,92	10,2	21,64
<i>Enterobacter aerogenes</i>	10	6,37	2,55	10,19
<i>Enterobacter cloacae</i>	6	3,82	0,82	6,82
<i>Bacillus Sp</i>	5	3,18	0,43	5,93
<i>Bacillus Subtilis</i>	5	3,18	0,43	5,93
<i>Citrobacter freundii</i>	5	3,18	0,43	5,93
<i>Bacilo G- no fermentador</i>	4	2,55	0	5,01
<i>Shigella Sp</i>	3	1,91	0	4,05
<i>Klebsiella Sp</i>	3	1,91	0	4,05
<i>Staphylococcus Sp</i>	3	1,91	0	4,05
<i>Escherichia coli</i>	3	1,91	0	4,05
<i>Streptococcus faecalis</i>	3	1,91	0	4,05
<i>Serratia marcescens</i>	1	0,64	0	1,88
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	1	0,64	0	1,88
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0,64	0	1,88
<i>Salmonella spp</i>	1	0,64	0	1,88
<i>Proteus mirabilis</i>	1	0,64	0	1,88
<i>Providencia alcalifaciens</i>	1	0,64	0	1,88
<i>Serratia liquefaciens</i>	1	0,64	0	1,88
Total de bacterias	121	77,07		
Levadura	33	21,02	14,65	27,39
Negativo a bacterias	3	1,91	0	4,05
Total	157	100		

Tabla 2. Porcentaje de agentes patógenos aislados de mastitis clínica bovina por establo evaluado

Agente Bacteriano	Establo 1		Establo 2		Establo 3		Establo 4	
	n	% ± IC (95%)	n	% ± IC (95%)	n	% ± IC (95%)	n	% ± IC (95%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	34.78 ± 19.46	2	20 ± 24.79	28	30.11 ± 9.32	1	3.23 ± 6.22
<i>Bacillus Spp</i>	5	21.74 ± 16.86	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	4.35 ± 8.33	8	80 ± 24.79	14	15.05 ± 7.27	2	6.45 ± 8.65
<i>Bacillus Subtilis</i>	0	0	0	0	5	5.38 ± 4.58	0	0
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	3	3.23 ± 3.59	0	0
<i>Streptococcus faecalis</i>	0	0	0	0	3	3.23 ± 3.59	0	0
<i>Klebsiella Sp</i>	0	0	0	0	3	3.23 ± 3.59	0	0
<i>Bacilo G- no fermentador</i>	0	0	0	0	3	3.23 ± 3.59	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	0	0	2	2.15 ± 2.95	4	12.90 ± 11.8
<i>Shigella Sp</i>	0	0	0	0	2	2.15 ± 2.95	1	3.23 ± 6.22
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	4.35 ± 8.33	0	0	2	2.14 ± 2.95	8	25.81 ± 15.4
<i>Staphylococcus Sp</i>	0	0	0	0	1	1.08 ± 2.1	2	6.45 ± 8.65
<i>Pseudomona auriginosa</i>	0	0	0	0	1	1.08 ± 2.1	0	0
<i>Proteus vulgaris</i>	0	0	0	0	1	1.08 ± 2.1	0	0
<i>Salmonella sp</i>	0	0	0	0	1	1.08 ± 2.1	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	0	0	0	0	4	12.9 ± 11.8
<i>Proteus mirabilis</i>	0	0	0	0	0	0	1	3.23 ± 6.22
<i>Providencia alcalifaciens</i>	0	0	0	0	0	0	1	3.23 ± 6.22
<i>Serratia marcescens</i>	1	4.35 ± 8.33	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia liquefaciens</i>	0	0	0	0	0	0	1	3.23 ± 6.22
Total de bacterias	16		10		69		25	
Levadura	4	17.39 ± 15.49	0	0	24	25.81 ± 8.89	6	19.35 ± 13.91
Negativo a bacterias	3	13.04 ± 13.76	0	0	0	0	0	0
Total	23		10		93		31	

En la evaluación se pudo determinar que el establo 3, es el más afectado por la mastitis clínica 93/157 (tabla 2); en el establo 1, se encontró la presencia de *Staphylococcus aureus* (34.78 ± 19.46)%, *Bacillus Spp* (21.74 ± 16.86)%; y la presencia de levaduras (17.39 ± 15.49)%; en el caso del establo 2 hubo mayor proporción la presencia de *Streptococcus agalactiae* (80 ± 24.79)%, *Staphylococcus aureus* (20 ± 24.79)%; en el establo 3 se mostró la presencia de *Staphylococcus aureus* (30.11 ± 9.32)%, *Streptococcus agalactiae* (15.05 ± 7.27), considerando la presencia de levaduras (25.81 ± 8.89)%; por ultimo en el caso del establo 4 a

comparación de los demás establos esta principalmente afectado por *Enterobacter aerogenes* (25.81 ± 15.4)%, al igual que de *Citrobacter freundii* (12.9 ± 11.8)%; se debe tomar en cuenta también la presencia de las levaduras (19.35 ± 13.91)%(tabla 2).

Las pruebas de antibiograma a las cepas bacterianas más importantes dieron como resultado que el establo tres presento mayor resistencia antibiótica. En dicho establo las cepas de *Staphylococcus aureus* demostraron resistencia a Penicilina (65.625 ± 16.46) % y susceptibilidad a Amikacina (56.25 ± 17.19) %; Gentamicina (56.25 ± 17.19) %, Estreptomina (53.125 ± 17.29) %; y Cefalotina (52.125 ± 17.29) % (tabla 3). Por otro lado el perfil antibacteriano para *Streptococcus agalactiae* demostró una mayor resistencia a Cefalexina (56 ± 19.46) %, Penicilina (56 ± 19.46) %, seguida por Cefalotina (52 ± 19.58) %; mientras que hubo sensibilidad a Amikacina (56 ± 19.46) %, y Estreptomina (56 ± 19.46) % (tabla 4).

Se analizaron los resultados mediante la prueba de chi cuadrado ($p < 0.05$), midiendo la asociación entre resistencia antibiótica y el diagnostico bacteriano de las muestras aisladas de mastitis clínica bovina pertenecientes a los cuatro establos evaluados. En el análisis de *Staphylococcus aureus* se estimó un $p < 0.05$ para Penicilina, Amikacina, Estreptomina y Gentamicina; lo cual indica que existe una asociación estadística significativa entre la presencia de resistencia a estos antibióticos y el establo evaluado, sin embargo no se encontró una asociación estadística significativa ($p > 0.05$) entre la presencia de sensibilidad a Cefalotina, Tetraciclina, Cefalexina, y Enrofloxacina de *Staphylococcus aureus* y el establo evaluado. Para *Streptococcus agalactiae* existe una asociación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) para Penicilina, Amikacina, Cefalotina, Estreptomina, Tetraciclina, Gentamicina y Cefalexina de esta cepa bacteriana al establo evaluado, y que no existía relación solo para Enrofloxacina (tabla 3 y 4).

Tabla N° 3: Determinación de asociación por prueba de X² para *Staphylococcus aureus*, perfil antibacteriano y establos evaluados

<i>Staphylococcus aureus</i>		Perfil antibacteriano / establos evaluados								Pr
		Establo 1		Establo 2		Establo 3		Establo 4		
		n	% ± IC (95%)	n	% ± IC (95%)	n	% ± IC (95%)	n	% ± IC (95%)	
Penicilina	Sensible	4	12.5 ± 11.46	2	6.25 ± 8.39	0	0	0	0	0.00
	Resistente	4	12.5 ± 11.46	0	0	21	65.625 ± 16.46	1	3.125 ± 6.03	
Cefalotina	Sensible	6	18.75 ± 13.52	2	6.25 ± 8.39	17	53.125 ± 17.29	1	3.125 ± 6.03	0.233
	Resistente	2	6.25 ± 8.39	0	0	4	12.5 ± 11.46	0	0	
Amikacina	Sensible	6	18.75 ± 13.52	0	0	18	56.25 ± 17.19	1	3.125 ± 6.03	0.043
	Resistente	2	6.25 ± 8.39	2	6.25 ± 8.39	3	9.375 ± 10.10	0	0	
Estreptomina	Sensible	6	18.75 ± 13.52	0	0	17	53.125 ± 17.29	0	0	0.036
	Resistente	2	6.25 ± 8.39	2	6.25 ± 8.39	4	12.5 ± 11.46	1	3.125 ± 6.03	
Tetraciclina	Sensible	4	12.5 ± 11.46	2	6.25 ± 8.39	10	31.25 ± 16.06	0	0	0.384
	Resistente	4	12.5 ± 11.46	0	0	11	34.37 ± 16.46	1	3.125 ± 6.03	
Gentamicina	Sensible	4	12.5 ± 11.46	0	0	18	56.25 ± 17.19	0	0	0.013
	Resistente	4	12.5 ± 11.46	2	6.25 ± 8.39	1	3.125 ± 6.03	1	3.125 ± 6.03	
Cefalexina	Sensible	6	18.75 ± 13.52	0	0	9	28.125 ± 15.58	1	3.125 ± 6.03	0.191
	Resistente	2	6.25 ± 8.39	0	0	12	37.5 ± 16.77	0	0	
Enrofloxacina	Sensible	4	12.5 ± 11.46	2	6.25 ± 8.39	11	34.37 ± 16.46	0	0	0.402
	Resistente	4	12.5 ± 11.46	0	0	10	31.25 ± 16.06	1	3.125 ± 6.03	

Se halló que *Staphylococcus aureus* presentaba mayormente resistencia a Penicilina y se asocia al establo tres.

Tabla N° 4: Prueba de X² para *Streptococcus agalactiae* correspondiente al perfil antibacteriano y los cuatro establos evaluados

<i>Streptococcus agalactiae</i>		Perfil antibacteriano / establos evaluados								Pr
		Establo 1		Establo 2		Establo 3		Establo 4		
		n	% ± IC (95%)	n	% ± IC (95%)	n	% ± IC (95%)	n	% ± IC (95%)	
Penicilina	Sensible	1	4 ± 7.68	3	12 ± 12.74	0	0	0	0.00	0.011
	Resistente	0	0	5	20 ± 15.68	14	56 ± 19.46	2	8 ± 10.63	
Cefalotina	Sensible	1	4 ± 7.68	5	20 ± 15.68	1	4 ± 7.68	0	0.00	0.011
	Resistente	0	0	3	12 ± 12.74	13	52 ± 19.58	2	8 ± 10.63	
Amikacina	Sensible	1	4 ± 7.68	5	20 ± 15.68	14	56 ± 19.46	0	0	0.004
	Resistente	0	0	3	12 ± 12.73	0	0	2	8 ± 10.63	
Estreptomina	Sensible	1	4 ± 7.68	8	32 ± 18.29	14	56 ± 19.46	0	0	0.00
	Resistente	0	0	0	0	0	0	2	8 ± 10.63	
Tetraciclina	Sensible	1	4 ± 7.68	0	0.00	7	28 ± 17.60	0	0	0.00
	Resistente	0	0	8	32 ± 18.29	0	0.00	2	8 ± 10.63	
Gentamicina	Sensible	1	4 ± 7.68	5	20 ± 15.68	10	40 ± 19.20	2	8 ± 10.63	0.128
	Resistente	0	0	3	12 ± 12.74	0	0	0	0	
Cefalexina	Sensible	1	4 ± 7.68	3	12 ± 12.74	0	0.00	0	0	0.011
	Resistente	0	0	5	20 ± 15.68	14	56 ± 19.46	2	8 ± 10.63	
Enrofloxacina	Sensible	1	4 ± 7.68	5	20 ± 15.68	7	28 ± 17.60	0	0.00	0.325
	Resistente	0	0	3	12 ± 12.74	7	28 ± 17.60	2	8 ± 10.63	

En el caso de estas cepas bacterianas se evidenció que hubo una asociación estadísticamente significativa ($p < 0.05$), entre la resistencia a Penicilina, Cefalexina y Cefalotina al establo tres, al igual que se puede asociar una mayor sensibilidad a Amikacina y Estreptomina en el mismo establo.

V. DISCUSIÓN

En el presente estudio se determinó la mastitis clínica de la población bovina en cuatro establos del distrito de Lurín, durante el mes de enero (verano) del año 2015, obteniendo 139 cuartos afectados, representando 6.3% (110/1750) de animales con mastitis clínica. En otro estudio en Lurín el rango reportado de la prevalencia de mastitis clínica va de 5.0 a 13.6% en animales de raza Holstein (Gamarra, 1999). Otro estudio demostró la prevalencia de 1.10% (46/4260) en los cuartos en animales de doble propósito (Calderón *et al.*, 2011), lo que demuestra que la mastitis clínica bovina es de interés en la industria lechera, ya que existen prevalencias que con el paso de los tiempos han sido controladas en algunos países, sin embargo su presentación es frecuente, y afecta principalmente animales con exigencias productivas altas, como sucede en el estudio relacionado a la raza lechera Holstein.

En Venezuela se menciona que en algunos casos no se observan características representativas de daños significativos en la ubre para categorizar como mastitis clínica, a pesar que se evidencian microorganismos prevalentes en este tipo de infecciones (Peña *et al.*, 2011); La persistencia de mastitis clínica bovina en Chile se mantiene con índices significativamente importantes, llegando a 10% de morbilidad en animales que presentan esta enfermedad (Mellenberger, 2016) teniendo en consideración este estudio se demuestra que esta enfermedad es de importancia económica real, catalogada como una de las enfermedades más importantes que afectan la producción lechera en el país y a nivel mundial.

La enfermedad presenta algunos factores de riesgo (Andersen, 2001; Radostis, 2002), como el sistema de ordeño mecánico, sistema que se utiliza en los 4 establos en estudio. En algunos casos tales como Colombia la presentación de mastitis, se origina debido al ordeño mecánico teniendo como consecuencia hasta el 28.3% de casos presentados (Rodríguez, 2006); lo cual podría deberse también en la presentación de los casos observados; en un estudio realizado en Brasil se reporta un 15% de presencia de mastitis clínica bovina siendo un valor elevado comprado al estudio realizado en Lurín (Gamarra, 1999). Como se evidencia, la alta exigencia productiva y el sistema de ordeño mecánico se relaciona con los mayores índices de presentación de la mastitis clínica, característica en común con los cuatro establos lecheros incluidos en el estudio. Por otro lado, la edad de las vacas en producción en Estados Unidos se estima cerca de 15% de la prevalencia de esta infección generalmente en vacas de primer parto (Soto, 2011); en el 2009 un estudio a catorce establos en Nueva Zelanda revelaron una prevalencia de 14.8% (559/3765) siendo afectadas primordialmente vacas de lactación temprana o de primer parto, así como también vacas adultas que han presentado la infección de forma crónica, o con algunas intermitencias (Petrovski *et al.*, 2009); lo cual podría deberse a las

falencias en el manejo del ordeño en los establos evaluados y a comportamientos fisiológicos de los esfínteres del pezón principalmente.

El presente estudio, reporta un 6.3% (110/1750) de mastitis clínica en los cuatro establos lecheros. En el año 2008, otro estudio realizado en cuatro establos de España, reporta la presencia de mastitis clínica aproximadamente de 20% (38/192) de los animales evaluados, a consecuencia de la falta de desinfección de los pezones, diferencia entre la cronología al momento de ordeño, o fallas en el proceso como falta de asepsia en dicho momento y posterior a él (Insua *et al.*, 2008); De los resultados encontrados, en un estudio realizado en México la mayoría de los patógenos eran ambientales lo cual propone una situación muy compleja a nivel epidemiológico, donde se reporta un 72.5% causantes de mastitis (Yera *et al.*, 2016). En Cuba la prevalencia de mastitis alcanza el 30% debido a las características climáticas a las cuales están expuestos los hatos lecheros (Fustes *et al.*, 1987), de la misma forma un estudio en la Habana en el 2005 demostró una prevalencia de 8.7% de presentación de mastitis clínica, donde es posible que se deba a las características del ordeño. Evidenciándose que los patógenos encontrados son ambientales también en el estudio, lo que supone un compromiso directo de fallas en el manejo del ordeño, que permiten dicha frecuencia de presentación (tabla 1).

Según lo reportado en el presente estudio, los agentes bacterianos que más se aislaron fueron *Staphylococcus aureus* 24.84% (39/157); *Streptococcus agalactiae* 15.92 (25/157); resultados similares a los reportados en Puente Piedra y Carabayllo donde se aislaron *Streptococcus agalactiae* 23.3% y *Staphylococcus aureus* 21.3% (Montiel, 1987); *Staphylococcus Sp* (29.6%), *Streptococcus sp* (14.6%) (Ruiz *et al.*, 2011), ya que presentan un mismo tipo de ordeño; así mismo se demuestran estudios en los cuales los índices de presentación de *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus* representan un 58% de prevalencia en 433 establos lecheros evaluados en Paraguay (Nuñez, 2002); Además, en otro estudio de 492 muestras de leche y se encontró *Staphylococcus aureus* en 87.84% (289/329), seguido de *Streptococcus uberis* 3.64%(12/329), *Streptococcus agalactiae* 2.13% (7/329), y *Corynebacterium bovis* (7/329) (Calderón *et al.*, 2010). En Atiquia y Córdoba, la prevalencia de *Staphylococcus aureus* es de 31.9% (Donado *et al.*, 1992); donde la persistencia de patógenos ambientales es propicia debido a falta de limpieza en el hábitat de los animales, lo cual también podría estar asociado a la presentación de los agentes bacterianos aislados en el presente estudio. En Chile, *Staphylococcus aureus* es el patógeno principal con una prevalencia de 55.53% presente en esta patología, básicamente a consecuencia de las falencias de las terapias antibióticas principalmente (San Martín *et al.*, 2002); *Streptococcus agalactiae* se reporta como la tercera bacteria más importante ya que también invade con facilidad los tejidos glandulares (Zaror *et al.*, 2011); también un estudio donde se encontró *Streptococcus agalactiae* (49.1%), *Staphylococcus aureus* (14.5%), *Escherichia coli* (5.5%) (Gamarra, 1999); estudios

realizados en el año 1985, reportan que la prevalencia de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* eran coincidentes en mastitis clínica; sin embargo, en un estudio posterior desarrollada por el año 1990 donde los resultados evidencian un incremento considerable de *Streptococcus agalactiae*, considerándose hasta la actualidad una bacteria que estando en sus óptimas condiciones efectúa una infección y diseminación importante (UNAM, 2013). Donde, el *Staphylococcus aureus*, normalmente está relacionada a una participación del hombre, por contaminación primaria de la leche y de tipo secundaria por fallas en el manejo y una evidente falta de higiene.

Por otro lado, el presente estudio reporta *Enterobacter aerogenes* 6.37% (10/157); *Enterobacter cloacae* 3.82% (6/157); *Bacillus Sp* 3.18% (5/157); *Bacillus Subtilis* 3.18%(5/157); *Citrobacter freundii* 3.18% (5/157); *Bacilo G- no fermentador* 2.55% (4/157); *Shigella Sp* 1.91% (3/157); *Klebsiella Sp* 1.91% (3/157); *Staphylococcus Sp* 1.91% (3/157); diferenciándose de los demás estudios en los cuales la presencia de estas es nula o no significativa. Sin embargo, *Escherichia coli* está relacionada al 1.91% (3/157); y generalmente origina cerca del 30% de la mastitis clínica ya que los animales conviven con el mismo hábitat el cual se encuentra susceptible a esta bacteria, en cual se encuentra en el estiércol de los animales y en contacto permanente con la ubre (Restrepo *et al.*, 2012), así como también puede llegar a ser severamente aguda (Vasquez, 1995; Zavala, 2010). En este estudio, donde presentó cuartos infectados con esta bacteria presentó manifestaciones características de dicha enfermedad; que podría estar vinculado a una posible falta de higiene, ya sea en el área de ordeño o corrales donde se encontraban los animales, lo que permite la persistencia de este patógeno.

También se encontraron agentes patógenos tales como levaduras donde la prevalencia fue de 21.02% (33/157), pudiéndose evidenciar su prevalencia en 75% (3/4) de establos en estudio, mostrando real importancia, lo cual indica que existe fallas de manejo sanitario de los casos de mastitis de largo tiempo debido posiblemente a que las terapias antibacterianas; por ello la presencia de levaduras es alta; a comparación del estudio realizado en la Molina donde se encontró presencia de levaduras (11%) (Naveros, 1996), sin embargo en los demás estudios muy poco se detalla de la presencia e implicancia de estas, sobre todo en esta región. Las mastitis generadas por levaduras son identificadas generalmente como *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*, las cuales se encuentran con más frecuencia en el ambiente; los signos y características según los estudios realizados son netamente idénticos con las mastitis originadas por agentes patógenos bacterianos.

En el presente estudio se encontró que la resistencia antibiótica de *Staphylococcus aureus* frente a Penicilina (65.625%) presentaba importancia significativa; un estudio realizado previamente, demostró que el tratamiento a cepas de *Staphylococcus aureus* mediante penicilina G eran de efectividad reducida (Chavez, 2004), lo cual evidencia una similitud al estudio realizado; por otro lado

otros estudios mencionan que la variada resistencia a los antibióticos de *Staphylococcus* dificulta el control de la propagación de la enfermedad por todo el rebaño; la resistencia antes mencionada hacia penicilina en caso de *Staphylococcus aureus* se presenta en 81.3% de resistencia como también a tetraciclina 50% y cefalexina 43.8% (tabla 3).

Streptococcus agalactiae presentó resistencia a Cefalexina (56%), Penicilina (56%) y Cefalotina (52%); un estudio realizado previamente en Chile menciona que las cepas de *Streptococcus agalactiae* aisladas, presentaban resistencia mayor al 25% frente a amoxicilina, ampicilina, penicilina, y estreptomina teniendo un valor significativo en 88.8% (San Martín *et al.*, 2002); similarmente a los valores encontrados en el presente estudio, esto puede deberse básicamente a la falta de programas de monitoreo de resistencias antibacterianas, lo cual se verá reflejado explícitamente para los cuatro antibióticos no efectivos contra estas cepas grampositivas. Otros estudios mencionan a su vez que este tipo de bacterias son capaces de generar mecanismos de defensa a la exposición de un determinado antibacteriano; difieren de los estudios realizados por Watt (1997) y Cota (2014), corroborando que dichas bacterias con inactivación enzimática (betalactamasas principalmente) podrían generar resistencia a más de un solo antibiótico según la estructura química que posea (por ejemplo betalactámicos que poseen tiazolidina); la causa probable de esto es que estos medicamentos han sido utilizados por más de una década en las terapias de mastitis bovina. Sin embargo cabe mencionar que otros autores también toman en consideración que los *Streptococcus* son de tratamiento más efectivo, ya que el medicamento se concentra dentro de los compartimientos de la leche (Voigt *et al.*, 2013); como menciona el estudio realizado en Chile podría ser, que la evolución de las cepas en individual según los factores de evolución propicia y ciclo biológico que estas tengan sobre los medicamentos, en este caso frente a Amoxicilina, Ampicilina, Penicilina, Estreptomina, Lincomicina.

VI. Conclusiones

Las cepas bacterianas más comunes aisladas de muestras de leche con mastitis de las vacas del estudio fueron *Staphylococcus aureus* (24.84 ± 6.76) % y *Streptococcus agalactiae* (15.92 ± 5.72) % en porcentajes importantes.

La resistencia antibiótica para el caso de Penicilina, Cefalotina y Cefalexina es

mayor al 50%.

Se encontró asociación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre los casos de tratamientos con Penicilina, Cefalotina, Cefalexina frente a las cepas bacterianas evaluadas con respecto a los establos de procedencia.

VII. Recomendaciones

Es necesario hacer antibiogramas a las bacterias aisladas de las muestras de leche de bovinos con mastitis previamente a la aplicación de antibióticos en un hato lechero.

Se deben realizar más estudios que den importancia a la presencia de levaduras con su respectiva tipificación para poder contrarrestar la presencia de estas.

VIII. Referencias bibliográficas

- 13° Congreso Internacional de Médicos Veterinarios Zootecnista Especialistas en bovinos de la Comarca Lagunera. Los sistemas de defensa de la glándula mamaria y factores que la favorecen. Torreón: Médicos Veterinarios Zootecnistas Especialistas en Bovinos de la Comarca Lagunera.; 6 Nov 2014.
- Andersen H. Mastitis: Prevención y Control. Rev. Inv Vet Perú, 2001; 12(2): 55-64.
- Asociación de ganaderos lecheros del Perú. Las repercusiones de Mastitis en el ganado. Lima; 2015. 12(6): 1-33.
- Asociación Nacional de Productores de carne bovina. Perú - FAO. Lima; 2004. 20(2): 1-10.
- Archibald, L. Reproductive diseases. Current Veterinary Therapy 3. Food Animal Practice;131.
- Bastos M, Damé L, Souza L, Almeida D, Alves M, Braga J. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de Origanum Vulgare L: ante bacterias aisladas en leche de bovino. Rev Cubana de Plant Med. 2011 Ene; 16(1): 260-266.
- Bedolla PdL. Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. Red Inv Vet. Madrid; 2008. IX (26): 1-26.
- Bernet T. Desarrollo del Sector Lácteo Peruano: Pasado y Presente Lima: Centro Internacional de la Papa (CIP); 1998. p50
- Boug G, Fernçandez O, García C, Sáez J, Valdezate S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de Microbiología. Revista El Seiver. 2011; 29(8): 601 - 608.
- Bradley A. Bovine Mastitis: An Evolving Disease.España 2002; 164(2): 116-128.
- Calderón A, Rodríguez V, Arrieta G, Máttar S. Prevalencia de mastitis bovina en sistemas doble propósito en Montería (Colombia): etiología y susceptibilidad antibacteriana.Colombia; 2011; 24(1): 19-28.
- Calvonho A, Toselli F, Weimann W, Canavesio V, Neder V, Iguzquiza I. Susceptibilidad a antimicrobianos de cepas de Estafilococos coagulasa positivos aisladas de mastitis bovina en la cuenca lechera central de la Argentina. Revista Argentina de Microbiología. 2003 Jul - Sept; 34(3): 171 - 175.

- Castillo M, Suniaga J, Rojas G, Hernández J, Caamaño J, Urbina A, et al. Estudio de prevalencia de mastitis subclínica en la zona alta del Estado Mérida. *Agricultura Andina*. 2009; 16: 39-48.
- Cerón M, Agudelo E, Maldonado J. Relación entre el recuento de células somáticas individual o en tanque de leche y la prueba CMT en dos fincas lecheras del Departamento de Antioquia (Colombia). *Rev Col Cienc Pec*. 2007 Sept; 20(4): 472-483.
- Chaves J. Mastitis Bovina: Su control y prevención es una tarea permanente. Buenos Aires: Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA; 2004; p 39.
- Concha C. Mastitis bovina: nuevos aspectos de diagnóstico, tratamiento y control. Santiago de Chile: Universidad de Chile; 2009; p 6.
- Concha C. Factores determinantes para el Éxito de la Producción Lechera. Mastitis bovina, Nuevos aspectos de diagnóstico tratamiento y control. Universidad de Chile. 2008; p 10.
- Cota E, Hurtado L, Pérez E, Alcantará L. Resistencia a antibióticos de cepas bacterianas aisladas de animales destinados al consumo humano. *Revista Iberoamericana de Ciencias*. 2014 May; 1(1): 75 35.
- Cuarez V. Calidad de la leche y Mastitis en establos de Huaura. *Rev. Inv Vet Perú*, 2015; 23(1): 5-10.
- Daza R. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *España*; 1998; 22(3): 57-67.
- Donado G, Waltner - Toews, Staemp Y, Liseemore H. Prevalence of subclínica mastitis in tropical área of Colombia. XVII Buiatrics Congres. United States; 1992; p 14.
- Faría R, Valero-Leal K, D'Pool G, García U, Allara C, Morales, D. Agentes bacterianos y contaje de células somáticas de cuartos mestizos doble propósito ordeñados en forma manual o mecánica en cuatro fincas lecheras en Zulia. *Venezuela; Rev Cient Univ Zulia*. 2005. 15: 64-67.
- Food and agriculture organization of the United Nations. The state of food and agriculture Roma: Editorial Production and Desing Group; 2005; p 184.
- Fustes E, Martínez E. Mastitis bovina. Estructura epizootica en rebaños lecheros típicos en condiciones de Cuba. *Rev Cub Vet . Cuba*; 1987; 18(1-2): 1-10.
- Gamarra G. Estudio de una vacuna mixta para la prevención de la mastitis. Universidad Agraria La Molina. Lima; 199; 30(15): 20-40.
- Gasque R. *Enciclopedia Bovina*. 1st ed. México: UNAM; 2008; p 433.

- Gómez O, Santivañez C, Arauco F, Espezua O, Manrique J. Criterios de interpretación para California Mastitis Test en el diagnóstico de mastitis subclínicas en bovinos. *Rev. investiga.vet. Perú*; 2015; 26(1): 86-95.
- Hagevoort R, Lager K, Pinedo P, Bruno D. Compendio de Mastitis en vacas lecheras. Texas: Texas Veterinary Medical Diagnostic Laboratory; 2011; 40(4):50-100.
- Holanda E, Madalena E, Holanda E, Miranda W, Souza M. Economic impact of mastitis in six farms of Araxá- Minas Gerais State. Brazil; 2005; 13(2): 80-120.
- Informe técnico Julio. Lima: Instituto Nacional de Estadística e Informática; 2014. Report 9.
- Inga A, Cosavalente I. Caracterización del departamento de Cajamarca. Banco Central de Reserva Del Perú, Sucursal Trujillo; 2015; p 12.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática. Perú tenencia de ganado, población y ganadería y promedio de cabezas según región natural. Lima: Ministerio de Agricultura y Riego; 2012; p 63.
- Insua D, Pérez C, Silveira P. Evaluación epizootiológica de la mastitis bovina en cuatro vaquerías. *Red Inv Vet .España*; 2008; IX (7): 1-9
- Lizarzaburu R. Efecto de las mastitis clínica sobre la culminación de la preñez en vacas Holstein de crianza intensiva- Lima. Lima: Universidad Científica del Sur; 2013; p 45.
- Lozada R. Estudio de la prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de Whiteside en la provincia de Piura. Lima .Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Medicina Veterinaria; 1975; p 40.
- Martínez A, Villoch A, Ribot A, Ponce Mastitis Clínica Bovina. *Rev Salud anim*; 2014 36(1):14-18.
- Martínez G. Comportamiento de la mastitis bovina y su impacto económico en algunos hatos de la sabana de Bogotá. *Rev Med Vet (Bogotá)*. 2006 Jul-Dic; 1(12): 35-55.
- Mateus G. Mastitis en Bovinos Turrialba: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza; 1983; p 32.
- Meglia G, Mata H. Mecanismos específicos e inespecíficos de defensa, con referencia a la glándula mamaria de los bovinos productores de leche. La Pampa; Facultad de Ciencias Veterinarias; 2001.45 (5): 31-44.

- Mellenberger R. Programa de control de mastitis para vacas lecheras infectas con *Streptococcus agalactiae*. Department of Animal Science; University of Wisconsin. Madison; 2016. 22(3):1-40.
- Montiel L, Goñi I, Saura F. Complex fiber: Nuevo ipo de tabletas de fibra dietética. Alimentación Equipos y Tecnología. Colombia; 1987. 35(4):111-113.
- Murray B. Vancomycin- Resistant Enterococci infections. The new England journal of medicina. 2000; 142(4):10-20.
- Naveros M. Efecto de dos sistemas de ordeño sobre la incidencia de mastitis y la producción de leche. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima; 1996; p 169.
- Núñez C, Morales E, Martínez J, Hernández L. Detección de mastitis bovina subclínica por micoplasmosis mediante ELISA indirecta y aislamiento. 2008; 39(2): 161-171.
- Nuñez D. Recuento de células somáticas de leche cruda recepcionada en planta proveniente de estanques prediales positivos a cultivo de *Staphylococcus aureus* en la provincial de Ñuble. Universidad de Concepción Campus Chillán . Facultad de Medicina Veterinaria. Rev Inv Vet. Paraguay, 2002; 40(5): 48- 50.
- Ortiz C, Vera R. Importancia de la Mastitits clínica. Rev Inv Vet. Perú, 2006; 17(2): 104-107.
- Peña J, Uffo O. Primer informe en Cuba de variación genotípica de *Staphylococcus aureus* aislado de leche bovina. Rev Salud Anim.; 32(2): 124-127.
- Peña W, Morillo S, Sosa M, Morales L, Castillo C. Identificación de bacterias causantes de Mastitis subclínica y clínica en bovinos de una finca del estado Trujillo. Venezuela. 2011; 11(24): 355 363.
- Peña J. Caracterización fenotípica y genotípica de *Staphylococcus aureus* aislado de mastitis bovina en Cuba. Rev Salud Anim. 2014; 36(3): 208-220.
- Pereyra E, Dallard B, Calvino L. Aspectos de la respuesta inmune innata en las infecciones intramamarias causadas por *Staphylococcus aureus* en bovinos. Paraguay; 2014. 46(4): 363-375.
- Petrovski K, Heuer C, Parkinson T, Williamson N. The incidence and aetiology of clinical bovina mastitis on 14 farms in Norhtland. New Zealand; 2009; 57(2): 109-15.
- Philpot N, Nickerson S. Mastitis: el contraataque. Una estrategia para combatir la mastitis. Estados Unidos; 1992.10 (87):155-210.

- Pinzón A, Moreno F, Rodríguez G. Efectos de la mastitis subclínica en algunos hatos de la cuenca lechera del Alto Chicamocha, Departamento de Boyacá. *Rev Inv Vet.* 2009(17): 23 - 35.
- Ponce de León J. Componentes de una instalación de ordeño mecánico. Universidad Politécnica. Madrid; 2010.44 (15): 45-56.
- Porras A. La mastitis clínica y sus consecuencias. México: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria; 1994.4 (6): 1-45.
- Radostits O. Medicina Veterinaria: Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. 9th ed. Madrid: McGraw-Hill; 2002. p 1920.
- Restrepo J, Ortíz L, Cardona X, Olivera M. Evaluación de la sensibilidad y especificidad del diagnóstico molecular del *Staphylococcus aureus* en leche de vacas afectadas por mastitis. 2012; 11(2): 40-51.
- Revelli G, Sbodio O, Tercero E. Recuento de bacterias totales en leche cruda de tambos que caracterizan la zona noroeste de Santa Fe y sur de Santiago del Estero. *Rev. Argent. Microbio.*2004; 36(3): 145-149.
- Ruíz A, Ponce P, Gomes G, Mota R, Sampaio E, Lucena E, et al. Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. *Revista Salud Animal.* 2011; 33(1): 57 – 64.
- San Martín B, Kruze J, Morales M, Agüero H, León B, Espinoza S, Iraguen D, Puga J, Borie C. Resistencia bacteriana en cepas patógenas aisladas de mastitis en vacas lecheras de la V Región, Región Metropolitana y X Región, Chile. *Red Inv Vet. Chile;* 2002; 34(2): 1-10
- Saran C, Chaffer M. Mastitis y Calidad de leche. Buenos Aires: Universidad de la República de Uruguay, Facultad Veterinaria; 2000.34 (2):55-66.
- Scaramelli A, González Z. Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina. In *Manual de Ganadería de doble propósito de 2005.* Maracay: Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado; 2005.10 (4) 328 - 334.
- Scheelhaas H. The Economy of Milk Production a Worldwide overview. In Serrano R, editor. 1 st World Congress of Dairy Products in Human Health and Nutrition: Dairy Products in Human Health and Human Health and Nutrition. Madrid; 1994. 33(4): 130-150.

- Trujillo C, Gallego A, Ramírez N, Palacio L. Prevalencia de mastitits en siete hatos lecheros del oriente antioqueño. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 2011; 24(1): 11-18.
- Vasquez A. La agricultura peruana en el siglo XXI: Retos y Oportunidades. Perú Gráficos EDIAS SA, editor. Lima: Ministerio de Agricultura; 1995. 60(35): 140-180.
- Velasquez J, Sacsquispe R. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Instituto Nacional de Salud Perú; 2002. p 288.
- Voigt F, Damé L, Lambrecht C, Faccin A, Almeida D, Conrad B. Actividad antibacteriana de los extractos de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (jambolán) frente a los microorganismos asociados a la mastitis bovina. *Rev. Cub Plant Med*. 2013; 18(3): 495 - 501.
- Watt J, Salmon S. *Dairy Sci*. Activity of selected antimicrobial agents against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine intramammary infections that produce betalactamase 1997. 80(3): 788-791.
- Wolter W, Castañeda V, Kloppert B, Zschoeck M. La Mastitis Bovina. México: Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuaria; 2000.40 (3): 31-50.
- Yera G, Ramírez W. La prevalencia de mastitis clínica en vacas mestizas Holstein por Cebú. *Red Inv Vet. México*; 2016; 17(3) 1-7
- Zaror L, Valenzuela K, Kruze J. Mastitis bovina por *Prototheca zopfii*: primer aislamiento en Chile. 2011; 43(2): 173-176.
- Zavala M. Análisis del sector lácteo Peruano. Lima: Ministerio de Agricultura, Despacho Viceministerial; 2010. p 33.
- Zambrano J, Echeverri J, Lopez-Herrera A. Alelos del gen BoLA DRB 3.2 están asociados con mastitis en vacas lecheras. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Colombia; 2011; 24(2): 140-160.