

UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAMELICA

(Creada por ley N° 25265)



FACULTAD DE CIENCIAS DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE ZOOTECNIA

TESIS

**RESISTENCIA ANTIBIÓTICA A LOS AGENTES CAUSALES
DE MASTITIS EN VACAS**

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

SALUD ANIMAL

DISCIPLINA:

CIENCIAS VETERINARIAS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO ZOOTECNISTA

PRESENTADO POR EL BACHILLER:

MULATO SÁNCHEZ, Joel

HUANCAMELICA – PERÚ

2018



UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAMELICA

FACULTAD DE CIENCIAS DE INGENIERÍA



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En el Auditorium de la Facultad de Ciencias de Ingeniería, a los 21 días del mes de agosto del año 2018, a horas 3:00 p.m, se reunieron los miembros del Jurado Calificador conformado por los siguientes: **M.Sc. William Herminio SALAS CONTRERAS (PRESIDENTE)**, **Dr. Manuel CASTREJON VALDEZ (SECRETARIO)**, **Ing. Marino ARTICA FÉLIX (VOCAL)**, designados con Resolución de Consejo de Facultad N° 516-2017-FCI-UNH, de fecha 15 de noviembre del 2017 y ratificados con Resolución de Decano N° 102-2018-FCI-UNH de fecha 20 de agosto del 2018, a fin de proceder con la calificación de la sustentación del informe final de tesis titulado: "RESISTENCIA ANTIBIÓTICA A LOS AGENTES CAUSANTES DE MASTITIS EN VACAS", presentado por el Bachiller **Joel MULATO SÁNCHEZ**, para optar el Título **Profesional de Ingeniero Zootecnista**; en presencia del **M.Sc. Elmer Rene CHÁVEZ ARAUJO**, como Asesor del presente trabajo de tesis. Finalizado la evaluación a horas... 4:30...; se invitó al público presente y al sustentante abandonar el recinto. Luego de una amplia deliberación por parte de los Jurados, se llegó al siguiente resultado:

siguiente resultado:

APROBADO



POR... Mayoría

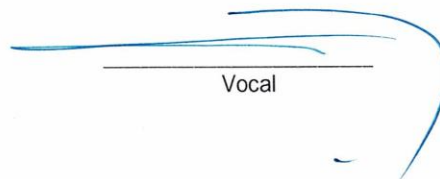
DESAPROBADO



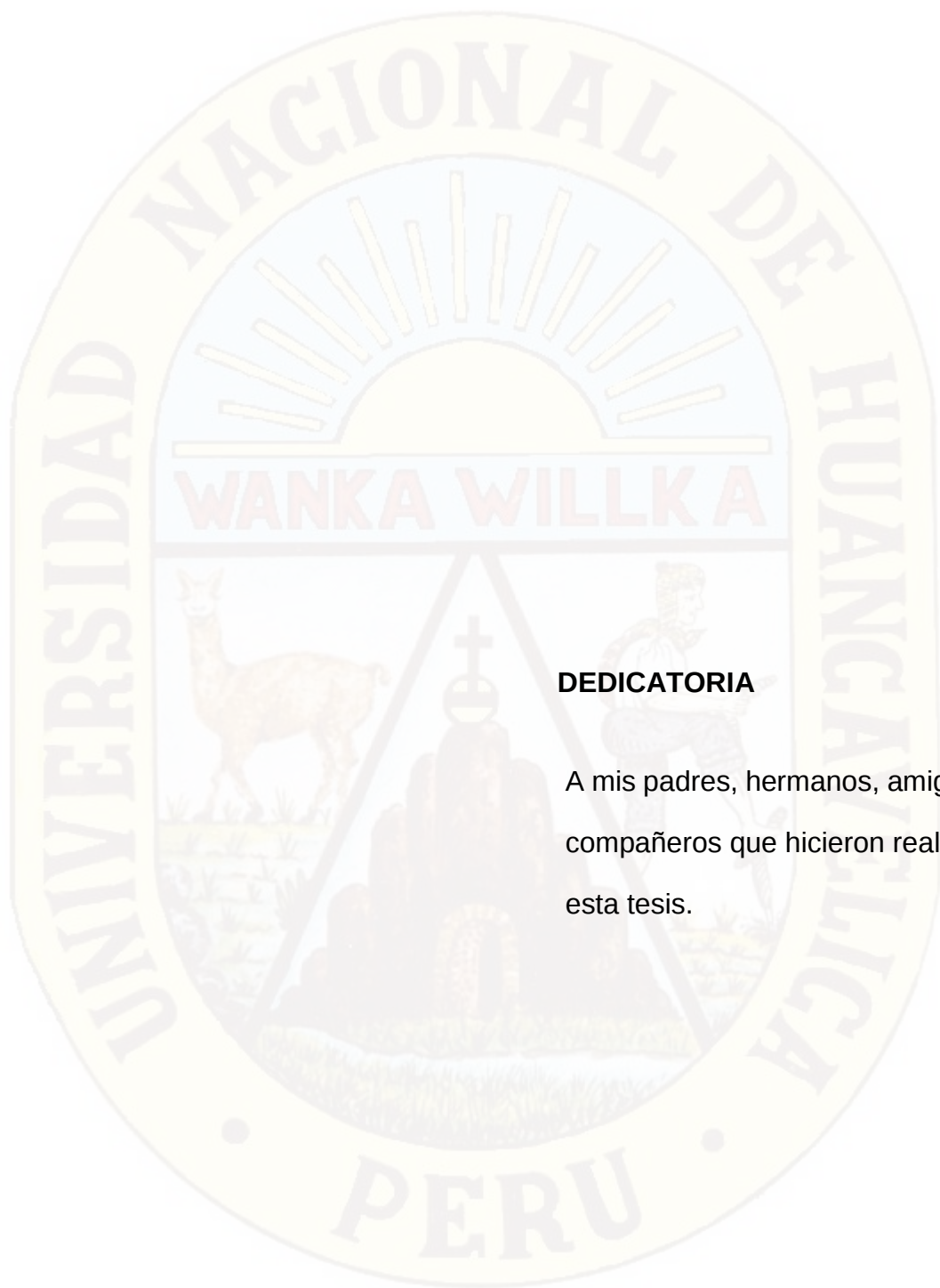
En señal de conformidad, firmamos a continuación:


Presidente


Secretario

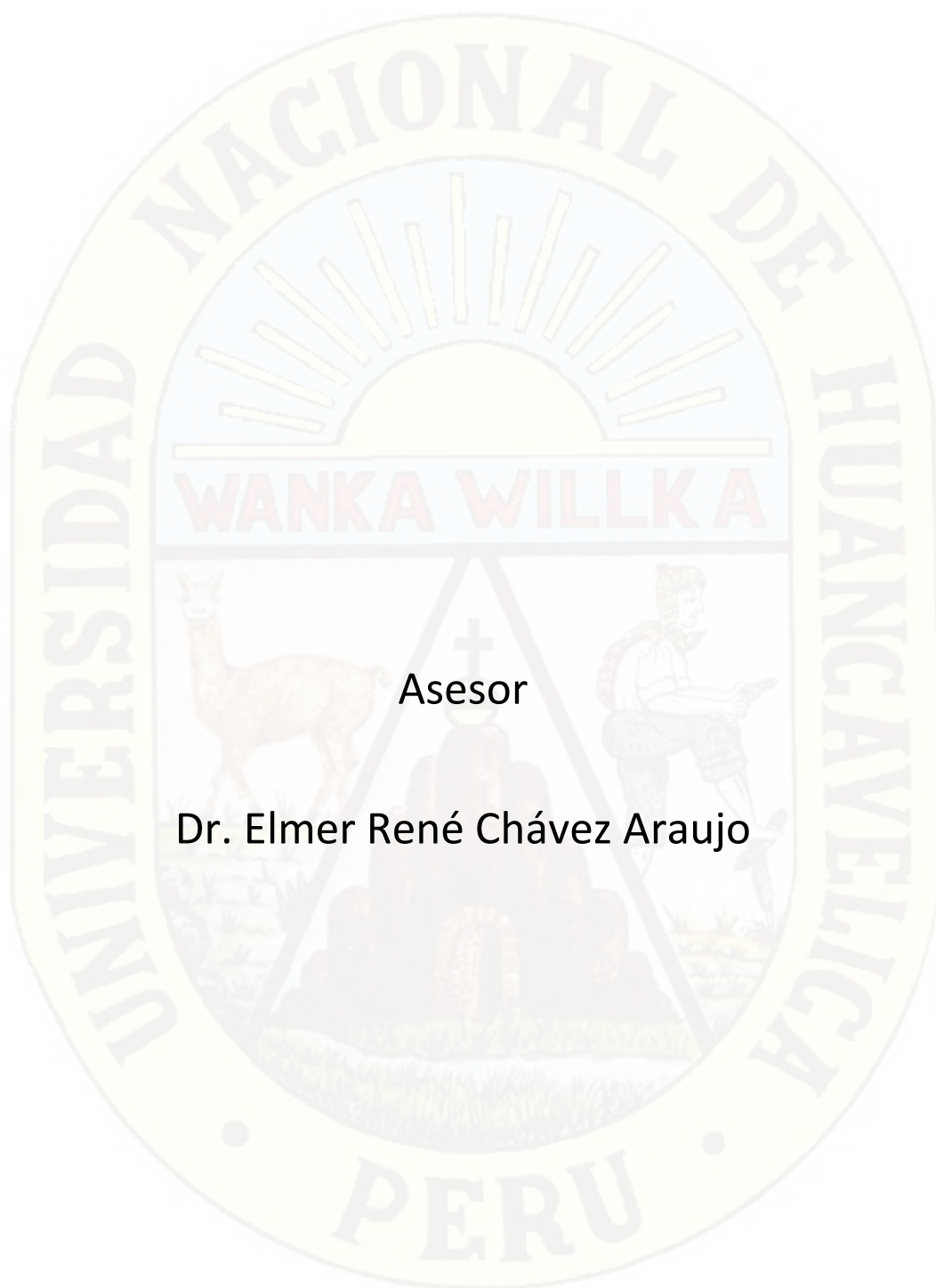

Vocal


Vº Bº Decano



DEDICATORIA

A mis padres, hermanos, amigos y
compañeros que hicieron realidad
esta tesis.



Asesor

Dr. Elmer René Chávez Araujo

RESUMEN

Se determinó resistencia antibiótica de bacterias causantes de mastitis en bovinos del establo lechero de Callqui -Huancavelica, Perú, entre diciembre del 2017 y abril de 2018. Se recolectaron muestras de leche de 16 vacas en producción se hizo el diagnóstico de mastitis mediante la prueba conocida como Test California Mastitis (CMT). Para el análisis microbiológico se sembraron las muestras en agar sangre, agar Manitol y agar Mac Conkey y se incubaron a 37 °C por 24 h. Se realizaron pruebas bioquímicas de agar-hierro-triple azúcar (TSI), agar lisina-hierro (LIA), citrato de Simmons y formación de indol. La susceptibilidad antimicrobiana se determinó mediante el método de Kirby-Bauer con discos de Enrofloxacin, Tetraciclina, Gentamicina, Penicilina, Amoxicilina. De la población muestreada en el establo lechero de Callqui, se encontró que el 44 % dieron positivo a mastitis de los cuales 6 % dio positivo a mastitis clínica (positivo fuerte) y 38 % a mastitis sub clínica (positivo débil, positivo evidente). La bacteria *Staphylococcus aureus* fue el mayor causante de mastitis, representando el 44 % de la microbiota encontrada en las vacas del establo lechero de Callqui. En menor grado, también se encuentran presentes, *Staphylococcus sp.*, *Escherichia coli* y *Streptococcus sp.* La sensibilidad de *staphylococcus aureus* frente a los antibióticos fue que el 83 % es sensibles a Enrofloxacin, el 67 % a Gentamicina y 92 % fueron medianamente sensible a Amoxicilina. Además, se encontraron cepas resistentes el 83 % a Tetraciclina y el 75% a Penicilina. Los otros microorganismos aislados en este estudio, demostraron sensibilidad antibiótica ante gentamicina. Todos los microorganismos aislados en este estudio, demostraron resistencia antibiótica frente a penicilina.

Palabras clave: Antibacterianos, resistencia, mastitis, vacas.

ABSTRACT

Antimicrobial resistance of mastitis-causing bacteria was determined in cattle from the Callqui dairy farm in Huancavelica, Peru, between December and April 2018. Milk samples were collected from 64 individual quarters of 16 cows that were mastitis controlled by the test known as California Mastitis (CMT). For the microbiological analysis, the samples were seeded in blood agar, Manitol agar and Mac Conkey agar and incubated at 37 ° C for 24 h. Biochemical tests were carried out on agar-iron-triple sugar (TSI), lysine-iron agar (LIA), Simmons citrate and indole formation. The antimicrobial susceptibility was determined by the Kirby-Bauer method with Enrofloxacin, Tetracycline, Gentamicin, Penicillin, Amoxicillin discs. Of the population sampled in the dairy farm of Callqui, 44% were found to be positive for mastitis, of which 6% tested positive for clinical mastitis (strong positive) and 38% for sub-clinical mastitis (weak positive, positive positive), The bacterium *Staphylococcus aureus* was the major cause of mastitis, representing 44% of the microbiota found in dairy cows from Callqui. To a lesser degree, *Staphylococcus* sp., *Escherichia coli* and *Streptococcus* sp. Are also present. The sensitivity of *staphylococcus aureus* to antibiotics was that 83% were sensitive to Enrofloxacin, 67% to Gentamicin and 92% were mildly sensitive to Amoxicillin. In addition, 83% resistant strains were found to Tetracycline and 75% to Penicillin. The other microorganisms isolated in this study showed antibiotic sensitivity to gentamicin. All the microorganisms isolated in this study showed antibiotic resistance against penicillin.

Keyword : Antibacterials, resistance, mastitis , cows.

ÍNDICE GENERAL

Caratula.....	i
Dedicatoria.....	ii
Resumen.....	iv
Abstract.....	v
Introducción.....	x

CAPÍTULO I

PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema.....	11
1.2 Formulación del problema.....	12
1.3 Objetivo: general y específico.....	12
1.4 Justificación.....	13

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes	17
2.2 Bases Teóricas.....	38
2.2.1 Mastitis.....	38
2.2.2 Formas de presentación	39
2.2.3 Mastitis subclínica	40
2.2.4 Factores predisponentes de mastitis	40
2.2.4.1 Microorganismos	40
2.2.4.2 El hombre	45
2.2.4.3 La máquina de ordeño.....	46
2.2.4 Manejo	46
2.2.5 Patogenia	47
2.2.6 Diagnóstico	47
2.2.6.1 Prueba de california para mastitis (CMT)	48

2.2.6.2 Prueba de wisconsin para mastitis (WMT)	49
2.2.6.3 Conteo microscópico de células somáticas	49
2.2.7 Análisis microbiológico	50
2.2.7.1 Pruebas bacteriológicas	50
2.2.7.2 Sensibilidad y resistencia antibiótica	50
2.2.8. Terapia antimicrobiana	52
2.2.8.1 Antibiótico	52
2.2.9. Prevención	53
2.2.10 Importancia económica.....	55
2.4 definición de términos.	56
2.5 identificación de variables.....	58
2.6 definición operativa de variables e indicadores	58

CAPÍTULO III METODOLOGÍA

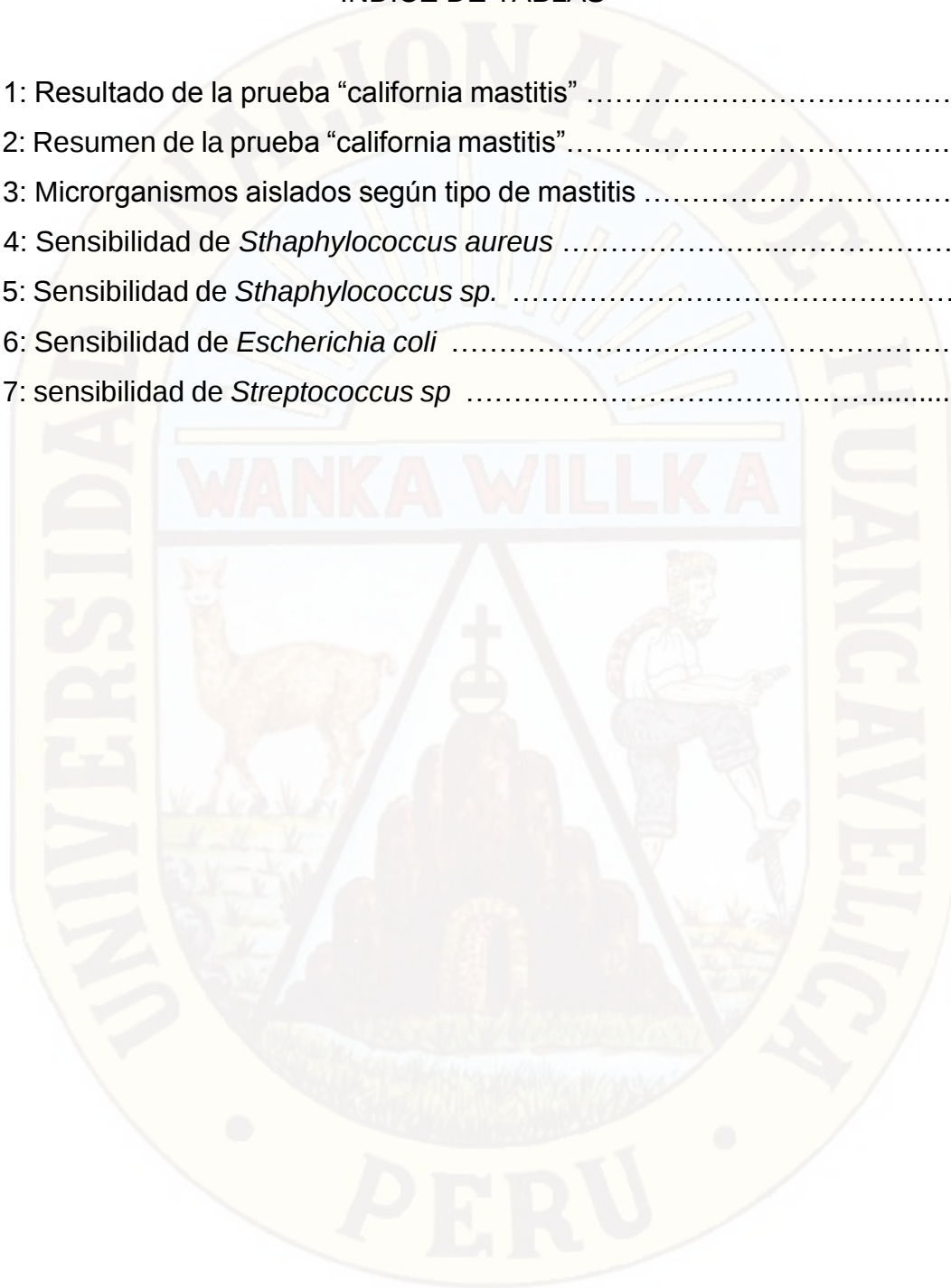
3.1 Ámbito de estudio.....	59
3.2 Tipo de Investigación.....	59
3.3 Nivel de Investigación.....	60
3.4 Método de Investigación.....	60
3.5 Diseño de Investigación.....	60
3.6 Población, Muestra, Muestreo.....	60
3.7 Técnicas e instrumentos de Recolección de Datos.....	61
3.8 Procedimiento de Recolección de Datos.....	61
3.9 Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos.....	63

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Presentación de resultados.....	64
4.2 Discusión.....	75
Conclusiones.....	79
Recomendaciones	80
Referencia bibliográfica	82
Anexos	90

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Resultado de la prueba “california mastitis”	64
Tabla 2: Resumen de la prueba “california mastitis”	66
Tabla 3: Microorganismos aislados según tipo de mastitis	67
Tabla 4: Sensibilidad de <i>Staphylococcus aureus</i>	68
Tabla 5: Sensibilidad de <i>Staphylococcus sp.</i>	69
Tabla 6: Sensibilidad de <i>Escherichia coli</i>	70
Tabla 7: sensibilidad de <i>Streptococcus sp</i>	71



ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Enrofloxacin frente a las bacterias causales de mastitis en las vacas.....	72
Gráfico 2: Tetraciclina frente a las bacterias causales de mastitis en las vacas.....	73
Gráfico 3: Gentamicina frente a las bacterias causales de mastitis en las vacas.....	73
Gráfico 4: Penicilina frente a las bacterias causales de mastitis en las vacas.....	74
Gráfico 5: Amoxicilina frente a las bacterias causales de mastitis en las vacas.....	75

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Protocolo para realizar el test california mastitis (TCM).....	90
Anexo 2: Protocolo National Mastitis Council (NMC).....	91
Anexo 3: Protocolo Según Aquiahuatl y col, 2004.....	92
Anexo 4: Protocolo del método de difusión (método kirby Bauer).....	93
Anexo 5: Interpretación de la prueba bioquímica; escala de Mac Farland.....	94
Anexo 6: Panel Fotográfico.....	95

INTRODUCCIÓN

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria, usualmente por una infección bacteriana intramamaria que, además, puede ser causada por agentes fúngicos, virales o por daños de tipo traumático, térmico o químico. La respuesta inflamatoria intenta destruir o neutralizar el agente ofensivo, reparar los tejidos dañados y retornar la glándula a su función normal.

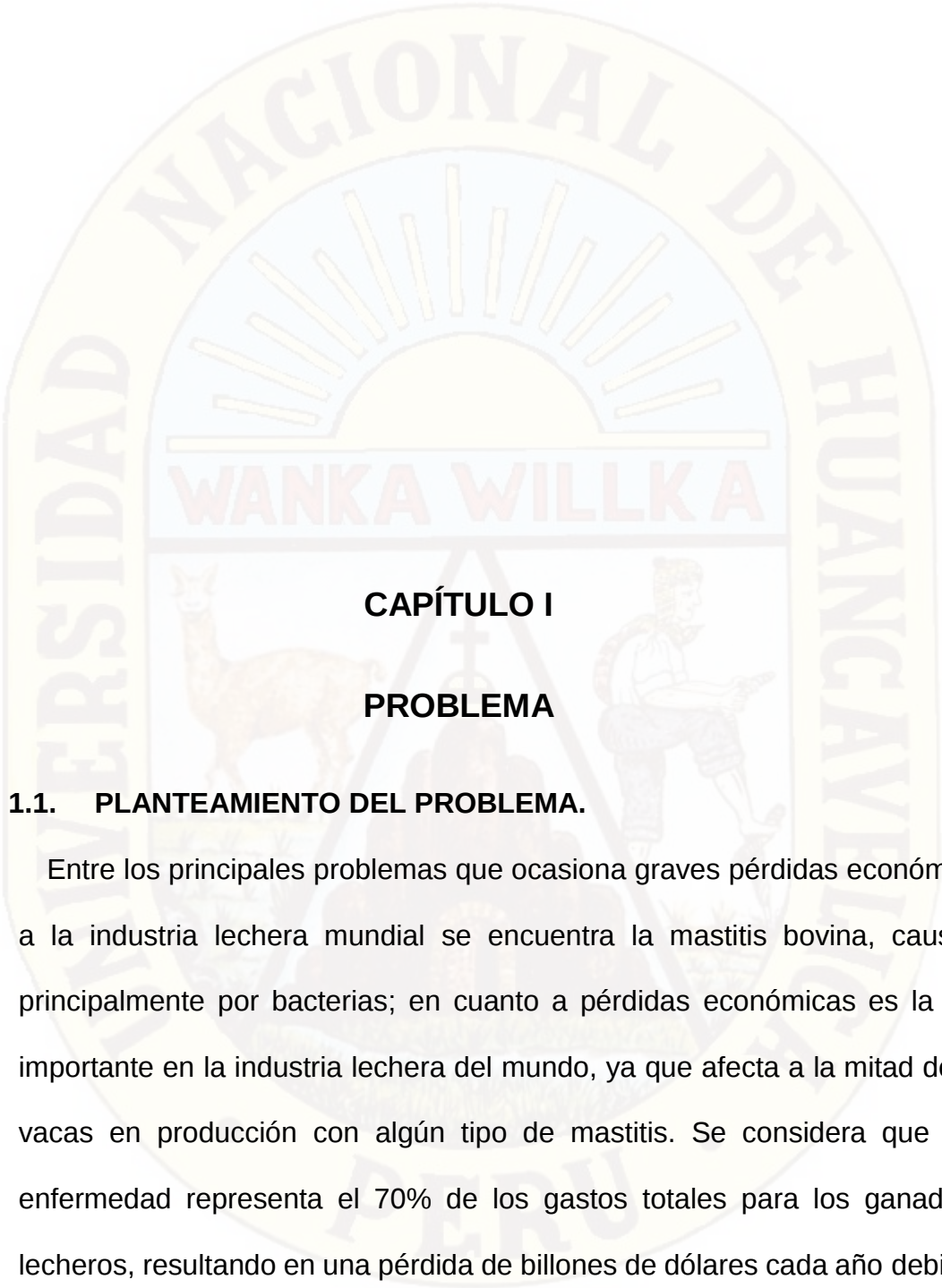
La gran diversidad de bacterias causantes de mastitis bovina se debe a las características epidemiológicas y ambientales de los microorganismos contagiosos. Entre los microorganismos más frecuentes se encuentran *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma sp*, *Staph. coagulasa* negativos, *Corynebacterium bovis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Pseudomonas sp*, *Strep. uberis*, *Strep. dysgalactiae* y *Enterococcus sp*.

En el manejo integral de la mastitis se incluye el uso de antimicrobianos administrados por vía sistémica e intramamaria. Dentro de los grupos farmacológicos más utilizados destacan los betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas), nuevos betalactámicos, macrólidos y algunos aminoglicósidos. Asimismo, algunos de estos antimicrobianos también se utilizan con fines profilácticos durante el periodo de secado para reducir la mastitis en la siguiente lactancia. La susceptibilidad de los microorganismos frente a los antimicrobianos varía de una región a otra, lo que obliga a los investigadores a realizar estudios epidemiológicos para establecer la presencia de la enfermedad y sus

agentes causales en cada región, así como realizar estudios in vitro de manera periódica para determinar la sensibilidad y el estado de resistencia [1].

El objetivo del presente estudio fue determinar la resistencia antibiótica de bacterias causantes de mastitis en bovinos del establo lechero de Callqui -Huancavelica, Perú.





CAPÍTULO I

PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Entre los principales problemas que ocasiona graves pérdidas económicas a la industria lechera mundial se encuentra la mastitis bovina, causada principalmente por bacterias; en cuanto a pérdidas económicas es la más importante en la industria lechera del mundo, ya que afecta a la mitad de las vacas en producción con algún tipo de mastitis. Se considera que esta enfermedad representa el 70% de los gastos totales para los ganaderos lecheros, resultando en una pérdida de billones de dólares cada año debido a la reducción en la producción de leche a nivel de los cuartos mamarios afectados [2].

Dentro de las formas de presentación de mastitis, la subclínica es la más importante, ya que produce baja en la producción de leche; se puede diseminar dentro del hato rápidamente y no es posible detectarla clínicamente, ya que se requiere de pruebas químicas de campo y de laboratorio para determinar la existencia de la enfermedad [3].

Si se habla de que las pérdidas económicas debido a la mastitis para los países desarrollados son representativas a su producción; las cifras alcanzadas en los países en desarrollo, como Perú, no podrían dejar de ser significativas, aunque existen pocos o ningún dato que exprese dicha pérdida.

Actualmente, la multirresistencia de cepas bacterianas ha llegado a ser un fuerte problema para la salud pública internacional por la ineficiencia en el tratamiento y la transmisión de enfermedades zoonóticas.

En el establo lechero Callqui se trabaja bajo el sistema de ordeño manual y mecánico, por lo que no hay buenas prácticas de manejo, la infección puede diseminarse a animales sanos susceptibles durante el proceso de ordeño, además si no se da un buen tratamiento se podría tener un problema de resistencia de las cepas causantes de mastitis a los antibióticos usados para su tratamiento.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuál es la resistencia antibiótica de los agentes causales de mastitis en vacas?

1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.

1.3.1. OBJETIVO GENERAL.

Determinar la resistencia antibiótica de los agentes causales de mastitis en vacas.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Determinar la resistencia antibiótica de los agentes casuales de mastitis en vacas a Enrofloxacin.
- Determinar la resistencia antibiótica de los agentes casuales de mastitis en vacas a Tetraciclina.
- Determinar la resistencia antibiótica de los agentes casuales de mastitis en vacas a Gentamicina.
- Determinar la resistencia antibiótica de los agentes casuales de mastitis en vacas a Penicilina.
- Determinar la resistencia antibiótica de los agentes casuales de mastitis en vacas a Amoxicilina.

1.4. JUSTIFICACIÓN.

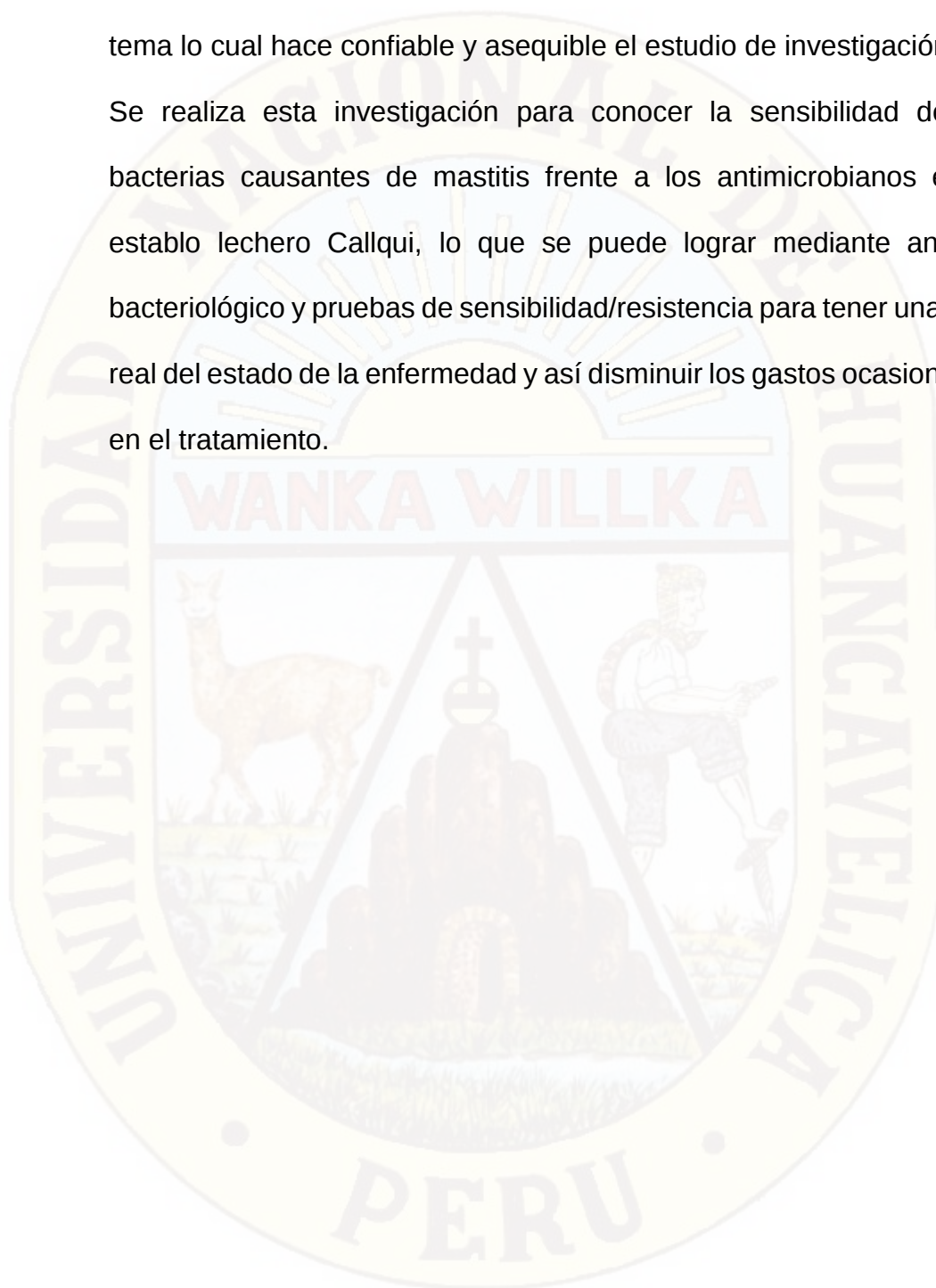
Actualmente la mastitis se presenta como un problema de alto riesgo, teniendo este un grado alto de dificultad para el control y prevención de manera efectiva, sumando a esto que la calidad de la

leche es relativamente baja y por ende los subproductos ya que los tratamientos dejan trazas de antibióticos en la leche. Debido a que la mastitis puede ser causada por lesiones, estrés o bacterias que invaden la glándula mamaria, ésta es considerada una enfermedad altamente prevaleciente en el ganado lechero. Además, los agentes infecciosos causantes de la mastitis pueden llegar a ser perjudiciales para la salud humana. Si bien existen métodos para prevenir y controlar la mastitis bovina, la terapia con antibióticos desempeña un papel determinante en la eliminación de infecciones, aun cuando esta práctica lleve a la selección de cepas resistentes que intervienen de manera negativa en el tratamiento. Con el presente estudio se conocerá cual es la resistencia a los antibióticos para poder hacer un correcto tratamiento con una base científica.

Uno de los principales inconvenientes de la terapia con antibióticos es que, además de ser utilizados por su acción terapéutica en el tratamiento de las infecciones intramamarias, también son administrados con fines profilácticos en la prevención de la enfermedad durante el secado de los animales, entre una lactancia y la siguiente. Esta práctica favorece la selección de cepas resistentes en la población microbiana e influye negativamente en el tratamiento de la enfermedad. Para poder realizar el procesamiento de las muestras, aislamiento e identificación y analizar su resistencia de las bacterias patógenas causantes de mastitis en el establo lechero Callqui se requiere un

Laboratorio de Microbiología equipado , la Universidad Nacional de Huancavelica posee aquella instalación y personal capacitado en el tema lo cual hace confiable y asequible el estudio de investigación.

Se realiza esta investigación para conocer la sensibilidad de las bacterias causantes de mastitis frente a los antimicrobianos en el establo lechero Callqui, lo que se puede lograr mediante análisis bacteriológico y pruebas de sensibilidad/resistencia para tener una idea real del estado de la enfermedad y así disminuir los gastos ocasionados en el tratamiento.





CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO.

2.1. ANTECEDENTES.

En Guatemala, se realizó la tesis “*Determinación de las bacterias más frecuentes causantes de mastitis subclínicas y sensibilidad ante antibióticos en cabras criollas del municipio de Santa Apolonia, Chimaltenango.*” Con el objetivo de conocer las bacterias causantes de mastitis subclínicas en cabras criollas del municipio de Santa Apolonia, Chimaltenango, y los antibióticos a los cuales son susceptibles. Y planteándose las siguientes Hipótesis: El 50% de las cabras criollas del municipio de Santa Apolonia, Chimaltenango, padecen de mastitis subclínica.

El 50% de las mastitis subclínicas en las cabras criollas del municipio de Santa Apolonia, Chimaltenango, son causadas por *Staphylococcus*

aureus. Con los resultados donde 40 cabras resultaron positivas a tipos 2 y 3, dando así positivo a mastitis subclínicas. De las 40, en 25 hubo crecimiento bacteriano en donde el *Staphylococcus aureus* estuvo presente en diez de ellas, lo cual indica la alta prevalencia de esta bacteria dentro de este hato caprino, en segundo lugar se encuentran el *Streptococcus* spp y *E. coli* con 6 muestras positivas cada una y por último el *Corynebacterium* spp con tres muestras positivas. La realización de cultivos para la detección de susceptibilidades o resistencias frente a antibióticos presentó, que todas las bacterias presentes en las mastitis subclínicas en las cabras criollas en el municipio de Santa Apolonia, Chimaltenango son susceptibles a Enrofloxacin y Ciprofloxacin.

Con la conclusión las bacterias con mayor presencia en las mastitis subclínicas en las cabras criollas del municipio de Santa Apolonia, Chimaltenango, son susceptibles a los antibióticos; Enrofloxacin y Ciprofloxacin [4].

En Bolivia, se realizó el trabajo denominado “*Susceptibilidad a antibióticos de staphylococcus aureus aislados de mastitis bovina*” con el objetivo de determinar la susceptibilidad a antibióticos de *S. aureus* aislados de mastitis bovinas clínicas y subclínicas. Se determinó la susceptibilidad in vitro frente a antimicrobianos de 95 cepas de *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina utilizando el método de la concentración inhibitoria mínima (CIM) y el método de difusión en

agar. Las CIM50 de penicilina, oxacilina, gentamicina, eritromicina, enrofloxacin y florfenicol fueron de 0,06, 0,25, 0,19, 0,125, 0,19 y 4 µg/ml, respectivamente, mientras que las CIM90 fueron de 4, 0,25, 0,38, 0,25, 0,38 y 8 µg/ml, respectivamente. Con el resultado que el mayor porcentaje de resistencia se observó frente a penicilina con un alto número de cepas productoras de beta-lactamasa [5].

En Chile, se realizó el trabajo *“Resistencia de las bacterias causantes de mastitis bovina frente a los antimicrobianos más frecuentes”* con el objetivo de determinar la resistencia que desarrollan las bacterias frente a los antimicrobianos utilizados comúnmente. Con los siguientes resultados a partir de 963 muestras de leche, se lograron aislar 449 cepas bacterianas (46.6%), mientras que de 2.000 muestras obtenidas en la X Región (XR), se aislaron 1.012 cepas (50.6%).

Se observaron valores elevados de resistencia (> 25%), frente a amoxicilina, ampicilina, penicilina, estreptomina y lincomina en las cepas de *S. aureus* aisladas de las regiones en estudio. Aunque para los otros antimicrobianos estos valores fueron menores a 25%, en la VR y RM hubo un mayor porcentaje de cepas resistentes a cefoperazona, ceftiofur, cloxacilina, enrofloxacin, gentamicina, oxitetraciclina y sulfadiazina+trimetoprim. Concluyendo que las bacterias causantes de mastitis en las regiones en estudio presentan resistencia a más de un antimicrobiano, siendo recomendable que la adquisición de estos fármacos se realice a través de receta veterinaria, instaurando además

programas permanentes de monitoreo de resistencia bacteriana en nuestro país [6].

En Ecuador, se realizó el trabajo “*Determinación de la prevalencia de mastitis mediante la prueba california mastitis test e identificación y antibiograma del agente causal en ganaderías lecheras del cantón el chaco, provincia de Napo.*” Este estudio se realizó con el objetivo de determinar la prevalencia de mastitis en 174 fincas del cantón El Chaco, provincia de Napo, ya que este es el primer paso para su control. Mediante la prueba de California Mastitis Test, se evaluaron 5490 cuartos mamarios pertenecientes a 1485 vacas. La prevalencia aparente en cuartos positivos fue de 49,98% (2969/5490) y por animal infectado fue de 79,66%(1183/1485).

Los microorganismos aislados fueron: *Staphylococcus spp.* 22,56%, *Staphylococcus coagulasa* +21,34%, *Staphylococcus aureus* 12,80%, *Streptococcus spp.* 9,15%, *Staphylococcus intermedius* 8,54%, *Streptococcus agalactiae* 7,93%, *Escherichia coli* 5,49%, *Streptococcus dysgalactiae* 2,44%, *Klebsiella* 1,83%, *Citrobacter* 1,22%. La mayor parte de bacterias gram + presentan sensibilidad a: Amoxicilina + Ácido clavulánico y resistencia a Cloxacilina, a diferencia de las gram – que mostraron sensibilidad a Enrofloxacina y resistencia a Lincomicina. Como medida de prevención y control se realizaron capacitaciones en buenas prácticas de ordeño manual, junto con la entrega de materiales al personal encargado del ordeño. Se evaluó el conteo de células

somáticas en leche, previo y posterior al trabajo, evidenciándose la disminución de las fincas positivas (>500 000 ccs/ml) de 47,12% al 29,88%. Concluyendo que al disminuir el conteo de células somáticas se mejora la calidad y el volumen de leche producida [7].

En Ecuador, se realizó el trabajo *“Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test e identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche en la comunidad San Pablo Urco, Olmedo – Cayambe – Ecuador, 2014”* El objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia de la mastitis bovina mediante la prueba CMT, análisis de laboratorio de CCS,UFC y detección del agente etiológico en la leche de vacas de los productores del centro de acopio de la comunidad San Pablo Urco. Para la identificación de casos positivos a la enfermedad se realizaron dos muestreos de tamizaje, en bidón en el centro de acopio y el otro directamente en las vacas en cada una de las fincas. Encontrando los resultados de una prevalencia de la enfermedad de 45%. Concluyendo que los factores de riesgo encontrados mediante la toma de datos en finca son los siguientes: desconocimiento y falta de aplicación de las buenas prácticas de ordeño, no realizan pruebas de campo para detectar a tiempo la enfermedad, falta de asistencia técnica por parte del centro de acopio y entidades gubernamentales [8].

En Ecuador, se realizó la Tesis *“Determinación de la sensibilidad de CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica y su relación en cultivo*

de leche más antibiograma en la hacienda “El Boliche”. Con los objetivos: Aplicar la prueba de CMT para diagnóstico de mastitis subclínica en la hacienda “El Boliche” e Implementar medidas terapéuticas para control y prevención de mastitis subclínica mediante los resultados de antibiograma. los resultados obtenidos, tenemos 10 vacas en producción a las cuales se les realizó la prueba del CMT en el cual 5 vacas dieron positivo a mastitis subclínica mediante las trazas T, T1 según los rangos de células somáticas y su interpretación, el porcentaje de positivos que fue 5 es decir 50% y 5 negativos 50%.

El cual da como resultado 5 FP Y 5 VN y aplicamos la fórmula para saber el % de sensibilidad, especificidad y exactitud, el resultado es 0% de sensibilidad y 50% de especificidad y exactitud. Con la conclusión que mediante la prueba de CMT realizada a las diez vacas en producción los resultados fueron 5 vacas positivas (vaca 2,4 T(trazas)y vaca 7,8,10 T1) a mastitis subclínica y 5 N(Negativas) vacas 1,3,5,6,9, el porcentaje de positivos seria 50% y negativos 50% [9].

En Paraguay, se realizó la tesis *“Perfil de resistencia in vitro a antimicrobianos de cepas causantes de mastitis aisladas de leche cruda bovina en establecimientos de pequeña y mediana producción”* El objetivo de este trabajo es determinar la frecuencia de patógenos aislados, el perfil de resistencia y multirresistencia a los antimicrobianos utilizados contra los principales agentes etiológicos aislados en muestras de leche bovina con sospecha de mastitis. Se procesaron 371 muestras

de leche bovina cruda en los laboratorios del SENACSA entre enero del 2000 y marzo del 2006. Fueron analizados los microorganismos aislados, resistencia y multirresistencia a antimicrobianos.

En la determinación de sensibilidad a través de prueba de difusión por discos se ensayaron como: ampicilina, penicilina, gentamicina, neomicina, kanamicina, estreptomicina, tetraciclina, sulfatrimetoprim y nitrofurantoina.

Estos datos fueron analizados por estadística descriptiva en el programan Epiinfo 6,0. Se encontró *Staphylococcus sp* (46,4%, 172/371); *Corynebacterium sp* (18,3%, 68/371); *Streptococcus sp*(18,5%, 69/371); *Klebsiella sp* (12,93%, 48/371); *Escherichia coli* (3,77%, 14/371). *Staphylococcus coagulasa* negativos resistente entre 70%(120/172) y 80%(137/172) a neomicina y penicilina; mientras que los coagulasa positivos lo fueron a la penicilina y estreptomicina. *Corynebacterium sp* 90%(61/68) resistente a neomicina, *Streptococcus agalactiae* (48%, 33/69) con 73% (24/33) de resistencia a penicilina y *Klebsiella sp* con 100% a penicilinas y *Escherichia coli* con 100% a la estreptomicina.

Sólo *Staphylococcus coagulasa* negativo no mostro multirresistencia. La resistencia y la multirresistencia observadas son elevadas, estos resultados permiten disponer de información actualizada para orientar el uso racional de los antimicrobianos [10].

En Nicaragua, se realizó la tesis *“Estudio comparativo entre los métodos diagnósticos para mastitis subclínicas, California Test y DRAMINSKI 4Q en vacas Jersey, Diriamba -Carazo, Agosto-Octubre, 2015.”* El presente estudio se realizó con el objetivo de proporcionar una nueva herramienta de diagnóstico de mastitis subclínica bovina a nivel de campo y reducir las pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis subclínica a los productores mediante el diagnóstico temprano, esto se pretende lograr mediante la comparación de dos métodos de diagnóstico como son California Mastitis Test y Detector de mastitis subclínica DRAMINSKI 4Q.

El estudio se realizó en la finca “Santana” ubicada en el municipio de Diriamba, departamento de Carazo, ubicada en las coordenadas 11°49’59.9” latitud norte y de 86°14’21.1” longitud oeste con una altura aproximada a 580msnm, fueron utilizados 19 hembras las cuales estaban entre dos y tres lactancias, fueron muestreadas por cinco semanas consecutivas en el segundo ordeño, se utilizaron ambos métodos de diagnóstico iniciando por el DRAMINSKI debido a las indicaciones del equipo, se deben utilizar los primeros chorros de leche para obtener mejores resultados, posteriormente se utilizó la prueba california en las mismas vacas, de los cuartos que dieron positivo a uno o ambos métodos de diagnóstico se procedió a tomar la muestra de leche para llevarlo al laboratorio y de esta forma verificar el resultado mediante aislamiento e identificación bacteriana.

Los datos fueron analizados mediante la realización de bases de datos Excel y mediante la utilización de la prueba de dependencia para CHI-CUADRADO, en los resultados se obtuvo que no hubo dependencia entre los métodos diagnósticos, pero las diferencias obtenidas no fueron significativas entre uno y otro. En el porcentaje de efectividad en los diagnósticos, para los resultados de DRAMINSKI se obtuvo un 97.38 % de efectividad en el diagnóstico correcto y un 2.62 % de diagnósticos incorrectos versus un 96.11 % de diagnósticos correctos y un 3.89 % de diagnósticos incorrectos que obtuvo la prueba California, los microorganismos aislados causantes de mastitis fueron *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* [11].

En Argentina, se realizó la tesis “Mastitis Bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche” El objetivo del presente trabajo fue evaluar la resistencia de cepas de *S. aureus* aisladas de leche frente a antimicrobianos utilizados en el tratamiento de la mastitis bovina y estudiar la relación entre las cepas resistentes y la presencia de casos de la enfermedad. De las 271 muestras de leche se aislaron 300 cepas bacterianas, de las cuales el 21% fueron identificadas como *S. aureus*.

El 58,7% de las cepas de *S. aureus* mostraron resistencia in vitro a uno o más antibióticos y de ellas, el 70,3%, fueron aisladas de vacas con mastitis. Además, el 36,5%, 22,2% y 20,6% fueron resistentes a eritromicina, penicilina y estreptomicina, respectivamente, y el 19%

presentaron multirresistencia. Todo el *S. aureus* estudiado fue sensible a gentamicina, ampicilina/sulbactam, rifampicina y oxacilina. El análisis de los datos permitió determinar que no existe asociación directa entre la presencia de mastitis y el aislamiento de *S. aureus* resistentes. De acuerdo con estos resultados, se puede concluir que las cepas de *S. aureus* aisladas mostraron una elevada resistencia, sin que ello esté necesariamente relacionado con la presencia de mastitis bovina en los tambos estudiados.

Esta investigación permite orientar a la selección de los antibióticos más eficaces para el tratamiento de esta enfermedad y predecir el éxito de la terapia [12].

Se realizó en Ecuador, la investigación denominada “Identificación del tipo de mastitis presente en el ámbito del Proyecto de Queserías Rurales del Ecuador”, cuyo objetivo era mejorar las condiciones socio-económicas de los grupos económicos marginados, estimando que en Ecuador hay un alto porcentaje de infección por cuarto mamario. Así, el 49% de vacas tiene mastitis subclínica y el 1% están afectadas con mastitis clínica. Estos autores concluyen que la etiología de dicho padecimiento está basada en la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermitis* y *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus disgalactiae* y *Streptococcus uberis* en un 90% y el restante 10% por otro tipo de bacterias con predominio de *Escherichia coli* [13].

Se desarrolló en Ecuador, la tesis “Sensibilidad a antibióticos y sulfonamidas en vacas”, con el objetivo de analizar la sensibilidad a antibióticos y sulfonamidas en muestras de leche provenientes de vacas con inflamaciones mamarias de variada intensidad para lo cual se realizó un análisis de los resultados de 2 329 test de sensibilidad a antibióticos y sulfonamidas. Las cuales se realizaron mediante antibiograma en placa, con pre-incubación de la muestra y lectura a las 24 horas a 37° C probando siete antibióticos y tres sulfonamidas, no realizándose aislamientos de las cepas patógenas ya que la orientación principal de las muestras estuvo dirigida a la terapia de los cuadros clínicos [14].

En Venezuela, realizaron el trabajo *“Prevalencia de la mastitis subclínica bovina en Venezuela y evaluación de la prueba de Mastitis de California (CMT) como prueba diagnóstica”*, en el cual aplicaron la prueba Californiana de Mastitis (CMT) a 24.599 cuartos de ubre, pertenecientes a 6.405 vacas de 60 fincas lecheras, distribuidas en trece estados de Venezuela y se realizó cultivo bacteriológico a un total de 2.982 muestras de leche proveniente de igual número de cuartos, a fin de estimar la prevalencia de infección, tipo de patógenos y evaluar la efectividad del CMT como prueba de campo. El CMT resultó negativo en 8.502 (34,56%), Trazas en 2.993 (12,16%), Positivo 1+ en 5.681 (23,09%), 2+ en 4.071 (16,55%), y 3+ en 3.352 (13,63%) cuartos [15].

Determinó la susceptibilidad in vitro frente a antimicrobianos de 95 cepas de *S. aureus* aislados de mastitis bovina en la cuenca lechera central de Argentina utilizando el método de la concentración inhibitoria mínima (CIM) y el método de difusión en agar. Donde el mayor porcentaje de resistencia se observó frente a penicilina con un alto número de cepas productoras de beta-lactarnasa. Además, evaluó los puntos de corte actualmente utilizados en las pruebas de difusión en agar para la eritromicina para clasificar a cepas de *S. aureus* aisladas de mastitis bovina. Así mismo categorizó a los aislamientos en susceptibles, intermedios y resistentes, no detectándose errores mayores y arrojando una menor cantidad de errores menores que con los criterios de interpretación del National Committee For Clinical Laboratory Standars (NCCLS) [16].

En Nicaragua se realizó la *investigación “Caracterización de la situación de la mastitis bovina en rebaños lecheros de los Departamentos de Boacochontales: época de lluvia”*, evaluaron el estado clínico y microbiológico de la ubre, en vacas lecheras pertenecientes a 26 rebaños de los Departamentos de Boaco y Chontales en Nicaragua.

En época de lluvia, mediante el examen clínico, aislamiento bacteriológico y prueba de california. De los 2808 cuartos analizados (702 animales), 1.9% mostró mastitis clínica, el 5.7% se encontraba afectado por mastitis crónica y el 17.02% por mastitis subclínica. El 76.8% de las muestras analizadas fueron positivas por algún microorganismo productor

de mastitis. Los microorganismos más frecuentes aislados fueron: *Staphylococcus aureus*, coliformes, *Corynebacterium sp.*, *S. epidermidis* y algunas infecciones mixtas con la combinación de dos de estos patógenos, para un porcentaje de afectación de 38.9%, 10.3%, 8.6%, 5.4% y 7.02%, respectivamente. El patrón de sensibilidad de los microorganismos circulantes indicó sensibilidad a la penicilina, trimetoprim sulfa, bacitracina, cloranfenicol y gentamicina y una elevada resistencia a la tetraciclina, trimetoprim, estreptomicina y neomicina [17].

En un estudio denominado "*Aislamiento, identificación y antibiograma de patógenos presentes en leche con mastitis en ganaderías bovinas de la provincia de Pichincha*" reportaron que de todos los microorganismos identificados, *S.aures* representa el 55,53% siendo el más representativo, así mismo encontrando una gran resistencia a penicilina y oxitetraciclina y una buena sensibilidad a la enrofloxacin [18].

En Colombia se realizó el trabajo "*Patógenos contagiosos y ambientales aislados de cuartos mamarios con mastitis subclínica de alto riesgo en tres fincas del Estado Zulia*", investigaron la frecuencia de aislamientos de patógenos contagiosos y ambientales a partir de ganado vacuno con mastitis subclínica, en tres fincas del estado Zulia. Con el objetivo de determinar la asociación de los grupos de patógenos con los diferentes sistemas de ordeño empleados, así como el probable efecto de las estaciones climáticas sobre la frecuencia de aislamiento de microorganismos. A nivel de campo se practicó la prueba de California para

mastitis (CMT) a 2.416 cuartos mamarios. A los 758 cuartos que fueron clasificados de alto riesgo por el CMT se les realizó cultivo bacteriológico. Los principales patógenos aislados fueron *Streptococcus agalactiae* (26%), *Staphylococcus coagulasa negativa* (23%), *Streptococcus spp.* (20%) y *S. aureus* (17%). El 73% de los patógenos aislados fueron contagiosos. El carácter contagioso de la infección intramamaria se observó en las tres fincas, la cual se presentó en un 75; 86 y 68% en las fincas A, B y C, respectivamente. No se observó un patrón estacional definido para la presencia de patógenos contagioso y ambiental [19].

Se evaluó resistencia de cepas de *S. aureus* aisladas de muestras de leche provenientes de tambos de la región central de la provincia de Córdoba, Argentina frente a antimicrobianos de uso frecuente en el tratamiento de la mastitis bovina. Donde se aisló 300 cepas bacterianas, de las cuales el 21% fueron identificadas como *S. aureus*. El 58,7% de las cepas de *S. aureus* mostraron resistencia in vitro a uno o más antibióticos y de ellas, el 70,3%, fueron aisladas de vacas con mastitis [20].

En México, se realizó el trabajo "*Comportamiento de la mastitis bovina en la producción animal en fincas lecheras del Estado Lara*", determinaron el comportamiento de la mastitis en rebaños de fincas lecheras del Estado Lara; para ello se seleccionaron tres fincas ubicadas en el sector Los Quediches de la Parroquia Las Mercedes, Municipio Torres, todas pertenecientes a la Ganadería Los López C.A. Las fincas seleccionadas fueron visitadas cada dos meses para tomar los registros de producción,

durante un período de ocho meses desde marzo hasta noviembre 2011. A nivel de campo se tomaron muestras de leche de cada cuarto de todas las vacas en producción. Las muestras fueron procesadas según la técnica del National Institute for Research in Dairying registradas por Bramley y col., (1981). Dentro de las técnicas aplicadas se cuentan: California Mastitis Test (CMT) descrita por Schalm y col., (1957) recuento total de células somáticas mediante el método de Breed, Cultivo bacteriológico de cada muestra de leche en los medios Agar sangre Ovina al 5%, Agar Mac Conkey, Agar Sabouraud. Las colonias de bacterias que crecieron en los diferentes medios, se sometieron a pruebas bioquímicas para su clasificación. Los datos registrados durante el estudio fueron almacenados en el software SPSS versión 17.0 para los diferentes análisis estadísticos.

Concluyeron que la mastitis es un problema mayor de salud en las fincas lecheras de la Parroquia Las Mercedes, Municipio Torres del Estado Lara y que la situación es susceptible de empeorar a medida que se aumenta la presión de expandir la producción lechera. En las tres fincas estudiadas se encontraron pérdidas de hasta 8 litros por vaca y día en la etapa inicial de la lactancia. Agar Sabouraud. Las colonias de bacterias que crecieron en los diferentes medios, se sometieron a pruebas bioquímicas para su clasificación. Los datos registrados durante el estudio fueron almacenados en el software SPSS versión 17.0 para los diferentes análisis estadísticos. Concluyeron que la mastitis es un problema mayor de salud en las fincas lecheras de la Parroquia Las Mercedes, Municipio Torres del Estado Lara

y que la situación es susceptible de empeorar a medida que se aumenta la presión de expandir la producción lechera. En las tres fincas estudiadas se encontraron pérdidas de hasta 8 litros por vaca y día en la etapa inicial de la lactancia [21].

En México, se realizó la tesis *“Determinación la resistencia antibiótica de S. aureus aislados de leche de vacas con mastitis de Téjaro, Michoacán”*, encontrándose que de las 41 cepas de *S.aureus* estudiadas, 26 (63,41 %) fueron resistentes a cuatro antibióticos, de las cuales 12 n (29,2%) fueron resistentes a la penicilina, 9 (21,9%) a la ampicilina, 4 (9,7%) a la erítromicina y solamente 1 (2,4%) resultó resistente a las tetraciclinas. Se concluye que las cepas de *S. aureus* aisladas en este trabajo mostraron mayor resistencia in vitro a los antibióticos de uso frecuente en la terapia de la mastitis bovina como son la penicilina y ampicilina [22].

Herrera (2014), en Perú, se realizó la tesis *“Sensibilidad In – Vitro de Staphylococcus aureus causante de mastitis clínica bovina en el distrito de Sicchez, Provincia Deayabaca.”* el cual tuvo como objetivo determinar la sensibilidad in vitro de *Staphylococcus aureus* aislados de infecciones intramamaria frente a antibióticos seleccionados en el tratamiento de mastitis clínica bovina, en el distrito de Sicchez, provincia de Ayabaca.

Los casos de mastitis clínica se identificaron en base a signos clínicos, alteraciones en la ubre, y estado general del animal así como las condiciones de ordeño. Se diagnosticaron 19 vacas con mastitis clínica, de

las que se colectaron 35 muestras de leche mastítica, las mismas que fueron sometidas a diferentes medios de cultivo selectivos para el crecimiento de *S. aureus* y llevados a incubación a 37° C por 24 a 48 horas.

La identificación de esta especie se realizó a través de la tinción Gram, morfología de la colonia, prueba de catalasa, prueba de coagulasa, prueba de manitol y producción de hemólisis. Para la prueba de sensibilidad *in vitro* de *S. aureus* se utilizó el método de difusión en disco de Kirby-Bauer. El 80% de los casos de mastitis clínica en este distrito son causados por *S. aureus*, encontrándose que, de las 28 cepas, el 53,6% y 10,7% resultaron resistentes a penicilina y oxitetraciclina, respectivamente, mientras que el 100% fueron sensibles a sulfatrimetoprim, amoxicilina y la enrofloxacin. Se recomienda utilizar la amoxicilina como antibiótico de primera opción para el tratamiento de mastitis clínica en el distrito de Sicchez, dada sus características farmacocinéticas [23].

Suchitepéquez (2014). En Perú, se realizó la tesis “*Determinación de las bacterias causantes de mastitis subclínica y su sensibilidad a los antibióticos en vacas lecheras*”, donde La bacteria *Staphylococcus aureus* coagulasa + fue la más frecuentemente aislada, representando más del 50% de la microbiota encontrada en cada mes. En segundo lugar se aisló *Staphylococcus sp.* Así, como también *Streptococcus* y *Corynebacterium sp.* en menor porcentaje. Estos resultados nos orientan a que existen fallas en el manejo del ordeño y secado de vacas. Asimismo que las vacas por su encaste racial y duración de lactancia quedan desprotegidas por 2

meses, predisponiéndolas a mastitis. En la realización de la sensibilidad antibiótica se concluyó, que todas las bacterias presentes en leche mastítica de las vacas lecheras de la finca San Julián, son susceptibles a enrofloxacin y gentamicina [24].

En el Perú se realizó la tesis “Determinación de resistencia antibiótica de patógenos bacterianos aislados de mastitis clínica bovina de crianza intensiva en Lurín, Perú” 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 Mconkey 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 las 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) % [25].

En el Perú, se realizó la tesis “Antibacterianos de empleo frecuente en ganado bovino destinado a la producción de leche y carne en Lima, Perú” con el objetivo: identificar los antibacterianos utilizados con mayor frecuencia en ganadería bovina en el departamento de Lima, Perú. Materiales y métodos: se recolectó información de terapias antibacterianas en cinco establos de ganado lechero y cinco de engorde, durante el 2008 y el 2009, revisando los registros sanitarios. Resultados: de 18.197 tratamientos registrados, el 69,1% (12.573) correspondió a ganadería de engorde y el 30,9% (5624) a ganadería lechera. Neumonía y diarrea fueron los principales problemas sanitarios en ganadería de engorde, siendo los antibacterianos más utilizados en el tratamiento gentamicina, penicilina, estreptomycin, florfenicol, tilosina y oxitetraciclina en el primer caso, y enrofloxacin en el segundo. La mastitis fue el principal problema sanitario en ganadería de leche. Los tratamientos más utilizados fueron

enrofloxacin, penicilina y estreptomicina. El envío de muestras al laboratorio para determinar el agente bacteriano involucrado en el proceso patológico y el antibacteriano más adecuado para su tratamiento no es una práctica común. Conclusiones: los antibacterianos utilizados en tratamientos de patologías en ganado de engorde y lechero se circunscriben a un grupo reducido y son de uso reiterado, por lo que se debe vigilar la posible aparición de resistencia bacteriana a estos [26].

Santibáñez (2013), en el Perú, se realizó la tesis "*Prevalencia y factores asociados a la mastitis subclínica bovina en los Andes peruanos*" Con el objetivo de determinar la prevalencia y los factores asociados a la mastitis subclínica, se utilizaron 209 de 459 bovinos en producción de leche del distrito de Tamburco (Abancay, Apurímac, Perú). En el ámbito el tipo de ordeño fue manual, con temperaturas que oscilan entre 18°C a 1,3°C y localizada entre 2700 a 3100 msnm. Para determinar la prevalencia de la enfermedad se utilizó el California Mastitis Test (CMT) y para hallar los factores asociados se usó la regresión logística multivariada.

Se encontró 72,25% (151 de 209) de prevalencia de mastitis subclínica, considerando trazas como positivos, y 65,55% (137 de 209) de prevalencia de mastitis subclínica sin considerar trazas como positivos. De 15 variables estudiadas, solo 3 fueron consideradas en el modelo de regresión logística. Se encontró dos veces más riesgo a la mastitis subclínica en vacas de raza Holstein [$\exp(\beta) = OR = 2,117$] que en aquellas de otras razas, y en vacas con ausencia de higiene de manos antes del ordeño [$\exp(\beta) = OR = 2,096$]

que en vacas donde se realiza esta higiene; sin embargo, la edad de 3 a 4 años de las vacas [$\exp(\beta) = OR = 0,396$] fue un factor de protección que aquellas mayores a 4 años. Se concluye que la inclusión de trazas en la estimación de la prevalencia no incrementa su valor; existen factores de riesgo y de protección que están asociados con la ocurrencia de mastitis subclínica en bovinos [27].

En Huancavelica, se realizó la Tesis: Susceptibilidad de *salmonella sp.* aislada de cuyes (*cavia porcellus*) de crianza familiar· comercial a cinco antibacterianos in vitro en el distrito de Palca. El objetivo del presente estudio fue determinar la sensibilidad de *Salmonella sp.* aislada de Cuyes, frente a cinco antibacterianos. Los cuyes fueron criados bajo un sistema familiar comercial en la granja de cuyes "DE LA CRUZ" ubicado en el Distrito de Palea, Provincia y Región de Huancavelica.

Las muestras fueron remitidas al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Huancavelica para su análisis. Se colectaron muestras del hígado e intestino con lesión aparente (n=20). Para el aislamiento de *Salmonella sp.* Se utilizaron métodos convencionales y el análisis de sensibilidad a antibacterianos fue mediante el método de difusión por discos de Kirby-Bauer.

Las cepas de *Salmonella sp.* Se aislaron en el 90% de los cuyes en estudio, los resultados fueron el 83.33 (10/12)% fueron sensibles a la Enrofloxacina, el 41.67(5/12)%, al Cloranfenicol, el 33.33(4/12)% a la Estreptomicina, el 25.0(3/12)% al Sulfatrimetoprim; además se encontraron

cepas resistentes en 91.67(11/12)% a Neomicina, 33.33(4/12)% a Sulfatrimetoprim, 25.0(3/12)% a Cloranfenicol y 8.33(1/12)% a Estreptomicina. Estos resultados reportan la sensibilidad de Salmonela sp. a Enrofloxacin, haciendo de este antibacteriano buena alternativa para el tratamiento de la salmonelosis [28].

2.2. BASES TEÓRICAS.

2.2.1. Mastitis.

Mastitis se refiere a la inflamación de glándula mamaria y sus tejidos secretores, que reducen la producción del volumen de leche, alterando su composición, incluso su sabor, además de elevar su carga bacteriana normal. Es ocasionada por factores físicos, químicos, mecánicos o infecciosos. La causa de la inflamación se debe a la multiplicación de los microorganismos y a que los productos del metabolismo de éstos, lesionan el tejido glandular [29].

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; 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 [30].

La mastitis bovina es una inflamación de la glándula mamaria que provoca cambios en la composición bioquímica de la leche y en el tejido de la glándula. Es una de las enfermedades más comunes de las vacas lecheras, especialmente la raza Frisona, ya que es una de las razas más utilizadas para producir leche [31].

2.2.2. Formas de presentación.

Usualmente se hace referencia a la mastitis conforme a las cuatro clases siguientes:

- Mastitis clínica: una infección de la ubre que puede ser observada.
- Mastitis subclínica: es aquella en la que existe inflamación en ausencia de síntomas clínicos evidentes.
- Mastitis aguda: de comienzo repentino y manifiesta signos graves.
- Mastitis crónica: persiste durante mucho tiempo, pero no es grave [32].

2.2.3. Mastitis subclínica.

Se habla de mastitis subclínica cuando no hay cambios clínicamente detectables en la ubre, pero que al recurrir a métodos indirectos de campo o de laboratorio; éstos salen positivos [33]. Muchas veces no se llega a apreciar importancia económica de la mastitis subclínica porque la leche mantiene su apariencia normal [34]. Esta clase de enfermedad es importante por las siguientes razones:

Es de 15 a 40 veces más frecuente que su manifestación clínica.

Usualmente precede a la clínica.

Es difícil de detectar.

Reduce la producción de leche.

Afecta la calidad de la leche.

Esta forma subclínica es también muy importante porque constituye una reserva de microorganismos que transmiten la infección a otros animales en el hato [35].

2.2.4. Factores predisponentes de mastitis

2.2.4.1. Microorganismos.

Desde el punto de vista epidemiológico, los patógenos causantes de la mastitis se han clasificado en los siguientes tres grupos, de acuerdo a su origen y forma de transmisión en un hato:

Las que causan mastitis contagiosa, fundamentalmente:

***Streptococcus agalactiae*:** Éste es transmitido fácilmente de vaca a vaca durante el ordeño. La mastitis que produce generalmente es subclínica con exacerbaciones agudas. Por esta razón, las pérdidas más importantes radican en la producción. En infecciones crónicas, los organismos no producen abscesos ni fibrosis manifiestos, sino que disminuyen de modo permanente la productividad en las glándulas infectadas y elevaciones importantes en el recuento de células [35].

La principal fuente de infección se halla en la ubre, aunque a veces puede colonizar el conducto del pezón y también la piel del mismo, especialmente si estas superficies están agrietadas.

Este agente puede ser aislado de la cama de los pisos, el equipo de ordeño, manos de los ordeñadores y otros objetos, y su presencia en estos lugares, es consecuencia de contacto reciente con leche contaminada con este germen. Hay terneras que acostumbran a mamar unas a otras, se da entonces la contaminación con *S. agalactiae*. Muchas veces hay terneras que son alimentadas con leche contaminada con *S. agalactiae*, cuando estas tienen el hábito de mamar unas a otras pueden resultar infectadas, y al llegar al primer parto, la bacteria puede reactivarse y causar la enfermedad .

***Streptococcus dysgalactiae*:** Resiste perfectamente en el ambiente. Se encuentra habitualmente en la piel de pezón, particularmente cuando la integridad de la superficie está puesta en peligro por grietas, cortes o

por daño causado por la ordeñadora. También se halla presente en las tonsilas, por esta razón, la lamedura puede transmitir la infección a los pezones. Los estreptococos forman colonias muy pequeñas de bordes regulares, convexos, transparentes u opacos, con un diámetro de 0.5 a 2 mm. Son móviles y no esporulados, gram positivas, algunas especies pueden presentar cápsula y muchas especies son hemolíticas. Están agrupados en pares o cadenas [36].

***Staphylococcus aureus*:** son el segundo grupo de gérmenes más frecuentes causantes de mastitis. Un mal estado de piel y punta de pezón favorecen la colonización durante el ordeño. Genera una inflamación que puede hacerse crónica con alto conteo de células somáticas. Esta bacteria tiene la característica de reemplazar el tejido normal de la ubre progresivamente por tejido fibroso, lo cual hace que la producción de leche sea cada vez menor. Las infecciones de larga duración (desde varios meses hasta años) suelen ser subclínicas con apariciones periódicas de casos clínicos. Las inflamaciones intramamarias son muy difíciles de curar con antibióticos, ya que tienen la capacidad de penetrar los tejidos profundos y encapsularse en ellos.

Los *staphylococcus* son cocos esféricos, grampositivos dispuestos como racimos de uvas, inmóviles no esporulados. Forman colonias redondas de 1 a 2mm de diámetro de contornos netos; *S. aureus* produce colonias doradas, debido a pigmentos carotenoides que se forman durante su crecimiento [37].

***Corynebacterium bovis*:** Este microorganismo puede existir como comensal en la ubre de la vaca, pero es posible que produzca mastitis, al haber tejido previamente dañado. Forma colonias pequeñas de color blanco o crema en agar nutritivo [38].

***Mycoplasmas spp.*:** Existen dos especies que provocan mastitis: *M. bovis* y *M. californicum*. Son sumamente contagiosas y son capaces de propagarse rápidamente en un rebaño infectado. Su respuesta a los antibióticos es escasa. La mayoría de vacas infectadas por lo general tienen que ser sacrificadas. A pesar que las vacas infectadas no están enfermas clínicamente, la infección puede ocasionar un descenso pronunciado de la producción. Los cuartos afectados pueden estar hinchados y producir únicamente una secreción escasa o arenosa. Las colonias son de crecimiento lento y tienen una forma típica de huevo escalfado cuando crece en agar sangre [39].

Patógenos comunes del entorno ambiental

***Escherichia coli*:** Es una bacteria comensal del intestino grueso de la mayoría de animales de sangre caliente, por lo que puede llegar a contaminar la leche y/o ubre, directamente o indirectamente mediante materia fecal. Algunas cepas pueden ser patógenas oportunistas, con lo que demuestra la capacidad de algunas cepas para producir mastitis aguda. Se cree que el empleo de camas con abundante aserrín, que se humedecen y ensucian rápidamente con las heces, agudiza el problema.

Si las condiciones son favorables, puede alterar la leche y la mayoría de los productos lácteos, produciendo gas y un olor a suciedad o fecal. También puede llegar a producir viscosidad en la leche. Forma cepas hemolíticas y antihemolíticas de bacilos Gram negativos. Colonias mucoides de color cremoso – blanco en agar sangre.

Streptococcus uberis: Se distinguen dos especies, *Strep. uberis tipo I* y *Strep. uberis tipo II* o también llamado *Streptococcus parauberis*. Las dos especies son difícil de diferenciar teniendo un carácter patógeno similar, por tanto, ningún laboratorio convencional las distinguen.

El *S. uberis* es conocido mundialmente como un patógeno ambiental, responsable de la mayoría de casos de mastitis subclínica en vacas en lactación y, es predominantemente aislado, durante el período seco. A diferencia de otros microorganismos ambientales, éste se puede aislar de numerosos sitios del cuerpo de la vaca como del entorno. Por tanto, tiene la habilidad de sobrevivir y multiplicarse tanto dentro como fuera de la ubre.

El principal reservorio parece ser la piel de la ubre. Se ha aislado en numerosos lugares de la vaca, así como en la cama, e incluso, en pastos donde pastorea el ganado infectado. Son cocos, Gram positivos, inmóviles y forman cadenas de tamaño moderado [40].

Staphylococcus coagulasa negativos: Pueden habitar en el exterior como en el interior de las ubres infectadas. Se les denominan oportunistas

de la flora de la piel del pezón, la vagina, el pelaje y fosas nasales. Este grupo de bacterias incluye más de 50 especies y subespecies. Las bacterias más comunes aisladas de mastitis bovina son *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermitis*, *Staphylococcus hyicus* y *Staphylococcus simulans*. Patógenos no comunes del medio ambiente como *Arcanobacterium pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, levaduras, *Nocardia asteroides*, el alga incolora *Prototheca spp*, y muchos más [41].

2.2.4.2. El hombre

El rol del hombre en el problema de la mastitis juega un papel decisivo, como en el caso del ordeño mecánico, ya que debe conocer el buen uso y mantenimiento de la máquina, así como todo el proceso y medidas de bioseguridad previo y posterior al ordeño.

El papel del Médico Veterinario es importante, ya que debe velar por la aplicación correcta del procedimiento de ordeño, así como una buena limpieza y desinfección del equipo. Seleccionar los implementos, materiales y medicamentos que deben emplearse, e instruir al personal sobre su uso. Realizar controles periódicos de las vacas con pruebas como California Mastitis Test, cultivos de leche para antibiogramas y decidir, en base a los resultados, la mejor terapia, redistribución de lotes, el orden del ordeño y el análisis estadístico mensual de mastitis. Decidir

sobre el rol y método de secado de las vacas y recomendar la sacada de vacas con problema de mastitis [42].

2.2.4.3. La máquina de ordeño.

El uso inadecuado de la máquina ordeñadora se relaciona con la irritación de los tejidos y la incidencia de mastitis. Las erosiones de los pezones pueden proporcionar un sitio para que crezcan los organismos y esto incrementa las probabilidades de nuevas infecciones en las ubres. Las vacas clínicamente infectadas se deben ordeñar en último lugar. Después del ordeño los pezones se deben sumergir en una solución desinfectante como tintura de yodo, para sellarlos y evitar la entrada de microorganismos. El conjunto de pezoneras, las tuberías para la leche y otros utensilios se tienen que limpiar y sanear entre ordeños [43].

2.2.4.4. Manejo

En el manejo se incluye tanto la alimentación como el medio ambiente en que los animales viven. Una alimentación deficiente en energía y proteína tiene un efecto directo sobre la salud de la ubre de la vaca, ya que si se alimenta una vaca con estas deficiencias debilita los mecanismos de defensa de la ubre; por lo tanto, puede contribuir a la entrada de agentes patógenos que habitan en el ambiente de la vaca e infectar la glándula mamaria.

El manejo de la vaca tiene una influencia decisiva en el bienestar del animal y, con ello, en los mecanismos corporales de defensa y por otra

parte la limpieza del medio ambiente, en especial los corrales, tiene importancia para determinar la presencia de agentes patógenos. La Infraestructura es otro factor importante, ya que si hay alambre u otro material expuesto, puede llegar a lastimar el tejido de la ubre causando laceraciones o heridas, las cuales pueden contribuir a la entrada de agentes patógenos [44].

2.2.5. Patogenia

El proceso de infección puede dividirse en tres etapas:

Invasión: en esta etapa el microorganismo pasa del exterior de la ubre a la leche que se encuentra en el interior de la cisterna del pezón.

Infección: es en esta etapa en la que los microorganismos se multiplican rápidamente e invaden el tejido mamario; y donde se establece una población bacteriana que se disemina por toda la glándula, dependiendo de la patogenicidad del microorganismo.

Inflamación: es el resultado de la acción de estos agentes y sus toxinas sobre el delicado tejido secretor (mastitis) aumentando notablemente la cuenta leucocitaria en la leche ordeñada [45].

2.2.6. Diagnóstico

Ya que en la mastitis subclínica no es posible ver alteraciones evidentes a nivel de glándula mamaria, se requiere de pruebas especiales para detectar la presencia de un proceso inflamatorio. Este proceso causa una serie de cambios en la composición de la leche, que sirven de base para muchas pruebas de diagnóstico. Uno de los métodos es la identificación del

agente causal mediante cultivos microbiológicos, así como el conteo de células somáticas en la leche [46].

2.2.6.1. Test de california para mastitis (CMT).

Es una prueba indirecta que determina la cantidad de DNA, que depende principalmente del número de leucocitos nucleados existentes en la leche.

Basada en la cantidad de gel que existe cuando reaccionan volúmenes iguales de leche y reactivo, la prueba se lee subjetivamente como:

Negativa, traza, 1, 2,3; estas puntuaciones equivalen a los niveles de células somáticas presentes en la leche [47].

Procedimiento

Se toma una muestra de leche de cada cuarto en una raqueta de CMT limpia. La raqueta tiene cuatro pequeños compartimientos marcados como A, B, C, y D para identificar los cuartos de los que proviene cada muestra.

Paso 1: Se toma aproximadamente 2 cc de leche de cada cuarto.

Paso 2: Se agrega igual cantidad de solución CMT a cada compartimiento.

Paso 3: Se rota la raqueta con movimientos circulares hasta mezclar totalmente el contenido.

Paso 4: Leer rápidamente la prueba. La reacción visible desaparece en unos 20 segundos. La reacción recibe una calificación visual. Entre más gel se forme, mayor es la calificación [48].

2.2.6.2. Test de wisconsin para mastitis (WMT)

Esta prueba se basa en el mismo principio que la prueba de CMT, pero en este caso se utiliza el reactivo de California diluido al 50% con agua destilada [48].

2.2.6.3. Cuenta microscópica de células somáticas

Este método consiste en la observación de una muestra de leche colocada sobre una laminilla, mediante un microscopio para la identificación y conteo del número de células somáticas, cuyo resultado será CS/ ml de leche.

Durante la inflamación se producen otros cambios en la leche como son la presencia de albúmina sérica bovina.

Que se debe a que la permeabilidad capilar aumenta durante un proceso inflamatorio, también hay incremento en la concentración de sodio, cloruros y en la conductividad eléctrica, ya que la secreción láctea de una glándula mamaria con mastitis tiende a elevar la conductividad eléctrica por el elevado contenido electrolítico.

Especialmente en iones de sodio y cloro, lo que se presenta como uno de los primeros signos de mastitis; niveles superiores a 6.9mS/cm entre 20-30°C son anormales.

La disminución en el contenido de lactosa y potasio y la presencia o aumento en la concentración de una serie de proteínas séricas y enzimas también son cambios producidos en leche mastítica. En casos de mastitis, el contenido de cloro en la leche tiende a incrementarse en proporción a la

lactosa, lo que ocasiona en la leche un ligero sabor salado. Se considera que el Ph de leche proveniente de glándulas mamarias afectadas por mastitis es alcalino, lo que se atribuye a la disminución de la lactosa e incremento de sales que pasan de sangre a la leche [49].

2.2.7. Análisis microbiológico

El análisis microbiológico de las muestras de leche consiste en la obtención aséptica de las muestras, identificación, transporte y almacenamiento adecuado, siembra e identificación de los microorganismos aislados y prueba de susceptibilidad a los antibióticos. [49]

2.2.7.1. Pruebas bacteriológicas

Estas pruebas permiten la identificación bastante rápida de los grupos principales de organismos mastíticos, por medio de cultivos en diferentes agares. Después de ser incubados a 37°C, durante 24 – 48 horas; los medios de cultivo son examinados para la identificación y selección de los organismos según su aspecto en las placas de cultivo, de acuerdo a su pigmentación, morfología y tamaño, así como su reacción a tinción Gram. Algunas bacterias desdoblan la sangre, para dar un anillo de hemólisis o aclaramiento de la sangre alrededor de las colonias que crecen en la placa de agar; a esto se le conoce como hemólisis [50].

2.2.7.2. Sensibilidad y resistencia antibiótica

La determinación de la sensibilidad está indicada en los casos en que el microorganismo causal de la infección pertenezca a una especie incapaz de exhibir resistencia a los antibióticos de uso clínico.

La resistencia de los microorganismos frente a los antibióticos puede ser natural o intrínseca, mutacional o adquirida. Los mecanismos de resistencia a los agentes antimicrobianos incluyen: producción de enzimas inactivantes, alteraciones en el sitio de acción y modificaciones en el ingreso o el flujo del antibiótico [51].

2.2.7.2.1. Método de kirby- bauer (método de difusión)

Este método consiste en la inoculación de una cantidad de la bacteria aislada, sembrándola de forma pareja sobre la superficie de una placa de agar Müller-Hinton. El principio consiste que al colocar los discos de papel de filtro impregnados con concentraciones conocidas de los diferentes antibióticos, sobre la placa ya inoculada; luego de 24 – 48 horas de incubación a 37 °C se formará por difusión, un gradiente de concentración de antimicrobiano alrededor de los discos y la sensibilidad del microorganismo estará indicada por el tamaño de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano (halo).

Esto se interpreta de acuerdo a tablas confeccionadas previamente. Los resultados se expresan como: Sensible (S), Intermedio o Moderadamente sensible (I) y Resistente (R) [52].

2.2.7.2.2. Fundamentos para la interpretación de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos por el método de difusión.

Sensibles: Un microorganismo se considera sensible a un antibiótico cuando el mismo responda al tratamiento con dicho fármaco a la dosis recomendada.

Resistente: Este término indica que no es probable que la infección causada por el microorganismo responda al antibiótico en cuestión, cualesquiera que sean las dosis y la localización de la infección.

Sensibilidad intermedia: Se aplica a dos situaciones.

Por un lado, se incluyen en ella las cepas con sensibilidad disminuida a un antibiótico que puede utilizarse con éxito, para el tratamiento en dosis más altas, por ser poco tóxico o porque se concentra en el foco de infección [52].

2.2.8. Terapia antimicrobiana

Desde hace varios años, el uso indiscriminado de antimicrobianos, sin basarse en el aislamiento y tipificación del agente causal ha contribuido en gran medida a la aparición de cepas microbianas resistentes

Dado que no se puede predecir la susceptibilidad de los agentes, es necesario estudiar la sensibilidad de cada microorganismo a diferentes fármacos, pudiendo elegir así el fármaco más apropiado contra el patógeno, el menos tóxico para el huésped y el más económico [53].

2.2.8.1. Antibiótico

Cuando se intente tratar un caso de mastitis se deben tener en cuenta tres aspectos fundamentales: eficiencia, costo - beneficio y residuos de fármaco en leche. Muchos autores recomiendan que el momento ideal para tratar la mastitis subclínica es al final de la lactancia, este tratamiento, llamado comúnmente "de vaca seca", no sólo cura un alto porcentaje de las

infecciones presentes en el momento del secado, sino también previene la presentación de nuevas infecciones durante el período seco.

Tiene una cura más alta que cuando se trata durante la lactación, el tejido dañado puede regenerarse antes de que vuelva a producir, disminuyen los casos de enfermedad durante la lactación y no hay pérdidas por el tiempo de retiro ni la leche vendible está contaminada con residuos de antibióticos.

El tratamiento de una mastitis por vía parenteral es una opción que debe considerarse en todos aquellos casos donde exista una reacción sistemática notable, en mastitis clínicas y en situaciones donde la glándula mamaria está muy inflamada y las infusiones intramamarias no puedan difundirse a todas las partes del tejido glandular [54].

2.2.9. Prevención

Son varios los factores que intervienen en la prevalencia de la enfermedad en los hatos lecheros, por lo que los métodos de control deberán de ir dirigidos a cada uno de esos factores. Desde luego, los programas de alimentación son vitales ya que la eficiencia fisiológica dará una mayor resistencia, debiendo de considerarse en forma muy particular, el suplementario con minerales y vitaminas de alta absorción y alta calidad.

Un buen manejo como la higiene en corrales y sala de ordeño son muy importantes ya que a menor nivel de higiene, mayor riesgo de infección, mientras que un buen manejo reduce drásticamente el uso de antimicrobianos; por lo tanto, una explotación no pierde, porque no hay animales enfermos ni tiempo de retiro.

El bañar al ganado suele ser perjudicial ya que un exceso de agua desde la parte alta del cuerpo arrastrará mayor cantidad de tierra y detritus hacia la zona de la ubre, aumentando el riesgo de contraer infecciones. Por ello una buena higiene de la ubre, buen secado con toallas individuales y la implementación de sellado con elementos inocuos para la ubre, como el yodo, son suficientes. Es recomendable realizar una vez al mes pruebas diagnósticas como California y/o Wisconsin para conocer el nivel de infección del hato. Esto nos indicará la etiología presente y nos ayudará a establecer un programa terapéutico adecuado sin el uso de antimicrobianos en forma indiscriminada.

Previo al secado de las vacas es importante realizar pruebas físicas, químicas y microbiológicas de la ubre, para que de esta forma se proceda a hacer un plan de saneamiento. Esto permite en gran parte evitar la aparición de futuras infecciones por un mal secado.

Deben realizarse chequeos periódicos del equipo de ordeño por lo menos cada 6 meses y realizar diariamente una correcta limpieza e higiene del equipo de ordeño.

Para evitar la diseminación de la enfermedad se recomienda dejar a las vacas enfermas de último para el ordeño y no dejar que los becerros mamen de esa leche.

La vacunación contra mastitis causada por *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* ha sido implementada en varios países; aunque todavía está siendo estudiada, las primeras experiencias han dado resultados en su mayoría

positivos, los casos de mastitis aguda han disminuido y el número de células somáticas ha reducido [55].

2.2.10. Importancia económica

El principal problema patológico en las lecherías lo representa la mastitis subclínica. Análisis indican que la frecuencia de mastitis subclínica es de 20 a 50 veces superior a la clínica, representando entre el 70 – 80% de las pérdidas de leche, donde el cuarto enfermo, representa una pérdida en producción de leche del 20% menor, en comparación al cuarto sano.

Los principales factores que causan pérdidas por la presencia de mastitis subclínica, se pueden clasificar en:

Primarios:

1. Pérdidas por descarte de leche.
2. Gastos de medicamentos y veterinarios.

Secundarios:

1. Drástica disminución en la producción lechera en vacas afectadas. A pesar de esto, el consumo alimenticio sigue siendo el mismo; por lo tanto, el equilibrio costo-beneficio se ve afectado.
2. Penalización por alto conteo de células somáticas y bacterias en leche.
3. Residuos de antibióticos o químicos en leche por tratamiento de la ubre.
4. El consumidor exige que la leche provenga de animales sanos. Para la industria de lácteos son muy significativas las transformaciones causadas a la leche por la mastitis, y que el tiempo de cuajado aumenta,

en el caso de producción de queso, y, la cantidad y calidad de queso disminuye considerablemente (menos grasa y menos proteína).

5. Pérdida de cuartos mamarios en infecciones severas o crónicas y descarte de vacas al rastro.

Además, es importante mencionar, que el consumir leche contaminada con microorganismos puede ser perjudicial para la salud humana. Asimismo, la mastitis subclínica es difícil de detectar, por la naturaleza oculta de la enfermedad, y, predispone la aparición de mastitis clínica. La mayoría de las pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis se deben a infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* o *Escherichia coli* [56].

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.

- **Mastitis:** La mastitis, o la inflamación de la glándula mamaria, es la enfermedad más común y costosa del ganado lechero en la mayor parte del mundo [44].
- **Mastitis subclínica:** En la mastitis subclínica no se manifiestan síntomas visibles y solamente se puede confirmar la condición de la ubre mediante pruebas específicas para determinar la presencia de patógenos, productos metabólicos de desecho (toxinas y la concentración de células somáticas) [57].
- **Patógenos:** Los patógenos son agentes (virus, bacterias u otros) que pueden causar enfermedades [58].

- **California mastitis test:** Uno de los mejores caminos para detectar el índice de mastitis es el CMT - California Mastitis Test [18].
- **Antibiótico:** El antibiótico es, por definición, aquel que se opone a la vida. Los antibióticos son sustancias utilizadas para impedir el desarrollo de bacterias en el cuerpo humano [48].
- **Inflamación:** La inflamación (del latín inflammatio: encender, hacer fuego) es la forma de manifestarse de muchas enfermedades. Se trata de una respuesta inespecífica frente a las agresiones del medio, y está generada por los agentes inflamatorios [55].
- **Infección:** Infección es la invasión de un anfitrión por un microorganismo patógeno, su multiplicación en los tejidos y la reacción del anfitrión a su presencia y a la de sus posibles toxinas. Las infecciones pueden deberse a bacterias, hongos, virus, protozoos o priones. Las infecciones pueden ser además locales o sistémicas [55].
- **La resistencia antibiótica:** Es la capacidad de un organismo para resistir los efectos de un antibiótico. Se produce naturalmente por selección natural a través de mutaciones producidas al azar [42].
- **Antibacteriano:** Término se refiere a una sustancia cuyas propiedades son capaces de eliminar agentes bacterianos o la inhibición de su crecimiento o proliferación sin incurrir en el daño del objeto, ambiente u organismo que los porta [15].

- **Antimicrobiano:** Un antimicrobiano es una sustancia química que, a bajas concentraciones, actúa contra los microorganismos, destruyéndolos o inhibiendo su crecimiento [20].

2.5. IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES.

VARIABLE INDEPENDIENTE:

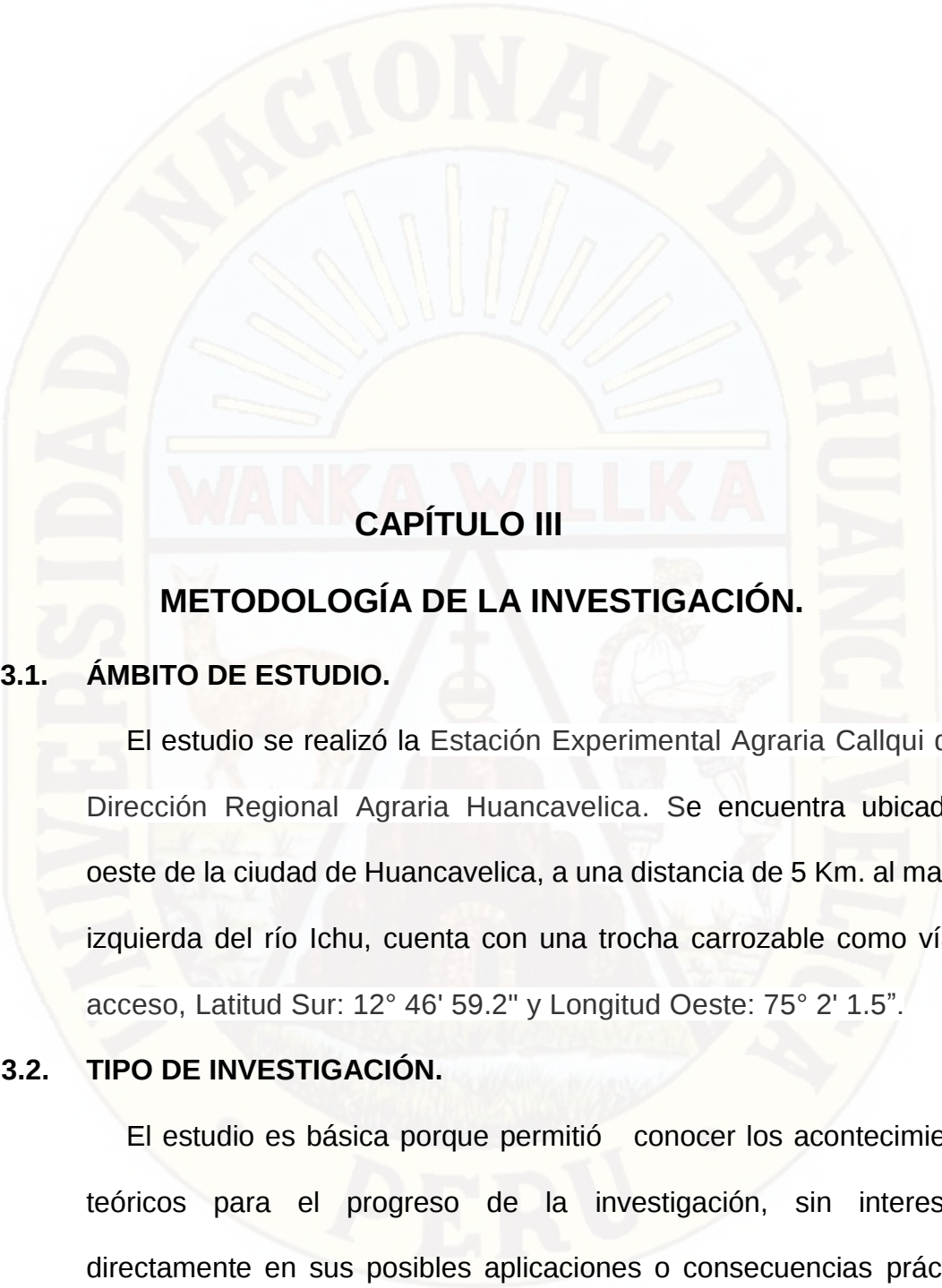
- Agentes causantes de mastitis.

VARIABLE DEPENDIENTE:

- Resistencia antibiótica de los agentes causantes de mastitis.

2.6. DEFINICIÓN OPERATIVA DE VARIABLES E INDICADORES.

VARIABLE	INDICADORES
Agentes causantes de mastitis de las vacas del establo lechero Callqui.	• Carga bacteriana (colonias Ufc/ml)
Resistencia antibiótica de los agentes causantes de mastitis de las vacas del establo lechero Callqui.	• Número de discos en la placa • Medición de la zona de inhibición Sensibles Resistente Sensibilidad intermedia



CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.

3.1. ÁMBITO DE ESTUDIO.

El estudio se realizó la Estación Experimental Agraria Callqui de la Dirección Regional Agraria Huancavelica. Se encuentra ubicado al oeste de la ciudad de Huancavelica, a una distancia de 5 Km. al margen izquierda del río Ichu, cuenta con una trocha carrozable como vía de acceso, Latitud Sur: 12° 46' 59.2" y Longitud Oeste: 75° 2' 1.5".

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN.

El estudio es básica porque permitió conocer los acontecimientos teóricos para el progreso de la investigación, sin interesarse directamente en sus posibles aplicaciones o consecuencias prácticas [59].

3.3. NIVEL DE INVESTIGACIÓN.

Descriptivo, porque se describió los datos y las características de la población en el estudio [60].

3.4. MÉTODO DE INVESTIGACIÓN.

Deductivo: Es un modo de razonar que nos lleva de lo general a lo particular o de un todo a una parte [61].

3.5. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.

Diseño no experimental, la presente investigación se desarrolló de acuerdo al cronograma establecido, donde se evaluó la sensibilidad antimicrobiana de los agentes causantes de la mastitis la identificación.

El esquema es lo siguiente:

M — O

Donde:

M: Muestra

O: Observación

3.6. POBLACIÓN MUESTRA MUESTREO.

3.6.1. Población.

Las 16 vacas en producción del establo lechero de Callqui.

3.6.2. Muestra.

Las siete vacas en producción que presentaron mastitis clínica y subclínica.

3.7. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

3.7.1. Técnicas

- Se realizó el Test de “T.C.M” (Prueba Mastitis California) para diagnóstico de mastitis subclínica.
- Para el aislamiento bacteriológico se siguió la técnica Aquiahuatl y col, 2004. (Anexo 3)
- Para conocer la resistencia a los antibióticos se aplicó la técnica de Kirby Bauer, la cual consiste en utilizar una sola concentración de antibiótico y medir el tamaño de la zona de inhibición.(Anexo 4)

3.7.2. Instrumentos.

- Test de “T.C.M” (Prueba Mastitis California), (Anexo 1).
- La toma de muestras se realizó de acuerdo a las instrucciones recomendadas por el National Mastitis Council. (NMC) (Anexo 2)

3.8. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Teniendo clasificadas las vacas a utilizar se recolecto aproximadamente 10 ml de leche en tubos falcón, identificando cada tubo y colocándolas en hielera para su respectivo transporte.

3.8.1. Procedimiento de recolección de datos en el laboratorio.

Las muestras de cada grupo (trazas, I, II y III) se trasladaron en refrigeración al laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Huancavelica, donde se procesaron para el aislamiento bacteriano y la realización del antibiograma.

3.8.2. Procedimiento de aislamiento bacteriológico.

Se tomaron 5 ml de cada muestra, Luego se procedió a realizar la siembra bacteriológica dentro de la cámara de bioseguridad en los medios de cultivo Agar Sangre y Agar Mac Conkey, Agar manitol. Dichos cultivos se incubaron a 37°C, por 24 horas.

Pasado las 24 horas se procedió a realizar la lectura de las placas, realizando un estudio macroscópico y microscópico de las colonias. Para el estudio microscópico se realizó coloración Gram. Con estos estudios se identificaron las bacterias aisladas.

3.8.3. Procedimiento para el antibiograma.

Teniendo el agente causal se realizó el antibiograma. Se utilizó una concentración de bacterias de 0.5 en la escala de Mc Farland, haciendo lectura en el Nefelómetro.

Luego se realizara la siembra en Agar Nutritivo. Se colocaran los sensidiscos con los antibióticos de elección: Amoxicilina, Penicilina, Gentamicina, Tetraciclina, Enrofloxacina

Por último, se incubaran a 37°C, por 24 -48 horas y luego se realizara la lectura para verificar si eran sensibles o no a los antibióticos colocados.

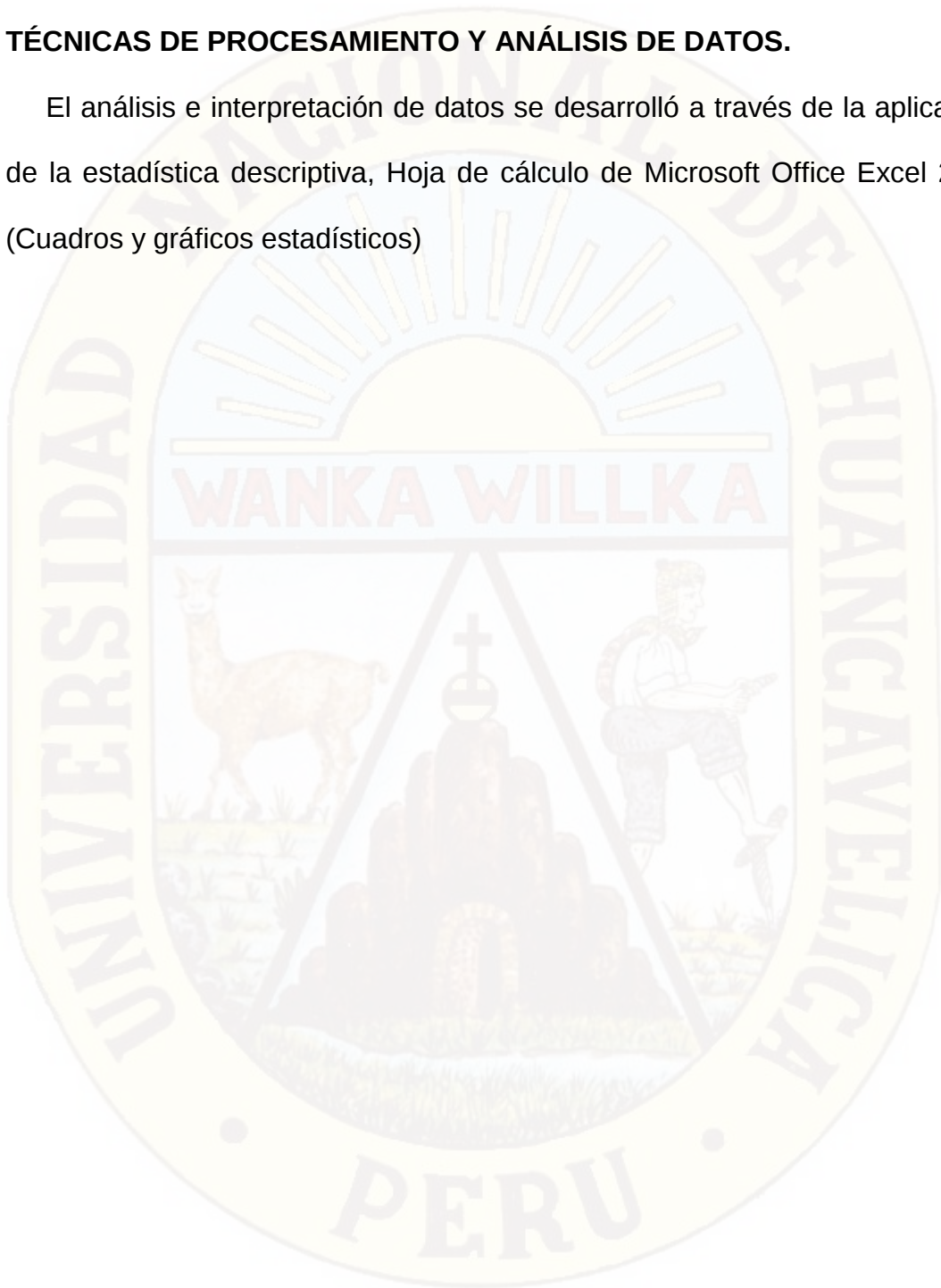
3.8.4. Procedimiento para la interpretación del antibiograma.

Para la lectura de los resultados, dependiendo del halo de inhibición formado, se realizara la lectura midiendo en milímetros con una regla y comparando con una tabla de parámetros ya establecidos para cada

antibiótico, con lo cual se determinó la sensibilidad o resistencia de cada microorganismo aislado.

3.9. TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS.

El análisis e interpretación de datos se desarrolló a través de la aplicación de la estadística descriptiva, Hoja de cálculo de Microsoft Office Excel 2013 (Cuadros y gráficos estadísticos)



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

Tabla 1

Resultados de la prueba California Mastitis (CMT), a las 16 vacas en producción del Establo Lechero Callqui.

Nombre	Arete	Edad -		Cuartos Infeccionados *			
		Años	AI	AD	PI	PD	
Romina	258	12	-	-	-	+	
Roció	192	9	-	-	-	-	
Nancy	302	7	-	-	-	-	
Alicia	182	6	-	-	++	-	
Celeste	356	12	-	++	-	-	

Paulina	186	9		-	-	+
Nelly	200	5	-	-	-	-
Roxana	358	8	-	-	-	-
Paola	156	8	++	-	-	-
Belinda	314	12	-	-	-	-
Erika	11	5	-	-	-	-
Belén	326	7	-	++	-	-
Rufina	280	6	-	-	-	-
Sally	225	9	-	-	-	-
Alexia	155	5	-	-	-	-
Perica	222	7	+	-	-	+++

* : - Negativo , + Positivo débil , ++ Positivo evidente , +++ Positivo fuerte

AI : Anterior Izquierdo , AD :Anterior derecho , PI : Posterior Izquierdo , PD: Posterior derecho

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 2

Resumen de la prueba California Mastitis (CMT)

Resultado	Número de muestras	Total (%)
Mastitis clínica	1	6
Mastitis sub clínica	6	38
Negativos a mastitis	9	56
Total	16	100

Fuente: Elaboración propia.

El resumen del resultado de la prueba de mastitis conocida como California Mastitis (CMT), del total de vacas en producción del Establo Lechero Callqui, el 44 % dieron positivo de los cuales 6 % dio positivo a mastitis clínica (positivo fuerte) y 38 % a mastitis sub clínica (positivo débil, positivo evidente)

Tabla 3:

Microorganismos aislados según tipo de mastitis (CMT).

Agente etiológico	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Streptococcus sp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	Total
Traza (+)	0	2	0	0	2
Traza (++)	6	2	1	4	13
Traza (+++)	2	0	1	0	3
	8	4	2	4	18
Total	44%	22%	12%	22%	100%

* : - Negativo , + Positivo débil , ++ Positivo evidente , +++ Positivo fuerte

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados correspondientes al aislamiento bacteriológico, según grado de mastitis. *Staphylococcus aureus*, fue el microorganismo aislado más frecuente (44 %).

Tabla 4

Resultados en porcentaje de la prueba de sensibilidad de *Staphylococcus aureus*.
a cinco Antibacterianos mediante el método de Kirby – Bauer.

Prueba de sensibilidad a <i>Staphylococcus aureus</i>									
Antibacteriano	Disco (ug)	Resistente		Intermedio		Sensible		Total de placas Nº placas	Total %
		Nº placas	%	Nº placas	%	Nº placas	%		
Enrofloxacina	5	0	0	2	17	10	83	12	100
Tetraciclina	30	10	83	2	17	0	0	12	100
Gentamicina	10	0	0	4	33	8	67	12	100
Penicilina	10	9	75	3	25	0	0	12	100
Amoxicilina	25	1	8	11	92	0	0	12	100

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados obtenidos en la prueba de sensibilidad a cinco antibacterianos en 12 pruebas (placas petri con discos de sensibilidad) a partir de cepas aisladas de *Staphylococcus aureus* el 83 % fueron sensibles a Enrofloxacina, el 67 % a Gentamicina y 92 % fueron medianamente sensible a Amoxicilina. Además, se encontraron cepas resistentes el 83 % a Tetraciclina y el 75% a Penicilina.

Tabla 5

Resultados en porcentaje de la prueba de sensibilidad de *Staphylococcus sp.* a cinco Antibacterianos mediante el método de Kirby – Bauer.

Prueba de sensibilidad a <i>Staphylococcus sp.</i>									
Antibacteriano	Disco (ug)	Resistente		Intermedio		Sensible		Total de placas	Total
		Nº		Nº		Nº		Nº placas	
		Placas	%	Placas	%	Placas	%		
Enrofloxacina	5	0	0	2	25	6	75	8	100
Tetraciclina	30	2	25	6	75	0	0	8	100
Gentamicina	10	0	0	0	0	8	100	8	100
Penicilina	10	8	100	0	0	0	0	8	100
Amoxicilina	25	6	75	2	25	0	0	8	100

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados obtenidos en la prueba de sensibilidad a cinco antibacterianos en 8 pruebas (placas petri con discos de sensibilidad) a partir de cepas aisladas de *Staphylococcus sp.* +, el 75 % fueron sensibles a Enrofloxacina, el 100 % a Gentamicina y el 75 % fueron medianamente sensible a Tetraciclina. Además, se encontraron cepas resistentes el 100 % a Penicilina y el 75 % a Amoxicilina.

Tabla 6

Resultados en porcentaje de la prueba de sensibilidad de *Escherichia coli* a cinco Antibacterianos mediante el método de Kirby – Bauer.

Prueba de sensibilidad a <i>Escherichia coli</i> .									
Antibacteriano	Disco (ug)	Resistente		Intermedio		Sensible		Total de placas	Total
		Nº		Nº		Nº		Nº placas	%
		Placas	%	Placas	%	Placas	%		
Enrofloxacina	5	0	0	2	25	6	75	8	100
Tetraciclina	30	0	0	0	0	8	100	8	100
Gentamicina	10	0	0	0	0	8	100	8	100
Penicilina	10	2	25	5	62	1	13	8	100
Amoxicilina	25	0	0	3	38	5	62	8	100

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados obtenidos en la prueba de sensibilidad a cinco antibacterianos en 8 pruebas (placas petri con discos de sensibilidad) a partir de cepas aisladas de *Escherichia coli*, el 75 % fueron sensibles a Enrofloxacina, el 100 % a Tetraciclina, el 100 % a Gentamicina y el 62 % a Amoxicilina. Además, se encontraron cepas medianamente sensibles a Penicilina 13 %.

Tabla 7

Resultados en porcentaje de la prueba de sensibilidad de *Streptococcus sp.* a cinco Antibacterianos mediante el método de Kirby – Bauer.

Prueba de sensibilidad a <i>Streptococcus sp.</i>									
Antibacteriano	Disco (ug)	Resistente		Intermedio		Sensible		Total de placas	Total
		Nº placas	%	Nº placas	%	Nº placas	%	Nº placas	%
Enrofloxacina	5	1	17	5	83	0	0	6	100
Tetraciclina	30	2	33	0	0	4	67	6	100
Gentamicina	10	1	17	0	0	5	83	6	100
Penicilina	10	4	67	2	33	0	0	6	100
Amoxicilina	25	0	0	5	83	1	17	6	100

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados obtenidos en la prueba de sensibilidad a cinco antibacterianos en 6 pruebas (placas petri con discos de sensibilidad) a partir de cepas aisladas de *Streptococcus sp.*, el 83 % fueron sensibles a Gentamicina, y el 67 % a Tetraciclina y el 83 % fueron medianamente sensible a Enrofloxacina y Amoxicilina. Además, se encontraron cepas resistentes el 67 % a Penicilina.

En el Gráfico 01. Se detalla el análisis estadístico de los resultados de la eficacia del antibiótico Enrofloxacin frente a las bacterias causantes de mastitis en las vacas del establo lechero Callqui, siendo sensibles y óptimos para el control de *Staphylococcus sp.*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Mas no recomendable para el tratamiento frente a *Streptococcus sp.*

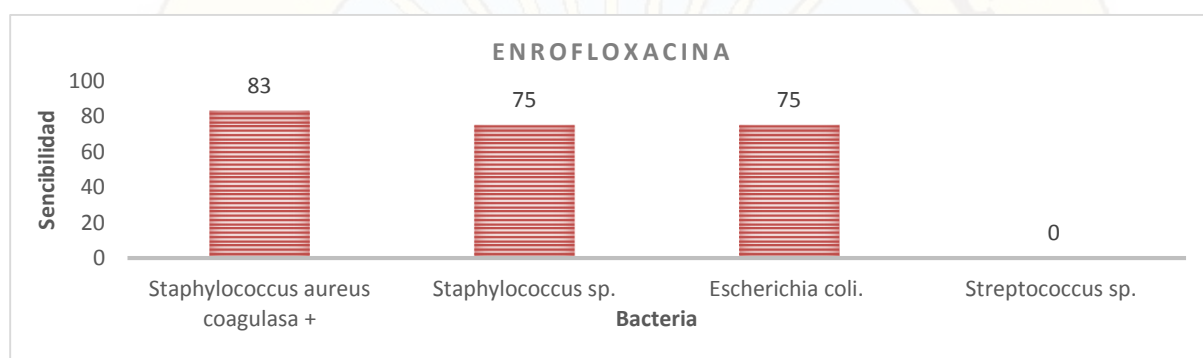


Grafico 1: Eficacia del antibiótico Enrofloxacin frente a las bacterias causantes de mastitis en las vacas del establo lechero Callqui

En el Gráfico 02. Se detalla el análisis estadístico de los resultados de la eficacia del antibiótico Tetraciclina frente a las bacterias causantes de mastitis en las vacas del establo lechero Callqui, siendo sensibles y óptimos para el control de *Streptococcus sp.*, *Escherichia coli*. Mas no recomendable para el tratamiento frente a *Staphylococcus sp.* y *Staphylococcus aureus*.

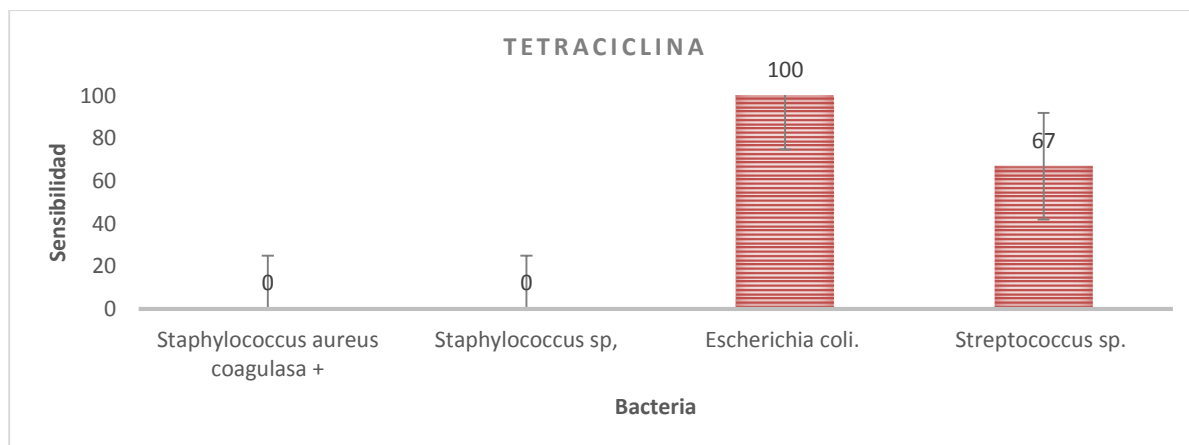


Grafico 2: Eficacia del antibiótico Tetraciclina frente a las bacterias causantes de mastitis en las vacas del establo lechero Callqui

En el Gráfico 03. Se detalla el análisis estadístico de los resultados de la eficacia del antibiótico Gentamicina frente a las bacterias causantes de mastitis en las vacas del establo lechero Callqui, siendo sensibles y óptimos para el control de todas las bacterias aisladas: *Streptococcus sp.* , *Escherichia coli*, *Staphylococcus sp.* y *Staphylococcus aureus* .

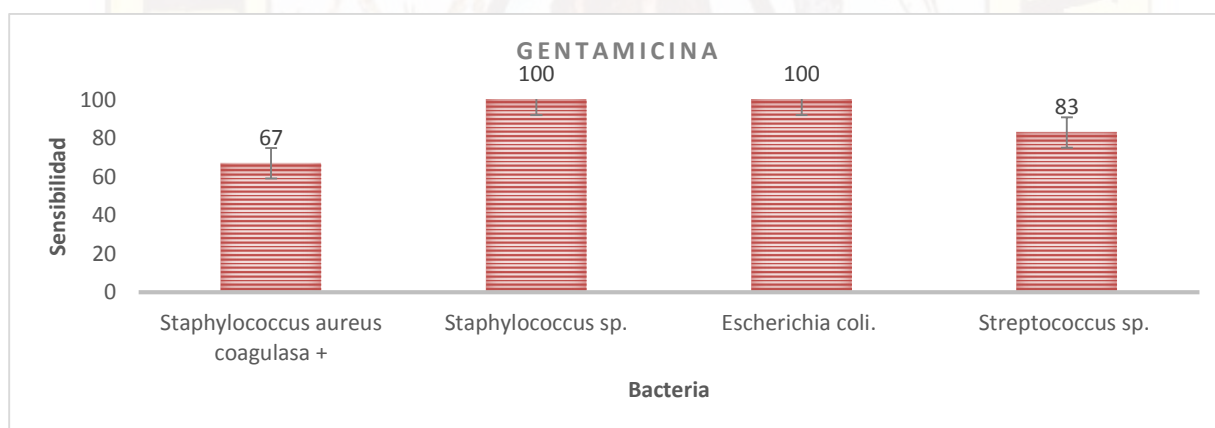


Grafico 3: Eficacia del antibiótico Gentamicina frente a las bacterias causantes de mastitis en las vacas del establo lechero Callqui

En el Gráfico 04. Se detalla el análisis estadístico de los resultados de la eficacia del antibiótico Penicilina frente a las bacterias causantes de mastitis en las vacas del establo lechero Callqui, no es recomendable para el tratamiento por ser resistentes a este antibiótico todas las bacterias aisladas: *Streptococcus sp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus sp.* y *Staphylococcus aureus*.

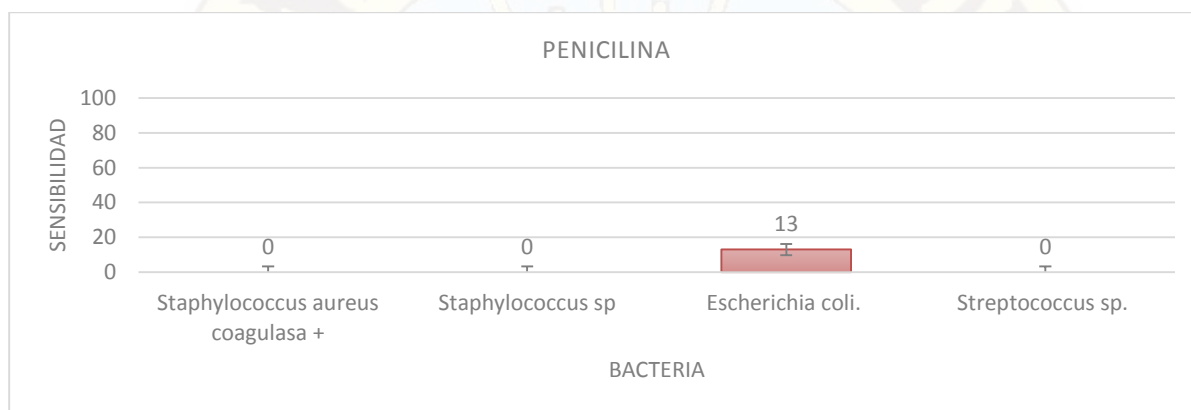


Grafico 4: Eficacia del antibiótico Penicilina frente a las bacterias causantes de mastitis en las vacas del establo lechero Callqui

En el Gráfico 05. Se detalla el análisis estadístico de los resultados de la eficacia del antibiótico Amoxicilina frente a las bacterias causantes de mastitis en las vacas del establo lechero Callqui, siendo sensible y óptimo para el control de *Escherichia coli*. Mas no recomendable para el tratamiento frente a *Staphylococcus sp.* y *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus sp*

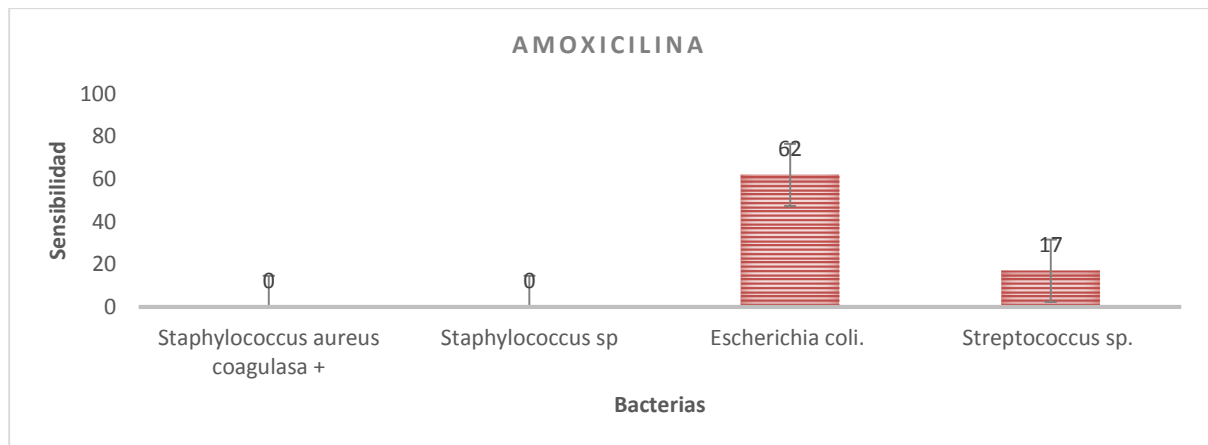


Grafico 4: Eficacia del antibiótico Amoxicilina frente a las bacterias causantes de mastitis en las vacas del establo lechero Callqui

4.2. DISCUSIÓN

La bacteria *Staphylococcus aureus* fue el mayor causante de mastitis, representando más del 44 % de la microbiota encontrada, lo cual concuerda con Ayala (2009) , donde mencionan que durante años *Staphylococcus aureus* ha sido y sigue siendo la principal causa de problemas relacionados con mastitis ya que posee varios factores de virulencia como enzimas, proteínas y ácidos entre otros, que le permiten sobrevivir y diseminarse en el tejido de la ubre, dando lugar a infecciones de larga duración.

Se realizó la investigación denominado” Susceptibilidad a antibióticos de *staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina” Con el resultado que el mayor porcentaje de resistencia se observó frente a penicilina, Norma (2008).

Datos que son similares a los encontrados en el establo lechero de Callqui. La sensibilidad de *Staphylococcus aureus* frente a la Penicilina es (0%) demostrando gran resistencia.

Se realizó el trabajo “Resistencia de las bacterias causantes de mastitis bovina frente a los antimicrobianos más frecuentes. Concluyendo que qué las bacterias causantes de mastitis en las regiones en estudio presentan resistencia a más de un antimicrobiano.

Se observaron valores elevados de resistencia (> 25%), frente a amoxicilina, ampicilina, penicilina, estreptomina y lincomicina en las cepas aisladas, Martín (2002). Datos que se asemejan al estudio realizado en el establo lechero de Callqui puesto que las cepas causantes de mastitis demostraron resistencia a al menos un antibiótico donde en cepas de *Staphylococcus aureus* se encontraron cepas resistentes el 83 % a Tetraciclina y el 75% a Penicilina, *Staphylococcus sp* se encontraron cepas resistentes el 100 % a Penicilina y el 75 % a Amoxicilina, *Escherichia coli* se encontraron cepas medianamente sensibles a Penicilina 13 % y *Streptococcus sp* se encontraron cepas resistentes el 67 % a Penicilina. Siendo recomendable que la adquisición de estos fármacos se realice a través de receta veterinaria, instaurando además programas permanentes de monitoreo de resistencia bacteriana en el establo lechero de Callqui.

Se realizó la tesis “Perfil de resistencia in vitro a antimicrobianos de cepas causantes de mastitis aisladas de leche cruda bovina en establecimientos de pequeña y mediana producción donde se encontró que *Staphylococcus sp*

46,4%, fue la bacteria mayor causante de mastitis, Aponte (2007). Datos que difieren a lo encontrado en el establo lechero de Callqui puesto que La bacteria *Staphylococcus aureus* fue el mayor causante de mastitis, representando más del 44 % de la microbiota encontrada.

La resistencia y la multirresistencia observadas son elevadas en ambas investigaciones, estos resultados permiten disponer de información actualizada para orientar el uso racional de los antimicrobianos.

Se realizó la tesis “Determinación de resistencia antibiótica de patógenos bacterianos aislados de mastitis clínica bovina de crianza intensiva en Lurín, Perú”. Se determinó las resistencia antibiótica de los agentes patógenos más importantes encontrándose que en el establo las cepas de *Staphylococcus aureus* presentaban resistencia a Penicilina 65 %.

Datos similares a lo encontrado ya que los resultados de la eficacia del antibiótico penicilina frente a las bacterias causantes de mastitis en las vacas del establo lechero Callqui, no es recomendable para el tratamiento por ser resistentes a este antibiótico todas las bacterias aisladas: *Streptococcus sp.* , *Escherichia coli*, *Staphylococcus sp.* y *Staphylococcus aureus* .

Se realizó la tesis “Determinación de las bacterias causantes de mastitis subclínica y su sensibilidad a los antibióticos en vacas lecheras”, donde La bacteria *Staphylococcus aureus* fue la más frecuentemente aislada, representando más del 50% de la microbiota encontrada en cada mes.

En segundo lugar se aisló *Staphylococcus sp.* Así, como también *Streptococcus* y *Corynebacterium sp.* en menor porcentaje, Suchitepéquez

(2014). Datos que difieren ligeramente con los encontrados en el establo lechero de Callqui donde, *Staphylococcus aureus*, fue el microorganismo aislado más frecuente (44 %) seguido de *Staphylococcus sp.* y *Escherichia coli* con una frecuencia de (22 %) y por ultimo *Streptococcus sp.* con una frecuencia menor que representa el (12 %).

En la realización de la sensibilidad antibiótica se concluyó, que todas las bacterias presentes en leche mastitica de las vacas lecheras de la finca San Julián, son susceptibles a enrofloxacin y gentamicina. Y en el establo lechero de Callqui todas las bacterias son susceptibles a gentamicina, *Streptococcus sp.* (83 %), *Escherichia coli* (100 %), *Staphylococcus sp.* (100 %) y *Staphylococcus aureus*. (67%).

CONCLUSIONES

1. La sensibilidad de *Staphylococcus aureus* frente a los antibióticos fueron que el 83 % es sensible a Enrofloxacin, el 67 % a Gentamicina y 92 % fueron medianamente sensible a Amoxicilina. Además, se encontraron cepas resistentes el 83 % a Tetraciclina y el 75% a Penicilina.
2. La bacteria *Staphylococcus aureus* fue el mayor causante de mastitis, representando el 44 % de la microbiota encontrada en las vacas del establo lechero de Callqui.
3. En menor grado, también se encuentran presentes, *Staphylococcus* sp., *Escherichia coli* y *Streptococcus* sp.
4. Los otros microorganismos aislados en este estudio, demostraron sensibilidad antibiótica ante gentamicina.
5. Todos los microorganismos aislados en este estudio, demostraron resistencia antibiótica frente a penicilina.
6. De la población muestreada en el establo lechero de Callqui, se encontró que el 44 % dieron positivo a mastitis de los cuales 6 % dio positivo a mastitis clínica (positivo fuerte) y 38 % a mastitis sub clínica (positivo débil, positivo evidente).

RECOMENDACIONES

1. Recomendar al establo lechero de Callqui el tratamiento de mastitis con medicamentos que tengan como principio activo gentamicina ya que los microorganismos son muy sensibles a este antibiótico.
2. Descartar el tratamiento con medicamentos que tengan como principio activo la penicilina puesto que todos los microorganismos aislados en este estudio, demostraron resistencia antibiótica frente a penicilina.
3. Realizar una higiene y desinfección estricta en la unidad de ordeño.
4. Establecer un orden al momento del ordeño, de modo que las vacas que padezcan de mastitis, sean ordeñadas de último, evitando con esto la diseminación de la enfermedad.
5. Realizar periódicamente la prueba de california mastitis test, para conocer y llevar un mejor control sobre el nivel de infección del hato lechero en el establo lechero de Callqui.
6. Recolectar muestras de leche de vacas mastíticas, para su análisis microbiológico y así conocer el agente causal y realizar el tratamiento correcto, mediante los resultados obtenidos en el antibiograma.
7. Implementar registros, sobre las vacas que presentan mastitis, y así llevar un control en la incidencia de mastitis e ir separando o descartando vacas con infección crónica. Así como llevar un registro de pruebas realizadas y tratamientos aplicados.
8. Previo al secado de las vacas es importante realizar pruebas físicas, químicas y microbiológicas de la ubre, para que de esta forma se proceda a hacer un

plan de saneamiento. Esto permite en gran parte evitar la aparición de futuras infecciones por un mal secado.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Zambrano, P.; Alemán, J. Incidencia y epidemiología infecciosa de la mastitis bovina en la Irrigación la Joya - Arequipa. Perú: Universidad Nacional del Altiplano, (2014). Tesis (Médico Veterinario).
- [2] Relova, Capdevila, J. Caracterización de la situación clínico – epizootiológica de la mastitis bovina en vacas primerizas Holstein de una lechería especializada. Revista Electrónica de Veterinaria, v.9, n.8, p.1-12. , D. (2015).
- [3] Ruiz, A; Ponce, P.; Gomes, G. et al. Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: Comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. Revista de Salud Animal, v.33. n.1, p.57-64, (2011).
- [4] Ayala Manrique, Christian Alejandro Determinación de las bacterias más frecuentes causantes de mastitis subclínicas y sensibilidad ante antibióticos en cabras criollas del municipio de Santa Apolonia, Chimaltenango. Licenciatura thesis, Universidad de San Carlos de Guatemala.; (2009).
- [5] Russi, Norma Beatriz, Suceptibilidad a antibióticos de Staphylococcus aureus aislados de mastitis bovina; (2008).
- [6] Martin; Resistencia de las bacterias causantes de mastitis bovina frente a los antimicrobianos más frecuentes; (2002).
- [7] Espinoza Salazar, María Gabriela; Mier Jiménez, Johanna Patricia. Determinación de la prevalencia de mastitis mediante la prueba California mastitis test e identificación y antibiograma del agente causal en ganaderías lecheras del Cantón el Chaco, provincia de Napo. Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar por el Título de Médico Veterinario

Zootecnista. Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito: UCE. 126 p; (2013).

- [8] Almeida Almeida, Diego Ismael; Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test e identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche en la comunidad San Pablo Urco, Olmedo – Cayambe – Ecuador, (2014).
- [9] Aragadvay, Gonzalo; Determinación de la sensibilidad de CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica y su relación en el cultivo de leche más antibiograma en la hacienda El Boliche ; (2015).
- [10] CC Florentín Aponte ; Perfil de resistencia in vitro a antimicrobianos de cepas causantes de mastitis aisladas de leche cruda bovina en establecimientos de pequeña y mediana producción;(2007).
- [11] Managua ; Estudio comparativo entre los métodos diagnósticos para mastitis subclínicas, California Test y DRAMINSKI 4Q en vacas Jersey, Diriamba - Carazo, Agosto-Octubre, (2015)
- [12] Pellegrino, Frola, Odierno, Bogni, Mastitis Bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de Staphylococcus aureus aisladas de leche (Bovine); (2011)
- [13] Torres et al. ; Identificación del tipo de mastitis presente en el ámbito del Proyecto de Queserías Rurales del Ecuador;(2002).
- [14] Cecil y Peppel; Sensibilidad a antibióticos y sulfonamidas en vacas; (2008)
- [15] Ferraro, Scaramelli y Troya; Prevalencia de la mastitis subclínica bovina en Venezuela y evaluación de la prueba de Mastitis de California (CMT) como prueba diagnóstica; (1999).

- [16] Russi; susceptibilidad in vitro frente a antimicrobianos de 95 cepas de *S. aureus* aislados de mastitis bovina en la cuenca lechera central de Argentina; (2008).
- [17] Armenteros y col; Caracterización de la situación de la mastitis bovina en rebaños lecheros de los Departamentos de Boacochontales: época de lluvia; (2004).
- [18] Acuña y col; Aislamiento, identificación y antibiograma de patógenos presentes en leche con mastitis en ganaderías bovinas de la provincia de Pichincha;(2008).
- [19] Valero-Leal y col.; Patógenos contagiosos y ambientales aislados de cuartos mamarios con mastitis subclínica de alto riesgo en tres fincas del Estado Zulia;(2010).
- [20] Pellegrino.; resistencia de cepas de *S. aureus* aisladas de muestras de leche provenientes de tambos de la región central de la provincia de Córdoba;(2011).
- [21] Gutiérrez y Montes de Oca; Comportamiento de la mastitis bovina en la producción animal en fincas lecheras del Estado Lara;(2012).
- [22] Bedolla; Determinacion la resistencia antibiótica de *S. aureus* aislados de leche de vacas con mastitis de Tégaro, Michoacán;(2011).
- [23] Herrera; Sensibilidad In – Vitro de *Staphylococcus aureus* causante de mastitis clínica bovina en el distrito de Sicchez, Provincia Deayabaca;(2014).
- [24] Suchitepéquez; Determinación de las bacterias causantes de mastitis subclínica y su sensibilidad a los antibióticos en vacas lecheras (2014).
- [25] Villanueva; Determinación de resistencia antibiótica de patógenos bacterianos aislados de mastitis clínica bovina de crianza intensiva en Lurín, Perú; (2016).

- [26] Cuadros; Antibacterianos de empleo frecuente en ganado bovino destinado a la producción de leche y carne en Lima, Perú;(2011).
- [27] Santivañez; Prevalencia y factores asociados a la mastitis subclínica bovina en los Andes peruanos (2013)
- [28] Huamán; Susceptibilidad de *salmonella sp.* aislada de cuyes (*cavia porcellus*) de crianza familiar· comercial a cinco antibacterianos in vitro en el distrito de Palca.(2013).
- [29] Relova, D.; Capdevila, J. Caracterización de la situación clínico – epizootiológica de la mastitis bovina en vacas primerizas Holstein de una lechería especializada. Revista Electrónica de Veterinaria, v.9, n.8, p.1-12; (2015).
- [30] Ruiz, A; Ponce, P.; Gomes, G. et al. Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: Comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. Revista de Salud Animal, v.33. n.1, p.57-64, (2011).
- [31] Zambrano, P.; Alemán, J. Incidencia y epidemiología infecciosa de la mastitis bovina en la Irrigación la Joya - Arequipa. Perú: Universidad Nacional del Altiplano, 2014. Tesis (Médico Veterinario).
- [32] Rebhun, WC. Enfermedades del ganado vacuno lechero. Trad M. Ramis. España. Zaragoza. Acribia. 362-398 p.Reza;(2009).
- [33] Castañeda, Kloppert, B; Wolter, W; Zschoeck, M. s.f. La mastitis bovina (en línea). Instituto Estatal de Investigación de Hesse. Universidad de Guadalajara. México. Consultado 10 julio. 2017. Disponible en <http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2002/912/pdf/p020-003.pdf>.

- [34] Robinson, RK. Microbiología lactológica: microbiología de la leche. España. Zaragoza. Acribia. Vol. 1. 33-61, 109-131 p. (1987).
- [35] Blowey; Edmondson, P.. Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche. Guía ilustrada y práctica. Zaragoza. ES., Acribia. 33-50 p; (1995).
- [36] Valles, MG. Mastitis en Bovinos (en línea). CATIE. Departamento de Producción Animal. Consultado 22 julio 2017. Disponible en <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A6379E/A6379E.PDF> ;(1983).
- [37] Castañeda, Kloppert, B; Wolter, W; Zschoeck, M. s.f. La mastitis bovina (en línea). Instituto Estatal de Investigación de Hesse. Universidad de Guadalajara. México. Consultado 10 julio. 2017. Disponible en <http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2002/912/pdf/p020-003.pdf>.
- [38] Deneke, E. Rabold, K. 2000. La Mastitis. Ediciones Médicas. 11- 33 p.
- [39] Mateos, E; Piris, S; Valdillo, S. Manual de microbiología veterinaria. 2 ed. España. Interamericana. 160-173 p. (2002).
- [40] Tadocks, RN. Cow and quarter level risk factors for streptococcus uberis and staphylococcus aureus. 1-14 p. (2001).
- [41] Sansano, CN. s.f. Mamitis bovina causada por estafilococos coagulasa negativos (en línea). Biblioteca Startvac. No.3. Consultado 23 julio. 2017. Disponible en http://www.hipra.com/sites_hipra/startvac_library/Capitulo-3_C.pdf.
- [42] Andresen, 2001. Mastitis: prevención y control (en línea). Rev Inv Vet. Chile. Consultado 6 julio. 2017. Disponible en <http://www.scielo.org-pe/pdf/rivpe/v12n2/a10v12n2.pdf>

- [43] Bath, Dickinson. Ganado lechero: principios, prácticas, problemas y beneficios. Rad A. Saenz. 2 ed. México, DF. Interamericana. 357-363 p. (1982).
- [44] Andresen, 2001. Mastitis: prevención y control (en línea). Rev Inv Vet. Chile. Consultado 6 julio. 2017. Disponible en <http://www.scielo.org-.pe/pdf/rivep/v12n2/a10v12n2.pdf>
- [45] Enfermedades de los bovinos: mastitis bovina (en línea). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UNAM. Consultado 14 julio. 2017. Disponible en http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/e_bovina/04MastitisBovina.pdf
- [46] Scaramelli, A; Gonzales, Z. s.f. Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina (en línea). Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. Consultado 23 julio. 2017. Disponible en <http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros-online/manual,articulo9-55.pdf>
- [47] Blowey; Edmondson, P. 1995. Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche. Guía ilustrada y práctica. Zaragoza.ES., Acribia. 33-50 p.
- [48] Mellenberger, R; Roth, CJ. 2004. Hoja de información de la prueba de Mastitis California (CMT) (en línea). Depto. De Ciencia Animal. Universidad del Estado de Michigan. Depto. De Ciencia Lechera. Universidad de Wisconsin- Mádison. Consultado 24 julio. 2017. Disponible en <http://www.uwex.edu/milquality-/PDF/CMT%20spanish.pdf>
- [49] Scaramelli, A; Gonzales, Z. s.f. Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina (en línea). Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de

Venezuela. Consultado 23 julio. 2017. Disponible en <http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros-online/manual,articulo9-55.pdf>

- [50] Belloda; Castañeda, VH; Wolter, W. 2007. Métodos de detección de la mastitis, bovina (en línea). REDVET. No. 9. Consultado 10 julio. 2017. Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702>.
- [51] Galas, M; Pasteran, F. Sensibilidad a los Antimicrobianos. Argentina. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. 15-27 p. (2006).
- [52] López Calderón, MR. Evaluación de la resistencia antibiótica de los microorganismos aislados en casos de mastitis clínica en una explotación lechera. Tesis. Lic. Med. Vet. Guatemala, GT, USAC – FMVZ. 23-24p; (2008).
- [53] Castañeda, Kloppert, B; Wolter, W; Zschoeck, M. s.f. La mastitis bovina (en línea). Instituto Estatal de Investigación de Hesse. Universidad de Guadalajara. México. Consultado 10 julio. 2017. Disponible en <http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2002/912/pdf/p020-003.pdf>.
- [54] Galicia de León, MV. Comparación de la incidencia de mastitis clínica y subclínica en ganado de doble propósito bajo el sistema de ordeño mecánico en la finca San Julián. Tesis. Lic. Med. Vet. Guatemala, GT, USAC – FMVZ. 9-14, 27-31 p. (2004).
- [55] C. 2009. Mastitis Bovina, Reconocimiento Clínico, Programas de Prevención y Su Terapia (en línea). Consultado 24 julio. 2017. Disponible en <http://www.slideshare.net/curavacas48/mastitis-bovina-act>
- [56] Koeslag, JH. Bovinos de leche: manuales para educación agropecuaria. 3ª ed. México, Trillas. 112- 113 p. (2008).

- [57] Wolter, W. 2008. Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera (en línea). REDVET. No. 4. Consultado 20 julio. 2017. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/636/63611952010-.pdf>.
- [58] Stanchi, NO. Microbiología Veterinaria. Buenos Aires, AR., Inter-Médica. 163, 179-198 p. (2007).
- [59] Investigación Básica: Consultado en Wikipedia 28 de julio 2018. Disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/Ciencia_b%C3%A1sica
- [60] Diseño de Investigación Descriptiva: Consultado en Explorable 28 de julio 2018. Disponible <https://explorable.com/es/disenio-de-investigacion-descriptiva>
- [61] Álvarez-Gayou JL. Cómo hacer investigación cualitativa. Fundamentos y metodología. Colección Paidós Educador México: Paidós Mexicana. 2003.

ANEXO 1

Para realizar la prueba de T.C.M, se lavara la ubre de la vaca con agua caliente y se seca con toallas desechables, descartaremos el primer chorro de leche en la paleta de prueba tomamos 2 o 3ml de leche de cada cuarto, agregaremos igual cantidad de reactivo T.C.M, agitaremos la paleta en forma circular hasta mezclar muy bien la leche y el T.C.M , no mezclar por más de 10 segundos la reacción visible desaparece en unos 20 segundos, se realizara la lectura según lo siguiente:

Negativo: El estado de la solución permanece inalterado. La mezcla sigue en estado líquido.

Trazas: Se toma un precipitado en el piso de la paleta que desaparece pronto.

1(+): Hay menor precipitación pero no se forma gel.

2(++): El precipitado se toma denso y se concentra en el centro.

3(+++): Se forma un gel muy denso que se adhiere a la paleta.

ANEXO 2

National Mastitis Council (NMC):

Eliminar la suciedad de la glándula mamaria y de los pezones, mediante un lavado y secado.

Eliminar los primeros chorros de leche de los pezones, y observar síntomas de mastitis.

Toma de muestra del pezón, destapar el tubo de ensayo y sostener la tapa con la boca hacia abajo.

Colocar el tubo en una dirección de 45 °C.

Nota: No debe tocar el tubo el pezón, llenar el tubo de 2 - 3 ml con un máximo de 20.

Procurar no tocar el tapón inferior ni tampoco el borde del tubo con el fin de evitar posibles contaminantes, cerrar los tubos inmediatamente después de tomar las muestras.

Etiquetar los tubos con las muestras de leche.

Sellar los pezones.

Llevar las muestras a refrigeración para su conservación y llevar al laboratorio.

ANEXO 3

Según Aquiahuatl y col, 2004, en el Manual de Prácticas de Laboratorio de

Microbiología describe:

Siembra en placa:

Se homogeniza la muestra de leche y se inocula el sobrenadante en la placa con el agar manitol salado, agar sangre, agar Baird Parker.

Los materiales de inoculación deben ser estériles. Para el caso de asa, deben llevarse a flameado manteniendo el mismo en una dirección vertical sobre el mechero de Bunsen y luego se deja enfriar.

Se retira los tapones de los tubos con las muestras con cuidado evitando la contaminación, posterior a ello se tomará una pequeña muestra.

Se levanta la cubierta de la placa de cultivo y se realiza estrías en el área de la superficie de la misma.

Luego se llevará a incubar a 37° C por 24 horas.

ANEXO 4

Método de Difusión (método Kirby–Bauer).

Se llevará a cabo el método de Kirby Bauer, la cual consiste en utilizar una sola concentración de antibiótico y medir el tamaño de la zona de inhibición (Clavell y col,1992). Fundir el medio de cultivo y dejarlo enfriar a 45-50°C. Se verterá asépticamente suficiente cantidad de medio de cultivo (Agar Mueller Hinton) en una placa de Petri, para obtener una capa de 4 mm de espesor. Para una placa de 10 cm. de diámetro se requerirá 30 ml de medio y para una de 15 cm se requerirá 70 ml. Se dejará solidificar el medio de cultivo y luego se secará las placas durante 30 minutos antes de usarlas para la inoculación. Se inoculará la placa mediante un hisopo estéril utilizando una suspensión del germen de 6 horas de incubación. Para la inoculación se sumergirá un hisopo estéril en el cultivo y se eliminará el exceso rotándolo firmemente contra la pared interna del tubo. Frotar el hisopo sobre la superficie del medio de cultivo. Se repetirá esta operación por tres veces sucesivas, rotando la placa para obtener una dispersión uniforme del inóculo en toda la superficie.

Se colocará la tapa a la placa y se dejará secar el inóculo por 3 a 5 minutos.

Se colocará los discos con los antibióticos sobre el agar mediante pinzas estériles o usando un aplicador de discos. Se oprimirá los discos suavemente con una pinza para asegurar un buen contacto con el medio de cultivo. Los discos se espaciarán, de manera que su distancia a la pared de la placa será de 15 mm y entre ellos de 30 mm.

Se incubará a 35-37°C por 18-19 horas.

Si se requieren los resultados con rapidez se podrán leer las zonas de inhibición después de 6-8 horas de incubación, pero estos resultados deberán ser confirmados mediante una nueva lectura después de la incubación por las 18 -19 horas.

La medida del diámetro de la zona de inhibición se realizará preferentemente desde el exterior de la placa, sin quitar la tapa, esto puede hacerse con una regla milimetrada, un vernier o cualquier otro instrumento similar.

ANEXO 5

CUADRO A: INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA BIOQUÍMICA

MEDIOS DE CULTIVO	RESULTADO	LECTURA DE RESULTADOS
TSI	K/A H ₂ S ⁺⁺	Reacción Alcalina/Ácido, con producción de H ₂ S que se evidencia por el fondo negro del tubo.
LIA	K/K H ₂ S ⁺⁺	Resultado tendido púrpura y fondo púrpura K/K, producción de H ₂ S y gas.
CALDO UREA	NEGATIVO	Salmonella sp. no tiene la capacidad de hidrolizar la Urea, por lo tanto la prueba es negativa.
MEDIO CITRATO	POSITIVO	Salmonella sp. utiliza el Citrato como fuente de carbono, por lo cual se produce una variación en el color (Verde a Azul).
MOTILIDAD - SIM	POSITIVO	Las bacterias móviles producen un enturbiamiento homogéneo y mientras las bacterias inmóviles permanecen en la picadura donde se siembra.

FUENTE: Murray y Shea 2004.

CUADRO B: ESCALA DE MAC FARLAND

Nº DE TUBO	CLBA (1%) ML	H ₂ SO ₄ (1%) ML	MILLONES DE M.O/ML
1	0.1	9.9	300
2	0.2	9.8	600
3	0.3	9.7	900
4	0.4	9.6	1200
5	0.5	9.5	1500
6	0.6	9.4	1800
7	0.7	9.3	2100
8	0.8	9.2	2400
9	0.9	9.1	2700
10	1.0	9.0	3000

FUENTE: Murray y Shea 2004.

ANEXO 6

Foto N^a 01: Vacas en Producción del Establo Lechero Callqui.



Foto N^a 02: Registros de las vacas del establo lechero Callqui.

INVENTARIO FISICO GENERAL DE VACUNOS BROWN SWISS

PLIEGO GOBIERNO REGIONAL DE HUANCÁVELICA
 UNIDAD EJECUTORA GOBIERNO REGIONAL DE HUANCÁVELICA - AGRICULTURA
 ENTIDAD DIRECCION REGIONAL AGRARIA HUANCÁVELICA
 ORGANO ESTACION EXPERIMENTAL AGRARIA CALLOQUI
 UNIDAD UNIDAD DE PRODUCCION DE VACUNOS DE LECHE
 PERIODO 31 de Octubre del 2017

N° Orden o Código	Clase	Nombre	Número de Arete	Fecha de Nacimiento	Periodo Estimado de vida (Años)	Edad Actual (años/meses/días)			Periodo de Vida Productiva Años	%	Valor Actual (\$.)	Observaciones
						Años	Meses	Días				
22	Vaca	TERESA	342	08/02/2013	8	4	8	23	1	25	2.903.07	Inseminación Artificial
23	Vaca	LESLEY	352	30/06/2013	8	4	4	1	1	25	2.903.07	Inseminación Artificial
24	Vaca	CELESTE	356	29/11/2013	8	3	11	2	1	25	2.903.07	Inseminación Artificial
25	Vaca	ROXANA	358	01/03/2014	8	3	7	30	1	25	1.807.07	Inseminación Artificial
26	Vaca	CARMEN	483	02/08/2014	8	3	2	29	1	25	1.807.07	Inseminación Artificial
27	Vaquillona	ALEXIA	370	31/03/2015	8	2	7	0	2	50	1.561.17	Inseminación Artificial
28	Vaquillona	YAMILE	372	13/04/2015	8	2	6	28	0	0	1.482.71	Inseminación Artificial
29	Vaquillona	MARIANA	376	26/12/2015	8	1	10	5	0	0	918.23	Inseminación Artificial
30	Vaquilla	INES	378	14/01/2016	8	1	9	27	0	0	884.23	Inseminación Artificial
31	Vaquilla	ROSITA	380	06/03/2016	8	1	7	25	0	0	808.43	Inseminación Artificial
32	Vaquilla	SARELA	384	09/05/2016	8	1	5	21	0	0	742.03	Inseminación Artificial
33	Vaquilla	EILEEN	386	30/06/2016	8	1	4	1	0	0	698.83	Inseminación Artificial
34	Ternera	SHANTAL	388	23/08/2016	8	1	2	8	0	0	599.58	Inseminación Artificial
35	Ternera	CAMILA	390	17/10/2016	8	1	0	14	0	0	324.58	Inseminación Artificial
36	Ternera	IRIS	392	20/12/2016	8	0	10	11	0	0	202.16	Inseminación Artificial
37	Ternera	SORA	394	17/02/2017	8	0	8	14	0	0	200.00	Inseminación Artificial
38	Ternera	MASSIEL	396	12/03/2017	8	0	7	19	0	0	200.00	Inseminación Artificial
39	Ternera	MAYLI	398	19/03/2017	8	0	7	6	0	0	200.00	Inseminación Artificial
40	Ternera	SAYURI	400	25/03/2017	8	0	6	14	0	0	200.00	Inseminación Artificial
41	Ternera	CIELO	402	17/04/2017	8	0	6	14	0	0	200.00	Inseminación Artificial
42	Ternera	LUNA	404	06/06/2017	8	0	4	25	0	0	200.00	Inseminación Artificial

Foto N^a 03: Establo lechero Callqui.



Foto N^a 03 y 04: Realizando la prueba CTM



Foto N^a 05: Preparación de medios de cultivo



Foto N^a 06: Siembra de muestras en los medios de cultivo.

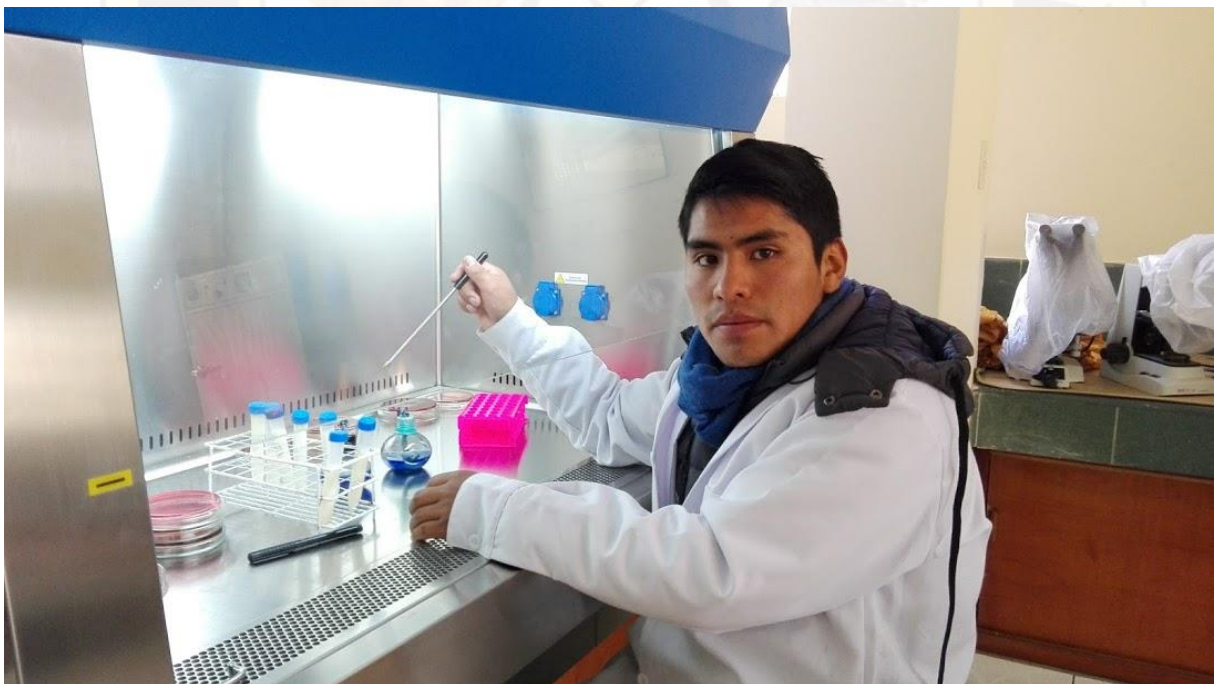


Foto N^a 07: Preparación de medios para identificación de microorganismos (Pruebas bioquímicas)



Foto N^a 08 : Incubación para el crecimiento bacteriano .

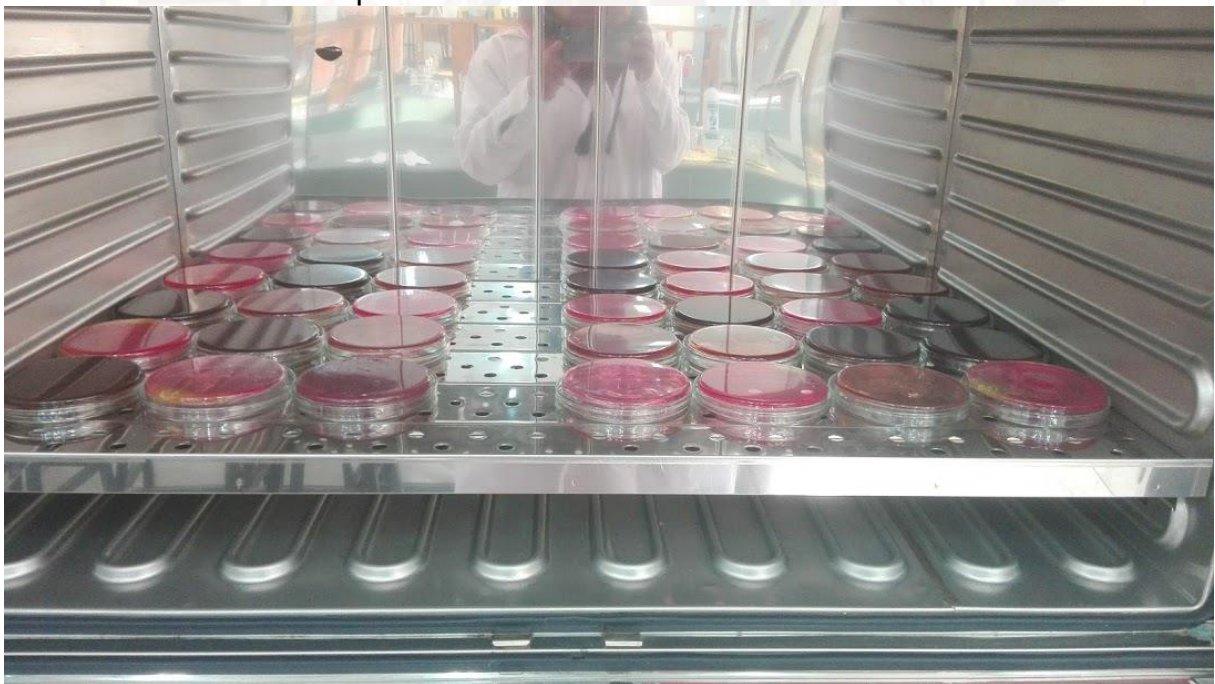


Foto N^a 09: Aislamiento de colonias bacterianas.



Foto N^a 10: Observación al microscopio de bacterias - *Staphylococcus aureus*

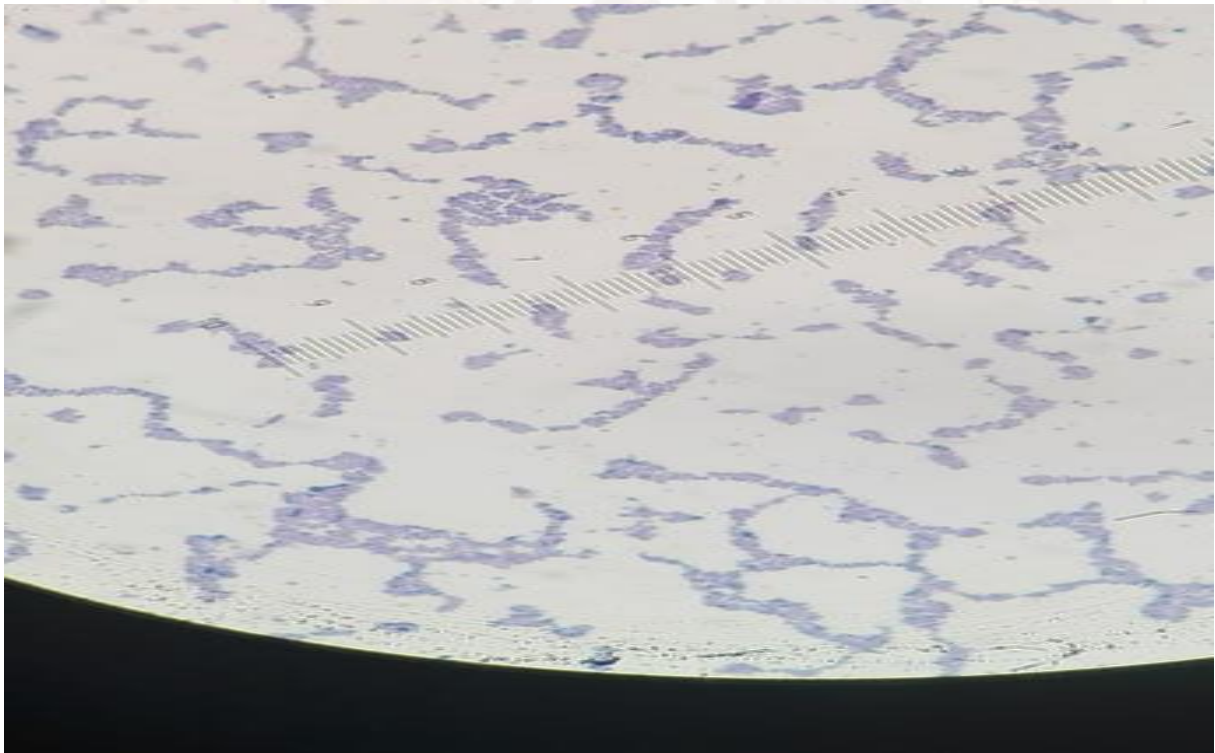


Foto N^a 11: Lectura de las pruebas bioquímicas.



Foto N^a 12: Antibiograma mediante el método de Kirby – Bauer.



