



# **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**

### **ESCUELA DE INGENIERIA ZOOTECNICA**

#### **“EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE DIAGNOSTICO Y TRES TRATAMIENTOS DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA EN BOVINOS DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI DE LA FCP – ESPOCH”**

#### **TESIS DE GRADO**

Previa la obtención del título de:

#### **INGENIERO ZOOTECNISTA**

**JOSE EDUARDO PADILLA BARBA**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2007**

**Tesis fue aprobada por el siguiente tribunal.**

---

**Dr. Cesar Camacho.  
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

---

**Ing. M.Cs. Byrón L. Díaz M.  
DIRECTOR DE TESIS**

---

**Ing. M.Sc. Benito Mendoza  
BIOMETRISTA DE TESIS**

---

**Ing. M. Cs. Fabián Arévalo  
ASESOR DE TESIS**

**Fecha: 13 de Febrero del 2007**

## **AGRADECIMIENTO**

### **A LA FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS – ESCUELA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA**

Por brindarme los conocimientos necesarios para desenvolverme en el campo profesional, y además por ser mí segunda casa durante mi carrera.

### **AL ING. MsC. BYRON DIAZ MONROY Y SRA.**

Por su apoyo y orientación durante el desarrollo del presente trabajo por sus valiosos comentarios y tiempo dedicado en el laboratorio para hacer posible el desarrollo del presente estudio.

### **A LOS LABORATORIOS JAMES BROWN Y LA AGSO (RIOBAMBA)**

Por su colaboración y apoyo brindado para hacer posible esta investigación.

### **EMPLEADOS Y TRABAJADORES DE LA UNIDAD EXPERIMENTAL DE BOVINOS DE LECHE DE TUNSHI**

Por su ayuda, la facilidad e ideas que recibí al momento de la ejecución del presente trabajo.

### **A MIS COMPAÑEROS**

Por acompañarme durante todo este tiempo de alegrías, ansiedades, tristezas, por su apoyo brindado. Porque de una u otra forma hicieron un aporte significativo para llegar hasta la meta final.

### **A MIS AMIGOS.**

Que de una u otra forma han hecho un aporte significativo durante toda mi vida, por desear siempre mi bienestar, por permanecer a mi lado. Mil gracias.

## **DECICATORIA**

### **A DIOS Y LA VIRGEN DE LA MERCED**

Por haberme iluminado durante toda mi vida estudiantil y por brindarme serenidad y paciencia para enfrentar los retos de la vida y permitirme alcanzar la meta propuesta.

### **A MI MADRE: JULIA EDITH BARBA**

Con amor por compartir mis preocupaciones, temores, deseos, ansiedades y triunfos, por su incondicional apoyo, esfuerzo y dedicación para alcanzar mi meta propuesta hasta ahora.

### **A MI PADRE: LIC. JOSE EDUARDO PADILLA VAZQUEZ**

Por enseñarme a enfrentar la vida con sus consejos y ejemplos, por su incondicional apoyo para poder culminar mi carrera y además por ser muy buen amigo.

### **A MIS HERMANOS: ROSA, CATALINA, SANTIAGO Y ESTEPHANIA**

Por ser parte de mi familia que es lo más importante en mi vida.

### **A MIS ABUELITOS, TIOS Y PRIMOS:**

Porque son un bastión muy importante en mi vida por sus consejos y sabiduría para enfrentarlos problemas.

## RESUMEN

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal y la Unidad Experimental de Tunshi ESPOCH. Su objetivo fue evaluar dos métodos de diagnóstico California Mastitis Test (CMT) y Conteo de Células Somáticas (CCS) así también la determinación de agentes patógenos y la aplicación de tres tratamientos (penicilina, tetraciclina, Ceftiofur HCL) para la Mastitis Subclínica (MSC) en bovinos de leche. Los resultados determinaron mediante CMT que el 49.49% del hato tenían MSC, de igual manera se obtuvo mediante CCS un promedio de 823.723 cél/ml de leche siendo un valor alto de acuerdo a las diferentes escalas internacionales y siendo el mejor método de diagnóstico. Las bacterias patógenas presentes en la leche fueron las gram positivas sobre las gram negativas de las mismas que sobresalieron los géneros *Staphylococcus* y grupo *Cocobacilar* respectivamente, entre otras más. Con la aplicación del Ceftiofur HCL, se tuvo mayor eficiencia que los demás tratamientos para las bacterias gram negativas con una eficiencia del 91,67% en relación a los otros tratamientos cuya eficiencia fue del 89,17% cada uno. Mientras tanto para las bacterias gram negativas el Ceftiofur HCL, tuvo una eficiencia del 89,52% siendo el mas bajo en relación con los otros dos tratamientos con una diferencia de 5.43% y 6,58% para la penicilina y tetraciclina respectivamente. Se recomienda la aplicación del Ceftiofur HCL ya que este no deja residuos en la leche siendo esta apta para el consumo humano y la elaboración de productos lácteos previamente realizando pruebas de sensibilidad y resistencia hacia este fármaco.

## SUMARY

The present investigation was carried out in the Animal Biotechnology and Microbiology Laboratory and the Tunshi Experimental Unit - ESPOCH. Its objective was evaluating two diagnostic methods, California Mastitis Test (CMT) and Count of Somatic Cells (CCS) as well as the determination of pathogenic agents and the application of three treatments (Penicillin, Tetracycline, Ceftiofur HCL) for Subclinic Mastitis (MSC) in dairy cattle. The results determined through CMT, that 49,49% of the herd had MSC, likewise an average of 823.723 cel/ml milk through CCS was obtained being a high value according to the different international scales and being the best diagnostic method. The pathogenic bacteria present in the milk were gram-positive over the gram-negative from the same that rose the genera *Staphylococcus* and the *Cocobacilar* group respectively, among others. With the application of Ceftiofur HCL, a higher efficiency was obtained than with the other treatments for the gram-negative bacteria with a 91,67% efficiency as related to the other treatments whose efficiency was 89,17% each. The Ceftiofur HCL had an 89,52% efficiency for the gram-negative bacteria, being the lowest as related to the other two treatments with a 5,43% and 6,58% difference for Penicillin and Tetracycline respectively. It is recommended to apply Ceftiofur HCL since it does not leave residues in the milk which is suitable for human consumption and the dairy product processing, after sensibility and resistance testing to this medicine

## CONTENIDO

Lista de Cuadros		vii
Lista de Gráficos		viii
Lista de Anexos		ix
<b>I. <u>INTRODUCCIÓN</u></b>		<b>1</b>
<b>II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u></b>		<b>3</b>
<b>A. MASTITIS.</b>		<b>3</b>
1. <u>Tipos de mastitis</u>		3
2. <u>Desarrollo de la enfermedad</u>		5
a. Invasión del pezón		5
b. Destrucción del tejido alveolar		7
3. <u>Transmisión de varios tipos de organismos de la mastitis</u>		7
a. <i>Streptococcus agalactiae</i>		9
b. <i>Staphylococcus aureus</i> .		9
c. <i>Streptococcus uberis</i> y <i>Streptococcus dysgalactiae</i> .		10
d. Bacterias coliformes.		10
4. <u>Prevención de la mastitis.</u>		12
5. <u>Control de la mastitis.</u>		16
a. Posible esquema de los principales puntos a valorar en una explotación.		18
<b>B. DIAGNOSTICO DE LA MASTITIS.</b>		<b>19</b>
1. <u>Californian Mastitis Test (CMT).</u>		<b>20</b>
a. Resultados e interpretación .		21
b. Interpretación.		21
c. Ventajas e inconvenientes del Test California.		22
d. Precisión del CMT.		22
2. <u>Conteo de células somáticas.</u>		<b>23</b>
a. Los principales factores que inciden en el recuento de células somáticas.		27
b. La Vaca.		30
c. Células somáticas: consecuencias sobre la industria lechera		31
3. <u>Palpación de ubres.</u>		<b>32</b>
4. <u>Despuntado de los pezones.</u>		<b>32</b>
5. <u>Conductividad eléctrica.</u>		<b>33</b>

C. TRATAMIENTO DE LA MASTITIS.	34
1. <u>Cefalosporina.</u>	35
a. Clases.	36
b. Propiedades generales.	38
c. Indicaciones terapéuticas y dosis.	38
d. Periodos de suspensión del fármaco y de descarte de la leche.	39
2. <u>Tetraciclinas.</u>	39
a. Clases.	40
b. Propiedades generales.	40
c. Indicaciones terapéuticas y dosis.	40
d. Periodos de suspensión del fármaco y de descarte de la leche.	41
3. <u>Penicilinas .</u>	42
a. Clases.	42
b. Propiedades generales.	44
c. Indicaciones terapéuticas y dosis.	44
d. Periodos de suspensión del fármaco y de descarte de la leche.	44
D. TOMA DE MUESTRAS DE LABORATORIO.	45
1. <u>Estrategias de muestreo microbiológico.</u>	45
2. <u>Tipos de muestreos de leche para análisis microbiológico.</u>	46
a. Muestreo de todas las vacas de la explotación.	46
b. Muestreo de vacas con altos recuentos celulares.	46
c. Muestreo de vacas con mastitis clínicas.	47
d. Muestreo de la leche del tanque.	47
e. Muestras de leche de un cuarterón.	47
f. Muestras de leche compuesta (de los cuatro cuarterones).	47
3. <u>Toma de muestras (procedimientos).</u>	48
a. Muestras de leche individuales.	48
b. Muestras de leche de tanque.	50
c. Otras muestras.	50
III. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	51
A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN	51
B. UNIDADES EXPERIMENTALES.	51
C. MATERIALES, EQUIPOS, E INSTALACIONES .	52
1. <u>De Laboratorio.</u>	52

2. <u>De Campo.</u>	53
3. <u>De Oficina.</u>	53
4. <u>Reactivos.</u>	54
D. <u>TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL.</u>	54
E. <u>MEDICIONES EXPERIMENTALES.</u>	56
F. <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA.</u>	56
G. <u>PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.</u>	56
1. <u>Selección de animales.</u>	56
2. <u>Toma de muestras.</u>	57
3. <u>Técnica de campo mediante el California Mastitis Test.</u>	57
4. <u>Técnica del Conteo de Células Somáticas.</u>	57
5. <u>Determinación de bacterias causantes de mastitis subclínica</u>	59
a. <u>Preparación del agar sangre.</u>	59
b. <u>Inoculación de muestras.</u>	59
c. <u>Fijación de bacterias.</u>	60
d. <u>Tinción de Gram.</u>	60
IV. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.</u>	62
V. <u>CONCLUSIONES .</u>	88
VI. <u>RECOMENDACIONES.</u>	89
VII. <u>LITERATURA CITADA.</u>	90

## LISTA DE CUADROS

Nº		Página
1	PRESENCIA DE BACTERIAS EN LA LECHE OBTENIDA DE BOVINOS ENFERMOS CON MASTITIS SUBCLÍNICA DE LA UNIDAD PRODUCTIVA DE LECHE TUNSHI DE LA ESPOCH ANTES DE SER TRATADAS	8
2	RESULTADOS OBTENIDOS SEGÚN LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR CMT	21
3	REACCIONES QUE SE OBSERVAN CON RELACIÓN AL NUMERO DE CÉLULAS SOMÁTICAS	22
4	RELACIÓN ENTRE EL CMT Y LAS CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CÉLULAS POR ML).	25
5	ESTADO SANITARIO DE LA UBRE	26
6	RELACIÓN ENTRE CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) MEDIDO EN LA LECHE DEL TANQUE A GRANEL, PÉRDIDA DE LA PRODUCCIÓN Y PREVALENCIA DE LAS MASTITIS SUBCLÍNICAS EN EL HATO	27
7	SUPRESIÓN DEL FÁRMACO Y PERIODOS DE DESCARTE DE LA LECHE PARA LAS CEFALOSPORINAS	39
8	SUPRESIÓN DEL FÁRMACO Y PERIODOS DE DESCARTE DE LA LECHE PARA LAS TETRACICLINAS	41
9	SUPRESIÓN DEL FÁRMACO Y PERIODOS DE DESCARTE DE LA LECHE PARA LAS PENICILINAS	45
10	CONDICIONES METEREOLÓGICAS	52
11	ESQUEMA DE LA INVESTIGACIÓN PARA LA FASE DE DIAGNOSTICO	55
12	ESQUEMA DE LA INVESTIGACIÓN PARA LA FASE DE TRATAMIENTOS	55

13	ESQUEMA DEL ADEVA PARA LAS DIFERENCIAS	56
14	PORCENTAJE DE VACAS INFECTADAS POR MASTITIS SUBCLÍNICA EN EL HATO DE TUNSHI DE LA FCP – ESPOCH	63
15	PRESENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA DE LOS DIFERENTES CUARTOS DE ACUERDO AL MES DE LACTANCIA	66
16	CANTIDAD DE BACTERIAS PATÓGENAS PRESENTE EN LA LECHE DEL HATO DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI DE LA FCP – ESPOCH	72
17	INCIDENCIA DE CUARTOS INFECTADOS 15 DÍAS POST TRATAMIENTO EN EL HATO DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI DE LA FCP – ESPOCH	75
18	DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA DE LAS BACTERIAS PATÓGENAS GRAM NEGATIVAS PRESENTE EN LA LECHE DEL HATO DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI DE LA FCP – ESPOCH	77
19	DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA DE LAS BACTERIAS PATÓGENAS GRAM POSITIVAS PRESENTE EN LA LECHE DEL HATO DE LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI DE LA FCP – ESPOCH	80
20	EVALUACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EN BASE A RESULTADOS ESTADÍSTICOS OBTENIDOS POR LA PRUEBA DE DUNCAN	82
21	CALIDAD DE LA LECHE DEL HATO DE TUNSHI EN RELACIÓN AL CONTEO DE CÉLULAS SOMATICAS Y ESCALAS REFERENCIALES A NIVEL MUNDIAL RECONOCIDAS	84
22	EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LOS DIFERENTES MÉTODOS DE DIAGNOSTICO	86
23	EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS	87

**LISTA DE GRÁFICOS**

<b>Nº</b>		<b>Página</b>
1	Porcentaje de incidencia de mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH	64
2	Distribución de vacas productivas según el mes de lactancia con mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH	67
3	Cuartos infectados con mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH	71
4	Cantidad de bacterias patógenas presentes en la leche del hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH	74
5	Incidencia de cuartos infectados 15 días post tratamiento en el hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH	76
6	Determinación de sensibilidad y resistencia de las bacterias patógenas gram negativas presentes en la leche del hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH	78
7	Determinación de sensibilidad y resistencia de las bacterias patógenas gram positivas presentes en la leche del hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH	81

## LISTA DE ANEXOS

- | Nº |   |
|----|---|
| 1  | INCIDENCIA DE MASTITIS EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL TUNSHI                                 |
| 2  | BACTERIAS CAUSANTES DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA EN EL HATO DE TUNSHI DE VACAS SELECCIONADAS |
| 3  | CONTEO DE CÉLULAS SOMATICAS EN TUNSHI DE LAS VACAS SELECCIONADAS                          |
| 4  | CMT POST TRATAMIENTO  |
| 5  | DESARROLLO DE LA MASTITIS Y DE LA DEFENSA DE LA VACA CONTRA LA INFECCIÓN                  |
| 6  | TRES DE LAS PRINCIPALES RUTAS DE TRANSMISIÓN BACTERIANA DURANTE EL ORDEÑO                 |
| 7  | CAMPOS A CONTAR CON UN FACTOR MICROSCOPIO IGUAL A 1414,7073                               |
| 8  | CALCULO PARA DETERMINAR EL FACTOR MICROSCOPIO   |

## **I. INTRODUCCIÓN**

Los consumidores cada vez exigen mayor calidad en los alimentos, para los ganaderos lecheros esto significa producir mas leche y de calidad, especialmente con conteos celulares más bajos y libre de residuos de medicamentos que constituyan riesgos para la salud humana. La preocupación sobre la salud pública también puede ser diferente y es otro aspecto importante relacionado con la calidad de la leche. El énfasis en la prevención de la mastitis y su control varía mucho y determina el valor de la leche y los productos lácteos. Con el objetivo de lograr una baja presencia de mastitis y alta calidad de la leche, los principios generales para la prevención de la mastitis deben ser aplicados y acomodarse a las diferencias de manejo, geográficas y regionales.

La mastitis es la enfermedad más común y costosa del ganado lechero, debido a los efectos que ocasiona sobre la producción y la calidad de la leche. La mastitis es una enfermedad producida por diversos factores: animal, medio ambiente, agentes causales, las cuales influyen en el riesgo de infección. Cuando las influencias del medio ambiente sobrepasan la capacidad de defensa del animal es posible la aparición de una mastitis

Siendo la enfermedad más frecuente y costosa en el ganado lechero. Lo que corresponde aproximadamente al 10% del valor total en ventas de leche. Estos costos se deben a casos de mastitis clínica ó subclínica.

La mastitis subclínica evoluciona sin signos inflamatorios externos los signos mas importantes son aumento del contenido celular de la leche y la presencia de microorganismos causantes en la ubre. La enfermedad se comprueba mediante

examen del contenido celular de la leche y un estudio bacteriológico. Actualmente el mejor indicador para estimar las pérdidas de mastitis en un hato es el recuento de las células somáticas. En el Ecuador no existe una entidad en donde tienen registros de los datos de Conteo de Células Somáticas en forma rutinaria.

La disminución en la producción puede representar el 70% de las pérdidas totales según el Departamento de Agricultura y Ganadería de los EEUU, mientras que el otro porcentaje corresponde a la disminución en el precio de la leche por deficiencias de calidad, gastos de medicamentos, servicios veterinarios, desecho de animales, descartes de leche, además del problema de residuos de antibióticos. La mastitis junto a los trastornos de fertilidad constituye la causa más importante en la baja de la rentabilidad en una explotación lechera

Por todo lo anterior citado se plantearon los siguientes objetivos para el presente trabajo investigativo:

- Evaluar tres diferentes productos (antibióticos) recomendados para la mastitis subclínica.
- Evaluar dos métodos de diagnóstico de mastitis subclínica en vacas.
- Determinar el análisis económico del estudio.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **A. MASTITIS**

Según [http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy\\_essentials\\_spn\\_spn.htm](http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy_essentials_spn_spn.htm). (1998). Menciona que 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. A pesar del estrés y las lesiones físicas se puede causar la inflamación de la glándula, la infección por bacterias invasoras u otros microorganismos (hongos y virus) son las principales causas de mastitis.

#### **1. Tipos de mastitis**

Según [http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy\\_essentials\\_spn\\_spn.htm](http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy_essentials_spn_spn.htm). (1998). Menciona que en los casos de mastitis clínica, el cuarto infectado en general se inflama, en algunas vacas se encuentra dolorido al tocarlo, la leche se encuentra visiblemente alterada por la presencia de coágulos, descamaciones, o suero descolorido y algunas veces sangre. En casos más severos (mastitis aguda), la vaca muestra signos generalizados: fiebre, pulso acelerado, pérdida de apetito, reducción aguda de la producción de leche. En contraste, la mastitis subclínica es sutil y más difícil de corregir. La vaca parece saludable, la ubre no muestra ningún signo de inflamación y la leche parece normal. A pesar de ello, los microorganismos y células blancas de la leche (células somáticas) que combaten las infecciones se encuentran elevados en gran número en la leche. Las pérdidas de leche y de ganancias debido a las mastitis clínicas son obvias, la producción de leche cae en forma abrupta y la leche de las vacas tratadas con antibióticos

debe ser descartada durante tres o cuatro días. Además, mucho más leche se pierde debido a mastitis subclínicas debido a que:

- La gran mayoría de los casos son subclínicos (en promedio, por cada caso clínico, existen de 20 a 40 subclínicos).
- La reducción en la producción de leche debido a mastitis subclínica tiende a persistir por un largo período de tiempo y afecta la producción de las vacas infectadas.

El control de las mastitis subclínicas es más importante que el simple tratamiento de los casos clínicos ya que:

- Las vacas que poseen casos subclínicos son reservorios de organismos que conducen a infecciones de otras vacas;
- La mayor parte de los casos clínicos comienzan como subclínicos; por lo tanto, el controlar los casos de mastitis subclínica es la mejor forma de reducir los casos clínicos.

El impacto de la mastitis va junto con la leche, más allá de las puertas de la explotación lechera. Los cambios en la composición de la leche (reducción de calcio, fósforo, proteína y grasa, e incrementos de cloro y sodio) reducen su calidad. Además, los antibióticos utilizados en el tratamiento de la mastitis son una preocupación industrial y de salud pública importante. La presencia de residuos de antibióticos en la leche interfiere con el proceso de fabricación de muchos productos lácteos (quesos y otros productos fermentados). Los sabores indeseables reducen el valor de los productos lácteos y la presencia de bajos niveles de antibióticos puede causar problemas de salud a los consumidores.

## **2. Desarrollo de la Enfermedad**

Núñez, O. (1996), señala que los cuartos infectados se tiene que los cuartos mas propensos para la contaminación por mastitis es el cuarto posterior derecho con un 27,84%, así como que el anterior derecho se tiene el 23,71%. Mientras que los del lado izquierdo se reporta que el cuarto más contaminado es el anterior con el 24,74% en relación con el posterior que presenta contaminación del 23,71%. Esto puede darse que el mas grado de contaminación tiene el lado derecho a la ubicación de la sala de ordeño ya que se puede trabajar con mayor facilidad el lado izquierdo ya que esta da hacia el foso donde se encuentra el ordeñador y facilita su manejo y no así el derecho que da hacia el pasillo por donde salen los animales ya ordeñados lo cual dificulta la maniobra de lavar bien dichos cuartos. Haciendo una relación entre los cuartos anteriores y posteriores se encontró que existe mayor presencia de contaminación por parte de los cuartos posteriores de ambos lados en relación con los anteriores, puede deberse a que los cuartos posteriores se producen más cantidad de leche que los anteriores. Lo que toca poner mayor énfasis en estos al momento de hacer el lavado de las ubres.

Según [http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy\\_essentials\\_spn\\_spn.htm](http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy_essentials_spn_spn.htm). (1998). Menciona que las infecciones comienzan cuando los microorganismos penetran el canal del pezón y se multiplican en la glándula mamaria.

### **a. Invasión del pezón.**

El pezón en sí es la primera línea de defensa contra la penetración de bacteria dentro de la ubre. Normalmente, el esfínter cierra el canal del pezón fuertemente cuando la vaca no es ordeñada. La invasión del pezón se presenta generalmente

durante el ordeño. Los organismos presentes en la leche o en la punta del pezón son impulsados dentro del canal del pezón y de la cisterna cuando existe la entrada indeseable de aire en la unidad de ordeño (desprendimiento o pérdidas de la unidad o remoción de la pezonera sin haber antes cerrado el vacío). Luego del ordeño, el canal del pezón permanece dilatado por una o dos horas e inclusive, el canal del pezón dañado puede permanecer parcialmente o permanentemente abierto. Los organismos del ambiente (materia fecal, cama, etc.) o aquellos que se encuentran en lesiones de la piel en la punta del pezón, pueden invadir fácilmente y abrir total o parcialmente el canal. Establecimiento de la infección e inflamación del área dañada. Algunas bacterias pueden avanzar dentro de la ubre atacando y colonizando nuevos tejidos; otras pueden moverse por medio de la corriente de leche producida por el movimiento de la vaca. Las bacterias dañan primero los tejidos que recubren los grandes tubos colectores de leche. Las bacterias pueden enfrentarse con leucocitos (células blancas de la leche) presentes naturalmente en bajas cantidades en la leche. Estas células son la segunda barrera de defensa debido a que pueden englobar y destruir a las bacterias. Aún así, durante este proceso, los leucocitos liberan sustancias que atraen a más leucocitos desde el torrente circulatorio hacia la leche. Si las bacterias no son totalmente destruidas, pueden continuar multiplicándose y comenzar a invadir los pequeños conductos y áreas alveolares (Anexo 5A). Las células secretoras de leche que son dañadas por las toxinas, liberan sustancias irritantes que conducen a un incremento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos (Anexo 5B). Leucocitos adicionales se mueven al lugar de la infección. Ellos penetran el tejido alveolar en gran medida moviéndose entre el tejido secretor de leche dañado (Anexo 5C). Fluidos, minerales y factores de

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

**b. Destrucción del tejido alveolar.**

Algunas veces los microorganismos son eliminados rápidamente y la infección se aclara. En este caso, los conductos tapados se abren y la composición y producción de leche retorna a la normal en varios días. Aún así, a medida que la infección persiste y los conductos se mantienen tapados, la leche encerrada hace que las células secretoras pasen a una etapa de descanso (sin producir) y el alvéolo comienza a reducir su tamaño (Anexo 5D). Las sustancias liberadas por los leucocitos conducen a una destrucción completa de las estructuras alveolares, que son reemplazadas por tejido conectivo y cicatriza (Anexo 5E y F). La destrucción del tejido secretor de leche es, en efecto, la tercera línea de defensa de la vaca para mantener a la infección bajo control. Por lo tanto a medida que la enfermedad progresa el número de células somáticas en la leche se eleva y se asocia con una reducción (permanente) en la producción de leche.

**3. Transmisión de varios tipos de organismos de la mastitis.**

Según Núñez, O. (1996). Manifiesta que las bacterias responsables de la mastitis en el hato de la Hacienda Experimental de Tunshi y que se hallaron en un número mayor de muestras antes de aplicarse los tratamientos corresponden al los *Staphylococcus hyicus*, seguidos por *Staphylococcus aureus*, y a los *Staphylococcus epidermis*, que son los responsables directos de la infección de la ubre, mientras que las bacterias menos frecuentes fueron los *Streptococcus disgalactiae* y los *Corynebacterium ulcerans*.

**CUADRO 1. PRESENCIA DE BACTERIAS EN LA LECHE OBTENIDA DE BOVINOS ENFERMOS CON MASTITIS SUBCLÍNICA DE, LA UNIDAD PRODUCTIVA DE LECHE TUNSHI DE LA ESPOCH ANTES DE SER TRATADAS.**

<b>Bacterias</b>	<b>Nº de muestras</b>	<b>Porcentaje</b>
<i>Staphylococcus hyicus</i>	22	27.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	22.5
<i>Staphylococcus epidermis</i>	16	20.0
<i>Staphylococcus intermedius</i>	6	7.5
<i>Streptococcus agalactiae</i>	10	12.5
<i>Streptococcus uberis</i>	5	5.0
<i>Streptococcus disgalactiae</i>	3	2.5
<i>Corynebacterium ulcerans</i>	3	2.5
<b>TOTAL</b>	<b>83</b>	<b>100.0</b>

Fuente: Núñez, Oscar 1996.

Según [http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy\\_essentials\\_spn\\_spn.htm](http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy_essentials_spn_spn.htm). (1998). Menciona que en un intento por controlar los diferentes tipos de infecciones, es importante considerar la fuente y formas de transmisión de la enfermedad. Los organismos que causan la mastitis viven en diferentes ambientes (materia fecal, cama, piel, etc.). La limpieza general de las vacas y su alojamiento, como también buenos procedimientos de manejo (especialmente ordeño) son formas efectivas de controlar la difusión de la mastitis.

Dentro de las fuentes más comunes (de la mayor a la menor prevalencia) y formas de diseminación de las bacterias más comunes productoras de mastitis, se encuentran los *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*, la cual se encuentra en rangos superiores al 40%, en donde su principal fuente de infección es la ubre infectada, cuyas principales formas de difusión de cuarto a

cuarto; vaca a vaca durante el ordeño. El *Streptococcus* ambiental, se encuentra en un 5 – 10% mientras que los *Coliformes* se encuentra por debajo del 1% de todas las infecciones, ubicándose en la cama, materia fecal cuya causa principal de difusión es el medio ambiente de la vaca.

**a. *Streptococcus agalactiae*.**

El *Strep. agalactiae* es la causa más común de infecciones subclínicas pero muy rara vez produce una severa enfermedad (mastitis aguda). Este organismo vive en la ubre de la vaca y sobrevive solamente un corto período de tiempo por fuera de la glándula mamaria. Se disemina principalmente durante el ordeño por medio de la máquina de ordeño, las manos contaminadas del operador, materiales (tela) utilizados para lavar la ubre (Anexo 6). Este organismo puede infectar también la ubre de una ternera joven si ha sido alimentada con leche contaminada. La infección permanece en forma indefinida en la glándula mamaria de la novilla. El *Strep. agalactiae* puede ser erradicado del hato con un tratamiento apropiado combinado con buenas prácticas de manejo. Aún así, se puede llegar a diseminar fácilmente en el hato luego de la compra de un animal infectado.

**b. *Staphylococcus aureus*.**

El *Stap. aureus* vive dentro o fuera de la ubre, en la piel del pezón y puede causar tanto mastitis clínica como subclínica. Generalmente se disemina de la misma forma que el *Streptococcus agalactiae* (Anexo 6). La infección tiende a producir cicatrices, que resultan en sacos de infección encerradas en la ubre que son difíciles de alcanzar por los antibióticos. Tales sacos pueden romperse y abrirse a otras partes de la glándula más tarde.

**c. *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae*.**

Estos organismos se encuentran en la cama (especialmente camas orgánicas: paja, aserrín, etc.), aguas estancadas y tierra. Pueden encontrarse también en la piel de la vaca (pezón y abdomen) y en los órganos reproductores. Estos organismos son generalmente transferidos desde el medio ambiente al pezón entre los ordeños, pero algunas transferencias pueden tener lugar durante el ordeño. Estos organismos no pueden ser eliminados del hato debido a que son parte normal del medio ambiente. El grado de infección de estas bacterias tiende a incrementarse cuando las condiciones favorecen su crecimiento, por ejemplo, durante los meses húmedos del año. El *Strep. uberis* y *Strep. dysgalactiae* son responsables también por la mayoría de las mastitis que se presentan ya sea al comienzo o al final del período de seca. Además de estas dos especies de bacterias, existen muchos otros *Streptococcus* ambientales (*Strep. bovis*, *Strep. fecalis*) que pueden causar mastitis.

**d. Bacterias coliformes.**

Las bacterias coliformes son habitantes normales del suelo e intestino de las vacas. Se acumulan y multiplican en la materia fecal y en la cama. Los coliformes pueden causar mastitis solamente si las partículas contaminadas del medio ambiente entran en contacto con la ubre. A diferencia de las bacterias descritas previamente, los coliformes no se adhieren a los conductos y al alvéolo de la ubre, en lugar se multiplican rápidamente en la leche y producen toxinas que son absorbidas dentro del torrente circulatorio. Como resultado, las infecciones por coliformes conducen a mastitis clínicas agudas. La temperatura corporal de la vaca puede elevarse a 40°C y el cuarto infectado se inflamará y se volverá

sensible al tacto. Los mecanismos de defensa de la vaca pueden eliminar las bacterias de la ubre, pero las toxinas permanecen y la vaca puede llegar a morir. Las vacas libres de otras bacterias causantes de mastitis (*Strep. agalactiae* y *Strep. aureus*) parecen ser más susceptibles a las bacterias coliformes.

Según Vademécum (2004). Las vías de infección de algunas bacterias, especialmente, del género *Streptococcus* residen en la base del pezón sin causar molestias, pero pueden desarrollar infección cuando encuentran las condiciones propicias para su multiplicación y difusión, esto acontece cuando existen golpes, hemorragias, laceraciones del tejido mamario o cuando hay una incompleta evacuación de la leche.

Otros gérmenes pueden ingresar del exterior como en este caso la vía más frecuente para el ingreso de los gérmenes es el conducto del pezón y esto es favorecido cuando el orificio de la punta del mismo está lesionado por distintas causas, anulando de esta forma la primera defensa contra las infecciones.

La difusión de las bacterias que existen en todas partes (agua, suelo, aire) las formas de difundirse son varias, en esto juega un papel importante la higiene que determina la acumulación de gérmenes, los cuales están en grandes concentraciones en los excrementos, en el agua, en la piel de los animales. Cuando existen vacas enfermas los gérmenes virulentos salen con la leche y pueden pasar a otros cuartos o a otras vacas durante el ordeño por medio de las manos del ordeñador o por las pezoneras de las máquinas ordeñadoras (Anexo 6). Los utensilios de ordeño pueden transportar gérmenes de una vaca a otra. Una vaca con mastitis puede llevar la enfermedad si es llevado a otro hato.

Méndez, J. (1996), señala que las bacterias patógenas encontradas en la leche procedente de la hacienda Tunshi, registraron mayor cantidad de Bacterias Gram Positivas que Gram Negativas, prevaleciendo entre estas los géneros *Staphylococcus Sp* y los *Bacilos*. Mientras que en menor cantidad se encontró los géneros *Cocobacilos Sp* y *Streptococcus Sp*

Hoyos, L. (2002) manifiesta que las bacterias patógenas causantes de la mastitis que mayor frecuencia registraron fueron los *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermis*, no así los *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus uberis* que se registraron e menor grado.

Según [http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/du/404\\_es\\_pdf](http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/du/404_es_pdf). (2001). Señala que los patógenos del medio ambiente son por lo general la fuente principal de mastitis en hatos que tienen controlada a la mastitis por patógenos contagiosos. Bacterias del medio ambiente (como por ejemplo *E. coli* y los *Streptococcus ambientales*) se encuentran muy a menudo presentes en las camas con material de origen orgánico y en corrales embarrados. Las prácticas de manejo que reducen la exposición de la punta de los pezones a dichos organismos reducirán los riesgos de mastitis.

#### **4. Prevención de la mastitis**

Según Kirk, J. (2003), los principios y bases para un mejor control de la mastitis empiezan desde el ordeño tomando como plataforma los siguientes principios:

- Ordeñar las vacas con los pezones limpios y secos, especialmente la punta del pezón. Mejor calidad de leche, control de mastitis ambientales, subida de pezoneras, duración del ordeño y eficiencia de ordeño.

- Prevenir la transferencia de organismos patógenos de una vaca a otra durante el ordeño. Disminución de mastitis contagiosas y mejor calidad de leche.
- Prevenir daños de los pezones durante el ordeño. Mastitis, bajada de la leche, eficiencia de ordeño.
- Proveer un ambiente que permita a las vacas permanecer limpias entre ordeños. Mastitis ambientales, calidad de leche, eficiencia de ordeño y confort de las vacas.
- Detección precoz o temprana de nuevas infecciones (clínicas y subclínicas). Mejor respuesta a los tratamientos, infecciones crónicas, secado o eliminación de vacas.
- Correcto uso de los medicamentos. Mayor éxito en los tratamientos, control del costo, residuos en la leche y la carne.
- Control y duración de las infecciones. Disminución de la prevalencia de enfermedades, reducción del rechazo de animales.
- Monitoreo del estado de las mastitis. Prevención de epidemias, información para el secado o eliminación de vacas.
- Criar vaquillas de reemplazo libres de mastitis. Permite eliminar vacas por producción, reduce la prevalencia de mastitis en el hato o manada.
- Suponer que todas las vaquillas de reemplazo que se compran están infectadas. Evitar la introducción de nuevos organismos patógenos.
- Proveer una nutrición adecuada disminuye la susceptibilidad a las mastitis. Control de nuevas infecciones.
- Control de moscas. Disminución del daño en la punta de los pezones y de la incidencia de nuevas infecciones.

- Entrenamiento del personal en la rutina de ordeño. Todas las áreas de prevención de mastitis y calidad de leche.
- Asignar responsabilidades para todas las áreas de prevención de la mastitis. Conocimiento en las tareas a realizar, compartir responsabilidades, mejora en la confianza individual.

Según [http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy\\_essentials\\_spn\\_spn.htm](http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy_essentials_spn_spn.htm), (1998). Menciona que la prevención de la mastitis puede conseguirse siguiendo pasos muy simples que tienen como objetivo el reducir el grado y la duración de la infección.

**a. Adecuada higiene de ordeño.**

Los pezones deben de ser limpiados y secados antes del ordeño. Si la leche se filtra, la presencia de partículas (material sólido) en los filtros indica una limpieza insuficiente del pezón durante la preparación de la ubre o la falta de higiene durante la colocación y remoción de la unidad de ordeño.

**b. La máquina de ordeño debe funcionar y ser operada adecuadamente.**

Los niveles de vacío en la unidad de ordeño deben estar entre 275 y 300 mm. de mercurio y deben fluctuar lo menos posible. Las fluctuaciones pueden reducirse considerablemente evitando las entradas de aire o deslizamientos de la unidad durante el ordeño, y apagando el vacío de la unidad antes de que las pezoneras sean removidas. El regulador de vacío debe ser mantenido limpio y su exactitud debe monitorearse en forma regular.

**c. Sellado de pezones luego del ordeño.**

Las investigaciones indican que el grado de nuevas infecciones que puede disminuir en más del 50% cuando un desinfectante adecuado se utiliza para sumergir o rociar los pezones completamente. El sellado de pezones post-ordeño es más efectivo contra *Stap. aureus* y *Strep. agalactiae*, las dos bacterias productoras de mastitis más contagiosas. El sellado de pezones no afecta las infecciones existentes.

**d. Tratamiento al secado de todos los cuartos.**

El uso efectivo de un antibiótico a largo plazo colocado en cada cuarto de la ubre en el último ordeño de la lactancia, reduce la incidencia de nuevas infecciones durante el período de seca. Además, la terapia de secado de las vacas es la mejor forma de curar las mastitis crónicas y subclínicas que durante la lactancia son tratadas muy rara vez.

**e. Tratamiento adecuado y a tiempo de todos los casos clínicos**

Una terapia adecuada debe ser decidida por el veterinario, la vaca debe ser manejada de acuerdo para evitar la diseminación de la enfermedad.

**f. Descarte de vacas infectadas en forma crónica.**

Generalmente este método es efectivo debido a que en la mayoría de los hatos, solamente 6 a 8% de todas las vacas son las responsables de 40 a 50% de todos los casos de mastitis.

**g. Una buena nutrición mantiene la capacidad de la vaca para defenderse de las infecciones.**

Las deficiencias de selenio y vitamina E en la dieta han sido asociadas con un incremento del grado de nuevas infecciones.

**h. Otras prácticas útiles de manejo**

Algunas prácticas simples ayudan a reducir la diseminación de la mastitis.

- Alimente a las vacas inmediatamente después del ordeño de manera de que puedan permanecer de pie por lo menos una hora antes de echarse.
- Ordeño al último a las vacas infectadas.

**5. Control de la mastitis.**

Según [http://paila.rds.org.hn/archivos/tesis\\_yader.pdf](http://paila.rds.org.hn/archivos/tesis_yader.pdf), (2000). Menciona que la alta prevalencia de mastitis subclínica en las fincas examinadas es indicativo de falta de medidas de higiene durante el proceso de la ordeña tal como lo revela la encuesta aplicada a los productores donde un 89.5% de los hatos examinados no practican el lavado y desinfección de pezones, limpieza y desinfección de las manos del ordeñador entre otras técnicas recomendadas para la prevención de mastitis.

Kleinschroth, et al. (1991) señala, que las influencias desfavorables del medio ambiente (errores de ordeño, maquinas de ordeñar mal regladas, animales en malas condiciones de estabulación, alimentación, etc.), conducen a un debilitamiento de la capacidad defensiva de la ubre y favorece a la infección, de la

misma forma que la favorecen la higiene insuficiente, las lesiones de la teta y la proliferación de gérmenes alrededor del animal.

Núñez, O. (1996). Que las principales causas de infección como son la falta de aseo y limpieza tanto del equipo de ordeño, así como el manejo de los corrales que presentan acumulación de heces barrosas, charcos con agua contaminada, convirtiéndose así la principal fuente de contaminación, ya que al finalizar el ordeño los responsables de realizarlo no practican el sellado de pezones por lo que las bacterias tienen las puertas abiertas para producir la infección de este órgano.

Según <http://www.solomamitis.com>. (2005). Aunque las causas determinantes de mastitis son siempre gérmenes patógenos procedentes del exterior, multitud de factores pueden repercutir sobre la salud de la ubre y predisponerla a padecer procesos clínicos o subclínicos.

La implantación de programas de mejora de la calidad de la leche es una práctica muy extendida entre los técnicos veterinarios. Su objetivo general es diagnosticar el origen de la problemática de las mastitis y establecer las pautas para su prevención y curación. A pesar de tener todos una base común, no existe una fórmula preestablecida para llevarlos a cabo.

Antes de diseñar un programa de control es necesario realizar una visita diagnóstica a la explotación, objetiva y exhaustiva, para precisar el origen del problema. Con las observaciones y los datos recogidos se establecerá la estrategia de trabajo (frecuencia de las visitas, muestreos, etc.) y se trazarán unos

objetivos que puedan llevarse a cabo en un plazo prudencial, para evitar que decaiga la motivación del ganadero.

Todos los planteamientos de mejora del recuento celular de la leche contemplan como punto de partida la puesta en práctica de una serie de medidas de manejo indispensables:

- Preparación adecuada de ubres;
- Baño desinfectante de pezones efectivo tras el ordeño;
- Correcto tratamiento de las mastitis clínicas;
- Tratamiento antibiótico a todos los animales al inicio del periodo seco;
- Buen funcionamiento y mantenimiento de la máquina de ordeño;
- Eliminación de los animales crónicos.

Además, el éxito en el control de las mastitis conlleva el conocimiento y la observación de los parámetros que pueden actuar sobre las vacas. Unas nociones generales de nutrición, reproducción, gestión, etc. pueden servir de gran ayuda.

**a. Posible esquema de los principales puntos a valorar en una explotación.**

(1) Durante el ordeño.

- Valoración del manejo de ordeño
- Valoración de la salud de la ubre
- CMT
- Toma de muestras de leche
- Otras muestras
- Valoración del funcionamiento dinámico del sistema de ordeño

- Valoración del estado de esfínteres y piel de los pezones

(2) Después del ordeño

- Distribución general del ganado en la explotación
- Estado de limpieza y confort de las vacas
- Toma de muestras de leche del tanque
- Valoración del funcionamiento estático del sistema de ordeño
- Manejo general de la explotación

(3) *Valoración de datos objetivos*

- Datos del RCS del control lechero
- Relación CMT con del (días en leche), número de parto, lote de ordeño, etc.
- Valoración del funcionamiento de la máquina de ordeño.
- Tratamientos antibióticos: secado, mastitis clínicas, mastitis subclínicas
- Incidencia de enfermedades, mastitis, eliminaciones, partos, etc.
- Valoración de otros parámetros de calidad de leche

(4) Toma de decisiones

- Prioridades de actuación
- Puntos críticos
- Seguimiento y establecimiento de objetivos

**B. DIAGNOSTICO DE LA MASTITIS**

Según <http://www.solomamitis.com>. (2005). La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria consecuencia de la invasión por un germen patógeno a través del esfínter del pezón. Estos microorganismos siempre proceden del exterior de la ubre, pero su origen puede encontrarse en otro animal infectado o en el medio ambiente. Es posible diagnosticar las mastitis clínicas por la sintomatología que producen: anomalías en la secreción láctea, inflamación de la glándula mamaria, disminución de la producción, etc. Cuando se observan estas alteraciones, pueden tomarse muestras de leche antes de proceder con el tratamiento, cuyo análisis microbiológico permitirá determinar el agente etiológico de la enfermedad. El diagnóstico de las mastitis subclínicas entraña mayores dificultades, ya que al no ser procesos aparentes es necesario disponer de sistemas de identificación lo más precisos posibles.

Según Vademécum (2004). La mastitis subclínica que no presenta síntomas clínicos, solo se le puede reconocer demostrando el incremento de células somáticas en la leche esto se puede hacer en forma directa en tinciones de extensiones de leche o en forma indirecta mediante pruebas como el California Mastitis Test (CMT), el conteo automático de células somáticas, cultivos bacteriológicos de la leche.

### **1. California Mastitis Test (CMT).**

Según <http://www.solomamitis.com>. (2005). Consiste en una reacción química en la que la leche se mezcla con un reactivo. Cuando éste entra en contacto con las células somáticas se produce la formación de gelatina en cantidad directamente proporcional al grado de inflamación del cuarterón.

Se trata de una prueba subjetiva, ya que la interpretación de la reacción de gelificación depende de la apreciación personal de cada técnico.

**a. Resultados e interpretación.**

Según Vademécum (2004). Los resultados obtenidos pueden extrapolarse a recuentos celulares del modo que se indica en el cuadro 2.

**CUADRO 2. RESULTADOS OBTENIDOS SEGÚN LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR CMT.**

Trazas	Forma un ligero precipitado que se disuelve mezclándolo
+	Forma un gel mucoso
++	El gel es denso y floculento
+++	El gel se vuelve viscoso y pegajoso

Fuente: Vademécum 2004

**b. Interpretación.**

- En los primeros chorros de leche procedentes de una sola vaca, una reacción (+) se debe clasificar como sospechosa, mientras que (++) o más indican mastitis subclínica. Se recomienda tomar muestras de leche del cuarto o cuartos afectados, y enviar al laboratorio para que se les realice cultivos bacteriológicos y antibiogramas.
- Una reacción (+) con leche a granel procedente de un rebaño, sugiere por lo menos el 20% de las vacas lactantes tiene mastitis subclínica, o que un gran porcentaje esta cerca del final de su lactancia.

- Observaciones recientes sugieren que los resultados más seguros se obtienen cuando la prueba se lleva a cabo con leche extraída 3-5 horas después del ordeño normal.

### CUADRO 3. REACCIONES QUE SE OBSERVAN CON RELACIÓN AL NÚMERO DE CÉLULAS SOMÁTICAS

+	400.000 – 1'500.000 células/ml
++	1'500.000 – 5'000.000 células/ml
+++	> 5'000.000 células/ml

Fuente: Vademécum 2004

#### c. Ventajas e inconvenientes del California Mastitis Test

Según <http://www.solomamitis.com>. (2005). Se tiene las siguientes ventajas e inconvenientes de este método siendo las siguientes:

##### (1) Ventajas

- Barato y fácil de realizar.
- Correlación aceptable entre reacción positiva y alto recuento celular.
- La reacción no se ve interferida por heces, pelo, temperatura, etc.
- Valora recuentos celulares por cuarterones independientes.

##### (2) Inconvenientes.

- Poca sensibilidad en los recuentos celulares.
- Falsos positivos en vacas recién paridas o con muchos días de lactación (por descamación de la ubre).

#### d. Precisión del CMT.

Según <http://www.solomamitis.com>. (2005). En un recuento celular se considera que un animal está infectado cuando la media de los cuatro cuarterones es superior a 180.000 células/ml. El objetivo del Test California no es tanto ofrecer un valor celular, sino detectar animales o cuarterones con posibilidad de padecer infecciones.

Según los datos de dos estudios llevados a cabo por Rubén N. González (1992-1996), la sensibilidad del CMT en la detección de leche positiva confirmada por cultivo fue del 83% y 68%, respectivamente. En otros trabajos del mismo autor sobre la sensibilidad de la prueba frente a bacterias específicas, los resultados fueron *Bacillus aereus* 60%, *Stap. aureus* 66% y *Strep. agalactiae* 72%. Según González, aproximadamente una tercera parte de las vacas con mastitis contagiosas no pueden detectarse con el CMT.

## **2. Conteo de Células Somáticas**

Según <http://www.solomamitis.com>. (2005). Tanto las mastitis clínicas como las subclínicas poseen una característica común: producen un incremento de las células defensivas de la vaca en la ubre, mayoritariamente leucocitos procedentes del sistema circulatorio. Estas células, denominadas somáticas, se eliminan con la leche. Su cuantificación permite determinar la presencia de enfermedad y el grado de inflamación de la glándula mamaria para posteriormente:

- Tratar la mastitis
- Tomar muestras de leche para el diagnóstico microbiológico.

El recuento celular de la leche del tanque no puede ser valorado de la misma forma que el individual. Todas las determinaciones objetivas en el tanque deben llevarse a cabo con medidores electrónicos de precisión, ya que los resultados son de gran importancia para el ganadero y el veterinario de la explotación. Además, las industrias lecheras y la Normativa Europea exigen que la leche recogida en origen tenga un recuento celular igual o inferior a las 400.000 cél/ml.

Según <http://www.intervet.com.ec>. (2005). Menciona que normalmente una vaca sana puede tener hasta 200.000 células somáticas por mililitro. Un alto conteo de células somáticas se asocia con la pérdida de la producción y calidad de la leche.

Sin embargo, se deberá tener en cuenta la interpretación de los conteos de las células somáticas, especialmente cuando existen otros factores externos que puedan elevar el número de las mismas, como por ejemplo: el estrés, la estación del año, la edad, la etapa de lactancia, daños en la ubre (golpes, heridas, etc.) y algunas causas indirectas como funcionamiento de la máquina de ordeño (vacío, pulsaciones, etc.).

El monitoreo de las células somáticas puede hacerse individualmente en cada vaca o por muestreo de la leche del tanque receptor. La diferencia entre ambos casos es que en el primero, se puede conocer el estado de salud de un animal determinado; mientras que para el segundo caso sólo podrá derivarse información del estado de salud promedio de todo un hato.

La forma directa de conteo de las células somáticas puede llevarse a cabo con el microscopio, o con un equipo de conteo electrónico.

El interés que debe ponerse a la calidad de la leche es la disminución del número de células somáticas, esto significa menos riesgos de problemas de salud para el consumidor, mejores precios o incentivos para el productor, se incrementa el rendimiento en la elaboración de quesos y se alarga la vida de conservación de los productos lácteos, se mejora la salud de las vacas y la rentabilidad de la ganadería.

Según <http://agbiopubs.sdstate.edu/articles/ExEx4031-S>. (2004). Manifiesta que la alta cantidad de células somáticas en su hato indican que hay vacas con mastitis. Es muy importante identificar la bacteria que la causa antes de intentar una terapia, decisiones de descartar animales o cambios en las prácticas de ordeño. Primero hay que determinar si los microorganismos son ambientales o contagiosos y por lo tanto transmisibles de vaca a vaca. Hay algunos otros microorganismos que no se pueden clasificar en estos dos grupos a los que se llama oportunistas.

**CUADRO 4. RELACIÓN ENTRE EL CMT Y LAS CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (cél. / ml).**

N	Negativo	0-200,000
T	Trazas	200,000-400,000
1	Positivo débil	400,000-1,200,000
2	Positivo aparente	1,200,000-5,000,000
3	Positivo fuerte	Por encima de 5,000,000
4	Mastitis clínica	Por encima de 5,000,000

Fuente: Universidad de Nebraska. 2004

Kleinschroth, et al (1991), manifiesta que el contenido celular y la cantidad de leche existe una relación negativa. Cuando mas elevado sea el contenido celara menor será el rendimiento. En un contenido celular de más de 500.000 cel/ml, la

pérdida media de leche es superior al 5%; si se eleva a más de 750.000 cel/ml representa más del 12%

Según [http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy\\_essentials\\_spn\\_spn.htm](http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy_essentials_spn_spn.htm). (1998). Menciona que más del 98% de las células somáticas que se encuentran en la leche provienen de las células blancas que ingresan a la misma en respuesta a la invasión bacteriana de la ubre. Un alto conteo de células somáticas se asocia con la pérdida de la producción de leche.

#### CUADRO 5. ESTADO SANITARIO DE LA UBRE

Contenido celular / ml	Valoración del estado sanitario	Perdida de leche (%)
Menos de 125.000	Muy bueno No hay enfermedad de la ubre	-
125.000 – 250.000	Bueno No hay enfermedad de la ubre	-
250.000 – 350.000	Satisfactorio Hay algunas vacas enfermas	Menos de 4
350.000 – 500.000	Peligra el estado sanitario del hato Vacas enfermas Es necesario proceder a exámenes y tratamientos.	5
500.000 – 750.000	Alteración del estado sanitario Hay muchas vacas enfermas Son necesarias medidas de tratamiento Cambios en las propiedades de la leche	Mas de 5
Mas de 750.000	Mastitis. Intensa alteración del estado sanitario. Hay muchas vacas enfermas. Son indispensables las medidas de tratamiento Considerable alteración en las propiedades de la leche.	Mas del 12

Fuente: Kleinschroth, et al. 1991).

Cuando la leche de todas las vacas en el hato se mezcla, como en el tanque a granel, el conteo de células somáticas en una muestra compuesta es un buen indicador de la prevalencia de la mastitis en el hato (Cuadro 6). Un conteo de

células somáticas mayor de 200,000 células/ml indica la presencia de mastitis subclínicas. Los hatos que poseen un programa de control efectivo de la mastitis poseen en forma consistente conteos por debajo de las 100,000 células/ml. Conteos de células somáticas mayores de 500,000 células/ml indican que un tercio de las glándulas se encuentran infectadas y que la pérdida de leche debido a mastitis subclínica es mayor de 10%. Los conteos de células somáticas por debajo de 400,000 células/ml son típicos de los hatos que poseen buenas prácticas de manejo, pero que no un particular énfasis en el control de la mastitis.

El conteo de células somáticas de una muestra compuesta no revela el tipo de infección, ni la identidad de las vacas infectadas.

**CUADRO 6. RELACIÓN ENTRE CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) MEDIDO EN LA LECHE DEL TANQUE A GRANEL, PÉRDIDA DE LA PRODUCCIÓN Y PREVALENCIA DE LAS MASTITIS SUBCLÍNICAS EN EL HATO.**

<b>Conteo de células somáticas</b>	<b>Cuartos infectados</b>	<b>Pérdida de Producción (%)</b>	<b>Mastitis subclínica</b>
< 200.000	6%	0-5	Cerca de cero
200.000 - 500.000	16%	6-9	Unos pocos casos
500.000 - 1.000.000	32%	10-18	Diseminada
> 1.000.000	48%	19-29	Epidémica

Fuente: Wattiaux, M. 1998.

**a. Los principales factores que inciden en el recuento de células somáticas.**

Según <http://www.intervet.com.ec>, (2005). Reporta que los factores que influyen en el CCS son las siguientes:

- (1) Higiene en el ordeño.

El objetivo es ordeñar pezones limpios, secos y bien estimulados. Recuerde que solo se deben lavar los pezones y secarlos con toallas individuales. Las manos de los ordeñadores son una fuente importante de contaminación bacteriana.  
“Ordeñar ubres limpias y secas”

(2) Máquina de ordeño e instalaciones.

El equipo de ordeño es un factor que contribuye en gran medida a la incidencia de mastitis si no está correctamente calibrado o el control y mantenimiento es deficiente.

- Capacidad de la bomba de vacío: Si no existe suficiente vacío en el sistema se debe verificar si la capacidad de la bomba está acorde con el equipo.
- Regulador de vacío y el sistema de pulsado: Si estos componentes no funcionan bien las fluctuaciones de vacío harán que pequeñas gotas de leche contaminadas por patógenos de mastitis sean trasladadas a los cuartos sanos a través de las pezoneras.

(3) El personal.

El hombre a través del correcto manejo puede bajar el número de células somáticas, como también pueden transformar en generador de aumentos sino cumple con las pautas mínimas. Las principales medidas que deberían tomar son:

(a) Sellado de pezones después del ordeño.

Después del ordeño el canal del pezón queda abierto por un tiempo que varía entre 30 minutos y 2 horas. En ese lapso los microorganismos pueden colonizar el canal y provocar nuevas infecciones. La aplicación de productos antisépticos

confiables es una buena medida preventiva para disminuir las infecciones intramamarias. Esta es la medida más efectiva y económica dentro del plan de control de mastitis.

(b) Eliminación de vacas crónicas.

Es considerada una vaca crónica aquella que presenta más de dos casos clínicos en la misma lactancia y dichos casos se presentan con un intervalo de por lo menos quince días. Estas vacas cuando son tratadas pasan de una mastitis clínica a una subclínica y luego nuevamente vuelven al primer estado. Esto es debido a que con el tratamiento solo se obtiene la cura clínica y no la cura bacteriológica. Estas vacas aportan un elevado recuento de células somáticas al tanque y por más productoras que sean se sugiere la eliminación de las mismas por las pérdidas económicas que ocasionan y por ser las principales fuentes de contagio.

(c) Terapia de secado.

Se deben tratar los cuatro cuartos de todas las vacas al secado. El mismo se tiene que hacer dos meses antes de la fecha probable del parto. El objetivo del tratamiento intramamario es la prevención de las mastitis clínicas a partir del secado y la cura de las mastitis subclínicas de la lactancia anterior para que después del parto entren con bajos recuentos de células somáticas. Al realizar el secado con un antibiótico secador de larga duración aumentan las probabilidades de curación.

(d) Organización de los ordeños.

Es conveniente ordeñar en primer lugar las vacas sanas y al final las vacas en tratamiento para impedir la diseminación y agilizar la rutina de ordeño.

(e) Eliminación del estrés en las vacas.

Los malos tratos del personal, los acarreos rápidos, los trabajos en la manga y las agresiones de los perros han mostrado que incrementan el número de células somáticas.

## **b. La Vaca**

(1) Número de lactancia.

Las vacas normalmente tienen un recuento de células somáticas de 100.000 y 150.000 cel/ml. Con el correr de las lactancias las vacas presentan un mayor recuento de células somáticas. Sin embargo, cualquiera sea la lactancia el conteo de una vaca sana no debería superar las 200.000 cel/ml.

(2) Etapa de lactancia.

Un elevado recuento de células somáticas en leche en los días siguientes al parto puede considerarse normal, sin que ello signifique un estado infectivo. También la probabilidad de infección aumenta a medida que avanza la lactancia, especialmente después de los 200 a 250 días. Algunas vacas pueden tener un incremento en el recuento de las células somáticas sin que ellas tengan mastitis.

(3) Medio ambiente.

Se pueden realizar prácticas sencillas para reducir la exposición de los pezones a los microorganismos patógenos al contar con un medio ambiente lo mas higiénico

y seco posible. Hay que evitar que las vacas se echen o atraviesen lugares con barro en las dos horas post-ordeño. Para ello las vacas deben tener comederos a su disposición o ser trasladadas a un terreno limpio. “Ambiente limpio y seco es importante para mantener la salud de la ubre”.

### **c. Células somáticas: consecuencias sobre la industria lechera**

Según <http://www.solomamitis.com/articulos/http>, (2002) Menciona que la recogida de leche con tasas celulares elevadas es un problema con consecuencias económicas, tecnológicas y legales para las industrias lecheras.

En presencia de células se altera el equilibrio mineral de la leche, aumentando el contenido en calcio, fósforo y potasio. Si al probar la leche ésta tiene un gusto a salado es debido a la presencia de leucocitos. Igualmente, el pH de una leche con células aumenta hasta 6,5-7, lo que modifica sus condiciones de transformación.

Las instalaciones de tratamiento térmico de leche UHT se ensucian más en presencia de células, por lo que debe aumentarse su frecuencia de limpieza, y con ella los costes de mantenimiento.

La preparación de mantequilla también se vuelve más difícil. Las materias grasas son de menor calidad debido a su alteración enzimática, lo que tiene consecuencias sobre su sabor (enranciamiento) y su periodo de conservación.

En cuanto a la fabricación de queso, en leche con células la proporción de caseína es menor para una misma tasa de proteínas, pudiendo reducirse hasta un 20%, lo que ralentiza la fermentación láctica y provoca una disminución de la

rentabilidad y de la producción de queso. Además el tiempo de coagulación aumenta y el coágulo es de menor calidad.

La presencia de células en leche también supone problemas en la producción de leche cruda. El riesgo de presencia de *Stap. aureus* aumenta y, por tanto, el de presencia de enterotoxinas en el producto terminado.

Además, quien habla de células habla de mastitis, con el consiguiente riesgo de presencia de antibióticos inhibidores de las fermentaciones lácticas útiles.

### **3. Palpación de ubres**

Según <http://www.solomamitis.com>. (2005). Se trata de una prueba indirecta que únicamente pone de relieve grandes lesiones macroscópicas, casi siempre de carácter crónico e irreversible (induraciones en la ubre, alteraciones de la textura o cuartos atrofiados), que influyen directamente sobre el recuento celular de la leche.

Según [http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy\\_essentials\\_spn\\_spn.htm](http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy_essentials_spn_spn.htm). (1998). Menciona que los signos de mastitis aguda incluyen cuartos inflamados, con temperatura elevada y dolor al tacto. Los cambios en el tamaño y la presencia de tejido cicatrizal pueden ser detectados más fácilmente luego del ordeño, cuando la ubre se encuentra vacía.

### **4. Despuntado de los pezones**

Según <http://www.solomamitis.com>. (2005). El despuntado consiste en la eliminación de los primeros 4-5 chorros de leche de cada cuarterón durante la preparación de las ubres antes de comenzar con el ordeño. Es una práctica muy

importante para adquirir una buena rutina de trabajo. Se debe realizar sobre un recipiente con fondo negro, para poder observar de forma precisa las posibles alteraciones de la leche (color, aspecto y olor) de cada uno de los cuarterones. Nunca se debe realizar sobre la mano del ordeñador, ya que supone un grave riesgo de contagio entre animales. El despuntado se puede hacer sobre el suelo de las salas de ordeño, pero manteniendo el piso siempre limpio después de cada turno.

Además de permitir el diagnóstico de las mastitis clínicas, el despunte de los pezones sirve para eliminar la leche de peor calidad y estimular a la vaca para el ordeño, mejorando la bajada de la secreción láctea.

## **5. Conductividad eléctrica**

Según <http://www.solomamitis.com>. (2005). Es una de las pruebas más modernas que se utilizan en las salas de ordeño. El método se fundamenta en la detección mediante medidores electrónicos del aumento de la conductividad eléctrica de la leche, consecuencia de una elevación de la concentración de sales debida a la inflamación existente en la ubre. Las mastitis conllevan un incremento de la concentración de sodio y cloro, y también una disminución de los iones calcio y otros componentes.

La medición de la conductividad debe ir asociada a sistemas informáticos que permitan comparar los resultados con datos anteriores de una misma vaca, otros ordeños, producción de leche de los animales, etc. Es un parámetro importante si se valora diariamente, de forma comparativa y automática.

La determinación de la conductividad eléctrica sirve de ayuda para el diagnóstico de nuevas mastitis clínicas en una explotación, pero nunca sustituye a otras prácticas de manejo como el despunte, el CMT o el recuento celular laboratorial. No permite detectar procesos subclínicos, ya que la alteración de la leche y el incremento de la conductividad aparecen de forma progresiva.

Según Barreno, A. (1999). La medida de conductividad eléctrica es útil bajo las condiciones de la investigación, pero actualmente tiene una aplicación muy limitada en los hatos. Este método para detectar mastitis confía en los diferentes niveles de concentración de sal que ocurre entre los cuartos infectados y los sanos de la misma vaca. La presencia de una bacteria infecciosa aumenta el sodio y cloro en la leche mientras que disminuye los iones de calcio, y la lactosa. El cloro y el sodio aumentan en los cuartos infectados porque salen de la sangre durante la inflamación.

### **C. TRATAMIENTO DE LA MASTITIS**

Según Martín, M. (1998). Se debe considerar en primer lugar una diferencia entre mastitis clínica (con alteración de la leche y/o alteración del cuarterón) y subclínica (sin síntomas aparentes).

En el caso de mastitis subclínicas, solo es económicamente justificable el tratamiento para casos producidos por *Stap. agalactiae*. Existen diferentes estudios que demuestran que existe un 90% de curación para esa bacteria. En el caso de mastitis subclínica producida por *Strep. aureus*, el porcentaje de curación es tan solo del 3%, lo que hace que sea antieconómico.

En el caso de mastitis clínica tenemos que tener en cuenta ciertos hechos:

- Existe un problema de residuos de antibióticos a tener en cuenta en las mastitis en lactación.
- El costo de la terapia antibiótica es elevado lo que implica una cuestión de eficacia del tratamiento utilizado.
- Los patógenos medio ambientales han aumentado su presencia. La terapia antibiótica no se ha mostrado excesivamente eficaz aunque los resultados se ven mejorados con la utilización de tratamientos no antibióticos principalmente de antiinflamatorios.

Todo esto nos lleva a asegurar que los tratamientos con antibióticos son una solución viable aunque no la única a aplicar en los tratamientos de mastitis.

Por lo tanto, la hora de establecer una pauta de tratamiento debemos tomar en cuenta tres factores:

- Eficacia
- Economía
- Residuos en la leche

### 1. **Cefalosporina**

Según <http://www.jamesbrownpharma.com/vademecum/http> (2005). El ceftiofur HCL es una cefalosporina de tercera generación, antibiótico sin tiempo de retiro en leche y carne; para el tratamiento de enfermedades ocasionadas por bacterias Gram positivas y Gram negativas, como Pasteurelisis, Salmonelosis, Colibacilosis, Pododermatitis, Pleuroneumonías y enfermedades respiratorias en

porcinos, bovinos, inclusive vacas en producción láctea. Adyuvante en casos de Mastitis y Metritis, además de poseer baja toxicidad.

El mismo que actúa como un antibiótico bactericida, interfiere con la síntesis de pared celular, produciendo así, la destrucción de los microorganismos. Presenta muy buena absorción y distribución en tejidos, alcanzando niveles terapéuticos en riñones, tejidos blandos, etc.

Sotomayor, L. (2004), cita a Erskine (2002) el cual manifiesta que se no se observaron diferencias significativas entre los animales perdidos tratados y que el tratamiento intramuscular con ceftiofur reduce las bajas de animales en casos graves de mastitis

En investigaciones hechas en los EEUU especialmente por The Veterinary Clinical of North America y que es citado por Sotomayor, L. (2004), indica que con la utilización de la cefalosporina de cuarta generación en este caso el ceftiofur sodico aplicado por vía intramuscular se logra importantes resultados en la mayoría de la recuperación clínica del animal y reducción de las perdidas en la venta de la leche, y no así con aplicación de las penicilinas y tetraciclinas las cuales tuvieron bajos porcentajes de susceptibilidad tanto para bacterias gram positivas como gram negativas.

Según el Manual Merck de Veterinaria (2000). Las cefalosporinas están estrechamente relacionadas con las cefamicinas, son una clase antibiótico  $\beta$ -lactámicos que ha proliferado rápidamente. Similares a las penicilinas en varios aspectos, también comparten muchas características farmacológicas comunes como grupo. Se ha probado el uso de un fármaco, el ceftiofur en vacas y perros.

### a. Clases.-

Las cefalosporinas se diferenciaban principalmente por sus propiedades farmacocinéticas; las generaciones más recientes presentan espectros de actividad más amplios y la clasificación actual del grupo se basa principalmente en estos espectros bacterianos.

#### (1) Cefalosporinas de primera generación.

Este grupo incluyen la cefalotina, cefaloridina, cefapirina, cefazolina, cefalexina, cefradina, y cefadroxil. Las cefalosporinas de este grupo suelen hacer bastante activas frente a muchas bacterias gram positivas, pero solo moderadamente activas frente a organismos gram negativos. Son relativamente sensibles a  $\beta$ -lactamasas o cefalosporinasas y no son tan eficaces como las penicilinas frente a los gérmenes anaeróbicos.

#### (2) Cefalosporinas de segunda generación.

Este grupo incluye al cefamandol, cefoxitina (una cefamicina), cefotian, cefaclor, cefuroxina y ceforanida. Estos fármacos suelen ser activos frente a bacterias gram positivas y gram negativas. Además son relativamente resistentes a las  $\beta$ -lactamasas. No son eficaces frente a enterococos, *Pseudomonas aeruginosa*, *Actinobacter* spp y muchos anaeróbicos obligados.

#### (3) Cefalosporinas de tercera generación.

En este grupo incluye al ceftiofur, ceftriaxona, cefsulodina, cefotaxina, cefoperazona, moxalactam (que no es una verdadera cefalosporina) y varias más.

De forma característica, presentan actividad tan solo moderada frente a gérmenes gram positivos, pero son activas frente a una gran variedad de gérmenes gram negativos, incluso, en ciertos casos, algunas *Pseudomas spp*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter spp*. Generalmente son muy resistentes a  $\beta$ -lactamasas. Las cefalosporinas de tercera generación penetran habitualmente la barrera hematoencefálica y suelen estar indicadas en casos de meningitis bacteriana producida por gérmenes patógenos sensibles. El ceftiofur se ha probado específicamente para la bronconeumonía del ganado bovino, especialmente si es causada por *Pasteurela baemolytica*, o *multocida*.

#### **b. Propiedades generales.**

Las propiedades físicas y químicas de las cefalosporinas son similares a las de las penicilinas, aunque son algo más estables frente a cambios de pH y temperatura. Las cefalosporinas son ácidos débiles derivados del ácido 7-aminocefalosporánico. Se usan en forma de base libre para administración oral si son estables en medio ácido, o como sales de sodio en forma acuosa para administración parenteral (la sal sódica de cefalotina contiene 2,4 mEq de sodio/g). Las cefalosporina también contienen un núcleo  $\beta$ -lactámico que es sensible a la hidrólisis por  $\beta$ -lactamasas o cefalosporinasas. Estas  $\beta$ -lactamasas pueden también atacar ocasionalmente a las penicilinas. Las modificaciones del núcleo del ácido 7-aminocefalosporánico y las sustituciones en las cadenas laterales por medios semi sintéticos han originado diferencias entre las cefalosporinas con respecto a sus espectros antibacterianos, sensibilidad a las  $\beta$ -lactamasas y farmacocinética.

#### **c. Indicaciones terapéuticas y dosis.**

El precio de las cefalosporina ha limitado su uso en veterinaria. Sin embargo, las cefalosporina de primera generación han demostrado ser útiles, especialmente con las infecciones relacionadas con *Staphylococcus* (por ejemplo, cefalexina oral para la dermatitis) y para la profilaxis quirúrgica (por ejemplo, cefazolina). El ceftiofur se usa para tratar la enfermedad respiratoria bovina, principalmente la causada por *Pasteurela spp.* Estos fármacos son especialmente útiles para tratamientos de infecciones óseas y de tejidos blandos producidas por bacterias resistentes a los otros antibióticos empleados habitualmente. Dadas sus favorables propiedades farmacocinéticas y su eficacia, las cefalosporinas orales también suelen ser eficaces en el tratamiento de las infecciones urinarias. La cefapirina benzatica se emplea en el tratamiento de la vaca seca, y la cefapirina sódica en la mastitis.

**d. Periodos de suspensión del fármaco y de descarte de la leche.**

Aunque no es de esperar que permanezcan residuos en los tejidos durante periodos prolongados, no se han establecido periodos de suspensión antes del sacrificio para la mayoría de las cefalosporinas (Cuadro 7).

**CUADRO 7. SUPRESIÓN DEL FÁRMACO Y PERIODOS DE DESCARTE DE LA LECHE PARA LAS CEFALOSPORINAS**

Cefalosporinas	Periodo de supresión	Periodo de descarte de la leche
Ceftiofur	0 días	0 días
Cefapirina sódica (intramamaria)	4 días antes del sacrificio	4 días
Cefapirina benzatica (tratamiento de la vaca seca)	42 días después de la última infusión	3 días después del calostro no empleada para el consumo

Fuente: Manual Merck de Veterinaria 2000

## **2. Tetraciclinas.**

Según Manual Merck de Veterinaria (2000). Menciona que las tetraciclinas son antibióticos de espectro muy amplio con características antimicrobianas similares, pero difieren algo entre si en cuanto a sus aspectos y farmacocinesis.

### **a. Clases.**

Hay tres clases de tetraciclinas naturales (oxitetraciclinas, clortetraciclinas, y demetilclortetraciclinas) y varias derivadas semi sintéticamente (tetraciclina, rolitetraciclina, metaciclina, micociclina, doxicilina, limaciclina y otras). Los tiempos de eliminación permiten otra clasificación de estos agentes en compuestos de acción corta (tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina), acción intermedia (demetilclortetraciclina y metaciclina) y acción prolongada (doxiciclina y micociclina).

### **b. Principales propiedades**

Todos los derivados de las tetraciclinas son sustancias cristalinas, amarillentas, anfotéricas que en solución acuosa, forma sales con ácidos y bases. Son compuestos fluorescentes característicos. La sal mas común es el clorhidrato excepto en el caso de la doxiciclina, que esta disponible como hidrato de doxiciclina. Las tetraciclinas son estables como polvos secos pero en solución acuosa, especialmente en pH elevados entre 7.0 a 8.5.

### **c. Indicaciones terapéuticas y dosis**

Las tetraciclinas se usan para tratar infecciones sistémicas y locales. Entre las infecciones sistémicas están las bronconeumonías, las infecciones urinarias,

enteritis bacterianas, las colangitis, las metritis, las mastitis, las prostatitis y el piodermatitis. Entre las enfermedades específicas están la queratoconjuvitis infecciosa en ganado bovino (conjuvitis), la clamidiosis, el hidropercardio, la anaplasmosis, la actinimicosis, la actinobacilosis, la nocardiosis, la ehrlichiosis, la epiritrozonosis y la hemobartonelosis. La minociclina y la doxiciclina suelen ser algo menos eficaces frente a las cepas resistentes de *Stap. aureus*. Además de la quimioterapia antimicrobiana, las tetraciclinas se usan con otros fines. Como aditivos en los alimentos para animales, estimulan el crecimiento. Debido a la afinidad de las tetraciclinas por los huesos, dientes y tejido necrótico, pueden usarse para delinear tumores por fluorescencia. La desmetilclortetraciclina se ha usado para inhibir la acción de las hormonas antidiuréticas en casos de retención excesiva de agua.

**d. Periodos de supresión del fármaco y de descarte de la leche.**

Los requisitos legales relativos a los tiempos de supresión en animales destinados al consumo y los tiempos de descarte de la leche varían entre los países. Estas reglamentaciones deben cumplirse escrupulosamente para evitar residuos en los alimentos y las consiguientes implicaciones en la salud pública (Cuadro 8).

**CUADRO 8. SUPRESIÓN DEL FÁRMACO Y PERIODOS DE DESCARTE DE LA LECHE PARA LAS TETRACICLINAS.**

<b>Tetraciclinas</b>	<b>Especie</b>	<b>Periodo de supresión (días)</b>
Oxitetraciclinas <sup>1</sup>	Ganado bovino	15-22
	Cerdos	22
	Aves de coral	5
Oxitetraciclinas LA	Ganado bovino	28

<sup>1</sup> Uso no permitido en vacas productoras de leche

Clortetraciclina	Ganado bovino	10
	Cerdos	1-7

Fuente: Manual Merck de Veterinaria 2000

### 3. Penicilinas

Según Manual Merck de Veterinaria (2000). Las penicilinas son una familia de antibióticos  $\beta$ -lactámicos de usos extendido y habitual que comprenden muchas características, como su estructura química, mecanismo de acción, propiedades farmacológicas, efectos clínicos y características inmunológicas.

#### a. **Clases.**

Se aceptan varias subclasificaciones de las penicilinas, basadas principalmente en la diferencia en su espectro antibacteriano.

(1) Penicilinas de espectro reducido, sensibles a  $\beta$ -lactamasas .

Este grupo incluye las penicilinas G natural (bencilpenicilina) en sus distintas formas farmacéuticas, y algunas penicilinas biosintéticas estables en medio ácido destinadas a uso oral (penicilina V {fenoximetilpenicilina} y feneticilina ). Las penicilinas de este grupo son activas frente a muchas bacterias gram-positivas y frente a un número limitado de bacterias gram-negativas, pero sensibles a la hidrólisis por  $\beta$ -lactamasas (penicilinasas).

(2) Penicilinas de espectro reducido, resistente a  $\beta$ -lactamasas.

Este grupo es resistente, en mayor o menor grado, a los efectos de varias  $\beta$ -lactamasas producidas por microorganismos gram-positivos resistentes especialmente *Staphylococcus aureus*. Entre los miembros estables en medio

ácido de este grupo administrados por vía oral están las isoxazolilpenicilinas, como la oxacilina. Le metilina y la nafeilina parenterales. La temocilina es una penicilina semisintética que es estable frente a la  $\beta$ -lactámase pero que también activa frente a casi todas las bacterias gram-negativas aisladas.

(3) Penicilinas de amplio espectro, sensible a  $\beta$ -lactámases de amplio espectro.

Varias penicilinas semi sintéticas de amplio espectro también poseen actividad frente a *Pseudomonas aeruginosas* entre otras. Entre ellas están las carboxipenicilinas (carbenicilina, su ester indanilo estable en medio ácido y tircacilina), las ureidopenicilinas (azlocilina y mezlocilina) y penicilinas piperacinas (piperacilina).

(4) Penicilinas de amplio espectro protegidas frente a  $\beta$ -lactámases (penicilinas potenciadas).

Varios compuestos naturales y semisintéticos pueden inhibir muchas de las  $\beta$ -lactámases producidas por bacterias resistentes a la penicilina. Cuando se usan tanto con penicilinas de amplio espectro, se produce un importante efecto sinérgico, porque la penicilina activa está protegida de la hidrólisis enzimática y por lo tanto, es completamente activa frente una gran cantidad de bacterias que antes eran resistentes. Entre los ejemplos de este nuevo enfoque quimioterápico están las amoxicilina y la tirarcilina potenciadas con clavulanato, así como la potenciada con sulbactam.

(5) Carbapenems.

Imepenem es uno de los fármacos más activos frente a un amplio espectro de bacterias. Se obtiene a partir de un compuesto producido por *Streptomyces cattleya*. El aztreonam es un compuesto monobactámico relacionado.

#### **b. Propiedades Generales**

Las penicilinas son algo inestables: son sensibles al calor, a la luz, al pH extremo, a los metales pesados y a los compuestos oxidantes y reductores. También suelen deteriorarse en solución acuosa por lo que se deben reconstituirse.

Inmediatamente antes de inyectarse. Las penicilinas son ácidos orgánicos débiles poco solubles que se administra por vía parenteral, tanto en solución acuosa u oleosa, como en forma de sales hidrosolubles.

#### **c. Indicaciones terapéuticas y dosis**

Las penicilinas se usan comúnmente para el tratamiento o prevención de infecciones locales y sistémicas causadas por bacterias sensibles. Varios síndromes infecciosos agudos responden de forma específica. Las penicilinas también se emplean por vía tópica en el ojo y oído, así como en la piel, y la administración intramamarias para el tratamiento o prevención de la mastitis bovina está muy extendida.

#### **d. Periodos de supresión del fármaco y de descarte de leche**

Las regulaciones de cada país determinarán los periodos de supresión del fármaco antes del sacrificio y los periodos de descarte de la leche en los animales destinados al consumo. Estas instrucciones deben seguirse al pie de la letra para

evitar la aparición de residuos en los alimentos y las consiguientes implicaciones para la salud pública (Cuadro 9).

#### D. TOMA DE MUESTRAS DE LABORATORIO

Según <http://www.solomamitis.com>. (2005). Para realizar una adecuada toma de muestras de la leche se debe tener en ciertas normas para una mayor veracidad de los resultados al momento de sus análisis

**CUADRO 9. SUPRESIÓN DEL FÁRMACO Y PERIODOS DE DESCARTE DE LA LECHE PARA LAS PENICILINAS<sup>2</sup>**

Penicilinas	Especie	Supresión tiempo (días)	Descarte de la leche tiempo (días)
Penicilina G procaína	Ganado Bovino	10 (según lo aprobado 3 dosis), 30 (a 20.000 UI/Kg. Dos veces al día)	3
	Ovejas	9	
	Cerdos	7	
Penicilina G benzatina	Ganado Bovino	30	
Ampicilina	Ganado Bovino	6	
	Prerumientes terneros	15	
Amoxicilina	Ganado Bovino	30	2

Fuente: Manual Merck de Veterinaria 2000

#### 1. Estrategias de muestreo microbiológico.

Cuando se pretende actuar sobre una explotación es importante determinar la existencia de problemas reales o si el ganadero simplemente desea mejorar la

<sup>2</sup> Administrados todos por vía IM

calidad de la leche producida. El siguiente esquema ofrece una orientación clara sobre los pasos a seguir para determinar la existencia de mastitis y sus posibles soluciones. Identificación y resolución de problemas de mastitis utilizando el recuento celular y los resultados de los cultivos de leche.

## **2. Tipos de muestreos de leche para análisis microbiológico.**

Una vez detectados los cuarterones con altos recuentos celulares es importante recoger muestras adecuadas para su posterior procesado en el laboratorio, ya que constituyen uno de los elementos más importantes de diagnóstico objetivo en los programas de control de mastitis.

No existe un tipo de muestreo válido que pueda utilizarse de forma sistemática. Es tarea de los técnicos escoger los más idóneos en función de la problemática de la explotación, conociendo las ventajas y limitaciones de cada técnica.

### **a. Muestreo de todas las vacas de la explotación.**

Permite determinar el agente (o agentes) infectantes y la intensidad de la infección. Es el método más correcto y preciso de valorar la salud de ubres de una explotación. Bajo nuestro punto de vista y dependiendo de la problemática, debería realizarse al menos una vez al año. Tiene como inconveniente el coste económico que suponen los cultivos microbiológicos, pero la información diagnóstica que puede ofrecer es muy importante.

### **b. Muestreo de vacas con altos recuentos celulares.**

Es más económico, pero sólo se toman muestras de animales con infecciones muy claras y tras haber valorado previamente los recuentos celulares individuales.

Es válido si se realiza de forma sistemática; su utilización puntual ofrecerá una visión específica de las vacas con peor estado de salud de ubres de la explotación. No ofrece datos de animales con infecciones subclínicas ni sobre los agentes etiológicos.

**c. Muestreo de vacas con mastitis clínicas.**

Es el mejor sistema para determinar las causas de las mastitis clínicas y la sensibilidad de los gérmenes a los antibióticos. Se debe instruir correctamente al ganadero para que recoja él mismo las muestras antes de llevar a cabo el tratamiento antimicrobiano y las mantenga refrigeradas o congeladas (en función del tiempo que vaya a transcurrir hasta la realización del cultivo). Puede enmascarar el problema real de los procesos subclínicos. Se trata de un muestreo parcial, aunque interesante.

**d. Muestreo de la leche del tanque.**

Da una idea clara de la situación de mastitis contagiosa en la explotación, aunque no ofrece datos precisos sobre el número de animales infectados. Resulta de gran utilidad para el seguimiento del proceso, pero no para el diagnóstico inicial.

**e. Muestras de leche de un cuarterón.**

Ha sido el muestreo que se ha utilizado tradicionalmente para controlar la calidad de la leche. Se fundamenta en la toma de muestras de cuarterones con altos recuentos celulares o que presenten mastitis clínicas. Son las muestras que mayor sensibilidad ofrecen para la detección de gérmenes, pero arrojan una visión muy limitada de la problemática de la explotación.

**f. Muestras de leche compuesta (de los cuatro cuarterones).**

Una muestra compuesta contiene equitativamente leche de los cuatro cuarterones de una misma vaca. Las muestras compuestas resultan satisfactorias a no ser que se precise una investigación de los cuarterones por separado. Con este método es posible que aumente el número de muestras contaminadas, debido al mayor tiempo durante el cual el tubo de recogida permanece abierto para la toma, o bien que pueda quedar enmascarado el crecimiento de determinados gérmenes por la dilución de la muestra. Es una técnica que se utiliza para analizar todos los animales de una explotación, muy válida si se complementa con otros datos objetivos de las vacas.

**3. Toma de muestras (procedimientos).**

Una vez determinada la técnica de muestreo apropiada es muy importante proceder de forma aséptica: cualquier germen contaminante puede dar falsos positivos y obligar a repetir la toma. Se trata de una parte fundamental de un programa de control de mastitis, puesto que condicionará la correcta interpretación de los resultados de los análisis microbiológicos.

**a. Muestras de leche individual.**

Es vital que los potenciales patógenos que aparezcan en las muestras tomadas para análisis microbiológico procedan del interior de la glándula mamaria, y no de partículas de polvo o fecales de la superficie de la piel del pezón. No siempre es posible para el veterinario realizar la toma de muestras, pero si se instruye correctamente al ganadero pueden obtenerse especímenes de calidad. Es

esencial obtener las muestras antes de iniciar cualquier tratamiento con agentes antimicrobianos, tanto intramamarios como sistémicos. Los pasos para realizar una correcta recolección de leche son los siguientes:

- Bañar los pezones con un producto desinfectante. Dejar actuar durante 30 segundos y secar completamente con papel de un solo uso o un trapo de tela limpio.
- Limpiar exhaustivamente la punta del pezón con alcohol etílico al 70% y una gasa estéril, prestando particular atención al orificio del pezón.
- Desechar los primeros chorros de leche para eliminar los restos de alcohol.
- Tomar la muestra antes del ordeño y lo más rápidamente posible.
- Sostener el tubo estéril de recogida casi en horizontal y mantener el tapón en el dedo meñique para evitar que se contamine.
- Identificar la muestra con el número de la vaca y el cuarterón.

Nunca se deben tomar muestras de leche de pezones que presenten eversión de esfínteres o graves lesiones, ya que predisponen a la ubre de manera importante a padecer inflamaciones y el resultado del cultivo microbiológico no sería representativo de la explotación ni del animal.

Se recomienda descartar el primer chorro de leche de cada cuarterón, ya que presenta mayor población bacteriana y un recuento celular superior al que existe realmente en el interior de la glándula mamaria.

El volumen ideal de muestra es de unos pocos centímetros cúbicos para tomas de un sólo cuarterón, y de 10 cc para muestreos compuestos (de los cuatro

cuarterones). Cuanto menor sea el tamaño del recipiente y la boca del mismo, más probabilidades habrán de lograr una recogida aséptica.

La muestra de leche debe mantenerse refrigerada desde la recogida hasta el momento del análisis bacteriológico. Para cultivos específicos puede ser necesario adoptar medidas complementarias en la toma de muestras y en el transporte.

#### **b. Muestras de leche de tanque.**

Para poder obtener buenos resultados en el análisis microbiológico de muestras de tanque es fundamental realizar la toma adecuadamente.

La leche deberá estar bien mezclada antes de la recogida. Si el tanque se encuentra detenido, se agitará la leche manualmente durante un mínimo de 5 minutos. El mejor momento para tomar las muestras es después del ordeño, ya que el agitador habrá estado en funcionamiento durante todo el proceso. Se obtendrán siempre por la parte alta del tanque, nunca de grifos, tubos u otros elementos, para evitar posibles contaminaciones bacterianas. Si no existiese otra alternativa, se desecharán los primeros 4-6 litros de leche. Es necesario que se mantengan bien refrigeradas durante todo el trayecto desde la explotación hasta el laboratorio de diagnóstico.

Para aumentar la sensibilidad del análisis es muy recomendable tomar muestras diariamente durante 5-6 días, mezclarlas y realizar un cultivo.

#### **c. Otras muestras.**

Existen otras muestras que pueden recogerse durante el ordeño para confirmar o descartar diferentes problemáticas: agua de bebida de las vacas (para determinar la potabilidad), superficie de la piel antes y después del baño desinfectante (grado de desinfección de la piel), productos de desinfección (antes y después del ordeño), cama de las vacas, trapos, utensilios utilizados durante el ordeño, vasos aplicadores, etc. Todas deben obtenerse de forma adecuada para su envío y correcto procesamiento posterior en el laboratorio de microbiología.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN**

La presente investigación se realizó en la Estación Experimental "Tunshi" programa de Bovinos de Leche y en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal, de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo,

El trabajo experimental tuvo una duración de 150 días distribuidos en: la identificación de las vacas con mastitis subclínica con medio del método de California Mastitis Test (CMT), recogida de muestras de leche para la realización del Conteo de Células Somáticas (CCS) y para bacteriología, siembra y lectura de las muestras de leche y la aplicación de los diferentes tratamientos.

La Facultad de Ciencias Pecuarias se encuentra ubicada en el Km. 1 ½ de la Panamericana Sur, mientras que la Estación Experimental “Tunshi” programa de Bovinos de leche se ubica en la vía Licto a 12 Km. de la ciudad de Riobamba Provincia de Chimborazo a 20°13' de Latitud Sur y 78°53' de Longitud Oeste y a 2347 msnm.

En el Cuadro 10 se expone las condiciones meteorológicas de las zonas de influencia.

## B. UNIDADES EXPERIMENTALES

Para el presente trabajo se utilizaron 12 hembras bovinas infectadas con mastitis subclínica, las que fueron tratadas con la aplicación de tres tratamientos con cuatro vacas para cada caso. En donde cada vaca infectada corresponde a una unidad experimental por lo que se obtuvo un total de 12 unidades experimentales.

**CUADRO 10. CONDICIONES METEOROLOGICAS<sup>3</sup>**

<b>Parámetros.</b>	<b>Riobamba.</b>	<b>Tunshi.</b>
Temperatura ambiental (°C)	13.4	13.5
Precipitación relativa (mm.)	26.45	14.5
Humedad relativa (%)	64.42	60.4
Viento velocidad (m/s)	2.37	2.4
Heliofania (horas sol)	4.82	3.38

Fuente: Estación Agrometeorologica FRN (2006)

## C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES

### 1. De Laboratorio

- Mandil.

<sup>3</sup> Datos tomados de acuerdo al tiempo que duro la investigación.

- Autoclave.
- Cabina de flujo laminar
- Refrigeradora
- Microscopio
- Incubadora
- Cajas Petri
- Gradilla para porta objetos
- Mechero Bunsen
- Asa de níquel - cromo 21 SWG de 75-80 mm.
- Frascos de 150 ml de boca ancha
- Caja refrigerada para transportar las muestras
- Botellas para muestras de 250 ml.
- Gasas esterilizadas
- Porta objetos 26 x 3.5 cm.
- Pipetas de 1.5 – 2 ml
- Pinzas
- Cinta adhesiva
- Marcador
- Cronometro.

## 2. De Campo

En lo que se refiere a instalaciones estas corresponde a la sala de ordeño.

Mientras que los materiales a utilizarse serán los siguientes:

- Overol

- Botas de caucho
- Paletas plástica con 4 cubetas de 7 cm. de diámetro por 2 cm. de ancho
- Reactivo California Mastitis Test (CMT)
- Hojas de registros
- Lápiz para identificación
- Termo refrigerado
- Frascos de plásticos estériles.
- Franelas limpias y secas
- Guantes quirúrgicos.

### 3. **De Oficina**

- Escritorio
- Computadora
- Cámara fotográfica

### 4. **Reactivos**

- Reactivo California Mastitis Test (CMT)
- Agar sangre
- Agua destilada
- Kit de tinción Gram
- Xilol
- Alcohol potable 96%
- Alcohol de 70°
- Colorante Guiensa
- Peroxido de hidrogeno al 3%

- Aceite de inmersión.

#### D. TRATAMIENTO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

El número de tratamientos que se usaron en esta investigación fueron:

1. Métodos de diagnóstico.

D1.- California Mastitis Test

D2.- Conteo de células somáticas

En donde para esta fase de diagnóstico se tuvo 2 tratamientos con 6 unidades experimentales cada una, dando un total de 12 unidades experimentales.

#### CUADRO 11. ESQUEMA DE LA INVESTIGACION FASE DE DIAGNOSTICO

Tratamiento	Código	Animales/UE <sup>4</sup>	Nº de repeticiones	Nº de animales / Trt. <sup>5</sup>
California mastitis test	D1	1	6	6
Conteo de células somáticas	D2	1	6	6
TOTAL				12

2. Tres antibióticos para la fase de tratamiento:

T1.- Penicilina

T2.-Tetraciclina

---

<sup>4</sup> Unidad Experimental

<sup>5</sup> Tratamiento

T3.- Ceftiofur HCL

### CUADRO 12. ESQUEMA DE LA INVESTIGACION FASE DE TRATAMIENTOS

Tratamiento	Código	Animales/UE	Nº de repeticiones	Nº de animales / Trt.
Penicilina	T1	1	4	4
Tetraciclina	T2	1	4	4
Ceftifur clorhidrato	T3	1	4	4
TOTAL				12

Para la segunda fase se utilizaron 3 antibióticos con 4 repeticiones por tratamiento, dando un total de 12 unidades experimentales.

#### E. MEDICIONES EXPERIMENTALES

- Determinación de la incidencia de mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental Tunshi – ESPOCH (%).
- Identificación de los cuartos infectados de acuerdo al estado de lactancia
- Eficacia de los productos utilizados para el tratamiento de la mastitis subclínica.
- Bacterias causantes de la mastitis subclínica.
- Eficiencia de los métodos de diagnóstico.
- Análisis económico

#### F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA

Para esta investigación se utilizó estadística descriptiva (medias, rangos, y gráficos) y estadística inferencial (ADEVA, separación de medias según DUNCAN a una probabilidad  $\leq 0.05$ ).

**CUADRO 13. ESQUEMA DEL ADEVA PARA LAS DIFERENCIAS**

<b>FUENTE DE VARIACION</b>	<b>GRADOS DE LIBERTAD</b>
Total	11
Tratamientos	2
Error	9

## **G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

### **1. Selección de animales**

La selección de los animales se realizó basándose en un muestreo de todo el estrato de vacas en producción de semovientes de la estación para determinar la incidencia de mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental "Tunshi" programa de Bovinos de leche de la ESPOCH. Usando la técnica de California Mastitis Test

### **2. Toma de muestras.**

- Bañar los pezones con un producto desinfectante. Dejar actuar durante 30 segundos y secar completamente con papel de un solo uso o un trapo de tela limpio.
- Limpiar exhaustivamente el pezón con alcohol etílico al 70% y una gasa estéril, prestando particular atención al orificio del pezón.
- Desechar los primeros chorros de leche para eliminar los restos de alcohol.

- Tomar la muestra antes del ordeño y lo más rápidamente posible.
- Sostener el frasco estéril de recogida casi en horizontal
- Identificar la muestra con el número de la vaca y el cuarterón.

### 3. **Técnica de campo mediante el California Mastitis Test.**

La llamada prueba de California Mastitis Test (CMT), es un método de simple aplicación en el campo que permite cuantificar la situación sanitaria del hato con respecto a la mastitis subclínica.

- Lavar, enjuagar y secar la ubre.
- Con una solución de alcohol al 70% desinfectarse las manos.
- Con la misma solución y utilizando algodón desinfectar los pezones. Dejar secar por 2 minutos. Eliminar los dos primeros chorros de leche antes de tomar la muestra.
- Extraer de cada cuarto 3 ml de leche aproximadamente, depositándola en cada una de las copas de la paleta.
- Añadir igual volumen de la solución de CMT en cada una de las copas.
- Mezclar durante dos minutos mediante una ligera rotación circular de la paleta mantenida en posición vertical.
- Observar la reacción obtenida.

### 4. **Técnica del Conteo de Células Somáticas**

- Se esteriliza el portaobjetos lavándolos con una solución antiséptica luego haciéndolo pasar por la llama varias veces.
- Tras agitar bien la muestra, se toma una muestra de 0,01 ml. y luego se coloca encima del portaobjetos

- Luego con el asa desinfectada a la llama se extiende la leche por toda la superficie y la película se seca por espacio de cinco minutos.
- Una vez secada la leche se desengrasa con dos gotas de xilol, se deja actuar por dos minutos, se escurre y se seca.
- Luego se fija dos gotas de alcohol de 95%, se espera por cinco minutos se escurre y se vuelve a secar.
- Se tiñe con una gota de colorante Guemsa, se deja actuar por 15 a 20 segundos, lavando el exceso de colorante con agua destilada, escurrir y secar al calor.
- Se observa al microscopio utilizando el lente de inmersión en aceite (ampliación aproximada de 1000 x). una formula sencilla que recoge los campos aritméticos es la siguiente  $FACTOR\ MICROSCOPIO = 10.000/\pi r^2$ . Por lo tanto la multiplicación del número promedio de células somáticas de campo por el factor microscopio da igual al número de células somáticas por mililitro de muestra, el mismo que se registra inmediatamente para su tabulación.

## **5 Determinación de bacterias causantes de mastitis subclínica**

### **a. Preparación del agar sangre**

Disolver: 10,5 gr. de Columbia Agar Base en 250 ml de agua destilada

Esterilizar: 15 minutos a 121°C

Enfriar: de 45 a 50 °C

Añadir: 17.5 ml de sangre.

Verter: cajas petri

Inoculación: 24 a 48 horas a 37°C.

## **b. Inoculación de muestras**

Para esta actividad, las muestras fueron sacadas de la refrigeradora llevada hacia el área de siembra en el laboratorio, en donde se realizo:

- Esterilización de las cajas petri en el autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Descongelación de la muestra de leche por 15 minutos
- Se procede a desinfectar el área donde se va a trabajar con el alcohol antiséptico y encender el mechero Bunsen.
- Colocamos a la mano la caja petri con sus respectivos medios de cultivos, muestras listas a inocular, marcador de identificación, asa de platino, dentro de la cabina de flujo laminar.
- Identificación de la placa
- Desinfección de las manos
- Con un hisopo estéril se toma una muestra de leche y se extiende en la parte superior de la caja petri.
- Con la flama del mechero poner el asa al rojo vivo y enfriarla agitándola de un lado a otro.
- Inocular por estrías en cada medio de cultivo.
- Dejar reposar por 20 minutos.
- Invertir las placas y llevarlas a la incubadora de 24 a 48 horas a 37°C
- Registrar en la libreta las inoculaciones realizadas.

## **c. Fijación de bacterias**

- Se coloca una gota de agua destilada sobre un porta objetos.

- Con la ayuda del asa de siembra previamente esterilizada, se procede a tomar una muestra de cada uno de las diferentes colonias.
- Mezclar la muestra seleccionada con la gota de agua destilada sobre el portaobjetos.
- Extender la muestra lo más que se pueda.
- Flamear el portaobjetos en el mechero Bunsen hasta eliminar el agua.

**d. Tinción de Gram**

- Colocar la placa porta objetos con la muestra fijada sobre la bandeja de tinción.
- Agregar la solución cristal violeta y dejar actuar por un minuto.
- Lavar con Lugol y sustituir con la solución de Lugol dejándola actuar por un minuto.
- Retirar el excedente de Lugol con agua destilada y colocar la solución decolorante dejándole que actúe por un minuto.
- Lavar con agua destilada y colocar la solución de contraste o safranina por espacio de un minuto.
- Lavar con agua destilada y secar la placa con papel secante.
- Observación de la placa en el microscopio (1000x), para la identificación del género bacteriano.

#### **IV. RESULTADOS Y DISCUSION**

##### **A. INCIDENCIA DE MASTITIS SUBCLINICA EN EL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL TUNSHI (FCP – ESPOCH) ANTES DEL TRATAMIENTO.**

En el cuadro 14 se puede observar el estado de las vacas en producción con relación a la mastitis subclínica, logrando establecer que en la escala que se utilizó según las especificaciones del producto utilizado para la prueba de campo como es el California Mastitis Test (CMT), la cual se aplicó a todo el reño (49 vacas). La presencia de Trazas en la leche tuvo una frecuencia del 48.98%, considerándose como vacas sanas aunque propensas a desarrollar una mastitis subclínica. Las posibles portadoras de mastitis subclínica catalogadas como poco probable (+) se tubo un 35,71% de incidencia y probable (++) del 13,78%, se obtuvo una incidencia de mastitis subclínica del 49,49% del hato total. Lo más

importante; al momento de la realización de la prueba de CMT no hubo la presencia de mastitis clínica, pero la presencia de cuartos perdidos en algunas vacas representa el 1.53% de las vacas en producción (Gráfico 1).

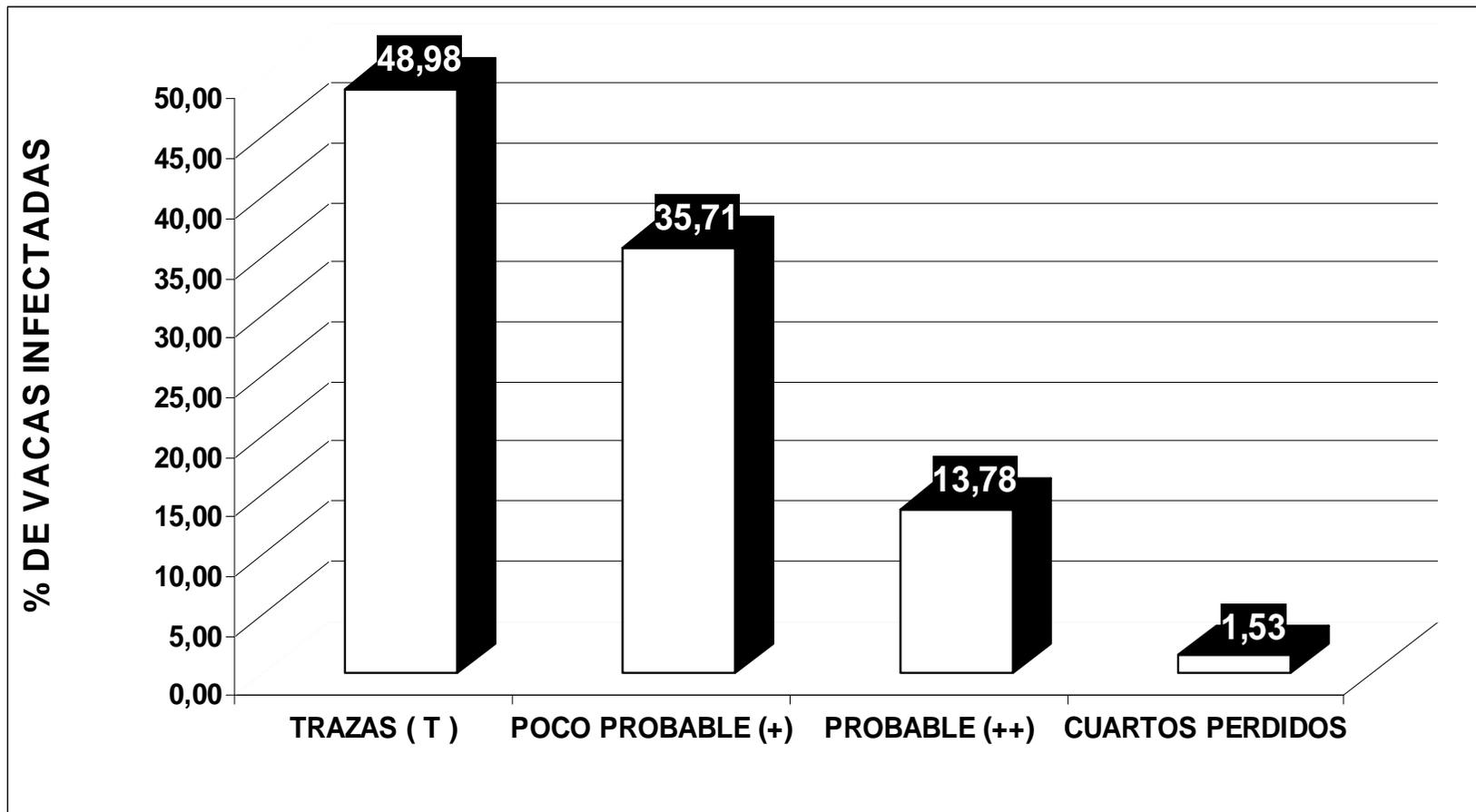
Cabe mencionar que las fuentes de contaminación que se da en esta unidad productiva se debe a varios factores como: mal lavado de los pezones antes del ordeño en otras ocasiones no lo realizan por falta de agua, no hay una adecuada estimulación de la ubre, un ordeño deficiente, el no sellado de los pezones con algún tipo de desinfectante adecuado, maltrato hacia los animales lo que provoca estrés causando la baja en las defensas, no hay un lugar ideal en donde el animal pueda dormir tranquilamente y evitar que descanse después del ordeño por lo menos una hora en un lugar aséptico hasta que el esfínter se cierre, como el pezón esta dilatado y no tienen un lugar limpio en donde hacerlo lo realiza en el estiércol siendo una puerta de entrada para la contaminación de los diferentes cuartos.

**CUADRO 14. PORCENTAJE DE VACAS INFECTADAS POR MASTITIS SUBCLÍNICA E EL HATO DE TUNCSHI DE LA FCP – ESPOCH**

<b>RESULTADOS</b>	<b>PORCENTAJE</b>
TRAZAS	48,98 %
POCO PROBABLE	35,71 %
PROBABLE	13,78 %
CUARTOS PERDIDOS	1,53 %
<b>TOTAL</b>	<b>100,00 %</b>

Se coincide con [http://paila.rds.org.hn/archivos/tesis\\_yader.pdf](http://paila.rds.org.hn/archivos/tesis_yader.pdf) (2000), con Núñez, O. (1996) y Kleinschroth, et al (1991), los cuales señalan que las influencias desfavorables del medio ambiente conducen a un debilitamiento de la capacidad

defensiva de la ubre y ayuda a la infección, de la misma forma que la favorecen como la higiene insuficiente siendo la falta de aseo y limpieza tanto del equipo de ordeño así como el manejo de los corrales que presentan acumulación de heces barrosas, charcos con agua contaminada, convirtiéndose así la principal fuente de contaminación, ya que al finalizar el ordeño los responsables de realizarlo no practican el sellado de pezones por lo que las bacterias tienen las puertas abiertas para producir la infección de este órgano, las lesiones de la teta y la proliferación de gérmenes alrededor del animal.



**Gráfico 1. Porcentaje de incidencia de mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH**

## **B. PRESENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN LOS DIFERENTES CUARTOS INFECTADOS DE ACUERDO AL MES QUE SE ENCONTRABAN DE LACTANCIA ANTES DE LA APLICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS.**

Del total de vacas que se encuentran en producción en el hato de Tunshi de la FCP- ESPOCH (Cuadro 15), se determinó que hay un 6,12% (3 vacas) en el primer mes de lactancia; segundo mes de lactancia 2,04% (1 vaca); tercer mes 10,20% (5 vacas); cuarto mes 14,29% (7 vacas); quinto mes 8,16% (4 vacas); sexto mes 6,12% (3 vacas); octavo mes el 10,20% (5 vacas); estos resultados están dentro de lo normal que es una lactancia de 305 días. Mientras que lo restante, ósea el 30,61% de los animales corresponde a tiempo en donde algunas vacas deben estar secas e incluso hasta en su próximo parto esto puede deberse a problemas reproductivos o la mastitis misma que ha venido dando dificultades, como se puede ver en el Gráfico 2, cabe indicar que al momento que se realizó las pruebas a todo el hato hasta la aplicación de los diferentes tratamientos hubo animales que fueron secados e incluso descartados los mismos que están determinados como ND<sup>6</sup> (Cuadro 15) e incluso hubo partos los mismos que no fueron tomados en cuenta para esta investigación debido que eran animales de primer parto la mayoría de estos. También se debe indicar que la mayor parte de los animales que encuentran en el rejo están entre el tercero al octavo mes. Y de aquí que la alternativa de buscar productos en donde no dejen residuos en la leche para un mejor aprovechamiento en la elaboración de productos lácteos.

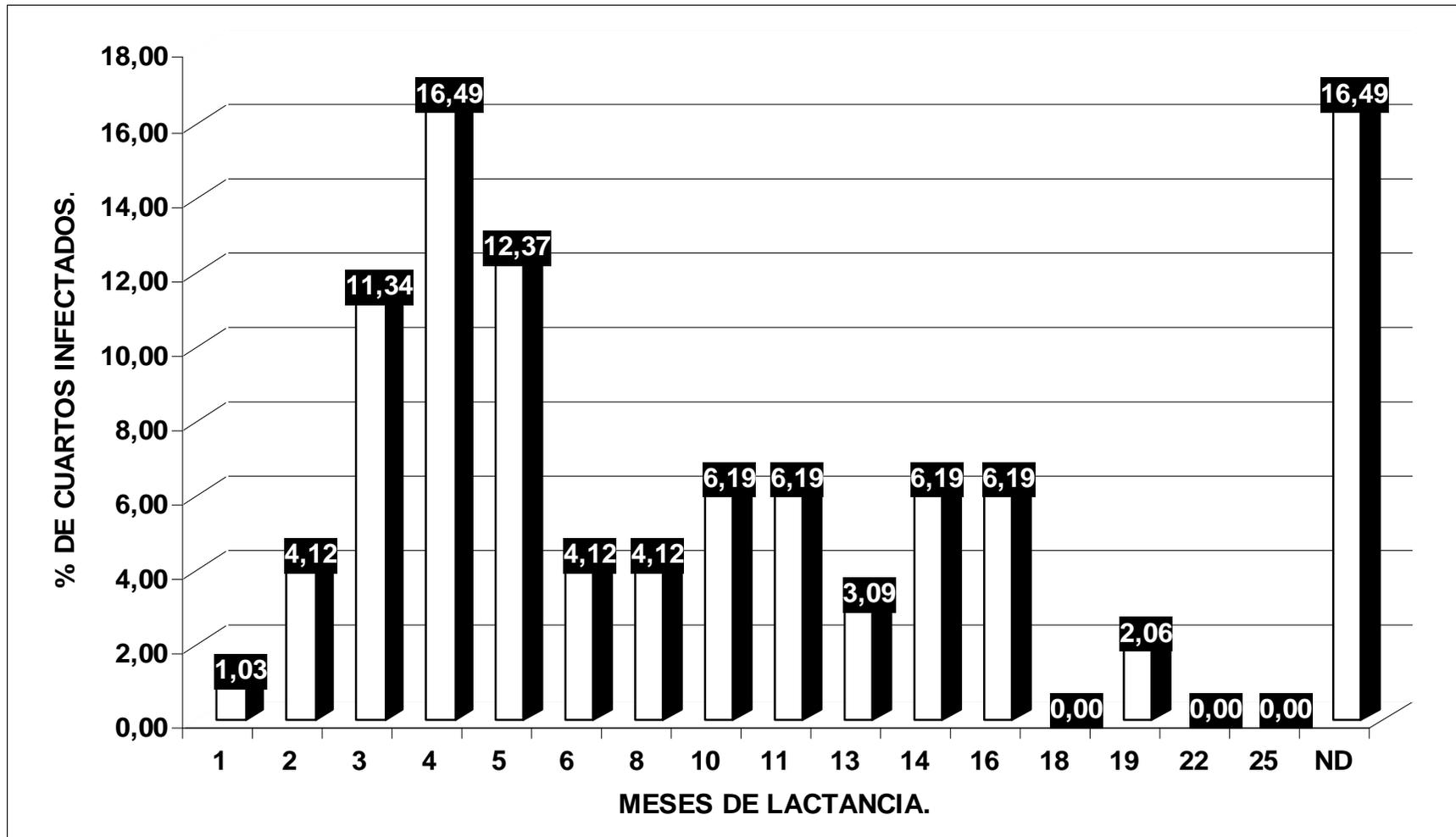
En relación a la cantidad de cuartos infectados con mastitis subclínica se

---

<sup>6</sup> No definido

**CUADRO 15. PRESENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA DE LOS DIFERENTES CUARTOS DE ACUERDO AL MES DE LACTANCIA**

MES DE LACTANCIA	Nº	% DE ANIMALES	CUARTOS			CUARTOS INFECTADOS							
			EVALUADOS		INFECTADOS	AI		PI		AD		PD	
			Nº	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	3	6,12	12	1	1,03	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	8,33
2	1	2,04	4	4	4,12	1	25,00	1	25,00	1	25,00	1	25,00
3	5	10,20	20	11	11,34	2	10,00	2	10,00	3	25,00	4	20,00
4	7	14,29	27	16	16,49	4	14,81	4	14,81	3	25,00	5	18,52
5	4	8,16	16	12	12,37	4	25,00	4	25,00	2	16,67	2	12,50
6	3	6,12	12	4	4,12	1	8,33	1	8,33	1	8,33	1	8,33
8	5	10,20	20	4	4,12	1	5,00	1	5,00	1	8,33	1	5,00
10	3	6,12	12	6	6,19	1	8,33	1	8,33	2	16,67	2	16,67
11	2	4,08	8	6	6,19	1	12,50	2	25,00	1	8,33	2	25,00
13	1	2,04	3	3	3,09	1	33,33	1	33,33	0	0,00	1	33,33
14	3	6,12	12	6	6,19	1	8,33	1	8,33	2	16,67	2	16,67
16	2	4,08	8	6	6,19	2	25,00	1	12,50	2	16,67	1	12,50
18	1	2,04	3	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
19	1	2,04	4	2	2,06	1	25,00	0	0,00	1	8,33	0	0,00
22	1	2,04	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
25	1	2,04	4	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
ND	6	12,24	24	16	16,49	4	16,67	4	16,67	4	33,33	4	16,67
	<b>49</b>	<b>100</b>	<b>193</b>	<b>97</b>	<b>100</b>	<b>24</b>	<b>24,74</b>	<b>23,00</b>	<b>23,71</b>	<b>23,00</b>	<b>23,71</b>	<b>27,00</b>	<b>27,84</b>



**Gráfico 2. Distribución de vacas productivas según el mes de lactancia con mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental de Tunshi de la FCP – ESPOCH.**

encontraron animales en donde hubo una mayor incidencia de mastitis subclínica con el 16.49% en el cuarto mes de lactancia, seguidos con las vacas de quinto y tercer mes de lactancia con el 12,37% y 11,34% respectivamente, en donde se encuentra alrededor del 32,65% del reño, también se encontraban alto porcentaje de cuartos afectados en animales con período de lactancia del décimo mes al décimo sexto mes con 6.19%, a excepción de décimo tercer mes que fue bajo con el 3,09%; y el resto de animales se mantenían en porcentaje por debajo del promedio. Y en aquellos animales que estaban listos para ser secados y descartados reportaron una alta cantidad de cuartos infectados con el 16,49%.

Cabe mencionar que los porcentajes bajos de cuartos contaminados se tuvieron en animales que se encontraban en los dos primeros meses de lactancia debido a que son animales de primer parto y animales a los cuales se ha producido un buen tratamiento de secado y en animales próximos a ser secados se diga e incluso en aquellos animales con tiempo de lactancia avanzada que incluso no presentaba cuartos infectados. Esto nos da a indicar debe haber un control más estricto al momento de realizar el ordeño para evitar que animales que se encuentran en la segunda fase de producción y no demuestren todo su capacidad productivo teniendo perdidas económicas tanto en producción como la realización de tratamientos.

Estos resultados no coincide con Méndez, J. (2000), sobre la presencia de cuartos positivos para mastitis subclínica ya que presenta resultados que tuvieron en alza desde el cuarto mes hasta el séptimo mes de lactancia yendo del 37,5% hasta el 75% de cuartos infectados en relación al presente trabajo en los diferentes cuartos infectados se presentaron en algunos meses mas que otros de

manera irregular y no en aumento progresivo según como lo presenta Méndez, J. (2000) en su trabajo.

En relación a los cuartos infectados (Gráfico 3), se tiene que los cuartos mas propensos para la contaminación por mastitis es el cuarto posterior derecho con un 27,84%, así como que el anterior derecho se tiene el 23,71%. Mientras que los del lado izquierdo se reporta que el cuarto más contaminado es el anterior con el 24,74% en relación con el posterior que presenta contaminación del 23,71%. Esto puede darse que el mas grado de contaminación tiene el lado derecho a la ubicación de la sala de ordeño ya que se puede trabajar con mayor facilidad el lado izquierdo ya que esta da hacia el foso donde se encuentra el ordeñador facilitando su manejo y no así el derecho que al pasillo por donde salen los animales ya ordeñados lo cual dificulta la maniobra de lavar bien dichos cuartos. Lo cual se coincide mucho con Núñez, O., (2000), ya que reporto los mismos resultados acerca de que lado existe mayor contaminación por parte de mastitis subclínica.

Haciendo una relación entre los cuartos anteriores y posteriores se encontró que existe mayor presencia de contaminación por parte de los cuartos posteriores de ambos lados en relación con los anteriores, puede deberse a que los cuartos posteriores se producen más cantidad de leche que los anteriores. Lo que toca poner mayor énfasis en estos al momento de hacer el lavado de las ubres. Lo que se coincide con Núñez, O. (1996), quien realizó su estudio en la misma estación experimental.

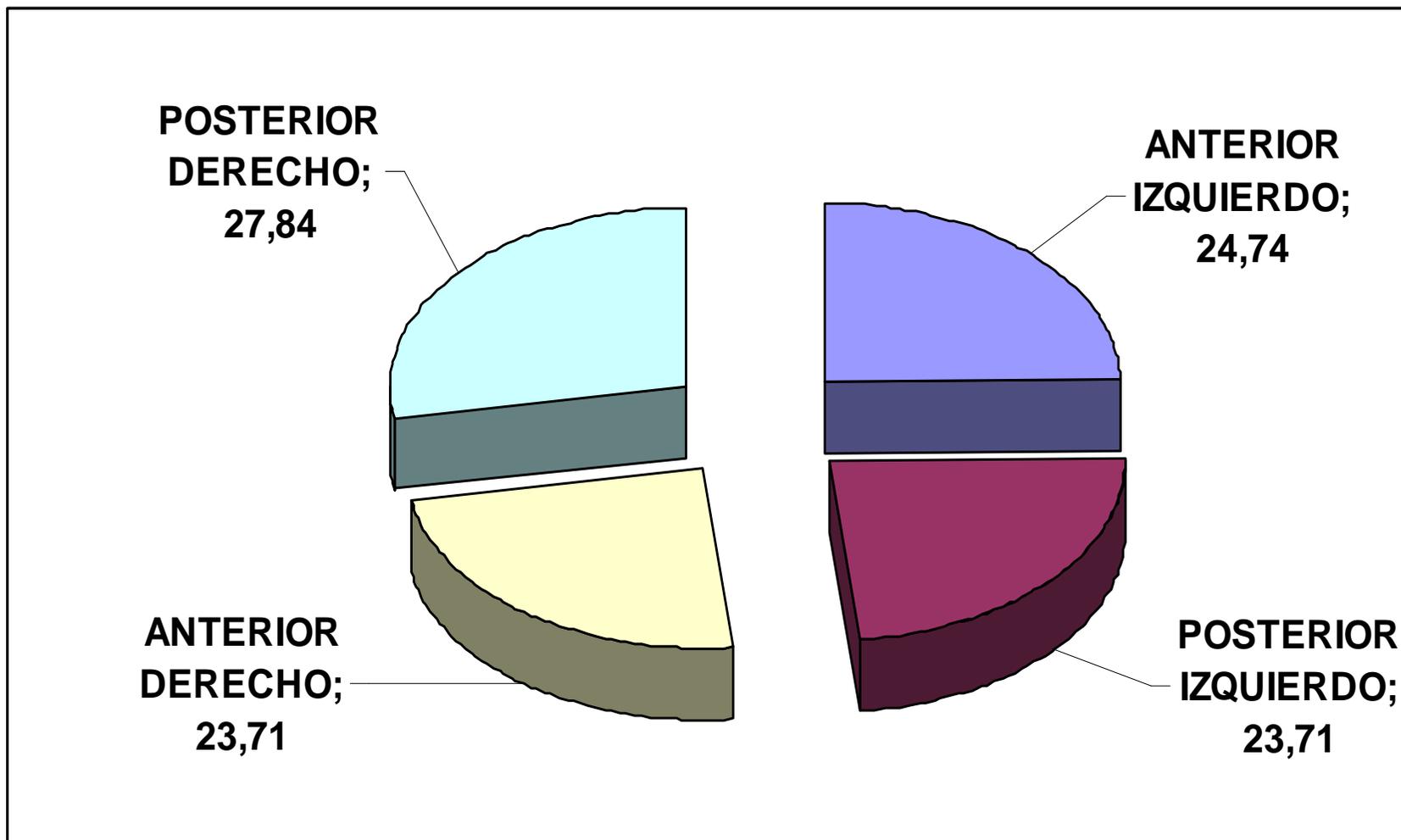
### **C. AGENTES PATOGENOS CAUSANTES DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA EN EL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL DE TUNSHI DE LA FCP-ESPOCH.**

Dentro de los diferente grupos de agentes patógenos reportados en el Cuadro 16 tenemos una menor cantidad de Bacterias Gram Negativas con una incidencia 26,56%; de las cuales el 23.53% de estas corresponden a la morfología Cocobacilar, mientras que 47,06% corresponden al grupo de los Cocos, el 29,41% restante representa el al grupo de las *Pseudomonas sp.*

Las Bacterias Gram positivas (Gráfico 5) se encontraron con mayor frecuencia (73,45%) en relación a las Bacterias Gram Negativas; de estas Gram Positivas el 74,47% corresponden al género *Staphylococcus sp* seguidos por el genero *Streptococcus sp* Con una incidencia del 12.77%, en menor cantidad los géneros *Bacillus Sp*, incluyendo *Bacilos esporulados*. La mayor incidencia de los diferentes géneros de agentes patógenos se debe a la proliferación de bacterias al momento del ordeño siendo uno de las fuentes de contaminación las franelas que se utilizan en el lavado de la ubre lo que provoca la contaminación de vaca a vaca, equipo de ordeño y posterior al ordeños la falta de camas por lo que el animal duerme en sitios sucios o contaminados.

Estos resultados encontrados concuerdan con lo manifestado con Méndez, J. (2000), señala que las bacterias patógenas encontradas en la leche procedente de la hacienda Tunshi, registraron mayor cantidad de Bacterias Gram Positivas que Gram Negativas.

Hoyos, L. (2002), manifiesta que las bacterias patógenas causantes de la mastitis



**Gráfico 3. Cuartos infectados con mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH**

**CUADRO 16. CANTIDAD DE BACTERIAS PATOGENAS PRESENTES EN LA LECHE DEL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL TUNSHI DE LA FCP – ESPOCH**

<b>TIPOS DE BACTERIAS</b>	<b>Nº DE CAMPOS ENCONTRADOS</b>	<b>% DE CAMPOS ENCONTRADOS</b>
<i>Bacillus sp</i>	3	4,69
<i>Bacillus cereus</i>	1	1,56
Bacilos esporulados	2	3,13
Cocobacilos	4	6,25
Cocos	8	12,50
<i>Pseudomonas sp</i>	5	7,81
<i>Staphylococcus sp</i>	35	54,69
<i>Streptococcus sp</i>	6	9,38
<b>TOTAL</b>	<b>64</b>	<b>100,00</b>

que mayor frecuencia registraron fueron los *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*,

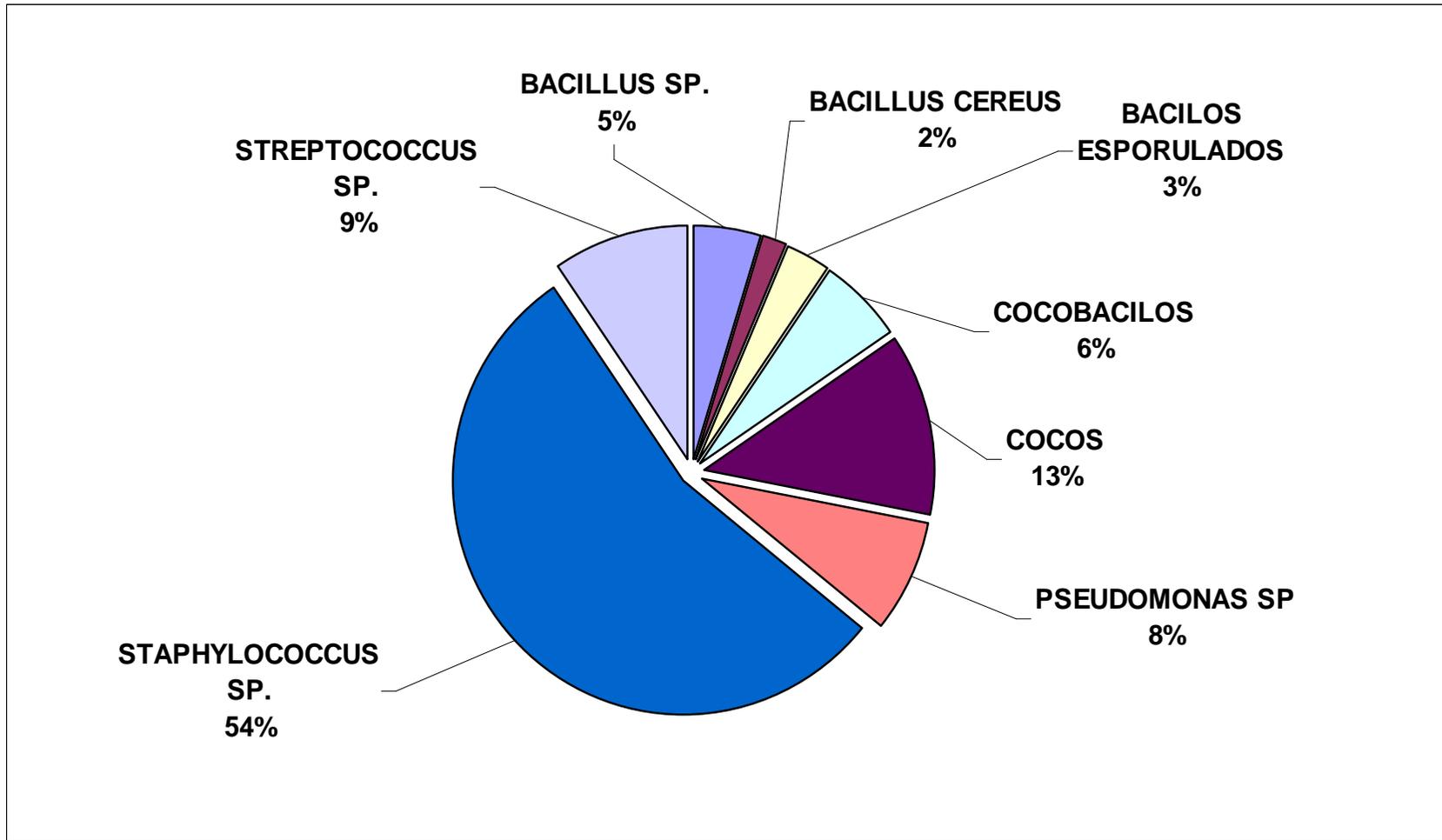
Se concuerda con Martín, M. (1998), señalando que los gérmenes mas contagiosos y los mas importantes de este grupo son los del genero *Staphylococcus sp* sus reservorios son las ubres infectadas. Se eliminan por la leche. La transmisión se produce de cuarterones infectados a otros no infectados, preferentemente durante el periodo de ordeño (maquina de ordeño, manos del ordeñador, paños infectados, etc.). Los gérmenes medio ambientales en este grupo incluyen varios tipos de *Streptococcus sp* *E. coli*, etc., su reservorio es el medio ambiente que rodea la vaca, sean heces, tierra, etc. No se puede evitar el contacto con la vaca aunque debemos proporcionar a los animales un ambiente lo mas limpio posible. Lo cual se concuerda con Núñez, O. (1996), y es respaldado en la pagina [http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/du/404\\_es\\_pdf](http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/du/404_es_pdf), (2001).

#### **D. EFECTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS USADOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA**

Mediante la prueba de CMT, (cuadro 17), los antibióticos usados tuvieron una eficiencia del 68,75% de cuartos sanos al momento de realizar el CMT, posteriormente mientras que dieron como positivos (+) ó poco probable en un 18,75%, seguidos por presencia de trazas con el 10,42% finalmente catalogado como ++ o probable se encontraron el 2,08%, de todos los cuartos evaluados postratamiento (Gráfico 6).

El efecto determinado por medio de la relación entre la carga bacteriana pre tratamiento con la observada postratamiento expresada en porcentaje, permite establecer que la respuestas observada por efecto de la aplicación de los tres diferentes antibióticos empleados, mediante aplicación intramuscular. Para las Bacterias Gram Negativas estableciéndose que la utilización del Ceftiofur HCL presento mejor efectividad para el control para este tipo de bacterias teniendo una eficiencia del 91,67% y una resistencia del 8,33%, de las cuales las bacterias pertenecientes al grupo de Cocobacilos tuvieron una sensibilidad del 75%, teniendo una resistencia del 25% ante este medicamento. Mientras que las demás bacterias gram negativas presentaron una sensibilidad del 100%.

Mientras que la Penicilina y Oxitetraciclina tuvieron resultados similares entre si, creando resistencia por parte de las bacterias del grupo Cocos y *Pseudomonas sp* del 10,83%, con una sensibilidad del 89,17% mientras que para el grupo *Cocobacilos* se tubo una sensibilidad del 100% (Cuadro 18).



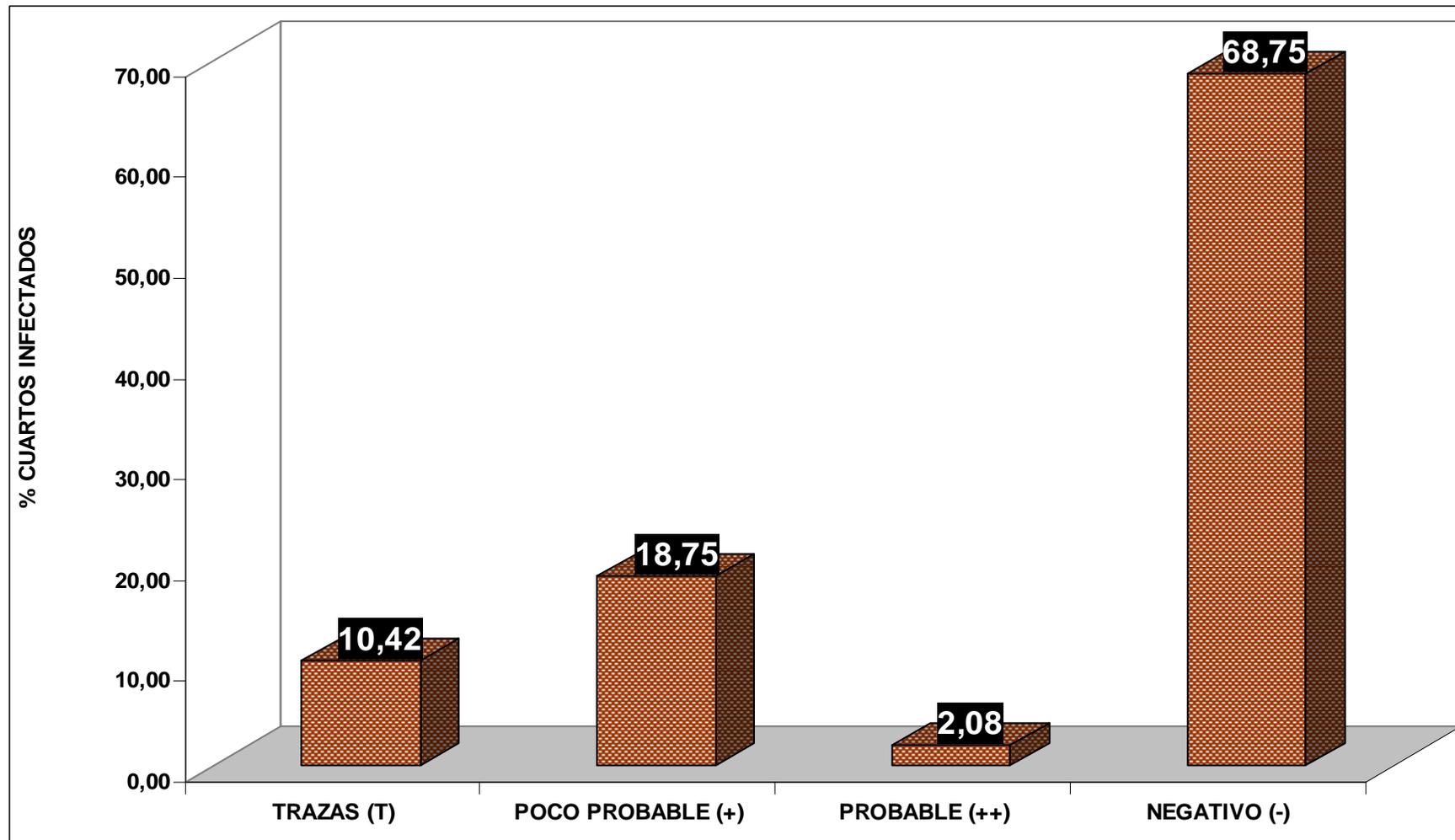
**Gráfico 4. Cantidad de bacterias patógenas presente en la leche del hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH**

**CUADRO 17. INCIDENCIA DE CUARTOS INFECTADOS 15 DÍAS POST TRATAMIENTO EN EL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL TUNSHI DE LA FCP – ESPOCH**

<b>RESULTADOS</b>	<b>% DE CUARTOS INFECTADOS</b>
TRAZAS (T)	10,42 %
+	18,75 %
++	2,08 %
-	68,75 %
<b>TOTAL</b>	<b>100,00 %</b>

En relación con las Bacterias Gram Positivas (Gráfico 7) se produjo una mayor sensibilidad mediante la utilización de la Oxitetraciclina la cual alcanzo el 92,10% de efectividad sobre estas bacterias con un nivel bajo de resistencia (7,90%). Hallando que las bacterias pertenecientes al género *Bacillus sp* tuvieron el 100% de sensibilidad, no así con las bacterias de los géneros *Staphylococcus Sp* y *Streptococcus Sp*, reportaron resistencia del 22,86% y 16.67% y una sensibilidad del 77,14% y 83,33% respectivamente

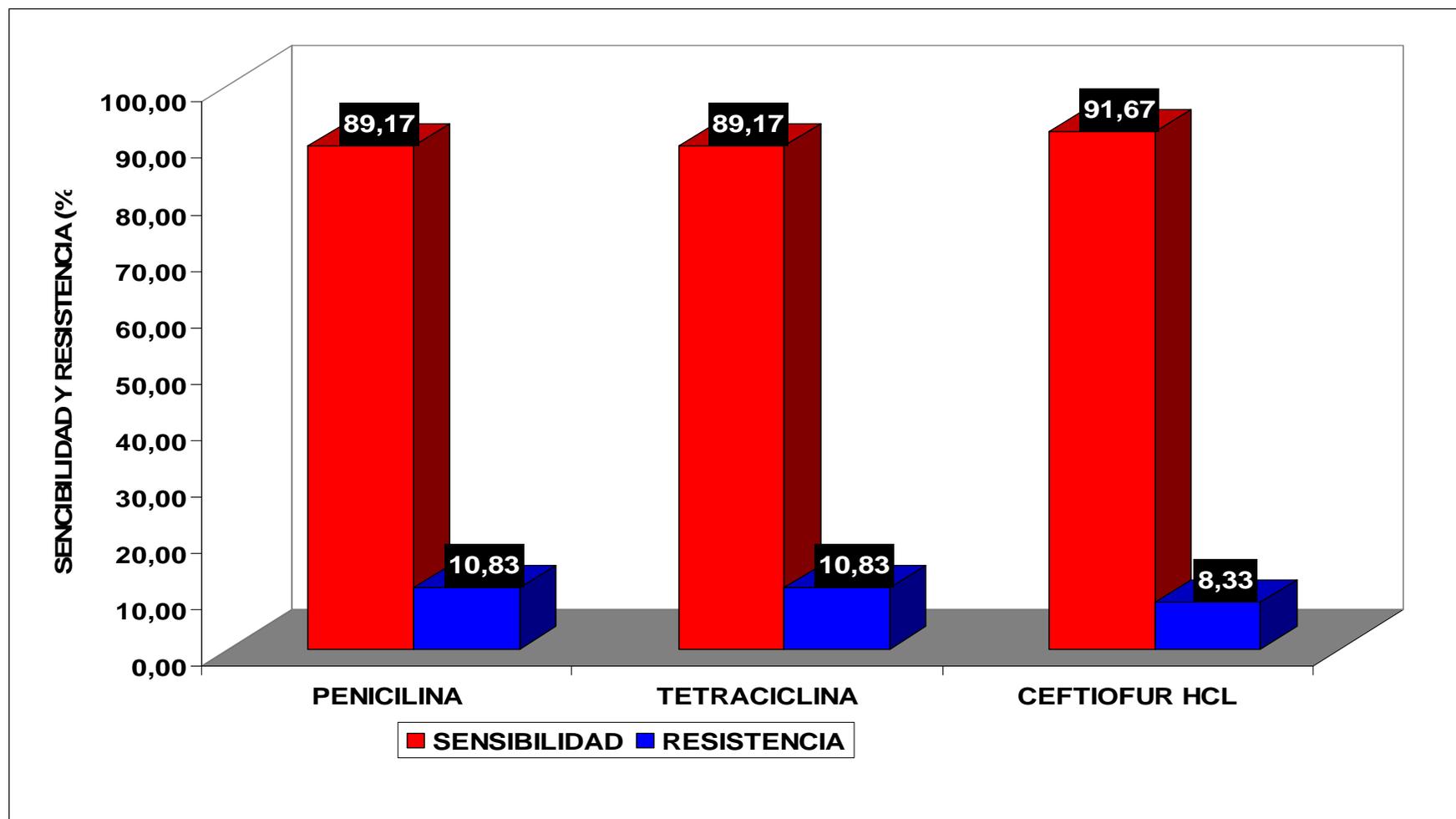
La Penicilina alcanzo el 90,95% de efectividad sobre estas bacterias con un nivel de resistencia del 9,05%, hallando que las bacterias pertenecientes al género *Bacillus sp* tuvieron el 100% de sensibilidad, no así con las bacterias de los géneros *Staphylococcus sp* y *Streptococcus sp*, reportaron resistencia del 28,57% y 16.67% y una sensibilidad del 71,43% y 83,33% respectivamente. Mientras que con el Ceftiofur HCL se encontraron altos grados de resistencia por parte del genero *Bacillus sp*, con el 66,67% de resistencia seguido por las bacterias del genero *Staphylococcus sp* con el 5,71%, y el resto de bacterias fueron sensibles a este tratamiento hasta el 100% (Cuadro 19).



**Gráfico 5. Incidencia de cuartos infectados 15 días post tratamiento en el hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH.**

**CUADRO 18. DETERMINACION DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA DE LAS BACTERIAS PATÓGENAS GRAM NEGATIVAS PRESENTE EN LA LECHE DEL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL TUNSHI DE LA FCP – ESPOCH**

ANTIBIOTICO	COCOBACILOS		COCOS		PSEUDOMONAS SP	
	SUCEPTIBILIDAD	RESISTENCIA	SUCEPTIBILIDAD	RESISTENCIA	SUCEPTIBILIDAD	RESISTENCIA
PENICILINA	100,00	0,00	87,50	12,50	80,00	20,00
TETRACICLINA	100,00	0,00	87,50	12,50	80,00	20,00
CEFTIOFUR HCL	75,00	25,00	100,00	0,00	100,00	0,00



**Gráfico 6. Determinación de sensibilidad y resistencia de las bacterias patógenas gram negativas presentes en la leche del hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH**

Como se ve en el Cuadro 20 en función de las dosis empleadas se determino que a los quince días postratamiento por medio de CMT, que entre los tratamientos de penicilina, oxitetraciclina y el ceftiofur no existen diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ), alcanzando mayor efectividad con la aplicación de Ceftiofur HCL, registrando la presencia de cuatro cuartos infectados lo que nos da ha entender que una sola vaca es resistente al tratamiento con este producto y no dejar residuos en la leche lo que es importante que esta se pueda usar sin ningún tipo de problemas para el consumo humano y la elaboración de los diferentes derivados de la leche.

Lo cual se concuerda con Erskine (2002) y que es citado por Sotomayor, L. (2004), el cual manifiesta que se no se observaron diferencias significativas entre los animales perdidos tratados y que el tratamiento intramuscular con ceftiofur HCL reduce las bajas de animales en casos graves de mastitis, lo que también se concuerda con lo que se cita en el Manual Merck de Veterinaria (2000), aunque no es de esperar que permanezcan residuos en los tejidos durante periodos prolongados, no se han establecido periodos de suspensión antes del sacrificio para la mayoría de las cefalosporinas. Es todo lo contrario con la aplicación de las penicilinas y tetraciclinas que tienen tiempo de espera de 5 a 6 días e incluso esta prohibido en la utilización de ganado lechero en periodo de lactancia.

En investigaciones hechas por The Veterinary Clinical of Norh America (USA) que es citado por Sotomayor, L. (2004), indica que con la utilización de la cefalosporina de cuarta generación en este caso el ceftiofur HCL aplicado por vía intramuscular se logra importantes resultados en la mayoría de la recuperación clínica del animal y reducción de las perdidas en la venta de la leche, y no así con

**CUADRO 19. DETERMINACION DE SENSIBILIDAD Y RESISTENCIA DE LAS BACTERIAS PATÓGENAS GRAM POSITIVAS PRESENTE EN LA LECHE DEL HATO DE LA ESTACION EXPERIMENTAL TUNSHI DE LA FCP – ESPOCH**

ANTIBIOTICO	<i>BACILLUS SP</i>		<i>BACILLUS CEREUS</i>		<i>BACILOS ESPORULADOS</i>		<i>STAPHYLOCOCCUS SP</i>		<i>STREPTOCOCCUS SP</i>	
	SENC. <sup>7</sup>	RESIS. <sup>8</sup>	SENC.	RESIS.	SENC.	RESIS.	SENC.	RESIS.	SENC.	RESIS.
PENICILINA	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	71,43	28,57	83,33	16,67
TETRACICLINA	100,00	0,00	100,00	0,00	100,00	0,00	77,14	22,86	83,33	16,67
CEFTIOFUR HCL	33,33	66,67	100,00	0,00	100,00	0,00	94,29	5,71	100,00	0,00

---

<sup>7</sup> Sensibilidad

<sup>8</sup> Resistencia.

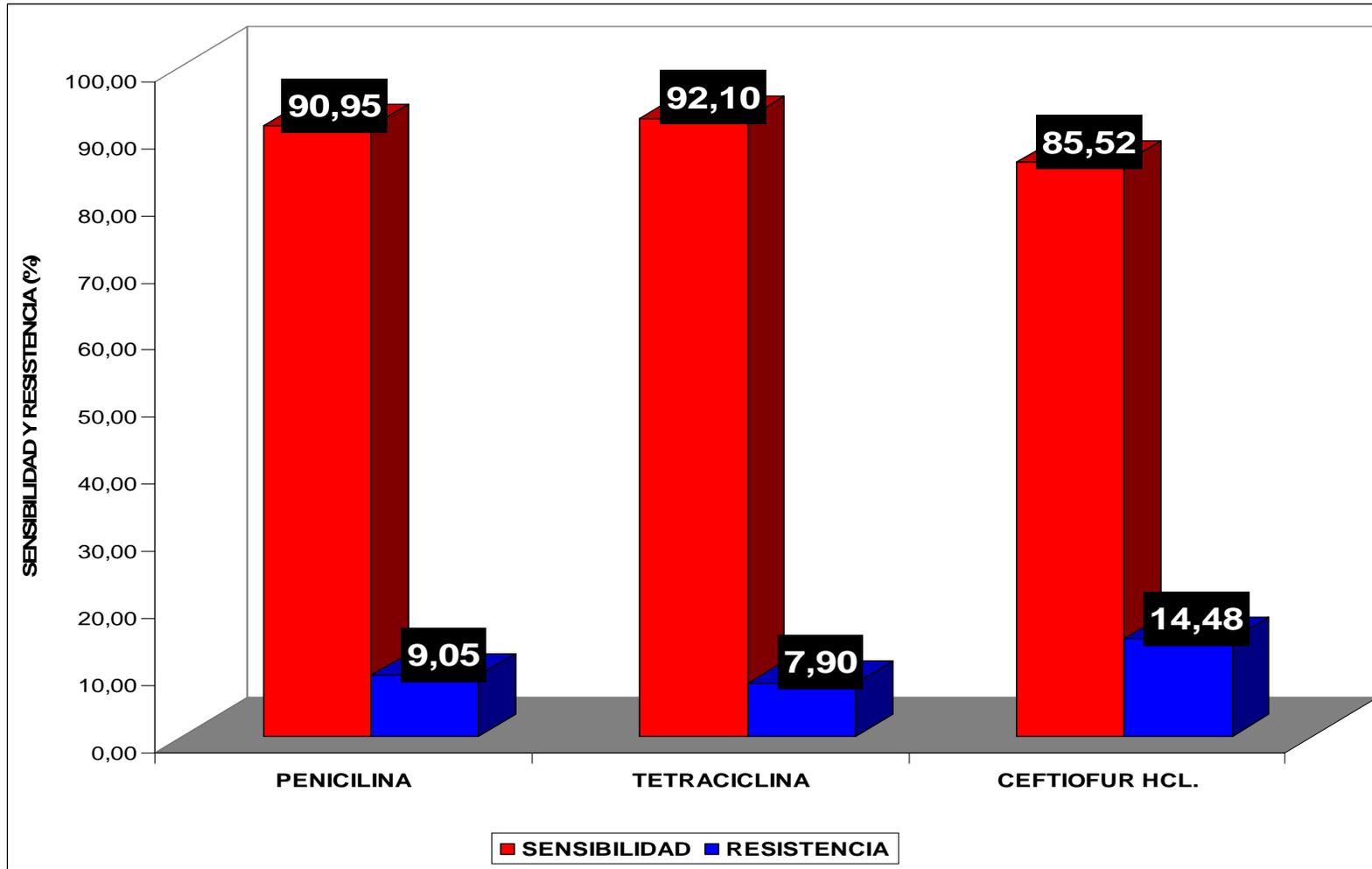


Gráfico 7. Determinación de sensibilidad y resistencia de las bacterias patógenas gram positivas presentes en la leche del hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP – ESPOCH.

**CUADRO 20. EVALUACION DE LOS TRATAMIENTOS EN BASE A RESULTADOS ESTADISTICOS OBTENIDOS POR LA PRUEBA DE DUNCAN.**

PARAMETROS	TRATAMIENTOS			
	T1	T2	T3	SX
Nº de observaciones	16	16	16	
A los 15 días post aplicación	1,50 <sup>a</sup>	1,25 <sup>a</sup>	1,00 <sup>a</sup>	0,91

\* Letras iguales no existe diferencias significativas

aplicación de las penicilinas y tetraciclinas las cuales tuvieron bajos porcentajes de susceptibilidad tanto para bacterias gram positivas como gram negativas.

**E. EFICIENCIA DE LOS METODOS DE DIAGNOSTICO EN LA DETERMINACIÓN DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA**

Dentro de los diferentes métodos de diagnostico para la mastitis subclínica se utilizaron el California Mastitis Test (CMT) como prueba de campo en la cual se determino que el 49,49% presentaron cuadros con mastitis subclínica y el 48,98% represento a casos de animales propensos y a tomar muy en cuenta para futuros controles.

Otro de los métodos para el diagnostico de la mastitis subclínica esta el de Conteo de Células Somáticas (CCS) como prueba de laboratorio, cuyos resultados fueron más exactos teniendo un promedio de 823.723 células por ml de leche al hacer las diferentes comparaciones con las diferentes escalas

Kleinschroth, et al (1991), manifiesta que hay presencia de mastitis, intensa alteración del estado sanitario, hay muchas vacas enfermas, son indispensables medidas de tratamientos

Según la Universidad de Nebraska que es citado por García (2004). Y según la escala que maneja para calificar casos de mastitis se tiene que el hato de Tunshi es un positivo débil.

Instituto Babcock que es citado por Wattiaux, en la página [http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy\\_essentials\\_spn\\_spn.htm](http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy_essentials_spn_spn.htm).(1998) el cual manifiesta según su escala determina que la presencia de mastitis subclínica se encuentra diseminada y que la pérdida de leche debido a mastitis subclínica es mayor de 10% (Cuadro 21).

La mayor efectividad de estos dos métodos de diagnóstico se puede predecir que el CCS es la mejor técnica, ya este es un indicativo en donde nos demuestra la calidad de la leche y del estado sanitario de la ubre. Mientras que el CMT es una prueba de campo estos bajos resultados se deben de qué se trata de una prueba subjetiva, ya que la interpretación de la reacción de gelificación depende de la apreciación personal.

Se concuerda con Barreno, A. (1999), el cual manifiesta que el CMT puede presentar una gran limitante en su utilización puesto que detecta casos positivos a partir de 350.000 células por ml de leche. Mientras que la utilización de otros métodos los casos positivos son identificados a partir de 200.000 células por ml de leche como es el caso de CCS

**CUADRO 21. CALIDAD DE LA LECHE DEL HATO DE TUNSHI EN RELACION AL CONTEO DE CELULAS SOMATICAS Y ESCALAS REFERENCIALES A NIVEL MUNDIAL RECONOCIDAS.**

<b>CONTENIDO MEDIO CS/ml</b>	<b>DESVIACION ESTANDART (S)</b>	<b>ESCALA DE REFERENCIAS</b>	<b>VALORACION DEL ESTADO SANITARIO</b>
823.723,15	328.064,52	Kleinschroth (1991)	Intensa
		Universidad de Nebreska (2004)	Positivo débil
		Instituto Babcock (1998)	Mastitis subclínica diseminada

<http://academicos.cualtos.udg.mx/DiplomadoCalidadLeche/doctos/24jul04/CMT%20en%20Cuba.pdf>., cita a González et al, los cuales investigaron 1000 muestras de leche mediante la prueba de California Mastitis Test y Conteo celular, demostrando la existencia de diferencia significativa entre la prueba de California y el Conteo celular.

[http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/du/613\\_es\\_pdf](http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/du/613_es_pdf). (2004). Manifiesta que las ubres sanas usualmente tienen valores de CCS por debajo de 200.000 células por mililitro; conteos por sobre ese umbral están usualmente asociados con una infección de la glándula mamaria. El CCS ha sido usado como una herramienta para el descarte involuntario (descarte por otras razones diferentes a producción) de vacas.

## **F. ANALISIS ECONÓMICO**

En esta investigación se realizó un análisis económico para recomendar a los diferentes productores que producto y que tipo de método de diagnóstico aparte de bueno es económicamente recomendable, como y cuando se debe utilizar.

El diagnóstico de la mastitis subclínica, el que tiene menor costo por cada prueba es la CMT de \$ 0,72, en la actualidad es el método más usado por barato ya que este es un método que nos permite tener una idea del estado sanitario de la explotación. Sin embargo para tener resultados más exactos y confiables sería útil el CCS pero esto no se lo hace en la propia explotación sino que se lo realiza en laboratorios especializados y resulta más costoso de \$ 2,19 por muestra.

Dentro de los análisis que deberían hacerse para la determinación de una enfermedad y la aplicación del respectivo tratamiento esta en la determinación que tipos de bacterias. El costo de cada prueba fue de \$ 2,85 y así poder tomar las decisiones adecuadas en la aplicación ideal que tendrá buenos resultados y a bajo costo.

Como se observa en el Cuadro 23 el mejor tratamiento para la mastitis subclínica es la utilización del Cefaspor, a pesar de ser el tratamiento individual mas caro pero este no deja residuos en la leche y se puede ocupar la leche tranquilamente tanto para el consumo humano como para la elaboración de los diferentes productos lácteos, no así los otros tratamientos que permanecen los

**CUADRO 22. EVALUACION ECONOMICA DE LOS DIFERENTES  
MÉTODOS DE DIAGNOSTICO**

<b>DETALLE</b>	<b>UNIDAD</b>	<b>TOTAL / MUESTRA</b>	<b>TOTAL</b>
Conteo de Células Somaticas	Prueba	\$ 2,19	\$ 105,26
California Mastitis Test	Prueba	\$ 0,72	\$ 34,34
Cultivo Bacterianos	Prueba	\$ 2,85	\$ 136,98

residuos del medicamento por mas de cinco a seis días y se pierde la leche e incluso no se puede dar a los terneros ya que estos les provoca diarrea debido a que mata la flora intestinal de estos, provocando graves perdidas.

**CUADRO 23. EVALUACION ECONOMICA DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS.**

<b>DETALLE</b>	<b>TOTAL/VACA</b>	<b>TOTAL TRAT.</b>	<b>PERDIDAS POR DESCARTE DE LECHE/DIA/VACA</b>	<b>PERDIDAS POR TIEMPO DE RETIRO</b>
Penicilina	\$ 8,10	\$ 32,40	\$ 2.50	\$ 15.00
Tetraciclina	\$ 8,36	\$ 33,44	\$ 2.50	\$ 15.00
Ceftiofur HCL	\$ 13,77	\$ 55,06	\$ 0.00	\$ 0.00

## V. CONCLUSIONES

En función de los resultados obtenidos se puede anotar las siguientes conclusiones.

- La incidencia de mastitis subclínica determinada por el método California Mastitis Test (CMT) fue de 49,49%.
- El mayor número de cuartos infectados presentaron aquellos animales que se encontraban en la segunda fase de producción, seguidos por aquellos animales que estaban produciendo pasado el año. También se pudo observar que los cuartos posteriores presentaron mayores índices de Mastitis Subclínica.
- Dentro de las bacterias patógenas causantes con mayor frecuencia fueron las gram positivas dentro de estas las de mayor cantidad fueron los del genero Staphylococcus sp mientras que las gram negativas fueron del grupo *Cocos*.
- Con la aplicación del Ceftiofur HCL, se tuvo mayor eficiencia que los demás tratamientos para las bacterias gram negativas.
- El mejor método de diagnostico fue el Conteo de Células Somáticas resulta ser un método de gran confiabilidad para la detección de la mastitis subclínica.
- El método más barato es el CMT

## VI. RECOMENDACIONES

- Debido al alto grado de mastitis subclínica se recomienda realizar una capacitación a los trabajadores para que apliquen buenas prácticas pecuarias, tomando las precauciones higiénicas al momento de realizar el ordeño
- Para el tratamiento de la mastitis aplicar el Ceftiofur HCL, ya que es el fármaco que ha demostrado la mayor efectividad y menor pérdida en la producción de leche por no dejar residuos, siempre y cuando se realicen pruebas de laboratorio para la determinación de resistencia hacia este fármaco de las diferentes bacterias causantes de la mastitis subclínica.
- Valorar la posibilidad de incluir el Conteo Celular como prueba para el diagnóstico en la detección de la Mastitis subclínica.
- Cuando se decida por realizar pruebas en el laboratorio para tener en cuenta que tipo de medicamento a aplicar y no tenga resistencia alguna por parte de las bacterias y no desperdiciar dinero, mano de obra, tiempo, etc.
- Sistematizar el nivel de diagnóstico con la finalidad de detectar los casos en estado inicial.

**VII. LITERATURA CITADA**

- 1 BARRENO, A. 1999. Comparación y optimización de diferentes métodos para diagnosticar mastitis subclínica. Tesis de grado. FCP-ESPOCH. Riobamba, Ecuador. pp. 27, 28.
- 2 HOYOS, L, 2002. Evaluación antimicrobial de 16 antibióticos genéricos para el control de mastitis y diarreas (de origen bacteriano) en bovinos. Tesis de grado. FCP – ESPOCH. Riobamba, Ecuador. pp 69 ,70.
- 3 <http://academicos.cualtos.udg.mx/DiplomadoCalidadLeche/doctos/24jul04/CMT%20en%20Cuba.pdf>. Cerero, O. Conductividad Eléctrica, California Mastitis Test (CMT) y Conteo Celular en la determinación de la mastitis subclínica. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas
- 4 <http://agbiopubs.sdstate.edu/articles/ExEx4031-S>. García, A. 2004. Células somáticas y alto recuento bacteriano ¿Cómo controlarlos? College of Agriculture & Biological Sciences / South Dakota State University / USDA.
- 5 [http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/du/613\\_es\\_pdf](http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/du/613_es_pdf). Caraviello, D. 2004 Selección para Mastitis Clínica y Conteo de Células Somáticas. Universidad de Wisconsin. Madison, USA
- 6 [http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/du/404\\_es\\_pdf](http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/du/404_es_pdf). Ruegg, P. 2001. Control de la mastitis. Universidad de Wisconsin. Madison, USA
- 7 [http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy\\_essentials\\_spn\\_spn.htm](http://babcock.cals.wisc.edu/spanish/de/dairy_essentials_spn_spn.htm).. Wattiaux, M. 1998. Instituto Babcock para la Investigación y Desarrollo Internacional de la Industria Lechera, Universidad de Wisconsin. Madison, USA..

- 8 <http://www.intervet.com.ec>. 2005. Acebo, M. Mastitis: afecta la producción y la calidad de la leche.
- 9 <http://www.jamesbrownpharma.com/vademecum/http>. 2005. Cefaspur.
- 10 [http://paila.rds.org.hn/archivos/tesis\\_yader.pdf](http://paila.rds.org.hn/archivos/tesis_yader.pdf) Yarder, L. 2000. Determinación de mastitis bovina en Catacamas y Santa Maria del Real. Olancho, Honduras
- 11 <http://www.solomamitis.com>. 2005. Boehringer Ingelheim. Diagnostico y tratamiento de la mamitis.
- 12 <http://www.solomamitis.com/articulos/http>. 2002. Maréchal, G. Células somáticas: consecuencias sobre la industria lechera
- 13 KIRK, J. 2003. California, Principios y bases para la prevención de mastitis. University of California-Davis, Veterinary Medical Teaching and Research Center, USA. pp 26 ,27
- 14 KLEINSCHROTH, E. et al 1991. La Mastitis. 2da ed. Bilbao, España. Edit. EDIMED. pp 9, 25
- 15 MARTIN, M. 1998. Los antiinflamatorios en el tratamiento de las mastitis. Revista Jersey. Quito, Ecuador. Edit. Arte 21. pp. 23, 24, 25.
- 16 MÉNDEZ, J. 2000. Utilización de propoleos de abeja como antiparasitario para el tratamiento de mastitis subclínica en vacas lecheras. Tesis de grado. FCP-ESPOCH. Riobamba, Ecuador. pp 41, 43 45, 46.
- 17 MERCK. 2000. Manual de Veterinaria. 5ta ed. Barcelona, España. Edit. Océano Grupo pp. 1965, 1966, 1970, 1972, 1973, 1975, 1976, 1994, 1995, 1997, 1999.

- 18 NUÑEZ, O. 1996. Estudio comparativo de diferentes tratamientos contra la mastitis bovina utilizando la arteria aorta abdominal. Tesis de grado. FCP-ESPOCH. Riobamba, Ecuador. pp. 47, 55.
- 19 SAMANIEGO, G. 1999. Diagnostico de la calidad de la leche cruda mediante conteo de células somáticas y porcentaje de grasa en el cantón Santo Domingo de los Colorados. Tesis de grado. FCP-ESPOCH. Riobamba, Ecuador. pp. 28-33.
- 20 SOTOMAYOR, L. 2004. terapia de la lactación para el control de la mastitis en bovinos. Memorias del Seminario Internacional Holstein. Cuenca, Ecuador. pp 1 - 3
- 21 VADEMÉCUM. 2004. Vademécum Veterinario. Quito, Ecuador. Edit. Edifarm. pp. 95, 96, 476.

# ANEXOS

**ANEXO 1 . INCIDENCIA DE MASTITIS EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL  
TUNSHI**

#	# DE ARETE	CUARTOS				OBS.
		IZQUIERDO		DERECHO		
		DELANTERO	TRASERO	DELANTERO	TRASERO	
1	127	T	T	T	T	
2	152	T	T	T	T	
3	159	++	+	+	+	
4	218	++	++	CP	++	
5	221	CP	T	T	T	
6	222	+	T	++	+	
7	234	+	T	+	++	
8	238	T	+	T	+	
9	242	+	+	+	++	
10	244	+	+	+	+	
11	271	+	++	++	++	
12	273	+	+	+	+	
13	274	T	T	++	+	
14	280	+	+	+	+	
15	282	T	T	T	T	
16	285	+	+	+	+	
17	291	+	T	T	++	
18	296	+	+	T	T	
19	305	T	T	T	++	
20	307	++	+	++	+	
21	311	+	+	T	T	
22	314	T	T	T	+	
23	336	++	++	+	+	
24	339	T	T	T	T	
25	341	T	+	T	++	
26	346	T	T	T	T	
27	355	T	T	+	+	
28	356	++	++	++	++	
29	362	+	+	++	++	
30	365	++	T	++	T	
31	367	T	T	T	T	
32	368	T	T	T	T	
33	369	T	CP	T	T	
34	371	+	+	T	T	
35	372	T	T	T	T	
36	374	T	+	T	T	
37	378	+	+	+	+	
38	380	+	+	+	+	
39	384	+	+	+	+	
40	386	T	T	+	T	

41	388	T	T	+	+	
42	390	T	T	T	T	
43	392	T	T	T	T	
44	393	T	+	T	+	
45	396	T	T	T	T	
46	398	T	T	T	T	
47	400	+	+	+	+	
48	405	T	T	T	T	
49	818	+	T	++	T	

**ANEXO 2. BACTERIAS CAUSANTES DE LA MASTITIS SUBCLINICA EN EL HATO DE TUNSHI DE VACAS SELECCIONADAS**

Nº	VACA ARETE Nº	MUESTRA Nº	COLOR DE LA COLONIA	HAEMOLISIS	DIAMETRO DE LA COLONIA	TINCION GRANM	IDENTIFICACION
1	222	4	A) Crema	-	1	-	Bacilos
			B) Amarilla	$\alpha$	2 a 3	+	Sthaphylococos
		8	A) Amarilla	$\alpha$	2	+	Sthaphylococos
			B) Crema	-	1 a 4	+	Sthaphylococos
		19	A) Amarilla	$\alpha$	1,5	+	Sthaphylococos
			B) Crema	-	2 a 4	+	Sthaphylococos
		10	A) Amarilla	$\alpha$	4	+	Sthaphylococos
			B) Crema	-	1 a 3	-	Cocos
2	244	16	Crema	-	0,5 a 1	+	Streptococos
		11	Crema	-	1	+	Bacilos
		3	Crema	$\alpha$	1 a 3	+	Sthaphylococos
		6	Crema	-	3	-	Cocos
3	386	34	A) Crema	-	1 a 2	-	Cocos
			B) Amarilla	-	1	-	Cocos
			C) Rugosa	-	5 a 7	-	Bacilos y esporulados
		43	A) Crema	-	1 a 1,5	+	Sthaphylococos
			B) Crema	$\alpha$	4	+	Sthaphylococos
		44	Crema	-	0,5 a 2	+	Sthaphylococos
		21	Crema	-	2 a 3	+	Sthaphylococos
4	273	47	Crema	-	1 a 4	+	Sthaphylococos

		31	A) Crema	-	0,5 a 2	+	Sthaphylococos
			B) Amarilla	$\alpha$	4	+	Sthaphylococos
		30	Crema	-	0,5 a 3	+	Sthaphylococos
		35	Crema	-	0,5 a 1	+	Streptococos
5	274	29	Crema	-	0,5 a 3	+	Sthaphylococos
		37	Crema	-	0,5 a 1	+	Sthaphylococos
		26	Crema	-	2,5 a 4	+	Bacilos cerius
		40	Crema	-	0,5 a 1	-	Bacilos
6	285	38	A) Crema	-	1 a 2,5	-	Cocos
			B) Crema	$\alpha$	2 a 3	+	Sthaphylococos
		23	Crema	-	0,5 a 1	+	Sthaphylococos
		39	A) Crema	-	1 a 2	+	Sthaphylococos
			B) Amarilla	-	2	+	Sthaphylococos
28	Rugosa	-	6	+	Bacilos y esporulados		
7	336	48	A) Crema	$\alpha$	1 a 1,5	+	Streptococos
			B) Amarilla	$\alpha$	1 a 2	+	Sthaphylococos
		22	Crema	-	1 a 3	+	Sthaphylococos
		36	Crema	-	0,5 a 3	+	Sthaphylococos
		42	Crema	-	1 a 3	+	Sthaphylococos
8	362	41	Crema	-	1 a 3,5	+	Sthaphylococos
		25	Crema	-	1	-	Cocos
		46	Crema	-	0,5 a 1	+	Sthaphylococos
		45	Crema	-	1	-	Bacilos
9	365	27	A) Crema	-	0,5 a 1	+	Sthaphylococos
			B) Amarilla	$\alpha$	1 a 2	+	Sthaphylococos
		33	Crema	-	0,5 a 2	+	Streptococos
		47	Crema	-	0,5 a 3	+	Streptococos

		32	Crema	-	0,5 a 1	+	Streptococos
10	380	12	Crema	-	1	-	Cocosbacilos
		13	Crema	-	1	-	Cocosbacilos
		9	Crema	-	1,5	-	Cocosbacilos
		1	A) Crema	-	1 a 2	-	Bacilos
			B) Crema	-	1	-	Cocos
11	400	2	Crema	-	1	+	Bacilos
		14	A) Crema	-	1 a 3	+	Sthaphylococos
			B) Amarilla	-	1 a 4	+	Sthaphylococos
		15	Crema	-	1	+	Cocosbacilos
		20	Crema	-	1	+	Bacilos
12	818	17	Crema	-	1	+	Sthaphylococos
		5	Crema	-	1 a 2,5	+	Sthaphylococos
		7	A) Amarilla	-	3 a 4	-	Cocos
			B) Crema	-	1 a 5	+	Sthaphylococos
		18	A) Crema	-	1 a 2	-	Bacilos
			B) Amarilla	-	1,5	+	Sthaphylococos

## ANEXO 3. CONTEO DE CELULAS SOMATICAS EN TUNSHI DE LAS VACAS SELECCIONADAS

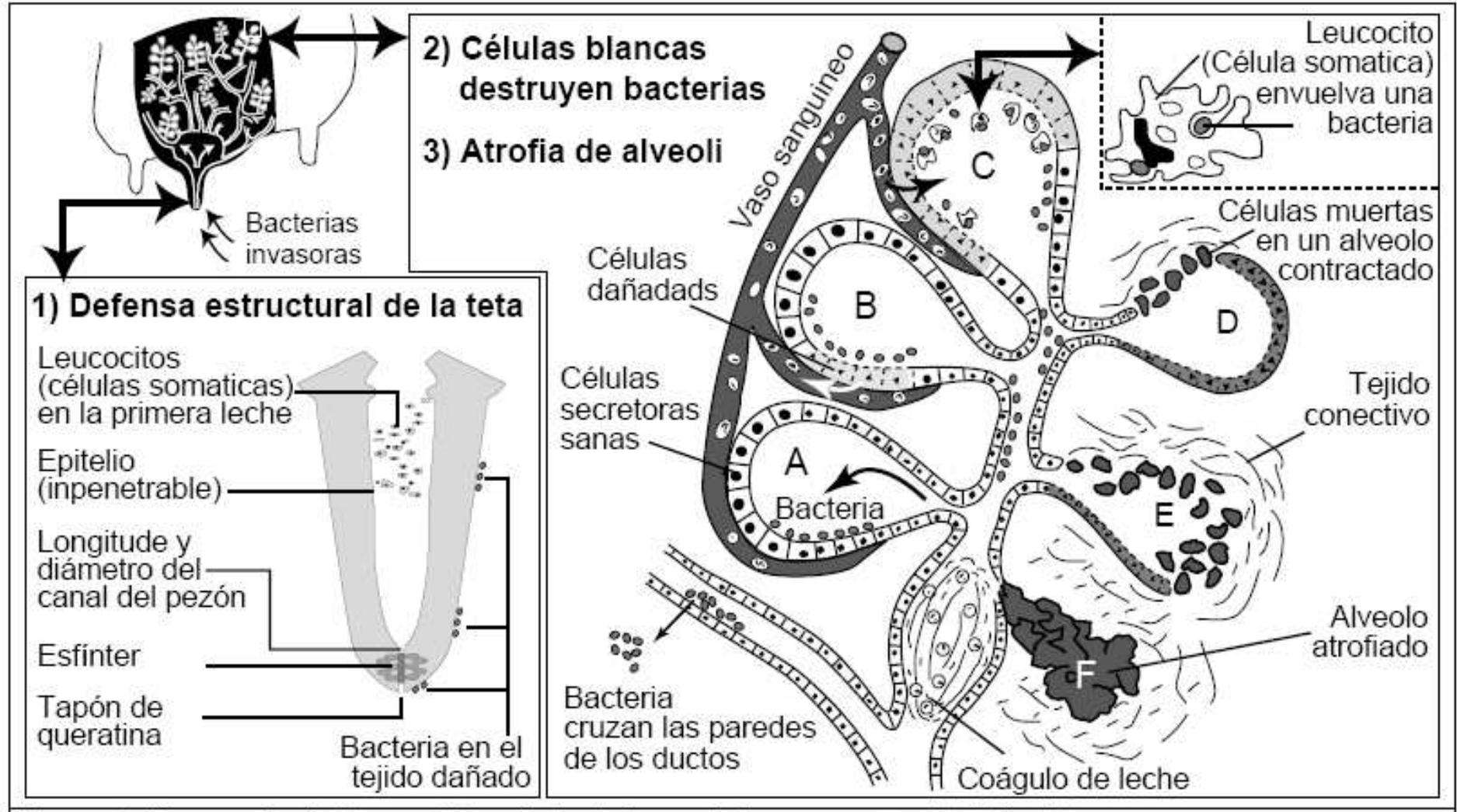
Nº	VACA ARETE Nº	MUESTRA Nº	CCS					FACTOR MICROSCOPIO
			1	2	3	TOTAL	PROMEDIO	1.414,71
1	222	4	410	395	350	1159	385,00	544.662,31
		8	458	497	658	1621	537,67	760.640,96
		19	483	589	610	1701	560,67	793.179,23
		10	611	694	657	1972	654,00	925.218,57
2	244	16	215	304	494	1029	337,67	477.699,50
		11	420	515	324	1270	419,67	593.705,50
		3	528	587	498	1616	537,67	760.640,96
		6	415	456	429	1306	433,33	613.039,83
3	271	34	1237	1171	879	3321	1095,67	1.550.047,63
		43	410	715	320	1488	481,67	681.417,35
		44	459	322	513	1338	431,33	610.210,42
		21	671	579	729	2000	659,67	933.235,25
4	273	47	320	415	547	1329	427,33	604.551,59
		31	729	429	752	1941	636,67	900.696,98
		30	659	520	439	1648	539,33	762.998,80
		35	530	959	1015	2539	834,67	1.180.809,03
5	274	29	875	621	927	2452	807,67	1.142.611,93
		37	893	954	1036	2920	961,00	1.359.533,72
		26	579	492	443	1540	504,67	713.955,62
		40	412	512	657	1621	527,00	745.550,75
6	280	38	979	893	1098	3008	990,00	1.400.560,23
		23	393	283	352	1051	342,67	484.773,03

		39	342	319	389	1089	350,00	495.147,56
		28	871	851	452	2202	724,67	1.025.191,22
7	336	48	251	369	479	1147	366,33	518.254,44
		22	294	850	571	1737	571,67	808.741,01
		36	675	412	530	1653	539,00	762.527,23
		42	329	339	497	1207	388,33	549.378,00
		41	352	425	312	1130	363,00	513.538,75
8	362	25	259	237	397	918	297,67	421.111,21
		46	754	521	324	1645	533,00	754.038,99
		45	954	759	1234	2992	982,33	1.389.714,14
		27	412	310	483	1232	401,67	568.240,77
9	365	33	815	350	757	1955	640,67	906.355,81
		47	850	896	935	2728	893,67	1.264.276,76
		32	391	671	452	1546	504,67	713.955,62
		12	535	359	334	1240	409,33	579.086,85
10	380	13	323	451	310	1097	361,33	511.180,90
		9	521	451	351	1332	441,00	623.885,92
		1	473	398	469	1341	446,67	631.902,59
		2	348	379	454	1183	393,67	556.923,11
11	400	14	715	829	679	2237	741,00	1.048.298,11
		15	439	589	694	1737	574,00	812.041,99
		20	453	485	418	1376	452,00	639.447,70
		17	1051	871	1211	3150	1044,33	1.477.425,99
12	818	5	727	420	551	1703	566,00	800.724,33
		7	479	579	549	1614	535,67	757.811,54
		18	1147	1247	1571	3983	1321,67	1.869.771,48

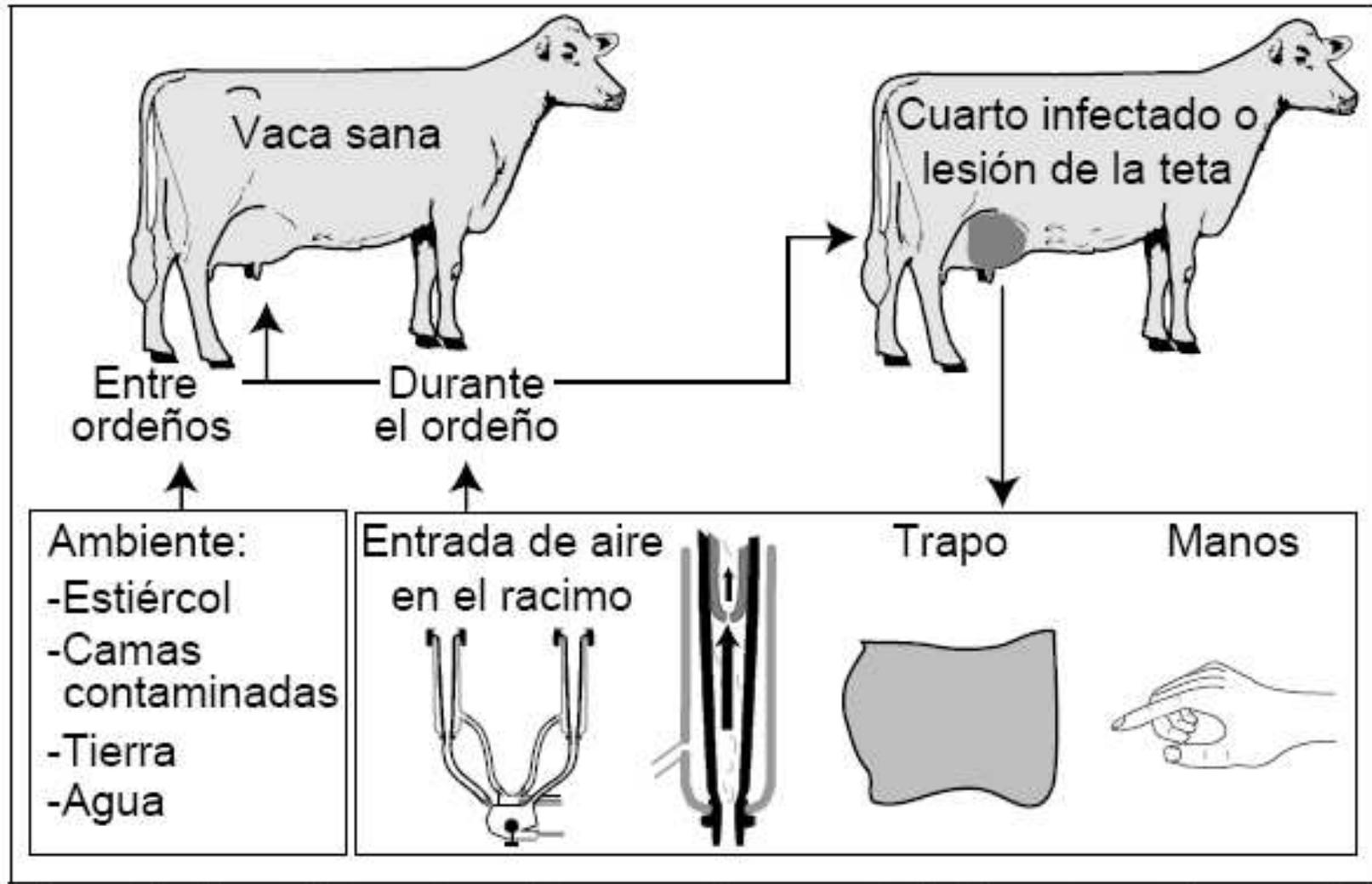
## ANEXO 4. CMT POST TRATAMIENTO

#	# DE ARETE	CUARTOS				OBSERVACIONES
		IZQUIERDO		DERECHO		
		DELANTERO	TRASERO	DELANTERO	TRASERO	
1	222	T	+	-	-	
2	244	T	-	-	-	
3	273	T	+	T	+	
4	274	-	-	-	T	
5	285	-	T	-	-	
6	336	T	T	+	-	
7	362	-	-	-	-	
8	365	-	-	-	-	
9	380	-	-	-	T	
10	386	-	-	-	T	
11	400	+	+	+	+	
12	818	+	-	++	-	

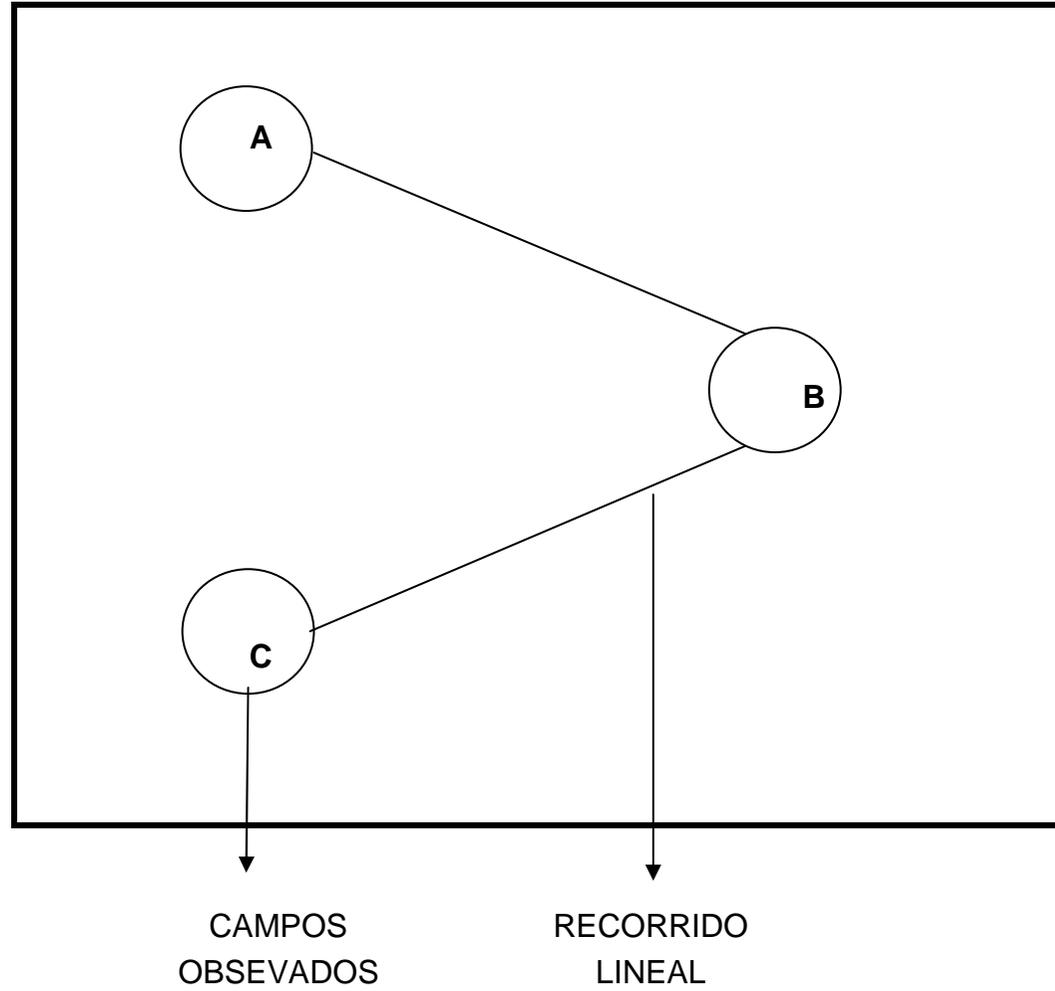
ANEXO 5. DESARROLLO DE LA MASTITIS Y DE LA DEFENSA DE LA VACA CONTRA LA INFECCIÓN



## ANEXO 6. TRES DE LAS PRINCIPALES RUTAS DE TRANSMISIÓN BACTERIANA DURANTE EL ORDEÑO



ANEXO 7. CAMPOS A CONTAR CON UN FACTOR MICROSCOPIO 1414,7071.



## ANEXO 8. CALCULO PARA DETERMINAR EL FACTOR MICROSCOPIO

$$FM = 10.000 / \pi r^2$$

## DATOS

r	1,5 mm
$\pi$	3,1416
FM	?

$$FM = \frac{10.000}{3,1416 * (1,5^2)}$$

$$FM = 1414,707$$

## EN DONDE

r	Radio del campo microscopio
FM	Factor microscopio