

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
UNAN-León

DIRECCIÓN DE CIENCIAS AGRARIAS Y VETERINARIAS

Dirección Especifica de
Zootecnia
Medicina Veterinaria

Medicina Veterinaria y



UNAN - León

Trabajo Monográfico para optar al título:
MEDICO VETERINARIO

Tema: Resistencia a antimicrobianos de agentes que causan mastitis subclínica en 3 fincas del municipio de San Sebastián de Yalí Jinotega, en el periodo de mayo a junio del año 2023.

Elaborado por:

- Br. Bryan Aarón Rivas Rizo.
- Br. Nora Ivonne Rodríguez Castillo

Tutor: Dr. Alan Peralta

León, Marzo de 2025

2024: 45/19 La Patria, La Revolución!



Índice

| | |
|--|----|
| RESUMEN..... | 11 |
| INTRODUCCIÓN..... | 12 |
| OBJETIVOS..... | 9 |
| OBJETIVO GENERAL | 9 |
| OBJETIVOS ESPECIFICOS | 9 |
| MARCO TEORICO | 10 |
| Mastitis | 10 |
| Factores predisponentes de mastitis..... | 12 |
| Patogenia:..... | 15 |
| Diagnóstico: | 15 |
| Test de California para mastitis (CMT):..... | 15 |
| Test de Wisconsin para mastitis (WMT):..... | 17 |
| Análisis microbiológico:..... | 17 |
| Pruebas bacteriológicas:..... | 17 |
| Sensibilidad y resistencia antibiótica:..... | 18 |
| Metodo de Kirby Bauer (método de difusión):..... | 18 |
| Terapia antimicrobiana:..... | 19 |
| Antibiótico:..... | 20 |
| Prevención: | 20 |
| Importancia económica: | 21 |
| Definición de términos:..... | 22 |
| VARIABLES..... | 24 |
| METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN..... | 27 |
| Tipo de estudio..... | 27 |



| | |
|---------------------------------------|----|
| Área del estudio. | 27 |
| Periodo de estudio. | 27 |
| Población | 27 |
| Calcule el tamaño de la muestra..... | 27 |
| Tipo de muestreo | 27 |
| Criterios de inclusión..... | 27 |
| Criterios de exclusión..... | 28 |
| Consideraciones éticas..... | 28 |
| Unidad de análisis..... | 28 |
| Procedimiento a realizar el CMT:..... | 28 |
| Interpretación del CMT:..... | 28 |
| Toma y transporte de muestra..... | 29 |
| Análisis de laboratorio:..... | 29 |
| Cultivo bacteriano:..... | 30 |
| Identificación bacteriana:..... | 30 |
| Aislación bacteriana | 30 |
| RESULTADOS | 33 |
| DISCUSIÓN..... | 45 |
| CONCLUSIÓN..... | 47 |
| RECOMENDACIONES..... | 48 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 49 |



RESUMEN

La mastitis subclínica es una enfermedad que afecta a la glándula mamaria que genera pérdidas económicas importantes. La principal causa es la infección de origen bacteriano, por lo cual la identificación de agentes causantes y la sensibilidad de estos microorganismos frente a los antibióticos son necesarios para orientar la mejor estrategia terapéutica. Con el propósito de determinar la resistencia de agentes bacterianos causantes de mastitis subclínica a antibacterianos en 3 fincas del municipio de San Sebastián de Yalí, Jinotega, se realizaron pruebas de california para mastitis a 53 vacas de ordeño distribuidas en las 3 fincas.

En aquellas vacas que resultaron positivas se realizó aislamiento bacteriológico y antibiograma del cuarto afectado. Se observó que el 39.62% (21/53) de las vacas muestreadas reaccionaron positivo a la prueba de california, de esas 21 muestras positivas el 76% (16/21) tuvieron crecimiento bacteriano. Las bacterias identificadas en el cultivo fueron *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativo*. En los resultados del antibiograma el antibiótico al que más se presentó resistencia fue a la penicilina.



INTRODUCCIÓN

La mastitis es una patología de gran importancia económica en Nicaragua, ya que afecta a los productores y a industrias lecheras, por ello se considera una de las afectaciones más costosas. En el municipio de “San Sebastián de Yalí”, Jinotega, la mastitis subclínica es una de las principales causantes de la disminución de leche por lactancia, y disminución de higiene en el producto.

Mastitis es la inflamación de glándula mamaria y sus tejidos secretores, que reducen la producción del volumen de leche, alterando su composición, incluso su sabor, además de elevar su carga bacteriana normal. Es ocasionada por factores físicos, químicos, mecánicos o infecciosos. La causa de la inflamación se debe a la multiplicación de los microorganismos y a que los productos del metabolismo de éstos, lesionan el tejido glandular. (1)

La mastitis subclínica es considerada la más importante por diversas razones. Es de 15 a 40 veces más común que la mastitis clínica, generalmente precede a la forma clínica, por lo tanto, si queremos controlar la forma clínica, debemos empezar por controlar la subclínica, es de larga duración, es difícil de detectar, disminuye la producción de leche, influye negativamente en la calidad de la leche, provoca infección en otros animales del rebaño. (31)

Desde el punto de vista epidemiológico, los patógenos causantes de la mastitis se han clasificado en los siguientes tres grupos, de acuerdo a su origen y forma de transmisión en el rebaño: Patógenos Contagiosos, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma bovis*, y *Corynebacterium bovis*; Patógenos Ambientales, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Arcanobacterium pyogenes* y muchos otros agentes y Patógenos Oportunistas, *Staphylococcus hycus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus intermedius* y muchas otras especies de estafilococos, que forman parte de la flora normal de piel. (30)

Para diagnosticar la mastitis subclínica causada por agentes bacterianos en vacas del municipio de “San Sebastián de Yalí”, Jinotega, realizaremos la prueba de California mastitis test (CMT), a las muestras con resultado positivo se realizará aislamiento de los agentes bacterianos, la identificación y conocer la resistencia de las bacterias frente a los antibióticos recomendables para el tratamiento de esta patología.



Martínez.D y colaboradores en 2015, realizaron un estudio acerca del estado de resistencia de agentes etiológicos de mastitis clínica y subclínica frente a algunos antimicrobianos utilizados en hembras bovinas del municipio de Sotaquirá (BOYACA-COLOMBIA); para evaluar su resistencia ante los diferentes antibacterianos entre ellos: gentamicina, ciprofloxacina, trimetoprim-sulfa, oxacilina, neomicina, dicloxacilina, ceftriaxon, cefadrina, amoxicilina, cefalotina, ampicilina, penicilina G, lincomicina y eritromicina .El total de los animales evaluados fue de 390, de los cuales 153 tuvieron mastitis subclínica; dos tuvieron cuartos atrofiados y dos mastitis clínicas. La mayoría de los microorganismos fueron resistentes a cefalotina y penicilina G, *E. Coli* mostro resistencia a varios fármacos. Por el contrario, 68% fueron sensibles a ceftriaxona y ciprofloxacina y 50% a amoxicilina. 75% de los microorganismos fueron ligeramente sensibles a ampicilina. (32)

Canales.M y Perla. A, realizaron un estudio en octubre del 2017, acerca de la multiresistencia antimicrobiana de bacterias causantes de mastitis subclínica y mastitis clínica identificadas en vacas en ordeño manual en tres ganaderías del Municipio de Agua Caliente, Chalatenango, El Salvador. El estudio se llevó a cabo en tres ganaderías, en donde se procedió a hacer la prueba de California para mastitis (CMT) a 154 vacas que se encontraban en ordeño manual. A partir de los resultados de CMT se identificaron 46 animales (29.87%) positivos a algún grado de mastitis, de los cuales 28 (60.9%) se clasificaron como mastitis subclínica y 18 (39.1%) como mastitis clínica. De las 46 muestras obtenidas de vacas positivas a CMT se aislaron e identificaron 19 microorganismos. Las bacterias presentaron mayor resistencia a penicilina (57.14%), Ampicilina (53.24%), oxitetraciclina (48.0%) y eritromicina (45.4%); y mostraron mayor sensibilidad a enrofloxacina (98.61%), trimetoprim-sulfametoxazol (97.41%), ciprofloxacina (94.81%), Gentamicina (88.32%), Amoxicilina más ácido clavulánico (84.5%) y neomicina (84.5%). Los perfiles de multiresistencia más frecuentes fueron penicilina y macrólidos (37.83%), penicilina y tetraciclina (16.20%); tetraciclinas y aminoglucósidos (10.80%); penicilina, tetraciclinas y macrólidos (8.10%). (33)

Rivera.M y Torres.M, realizaron un estudio sobre la resistencia antibacteriana de bacterias aisladas en leche de vacas con mastitis subclínica, en fincas que abastecen los centros de acopio de Achuapa y Larreynaga entre septiembre y noviembre del 2011. Obteniéndose 19 muestras para el municipio de Achuapa y 24 muestras para Larreynaga. Obteniéndose así un total de 43 muestras para el estudio, se eliminaron tres muestras por contaminación. Los resultados se presentan en base a 40 muestras. A través del método de difusión en agar Kirby



Bauer. Se aisló *Staphylococcus cuagulasa* negativo en un 57.5%, *Staphylococcus aureus* 25%, *Streptococcus spp* y *pseudomas spp* 7.5% y *E-coli* 2.5%. Se encontró que las bacterias aisladas fueron resistentes a la vancomicina en 80.6%, seguido de la eritromicina en un 77.8%, oxitetraciclina 28.2%, cefalixina y amoxicilina 23.1%, ciprofloxacina 20.8%, enrofloxacina 20.5% y la gentamicina 0%. (34).

En febrero 2004, en la Escuela de Medicina Veterinaria, UNAN-León, Berrios y Peralta realizaron una tesis sobre el estudio epidemiológico de la mastitis subclínica bovina en 4 hatos lecheros del departamento de León, así como la identificación y sensibilidad antimicrobiana in vitro de los agentes etiológicos implicados, los resultados obtenidos reflejan que el 54% presentó al menos un cuarto reactivo a CMT. Los agentes patógenos encontrados fueron *staphylococcus aureus* 62% *staphylococcus coagulasa* negativo 37%, *Streptococcus spp* 6% y *E.coli* 19% se evaluó únicamente la sensibilidad antimicrobiana en *Staphylococcus aureus* y *E. Coli*. *S.aureus* es resistente al 30% a la tetraciclina y el 15% a penicilina. *E. Coli*, presenta resistencia a todos los antibióticos a excepción de la ceftriaxona. (35)

La mastitis subclínica bovina es una de las enfermedades que más afecta la industria lechera, siendo por eso de gran relevancia económica para los ganaderos lecheros que se sustentan de la venta de productos lácteos en el municipio de San Sebastián de Yalí, Jinotega; ya que afecta a una gran parte de su ganado bovino, la cual es causada principalmente por agentes bacterianos.

Dentro de las presentaciones de la mastitis, la mastitis subclínica es la más importante, ya que produce una baja producción de leche, se puede diseminar muy rápido y no es posible de identificar clínicamente, ya que se requiere de diferentes pruebas tales como la California Mastitis Test (CMT) y entre otras pruebas de laboratorio para llegar a ser identificada.

Actualmente no contamos con un estudio sobre la existencia de mastitis subclínicas causada por agentes bacterianos en dicho municipio, ni un estudio que nos brinde la información sobre cuánto ha sido la pérdida económica de los ganaderos lecheros en el municipio.

En la mayoría de estas fincas se usa el método de ordeño manual, y por lo menos la mitad de estas no cuentan con buenas prácticas de manejo, siendo este un factor de riesgo ya que la enfermedad puede diseminarse a animales sanos, siendo estos susceptibles al momento del



ordeño; además la mayoría del tiempo no se da un buen tratamiento a estos animales haciendo que los mismos desarrollen resistencia a agentes antibacterianos.

Actualmente la mastitis se presenta como un problema de alto riesgo, teniendo este un grado alto de dificultad para el control y prevención de manera efectiva, sumando a esto que la calidad de la leche es relativamente baja. Debido a que la mastitis puede ser causada por lesiones, estrés o bacterias que invaden la glándula mamaria, ésta es considerada una enfermedad altamente prevalente en el ganado lechero. Además, los agentes infecciosos causantes de la mastitis pueden llegar a ser perjudiciales para la salud humana. Si bien existen métodos para prevenir y controlar la mastitis bovina, la terapia con antibióticos desempeña un papel determinante en la eliminación de infecciones. Con el presente estudio se pretende conocer cuales antibióticos se presenta resistencia, para poder hacer un correcto tratamiento con una base científica. Uno de los principales inconvenientes de la terapia con antibióticos es que, además de ser utilizados por su acción terapéutica en el tratamiento de las infecciones intramamarias, también son administrados con fines profilácticos en la prevención de la enfermedad durante el secado de los animales, entre una lactancia y la siguiente. Esta práctica favorece la selección de cepas resistentes en la población microbiana e influye negativamente en el tratamiento de la enfermedad. Para poder realizar el procesamiento de las muestras, aislamiento e identificación y analizar su resistencia de las bacterias patógenas causantes de mastitis en un establo lechero se requiere un Laboratorio de Microbiología equipado. Se realiza esta investigación para conocer la sensibilidad de las bacterias causantes de mastitis frente a los antimicrobianos en un establo lechero, lo que se puede lograr mediante análisis bacteriológico y pruebas de sensibilidad/resistencia para tener una idea real del estado de la enfermedad y así disminuir los gastos ocasionados en el tratamiento.

¿Qué agentes bacterianos causantes de mastitis subclínica en el municipio de San Sebastián de Yalí, Jinotega presentan resistencia a antibacterianos?

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la resistencia de agentes bacterianos causantes de mastitis subclínica a agentes antibacterianos en 3 fincas del municipio de San Sebastián de Yalí, Jinotega.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Identificar las vacas con mastitis subclínica utilizando la técnica de CMT.
- Identificar los agentes bacterianos causantes de mastitis subclínica, mediante el cultivo bacteriológico y aislamiento de agentes patógenos encontrados.
- Delimitar el perfil de resistencia de los agentes bacterianos encontrados en vacas con mastitis subclínica, mediante el uso de antibiogramas.
- Evaluar si la posición del ordeño es un factor para la predisposición de mastitis.



MARCO TEORICO

Mastitis

Se refiere a la inflamación de glándula mamaria y sus tejidos secretores, que reducen la producción del volumen de leche, alterando su composición, incluso su sabor, además de elevar su carga bacteriana normal. Es ocasionada por factores físicos, químicos, mecánicos o infecciosos. La causa de la inflamación se debe a la multiplicación de los microorganismos y a que los productos del metabolismo de éstos, lesionan el tejido glandular(1)

La mastitis es la respuesta al daño originado por la presencia de agentes agresores, microorganismos, productos químicos, lesiones traumáticas, temperaturas extremas, entre otros; normalmente los casos se dan por la presencia de agentes patógenos bacterianos considerándola como una enfermedad muy compleja, perjudicial y costosa que afecta a la industria láctea directamente; esta complejidad es debida a la cantidad y variedad de agentes patógenos que la ejecutan, la respuesta que se produce dentro del animal infectado debido a los diversos factores que actúan en su agudeza y los resultados obtenidos en las medidas de control; a pesar de que su eliminación es prácticamente imposible, algunos programas de control pueden aminorarla a niveles tolerables. (2)

La mastitis bovina es una inflamación de la glándula mamaria que provoca cambios en la composición bioquímica de la leche y en el tejido de la glándula. Es una de las enfermedades más comunes de las vacas lecheras, especialmente la raza frisona, ya que es una de las razas más utilizadas para producir leche. (3)

- Clasificación de la mastitis
 1. Mastitis clínica es aquella en la que se observan signos de inflamación en la glándula mamaria, como el calor, dolor, tumor y pérdida parcial de la función.
 2. Mastitis subclínica hace referencia a una entidad en la cual no se encuentra signos de inflamación, y se detectan, por pruebas de campo, indicadores del nivel de células somáticas en la leche; un ejemplo de esas pruebas es el California Mastitis Test, CMT.
 3. Mastitis infecciosa se define como la entidad en la cual hay diagnostico positivo al cultivo microbiológico de la leche.



4. Mastitis no infecciosa se define como aquella en la cual no hay diagnóstico positivo al cultivo microbiológico de la leche.

De acuerdo con el tiempo de evolución, la mastitis varía de estados agudos a crónicos,

5. En mastitis aguda la inflamación se caracteriza por el inicio súbito y la duración corta. Esta se caracteriza por la presentación de signos clásicos como la inflamación como calor, dolor, rubor, tumor, pérdida parcial de la función. También se detectan, frecuentemente, cambios en el aspecto de la leche y pueden observarse reacciones, tanto locales como sistémicas
6. En mastitis crónicas el inicio puede ser súbito o no, pero la duración es larga, y hay usualmente un desarrollo progresivo de tejido fibroso. Este tipo de mastitis puede tener forma clínica o subclínica.
7. Mastitis clínica crónica se caracteriza por cambios morfológicos en tamaño, forma, consistencia a la palpación, además de alteraciones de la secreción
8. Mastitis subclínica crónica se caracteriza por la reacción inflamatoria solo es detectable por pruebas de laboratorio, y puede haber episodios de mastitis aguda o crónica, separados en el tiempo. (4)

- Mastitis subclínica:

Se habla de mastitis subclínica cuando no hay cambios clínicamente detectables en la ubre, pero que al recurrir a métodos indirectos de campo o de laboratorio; éstos salen positivos.(5)

Muchas veces no se llega a apreciar importancia económica de la mastitis subclínica porque la leche mantiene su apariencia normal. (1)

Esta clase de enfermedad es importante por las siguientes razones:

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

Usualmente precede a la clínica.

Es difícil de detectar.

Reduce la producción de leche.

Afecta la calidad de la leche.



Esta forma subclínica es también muy importante porque constituye una reserva de microorganismos que transmiten la infección a otros animales en el hato.(5)

Factores predisponentes de mastitis:

- Microorganismos:

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

Las que causan mastitis contagiosa, fundamentalmente:

Streptococcus agalactiae: Éste es transmitido fácilmente de vaca a vaca durante el ordeño. La mastitis que produce generalmente es subclínica con exacerbaciones agudas. Por esta razón, las pérdidas más importantes radican en la producción. En infecciones crónicas, los organismos no producen abscesos ni fibrosis manifiestos, sino que disminuyen de modo permanente la productividad en las glándulas infectadas y elevaciones importantes en el recuento de células.(5)

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

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

Streptococcus dysgalactiae: Resiste perfectamente en el ambiente. Se encuentra habitualmente en la piel de pezón, particularmente cuando la integridad de la superficie está puesta en peligro por grietas, cortes o por daño causado por la ordeñadora. También se halla presente en las tónsilas, por esta razón, la lamedura puede transmitir la infección a los pezones. Los estreptococos forman colonias muy pequeñas de bordes regulares, convexos, transparentes u opacos, con un diámetro de 0.5 a 2 mm. Son móviles y no esporulados, gram



positivas, algunas especies pueden presentar cápsula y muchas especies son hemolíticas. Están agrupados en pares o cadenas. (6)

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

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

Corynebacterium bovis: Este microorganismo puede existir como comensal en la ubre de la vaca, pero es posible que produzca mastitis, al haber tejido previamente dañado. Forma colonias pequeñas de color blanco o crema en agar nutritivo.(7)

Mycoplasmas spp: Existen dos especies que provocan mastitis: *M. bovis* y *M. californicum*. Son sumamente contagiosas y son capaces de propagarse rápidamente en un rebaño infectado. Su respuesta a los antibióticos es escasa. La mayoría de vacas infectadas por lo general tienen que ser sacrificadas. A pesar que las vacas infectadas no están enfermas clínicamente, la infección puede ocasionar un descenso pronunciado de la producción. Los cuartos afectados pueden estar hinchados y producir únicamente una secreción escasa o arenosa. Las colonias son de crecimiento lento y tienen una forma típica de huevo escalfado cuando crece en agar sangre. (8)

El principal reservorio parece ser la piel de la ubre. Se ha aislado en numerosos lugares de la vaca, así como en la cama, e incluso, en pastos donde pastorea el ganado infectado. Son cocos, Gram positivos, inmóviles y forman cadenas de tamaño moderado.(9)



Staphylococcus coagulasa negativos: Pueden habitar en el exterior como en el interior de las ubres infectadas. Se les denominan oportunistas de la flora de la piel del pezón, la vagina, el pelaje y fosas nasales. Este grupo de bacterias incluye más de 50 especies y subespecies. Las bacterias más comunes aisladas de mastitis bovina son *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermitis*, *Staphylococcus hyicus* y *Staphylococcus simulans*. Patógenos no comunes del medio ambiente como *Arcanobacterium pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, levaduras, *Nocardia asteroides*, el alga incolora *Prototheca spp*, y muchos más.(10)

- El hombre:

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

El papel del Médico Veterinario es importante, ya que debe velar por la aplicación correcta del procedimiento de ordeño, así como una buena limpieza y desinfección del equipo. Seleccionar los implementos, materiales y medicamentos que deben emplearse, e instruir al personal sobre su uso. Realizar controles periódicos de las vacas con pruebas como California Mastitis Test, cultivos de leche para antibiogramas y decidir, en base a los resultados, la mejor terapia, redistribución de lotes, el orden del ordeño y el análisis estadístico mensual de mastitis. Decidir sobre el rol y método de secado de las vacas y recomendar la sacada de vacas con problema de mastitis.(11)

- La máquina de ordeño:

El uso inadecuado de la máquina ordeñadora se relaciona con la irritación de los tejidos y la incidencia de mastitis. Las erosiones de los pezones pueden proporcionar un sitio para que crezcan los organismos y esto incrementa las probabilidades de nuevas infecciones en las ubres. Las vacas clínicamente infectadas se deben ordeñar en último lugar. Después del ordeño los pezones se deben sumergir en una solución desinfectante como tintura de yodo, para sellarlos y evitar la entrada de microorganismos. El conjunto de pezoneras, las tuberías para la leche y otros utensilios se tienen que limpiar y sanear entre ordeños.(12)

- Manejo:

En el manejo se incluye tanto la alimentación como el medio ambiente en que los animales viven. Una alimentación deficiente en energía y proteína tiene un efecto directo sobre la salud



de la ubre de la vaca, ya que si se alimenta una vaca con estas deficiencias debilita los mecanismos de defensa de la ubre; por lo tanto, puede contribuir a la entrada de agentes patógenos que habitan en el ambiente de la vaca e infectar la glándula mamaria.

El manejo de la vaca tiene una influencia decisiva en el bienestar del animal y, con ello, en los mecanismos corporales de defensa y por otra parte la limpieza del medio ambiente, en especial los corrales, tiene importancia para determinar la presencia de agentes patógenos. La Infraestructura es otro factor importante, ya que, si hay alambre u otro material expuesto, puede llegar a lastimar el tejido de la ubre causando laceraciones o heridas, las cuales pueden contribuir a la entrada de agentes patógenos.(11)

Patogenia:

El proceso de infección puede dividirse en tres etapas: Invasión: en esta etapa el microorganismo pasa del exterior de la ubre a la leche que se encuentra en el interior de la cisterna del pezón. Infección: es en esta etapa en la que los microorganismos se multiplican rápidamente e invaden el tejido mamario; y donde se establece una población bacteriana que se disemina por toda la glándula, dependiendo de la patogenicidad del microorganismo.

Inflamación: es el resultado de la acción de estos agentes y sus toxinas sobre el delicado tejido secretor (mastitis) aumentando notablemente la cuenta leucocitaria en la leche ordeñada.(13)

Diagnóstico:

Ya que en la mastitis subclínica no es posible ver alteraciones evidentes a nivel de glándula mamaria, se requiere de pruebas especiales para detectar la presencia de un proceso inflamatorio. Este proceso causa una serie de cambios en la composición de la leche, que sirven de base para muchas pruebas de diagnóstico. Uno de los métodos es la identificación del agente causal mediante cultivos microbiológicos, así como el conteo de células somáticas en la leche.(14)

Test de California para mastitis (CMT):

La Prueba de California para Mastitis (CMT, por sus siglas en inglés) ha sido empleada durante décadas y sigue siendo la prueba más utilizada a nivel de campo para el diagnóstico de mastitis en el ganado bovino lechero.

Es una prueba sencilla que es útil para detectar la mastitis subclínica por valorar groseramente el recuento de células de la leche. No proporciona un resultado numérico, sino



más bien una indicación de si el recuento es elevado o bajo, por lo que todo resultado por encima de una reacción vestigial se considera sospechoso.

Pasos a seguir para la realización de la Prueba de California para Mastitis

1. Se desecha la leche del preordeño.
2. Se ordeñan uno o dos chorros de leche de cada cuarto en cada una de las placas de la paleta.
3. Se inclina la paleta de modo que se desecha la mayor parte de esta leche.
4. Se añade a la leche un volumen igual de reactivo.
5. Se mezcla el reactivo y se examina en cuanto a la presencia de una reacción de gelificación. Antes de continuar con la vaca siguiente se debe enjuagar la placa. (28)

Sus ventajas principales son:

1. Es una técnica muy sensible y se puede utilizar tanto en una muestra de cuartos, como una muestra del tanque enfriador. En una muestra de tanque, los resultados de grado 2 y 3, indican un alto porcentaje de vacas infectadas.
2. El material extraño no interfiere con la prueba (pelo u otro material).
3. La prueba es simple y no requiere de equipo costoso.
4. La paleta es fácil de limpiar después de cada uso.
5. A pesar de sus ventajas, la técnica presenta los siguientes inconvenientes.
6. Los resultados pueden ser interpretados de forma variable, entre los individuos que realicen la prueba, por lo que resulta necesario uniformizar el criterio de casos positivos y su categorización en grados.
7. Pueden presentarse falsos positivos en leche de animales con menos de diez días de paridos o en vacas próximas a secarse.
8. La mastitis clínica aguda da resultados negativos, debido a la destrucción de los leucocitos por las toxinas provenientes de los microorganismos presentes. (28)



Test de Wisconsin para mastitis (WMT):

Fue diseñada para el uso en el laboratorio, y es utilizada para estimar el contenido de células somáticas de muestras de leche fresca mezclada o leche de tanques de enfriamiento, así como para muestreo de vacas individuales. Se utiliza una solución similar a la que se emplea con la prueba de California (CMT), pero en contraste con esta última, los resultados se miden cuantitativamente dependiendo de la viscosidad, no cualitativamente o de estimarla a ojo de buen cubero como en la CMT

La técnica consiste en utilizar un tubo graduado en milímetros en donde se depositan 2 ml de leche y una mezcla de 2 ml de reactivo para CMT con agua destilada (1:1) ambas a temperatura ambiente. Enseguida se agita durante 10 segundos, horizontalmente y de izquierda a derecha. Se deja reposar 10 segundos y posteriormente se invierten los tubos durante otros 10 segundos.

Una vez transcurrido el tiempo, se procede a realizar la lectura en el tubo por debajo de la espuma que se forma. Los resultados se relacionan con la escala graduada en mililitros del tubo y su valor de células somáticas, empleando para su interpretación una tabla específica para la prueba. Los rebaños con una puntuación baja entre 3 y 12 están en condiciones buenas a regular, mientras que los rebaños con puntuaciones superiores a 12 requieren de atención inmediata (28)

Análisis microbiológico:

El análisis microbiológico de las muestras de leche consiste en la obtención aséptica de las muestras, identificación, transporte y almacenamiento adecuado, siembra e identificación de los microorganismos aislados y prueba de susceptibilidad a los antibióticos.(15)

Pruebas bacteriológicas:

Estas pruebas permiten la identificación bastante rápida de los grupos principales de organismos mastíticos, por medio de cultivos en diferentes agares. Después de ser incubados a 37°C, durante 24 – 48 horas; los medios de cultivo son examinados para la identificación y selección de los organismos según su aspecto en las placas de cultivo, de acuerdo a su pigmentación, morfología y tamaño, así como su reacción a tinción Gram. Algunas bacterias desdoblán la sangre, para dar un anillo de hemólisis o aclaramiento de la sangre alrededor de las colonias que crecen en la placa de agar; a esto se le conoce como hemólisis.(16)



Sensibilidad y resistencia antibiótica:

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

La resistencia de los microorganismos frente a los antibióticos puede ser natural o intrínseca, mutacional o adquirida. Los mecanismos de resistencia a los agentes antimicrobianos incluyen: producción de enzimas inactivantes, alteraciones en el sitio de acción y modificaciones en el ingreso o el flujo del antibiótico.(16)

Metodo de Kirby Bauer (método de difusión):

Fundamento

En el método de Kirby Bauer, el microorganismo es inoculado en la superficie de una placa de agar, sobre el cual se colocan discos impregnados con una concentración conocida del antibiótico. Las placas se incuban por 16-18 horas a 35- 37°C. Durante la incubación, el antibiótico difunde radialmente desde el disco a través del agar, por lo que su concentración va disminuyendo a medida que se aleja del disco. En un punto determinado, la concentración del antibiótico en el medio es incapaz de inhibir al germen en estudio. El diámetro del área de inhibición alrededor del disco puede ser convertido a las categorías de sensible, intermedio o resistente (S, I, o R) de acuerdo a tablas publicadas por los organismos encargados del control de tales métodos.

Procedimiento

Para obtener resultados confiables y reproducibles mediante este método, es imprescindible seguir fielmente las instrucciones que daremos a continuación:

1. Fundir el medio de cultivo y dejarlo enfriar a 45-50°C.
2. Verter asépticamente suficiente cantidad de medio de cultivo en una placa de Petri, para obtener una capa de 4 mm de espesor. Para una placa de 10 cm. de diámetro se requieren 30 mL de medio y para una de 15 cm se requieren 70 mL.
3. Dejar solidificar el medio de cultivo y luego secar las placas durante 30 minutos antes de usarlas para la inoculación.



4. Inocular la placa mediante un hisopo estéril utilizando una suspensión del germen de 18 a 24 horas de incubación con una turbidez equivalente a $1,5 \times 10^6$ bacterias (Equivalente al tubo No. 5 de la escala de Mc Farland). Para la inoculación sumergir un hisopo estéril en el cultivo y eliminar el exceso rotándolo firmemente contra la pared interna del tubo. Frotar el hisopo sobre la superficie del medio de cultivo.
5. Repetir esta operación por tres veces sucesivas, rotando la placa para obtener una dispersión uniforme del inóculo en toda la superficie.
6. Colocar la tapa a la placa y dejar secar el inóculo por 3 a 5 minutos.
7. Colocar los discos con los antibióticos sobre el agar mediante pinzas estériles o usando un aplicador de discos. Oprimir los discos suavemente con una pinza para asegurar un buen contacto con el medio de cultivo. Los discos deben estar espaciados de manera que su distancia a la pared de la placa sea de 15 mm y entre ellos de 30 mm.
8. Incubar a $35 - 37^{\circ}\text{C}$ hasta el siguiente día (aproximadamente 18-19 horas). Si se requieren los resultados con rapidez se puede leer las zonas de inhibición después de 6-8 horas de incubación, pero estos resultados deben ser confirmados mediante una nueva lectura después de la incubación por las 18 -19 horas.
9. La medida del diámetro de la zona de inhibición se hace preferentemente desde el exterior de la placa, sin quitar la tapa, esto puede hacerse con una regla milimetrada, un vernier o cualquier otro instrumento similar.(17)

Terapia antimicrobiana:

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

Dado que no se puede predecir la susceptibilidad de los agentes, es necesario estudiar la sensibilidad de cada microorganismo a diferentes fármacos, pudiendo elegir así el fármaco más apropiado contra el patógeno, el menos tóxico para el huésped y el más económico.(1)



Antibiótico:

Cuando se intente tratar un caso de mastitis se deben tener en cuenta tres aspectos fundamentales: eficiencia, costo - beneficio y residuos de fármaco en leche. Muchos autores recomiendan que el momento ideal para tratar la mastitis subclínica es al final de la lactancia, este tratamiento, llamado comúnmente "de vaca seca", no sólo cura un alto porcentaje de las 54 infecciones presentes en el momento del secado, sino también previene la presentación de nuevas infecciones durante el período seco.

Tiene una cura más alta que cuando se trata durante la lactación, el tejido dañado puede regenerarse antes de que vuelva a producir, disminuyen los casos de enfermedad durante la lactación y no hay pérdidas por el tiempo de retiro ni la leche vendible está contaminada con residuos de antibióticos. El tratamiento de una mastitis por vía parenteral es una opción que debe considerarse en todos aquellos casos donde exista una reacción sistemática notable, en mastitis clínicas y en situaciones donde la glándula mamaria está muy inflamada y las infusiones intramamarias no puedan difundirse a todas las partes del tejido glandular.(18)

Prevención:

Son varios los factores que intervienen en la prevalencia de la enfermedad en los hatos lecheros, por lo que los métodos de control deberán de ir dirigidos a cada uno de esos factores. Desde luego, los programas de alimentación son vitales ya que la eficiencia fisiológica dará una mayor resistencia, debiendo de considerarse en forma muy particular, el suplementario con minerales y vitaminas de alta absorción y alta calidad. (23)

Un buen manejo como la higiene en corrales y sala de ordeño son muy importantes ya que, a menor nivel de higiene, mayor riesgo de infección, mientras que un buen manejo reduce drásticamente el uso de antimicrobianos; por lo tanto, una explotación no pierde, porque no hay animales enfermos ni tiempo de retiro. (23)

El bañar al ganado suele ser perjudicial ya que un exceso de agua desde la parte alta del cuerpo arrastrará mayor cantidad de tierra y detritus hacia la zona de la ubre, aumentando el riesgo de contraer infecciones. Por ello una buena higiene de la ubre, buen secado con toallas individuales y la implementación de sellado con elementos inocuos para la ubre, como el yodo, son suficientes. (23)



Es recomendable realizar una vez al mes pruebas diagnósticas como California y/o Wisconsin para conocer el nivel de infección del hato. Esto nos indicará la etiología presente y nos ayudará a establecer un programa terapéutico adecuado sin el uso de antimicrobianos en forma indiscriminada. (23)

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

Deben realizarse chequeos periódicos del equipo de ordeño por lo menos cada 6 meses y realizar diariamente una correcta limpieza e higiene del equipo de ordeño. Para evitar la diseminación de la enfermedad se recomienda dejar a las vacas enfermas de último para el ordeño y no dejar que los becerros mamen de esa leche. La vacunación contra mastitis causada por *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* ha sido implementada en varios países; aunque todavía está siendo estudiada, las primeras experiencias han dado resultados en su mayoría positivos, los casos de mastitis aguda han disminuido y el número de células somáticas ha reducido.(19)

Importancia económica:

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

Primarios:

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

Secundarios:

1. Drástica disminución en la producción lechera en vacas afectadas. A Pesar de esto, el consumo alimenticio sigue siendo el mismo; por lo tanto, el equilibrio costo-beneficio se ve afectado.



2. Penalización por alto conteo de células somáticas y bacterias en leche.

3. Residuos de antibióticos o químicos en leche por tratamiento de la ubre.

4. El consumidor exige que la leche provenga de animales sanos. Para la industria de lácteos son muy significativas las transformaciones causadas a la leche por la mastitis, y que el tiempo de cuajado aumenta, en el caso de producción de queso, y, la cantidad y calidad de queso disminuye considerablemente (menos grasa y menos proteína).

5. Pérdida de cuartos mamarios en infecciones severas o crónicas y descarte de vacas al rastro. Además, es importante mencionar, que el consumir leche contaminada con microorganismos puede ser perjudicial para la salud humana. Asimismo, la mastitis subclínica es difícil de detectar, por la naturaleza oculta de la enfermedad, y, predispone la aparición de mastitis clínica. La mayoría de las pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis se deben a infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* o *Escherichia coli*.(20)

Definición de términos:

Mastitis: La mastitis, o la inflamación de la glándula mamaria, es la enfermedad más común y costosa del ganado lechero en la mayor parte del mundo. (21)

- Mastitis subclínica: En la mastitis subclínica no se manifiestan síntomas visibles y solamente se puede confirmar la condición de la ubre mediante pruebas específicas para determinar la presencia de patógenos, productos metabólicos de desecho (toxinas y la concentración de células somáticas).(22)

- Patógenos: Los patógenos son agentes (virus, bacterias u otros) que pueden causar enfermedad. (23)

- California mastitis test: Uno de los mejores caminos para detectar el índice de mastitis es el CMT - California Mastitis Test. (24)

- Antibiótico: Que destruye la materia viva; concretamente se aplica a la sustancia química producida por un ser vivo o fabricada por síntesis, capaz de paralizar el desarrollo de ciertos microorganismos patógenos, por su acción bacteriostática, o de causar la muerte de ellos, por su acción bactericida. (29)



- **Inflamación:** Alteración patológica en una parte cualquiera del organismo, caracterizada por trastornos de la circulación de la sangre y, frecuentemente, por aumento de calor, enrojecimiento, hinchazón y dolor. (29)



Variables

| Nombre | Clasificación basada en su asociación | Clasificación basada en su naturaleza | Definición | Indicador | Valores |
|--|---------------------------------------|---------------------------------------|---|---|---|
| Sexo | dependiente | Nominal dicotómico | La mastitis subclínica se da más en hembras, ya que es una inflamación de las glándulas mamarias. | <ul style="list-style-type: none"> • Preguntarle al dueño el sexo del animal. • Inspección del animal. | <ul style="list-style-type: none"> • Hembra. • Macho. |
| Bacteria | Dependiente | Nominal politómico | La mastitis subclínica es principalmente causada por las bacterias. | <ul style="list-style-type: none"> • CMT | Bacterias: <ul style="list-style-type: none"> • Gram+ • Gram- • Aerobias • Anaerobias |
| Litros de leche | Independiente | Razón Discreta | La mastitis subclínica es la principal causante de la disminución de leche por lactancia | <ul style="list-style-type: none"> • Pesar cuantos litros de leche produce cada vaca. | <ul style="list-style-type: none"> • 1.6 litros • 4.9 litros • 10 litros |
| Agentes patógenos causantes de mastitis subclínica | Dependiente | Nominal politómico | La mastitis subclínica puede ser provocada por diferentes agentes patógenos | <ul style="list-style-type: none"> • Realizando pruebas para identificar el tipo de patógeno que está provocando la mastitis | <ul style="list-style-type: none"> • Agentes virales. • Agentes fúngicos • Agentes bacterianos |
| Resistencia de agentes antibacterianos | independiente | Nominal politómico | Ver la resistencia que tienen los agentes bacterianos a antibacterianos es de suma importancia para saber el antibiótico al que las bacterias son resistentes | <ul style="list-style-type: none"> • Pruebas de antibiograma de discos | <ul style="list-style-type: none"> • Resistencia a penicilinas. • Resistencia a tetraciclina. • Resistencia a cefalosporina. |

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.

Tipo de estudio

El tipo de estudio a realizó es un estudio descriptivo de corte trasversal. Descriptivo ya que nos permite identificar casos de enfermedad, estimar su frecuencia y examinar tendencias de la población. Corte transversal se determinó la presencia de la enfermedad mediante una recolección de datos de los animales a muestreados mediante un solo muestreo, por tanto, no existirá secuencia temporal.

Área del estudio.

El presente estudio se realizó en el municipio de San Sebastián de Yali Jinotega.

Coordenadas geográficas: 13°18'00"N 86°11'00"O.

Temperatura: Entre 18°- 31°C invierno-verano

Con una altura sobre el nivel del mar de 855m

Periodo de estudio.

El estudio se realizó en el periodo de abril a mayo del año 2023.

Población

La población es las vacas de ordeño de 3 fincas productoras de leche al municipio en las cuales la primera posee 30 vacas, la segunda 40 vacas y la tercera 34 vacas teniendo en total una población de 104 vacas paridas de ordeño. De las cuales 53 fueron las que cumplieron los criterios de inclusión del estudio y a las que se les realizó técnica diagnóstica (CMT).

Calcule el tamaño de la muestra

No se realizó un cálculo de tamaño de muestra ya que se muestrearán todas las vacas en ordeño de las 3 fincas.

Tipo de muestreo

Muestreo no probabilístico. Muestreo deliberado, critico o por juicio.

Criterios de inclusión.

- Vacas que no hayan sido tratadas con antibióticos.



- Vacas con más de un mes de ordeño.
- Vacas con más de 3 partos.
- Vacas que produzcan más de 5 litros de leche diaria.

Criterios de exclusión.

- Vacas con más de 6 partos.
- Vacas que tengan menos de un mes de ordeño.
- Vacas con baja producción de leche(1-3lts).
- Que el dueño no quiera participar.
- Vacas de primer o segundo parto.
- Vacas con ubres laceradas.

Consideraciones éticas.

El consentimiento del propietario para la participación de su animal, respetar el bienestar animal, intentando no provocar estrés en la manipulación al momento de realizar muestreo o técnicas de diagnóstico, no lastimar o provocar dolor en los animales si estos están lastimados.

Unidad de análisis.

Cada una de las muestras de leche de todas las vacas seleccionadas.

Procedimiento a realizar el CMT:

Después de lavar y desinfectar correctamente las ubres de la vaca, al momento de realizar el ordeño, se descartaron los primeros chorros de leche de cada cuarto de la ubre, más que todo para limpiar el conducto; luego se agregará de 3-4ml de leche directamente de cada cuarto a cada pocillo de la raqueta, se agregará 3-4ml del reactivo a cada pocillo, se mezcló lentamente en forma circular para mezclar correctamente el reactivo y la leche. Luego de unos segundos de mezclar se observó la raqueta para notar si hay formación de un gel, en el cual se determinará cuáles son los casos graves o leves de mastitis sub clínica, o cual de los cuartos de la vaca está siendo más afectado.

Interpretación del CMT:

La interpretación de la prueba la analizo en negativo, traza, 1 Cruz, 2 Cruces y 3 cruces.

| Interpretación | Reacción | #Célula/ml |
|----------------|-----------------------|---------------|
| Negativo | Sin precipitación. | <200000 |
| Traza | Leve precipitación. | 150000-500000 |
| + | Sin formación de gel. | 400000-1.5M |



| | | |
|-----|-------------------|-----------|
| ++ | Mezcla espesa. | 800000-5M |
| +++ | Formación de gel. | >5M |

Negativo: No hay ningún tipo de precipitación, ni la formación de grumos y gel.

Traza: Hay una leve precipitación, pero no hay presencia de grumos, ni sustancia gelatinosa o viscosa.

1 Cruz: No hay formación de gel, se nota una precipitación y aumenta su espesor.

2 Cruces: Se observa una sustancia espesa de una alta consistencia que le es difícil despegarse de la raqueta.

3 Cruces: En este valor se observará la formación de un gel que se adhiere a la raqueta y no se despega.

Toma y transporte de muestra.

Lo primero que se realizó fue garantizar la limpieza y desinfección de las ubres de la vaca, lavando con agua, jabón, detergente, cloro para cerciorarnos que las muestras no sean alteradas por contaminación externa.

Usamos el equipo adecuado para realizar la toma de la muestra, el Mastitis California Test (CMT), la raqueta y los recipientes estériles (Tubos de ensayo) para la toma de la muestra.

Una vez que en los recipientes (tubos de ensayo) se haya colocado cantidades de leche iguales en cada uno de ellos, se inmovilizarán en la gradilla de los tubos para su transporte, estos deberán mantenerse a una temperatura fría en un termo para vacuna y posteriormente se remitieron al laboratorio para su debido cultivo, esto en un periodo menor de 24 horas.

Análisis de laboratorio:

Una vez que las muestras de leche positivas a la prueba del CMT estén en el laboratorio, se procedió a realizar un cultivo bacteriano de cada una de ellas. Se identificaron las bacterias presentes en la leche reactor mediante el microscopio, y posteriormente realizamos nuevamente un cultivo de sensibilidad bacteriana (antibiograma), definiendo la actividad *in vitro* de los antibióticos frente a las bacterias determinadas y su capacidad de inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana. Esto con el fin de identificar a que antibiótico son resistentes las bacterias.



Cultivo bacteriano:

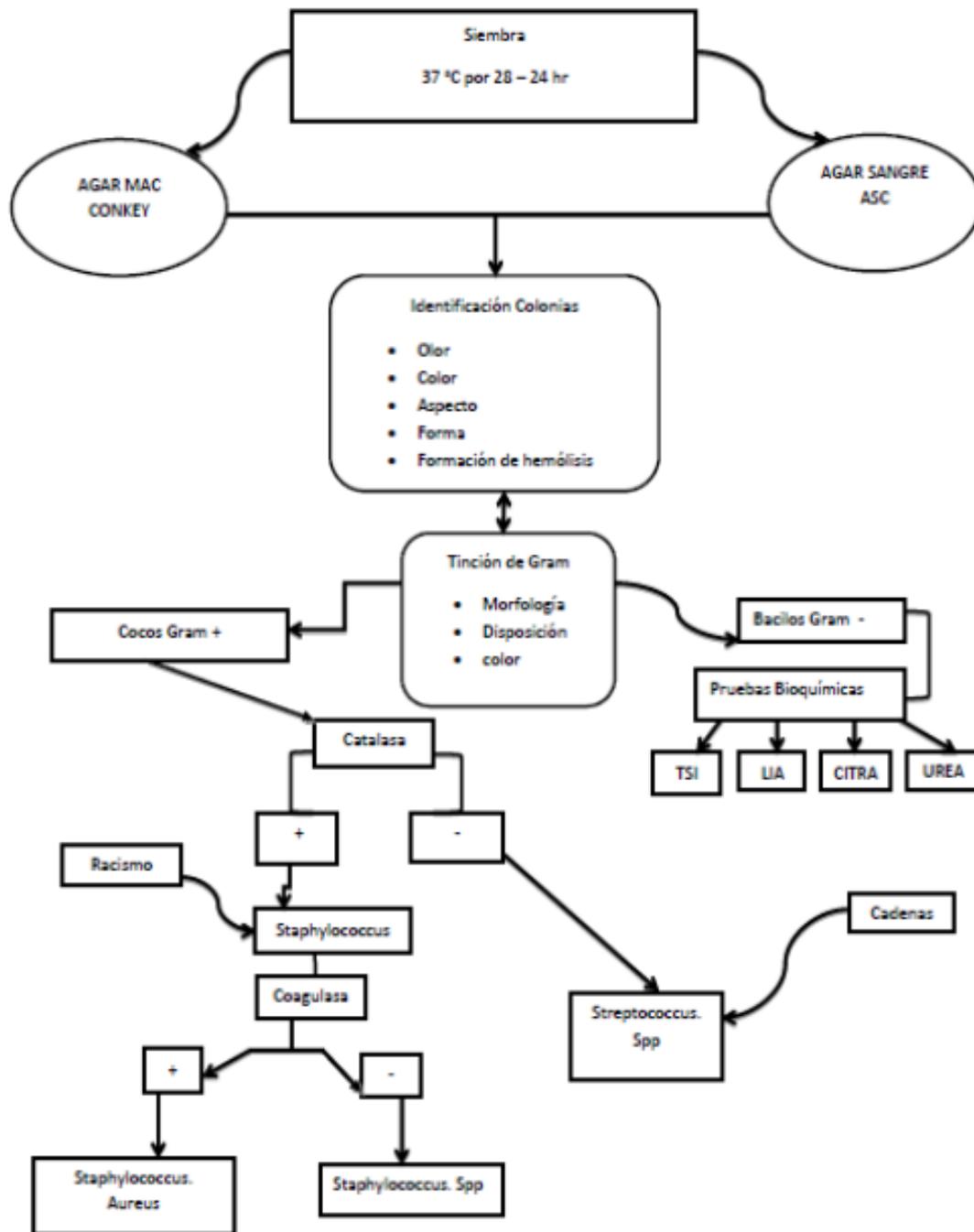
De cada una de las muestras positivas identificadas en el CTM, se realizó su respectivo cultivo bacteriano, para realizar dicho cultivo se inocularon parte de la muestra recopilada en los tubos de ensayo en un agar sangre para posteriormente llevar las placas inoculadas a una incubadora a 37°C por 48 horas, y una vez pasado el tiempo se procedió a la observación macroscópica de la colonia y su conteo.

Identificación bacteriana:

Una vez observadas las colonias, se procedió a utilizar tinción de Gram para la identificación de las bacterias y su morfología, esto con el fin de aislar la bacteria de mayor incidencia en la placa. Se recolectó una muestra del cultivo y se aplicó una gota de solución salina en el porta objeto y se realizó un extendido en espiral, dejando secar a temperatura ambiente y luego se fijó flameando el porta objeto 3 veces, se agregó el azul de metileno y se esperó un minuto, la tinción dejó de color morado las bacterias Gram positivas; se enjuagó con agua, después de un minuto se agregó yodo y se enjuagó nuevamente para agregar alcohol esperar 30 segundos y enjuagando una vez más y se le agregó safranina, este colorante dejó de color rosado las bacterias Gram negativas.

Aislación bacteriana

Se inoculó 20 µl de cada muestra en Agar sangre de carnero (ASC) al 5% por rallo convencional, se incubaron a 37 °C por 18-24hrs.





Antibiograma:

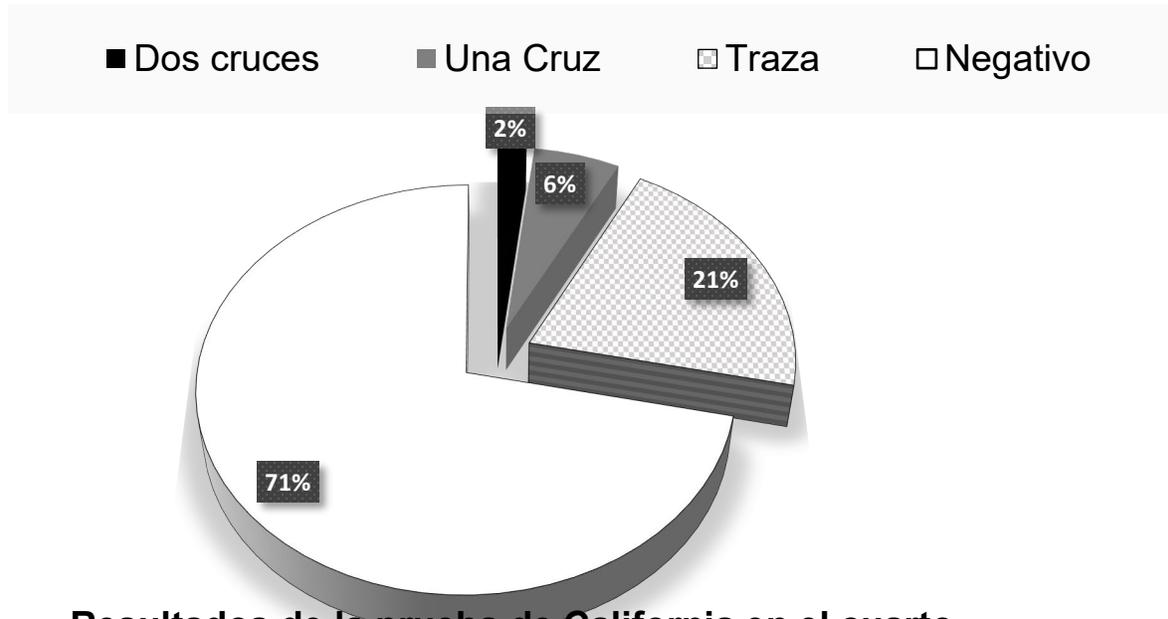
Las bacterias identificadas en la tinción de Gram y las de interés sanitario se inocularán en un medio de cultivo (Müller Hinton), utilizando una asa recta para tomar una muestra de la colonia identificada y realizando las estrías por la superficie de la placa para dejar reposar el inóculo durante 3 a 5 minutos para luego aplicar los discos de prueba de sensibilidad sobre el medio de cultivo, oprimir suavemente los discos con una pinza para asegurarse de un buen contacto sobre el medio de cultivo, para luego incubar a 37°C durante 18 a 24 horas, para su posterior lectura.

Análisis de datos

Los datos se analizaron en el programa (SPSS)

RESULTADOS

El 71,7% (38/53) de los cuartos anterior derecho muestreados tuvieron resultado negativo a la prueba de California, el 21% (11/53) tuvieron como resultado en traza, el 6% (3/53) una cruz y el 2% (1) dos cruces, (Figura 1).



Resultados de la prueba de California en el cuarto anterior derecho

En la comparación de los resultados de la prueba de CMT en el cuarto anterior derecho entre las tres fincas muestreadas se obtuvo como resultado que la finca 1 se encontraron 10 negativos, en la finca 2, 16 negativos y en la finca 3, 12.

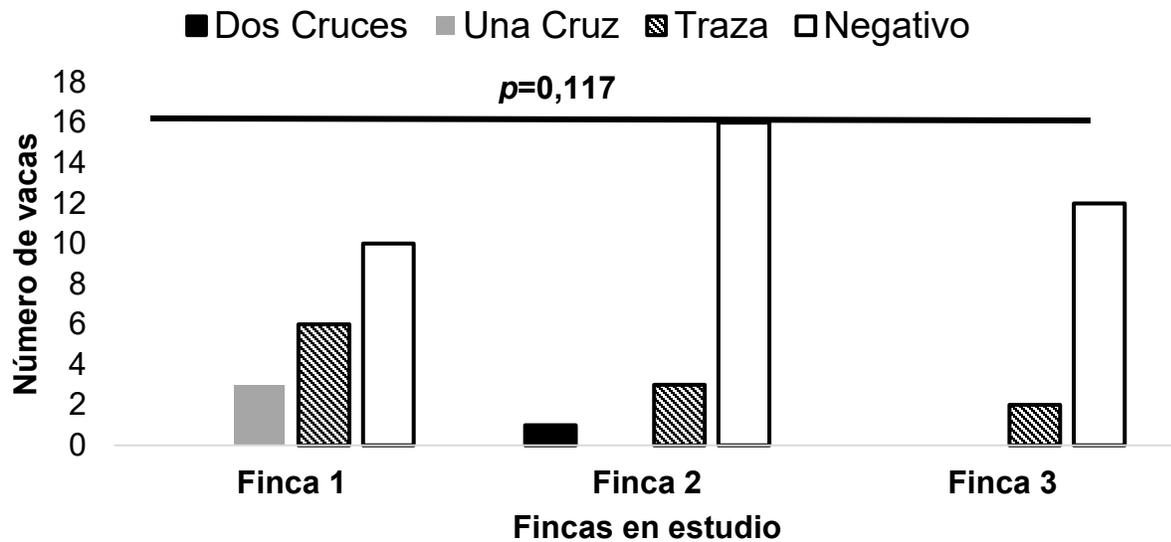
En cuanto a la reacción en traza la finca 1 mostró reacción en 6 positivos en el cuarto anterior derecho, la finca 2 mostro 3 positivos en el mismo cuarto y la finca 3 solo mostro 2 positivos a este cuarto; Mostrando que en la finca 1 hay una mayor incidencia de la enfermedad en este cuarto.

En el cuarto anterior derecho solo la finca 1 mostro 3 casos positivos interpretados en una cruz.



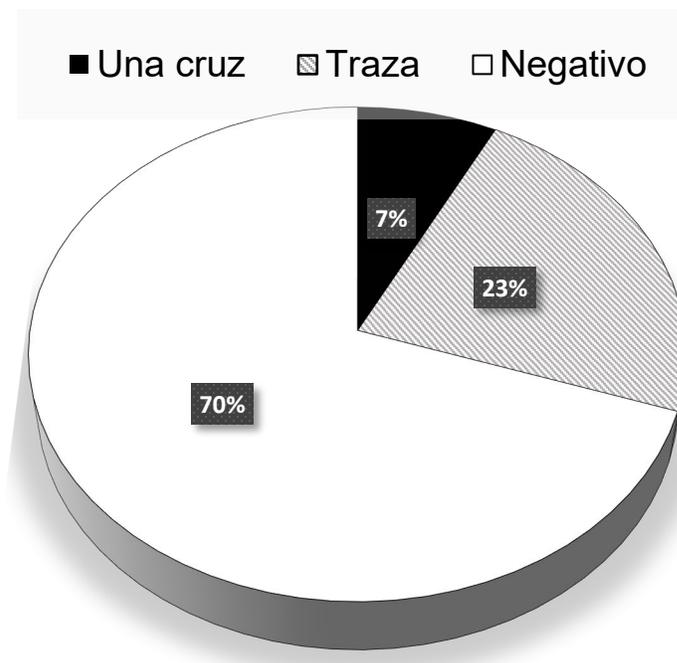
En cuanto a los positivos interpretados en dos cruces en el mismo cuarto, la única finca que presento reacción fue la 2.

La prueba exacta de Fisher reveló un valor de $p=0.117^*$, siendo mayor a $p=0.05^*$, mostrando que no tiene significancia, es decir que no se observó diferencias significativas entre las fincas cuando se comparó el resultado de CMT para el cuarto anterior derecho. (Figura 2).



(Figura 2).
Comparación entre fincas de la prueba de California para el cuarto anterior derecho

El 69,8% (37/53) de los cuartos anteriores izquierdos muestreados tuvieron resultados negativo a la prueba de California, el 22,6% (12/53) tuvieron como resultado en traza, y el 7% (4/53) una cruz, (Figura 3).



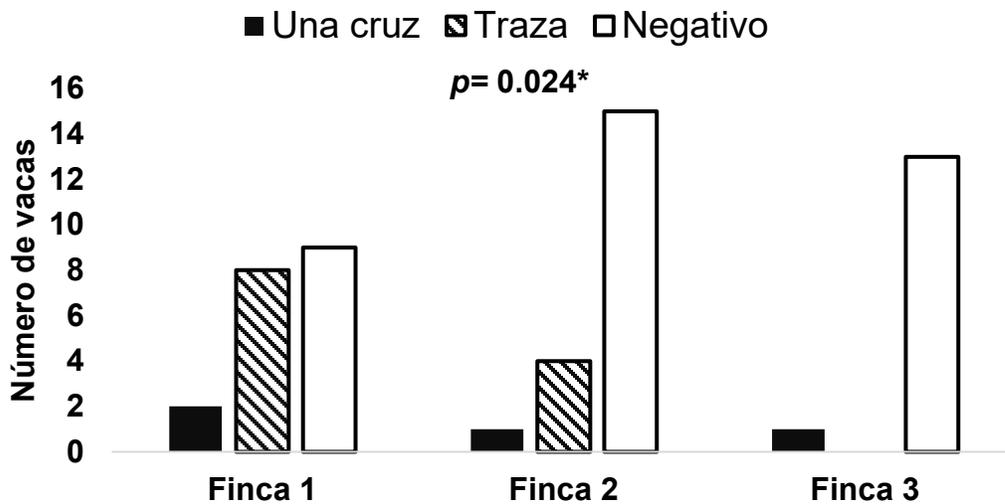
**(Figura 3).
Resultados de la prueba de California en el cuarto anterior izquierdo**

En comparación de los resultados de la prueba de CMT en el cuarto anterior izquierdo entre las tres fincas muestreadas se obtuvo como resultado que la finca 1 se encontraron 9 resultados negativos, en la finca 2, 15 y en la finca 3, 13.

En cuanto a la reacción en traza la finca 1 mostró reacción en 8 positivos, en la finca 2 se encontraron 4 positivos y la finca 3 no hubo ningún cuarto anterior izquierdo que reaccionara en traza.

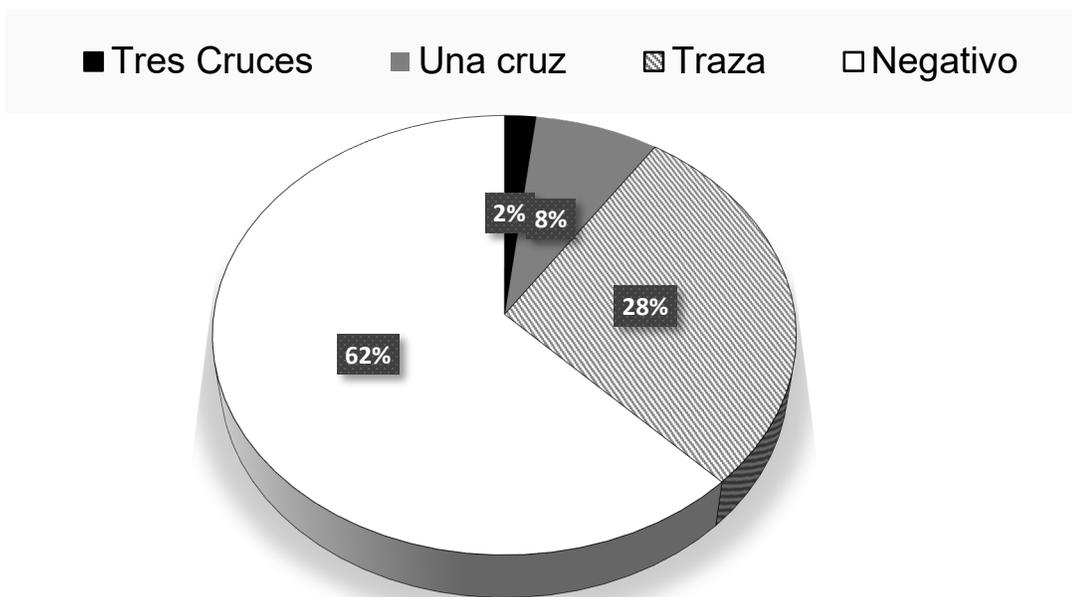
En el cuarto anterior izquierdo la finca 1 se encontraron 2 positivos, la finca 2, 1 positivo y la finca 3 hubo 1 positivos, todos interpretados en una cruz.

La prueba exacta de Fisher reveló un valor de $p=0.024^*$, siendo menor a $p=0.05^*$, mostrando una diferencia significativa entre las medias, por lo tanto, interpretaríamos que en la finca 1 hay mayor incidencia de la enfermedad en este cuarto, (Figura 4).



(Figura 4).
Comparación entre fincas de la prueba de California para el cuarto anterior izquierdo

El 62,3% (33/53) de los cuartos posteriores derechos muestreados tuvieron resultados negativos a la prueba de California, 28,3% (15/53) tuvieron como resultado en traza, el 7,5 (4/53) en una cruz y el 1,9% (1/53) tres cruces, (Figura 5)



(Figura 5).
Resultados de la prueba de California en el cuarto posterior derecho



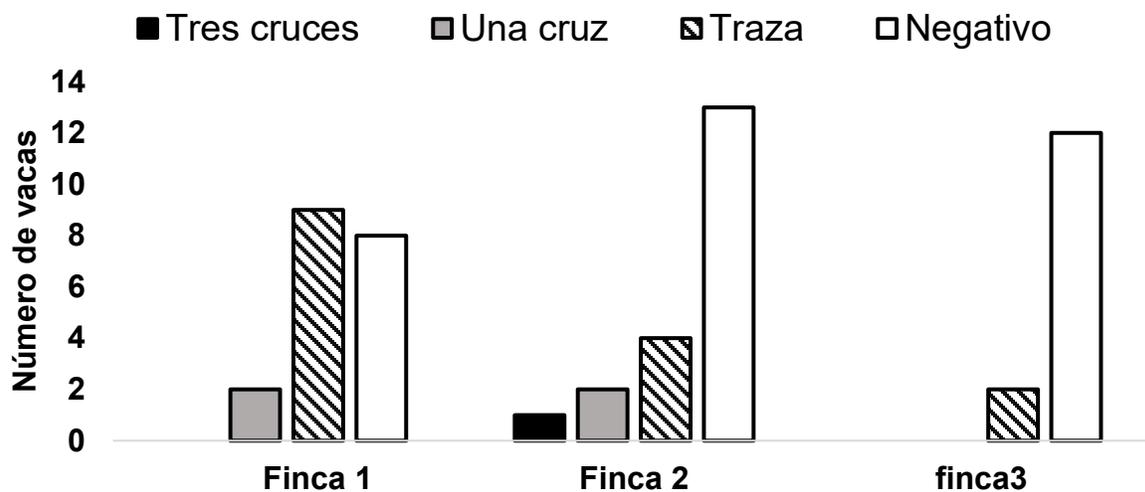
En la comparación de los resultados de la prueba de CMT en el cuarto posterior derecho entre las tres fincas muestreadas se obtuvo como resultado que la finca 1 se encontraron 8 negativos, en la finca 2, 13 negativos y en la finca 3, 12 negativos.

En cuanto a la reacción en traza la finca 1 hubo 9 positivos, en la finca 2 hubo 4 positivos y la finca 3 hubo 2; mostrando que en la finca 1 hay una mayor incidencia de la enfermedad en este cuarto.

En cuanto a los casos positivos interpretados como una cruz, en la finca 1 hubo 2 positivos, en la finca 2 hubo 2 casos positivo y en la finca 3 no hubo casos positivos en cuanto a este cuarto.

Los casos positivos interpretados en tres cruces solo en la finca 2 hubo 1 caso.

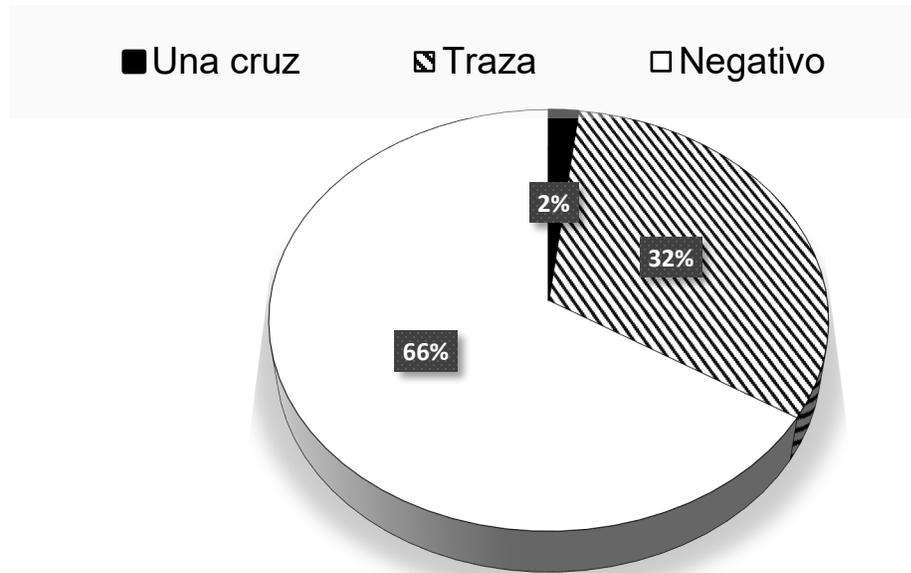
La prueba exacta de Fisher reveló un valor de $p= 0.103$ siendo mayor a $p=0.05$ este no tiene significancia, es decir que no se observó diferencias significativas entre las fincas cuando se comparó el resultado de CMT para el cuarto posterior derecho. (Figura6).



(Figura 6).
Comparación entre fincas de la prueba de California para el cuarto posterior derecho



El 66% (35/53) de los cuartos posterior izquierdos muestreados tuvieron resultado negativo a la prueba de California, el 32,1% (17/53) tuvieron como resultado en traza y el 1,9% (1/53) en una cruz, (Figura 7).



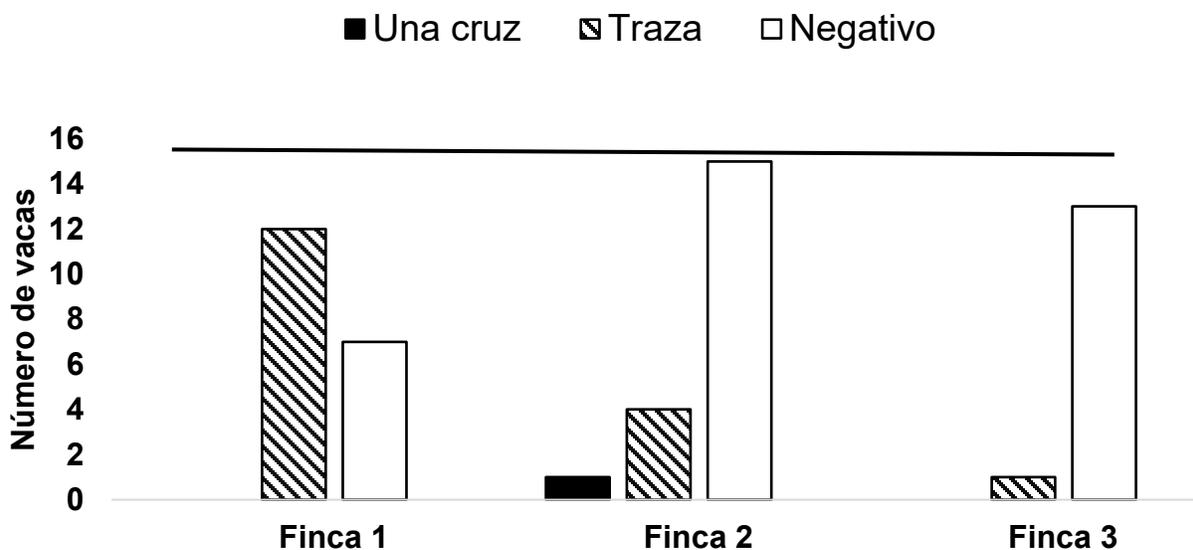
**(Figura 7).
Resultados de la prueba de California en el cuarto posterior izquierdo**

En la comparación de los resultados de la prueba de CMT en el cuarto posterior izquierdo entre las tres fincas muestreadas se obtuvo como resultado que la finca 1 se encontraron 7 negativos, en la finca 2, 15 negativos y en la finca 3, 13 negativos.

En cuanto a la reacción en traza en la finca 1 hubo 12 positivos en el cuarto posterior izquierdo, en la finca 2 hubo 4 positivos y en la finca 3 hubo 1 positivo.

En el cuarto posterior izquierdo solo la finca 2 presento 1 positivo interpretado en una cruz.

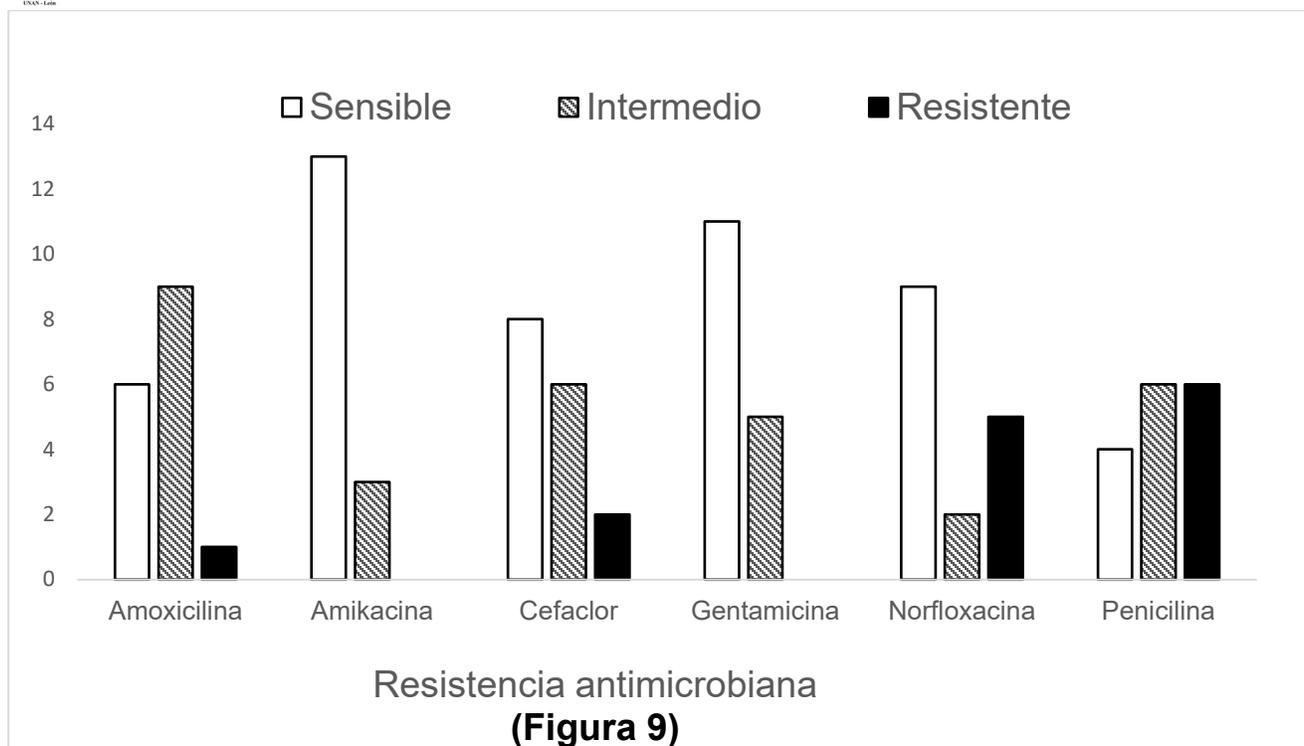
La prueba exacta de Fisher revelo un valor de $p=0.002^*$ al ser menor a $p=0.05^*$, mostrando una diferencia significativa entre las medias, por lo tanto, interpretaríamos que en la finca 1 hay mayor incidencia de la enfermedad en este cuarto, (Figura 8).



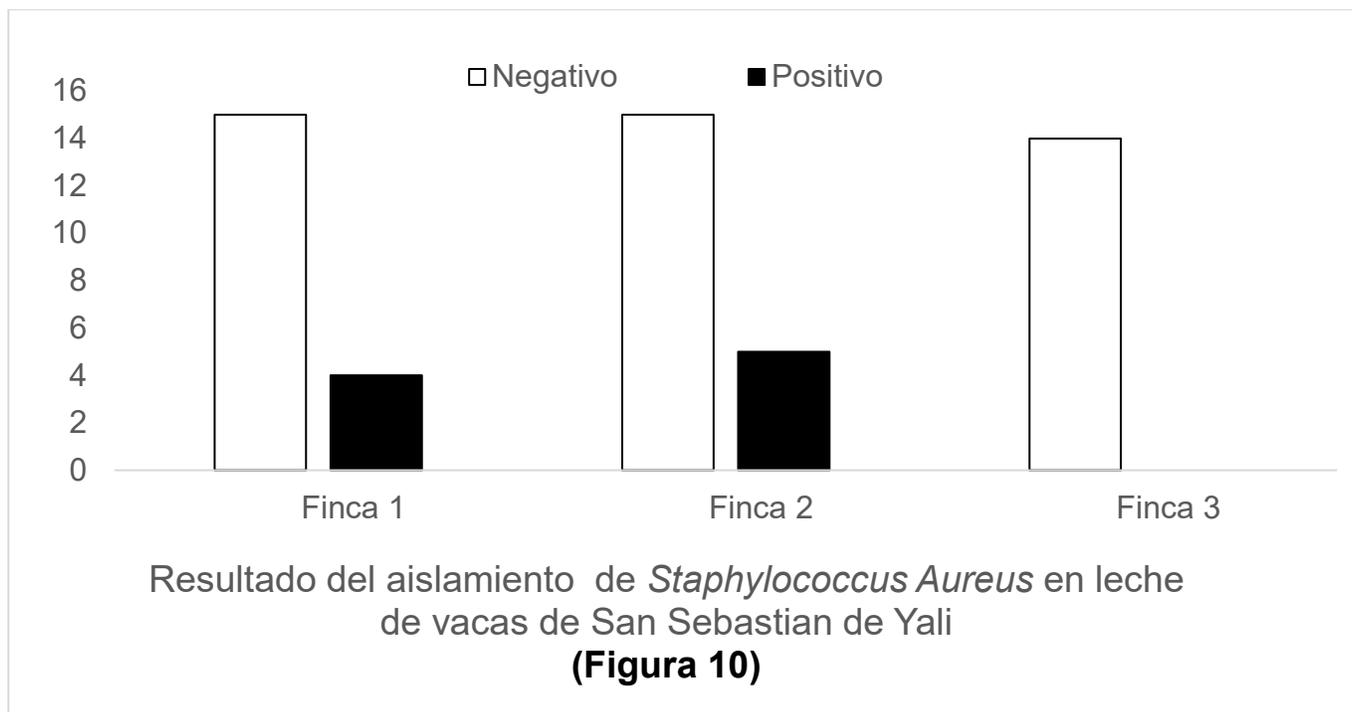
(Figura 8).

Comparación entre fincas de la prueba de California para el cuarto posterior izquierdo

De los resultados obtenidos de los 16 antibiogramas realizados, a partir de cepas aisladas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa* negativo, amoxicilina 6 presentaron sensibilidad, 9 tuvieron resultado intermedio y 1 fue resistente, Amikacina presentó sensibilidad en 13 casos, intermedio 3 y no mostró resistencia en ninguno de los casos, cefaclor presentó sensibilidad en 8 de los casos, intermedio 6 y demostró resistencia en 2 de los casos, gentamicina presentó sensibilidad en 11 de los casos, intermedio 5 y no mostró resistencia, norfloxacin presentó sensibilidad en 9 de los casos, 2 casos intermedios y mostró resistencia en 5 de los casos, por último penicilina mostró sensibilidad en 4 de los casos, intermedio 6 y presentó resistencia en 6 casos, (Figura 9).

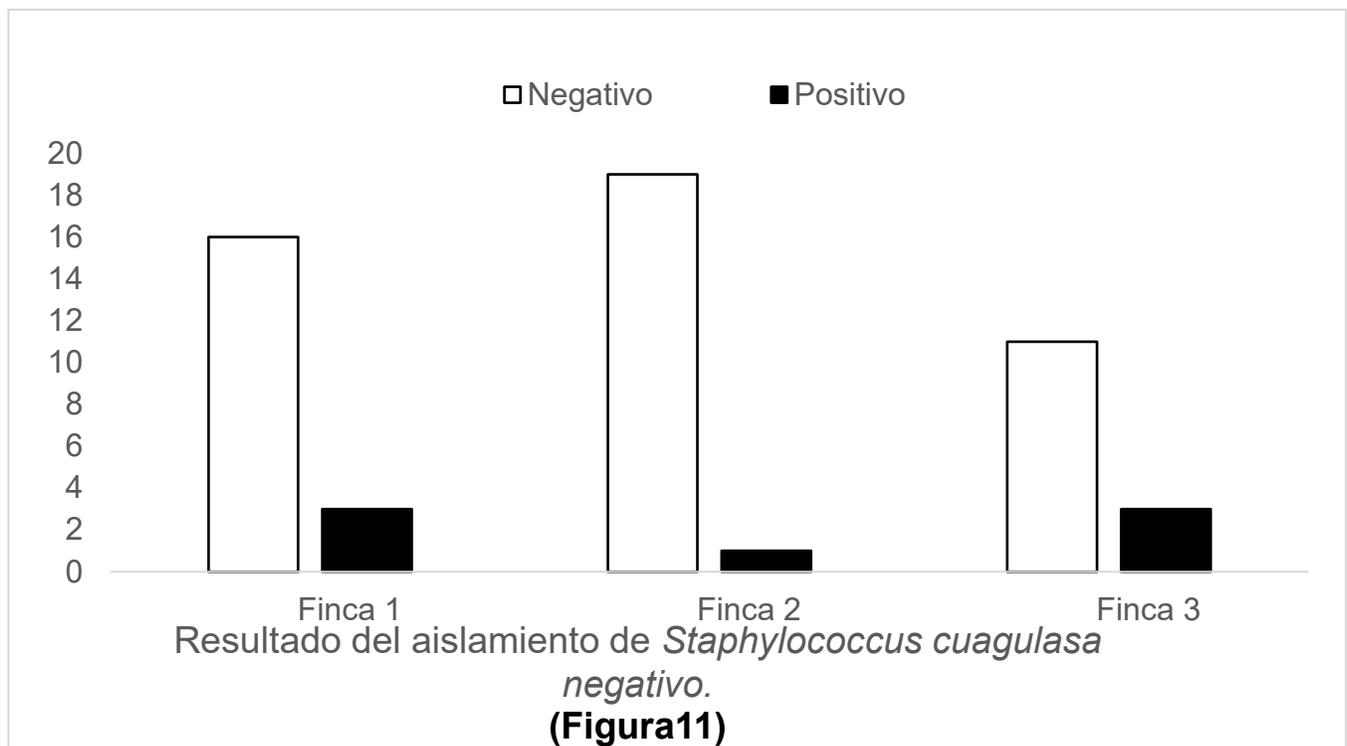


Del resultado del aislamiento de *Staphylococcus aureus* en leche de vaca con mastitis subclínica de San Sebastián de Yalí solamente la finca 1 presentó 4 casos positivos a esta bacteria, la finca 2 presentó 5 casos positivos en cambio la finca 3 no presentó crecimiento de esta bacteria en su respectivo cultivo microbiano, (Figura 10).

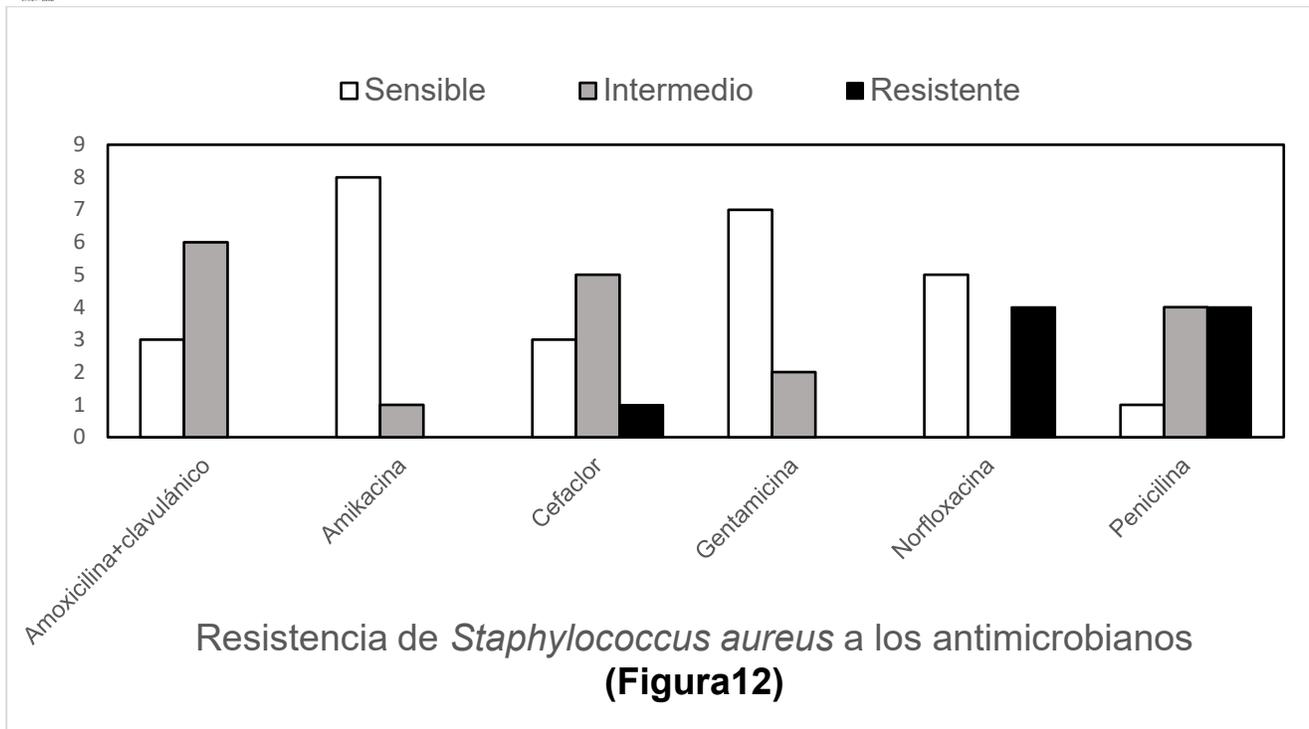




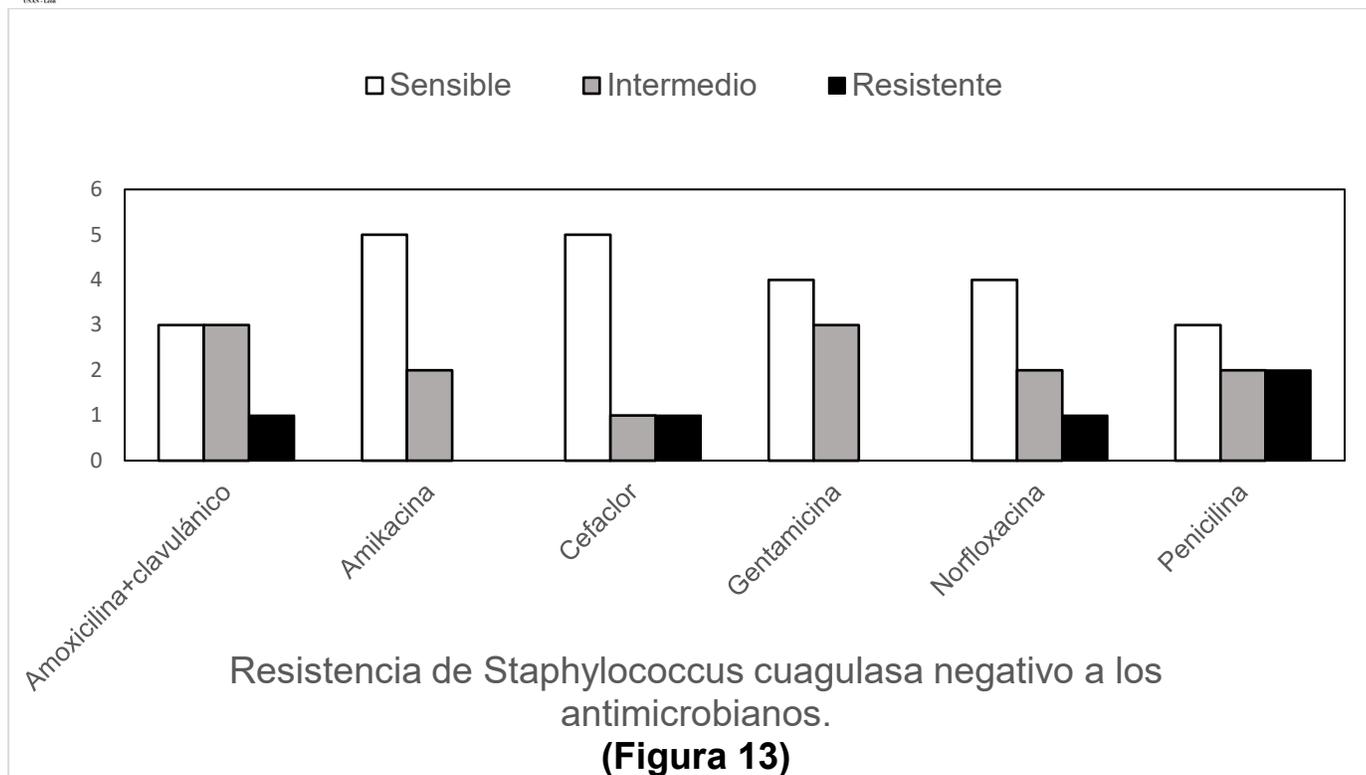
De los resultados obtenidos de los aislamientos de *Staphylococcus coagulasa* negativo en la leche de vaca con mastitis subclínica del municipio de San Sebastián de Yalí, la finca 1 presento 3 casos positivos, la finca 2, 1 caso positivo y la finca 3, 3 casos positivos a *Staphylococcus coagulasa* negativo, (Figura 11).



De los 9 casos positivos a *Staphylococcus aureus*, la eficiencia de los 6 antimicrobianos utilizados fue, amoxicilina presentó sensibilidad en 3 de los casos, intermedio fueron 6 y no presentó resistencia en ninguno de los casos ante esta bacteria, la amikacina presento sensibilidad en 8 de los casos, e intermedio solo 1 caso y al igual que el anterior antimicrobiano no presentó resistencia, el ceflacor presentó sensibilidad en 3 de los casos, 5 fueron intermedios y solo 1 de los casos mostró resistencia, gentamicina presentó sensibilidad en 7 de los casos, intermedio fueron 2 casos y no presentó resistencia, norfloxacina presentó sensibilidad en 5 de los casos y mostró resistencia en 4 de los casos, penicilina presentó sensibilidad en 1 de los casos, 4 casos intermedios y presentó resistencia en los otros 4 casos. (Figura 12).

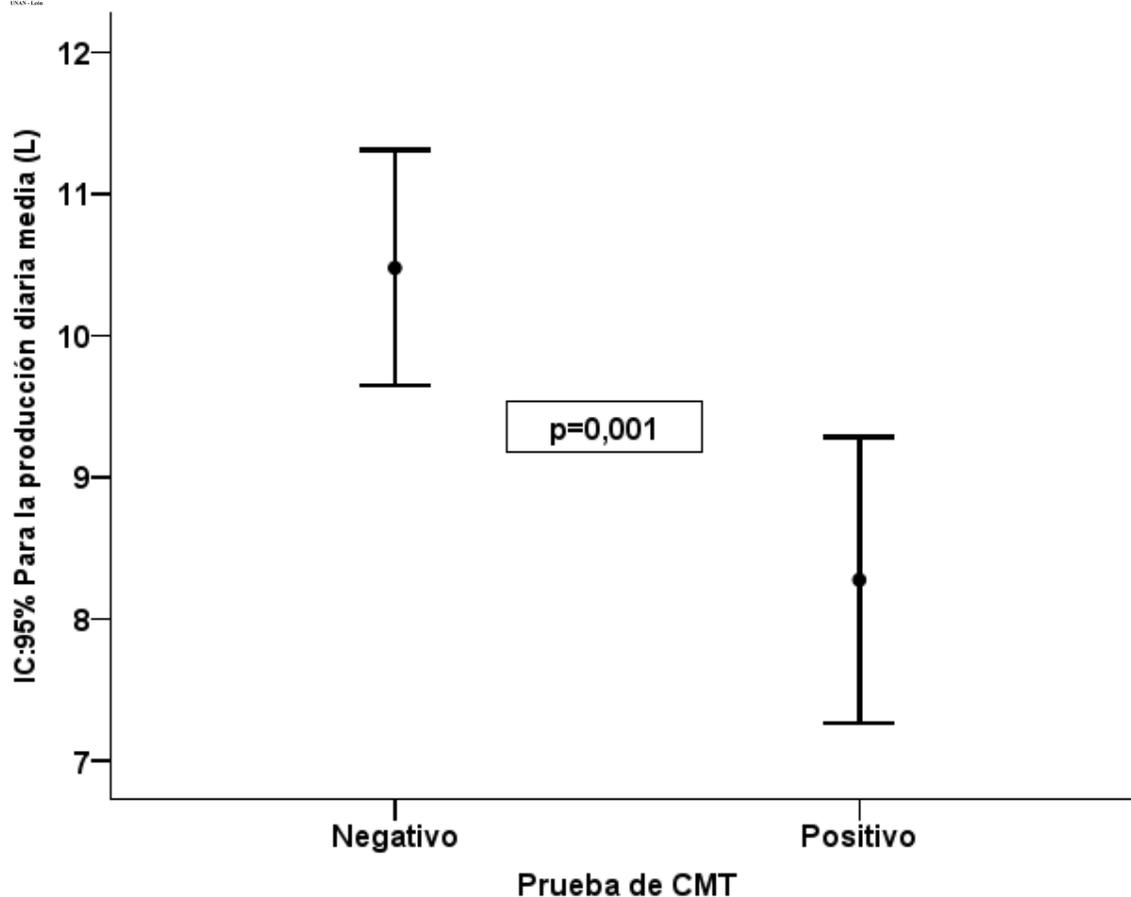


De los 7 casos positivos a *Staphylococcus coagulasa* negativo, la eficiencia de los 6 antimicrobianos utilizados fue, amoxicilina presentó sensibilidad en 3 de los casos, intermedio 3 y resistencia en 1 de los casos, amikacina presentó sensibilidad en 5 de los casos, intermedio 2 y no presentó resistencia en ninguno de los casos, cefaclor mostró sensibilidad en 5 de los casos, intermedio 1 y presentó resistencia en 1 de los casos, gentamicina presentó sensibilidad en 4 de los casos, intermedio 3 y no presentó resistencia en ninguno de los casos, norfloxacin presentó sensibilidad en 4 de los casos, intermedio 2 y resistencia en 1 de los casos y penicilina mostró sensibilidad en 3 de los casos, intermedio 2 y mostró resistencia en 2 de los casos, (Figura 13).



La comparación de la producción diaria media de leche de acuerdo con el resultado del CMT reveló que las vacas negativas producen una mayor cantidad de leche con un promedio diario de 10,47 L/día, comparado con una producción de 8,28 L/día en las vacas con un resultado positivo en el CMT. La prueba T de Students reveló un valor $p=0,001$.

En la figura 10 podemos observar que la producción de leche es mayor significativamente en las vacas negativas a la prueba de california, en comparación a las vacas positivas a la prueba de california, ya que el valor de $p= 0,001^*$ es menor a $p: 0,005^*$, (Figura 14).



Producción diaria en vacas según el resultado de la prueba de California

(Figura 14).

En el siguiente grafico podemos observar que las vacas de los casos negativos producen más leche que las vacas de los casos positivas, lo cual podría deberse a que las vacas positivas a mastitis subclínica, podrían tener afectado el tejido mamario funcional y por tanto presentar una reducción en el volumen de leche producida. Sin embargo, también podría deberse a un efecto de concentración en el volumen de leche, lo cual a menor volumen de leche mayor concentración de células somáticas y no por efecto directo de mastitis subclínica.



DISCUSIÓN

En la investigación realizada en el municipio de San Sebastián de Yalí, en la cual se muestrearon 3 fincas se logró observar que el mayor porcentaje de cuartos positivos al CMT fueron los cuartos del lado izquierdo con un 55% superando al 45% de los casos positivos de los cuartos del lado derecho. En este sentido, investigaciones previas han encontrado diferencias asociadas a la posición del cuarto de la glándula mamaria y mayor frecuencia de presentación de mastitis subclínica. Tal es el caso de un estudio realizado por Adkinson y colaboradores en 1993, quienes encontraron que los cuartos delanteros tuvieron menos incidencia que los traseros cuando se consideraron todos los episodios y no se observaron diferencias en la incidencia entre los cuartos delanteros y traseros cuando solo se observaron los primeros episodios de mastitis durante la lactancia (36). La diferencia entre la frecuencia de los cuartos afectados entre el estudio de Adkinson y el nuestro, podría deberse al hecho que en ese estudio las vacas eran ordeñadas mecánicamente, mientras que en el nuestro fue de manera manual. El ordeño manual en todas las fincas se realizó por el lado derecho. Los hallazgos hacen plantearse si el hecho de que los cuartos más alejados del ordeñador son sometidos a mayor fuerza al momento del ordeño y eso podría ser un factor que incremente el riesgo de presentación de mastitis.

Dentro de los 32.54% de cuartos que mostraron reacción positiva al CMT se obtuvo con mayor frecuencia reacción en traza donde el (79.7%) fueron positivos en traza o reacción leve, el (17.39%) en una cruz o reacción moderada y en menor frecuencia la reacción a tres cruces (1.44%), Ferraro y col. En un estudio realizado en Venezuela en 1999 encontró resultados algo similares donde el porcentaje de una cruz fue de (23.09%) (37). A diferencia del estudio de Guízar en 2008 Michoacán, México donde obtuvo como resultado que la reacción más frecuente fue la de 3 cruces con 11.49%. (38)

En los resultados obtenidos en este estudio se muestra que los principales agentes bacterianos causantes de mastitis subclínica en 3 distintas fincas de San Sebastián de Yalí son *Staphylococcus aureus* y SCN. Esto puede deberse a que los *Staphylococcus spp.* forman parte de la flora natural de la piel y de las mucosas, no como patógenos obligados de la ubre, pero, si son los principales agentes bacterianos involucrados en las mastitis, esto concuerda



con Torrez Calix y Rivera Varela, en el municipio de Achuapa y Larreynaga se encontraron los mismos agentes SCN y *Staphylococcus* como agentes causantes de mastitis subclínica. (39).

En este estudio los resultados obtenidos en el caso de los positivos, a la bacteria *Staphylococcus aureus* con 56.25% (9/16) presentaron mayor resistencia a penicilina 44.4%, lo cual es un dato bastante cercano al descrito por Michael Zschöcky Amr El-Sayed en el año 2010 en Brasil, donde encontraron una resistencia de un 58.8% en 40 cepas de *Staphylococcus aureus*, en un estudio de 530 cepas de distintos de *Staphylococcus*. (40).

Los casos positivos a SCN con un 43.75% (7/16) presentaron mayor resistencia a la penicilina con un 28.57% (2/7).

La resistencia a los antimicrobianos es una problemática, no solo a la salud de las personas, también para el animal, ya que pone en riesgo la eficacia de los tratamientos y la prevención de las distintas infecciones causadas por bacterias, teniendo como resultados antibióticos ineficaces e infecciones que persisten en el organismo de las vacas productoras de leche, así mismo siendo un riesgo de propagación a otras vacas. Esta resistencia supone un riesgo cada vez mayor para la salud pública, ya que la resistencia a los antimicrobianos por el uso indiscriminado o incluso inapropiado en animales de producción, facilita la transmisión de los genes de resistencia específicos para los antibióticos. Según C. Gales y colaboradores en un estudio realizado para programa de vigilancia antimicrobiana SENTRY entre 2008 y 2010 en diversos países. Los *Staphylococcus spp.* Son microorganismos zoonóticos encontrados frecuentemente en bacteremias, infecciones en la piel y tejidos blandos, infecciones de heridas quirúrgicas en el hombre. El uso indiscriminado de antibiótico supone una limitante en la terapia contra infecciones bacterianas y disminuyen las opciones para un tratamiento efectivo. (41).



CONCLUSIÓN

- Se observó que el 39.62% (21/53) de las vacas muestreadas reaccionaron positivo a la prueba de California, de esas 21 muestras positivas el 76.19% (16/21) tuvieron crecimiento bacteriano.
- Las bacterias identificadas en el cultivo fueron *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativo*.
- En los resultados del antibiograma el antibiótico al que más se presentó resistencia fue a la penicilina.
- La mayor frecuencia de las reacciones es en traza o reacción leve con un 79%.
- Se asociar una disminución en la producción diaria de leche cuando mayor es el grado de mastitis subclínica.
- Podemos constatar que los cuartos mayormente afectados en las vacas con mastitis subclínica en las tres fincas estudiadas de San Sebastián de Yalí fueron los cuartos anterior izquierdo y posterior izquierdo con 55% de incidencia.



RECOMENDACIONES

- ❖ Realizar buena profilaxis pre-ordeño y post-ordeño utilizando sustancias antisépticas como detergentes y sustancias yodadas.
- ❖ Se recomienda al productor mantener una adecuada vigilancia sobre la técnica e higiene del ordeño, de igual manera llevar un registro sanitario de los animales con diagnóstico confirmado de mastitis subclínica.
- ❖ Recomendamos realizar pruebas de CMT esporádicamente porque es de fácil manipulación e interpretación para el diagnóstico y seguimiento de las vacas con mastitis subclínica.
- ❖ Implementar la alimentación en el corral para evitar que el animal introduzca microorganismos causantes de mastitis al momento de alimentarse en los potreros o echarse, durante el post-ordeño.
- ❖ Cumplir los esquemas de tratamiento para mastitis subclínico para evitar resistencia a los distintos antibióticos, de igual manera no utilizar penicilina como primera opción de tratamiento.



BIBLIOGRAFIA

1. Hesse IEI. W. Wolter, Castañeda V.H.*, Kloppert B., y Zschoeck M. :68.
2. Ruiz AK, Ponce P, Gomes G, Mota RA, Elizabeth S, Lucena ER, et al. PREVALENCIA DE MASTITIS BOVINA SUBCLÍNICA Y MICROORGANISMOS ASOCIADOS: COMPARACIÓN ENTRE ORDEÑO MANUAL Y MECÁNICO, EN PERNAMBUCO, BRASIL. Rev Salud Anim. abril de 2011;33(1):57-64.
3. Cires Pujol M. La resistencia a los antimicrobianos, un problema mundial. Rev Cuba Med Gen Integral. abril de 2002;18(2):165-8.
4. Engormix [Internet]. [citado 25 de noviembre de 2019]. La mastitis subclínica y su influencia en la producción, calidad y economía lechera y medidas de manejo estratégico para su prevención y control apropiado. Disponible en: <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/mastitis-subclinica-t28995.htm>
5. Rangel AC, Rodríguez VCR, Bernate A, Velilla SM. Prevalência de mastite bovina nos sistemas dupla aptidão no município de Montería, (Colômbia): etiologia infecciosa e susceptibilidade antibacteriana. :10.
6. Mastitis_en_bovinos.pdf [Internet]. [citado 25 de noviembre de 2019]. Disponible en: http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/3023/Mastitis_en_bovinos.pdf?sequence=1
7. Pérez FR. UNIVERSIDAD AGRARIA DE LA HABANA. :116.
8. Tesis Med Vet Luz de M Rodas Alvarado.pdf [Internet]. [citado 25 de noviembre de 2019]. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/1900/1/Tesis%20Med%20Vet%20Luz%20de%20M%20Rodas%20Alvarado.pdf>
9. Zadoks RN, Allore HG, Barkema HW, Sampimon OC, Wellenberg GJ, Gröhn YT, et al. Cow- and quarter-level risk factors for Streptococcus uberis and Staphylococcus aureus mastitis. J Dairy Sci. diciembre de 2001;84(12):2649-63.
10. Mastitis bovina causada por ECN | PortalVeterinaria [Internet]. [citado 25 de noviembre de 2019]. Disponible en: <https://www.portalveterinaria.com/rumiantes/articulos/6414/mastitis-bovina-causada-por-ecn.html>
11. S HA. MASTITIS: PREVENCIÓN Y CONTROL. Rev Investig Vet Perú. 2001;12(2):55-64.
12. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Guia de buenas practicas en explotaciones lecheras. Place of publication not identified: FOOD & AGRICULTURE ORG; 2012.



13. enfermedades_de_la_glandula_mamaria.pdf [Internet]. [citado 25 de noviembre de 2019]. Disponible en:
http://www.ammveb.net/clinica/enfermedades_de_la_glandula_mamaria.pdf
14. tnl73r457.pdf [Internet]. [citado 25 de noviembre de 2019]. Disponible en:
<https://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnl73r457.pdf>
15. Bedolla CC, Castañeda VH, Wolter W. Métodos de detección de la mastitis bovina (Methods of detection of the bovine mastitis). REDVET [Internet]. 2007 [citado 25 de noviembre de 2019]; Disponible en: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012036579>
16. Matsuura S. A, Morales C. S, Calle E. S, Ara G. M. Susceptibilidad a antibacterianos in vitro de Salmonella enterica aislada de cuyes de crianza familiar-comercial en la provincia de Carhuaz, Áncash. Rev Investig Vet Perú. 2010;21(1):93-9.
17. Jaramillo JC, ZuLuaga JJE, Angel MO, López-Herrera AI. Microorganismos aislados en cultivo bacteriológico de muestras de leche de vacas holstein clínicamente sanas. CES Med Vet Zootec. 13(1):31-41.
18. Galicia de León MV. Comparación de la incidencia de mastitis clínica y subclínica en ganado de doble propósito bajo el sistema de ordeño mecánico en la finca San Julián [Internet] [other]. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2004 [citado 25 de noviembre de 2019]. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/7199/>
19. Luis Carlos Reza. Mastitis Bovina Act [Internet]. Empresariales presentado en; 13:56:48 UTC [citado 25 de noviembre de 2019]. Disponible en:
<https://es.slideshare.net/curavacas48/mastitis-bovina-act>
20. MANUAL_DE_BUENAS_PR_CTICAS_PECUARIAS_EN_UNIDADES_DE_PRODUCCI_N_DE_LECHE_....pdf [Internet]. [citado 25 de noviembre de 2019]. Disponible en:
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/316615/MANUAL_DE_BUENAS_PR_CTICAS_PECUARIAS_EN_UNIDADES_DE_PRODUCCI_N_DE_LECHE_....pdf
21. Andresen S. H. MASTITIS: PREVENCIÓN Y CONTROL. Rev Investig Vet Perú. 20 de marzo de 2013;12(2):55-64.
22. 63611952010.pdf [Internet]. [citado 25 de noviembre de 2019]. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/pdf/636/63611952010.pdf>
23. Stanchi - 2007 - Microbiología veterinaria.pdf [Internet]. [citado 26 de noviembre de 2019]. Disponible en: http://www.intermedica.com.ar/media/mconnect_uploadfiles/s/t/stanchi.pdf
24. El test de California para el diagnóstico de las mastitis | El blog de Quesos Caseros [Internet]. [citado 25 de noviembre de 2019]. Disponible en:
<http://www.capraispana.com/el-test-de-california-para-el-diagnostico-de-las-mastitis/>
25. 221121.pdf [Internet]. [citado 21 de septiembre de 2023]. Disponible en:
<http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/5660/1/221121.pdf>



29. Dicciomed: Diccionario médico-biológico, histórico y etimológico [Internet]. [citado 20 de octubre de 2022]. Disponible en: <https://dicciomed.usal.es/palabra/inflamacion>
30. Scaramelli A, González Z. Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina. 2005;
31. Molina VLA, Espinosa APR. INGENIERO AGROPECUARIO. 2008;
32. Martínez-Pacheco, Darío, Cruz-Carrillo, Anastasia, Moreno-Figueroa, Giovanni. Evaluación del estado de resistencia de agentes etiológicos de mastitis clínica y subclínica frente a algunos antimicrobianos utilizados en hembras bovinas del Municipio de Sotaquirá (Boyacá-Colombia). Revista Científica. junio de 2015;XXV, núm. 3.
33. MARIELOS ELIZABETH CANALES HERRERA., ALEJANDRA XIOMARA PERLA RAMÍREZ. Evaluación in vitro de la multiresistencia antimicrobiana de bacterias causantes de mastitis subclínica y mastitis clínica identificadas en vacas en ordeño manual en tres ganaderías del Municipio de Agua Caliente, Chalatenango.
34. Rivera Varela, Maryuri Isabel, Tórrez Cáliz, Marcos Antonio. Resistencia antimicrobiana de bacterias aisladas en leche de vaca con mastitis subclínica, en fincas que abastecen los Centros de Acopio de Achuapa y Larreynaga; septiembre - noviembre 2011. 2012;
35. Berríos Aráuz, Róger Francisco. Estudio epidemiológico de la mastitis subclínica bovina en cuatro hatos lecheros del Departamento de León, e identificación y sensibilidad antimicrobiana in vitro de los agentes etiológicos implicados. 2004;
36. Adkinson RW, Ingawa KH, Blouin DC, Nickerson SC. Distribution of clinical mastitis among quarters of the bovine udder. J Dairy Sci. noviembre de 1993;76(11):3453-9.
37. Ferraro Luciano, Scaramelli Aura, Troya Héctor, Prevalencia de la mastitis subclínica en Venezuela y evaluación de la prueba de mastitis de california (CMT) como prueba diagnóstica. Revista científica, FCV-luz 1999; 9 (2): 81-90
38. Pastor Guízar Figueroa, Juan Ignacio, Determinación de la prevalencia de mastitis bovina en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, mediante la prueba de California. REDVET 2008; 9 (10): 1695-7504



39. Rivera Varela, Maryuri Isabel, Tórriz Cálix, Marcos Antonio. Resistencia antimicrobiana de bacterias aisladas en leche de vaca con mastitis subclínica, en fincas que abastecen los Centros de Acopio de Achuapa y Larreynaga; septiembre - noviembre 2011. 2012;

40. Zschöck M, El-Sayed A, Eissa N, Lämmler C, Castañeda-Vazquez H. Resistencia a penicilina G y oxacilina, de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis bovina subclínica. *Vet México* [Internet]. septiembre de 2011 [citado 21 de septiembre de 2023];42(3):207-17. Disponible en:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0301-50922011000300002&lng=es&nrm=iso&tlng=es

41. Gales AC, Castanheira M, Jones RN, Sader HS. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli isolated from Latin America: results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (Latin America, 2008–2010). *Diagn Microbiol Infect Dis* [Internet]. 1 de agosto de 2012 [citado 22 de septiembre de 2023];73(4):354-60. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0732889312001563>