

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA**

**UNAN- LEON**

**ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**TRABAJO DE TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE LICENCIADO EN  
MEDICINA VETERINARIA**

**TEMA:**

**Agentes bacterianos implicados en mastitis subclínica de las fincas que abastecen los acopios ASOGANA de Nagarote y Santo Tomas de El Viejo, septiembre a noviembre 2011.**

**Autores:**

**Br. Norma Sofía Campos Lacayo**

**Br. Wilmer Alexander Meléndez Orozco**

**Tutor:**

**Lic. Byron Flores Somarriba. MSC**

**Co-tutores:**

**Lic. José Luis Bonilla. MSC**

**Lic. Medardo de Jesús Moreno**

**León, Nicaragua 2012**



## RESUMEN

La mastitis es una enfermedad ocasionada por diversos factores tanto internos como externos. Las causas más frecuente de mastitis es por invasión de agentes infecciosos, principalmente bacterias; por eso el presente estudio, identificó los agentes bacterianos y su perfil de resistencia en mastitis subclínica en fincas que abastecen los acopios ASOGANA de Nagarote y Santo Tomas de El Viejo en el periodo comprendido de septiembre a noviembre del año 2011. Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal, con una población de 627 hembras bovinas, luego de haber realizado pruebas de California para mastitis (CMT), procediendo a recolectar muestras a aquellas hembra bovinas positivas al reactivo CMT, con el fin de realizar cultivos bacteriológicos. La empleacion de antibiogramas por el método Kirby Bauer utilizando los antibióticos que son comúnmente indicados en los tratamientos de mastitis bovina obteniéndose 71.92% de vacas que presentaron una reacción positiva al CMT, mientras que de los 2488 cuartos, se determinó que el 35.57% estaban afectados en algún grado de mastitis subclínica. En los cultivos bacteriológicos realizados las bacterias aisladas fueron: *Staphylococcus aureus* con un 36%, en un 30% *E. Coli* y *Staphylococcus coagulasa negativo*, 4% *Streptococcus spp.* La bacteria *Staphylococcus aureus* fue aislada en ambos acopios con 39.3% para ASOGANA y 31.8% para Santo Tomas. En la determinación del perfil de resistencia de los agentes bacterianos aislados se encontró que las bacterias mostraron mayor sensibilidad a los siguientes antibióticos Ciprofloxacina con un 88.9%, Oxitetraciclina 88%, Enrofloxacin 83.7%.el resultado del presente estudio describe la sensibilidad que presentan los microorganismos aislados en dichas regiones como parte del mejoramiento de las medidas actuales realizándolas mas efectivas y de acorde a la realidad que vive el productor nicaragüense.

Palabras Claves: *Mastitis, CMT, Método Kirby Bauer, Antibiogramas.*



## ÍNDICE

|              |                                   |           |
|--------------|-----------------------------------|-----------|
| <b>I.</b>    | <b>Introducción</b>               | <b>7</b>  |
| <b>II.</b>   | <b>Antecedente</b>                | <b>9</b>  |
| <b>III.</b>  | <b>Justificación</b>              | <b>11</b> |
| <b>IV.</b>   | <b>Planteamiento del problema</b> | <b>12</b> |
| <b>V.</b>    | <b>Objetivos</b>                  | <b>13</b> |
| <b>VI.</b>   | <b>Marco teórico</b>              | <b>14</b> |
| <b>VII.</b>  | <b>Material y método</b>          | <b>63</b> |
| <b>VIII.</b> | <b>Resultado</b>                  | <b>70</b> |
| <b>IX.</b>   | <b>Discusión</b>                  | <b>73</b> |
| <b>X.</b>    | <b>Conclusión</b>                 | <b>79</b> |
| <b>XI.</b>   | <b>Recomendaciones</b>            | <b>80</b> |
| <b>XII.</b>  | <b>Referencias</b>                | <b>82</b> |
| <b>XIII.</b> | <b>Anexos</b>                     | <b>87</b> |



## AGRADECIMIENTO

Agradecemos primeramente a Dios por darnos la oportunidad de llegar hasta este día.

A nuestros padres por su apoyo incondicional y el esfuerzo para darnos una educación y no desistir en el camino.

A todos los profesores que en el transcurso de estos años nos brindaron generosamente sus conocimientos para formar buenos profesionales, personas de bien y productividad para nuestro país.

A nuestro tutor Byron Flores Somarriba Msc. por ayudarnos y desempeñar esta labor bajo su dirección con dedicación, brindándonos su tiempo.

A TECNOEMPRENDES por brindarnos la oportunidad de realizar este estudio.

Al Señor Carlos García técnico asignado al municipio de Nagarote por su apoyo y dedicación en el área técnica.

A los trabajadores del Acopio ASOGANA en Nagarote Karina, Alejandra y Don Enrique, por su amabilidad y ayuda durante mi estancia en el acopio.

A todos los productores quienes nos recibieron con amabilidad y humildad, principalmente a la familia Baltodano, en especial a la señora Ana Martínez

A nuestros cotutores Msc. Luis Bonilla Espinoza, Lic. Medardo Moreno que aportaron en la corrección de este trabajo,

Al Centro Veterinario de Diagnóstico e Investigación (CEVEDI), por su apoyo en el procesamiento de muestras



## AGRADECIMIENTO

A Doña Miriam Morales y familia por brindarme su amistad, apoyo incondicional, confianza y sobre todo cariño, muchísimas gracias por ser ella y su familia parte de mi vida.

*Por Norma Sofía Campos Lacayo*



## DEDICADO

A mi familia en especial a Madre Emilia Elizabeth Lacayo Fox por ser mi fuente de inspiración, por brindarme su apoyo incondicional guiándome por el camino de la superación, ayudándome a tomar decisiones en los momentos más difíciles de mi vida, gracias por su entera confianza.

*Por: Norma Sofía Campos Lacayo*

A mi Madre Ángela Fidelia Orozco, con tu ejemplo ayudaste a enmendar mis errores, por ser parte día a día de mis recuerdos Dios oye mi clamor y alivia mi dolor, te llevare siempre en mi corazón.

*Por Wilmer Alexander Meléndez Orozco*



## I. INTRODUCCIÓN

La leche fresca de vaca es el producto integro, no alterado ni adulterado, del ordeño higiénico regular, completo e interrumpido, de las vacas sanas y bien alimentadas, sin calostro y exenta de color, sabor y consistencia anormal.

La leche de vaca no solo representa un alimento por su riqueza en proteínas de alto valor biológico: su aporte de energía y de minerales osteotróficos; o la materia prima para la elaboración de derivados lácteos; sino constituye una fuente de ingresos diaria por medio de su venta directa o a los centros recolectores. La leche por ser un producto altamente perecedero debe ser manejado correctamente desde su obtención<sup>1, 2,3</sup> Además la leche de vaca proporciona un excelente medio de cultivo para microorganismos provenientes del animal, del hombre o del medio ambiente si las normas higiénicas no se cumplen.<sup>3</sup>

La mastitis es la inflamación del tejido glandular acompañado de cambios fisicoquímicos de la leche producida como respuesta a una infección bacteriana y en menor proporción por irritación o trauma.

Para que se produzca mastitis bovina deben interactuar una serie de factores que faciliten el anidamiento y efecto lesivo de los gérmenes sobre el tejido de la ubre. Tales factores predisponentes o de estrés deben buscarse en influencias ambientales desfavorables, anomalías de la ubre o de los pezones de la vaca, ordeño defectuoso, así como una mayor predisposición por: edad, infecciones concurrentes, raza y producción de leche. La mastitis bovina puede clasificarse según el origen de la bacteria: mastitis medioambiental y mastitis contagiosa, desde el punto de vista clínico: mastitis clínica y subclínica, siendo esta última objeto de nuestro estudio por tener mayores repercusiones para la producción de leche<sup>4,1</sup>



La mastitis es un problema global que produce pérdidas directas e indirectas con respecto al nivel de producción, calidad, descarte de vacas, eliminación de leche alterada, costos de tratamientos, honorarios por servicios profesionales y

trabajo extra. Como consecuencia se ve afectado el animal, el productor, la industria láctea, y la salud pública <sup>5</sup>

El diagnóstico de la mastitis bovina se puede hacer tanto analizando bacteriológicamente muestras de leche (de cuartos individuales de vacas o leche de tanque) como cuantificando la reacción inflamatoria a la infección, a través de distintos parámetros, siendo el recuento de Células Somáticas (CCS/ml) generalmente el más usado.<sup>1</sup>

El impacto de esta enfermedad en la calidad de la leche y el riesgo para la salud pública ha aumentado el interés por conocer los agentes implicados, sus niveles de resistencia medioambiental e in vitro frente a los tratamientos comúnmente utilizados <sup>5</sup>

La higienización de la leche no es la solución para el problema, sino que más eficaz debe ser el saneamiento de los hatos mediante campañas de prevención, lucha y control de la enfermedad conjugado con las buenas prácticas de ordeño así como un esquema adecuado de tratamiento.<sup>3</sup>

Por tal motivo este estudio pretende determinar los agentes bacterianos y su perfil de resistencias en mastitis subclínica en fincas que abastecen los acopios ASOGANA de Nagarote y Santo Tomas de El Viejo, estos resultados será útil en la prevención de la resistencia bacteriana en las zonas de estudio.





## II. ANTECEDENTES

Un estudio realizado por Acuña y colaboradora, 2008, sobre Aislamiento, identificación y antibiograma de patógenos presentes en la leche con mastitis en ganaderías bovinas de la provincia de Pichincha, Ecuador se aislaron: *Aeromona cavia* 0.71%, *Shewanella putrefasciens* 0.71%, *Shigella* spp. 0.71%, *Pseudomona fluorescens* 0.71%, *Enterobacter* 1.42%, *E. coli* 1.42%, *Pseudomona* spp 2.13%, *Bacillus* 0.65%, *Bacillus* spp 4.58%, *Staphylococcus coagulasa positiva* 5.23%, *Staphylococcus coagulasa negativa* 12.42%, *Streptococcus* spp 16.34%, *Corynebacterium* spp. 20.92%, *Staphylococcus aureus* 34.64%. Se determinó que todas las bacterias Gram positivas presentaron resistencia para la Cloxacilina y sensibilidad a la Cefalexina, Trimetropim Sulfa, Enrofloxacin, Tetraciclina, Amoxicilina + Ácido clavulánico. Al comparar la bacterias Gram negativas presentaron resistencia a la mayoría de los antibióticos a excepción de la *Aeromona cavia*, *Shewanella putrefasciens* y *Shigella*.<sup>6</sup>

Ruiz A.K, y colaboradores realizaron un estudio de Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismo asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil, en los meses de mayo a julio del 2008; donde aislaron bacterias tales como: *Staphylococcus* spp. 32.8%, *Streptococcus* spp 13.9%, *Corynebacterium* spp 37.4%, *Micrococcus* spp 8.3%, *Bacillus* spp 3.4%, *Candida* spp 0.2%, *Escherichia coli* 1.8%. La *Corynebacterium* spp se encontró 100% sensible para los antimicrobianos Enrofloxacin, Florfenicol, Tetraciclina y para Oxacilina apenas 33% de sensibilidad. Para los aislados de *Staphylococcus* spp, se halló 100% de sensibilidad, para la Tetraciclina y para la Oxacilina 50%. *Streptococcus* spp. La sensibilidad fue de 100% para los antimicrobianos: Florfenicol, Tetraciclina, para la Oxacilina sólo 19%, *Escherichia coli* fue de 100% para los antibióticos Tetraciclina, Florfenicol y 100% resistente para la Oxacilina.<sup>7</sup>



En Nicaragua se estima que un tercio de la población de vacas lecheras están afectadas con mastitis en uno o más cuartos según el estudio realizado por Armenteros Mabelin y colaboradores, 2002, para evaluar la prevalencia de mastitis en hatos lecheros del departamento de Boaco y Chontales mediante el examen clínico, aislamiento bacteriológico y prueba de California.

Los microorganismos aislados fueron: *S. aureus*, *Coliformes*, *Corynebacterium spp*, *S. epidermidis* y algunas infecciones mixtas con la combinación de dos de estos patógenos, para un porcentaje de 38.9%, 10.3%, 8.6%, 5.4% y 7.02%, respectivamente. El patrón de sensibilidad indicó que se obtuvo mayor sensibilidad a la Penicilina (70%), TrimetoprimSulfa (75%), Bacitracina (65%), Cloranfenicol (60%) y Gentamicina (65%) y una baja sensibilidad a la Tetraciclina (10%), Trimetoprim (7%), Estreptomina (5%) y Neomicina (3%).<sup>8</sup>

Según el estudio realizado por Peralta y Berrios, 2004, en 4 hatos lecheros, del departamento de León, los microorganismos aislados fueron: *S. aureus* 62 %, *S. coagulans* 37 %, *Streptococcus spp* 6 % y *E. coli* 1 %. Únicamente se evaluó la sensibilidad antimicrobiana de los *S. aureus* y *E. coli*, encontrando que las cepas de *S. aureus* eran resistentes al 30% a Tetraciclina y 15 % Penicilina y del 98 al 100 % sensibles a Eritromicina, Trimetoprim Sulfa, Gentamicina, Ceftriaxona, Oxacilina y en el caso de *E. coli* presentó resistencia ante todos los antibióticos evaluados a excepción de la Ceftriaxona.<sup>9</sup>

Según estudios realizados por Aguirres J y Zeledón K. 2007, en aislamiento e identificación fenotípica de *Staphylococcus aureus* mediante la técnica de Fingerprinter (PHP) a partir de leche bovina afectada con mastitis subclínica en seis fincas del municipio de León, durante el periodo mayo 2005- mayo 2006. Un 77.90% de las bacterias aisladas fue *S. aureus*, 4.42% de *S. Epidermis*, 3.87% *Streptococcus α- hemolítico*, 4.42%, *Streptococcus β- hemolítico* del grupo A, *Enterobacter* 0.55% y *Pseudomona* 0.55%.<sup>10</sup>



### III. JUSTIFICACION

Nicaragua, esta produciendo un promedio de 2.1 millón de litros de leche diario. Existen 107 centros de acopio con capacidad de 598 mil litros al día. En verano, se acopia alrededor de 330 mil litros. En invierno, se acopia alrededor de unos 479 mil litros por día.<sup>11</sup>

La mastitis es considerada la enfermedad infecciosa más costosa de las vacas lecheras debido a que induce a una disminución en la producción de leche y baja su cantidad del 4 al 30%.<sup>12</sup>

Actualmente el creciente desarrollo del negocio lechero se ve afectado, por dicha enfermedad ya que afecta la calidad de leche, perjudicando el comercio internacional que influencia en la economía del país ya que la consecuencia de esta comprende diferentes niveles; industria láctea, productor, animal y consumidor.

La mastitis bovina es ocasionada por una variedad de bacterias patógenas tales como: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Mycoplasma spp*, *Coliformes: Klebsiella*, *Escherichiacolique* afectan la salud pública y que son causantes de mastitis subclínica en los hatos de ganado bovinos.

La utilización de los antibióticos por parte de los productores se hace de manera irracional y empíricamente, conduciendo a resistencia de las bacterias hacia los antibióticos generalmente utilizados, estos tratamientos se aplican solamente ante los síntomas de la mastitis clínica. La mastitis subclínica bovina leve puede erradicarse con un buen manejo del hato ganadero, sin embargo para la mastitis de grado 2 y 3 es importante determinar la sensibilidad de las bacterias a través del antibiograma. Este estudio pretende conocer los agentes bacterianos y su perfil de resistencias en mastitis subclínica en fincas que abastecen los acopios ASOGANA de Nagarote y Santo Tomas de El Viejo.

Los datos obtenidos servirán para el diseño e implementación de esquemas de tratamiento.



#### **IV. Planteamiento del problema:**

¿Cuáles son los agentes bacterianos implicados en mastitis subclínica en fincas que abastecen los acopios ASOGANA de Nagarote y Santo Tomas de El Viejo en el periodo de septiembre a noviembre del año 2011?



## V. OBJETIVOS

### Objetivo General:

Determinar los agentes bacterianos y su perfil de resistencias en mastitis subclínica en fincas que abastecen los acopios ASOGANA de Nagarote y Santo Tomas de El Viejo.

### Objetivos Específicos:

1. Diagnosticar mastitis subclínica a través de la prueba de california para mastitis.
2. Identificarlos agentes bacterianos causantes de mastitis subclínica en bovinos.mediante medios de cultivos Agar sangre de cordero al 5% y Agar MacConkey
3. Conocer el perfil de resistencia de los agentes bacterianos causantes de mastitis subclínica utilizando el método de Kirby Bauer



## VI. MARCO TEORICO

### 1. Anatomía y fisiología de la glándula mamaria

#### 1.1La Ubre

Representa un conjunto de cuatro glándulas de origen dérmico, considerada como una glándula sudorípara modificada y cubierta externamente por una piel suave al tacto, provista de vellos finos excepto en los pezones. Su apariencia es redondeada, se encuentra fuera de la cavidad del cuerpo, adosándose a la pared abdominal por medio del aparato suspensorio.

Está compuesta de cuatro glándulas mamarias las cuales están íntimamente unidas, pero separadas por membranas específicas que dividen las glándulas anteriores de las posteriores; sin embargo, cada glándula contiene su propio conjunto de ductos que conducen a la leche hasta el seno lactífero glandular<sup>13</sup> Ver Figura N° 1

#### 1.1.1Vascularización

La vascularización de la ubre esta dado por las arterias que derivan de la arteria pudenda externa y arteria perineal, estas arterias se ramifican en el interior de la ubre de la vaca formando capilares que circundan los alvéolos. Al pasar los capilares, la sangre viaja a los pequeños vasos venosos cuyas ramificaciones aumentan de diámetro hasta reunirse en la base de la ubre, formando el círculo anillo venoso desembocando en dos formas: la vena púdica externa paralela a la arteria en el canal inguinal y la vena subcutánea abdominal o vena de la leche <sup>14, 15</sup>



### 1.1.2 Circulación Linfática de la Ubre.

Esta se verifica desde los espacios intercelulares hasta los nódulos linfáticos y de aquí retorna al fluido y a la circulación venosa. La ubre presenta un nódulo linfático en cada mitad (nódulo linfático supramamarios), localizados en la parte superior y posterior de la glándula mamaria de la vaca<sup>13</sup>

### 1.1.3 Sistema Nervioso

La innervación de la ubre de la vaca es simpática:

La principal función de las fibras nerviosas simpáticas en la ubre, es el control del suministro de sangre a la ubre e innervación de la musculatura lisa que rodea los conductos colectores de leche y los músculos del conducto del pezón. El estímulo del sistema nervioso simpático provoca vasoconstricción, lo que trae como consecuencia un efecto inhibitorio en la secreción láctea.<sup>13</sup>

## 2. Mecanismos específicos e inespecíficos de defensa de la glándula mamaria.

El sistema de defensa de la ubre se realiza a través de la sangre y los vasos linfáticos del cuerpo. Los factores de defensa son en primer lugar inespecíficos, pero también pueden ser específicos. Además posee un mecanismo de defensa local, el cual puede evitar la entrada de un agente patógeno extraño del canal del pezón hacia el sistema de conductos de la ubre, de esta forma se le protege de una infección. <sup>16</sup>Ver figura N°2

## 3. Leche.

Es el líquido de color blanco, de sabor y olor característico, que se obtiene del ordeño higiénico y completo, de la ubre de vacas sanas y que cumple con las características físicas, químicas y bacteriológicas establecidas. <sup>1,18</sup> Los Componentes de la leche son: por cada 100 gramos: Agua 88 (g), Lactosa 4.6



(g), Grasa 3.4 (g), Triglicéridos 3.5, Fosfolípidos 0.5, Esteroles, Carotenos y tocoferoles 0.5, Sustancias nitrogenadas 32 (g), Caseína 26, Proteínas séricas 4.5, Sustancias nitrogenadas no proteicas 1.5, Sustancias minerales 0.72 (g), Ácidos orgánicos 1.5 (g), Gases (CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>), Enzimas (fosfatasa, plasmina, catepsina, lipasa, catalasa, peroxidada, etc.) y Células somáticas<sup>19, 20</sup> Ver Figura N° 3

### 3.1 Producción de leche

La glándula mamaria para producir leche, tiene que llevar a cabo por lo menos tres funciones en sus células epiteliales; la primera es obtener energía para realizar su trabajo, la segunda es elaborar los elementos para la leche que no provienen directamente de la sangre, y el tercero regular la cantidad de los diferentes elementos que integran la leche.

La glándula mamaria dependerá del flujo sanguíneo para el suministro de energía y de los elementos precursores de la leche. La cantidad y disponibilidad de estos elementos dependerá de la rapidez con que la sangre fluya por la glándula mamaria. La leche sintetizada es almacenada en el compartimiento alveolar y en las cavidades cisternas de la glándula mamaria.<sup>13, 21</sup>

La oxitocina es transportada por la sangre hasta las células musculares que rodean a los alvéolos de la ubre, produciendo contracciones musculares que actúan comprimiendo a los alvéolos, de esta manera posibilitando la salida de la leche por medio de los conductos galactóforos durante el ordeño.<sup>21</sup>

La eyección de leche puede ser estimulada de diferentes maneras: La estimulación táctil de los pezones al ser lavados y secados, la presencia o ruido de los terneros, el ruido de la máquina y de los utensilios de ordeño, la hora del





ordeño y en algunos casos el concentrado que se le suministra a la vaca; son estímulos que favorecen la secreción de oxitocina.<sup>21</sup>

El efecto de la oxitocina dura entre 1 y 2 minutos, por esta razón el ordeño debe ser rápido, favoreciéndose la mayor extracción de la leche con el menor esfuerzo. La vaca, es un animal altamente sensible a los estímulos.

La adrenalina la cual interrumpe la bajada de leche de los alveolos es segregada como consecuencia de: Ver Figura N° 4

- Los malos tratos a la vaca como golpes, gritos, etc.
- La presencia de animales extraños en el lugar de ordeño como perros, gatos, cerdos, etc.
- Irregularidades en la alimentación como cambios de horarios.
- Cambios frecuentes de ordeñadores y horas de ordeño.
- Presencia de personas no habituales durante el ordeño.
- Ruidos intensos y extraños en el momento del ordeño<sup>1</sup>

#### 4. Mastitis

##### 4.1 Definición

Mastitis (del griego mastos = glándula mamaria y del sufijoitis = inflamación) Se define como la inflamación de la glándula mamaria. Es una enfermedad multifactorial, ocasionada por factores: físicos, químicos, mecánicos o infecciosos, que causan lesiones del tejido interno de la glándula mamaria provocando una respuesta inflamatoria o mastitis. La causa de la inflamación se debe a la multiplicación de los microorganismos y a que los productos del metabolismo de estos, lesionan el tejido glandular. El propósito de la respuesta inflamatoria es



destruir o neutralizar el agente ofensivo, reparar los tejidos dañados y retornar la glándula a su función normal<sup>13., 22,5</sup>.

La causa más frecuente de mastitis bovina es por invasión de agentes infecciosos, principalmente bacterias, las cuales penetran a través del orificio del pezón al interior de la glándula mamaria.

Una inflamación intramamaria está asociada con un aumento en el conteo de células somáticas (CCS) en la leche. Sin embargo, la magnitud del aumento en el conteo de células somáticas varía de acuerdo a la bacteria involucrada en la infección intramamaria. Algunas investigaciones aseguran que la mastitis causa una disminución en la producción de leche del 70% de las pérdidas totales, y otros porcentajes contribuyen a la disminución en el precio por deficiencias de calidad de leche, gastos en medicamentos para el animal afectado, servicio veterinario, desecho de animales, descarte en la leche, problemas de residuos de antibióticos.<sup>5, 13</sup>

#### 4.2 Factores que inciden en la presencia de mastitis

Se debe reconocer que la mastitis bovina es el resultado final de la interacción de muchos factores:<sup>22</sup>

##### 4.2.1 Daños en los pezones

Si el canal del pezón es lesionado, se abre la puerta a la invasión de patógenos. Este canal puede lesionarse debido a:<sup>13, 17</sup>

Heridas en los pezones por manejo deficiente debido a una ordeña muy brusca.

Naturaleza de microorganismos, cepa y números de bacterias transmitidas al pezón.



El grado y frecuencia de exposición de las vacas a los agentes infecciosos<sup>15</sup>

Las elevadas concentraciones de bacterias en el ambiente hacen que el mecanismo de defensa de la ubre se debilite. Este problema puede ser debido a:<sup>13</sup>

- Un ambiente muy antihigiénico en el corral.
- Una higiene deficiente en la ordeña.
- Una higiene deficiente de los pisos y superficies (las bacterias se reproducen mejor en los medios húmedos y cálidos).
- Deficiencias en la alimentación.

#### 4.2.2 Forma de ordeño

- Los distintos métodos de ordeño que se emplean como son: "mano llena", "pellizco" y "pulgar", siendo recomendable el primer método
- Un ordeño prolongado e incompleto.
- El uso de terneros puede ocasionar traumas, heridas o lesiones en la ubre. Algunos terneros tienen el hábito de mamar de dos o más vacas y pueden transmitir los microorganismos de una vaca a otra.
- El ordeño mecánico, un incremento excesivo del vacío o de la frecuencia de las pulsaciones por encima de lo recomendado disminuye la resistencia de la ubre y el tiempo excesivo en ordeño.<sup>13,23</sup>

#### 4.2.3 Factores genéticos

- Raza de elevada productividad de leche.
- El grado de resistencias a los microorganismos heredados.
- Si el tono de la apertura del pezón no es reducido la frecuencia de mastitis aumenta.<sup>13,23</sup>



#### 4.2.4 Otros factores

- El uso de selladores de baja calidad (químicos fuertes que pueden ser muy ácidos, muy cáusticos, detergentes muy agresivos).
- Productos que tienen tendencia a remover grasas de la piel y dejarla muy seca.
- Picaduras de insectos.
- Exposición a la humedad o el calor (condiciones de mucho sol).
- Edad de la vaca, la frecuencia de mastitis bovina aumenta con el número de lactancia, este es causado principalmente por reinfecciones de cuartos previamente infectados y por persistencia de algunas infecciones.<sup>13,23</sup>

#### 4.3 CLASIFICACIÓN DE LA MASTITIS

|                                |                                   |             |
|--------------------------------|-----------------------------------|-------------|
| <b>Según su Sintomatología</b> | Clínica                           | Aguda       |
|                                |                                   | Hiperaguda  |
|                                | Subclínica                        | Subaguda    |
|                                |                                   | Crónica     |
| <b>Según su Epidemiología</b>  | Mastitis Ambiental                |             |
|                                | mastitis contagiosa               |             |
|                                | Mastitis por agentes oportunistas |             |
|                                | Mastitis Iatrogénica              |             |
| <b>Según su Etiología</b>      | Traumática                        | Física      |
|                                |                                   | Química     |
|                                | Microbiológica                    | Bacterianas |
|                                |                                   | Fúngicas    |
| <b>Según su Anatomía</b>       | Galactoforitis y catarrales       | Aguda       |



|                              |                                        |         |
|------------------------------|----------------------------------------|---------|
| <b>Patológica</b>            | purulentas                             | Crónica |
|                              | Mastitis maligna aguda                 |         |
|                              | Mastitis hemorrágica necrótica aguda   |         |
|                              | Mastitis purulenta abscedativa crónica |         |
|                              | Mastitis intersticial no purulenta     |         |
|                              | Mastitis granulomatosa                 |         |
| <b>Otras Clasificaciones</b> | Mastitis por retención                 |         |
|                              | Mastitis frigore                       |         |

Fuente: Referencia 9

#### 4.3.1 Mastitis Subclínica bovina

Definida como la presencia de un microorganismo en combinación con un conteo elevado de células somáticas de la leche. Casi todos los cuartos afectados se ven normales y la leche tiene apariencia normal; pero existe una disminución en la producción de leche, la composición alterada de la leche, la presencia de componentes inflamatorios y bacterias en la leche. La mastitis subclínica bovina es considerada la más importante por diversas razones: Es más común que la mastitis clínica bovina, generalmente precede a la forma clínica, es de larga duración, es difícil de detectar (sólo pueden ser diagnosticadas por medio de pruebas aplicadas a muestras de leche que detectan cambios físico-químicos o la presencia de células somáticas.), disminuye la producción de leche que influye negativamente en la calidad de esta, provocando infección en otros animales del rebaño<sup>13,2,5</sup>



#### 4.3.2 Mastitis clínica bovina

La inflamación de los cuartos mamarios es acompañada de signos pronunciados de inflamación mamaria y de enfermedad sistémica. El cuarto afectado o la ubre se ven inflamada, con temperatura local elevada, rubor, dolor e induración, según la gravedad del caso la leche presenta grumos y cambios de color que van desde un blanco amarillento hasta un rojo similar al del vino tinto y, en algunos casos, hay aumento de la temperatura rectal, letargo, anorexia, toxemia e incluso la muerte.<sup>2, 5</sup>

#### 4.4 Etiología de la mastitis bovina.

La mastitis bovina es causada principalmente por microorganismos y en menor proporción por irritación o trauma.

En la glándula mamaria bovina se han identificado hasta 140 especies, subespecies y serovariedades microbianas. Las bacterias responsables de la mastitis bovina pueden ser clasificadas como contagiosas y ambientales,

Dependiendo de su reservorio primario y el ambiente contra el cuarto de la glándula mamaria infectada<sup>5</sup>

##### 4.4.1 Microorganismos causantes de la mastitis contagiosa bovina

Son organismos transmitidos de vaca a vaca durante la operación del ordeño a través de los paños utilizados para limpiar las ubres, la leche residual en las pezoneras y un equipo de ordeño inadecuado donde el reservorio primario que alberga los patógenos es el animal infectado o el cuarto de la ubre, y la exposición de los cuartos mamarios no infectados se restringe al proceso de la ordeña. Los patógenos contagiosos en orden de importancia son: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium spp.*, y *Mycoplasma spp.*<sup>5, 24</sup>



#### 4.4.1.1 *Staphylococcus*

El género *Staphylococcus* se ha clasificado tradicionalmente en la familia Micrococcaceae. Son cocos Gram-positivos y se presentan en forma de racimos. Son aerobios y anaerobios facultativos, catalasa positiva, oxidasa negativos, no esporulados, fermentativos, inmóviles.

Los *Staphylococcus* según produzcan o no la enzima coagulasa, se dividen en dos grandes grupos: *Staphylococcus* coagulasa positivos (ECP): *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. delphini*, *S. schleiferi* subsp *coagulans* y *Staphylococcus* coagulasa negativos (ECN): *S. caprae*, *S. felis*, *S. gallinarum*, *S. equorum*, *S. chromogenes*, *S. sciuri*, *S. lentus*, *S. xylosus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*

Se considera que los ECP son patógenos y los ECN no lo son.<sup>24</sup>

#### *Staphylococcus aureus*

Sinónimo: *Staphylococcus pyogenes*

Son patógenos contagiosos y son transmitidos por los tejidos infectados durante el proceso de ordeño. Esta permanece en el medio ambiente de la vaca y su depósito principal en las vacas adultas lo constituyen las ubres y pezones afectados. Se le considera el agente causal más importante y frecuente de la mastitis bovina. La bacteria puede contaminar la piel del pezón, las manos del ordeñador y el equipo de ordeño, pudiendo pasar de cuartos infectados a sanos o de una vaca infectada otra sana. Este organismo no progresa en la piel de los pezones sanos, pero rápidamente forma colonias en los canales de los pezones de las vacas, especialmente si existe lesión cerca de las puntas de las mismas, lo cual facilita su penetración al interior de la ubre y la invasión de los tejidos de la misma, ocasionando la formación de un tejido cicatrizal. Este tejido y su capacidad de vivir en el interior de células como los macrófagos impiden que los



medicamentos penetren en los lugares infectados, haciendo que el tratamiento en la lactancia sea a menudo ineficaz, causando considerables pérdidas económicas en la industria láctea. La mastitis crónica bovina causada por este agente puede persistir durante varias lactancias, llegando a evolucionar a mastitis gangrenosa. Si el animal sobrevive debe ser eliminado.<sup>25, 26, 27</sup>

#### Resistencia

Soportan la desecación durante semanas, temperaturas incluso de 60 °C durante 30 minutos, ph entre 4-9.5, concentraciones de sal de 7.5%.<sup>23</sup>

Son inhibidos por los colorantes bacteriostáticos, sales biliares, desinfectantes como la clorhexidina y por muchos agentes antimicrobianos.

*Staphylococcus* coagulasa negativo: Son antihemolíticos. Asociados básicamente a infecciones intramamarias, se consideran patógenos secundarios en mastitis bovina por que producen infecciones subclínicas con incremento moderado de células somáticas. Colonizan el extremo del pezón y el conducto del pezón de la vaca.<sup>25</sup>

#### 4.4.1.2 *Streptococcus*

El género *Streptococcus* se ha incluido dentro de la familia *Streptococcaceae*. Forman parejas o bien cadenas. A excepción de algunas especies son generalmente inmóviles y no capsulados.

Son catalasa negativa, fermentadores de azúcares, quimioorganótrofos, realizan fermentación homoláctica, con producción de ácido láctico sin formación de gas. Los *Streptococcus* son, probablemente, el segundo grupo en importancia, después de los *Staphylococcus*, responsables de la mastitis bovina. Aunque el *Streptococcus agalactiae*, el *Streptococcus uberis* y el *Streptococcus dysgalactiae* son las especies más frecuentemente identificadas, otra especie de





*Streptococcus*, el *Streptococcus parasanguinis*, ha sido implicado en las infecciones de la glándula mamaria<sup>25</sup>

#### Hábitat

Se hallan ampliamente distribuidos en la naturaleza y como comensales de los animales. En la piel y mucosa de los tractos genital y respiratorio superior y del tracto digestivo.<sup>26</sup>

#### Clasificación de *Streptococcus*

| Grupo | Designación                | Especies                                                                                                                                           | Grupo de Lancefield                     |
|-------|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| I     | Grupo piogénico            | <i>S. pyogenes</i><br><i>S. agalactiae</i><br><i>S. equi</i><br><i>S. dysgalactiae</i><br>Varias especies<br><i>S. canis</i><br><i>S. porcinus</i> | A<br>B<br>C<br>C<br>G<br>L,M<br>E,P,U,V |
| II    | Grupo <i>S. bovis</i>      | <i>S. bovis</i> , <i>S. equinus</i>                                                                                                                | D,D                                     |
| III   | Grupo <i>S. mitis</i>      | <i>S. mitis</i> , <i>S. gordonii</i> , <i>S. pneumoniae</i>                                                                                        | No aplicable                            |
| IV    | Grupo <i>S. mutans</i>     | <i>S. mutans</i> , <i>S. sobrinus</i>                                                                                                              | No aplicable                            |
| V     | Grupo <i>S. salivarius</i> | <i>S. salivarius</i>                                                                                                                               | No aplicable                            |
| VI    | Grupo <i>S. milleri</i>    | <i>S. anginosus</i> , <i>S. constellatus</i>                                                                                                       | No aplicable                            |
| VII   | Otras Especies             | <i>S. acidominimus</i> , <i>S. suis</i>                                                                                                            | No aplicable<br>R,RS,S,T                |

Referencias 41



### *Streptococcus agalactiae*

Es una de la causa más común de mastitis subclínicas bovina pero muy rara vez produce una severa enfermedad (mastitis aguda). Necesita de la glándula mamaria por obligación para su supervivencia 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 de la vaca. Por tal motivo es recomendable ordeñar en último lugar las vacas infectadas. 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 *Streptococcus agalactiae* puede ser erradicado del hato con un tratamiento apropiado combinado con buenas prácticas de manejo. Aun así, se puede llegar a diseminarse fácilmente en el hato luego de la compra de un animal infectado.<sup>23</sup>

### *Streptococcus dysgalactiae*

Especie hemolítica, del grupo C, es un patógeno muy común en la mastitis clínica y subclínica.<sup>5</sup>

La fuente principal son las ubres infectadas, amígdalas y lesiones en la piel. *Streptococcus dysgalactiae* puede ser contagiado de una vaca a otra durante el ordeño y las vacas pueden también llegar a ser infectadas por el medio ambiente.<sup>13</sup>

Este patógeno es muy capaz de sobrevivir en la boca, vagina y piel de los animales saludables que pastan. Debido a su situación medioambiental, los métodos de higiene normales y la terapia del antibiótico son menos eficaces.<sup>5</sup>



#### 4.4.1.3 *Corynebacterium*

*Corynebacterium* es un bacilo pequeño de forma cocobacilar, aeróbico, asperogenas, catalasa positivas y fermentativas, es Gram positivo. Susceptible generalmente al iodo y penicilinas.

Este patógeno produce una mastitis característica en vacas secas, se observa también en vacas en lactancia. Produce una inflamación que se caracteriza por la formación de un exudado purulento de olor fétido.

El microorganismo puede ser transmitido por material o equipo contaminado de una glándula mamaria enferma a otra durante la práctica de ordeño, por moscas portadoras del microorganismo que coloniza a la glándula mamaria a nivel del conducto del pezón o por traumatismos en la misma glándula. Este organismo coloniza la piel de los pezones y el canal secretor o canal del Pezón, parece ser que la mastitis es mínima, pero los recuentos de células somáticas pueden estar ligeramente elevados.<sup>13, 26,28</sup>

#### 4.4.1.4 *Mycoplasma*

La mastitis por *Mycoplasma* se caracteriza por presentación de cuadros clínicos severos que generalmente afectan a más de una glándula mamaria, después de ataques agudos, las vacas pueden presentar mastitis crónica, exacerbaciones agudas intermitentes, o padecer una infección subclínica que requiere la confirmación mediante cultivo. Los *Mycoplasma*, son considerados como bacterias incompletas que carecen de pared celular, son pleomórfico, son aerobios, su desarrollo se da bien en leche aún con presencia de elevadas cantidades de leucocitos.<sup>12</sup>

#### Aislamiento e identificación

Se puede aislar *Mycoplasma* de leche de cuarto, de muestras compuestas (mezcla de cuatro cuartos) o a partir de leche de tanque. Para aislar *Mycoplasma*,



se utilizan medios especiales por ejemplo el medio Hayflick y la muestra debe ser incubada por 7 a 10 días (en lugar de las 48 h habituales) en una atmósfera especial (CO<sub>2</sub>). Después de crecimiento la identificación de las especies que requiere una prueba indirecta de la inmunoperoxidasa o una técnica de los anticuerpos fluorescentes (FA). Los *Mycoplasma* se pueden cultivar después de la congelación de la leche. No se realizó esta técnica de aislamiento e identificación en el presente trabajo debido a la falta del medio hayflick<sup>28</sup>

#### 4.4.2 Microorganismos causantes de la mastitis ambiental bovina

La fuente de estos agentes patógenos es el entorno de la vaca. La forma de transmisión ocurre entre ordeños, del ambiente a la vaca, a través de la cama húmeda, terrenos sucios, ubres mojadas por la leche, preparación inadecuada de la ubre de la vaca y los pezones antes del ordeño y sistemas de estabulación que favorecen las lesiones en los pezones. Estas infecciones generalmente ocurren de forma esporádica. Los patógenos en este grupo son: *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Pasteurella*, *Streptococcus faecalis*, *Enterococcus spp*, Hongos, Levaduras.<sup>5</sup>

Se trata generalmente de bacterias oportunistas que invaden la glándula mamaria de la vaca cuando los mecanismos de defensa están disminuidos o cuando se introducen inadvertidamente en la glándula mamaria al realizar un tratamiento intramamaria. Este grupo de microorganismos oportunistas incluyen a, *Prototheca spp.*, *Serratia marcescens* y *Nocardia spp.*<sup>5, 24</sup>

##### 4.4.2.1. Coliformes

*Coliformes* es un término empleado para identificar a una serie de bacterias de la familia enterobacteriaceae que incluye a los géneros *Escherichia*, *Enterobacter* y *Klebsiella*, son microorganismos Gram negativos que causan mastitis en bovinos;



generalmente de presentación ligeramente aguda y ocasionalmente con cuadros de mastitis severamente agudos.<sup>1</sup>

La incidencia de la infección es, generalmente poca, aunque pueden ocurrir brotes cuando existen condiciones que aumentan la exposición a las mismas. Los *Coliformes* provienen del estiércol. Las vacas más viejas, produciendo leche libre de leucocitos, son susceptibles a ser atacadas por este patógeno.

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 de la vaca. Estos microorganismos 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; produciendo infecciones que 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 (*Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*) parecen ser más susceptibles a las bacterias *Coliformes*.

Son microorganismos bacilos Gram-negativos que no forman esporas, móviles por flagelos peritricos o no móviles, crecen aeróbica o anaeróbicamente, la glucosa es metabolizada de forma fermentativa, producen la enzima catalasa<sup>13, 25</sup>

#### 4.4.2.1.1 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* se encuentra en cantidades abundantes en el estiércol de los animales. La frecuencia de presentación aumenta al inicio de la lactación de la vaca y disminuye conforme ésta avanza.<sup>12</sup>



La mastitis bovina ocasionada por la *E. coli* es normalmente esporádica y las señales clínicas varían desde muy severa, incluso formas fatales (En la mastitis sobreaguda causada por *Escherichia coli*, la toxemia puede matar a una vaca en 3 días), a mastitis apacible, donde las vacas tienen solo señales locales en la ubre.<sup>5</sup>

12

La razón para la importancia de la mastitis bovina por *Escherichia coli* es su creciente incidencia y los síntomas severos. Este aumento puede ser debido al uso rutinario de la terapia de la vaca seca, la cual es eficaz contra el organismo Contagioso Gram positivo, pero no contra el patógeno medioambiental como *E. coli*.<sup>5</sup>

#### 4.4.2.1.2 *Klebsiella*

La mastitis bovina causada por *Klebsiella*, se puede presentar esporádicamente en una o varias vacas que descansan de lactar o bien en vacas en lactación, con cuadros severamente agudos o suaves, pudiendo también presentarse en forma crónica. Tiene una capacidad mayor que *E. coli* de afectar a la glándula mamaria en proceso de involución durante el tiempo de descanso, diferencia que puede parcialmente ser atribuida a la resistencia o susceptibilidad de estos microorganismos a las propiedades inhibitorias de las secreciones de las glándulas en descanso. Lactoferrina e inmunoglobulinas, contribuyen parcialmente a esta propiedad inhibitoria de la secreción de las glándulas en descanso .<sup>13</sup>

#### 4.4.2.2 *Pseudomona*

La mastitis bovina por *Pseudomona*, es considerada como una patología de presentación esporádica, de origen ambiental que se puede manifestar clínicamente en formas variadas como severamente aguda, suave o crónica. Es un bacilo delgado Gram negativo. *Pseudomona aeruginosa* no crece en medios aerobios, coagula la leche por las enzimas que produce hidrolizando lentamente la caseína y coagula el suero hemático. Elabora enzimas proteolíticas, piosinosas de



origen lipóide que hemolizan glóbulos rojos. Este microorganismo tiene propiedad bacteriolítica por sus enzimas (piosinasa, alfa-hidroxi-fenazina y una sustancia oleosa) y una proteína termoestable.<sup>13,25</sup>

Generalmente aparece una infección persistente que puede estar caracterizada por exacerbaciones agudas o sub-agudas intermitentes, se puede manifestar clínicamente en formas variadas como: severamente aguda, suave o crónica

Las *Pseudomona* a menudo emanan de fuentes de aguas contaminadas, de la tierra o de las máquinas ordeñadoras que no han sido limpiadas debidamente.<sup>12</sup>

*Pseudomona aeruginosa* ha sido aislada tanto de los animales infectados como del agua utilizada para lavar el equipo de ordeño, considerándose ésta la fuente de contaminación.

La mastitis producida por *P. aeruginosa*, puede en ocasiones ser confundida con mastitis gangrenosa por *Staphylococcus aureus* por los síntomas; de ahí la importancia del diagnóstico de laboratorio como confirmación del diagnóstico clínico antes de instaurar medidas terapéuticas y/o profilácticas ante un brote de mastitis.<sup>12</sup>

#### 4.5 Patogenia de la mastitis bovina

La infección de la glándula mamaria siempre ocurre a través del conducto glandular de la vaca. Luego de la invasión del agente infeccioso, sigue la infección y la inflamación. Este proceso de infección puede dividirse en tres etapas:

A) 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.

B) 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.



C) 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.<sup>3</sup>

#### 4.6 Diagnóstico de mastitis bovina

Diagnostico clínico:

Dentro de los métodos que se usan con mayor frecuencia a nivel de campo para diagnosticar mastitis, se encuentran:<sup>29</sup>

1. El método de observación y palpación de la ubre.

- Examen de la vaca

2. Las pruebas físicas:

- La prueba de escudilla de ordeño.
- Prueba del paño negro.
- Taza probadora.

3. Pruebas o exámenes Complementarios:

a) Las pruebas biológicas:

- La prueba de California para mastitis.
- La prueba de Wisconsin.

Diagnostico Laboratorial:

1. El diagnóstico bacteriológico por los métodos de:

- ✓ Aislamiento
- ✓ Cultivo





✓ Tinción

2. Las pruebas químicas:

- La prueba de conductividad eléctrica de la leche.
- Papel indicador de mastitis.
- Prueba de la hoja blanca

3. Pruebas bioquímicas e identificación.

4. El conteo de células somáticas por microscopia directa y células somáticas.

5. Otros métodos:

- Electrónicos como el fossomatic y el contador celular
- DeLavalcontador celular

Los métodos de detección de mastitis bovina son una herramienta que permite identificar el tipo de infección clínica o subclínica que puede presentarse dentro de un hato lechero.<sup>29</sup>

El examen clínico general de la vaca y de sus antecedentes sanitarios, productivos y reproductivos, deben preceder al examen de la ubre de la vaca. Esta debe ser examinada tanto llena como recién ordeñada, se deben examinar los ganglios linfáticos detectables por palpación.<sup>29</sup>

En la mastitis subclínica, la ubre de la vaca permanece aparentemente sana, aunque esta produce alteraciones en la leche.

Mastitis clínica bovina, se encuentran cambios importantes en la leche, estos cambios pueden consistir en alteración del color, aparición de grumos, coágulos sanguinolentos, coágulos con pus, o una leche más acuosa, entre otros.

Las pruebas físicas, son pruebas que se pueden realizar a nivel de campo utilizadas para facilitar el diagnostico clínico en mastitis bovina.



### Prueba de la escudilla de ordeño

Para leches anormales, se recoge la leche sobre un tejido negro extendido encima de la escudilla, donde se hacen así muy visibles los grumos.

### Taza probadora

Se examinan los primeros chorros de leche de cada ordeño sobre un recipiente (tazón) de fondo oscuro. Donde se evidencia los coágulos, escamas, hilos, materia fibrosa, secreciones acuosas, color anormal a causa de mastitis. Ver Figura N° 5.<sup>29</sup>

### Prueba del paño negro

Esta se realiza durante la preparación de la vaca para el ordeño. Consiste en la detección de grumos en la leche (tolondrón) haciendo pasar los primeros chorros a través de una malla negra o bien utilizando una cubetilla especialmente diseñada para eso. Es recomendable realizar este procedimiento en todos los ordeños ya que además de detectar leche anormal, se eliminan bacterias que normalmente se encuentran en mayor cantidad en estos primeros chorros y además se estimula la “bajada” de la leche.<sup>29</sup>

Los Exámenes complementarios son utilizados para tener un diagnostico clínico más acertado, estas consisten en:

### Prueba de California para Mastitis (CMT)

Es una prueba rápida, simple y económica, que se realiza al pie de la vaca y que detecta en forma indirecta el aumento de células somáticas en la leche.<sup>29</sup>

Se utiliza para detectar específicamente la mastitis subclínica. Es una prueba sencilla que es útil para por el recuento de células de la leche.

Proporciona una indicación de si el recuento es elevado o bajo. La leche con alto contenido de leucocito y células somáticas, mezcladas con un producto a base de Alquil auril sulfato de sodio, que forma un gel a consecuencia de la reacción del



producto químico y el ácido desoxirribonucleico (DNA) contenidos en los leucocitos, el gel puede ser observado directamente. Para realizar esta prueba es necesaria la paleta con cuatro compartimientos y el reactivo. Es recomendable realizar esta prueba a todas las vacas en producción y una vez al mes. La Prueba de California es un método de diagnóstico que posee una sensibilidad del 97% y una especificidad del 93%<sup>29</sup>

#### Realización de Prueba de California para Mastitis:

1. Se desecha los primeros 2 ò 3 chorros de 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 de cada una de las divisiones un volumen igual de reactivo.
5. Se mezcla el reactivo en forma muy suave en forma de movimientos concéntricos de rotación 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. Ver Figura N° 6.<sup>29</sup>

Los criterios básicos de la interpretación se resumen en la tabla siguiente:

| Grado    | Tipo de Relación                    | Celularidad / ml    |
|----------|-------------------------------------|---------------------|
| Negativo | Mezcla se mantiene líquida          | < 200.000           |
| Trazas   | Ligera viscosidad                   | 200.000 - 500.000   |
| 1        | Mezcla viscosa no adherida al fondo | 400.000 -1.500.000  |
| 2        | Mezcla viscosa que se               | 800.000 - 5.000.000 |



|   |                                                                             |  |
|---|-----------------------------------------------------------------------------|--|
|   | adhiere al fondo                                                            |  |
| 3 | Mezcla muy viscosa fuertemente adherida que >5.000.000 forma un solo grumo. |  |

#### Referencias 1

### Prueba de Wisconsin para Mastitis (WMT)

La Prueba 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, 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.<sup>29</sup>

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, con una puntuación baja entre 3 y 12 están en condiciones buenas a regular, mientras que con puntuaciones superiores a 12 es más severo. Ver Figura 7.<sup>29</sup>

El diagnostico laboratorial posee poco márgenes de errores, estas pruebas son realizadas directamente en el laboratorio y consisten en las siguientes pruebas:



## Pruebas bacteriológicas

Se utilizan para determinar los organismos específicos que se encuentran en caso de mastitis.

- ✓ Recolección de muestra de leche para examen en laboratorio.

Las muestras se obtienen directamente de la vaca previa al ordeño con una desinfección de acuerdo al siguiente procedimiento:<sup>29</sup>

- Lavar los pezones con agua.
- Se desinfectaba los pezones con una solución antiséptica de alcohol al 70%.
- Con una toalla de papel desechable secar y se descartan los primeros chorros de leche.
- En un tubo estéril y previamente identificando se tomaran 4 o 10ml de leche
- El tubo será sellado y colocados en refrigeración para su transporte al laboratorio. Ver figura 8

## Conteo de células somáticas por microscopia directa

El recuento microscópico directo de células somáticas de la leche denominado también, método óptico, actualmente es de poca utilidad cuando se trata de un gran número de muestras y se debe trabajar con una metodología más rápida.<sup>29</sup>

Este método es más preciso, pero también el que consume más tiempo y requiere además equipo costoso. Se coloca la leche en una placa de vidrio y una persona cuenta las células visibles en el microscopio. Ver Figura N° 9.<sup>29</sup>



### Método células somáticas

Este método puede ser utilizado para analizar la leche proveniente de una o muchas vacas, se puede utilizar para el diagnóstico de la mastitis subclínica, o para realizar el programa de manejo de todo el hato durante un mes.<sup>29</sup>

En el caso de las muestras individuales de leche, se determina la probabilidad de la presencia de mastitis. Se utiliza un Kit con un procedimiento similar al de la prueba de Wisconsin. Ver Figura N° 10.<sup>29</sup>

### PRUEBAS QUÍMICAS

#### Conductividad eléctrica de la leche (PCE)

Respecto a la PCE, el procedimiento químico es muy variable y hasta cierto punto subjetivo por lo que no es recomendable como prueba única. Esta prueba, se basa en el aumento de conductividad eléctrica de la leche debido a su mayor contenido electrolítico especialmente iones de sodio y de cloro y se ha desarrollado como un método para monitorear el estado de la mastitis en la vaca. Se le encuentra como parte de algunos equipos de ordeño computarizados dentro de las salas de ordeño así como también en forma de medidores portátiles, lo que permite el monitoreo individual por cuarto. Permite la identificación de la mastitis clínica con precisión, pero en el caso de las mastitis subclínicas, la precisión es solo del 50% en comparación con los métodos estándar. Ver Figura N° 11.<sup>29</sup>

#### Papel indicador de mastitis

Este método, consiste en un papel sobre el que se hace caer directamente del pezón algunas gotas de leche, se consideran sospechosas las leches que dan una coloración correspondiente a un pH igual o superior a 7. La prueba descubre el 50% de las leches infectadas. Ver Figura N° 12.<sup>29</sup>



### Prueba de la hoja blanca

La mezcla de leche con una solución de NaOH (Hidróxido de sodio) al 4% ocasiona que la leche se gelifique formando grumos que son visibles. Los grumos serán más grandes conforme la leche contenga mayor número de células somáticas. Para hacer más visible la reacción es conveniente usar una placa de acrílico negra que puede tener dibujada 4 cuadros de 3cm x 3cm, uno por cada Cuarto.<sup>29</sup>

#### Procedimiento:

- a) Colocar 5 gotas de leche fría en el centro del cuadrito y agregar 2 gotas de la solución de NaOH al 4%.
- b) Mezclar vigorosamente, dispersando la leche en el cuadrito por medio de un palillo. Continuar mezclando por alrededor de 20 segundos y dar lectura al resultado.

Interpretación: Leche negativa a mastitis permanece líquida; leche positiva forma un precipitado que varía de ligero a muy denso y viscoso, correspondiendo al grado de infección del cuarto examinado. Ver Figura N° 13.<sup>29</sup>

### Métodos de conteo electrónico celular

Los métodos electrónicos tienen en la actualidad una aplicación universal, sobre todo en laboratorios de control lechero o dedicados al diagnóstico o investigación de la mastitis, utilizándose aparatos de recuentos celulares como el Bactoscan, Fossomatic y el Contador celular.<sup>29</sup>

#### Método fluoro-opto-electrónico (Fossomatic) y Contador celular

Estos dos aparatos poseen alta correlación con la microscopía óptica, por lo que proporcionan una medida segura en el recuento de células somáticas. Sin



embargo, se pueden presentar variaciones en el recuento debido a la diferencia de operación de cada uno de ellos.<sup>29</sup>

El Fossomatic basa su cálculo en la tinción fluorométrica del material nuclear, mientras que el Contador celular cuenta el número de impulsos eléctricos resultantes de las partículas que pasan entre dos electrodos. Es decir, cuenta partículas de un diámetro determinado, que para el caso serían las células, pero en el rango de recuento entrarían otras partículas, aumentando ligeramente el valor en comparación con el Fossomatic.

El Fossomatic consiste en el filtrado de una solución de leche mezclada con detergente (Tritón X-100 EDTA) a través de una membrana con poros finos. Un procedimiento colorimétrico basado en la reacción con el ADN de las células es entonces utilizado para determinar el contenido de ADN que esta relacionado directamente con el número de células presentes en la muestra inicial. Ver Figura N° 15.<sup>29</sup>

DeLavalContador celular.

El DeLavalContador celular (DCC) es un equipo portátil, que funciona con batería y posee un medidor óptico de células somáticas de la leche. Esto permite estudiar el estado de salud de la ubre de la vaca.

El equipo utiliza casetes los cuales succionan cantidades pequeñas de leche, ya dentro del casete, la leche se mezcla con reactivos que llegan al núcleo de las células somáticas, lo cual permite su conteo, mediante un sensor de fluorescencia. Esto se traduce en el número de células somáticas en leche, el cual aparece rápidamente en la pantalla del equipo. Ver Figura N° 15.<sup>29</sup>





#### 4.7 Tratamiento de Mastitis Bovina

Tratamiento durante el periodo seco.

Para evitar la presencia de antibióticos en leche, la mastitis subclínica bovina (diagnosticada por el grado de gelatinización que equivale a un elevado conteo celular) no suele tratarse durante la lactación, sino al inicio del periodo seco. En muchos casos desaparece al mejorar la higiene del ordeño, al revisar el equipo de ordeño y al cambiar las camas. En caso de que la incidencia sea muy alta (alto porcentaje de animales con un elevado número de células somáticas) es conveniente realizar un análisis microbiológico, con la finalidad de aplicar el tratamiento más específico y adecuado en el periodo más oportuno. La administración de antibióticos para el tratamiento de la mastitis clínica bovina efectúa con estrictas medidas de higiene (cánulas estériles, desinfección del conducto del pezón, etc.).<sup>29, 30</sup>

Tratamiento durante la lactación

Este tratamiento se aplica generalmente en los casos de mastitis clínica bovina, alcanzando una tasa de curación del 40 al 70%. Hay que considerar los tiempos de eliminación de la leche de vaca por contener residuos de antibióticos, ya que estos pueden resistir el tratamiento térmico de pasteurización o ultra pasteurización.<sup>29, 30</sup>

Una forma de diseminar microorganismos de una vaca a otra, o incluso de un hato a otro, son los tratamientos intramamarias inadecuados en la lactación, y/o periodo seco, contra patógenos causantes de mastitis. Hay que dar atención a medidas sanitarias, entre ellas la utilización de productos comerciales de un solo uso. Los frascos multi-dosis de las infusiones intramamarias han estado implicados en brotes de mastitis bovina por *micoplasmas* y *levaduras*.<sup>29, 30</sup>



La resistencia de los microorganismos ante los antimicrobianos es un problema serio que tenemos que entender y de ser posible tratar de minimizar aunque sabemos que no lo podemos eliminar. A medida que se incorporan nuevos antibióticos al mercado, se desarrolla resistencia a la mayor parte de ellos. Por razones que se desconocen *Streptococcus pyogenes* nunca ha desarrollado resistencia a Penicilina G. Hay que diferenciar el término resistente del término insensitivo (ó naturalmente resistente). Un organismo resistente es una cepa específica dentro de una especie usualmente sensible al antibiótico o que en el pasado lo ha sido. La insensibilidad obedece a una barrera natural para la penetración de antibiótico. Se entiende por resistencia, el mecanismo mediante el cual la bacteria puede disminuir la acción de los agentes antimicrobianos. Desde el punto de vista clínico se considera que una bacteria es sensible a un antibacteriano cuando la concentración de este en el lugar de la infección es al menos 4 veces superior a la concentración inhibitoria mínima (CIM) .<sup>29, 30</sup>

Hay bacterias que desarrollan resistencias con mayor facilidad que otras. De acuerdo con, la rapidez con que surgen los microorganismos multirre-sistentes no es igual a la velocidad con que surgen nuevos antibióticos.<sup>30</sup>

#### Tipos de resistencia

Natural o intrínseca. Es una propiedad específica de las bacterias y su aparición es anterior al uso de los antibióticos. Además, los microorganismos que producen antibióticos son por definición resistentes. En el caso de la resistencia natural todas las bacterias de la misma especie son resistentes a algunas familias de antibióticos y eso les permite tener ventajas competitivas con respecto a otras cepas y pueden sobrevivir en caso que se emplee ese antibiótico<sup>31</sup>.



Adquirida. La aparición de la resistencia en una bacteria se produce a través de mutaciones (cambios en la secuencia de bases de cromosoma) y por la transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias<sup>31</sup>.

En el primer caso, la resistencia se transmite de forma vertical de generación en generación.

En el segundo, la transferencia de genes se realiza horizontalmente a través de plásmidos u otro material genético movable como integrones y transposones; esto último no solo permite la transmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas. De esta forma una bacteria puede adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con estos<sup>31</sup>.

#### MECANISMOS DE RESISTENCIA

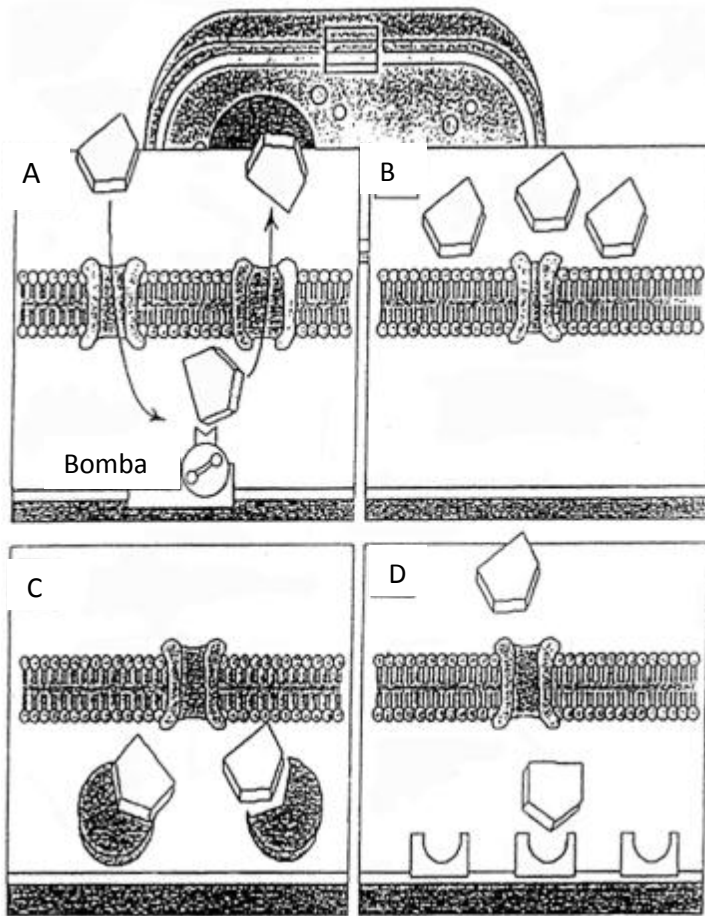
Las bacterias han desarrollado varios mecanismos para resistir la acción de los antibióticos. El primero de ellos es por la posición de un sistema de expulsión activa del antimicrobiano, una especie de bomba expulsora que utilizan las bacterias para la excreción de productos residuales o tóxicos, con la que puede eliminar además muchos de estos agentes antibacterianos.<sup>31</sup>

El segundo, se realiza mediante la disminución de la permeabilidad de la pared bacteriana, con la pérdida o modificación de los canales de entrada (porinas).

La producción de enzimas inactivantes de los antibióticos constituye el tercer mecanismo.<sup>31</sup>. Algunos antibióticos ejercen su acción contra las bacterias uniéndose a una proteína esencial para la supervivencia de estas. La resistencia bacteriana se produce cuando el germen modifica la proteína diana, y cambia su función o produce enzimas distintas.<sup>31</sup>



### *Mecanismo de resistencia bacteriana*



A: Mecanismo por expulsión.

B: Disminución de la permeabilidad de la pared bacteriana

C: Producción de enzimas inactivantes.

D: Modificación de la proteína diana

Principios generales de la terapéutica antimicrobiana  
Fuente: Referencias 30

### Causas del mal uso de antimicrobianos y su vinculación con la generación de bacterias resistentes

1. Uso de antibióticos cuando no son necesarios: Es algo bastante frecuente y está estrechamente vinculado con diagnósticos incorrectos<sup>31</sup>.



2. No se indica dosis a la persona que aplicará el medicamento. La dosis queda librada al criterio de la persona a cargo del tratamiento, que en muchos casos no está capacitada para tomar ese tipo de decisiones<sup>31</sup>.
3. Dosis incorrecta: Puede ser elevada o baja. Si la dosis es elevada, estando el producto bien seleccionado, lo mismo que los intervalos y la duración del tratamiento, es probable que el problema final sea solamente la pérdida de dinero en droga ineficiente (aunque no debemos descartar los riesgos de toxicidad). El caso de la dosis baja es más problemático. Aquí aun cuando los intervalos sean correctos y la duración del tratamiento también, los riesgos aumentan (además, es difícil que, si la dosis calculada resulto baja, los intervalos sean los correctos). Dependiendo del tipo de droga de que se trate, esa dosis baja repercutirá probablemente en la selección de bacterias resistentes<sup>31</sup>.
4. Intervalo entre dosis. Si el intervalo es demasiado corto, habrá una acumulación de droga y los niveles serán demasiado elevados, el tratamiento puede ser exitoso, pero puede haber riesgos de toxicidad y, por supuesto pérdida de dinero en medicamento. Si el intervalo, por otra parte, es demasiado largo, las concentraciones de droga activa caerán por debajo de las necesarias durante un período demasiado largo y eso llevará al fracaso terapéutico<sup>31</sup>.
5. Duración del tratamiento. Aquí tenemos un punto realmente crítico, dado que, si el tratamiento es demasiado largo, corremos el riesgo de seleccionar bacterias resistentes. Por otra parte, si el tratamiento es demasiado corto, seguramente fallará la terapia<sup>31</sup>.
6. Uso de medicamentos de mala calidad. Aun cuando todo lo que hace a diagnóstico y dosificación sea correcto, si se elige un medicamento de mala calidad, no controlado, no trazable, es muy probable que fracasemos



terapéuticamente. Cuando el que se usa es un medicamento de mala calidad, aún en el éxito, no podemos confiar en él, pues si pretendemos usarlo nuevamente en las mismas condiciones, probablemente fracasemos, dado que obtendremos una respuesta diferente.<sup>31</sup>

## PREVENCIÓN DE LA RESISTENCIA BACTERIANA

1. Uso racional de los antibióticos mediante la educación a los médicos y la población.
2. Establecimiento de programas de vigilancia para detectar la aparición de cepas resistentes, y mejoramiento de la calidad de los métodos de susceptibilidad<sup>9</sup>.
3. Racionalización del empleo de los antibióticos en la medicina veterinaria para la producción de alimento animal.
4. Rotación cíclica de antibióticos.
5. Cumplimiento estricto de las medidas de prevención y control de las infecciones<sup>9</sup>.

### 4.8. PREVENCIÓN, CONTROL Y PROFILAXIS.

Un plan profiláctico y de control debe estar orientado a prevenir que sucedan nuevas infecciones y a combatir las existentes<sup>16</sup>.

La disminución de patógenos contagiosos se puede reducir al mínimo mediante la higiene apropiada antes, durante y después del ordeño.

La higiene preordeño incluye la limpieza de los pezones con agua potable, añadir yodo a razón de 25 a 75 ppm en el agua para el lavado, se debe mezclar la concentración adecuada para evitar las irritaciones. El lavado debe hacerse con toallas individuales. Seguidamente el secado completo de el tejido mojado, con papeles individuales desechables<sup>24</sup>.



El ordeñador debe lavarse las manos después del lavado de los pezones de una vaca y antes del lavado de la siguiente. Los baños de los pezones solo pueden contribuir a evitar las infecciones intramamarias nuevas y no influirán en la duración de las infecciones existentes<sup>16, 24</sup>.

La eliminación de los primeros chorros de leche se debe realizar antes o durante la limpieza del preordeño asegurándonos de no dejar caer esta leche en el piso de la sala del ordeño para evitar la diseminación de la enfermedad<sup>24</sup>.

Se debe intentar tener la infraestructura adecuada para realizar los ordeños incluyendo la sala de ordeño.

Debemos reducir los reservorios de la infección, manteniendo el ambiente lo mas limpio posible. Reducir los números de vacas que son portadoras de organismos contagiosos, mediante terapias de desinfecciones de los pezones después del ordeño y mediante el sacrificio selectivo. Optimizar la defensa del hospedador incluyendo el mantenimiento de los pezones y de los extremos del pezón en buen estado. Si en el hato se presentan casos evidentes de mastitis ya sea en la forma clínica o aguda, se debe separar a las vacas afectadas de las sanas poniéndolas en cuarentena y realizar el tratamiento indicado para combatir la enfermedad<sup>16, 24</sup>.

Es necesario para mantener un margen mínimo de la prevalencia de esta enfermedad llevar un control con la ayuda de los distintos exámenes para la detección de la enfermedad y realizarlas periódicamente. La prueba de CMT o test mastitis de california es la más recomendable por ser una prueba rápida de campo, fácil de manejar, y por su bajo costo<sup>16</sup>.

Si se cuenta con fuentes de agua como pozos, en el caso de agua almacenada como pilas cambiar el agua diariamente para mantener la limpieza, lavar las pilas y encalarla periódicamente, y en el caso de los pozos clorar, mantenerlos cubierto para evitar la penetración de objetos que alteren la composición del agua. Se



deben realizar cultivos periódicamente del agua y remplazar tuberías estropeadas o muy antiguas<sup>16</sup>.

Es importante estimular el sistema inmune en el periodo pre y posparto mediante la aplicación de vitamina E, selenio y vitamina A, así como de microminerales relacionados con el sistema inmune como Se, Zn, Cu, Co y Mn<sup>24</sup>.

Vacunas: La aplicación de la bacterina J5 se ha utilizado para la disminución de la incidencia de mastitis por Coliformes en algunos hatos. Sin embargo no ha sido muy efectiva debido a que esta vacuna está diseñada específicamente para un agente mientras que la mastitis es ocasionada por distintos patógenos<sup>16, 24</sup>.

## 5 Fármacos utilizados

### 5.1 Antibióticos $\beta$ - lactámicos

El grupo de los antibióticos  $\beta$ - lactámicos es uno de los mejor conocidos y ampliamente utilizados. Su utilidad y popularidad se debe a su escasa toxicidad, alta eficacia, bajo costo y disponibilidad de una amplia gama de formas farmacéuticas. Aunque hoy en día las Penicilina y las Cefalosporinas son los antibióticos  $\beta$ -lactámicos mas utilizados, los últimos años se han desarrollados nuevos  $\beta$ -lactámicos .entre ellos se destacan los inhibidores de la  $\beta$ -lactámase (ej: acidoclavulanico) la carbapenemas (ej: imipenem) y los monobactámicos (ej: aztreonam).<sup>32, 34</sup>

#### Mecanismo de acción

Los antibióticos  $\beta$ - lactámicos ejercen su efecto bactericida inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana y destruyendo la integridad de la misma. Actúan sobre unas enzimas de la pared bacteriana que se conoce como proteínas ligadas a las penicilinas o PLPLas cuales están implicadas en las fases finales de la síntesis de la pared bacteriana. Existen diferentes clases de PLP en cada especie bacteriana,





habitualmente entre 2 y 8 tipos diferentes. Algunas de estas proteínas son *transpeptidasas*, y su misión es mantener integra la pared celular.<sup>32, 34</sup>

#### Mecanismo de resistencia

Son tres los factores que determinan la sensibilidad bacteriana a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos:

La producción de  $\beta$ -lactámase: son enzimas que inactivan estos fármacos por hidrólisis del anillo  $\beta$ -lactámico, algunas  $\beta$ -lactámase son específicas para las penicilinas (penicilinasas) otras de las cefalosporina (cefaloporinasas), hay dos mecanismos de producción de  $\beta$ -lactámase: la asociada a genes cromosómicos y la ligada a plásmidos<sup>32</sup>.

Permeabilidad de la pared celular.

Las bacterias Gram negativas pueden producir una pared celular con una membrana exterior modificada menos permeable a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos

Sensibilidad de las proteínas de unión a penicilinas.

Algunas bacterias tienen una menor sensibilidad de las proteínas de unión de penicilinas y al fallo de los fármacos para inhibir el mecanismo de síntesis de la pared celular<sup>34</sup>

#### Farmacocinética

Estos fármacos se administran por vía parenteral, debido a su fácil desactivación por hidrólisis en el medio ácido gástrico.

Tras la administración intramamaria, una parte se absorbe durante las primeras horas, las concentraciones sanguíneas son considerablemente más altas cuando el antibiótico se administra en los cuartos afectados que cuando se administra en los normales. El suero juega un papel importante en la transferencia del antibiótico de cuarterones tratados a lo no tratados. Los fármacos  $\beta$ -lactámicos y sus



metabolitos se excretan en la orina por filtración glomerular y preferentemente por secreción en los túbulos renales, también se eliminan en la leche.<sup>32, 34</sup>

### Amoxicilina (Aminopenicilinas)

Las Aminopenicilinas son fármacos de uso popular en medicina veterinaria debido a su mayor espectro de actividad, que incluye gérmenes Grampositivos y Gramnegativos. En este grupo de fármacos se incluye la amoxicilina<sup>34</sup>.

### Espectro de actividad.

Las Aminopenicilinas pueden atravesar la capa externa de las bacterias Gramnegativas mejor que lo hace la bencilpenicilina. Por ello, su espectro no solo incluye a Grampositivos, como: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Bacilos* y *Clostridios*, sino que también es eficaz frente a *Escherichia coli*, y algunas especies del género *Salmonella*. Estos fármacos son realmente eficaces frente a la mayoría de los microorganismos anaerobios, con la excepción de *Bacteroides* productores de  $\beta$ - lactámase. El uso frecuente de estos fármacos ha llevado al desarrollo de resistencias, en particular debido a la síntesis de  $\beta$ - lactámase por parte de microorganismos bacterianos. Por este hecho, su combinación con fármacos inhibidores de la  $\beta$ - lactámase, como el ácido clavulánico, da lugar a un aumento considerable de su eficacia<sup>32</sup>.

### Administración.

Existen diversas formulaciones de estos productos para administración oral y parenteral la amoxicilina es estable en el medio ácido gástrico, la biodisponibilidad se reduce en presencia de alimento. La administración por vía parental es rápida, y la biodisponibilidad es alta, en torno al 100%. Sin embargo. Existen diferencias asociadas al tipo de formulación<sup>34</sup>.



### Efectos secundarios.

Son antibióticos de baja toxicidad, el efecto secundario mejor conocido es la reacción alérgica que se puede producir tras la administración del fármaco a animales previamente sensibilizados y que es más común cuando se emplea la vía parenteral que la vía oral, la administración oral puede producir vómitos y diarrea<sup>32</sup>

### Uso clínico.

En rumiantes, se utilizan para el tratamiento de las mastitis. La combinación de estos fármacos con inhibidores de la  $\beta$ -lactamasas les proporciona un mayor espectro de acción frente a gérmenes gramnegativos y es, por tanto, recomendable en infecciones causadas por *E. Coli*, *Klebsiella* y *Proteus*. El espectro de acción de estos fármacos no incluye especies del género *Pseudomonas*.<sup>32</sup>

### Cefalosporinas

Las cefalosporinas son antibióticos de amplio espectro de acción que se utilizan para el tratamiento de una amplia gama de infecciones en animales.

### Mecanismo de acción

El mecanismo de acción de las cefalosporinas es similar al del resto de fármacos  $\beta$ -lactámicos. Su unión a la PLP de la pared bacteriana interrumpe el proceso de formación de ésta durante la división celular, dando lugar a la muerte de la bacteria. El espectro de actividad de las cefalosporinas varía según la generación a la que pertenezcan; pero, en general, muestran actividad antibacteriana frente a estafilococos productores de  $\beta$ -lactamasas y frente a bacterias Gramnegativas, como las enterobacterias.<sup>34</sup>



### Cefalexina (Cefalosporinas de primera generación)

Este subgrupo incluye a la *Cefalexina*; las cefalosporinas de primera generación tienen la máxima actividad entre todas las cefalosporinas frente a bacterias Grampositivas, entre las que se incluyen *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* y otros estafilococos productores de  $\beta$ - lactámase. Son activas frente a algunos microorganismos gramnegativos (*E. Coli*, *Klebsiella*, *Proteus mirabilis*), pero las resistencias de estos son bastante comunes por lo que las cefalosporinas de primera generación no se pueden considerar muy eficaces frente a organismos gramnegativos<sup>32</sup>.

### Ceftriaxona (Cefalosporinas de tercera generación)

Las cefalosporinas de tercera generación incluyen a la ceftriaxona, son las más eficaces frente a bacterias Gramnegativas resistentes a otros antibióticos. La actividad de este subgrupo frente a bacterias Grampositivas no es superior a la de otros grupos e incluso existen indicios de que esta actividad podría ser inferior. La actividad frente a *Staphylococcus* y *Streptococcus*, es muy variable en los miembros de este subgrupo<sup>32</sup>.

Todas las cefalosporinas miembros de este subgrupo se pueden administrar por vía parenteral y dos de ellas (cefepodoxima y cefixima) están disponibles para administración oral.

Algunas de las cefalosporinas de tercera generación tienen una semivida más prolongada que las de generaciones previas, lo que permite su administración menos frecuente.



### Vancomicina (Glucopéptidos)

Es un antibiótico Glucopéptidos, obtenido del *Streptomyces orientalis* en 1956. Su importancia en terapéutica anti infecciosa está aumentando en los últimos años debido al incremento en la aparición de *S. aureus* resistente a Cloxacilina.<sup>33</sup>

La emergencia de cepas multirresistentes de *enterococos* y *Staphylococcus* en las últimas décadas ha llevado a la utilización de este fármaco en medicina humana como en veterinaria, como último recurso en el tratamiento de infecciones por los mencionados microorganismos. Por tanto, y para evitar la transmisión de resistencias entre animales y seres humanos, se ha prohibido su uso en animales de abasto en la mayoría de los países<sup>32</sup>

### Mecanismo de acción

Inhiben la síntesis del peptidoglucano en un paso previo al de los  $\beta$ -lactámicos. Evitan el proceso de polimerización necesario para que el complejo disacárido-pentapéptido se separe del fosfolípido de la membrana, como consecuencia se acumula el intermedio lipídico unido a la membrana citoplasmática de la bacteria. Además, la Vancomicina altera la permeabilidad de la membrana e inhibe la síntesis de ARN. Su acción es bacteriostática cuando se administra sola, pero es bactericida cuando se administra junto con aminoglucósidos, con los que muestra sinergia<sup>33</sup>.

### Mecanismo de resistencia

Su creciente utilización ha condicionado la aparición de las primeras bacterias resistentes a este antibiótico, habiéndose demostrado su existencia en *enterococos* y *Staphylococcus*, fundamentalmente coagulasa-negativos.<sup>33</sup>



### Actividad antimicrobiana

Se limita a bacterias Gram positivas, en especial frente a *Staphylococcus* que son resistentes a otros fármacos. Algunos *Staphylococcus coagulasa-negativos* como el *S. haemolyticus* son relativamente resistentes a la Vancomicina. Son también sensibles los *Streptococcus*, excepto el enterococos, que habitualmente requiere concentraciones altas de Vancomicina, por lo que con frecuencia se asocia a un aminoglucósido por su acción sinérgica, los *Clostridium* (incluido *C. difficile*), *Bacillus anthracis*, *Actinomyces* y *C. diphtheriae*. Su actividad se extiende a los microorganismos anaerobios Gram positivos, pero no a los gramnegativos.<sup>32,33</sup>

### Farmacocinética

La Vancomicina no se absorbe por vía oral en la cantidad exigida para el tratamiento de infecciones sistémicas, por tanto, solo se usa en infusión intravenosa lenta, pues es un irritante tisular. La inyección intramuscular es muy irritante y dolorosa. Se elimina fundamentalmente por filtración glomerular en el riñón. Una pequeña porción se elimina a través de la bilis.<sup>32, 33</sup>

### Efectos secundarios.

Cuando se administra en la forma óptima, los efectos secundarios son mínimos; pero después de una administración intravenosa rápida, eritema, prurito, taquicardia, otros efectos son su nefrotoxicidad y ototoxicidad.<sup>32</sup>

## 5.2 Inhibidores de la síntesis de proteína

### Oxitetraciclina (Tetraciclinas)

Las tetraciclinas son uno de los grupos clásicos de antibióticos de amplio espectro, ya que son efectivas contra bacterias Gramnegativos, tanto aerobias como anaerobias, así como contra Gram positivas. Actualmente suelen usarse como antibióticos de primera elección preferentemente en rumiantes.<sup>32</sup>



### Mecanismo de acción

Está perfectamente establecido que las tetraciclinas actúan como agentes bacteriostáticos inhibiendo la síntesis de proteínas en las células bacterianas. Las tetraciclinas inhiben la síntesis de las proteínas bacterianas por fijarse a la subunidad ribosómica 30 S. Bloquean la fijación del aminoacilARNt al sitio aceptor del complejo ARNm-ribosoma y en consecuencia, la adición de nuevos aminoácidos a la cadena peptídica en crecimiento. El resultado es que se impide la adición de aminoácidos a la cadena peptídica en formación, lo que inhibe la elongación de la cadena.<sup>32, 33</sup>

### Resistencia

La resistencia adquirida a las tetraciclinas se ha extendido considerablemente entre muchas bacterias, lo que ha reducido drásticamente su utilidad. La base de esta resistencia está relacionada con la alteración del sistema de transporte activo de las tetraciclinas hacia el citoplasma, y el bombeo del antibiótico hacia el exterior. La protección del ribosoma a través de una proteína citoplasmática que impide la actuación del antibiótico sobre la subunidad de 30 S. Esta resistencia al parecer está mediada por plásmidos y es inducible. Otro de los mecanismos más extendidos, y, aunque menos frecuente, la síntesis de enzimas inactivadoras. La resistencia puede ser cruzada entre los diferentes fármacos de esta familia.<sup>32, 33</sup>

### Farmacocinética

La mayoría de las tetraciclinas puede administrarse por vía oral, la absorción de las tetraciclinas se realiza en las primeras porciones del intestino delgado. La absorción de las tetraciclinas puede interferirse de forma notable si se administran junto con alimentos u otras sustancias que contengan cationes divalentes o trivalentes: calcio, magnesio, manganeso, aluminio, cinc o hierro. Aunque se utilizan también las vías intramuscular (IM) e intravenosa (IV). La vía IM se utiliza únicamente con la tetraciclina y la Oxitetraciclina, ya que las demás provocan



abscesos estériles. La administración intravenosa debe realizarse lentamente para evitar el riesgo de aparición de un colapso cardiovascular, probablemente debido a la fijación del calcio por las tetraciclinas.

Se excretan por orina, bilis, lágrimas, saliva y leche principalmente en forma activa.<sup>32, 33</sup>

### Toxicidad

Aunque en general las tetraciclinas son fármacos relativamente seguros, no están exentos de efectos secundarios sobre los tejidos del organismo, su capacidad de alteración de la micro flora intestinal, y sus efectos tóxicos sobre las células hepáticas y renales. El tratamiento con Oxitetraciclina puede dar lugar a la aparición de fotodermatitis. La administración por vía IM resulta muy dolorosa y por vía IV puede producir tromboflebitis.<sup>32, 33</sup>

### Gentamicina (Aminoglucósidos)

Los Aminoglucósidos son un amplio grupo de sustancias antibacterianas de utilidad para tratar principalmente infecciones debidas a bacterias Gramnegativas aerobias. El uso de la mayoría está limitado por sus notables efectos tóxicos, especialmente en el riñón, el oído y el aparato vestibular. Dentro del grupo de antibióticos que actúan inhibiendo la síntesis de proteínas, son los únicos claramente bactericidas en concentraciones terapéuticas.<sup>32</sup>

### Mecanismo de acción

Para ejercer su acción, los aminoglucósidos tienen que penetrar en el interior de las bacterias; esto ocurre por un proceso activo puesto que estos antibióticos son compuestos catiónicos, hidrófilos, que pasan con dificultad las membranas por simple difusión pasiva. La inhibición de la síntesis de proteínas por los Aminoglucósidos se basa en la unión, mucho mas fuerte que con ningún otro





inhibidor de la síntesis proteica, a la subunidad de 30 S del ribosoma bacteriano.<sup>32,33</sup>

### Resistencia

La resistencia a los Aminoglucósidos está muy extendida entre muchos grupos bacterianos. Aunque existen varios mecanismos de resistencias, los más importantes y más extendidos están relacionados con la síntesis de enzimas. La modificación enzimática puede tener al menos dos consecuencias: bloqueo en el paso del antibiótico a través de la membrana y formación de un compuesto inactivo incapaz de alterar las funciones de los ribosomas. Existen tres clases de enzimas reconocidas como origen de resistencias a los Aminoglucósidos, las fosfotransferasas, acetiltransferasas y adeniltransferasas que fosforila, acetilan o adenilan, respectivamente, los grupos hidroxilo o amino libres e impiden la unión del antibiótico al ribosoma. Otro mecanismo de resistencia es la reducción en el acceso de los aminoglucósidos al citoplasma bacteriano. Se debe a la alteración de los sistemas de transporte.<sup>32, 33</sup>

### Indicaciones terapéuticas

Los Aminoglucósidos son activos principalmente contra bacterias Gramnegativas aerobias, aunque algunos son también activos contra algunos Grampositivos.

La Gentamicina es también efectiva frente a miembros de la familia *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonas aeruginosa*, pero es potencialmente neurotóxica, lo que limita seriamente su utilidad.

La Gentamicina tiene una potencial toxicidad para el riñón.<sup>32,33</sup>



## Farmacocinética

Por ser sustancias intensamente básicas, el pH del estómago y del intestino delgado están muy ionizadas, por lo que su absorción es casi nula. Por la naturaleza polianiónica de los Aminoglucósidos, que los hace muy hidrosolubles y muy poco liposolubles, por lo que atraviesan las membranas biológicas muy lentamente. La unión de los aminoglucósidos a las proteínas plasmáticas es muy escasa. Los aminoglucósidos no son metabolizados, siendo excretados por filtración glomerular en forma activa y, en pequeña cantidad, reabsorbidos en el túbulo renal.<sup>32, 32</sup>

## Toxicidad

Son antibióticos de toxicidad elevada, lo que constituye una limitación importante para su utilización. Los Aminoglucósidos presentan cuatro tipos de efectos secundarios relacionados con la dosis administrada: a) daños celulares en los túbulos proximales del riñón, b) destrucción de las células sensitivas de la cóclea, c) destrucción de las células sensitivas del aparato vestibular, y d) parálisis neuromuscular.

La nefrotoxicidad aparece sobre todo después de un tratamiento prolongado y con concentraciones plasmáticas elevadas.<sup>32, 33</sup>

## Eritromicina (Macrólidos)

Este grupo tiene una actividad antimicrobiana elevada especialmente contra bacterias Gram positivas. La eficacia de alguno de estos antibióticos, como la Eritromicina, ha llevado al desarrollo de nuevos antibacterianos de última generación.<sup>32,33</sup>



### Mecanismo de acción

Debido a su estructura común, todos los Macrólidos actúan bloqueando la síntesis de proteínas mediante inhibición de la translocación por unión reversible a la subunidad ribosómica de 50 S (la proteína L27) el efecto reversible sobre la peptidiltransferasa. La Eritomicina bloquea el proceso de translocación del peptidil-ARNt en el ribosoma. La mayoría de los Macrólidos, en concentraciones terapéuticas, actúan como bacteriostáticos, aunque algunos, como la Eritromicina, pueden actuar también como bactericidas, dependiendo de la concentración y de la sensibilidad específica de cada microorganismo.<sup>32, 33</sup>

### Resistencia bacteriana

La resistencia a los Macrólidos es relativamente frecuente en muchos patógenos y puede aparecer durante el tratamiento.

La aparición de resistencias puede deberse a diferentes mecanismos:

- a) Muchas bacterias Gram negativas(enterobacterias) son intrínsecamente resistentes a la Eritromicina debido a la dificultad de este antibiótico, una base débil, para atravesar la membrana externa de la pared bacteriana.
- b) Mutación cromosómica que provoca alteraciones en el sitio de fijación de la subunidad 50 S, por lo que disminuye la afinidad a la Eritromicina. Este tipo de resistencia se produce en un solo paso y se ha demostrado en *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli*; probablemente ocurre también en *Staphylococcus aureus*.
- c) Alteraciones en el ARN ribosómico de la subunidad 50 S, mediadas por la transferencia de plásmidos que contienen el gen de una ARNmetilasa capaz de metilar la adenina. Esta modificación reduce también la fijación del antibiótico a la subunidad ribosómica. La particularidad de este mecanismo consiste además, en que la ARN-metilasa es inducible por pequeñas concentraciones de la propia Eritromicina, insuficientes para ejercer su acción antibacteriana,



con lo cual resulta ineficaz la siguiente exposición de la bacteria a concentraciones inhibitoras de Eritromicina. Se ha demostrado este mecanismo en *S. aureus* y probablemente exista en *Streptococcus pyogenes* y *Enterococcus faecalis*.

Además se han descrito mecanismos de inactivación enzimática de los Macrólidos por esterazas y fosforilasas bacterianas.<sup>32, 33</sup>

#### Farmacocinética.

La mayoría de los Macrólidos se absorbe bien por vía gastrointestinal o parenteral. La Eritromicina se absorbe fácilmente en la primera porción del intestino delgado, pero el compuesto básico es inactivado por el ácido gástrico, por lo que debe administrarse en presentaciones con cubiertas entérica que se disuelven en el intestino, o bien en forma de ésteres o estearatos. La presencia de alimentos modifica de forma notable la biodisponibilidad de todas estas preparaciones. La administración intramuscular es dolorosa y provoca irritación tisular, por lo que es preferible la vía intravenosa para la administración IV se utiliza en forma de gluceptato o lactobionato, sales más solubles en agua, con las que se alcanzan concentraciones plasmáticas mayores que las correspondientes a la misma dosis administrada por vía oral<sup>32</sup>.

A pesar de su peso molecular relativamente alto, la liposolubilidad de los Macrólidos es suficientemente alta como para que atraviesen fácilmente muchas membranas, por lo que se distribuye por todo el organismo y pueden lograr concentraciones antibacterianas en casi todos los tejidos. La Eritromicina alcanza concentraciones mayores en el interior de las células que en el líquido extracelular. La Eritromicina atraviesa la barrera placentaria, alcanzando en el feto concentraciones plasmáticas aproximadamente del 2 % en relación con la concentración materna, pero se pueden encontrar concentraciones mayores en los



tejidos fetales y en líquido amniótico. El fármaco se elimina por la leche materna, donde alcanza concentraciones aproximadamente del 50 % de la plasmática<sup>33</sup>.

La biotransformación no es un factor importante en este grupo de fármacos, y la eliminación se produce fundamentalmente a través de la bilis, y solamente en un 3-5 % a través de la orina. Parcialmente puede reabsorberse en el intestino eliminándose por heces en gran proporción.<sup>32,33</sup>

#### Toxicidad

La Eritomicina es un antibiótico relativamente seguro en su utilización, con pocos efectos secundarios aunque tras la administración de Eritomicina puede aparecer dolor abdominal, a veces muy intenso, en ocasiones acompañado de náuseas, vómitos y/o diarrea. Estas alteraciones pueden producirse tanto tras la administración oral como parenteral y parece que se deben a un efecto estimulante del fármaco sobre la motilidad gastrointestinal<sup>32,33</sup>

### 5.3 Antimicrobianos que inhiben la función de los ácidos nucleicos

#### Enrofloxacin (Fluoroquinolonas)

Las Fluoroquinolonas son sustancias anfóteras. Su hidrosolubilidad es baja, y en medios ácidos pueden precipitar.<sup>33</sup>

#### Actividad antimicrobiana

El espectro de todas las Fluoroquinolonas es considerablemente más amplio e incluye bacterias aerobias Gramnegativas y algunos microorganismos Grampositivos, aunque tienen capacidad limitada frente a *Streptococcus* y *Enterococcus*, y solo una actividad débil frente a bacterias anaerobias obligadas.

Una ventaja de las fluoroquinolonas es que no destruyen los *enterococcus* intestinales comensales.<sup>32</sup>



### Mecanismo de acción

Las Fluoroquinolonas inhiben la enzima ADN-girasa topoisomerasa de tipo II. Las Fluoroquinolonas son bactericidas, y tienen un inicio de acción rápido. Este rápido comienzo de la acción sería valioso particularmente en animales inmunodeprimidos.

Las Fluoroquinolonas penetran en la flora bacteriana de forma rápida a través de porinas; subsecuentemente atraviesan la membrana citoplasmática, proceso que se ve facilitado por la alta liposolubilidad de estas moléculas. Las concentraciones en el interior de la célula bacteriana se equilibran rápidamente. Los cationes bivalentes, calcio y magnesio, antagonizan, probablemente por un efecto quelante, la acumulación de Fluoroquinolonas en el interior de la bacteria.<sup>32, 33</sup>

### Farmacocinética

Las Fluoroquinolonas se comportan como bases débiles. Las Fluoroquinolonas absorben bien por vía oral, aunque la presencia de alimentos no reduce de forma significativa la absorción oral, puede retrasar el tiempo necesario para alcanzar la concentración plasmática máxima. Su carácter lipófilo determina sus propiedades farmacocinéticas. Se absorben bien por vía oral, intramuscular y subcutánea; su absorción desde el tracto digestivo en poligástricos y monogástricos de transición (equinos) es menor que monogástricos, siendo la biodisponibilidad en rumiantes adultos del orden del 10 %. La absorción gastrointestinal se reduce por la presencia de iones bivalentes, como  $\text{Ca}^2$  (calcio) y  $\text{Mg}^2$  (magnesio)<sup>32</sup>.

Las Fluoroquinolonas se metabolizan en el hígado, donde el grado de biotransformación depende del compuesto y de la especie. Generalmente sufren reacciones de hidroxilación y de oxidación, que las transforman en oxoquinolonas, las cuales se someten posteriormente a reacciones, consistentes en conjugación con ácido glucurónico. Los glucuronoconjugados sintetizados son excretados en la



orina y la bilis. Las Fluoroquinolonas atraviesan la placenta y se concentran en el líquido amniótico. Se eliminan por la leche<sup>33</sup>.

La semivida de estos compuestos esta en el intervalo de 2-7 horas, dependiendo del compuesto y la especie, algunos metabolitos tienen actividad antimicrobiana así, la Enrofloxacin se convierte en Ciprofloxacin.<sup>32, 33</sup>

### Toxicidad

En general las Fluoroquinolonas ofrecen un amplio margen de seguridad en mamíferos y aves no existe informe de efectos adversos en la reproducción o la gestación aunque se desaconseja su empleo en animales gestantes por su toxicidad para el cartílago en desarrollo, las Fluoroquinolonas desencadenan convulsiones en algunos animales.<sup>32, 34</sup>

Clasificación de los antimicrobianos de acuerdo con su potencial de distribución a la glándula mamaria después de su aplicación intramamaria y parenteral.

| Vía parenteral |                                                                                                                                                                                                                       | Vía intramamaria |                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Buena          | Sulfanilamida,<br>Eritromicina,<br>Oleandomicina<br>Tilosina<br>Espiramicina<br>Lincomicina<br>Clindamicina<br>Cloranfenicol<br>Trimetoprim<br>Tianfenicol<br>Florfenicol<br>Enrofloxacin<br>Norfloxacin<br>Tiamulina | Buena            | Fluoroquinolonas<br>Sulfanilamida<br>Dapsona<br>Nitrofuranos<br>Eritromicina<br>Oleandomicina<br>Tilosina<br>Espiramicina<br>Lincomicina<br>Clindamicina<br>Ampicilina<br>Amoxicilina<br>Hetacilina<br>Cefalexina<br>Cloranfenicol<br>Trimetoprim<br>Novobiocina |
| Limitada       | Penicilina G<br>Cloxacilina                                                                                                                                                                                           | Limitada         | Penicilina G<br>Cloxacilina                                                                                                                                                                                                                                      |



|      |                                                                                                                      |      |                                                                                                                    |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      | Ampicilina<br>Amoxicilina<br>Cefalosporinas<br>Tetraciclinas<br>Novobiocina<br>Rifampicina<br>Acidofusídico          |      | Cefoxazol<br>Cefalonium<br>Cefapirina<br>Cefacetrilo<br>Tetraciclinas                                              |
| Baja | Estreptomina<br>Neomicina<br>Kanamicina<br>Aminosidina<br>Espectinomina<br>Gentamicina<br>Polimixinas<br>Vancomicina | Baja | Bacitracina<br>Tirotricina<br>Estreptomina<br>Neomicina<br>Kanamicina<br>Aminosidina<br>Gentamicina<br>Polimixinas |

Fuente: Adaptado de Ziv.





## VII. MATERIAL Y METODO.

**Tipo de estudio:** descriptivo de corte transversal

**Área de estudio:** Municipio de Nagarote departamento de León. Municipio del viejo departamento de Chinandega.

**NAGAROTE:** con una Extensión Territorial de 598.38 Km<sup>2</sup>, esta ubicado a 42 Km de la Capital y 50 Km de la Cabecera municipal León, con una Posición Geográfica es de 12° 15' de latitud norte y 86°33' longitud oeste. Una Altura aproximada 75.69 m.s.n.m. con una población 33,806 de habitantes su Economía predominante son: Ganadería, Agricultura y comercialización de quesillos (producto elaborado a base de leche), su Clima seco, con lluvias aleatorias de verano que favorecen una vegetación nativa del tipo Sabana Tropical y algunos bosques tropicales Caducifolios. Sus suelos son calcáreos poco propicios para la explotación agrícola intensiva y favorecedores de una ganadería extensiva. La temperatura general del municipio es caliente y oscila en un promedio anual entre los 37.2° y 39.2°C.

**EL VIEJO:** con una extensión territorial de 1,274.91 Km<sup>2</sup>, ubicado a 139 kilómetros de la ciudad capital Managua y a 7 kilómetros de la ciudad de Chinandega, su posición geográfica es de 12° 40" de latitud y de 87° 10" de longitud con una altura aproximada a 43 metros sobre el nivel del mar. Con una Población de 83, 856 habitantes siendo el 48.67% de población urbana y el 51.33% de población rural. La economía del municipio se basa principalmente en la actividad Agropecuaria y se inicia en la actividad Acuicola. El municipio presenta un clima subtropical cálido caracterizado por una marcada estación seca de seis meses durante los meses de noviembre a abril, este clima es definido como sabana tropical, las temperaturas promedio son de 24 a 38° C y con una precipitación pluvial promedio anual de 750 a 2000 mm.

El presente estudio fue realizado en la estación lluviosa.



**Población de Estudio:** En Nagarote 31 fincas con 375 vacas en ordeño, de fincas asociadas al centro de acopio ASOCANA mientras en el viejo 20 fincas con 291 vacas en ordeño, de fincas asociadas al centro de acopio de Santo Tomas.

**TAMAÑO DE LA MUESTRA:** Se calculo en base a la población de vacas que abastecen a los centros de acopios lecheros de occidente de Nicaragua a los cuales se les aplico 95 % de nivel de confianza, 5 % de error y una prevalencia esperada de 50% obteniéndose un tamaño muestral de 358 posteriormente se aplicó un muestreo estratificado en el que se obtuvo una fracción muestral de 0.068 el cual fue aplicado a cada una de las poblaciones de los centros de acopio incluidos en este estudio proporcionando un tamaño muestral de 19 para santo tomas ( El viejo) y 26 para ASOCANA(Nagarote).

**SELECCIÓN DE LA MUESTRA:** las vacas seleccionadas para el estudio microbiológico fueron seleccionadas mediante un muestreo aleatorio simple dentro de cada finca tomando en cuenta la proporcionalidad (fracción muestral)

**CRITERIOS DE INCLUSION:**

1. Vacas con reacción positiva al CMT en al menos un cuarto.
2. Vacas en producción lechera y que abastezcan a los centros de acopio participantes.
3. Participación voluntaria del propietario.

**CRITERIOS DE EXCLUSION:**

1. Vacas con mastitis clínicas.
2. Vacas con menos de 22 días postparto y vacas con más 180 días de lactación.
4. Vacas con menos de 3 días pos tratamiento con antibiótico.



5. Vacas con más de 10 años de edad.

**RECOLECCION DE INFORMACION:** Fuente primaria a través de una ficha de recolección de datos con respuesta cerrada (ver anexo 3) que fueron aplicadas en el momento de la recolección de la muestra.

**RECOLECCION Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA:**

Se identificaron los tubos antes de coleccionar las muestras con los siguientes datos: fecha, nombre de la finca, código de la vaca.

Se procedió al lavado de las manos con agua y jabón, utilización de los guantes, para limpiar los pezones con solución antiséptica( solución de yodo 2.5 % diluido en agua), secándose con toallas de papel individuales, secado de los pezones con toallas desechables una por pezón, con algodón humedecido en alcohol al 70% desinfectando el extremo y orificio de cada pezón hasta que ya no apareciera resto de suciedad en el algodón, utilizando un trozo diferente de algodón para cada pezón, empezando con los pezones mas alejados y terminando con los mas cercanos con respecto a la posición del ordeñador (de lejos a cerca) evitando que los pezones limpios entren en contacto con la cola o patas sucias de la vaca el alcohol con que se desinfectan los pezones debe actuar por 1-2 minutos, iniciando la colección de la leche con los pezones mas cercanos seguidos por los mas lejanos con respecto a posición del ordeñador (de cerca a lejos), descartando los 3 o 5 primeros chorros de leche,

Posteriormente se remueve la tapa del tubo estéril, manteniéndose sujeta con los dedos. Durante la toma de la muestra el tubo debe estar inclinado, evitando que el tubo tocara la punta del pezón,

Para la muestra se recolecto de 1-3 chorros de leche (2-3 ml), e inmediatamente se coloca y asegura la tapa. Las muestras transportadas en un termo con hielo a una temperatura de 4 a 8°C y trasladadas en un lapso de 2 horas al centro



veterinario de diagnóstico e investigación (CEVEDI) en la escuela de Medicina veterinaria UNAN-LEON al área de microbiología para la realización del examen microbiológico.

#### **ANALISIS DE LABORATORIO:**

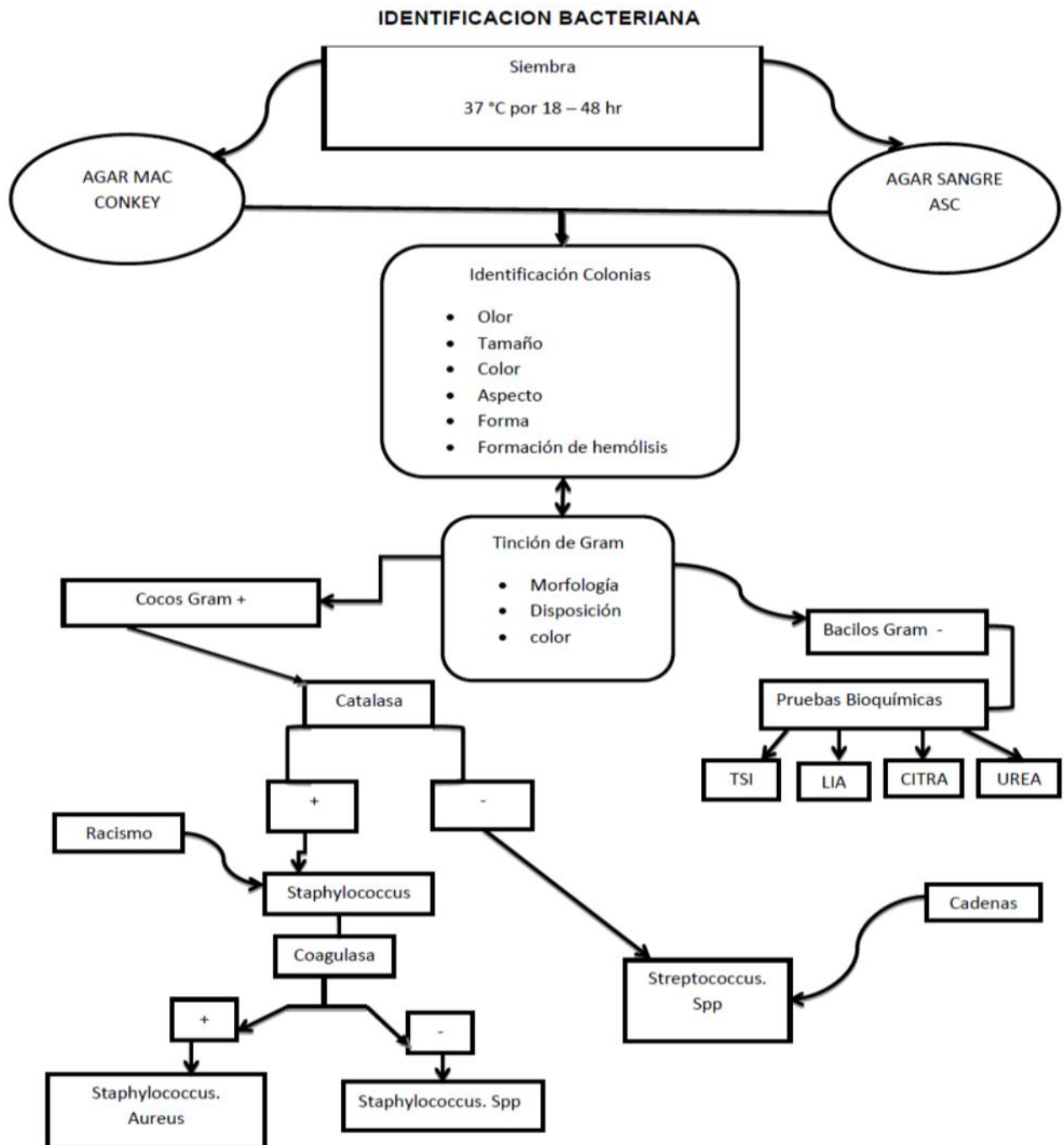
**Aislamiento:** Las muestras fueron sembradas en las primeras 2 hrs pos-resección tomando 20 µl de leche previamente homogenizada, y se inoculó por rallado convencional en platos Petri con agar sangre de carnero al 5 % (ASC) y agar MacConkey con su respectiva identificación y posteriormente incubados a 37 °C durante 18 -24 horas.

**IDENTIFICACION BACTERIANA:** Después del periodo de incubación se realizó la lectura de los platos para determinar la presencia o ausencia de patógenos, registrando cada uno de estos datos. Cuando las muestras presentaban crecimiento se procedió a realizar la tinción de Gram para una primera y general clasificación de bacterias.

La caracterización de las bacterias encontradas se realizó por medio de pruebas bioquímicas específicas para bacterias positivas o negativas según sea el caso. Se llegó a caracterizar solo el género y no la especie de las bacterias encontradas, con algunas excepciones, como es el caso de *Staphylococcus aureus*.

Las pruebas bioquímicas para bacterias Gram positivas en forma de cocos se basó en: pruebas de catalasa, coagulasa.

En el caso de las bacterias Gram negativas se realizaron las pruebas bioquímicas: TSI (Triple Azúcar Hierro), Citrato de Simmons, LIA (Agar Lisina Hierro) y Urea.



Elaborado por Norma Campos con la colaboración de Msc. Byron Flores



## DETERMINACION DE LOS PERFILES DE RESISTENCIA BACTERIANA.

Una vez identificadas las bacterias se procedió a realizar el antibiograma por cada una de las bacterias encontradas.

Se utilizó el método de difusión en agar Mueller Hilton (Kirby Baüer) con los discos impregnados de los siguientes antibióticos:

Para bacterias Gram positivas se utilizó: Amoxicilina/clavulanico(AMC 30), Cefalexina (CL 30), Enrofloxacin (ENR 5), Oxitetraciclina (OT 30), Gentamicina (CN 10), Vancomicina (VA 30), Eritomicina (E 10)

Para bacterias Gram negativas se utilizó: Ceftriaxone (CRO 30), Ciprofloxacina (CIP 10), Amoxicilina/clavulanico(AMC 30), Cefalexina (CL 30), Enrofloxacin (ENR 5), Oxitetraciclina (OT 30), Gentamicina (CN 10)

**ANALISIS DE LOS DATOS:** Se aplicó estadísticos descriptivos y los resultados fueron expresados en gráficos y tablas de frecuencias absolutas y relativas con sus respectivos intervalos de confianzas. Los datos fueron almacenados utilizando Statistical Package for the Social Sciences la versión 19.

### Consideraciones éticas:

- Los resultados obtenidos por el muestreo fueron entregados a los dueños de los hatos en estudio, únicamente.
- Se guarda total confidencialidad de los resultados.
- Las recomendaciones brindadas fueron entregadas de forma individual, discreta, con respeto y humildad.



### **Ventajas y limitaciones.**

La ventaja de este estudio fue disponibilidad de los productores, así como el apoyo incondicional de TECNOEMPRENDES y sus técnicos que conocían el área de estudio, las principales limitantes fue el poco tiempo de estancia en las fincas y el aviso previo de nuestra visita a los productores lo que impidió ver todas las condiciones y la rutina que empleaban durante el ordeño por tanto pudo a ver existido sesgo de información durante el estudio. Las condiciones climáticas fue otra limitación ya que nuestro trabajo fue realizado en la época lluviosa lo que muchas veces dificultaba el acceso a las fincas en estudio.

### **Divulgación**

El presente estudio pretende ser divulgado en formato escrito y digital a personas e instituciones interesadas en el tema. Además de ser impartidos a productores del área en estudio a través de conferencias.



## VIII. RESULTADO

De las 627 vacas que corresponden al número de vacas en ordeño, un 71.92% presentaron reacción positiva al CMT ( $IC_{95\%} = 66.16\%-75.75\%$ ). Al menos con una cruz en uno de sus cuartos mamarios. Mientras que de los 2488 cuartos se encontró que el 35.57% ( $IC_{95\%} = 33.86\%-38.87\%$ ) estaban afectados en algún grado de mastitis subclínica. (Ver Grafico 1)

En el examen bacteriológico realizado a las muestras enviadas al laboratorio, los principales microorganismos bacterianos causantes de mastitis subclínica bovina en las vacas cuya leche abastecen los acopios de ASOGANA (Nagarote) y Santo Tomas (El Viejo) son en un 36% *Staphylococcus aureus*, en un 30% *E. Coli*, y *Staphylococcus coagulasa negativa*, 4% *Streptococcus spp.* (Ver Grafico 2)

Al evaluar los agente bacteriano de acuerdo a la distribución de las reacciones al CMT se observó, que en la reacción más alta (3 cruces), el agente etiológico más frecuente es *Staphylococcus coagulasa negativo* con la presencia de 12 casos, seguido de *Staphylococcus aureus* con 7 casos, en las reacción de 2 cruces los agentes fueron *E. Coli* con 9 casos, *Staphylococcus aureus* con 8 casos, en las reacciones de una cruz para *Staphylococcus aureus* 1 caso e igual para *E. Coli*, en la reacción de trazas *Staphylococcus aureus* con 2 y 1 *E. Coli* (Ver Grafica 3)

Al determinar las bacterias causantes de mastitis subclínica bovina en los centros de acopio en estudio se observo que la bacteria aislada en ambos acopios fue *Staphylococcus aureus* con 39.3% para ASOGANA y 31.8% para Santo Tomas.

No se aisló *E. Coli* ni *Streptococcus spp* en el acopio de Santo Tomas pero si *Staphylococcus coagulasa negativa* con 68.2% siendo este el agente más frecuente en este acopio, en cuanto a ASOGANA el agente con mas prevalencia fue *E. Coli* con 53.6%, *Streptococcus spp* 7.1% y no aislándose *Staphylococcus coagulasa negativa* en dicho acopio (Ver Grafica 4).





En la determinación del perfil de resistencia de los agentes bacterianos aislados causantes de mastitis subclínica bovina un 88.9% presento sensibilidad a Ciprofloxacina, un 88% a Oxitetraciclina, 83.7% para Enrofloxacina, 58% de las cepas aisladas fue sensible a Gentamicina, un 41.2% a Eritromicina, 20% para Amoxicilina+ácido clavulánico, un 18.2% a Vancomicina y 12.5% de las cepas fue sensible a Cefalexina (Ver Grafico 5)

Al determinar el perfil de resistencia del *Staphylococcus aureus* a los antibióticos usados se obtuvo que un 88.9% fue sensible a Oxitetraciclina, 83% a Enrofloxacina, 80% para Ciprofloxacina, en un 52.9% a Eritromicina, 44.4% a Gentamicina, 18.8% para Cefalexina, un 11.1% a Amoxicilina+ácido clavulánico y 5.6% de las cepas fue sensible Vancomicina (Ver Grafico 6).

Las cepas de *E. Coli* aisladas presento sensibilidad a Ciprofloxacina en un 86.7%, para Oxitetraciclina y Enrofloxacina fueron sensibles en un 73.3%, 40% fue sensible a Gentamicina, 13.3% para Cefalexina y un 6.7% a Amoxicilina+ácido clavulánico (Ver Grafica 7).

Mientras que la sensibilidad encontrada de *Staphylococcus coagulasa negativo* fue en un 100% sensible a Oxitetraciclina, Ciprofloxacina, Enrofloxacina, 93.3% para Gentamicina, un 40% a Amoxicilina+ácido clavulánico, 38.5% de las cepas aisladas fue sensible a Vancomicina, un 33.3% a Eritromicina y para Cefalexina un 0% sensibilidad (Ver Grafico 8).

En la bacteria *Streptococcus spp*, este se presento 100% sensible para Oxitetraciclina, 50% a Amoxicilina+ácido clavulánico, Gentamicina, Enrofloxacina, para Vancomicina, Cefalexina y Eritromicina la sensibilidad fue de 0% (Ver Grafico 9).



Al realizar la comparación de sensibilidad de los *Staphylococcus aureus* a los diferentes antibióticos por centro de acopio se observó que en el acopio de Santo Tomas 100% de las cepas aisladas fueron sensibles a Oxitetraciclina, Ciprofloxacina, Enrofloxacin, 71.4% para Gentamicina, en un 42.9% a Eritromicina, 40% para Cefalexina, en un 14.3% a Vancomicina, para Amoxicilina+ácido clavulánico 0% de sensibilidad. Mientras que para ASOGANA 81.8% de las cepas aisladas fue sensible a Oxitetraciclina, un 62.7 a Enrofloxacin, 60% para Eritromicina, un 18.2% a Amoxicilina+ácido clavulánico, 9.1% para Cefalexina, para Ciprofloxacina y Vancomicina 0% de sensibilidad (Ver Gráfico 10).

Al evaluar la asociación entre el agente bacteriano causante de mastitis subclínica bovina y los días pos parto encontramos que para *Staphylococcus aureus* la media fue de 139 días, 124 días para *E. Coli*, mientras que para *Streptococcus spp* fue de 165 días pos parto, para *Staphylococcus coagulasa negativa* la media fue de 0 días. (Ver Gráfico N°11).



## IX. DISCUSIÓN

En este trabajo se determinaron los Agentes bacterianos implicados en mastitis subclínica de las fincas que abastecen los acopios ASOGANA de Nagarote y Santo Tomas de El Viejo, septiembre a noviembre 2011.

En la determinación de la mastitis subclínica por vaca se identificó un porcentaje de reacciones positivas del 71.92 %, porcentaje alto comparado con el encontrado en un estudio realizado por Berrios y Peralta en el 2004 quienes reportan una prevalencia de mastitis subclínica inferior (54%) en 4 hatos lecheros del departamento de León<sup>9</sup> y al reportado en el 2007 por Solís quien encontró un 38 % de reacciones positivas a mastitis subclínica en vacas de una finca del municipio de Nagarote<sup>12</sup> lo que nos indica un incremento en este municipio. En la determinación de la mastitis subclínica por cuarto este estudio refleja una prevalencia 35.57% este valor es relativamente alto cuando se compara con otros estudios como el realizado en el 2002 en 26 rebaños de los departamentos de Boaco y Chontales por Armenteros en la que refleja una prevalencia por cuartos de un 17.2 %<sup>8</sup>, Demostrando con esto que en la prevalencia por vacas hay una sobre estimación.

En la reacción más alta al CMT (3 cruces), el agente etiológico más frecuente fue *Staphylococcus coagulasa negativo* con la presencia de 12 casos. González y Wilson estiman la sensibilidad del CMT ante *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* en 66 % y 72 %.<sup>35</sup>, Los *Staphylococcus coagulasa negativo* forman parte de la flora normal de la piel del pezón y del orificio externo del canal secretor, si las operaciones del ordeño son inadecuadas, se producen traumas que facilitan la entrada de esta bacteria de modo que se comporta como oportunista, la infección, sumada al trauma producen un estímulo de la respuesta inflamatoria mayor que la observada con la infección por *Staphylococcus aureus* cuando entran por el canal del pezón,. La proteína A es un componente de la



superficie de la mayoría de las cepas virulentas de *S. aureus*, que altera la respuesta inmunitaria del hospedador mediante la disminución de la opsonización y la fagocitosis<sup>25</sup>

Las bacterias aisladas causantes de mastitis subclínica bovina en los centros de acopio en estudio fueron: *Staphylococcus aureus* siendo este el agente más frecuente (36%), *E. Coli* y *Staphylococcus coagulasa negativa* (30%) y en un (4%) *Streptococcus spp*. En otros estudios realizados se ha señalado al género al *Staphylococcus aureus* como el agente más común en la producción de mastitis subclínica coincidiendo con los resultados del presente estudio. Como el realizado por Armenteros en el 2002 reportan que los agentes bacterianos aislados productores de mastitis subclínica en 26 rebaños lecheros de los departamentos de Boaco y Chontales fueron: *Staphylococcus aureus* 38.9%, *Coliformes* 10.3%, *Corynebacterium sp* 8.6%, *S. epidermidis* 5.4% y algunas infecciones mixtas con la combinación de dos de estos patógenos 7.02%<sup>1</sup>. También con datos obtenidos por Berrios y Peralta en un estudio realizado en el 2004 reportaron que los agentes patógenos encontrados en 4 hatos lecheros de departamento de León, fueron *Staphylococcus aureus* 62% *Staphylococcus coagulasa negativo* 37%, *Streptococcus spp* 6% y *E. Coli* 19%<sup>9</sup>. Y con un estudio realizado por Acuña y Rivadeneira en el 2008 en ganaderías bovinas de la provincia de Pichincha el agente aislado con mayor frecuencia fue *Staphylococcus aureus* (34.64%)<sup>6</sup>.

Los casos de mastitis identificados fueron fundamentalmente de origen infeccioso en ambos acopios donde el agente bacteriano común fue *Staphylococcus aureus* con 39.3% para ASOGANA y 31.8% para Santo Tomas. Esto pudo estar influenciado de forma directa, por la inadecuada rutina de ordeño, la falta de higiene, malas prácticas de manejo, etc. En ASOGANA *Staphylococcus coagulasa negativa* con 68.2% fue la bacteria que se aisló con más frecuencia en este acopio, Esto probablemente se debe a una mala higiene de la ubre y del ordeñador, sumado a un ordeño húmedo; hay que tomar en cuenta que las



infecciones intramamarias causadas por algunas especies de SCN interfieren con la colonización de la glándula mamaria por bacterias de mayor patogenicidad.<sup>36</sup> Mientras que *E. Coli* con 53.6%, fue el agente con mayor frecuencia para Santo tomas. En donde a pesar de que existían salas de ordeños no eran utilizadas y el ordeño era efectuado en el corral que no prestaba condiciones para una buena higiene ya que existía abundante lodo y heces proporcionando un clima idóneo para la multiplicación de *E. Coli*.

Independientemente de la bacteria causante de mastitis subclínica bovina un 88.9% presento sensibilidad a Ciprofloxacina, un 88% a Oxitetraciclina, 83.7% para Enrofloxacin, sientos estos los antibióticos mas efectivos. Un estudio realizado en rebaños lecheros de los departamentos de Chontales y Boaco por Armenteros y colaboradores en el 2002 se encontró que el patrón de sensibilidad de los microorganismos circulantes indicó sensibilidad a la Penicilina (70%) y Gentamicina (60%).<sup>8</sup> Ruiz A.K y colaboradores realizaron un estudio en Pernambuco, Brasil, en el 2008; donde reportaron mayor sensibilidad de los patógenos hacia la combinación Tetraciclina (NBT), y Enrofloxacin (ENO)<sup>7</sup> sin embargo, un factor clave en el éxito del tratamiento de la mastitis subclínica bovina es la biodisponibilidad del agente terapéutico. Además del tamaño de la molécula y la capacidad de ligarse a las proteínas, la liposolubilidad del principio activo y su grado de ionización juegan un papel muy importante. Esto, sumado al hecho de que la elección y suministro del fármaco muchas veces está en manos de personal que no es el médico veterinario, puede hacer variar la sensibilidad bacteriana así como la recurrencia de presentación de los microorganismos asociados a esta patología.

*Streptococcus spp* fue 100% sensible para Oxitetraciclina, 50% a Amoxicilina/ácido clavulánico, Gentamicina, Enrofloxacin. Un estudio realizado por Acuña y colaboradores sobre aislamiento, identificación y antibiograma de patógenos presentes en leche con mastitis en Ecuador en el 2008 se encontró que



los *Streptococcus spp* fueron sensibles a Tetraciclina, Cefalexina, Amoxicilina/ácido clavulánico y Enrofloxacin<sup>6</sup>

A diferencia de lo mostrado con Cefalexina se observó que la Amoxicilina tiene un alto porcentaje de sensibilidad, cabe mencionar que la Amoxicilina fue utilizada en combinación con un inhibidor de  $\beta$ -lactámase el ácido clavulánico lo que indica que el *Streptococcus* encontrado es un productor de  $\beta$ -lactámase sin embargo es recomendable implementar la búsqueda de  $\beta$ -lactámase de espectro extendido (BLEE)

Las cepas de *E. Coli* aisladas presentaron sensibilidad a Ciprofloxacina en un 86.7%, para Oxitetraciclina, Enrofloxacin un 73.3%, según un estudio realizado por Acuña y colaboradores sobre aislamiento, identificación y antibiograma de patógenos presentes en leche con mastitis en Ecuador en el 2008 se encontró que *Escherichia coli* fueron intermedias para Cefalexina, para Enrofloxacin, Tetraciclina presentaron resistencia<sup>6</sup>

Aunque la producción de  $\beta$ -lactámase no es el principal mecanismo de resistencia de la *E coli* podemos evidenciar que este es el posible mecanismo de resistencia por el cual los  $\beta$ -lactámicos utilizados en este trabajo no fueron tan efectivos teniendo mayor sensibilidad a los antibióticos que actúan a nivel de la síntesis de proteínas y ADN bacteriano.

El hecho de que se hayan aislado más *Staphylococcus Aureus* se debió a que el reservorio de dicha bacteria es el interior de la glándula mamaria además es capaz de vivir fuera de ésta en sitios como los paños para secar la ubre, en las manos del ordeñador y en la piel de los pezones. Por lo que estas vacas debieron contagiarse durante el ordeño a través de una mala higiene, mediante las secreciones de los cuarterones infectados diseminados por las manos de los ordeñadores, el equipo de ordeño y también por el uso de terneros.<sup>24, 28.</sup>



La sensibilidad de las cepas aisladas de *Staphylococcus aureus* a los antibióticos usados se obtuvo que un 88.9% fue sensible a Oxitetraciclina, 83% a Enrofloxacin, 80% para Ciprofloxacina. En un estudio realizado por Betancourt Oriana y colaboradores sobre resistencia de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis subclínica bovina en Chile en el 2003 reportaron que todas las cepas fueron sensibles a Enrofloxacin 89,7% <sup>37</sup>los resultados reportados por Pellegrino, Frola y colaboradores en un estudio de resistencia a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de la leche en 2009 refieren que todas las cepas analizadas fueron sensibles a Gentamicina, 70%.<sup>38</sup>La sensibilidad encontrada para *Staphylococcus coagulasa* negativa fue en un 100% sensible a Oxitetraciclina, Ciprofloxacina, Enrofloxacin. Según un estudio realizado por Faría Reyes y colaboradores en el 2005 en Venezuela sobre sensibilidad a los agentes microbianos de algunos patógenos mastitogénicos aislado de leche refiere que todos los aislamientos de SCN se presentaron susceptibles a Ciprofloxacina y Vancomicina.<sup>39</sup>

Los antibióticos a los que fueron sensibles *Staphylococcus aureus* y *S. Coagulasa* Negativa son bacteriostáticos, los que no se recomiendan para el tratamiento de mastitis debido a que las bacterias que sobreviven en la leche pueden pasar sus genes de resistencia a otras bacterias

Al realizar la comparación de resistencia de los *Staphylococcus aureus* por centro de acopio se observó que en el acopio de Santo Tomas 100% de las cepas aisladas fueron sensible a Oxitetraciclina, Ciprofloxacina, Enrofloxacin, Mientras que para ASOGANA 81.8% de las cepas aisladas fue sensible a Oxitetraciclina, un 62.7% a Enrofloxacin, 60% para Eritromicina

Podemos observar que los antibióticos a los que *S. aureus* mostró mayor sensibilidad en ambos acopios fueron los que inhiben la síntesis de proteína bacteriana esto podría deberse a que en las fincas que abastecen estos centros de acopio los antibióticos de elección para tratar mastitis y otras enfermedades



sistémicas fueron los  $\beta$ -lactámicos lo cual puede ser un factor de resistencia a estos antibióticos.

La asociación entre el agente bacteriano causantes de mastitis subclínica bovina y los días pos parto para *Staphylococcus aureus* la media fue de 139 días, 124 día para *E. Coli*, mientras que para *Streptococcus spp* fue de 165 días pos parto. La mastitis por *E. Coli* es relativamente estacional, y se presenta en los primeros 150 días de lactación la naturaleza de la infección por Coliformes y los mecanismos de defensa de la vaca proporcionan la clave de este hecho. Durante el secado, la ubre en reposo tiene un alto nivel de resistencia natural ante la *E. Coli* y otras infecciones. En su mayor parte, se debe al sistema lactoferrina/citrato/bicarbonato que actúa en la ubre. La *E. Coli* en multiplicación activa tiene una alta demanda metabólica de hierro. En la ubre, durante el secado existen grandes cantidades de lactoferrina. Por lo tanto existe un ambiente desfavorable para el crecimiento de los Coliformes; sin embargo, la situación cambia completamente durante el parto, incrementándose el nivel de los iones de citrato en la secreción, estos compiten con la lactoferrina, lo que causa una liberación de hierro que queda disponible para el crecimiento bacteriano.<sup>40</sup>





## X. Conclusión

El 71.92% de las vacas presentaron mastitis subclínica de acuerdo al resultado del reactivo CMT.

Las bacterias aisladas en los acopios fueron *Staphylococcus aureus* con un 36%, *E. Coli* en un 30%, *Staphylococcus spp* y *Streptococcus spp* en un 4%.

El *Staphylococcus aureus* fue la bacteria aislada en ambos acopios con 39.3% para ASOGANA y 31.8% para Santo Tomas.

Las cepas aisladas de *Staphylococcus aureus* en el acopio de Santo Tomas fueron 100% sensible a Oxitetraciclina, Ciprofloxacina, Enrofloxacina,

Para ASOGANA las cepas aisladas fueron sensibles a Oxitetraciclina, Enrofloxacina y Eritromicina.

Las bacterias aisladas fueron mas sensibles a Ciprofloxacina, Oxitetraciclina y Enrofloxacina.



## **XI. Recomendaciones**

Al Productor:

- Establecer de control de mastitis y producción de leche de calidad.
- Realizar buenas prácticas de ordeño.
- Suministrar vitaminas y minerales durante la etapa de lactación para disminuir la susceptibilidad a padecer mastitis subclínica ya que la deficiencia de estos tiene una estrecha correlación con números elevados de células somáticas.
- Usar protocolo de tratamiento adecuado para la mastitis subclínica y realizarlo al final de la lactación para usar antibióticos de amplio espectro y de larga acción.
- Rotar el medicamento utilizado contra la mastitis
- Elaborar registros de la producción diaria de leche, así como de los antecedentes de mastitis subclínica en el hato.
- Acatar el período de secado y de esta forma dar descanso a la ubre y prepararla para la próxima lactación.
- Respetar la edad de destete para evitar que terneros mayores de 210 días provoquen un efecto traumático sobre los cuartos.

A las Autoridades:

- Plan de monitoreo constante en establecimientos lácteos.
- Ser mas exigentes con las industrias queseras rigiéndolos bajo la importancia de la calidad de la leche.
- informar o actualizar al productor sobre el tema. de mastitis para reconocer la importancia de la mastitis como factor que limita la producción de leche y por tanto, la rentabilidad de las fincas lecheras.



- El establecimiento de sistemas de vigilancia de mastitis y calidad de leche, basados en métodos de diagnósticos, como el CMT y el cultivo bacteriológico.

#### Industria láctea:

- Fomentar el pago de leche de acuerdo a la calidad y de esta forma alentar al productor.
- Exigir pruebas mínimas de higiene y calidad de leche en centros de acopio.

#### Universidades:

- Promover la enseñanza a los productores sobre el buen uso de los antibióticos.
- Realizar investigaciones referentes a la búsqueda de mecanismos de resistencia así como los genes implicados en estos



## **XII. Referencias**

1. Ponce P, Ribot A, Capdevila J, Villoch A; Manual aprendiendo de calidad de leche. Cuba. CENLAC, MINAG. 2004: 3-8.
2. Iñiguez Fernando, Mastitis Manual de manejo y control Virbac.8.
3. Olguin Arturo Y Bernal. Clínica de los Bovinos: Enfermedad de la glándula mamaria. Edición: 2. Vol: 1. México: Pp: 11.
4. Gasque Gómez Ramón, Enciclopedia Bovina. Editorial FMVZ, Primera Edición, México DF 2008, 433.
5. Gallegos Soria A, Moncada Cortez J. 2011. Uso de extracto de semilla de cítricos para el control de la mastitis bovina. Medico Veterinario Zootecnista. Morelia Michoacán. Universidad Michoacana, Facultad de medicina veterinaria y zootecnia.
6. Acuña Molina V, Rivadeneira Espinosa A. 2008. Aislamiento, identificación y antibiograma de patógenos presentes en leche con mastitis en ganaderías bovinas de la provincia de Pichincha. Ingeniero Agropecuario. Sangolqui. Escuela Politécnica del Ejercito, Departamento de ciencias de la vida Carrera de ciencias Agropecuarias.
7. Ruiz A.K., Ponce P., Gomes G., Mota R.A., Sampaio Elizabeth, Lucena E.R, Benone S.). Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. Salud Anim. 2011; 33(1): 55-67.
8. Armenteros M, Sequeira M, Hartikainen M, Campos A. Caracterización de la situación de la mastitis bovina en rebaños lecheros de los departamentos de Boaco – Chontales: Época de lluvia. Salud Animal. 2004. N° 2. Vol. 26. 124 – 127.
9. Berrios, Roger. Peralta, Alan. 2004. 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. Licenciatura Medicina Veterinaria. León, Nicaragua.



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; Escuela de Medicina Veterinaria.

10. Aguirre Judyana; Zeledón Kelia. 2007. Estudio sobre aislamiento e identificación fenotípica de *Staphylococcus aureus* mediante la técnica de finger printer (php) a partir de leche bovina afectada con mastitis subclínica en 6 fincas del municipio de León. Licenciatura Medicina Veterinaria. León, Nicaragua. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Escuela de Medicina Veterinaria.
11. El pueblo presidente.com (pagina principal en internet). La producción de leche en Nicaragua. 2012, febrero 02. Disponible de: <http://www.elpueblopresidente.com.org.ni/>
12. Solís Bermúdez M. 2007. Utilización de la solución Hipertónica (agua de mar) en el tratamiento de la Mastitis bovina en la finca Guadalupana, del Municipio de Nagarote, Departamento de León. Licenciatura Medicina Veterinaria. Managua Nicaragua. Universidad Nacional Agraria: Facultad de Ciencia Animal, Departamento de Veterinaria.
13. Ávila Téllez S, Romero Luisa. Producción de Ganado Lechero: Anatomía y fisiología de la glándula mamaria. 217-245. Disponible en: <http://www.anatomiayfisiologiadelaubre.com.pdf>
14. Sisson S, Grosman. 2000. Anatomía de los animales. Manson S.A. Ved.
15. Saran A, Chafer. 2000. Mastitis y Calidad de la leche. Buenos Aires, Argentina. 25- 84.
16. G.E Meglia. Mecanismos Específicos e Inespecíficos de defensa, con referencia a la glándula mamaria de los bovinos productores de leche. 2001. Argentina, La Pampa. UNLPam. Disponible en: <http://www.vet.unlpam.edu.ar/matervet/revistanr03/inmunidadenglandulama maria.pdf>.



17. Wolter W, Castañeda V. H, Kloppert B, Zschoeck M. 2001. La Mastitis Bovina: Mecanismo de defensa y protección de la ubre bovina. Pp.17-20. Pp: 1-68
18. Norma técnica de la leche entera cruda. 03-027-99,05/04/2011. Disponible en:  
<http://www.oirsa.org/aplicaciones/subidoarchivo/marcolegalCRIA/0302799NI>  
Leche.Atm .
19. Novoa C. Carlos Fernando. Consideraciones sobre la calidad de la leche. Colombia. 2005. Pp: 2. UNC. Disponible en:  
[http://www.tecnolacteos.com/tecnolacteos/home/deteien/carlos\\_novoa.pdf](http://www.tecnolacteos.com/tecnolacteos/home/deteien/carlos_novoa.pdf).
20. Wastra, Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos, Ed Acribia, Zaragoza, 2001
21. E. Glauber Claudio. Producción bovina lechera: Fisiología de la lactancia en la vaca lechera. Buenos Aires, Argentina. 2007. 1-4. Disponible en:  
[www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)
22. Olguin Arturo y Bernal. 2006. Enfermedades de la glándula mamaria. Clínica de los bovinos. Vol. 2. 2-10.
23. Mateus Valles Guillermo. Mastitis en Bovinos. CATIE Ed. 1. Costa Rica. 1983. Pp: 7-17.
24. Blowey Roger, Edmondson. Control de Mastitis en granjas de vacunos de leche. C. A. Cuba. 1987. Pp: 2-13.
25. Vadillo S, Piriz S, Mateo E. Manual de Microbiología de Veterinaria. Mc. Graw Hill Interamericana. Única Edición. Madrid España. Pp: 96- 442.
26. Carter G. R. Fundamentos de Bacteriología y microbiología Veterinaria. Ramis Vergés Manuel. Ed. ACRIBIA S. A. Zaragoza España. 1989. Pp: 128-135
27. L. Biberstein Ernst, Chung Zee Yvan. Tratado de Microbiología Veterinaria. Ramis Vergés Manuel. Ed. ACRIBIA S. A. Zaragoza España. 1990. Pp: 167



28. Rebhun William C. Enfermedad del Ganado Vacuno Lechero. Ramis Vergés Manuel. Ed. ACRIBIA S. A. Zaragoza España. 1995. Pp: 368- 389.
29. Bedolla, CC: Castañeda, VH: Wolter, W. 2007. Métodos de detección de la mastitis bovina. REDVET®, Revista Electrónica de Veterinaria. Vol. VIII N° 9. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf>
30. Díaz Soto Luis. 2003. Resistencia Bacteriana. Revista Cubana Med. Milit. Vol 1. 48. 8- 44.
31. Hillerton, J.E., and E.A. Berry. 2003. The management and treatment of environmental streptococcal mastitis. Veterinary Clinics of N. Am. Food Animal Practice 19 157-169.
32. Botana L. M. Landoni F. T. Martín Jiménez. Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Mc Graw Hill Interamericana España 455 488
33. Sumano López Héctor S, Ocampos Cambero Luis. Farmacología Veterinaria. Ed. 2. Mc Graw Hill Interamericana de México.
34. H. Richardson Adams. Farmacología y terapéutica veterinaria. ACRIBIA, S. A. Edición 2. España. 2003.
35. Faria Reyes J, García Urdaneta A, D'Pool G, Valero Leal K, Allara Cagnaso M, Angelosante G. 2005. Detección de Mastitis Subclínica en Bovinos mestizos doble propósitos ordeñados en forma manual o mecánica. Comparación de tres pruebas diagnósticas. Revista Científica, FCV- LUZ. Vol XV. 109 - 118.
36. Delgado A, Aubagna B. M, Russi Norma, Aguirre Nerina, Rejf Paula, Calvino G. Luis. 1998. Identificación y sensibilidad a antibióticos de Staphylococcus coagulasa negativa aislados de mastitis bovina en la cuenca lechera Santa Fe de la Caba. Avances en Ciencias Veterinarias. Vol, 13. PP: 73. 70- 72.

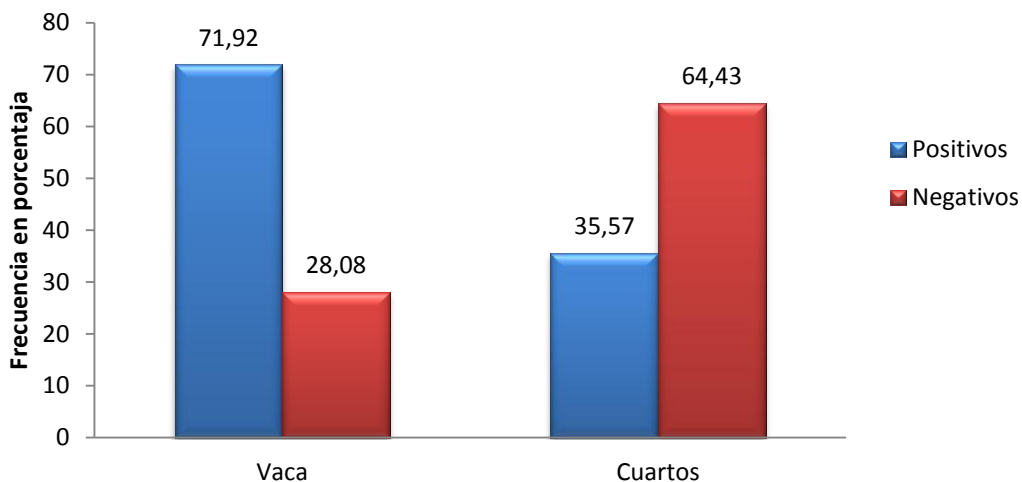


37. Betancourt Oriana, Scarpa C, Villagrán K. 2003. Estudio de Resistencia de cepas de staphylococcus aureus aisladas de mastitis subclinical bovina frente a cinco antibióticos en tres sectores de la IX región de Chile. Revista científica: FCV- LUZ. Vol XII. 417. Pp: 413 – 417.
38. Pellegrino, Frola, Odierno, Bogni. 2011. Matitis bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de Staphylococcus aureus de leche. REDVET. Vol. 12. N° 7. 14: 6-11.
39. Faría Reyes J, Valero Kutchynskaya, D'Pool Gerardo, García Urdaneta A, AllaraCagnasso María. 2005. Sensibilidad a los agentes antimicrobianos de algunos patógenos mastitogenicos aislados de leche de cuartos de bovinos mestizos doble propósitos. FCV- LUZ. Vol. XV, N° 3. 234: 227- 234.
40. Andrews Tony, Scott Phil, Ziv Gideon. Mastitis Endotoxica. Merial. Barcelona, España. 6-7.
41. Rojas Norman, Chaves Esteban, García Fernando. Bacteriologia Diagnostica. 2006. Costa Rica. Pp: 150: 80.



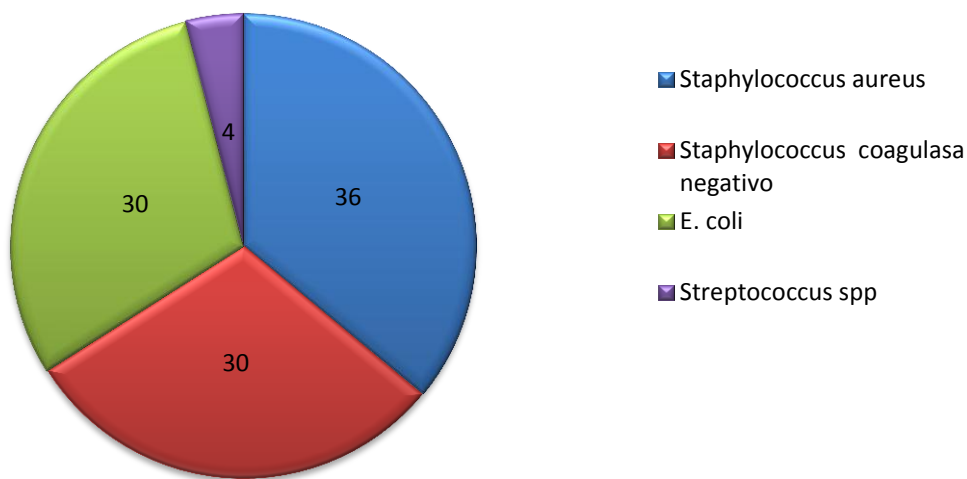


### XIII. ANEXOS



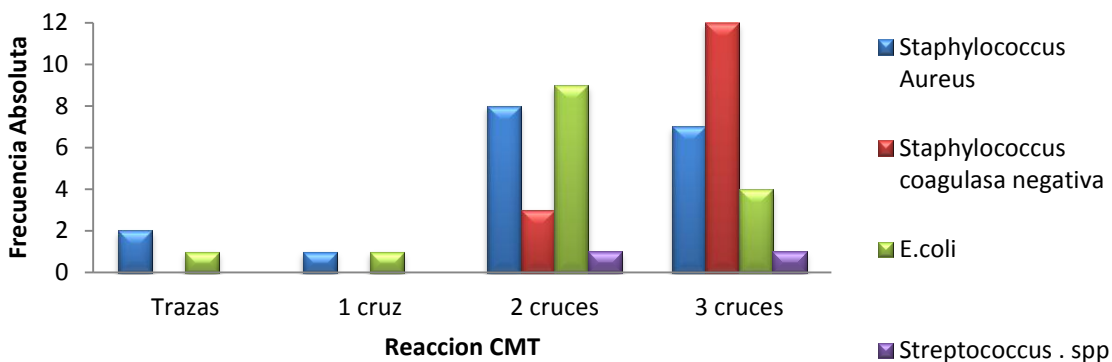
**Resultados de CMT por vaca y por cuarto**

GRAFICO N° 1



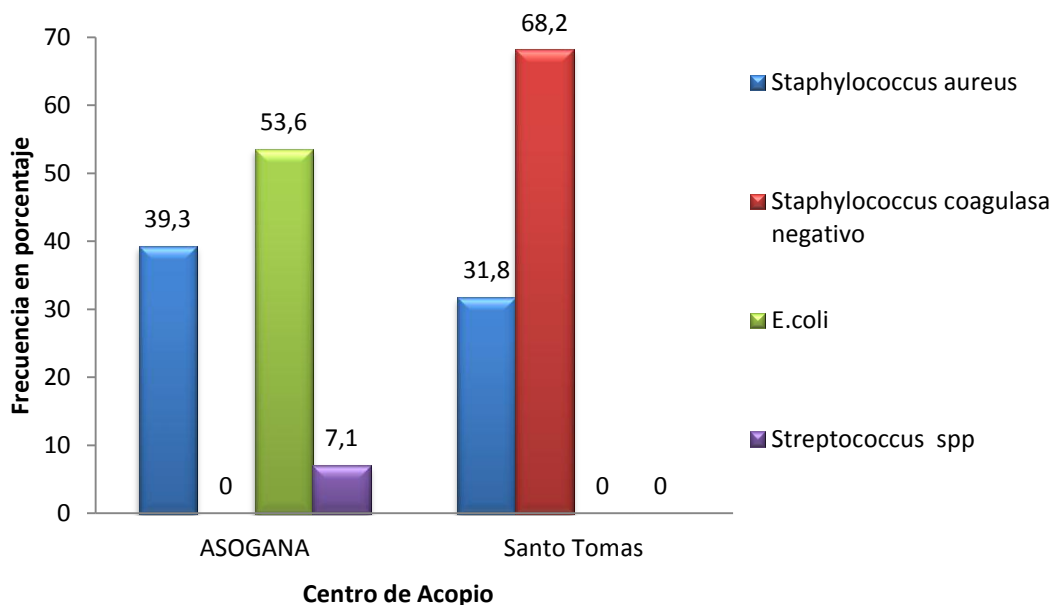
**Bacterias Aisladas**

GRAFICO N°2



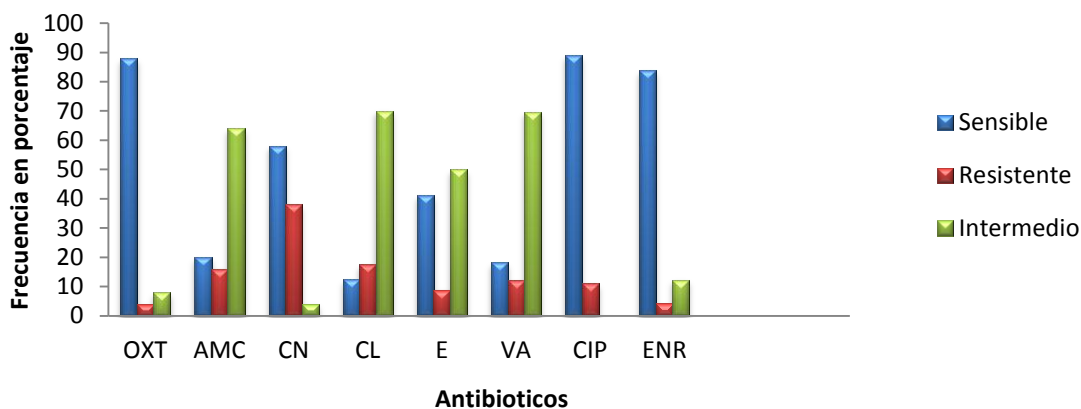
### Distribución de las reacciones al CMT de acuerdo al agente bacteriano

GRAFICO N° 3



### Bacterias Aisladas de mastitis subclínica bovina de acuerdo al Centro de Acopio

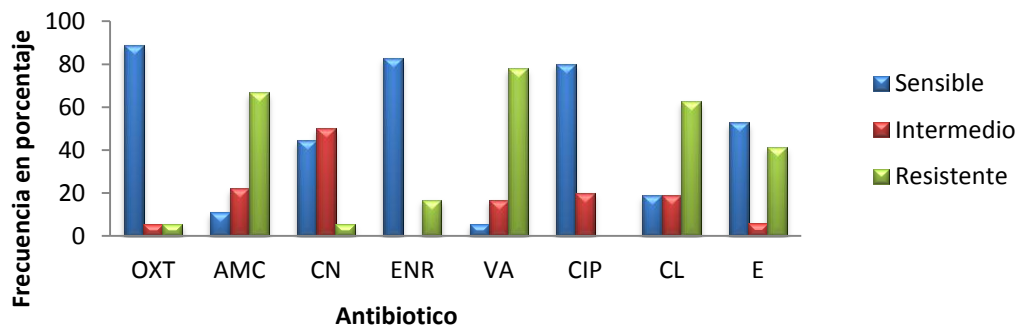
GRAFICO N° 4



## Perfil de Resistencia de las Bacterias Aisladas

Amoxicilina- Acido clavulanico (AMC), Cefalexina (CL), Enrofloxacin (ENR), Oxitetraciclina (OXT), Gentamicina (CN), Vancomicina (VA), Eritomicina (E), Ciprofloxacina (CIP)

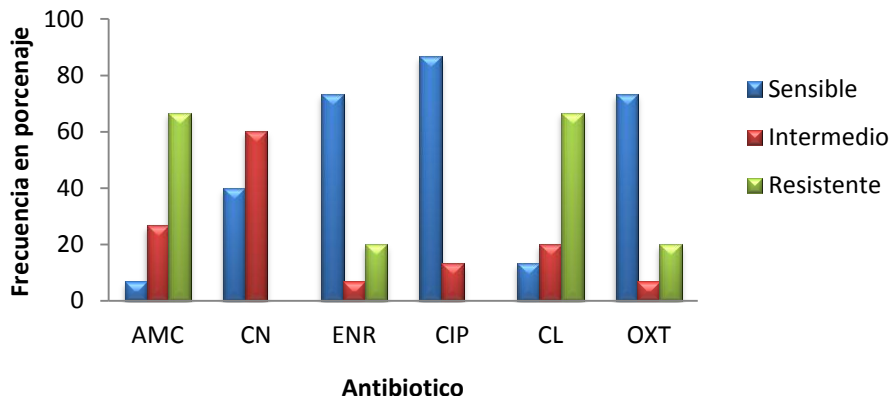
GRAFICO N° 5



## Perfil de resistencia de *Staphylococcus Aureus* a los diferentes antibióticos

Amoxicilina- Acido clavulanico (AMC), Cefalexina (CL), Enrofloxacin (ENR), Oxitetraciclina (OXT), Gentamicina (CN), Vancomicina (VA), Eritomicina (E), Ciprofloxacina (CIP)

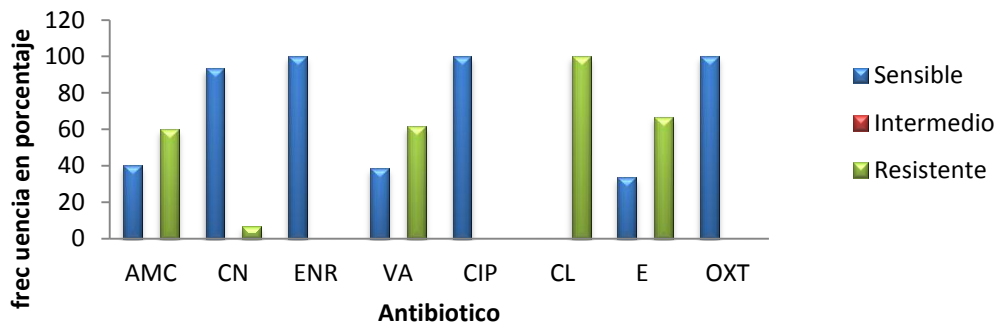
GRAFICO N° 6



### Perfil de resistencia de *E.coli* a los diferentes antibióticos

Amoxicilina- Acido clavulanico (AMC), Cefalexina (CL), Enrofloxacin (ENR), Oxitetraciclina (OXT), Gentamicina (CN), Vancomicina (VA), Eritomicina (E), Ciprofloxacina (CIP)

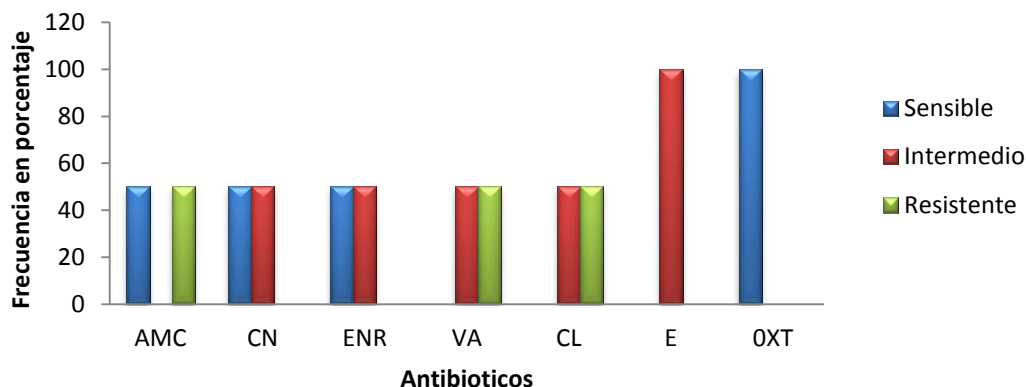
GRAFICO N° 7



### Perfil de resistencia de *Staphylococcus* coagulasa negativo a los diferentes antibióticos

Amoxicilina- Acido clavulanico (AMC), Cefalexina (CL), Enrofloxacin (ENR), Oxitetraciclina (OXT), Gentamicina (CN), Vancomicina (VA), Eritomicina (E), Ciprofloxacina (CIP)

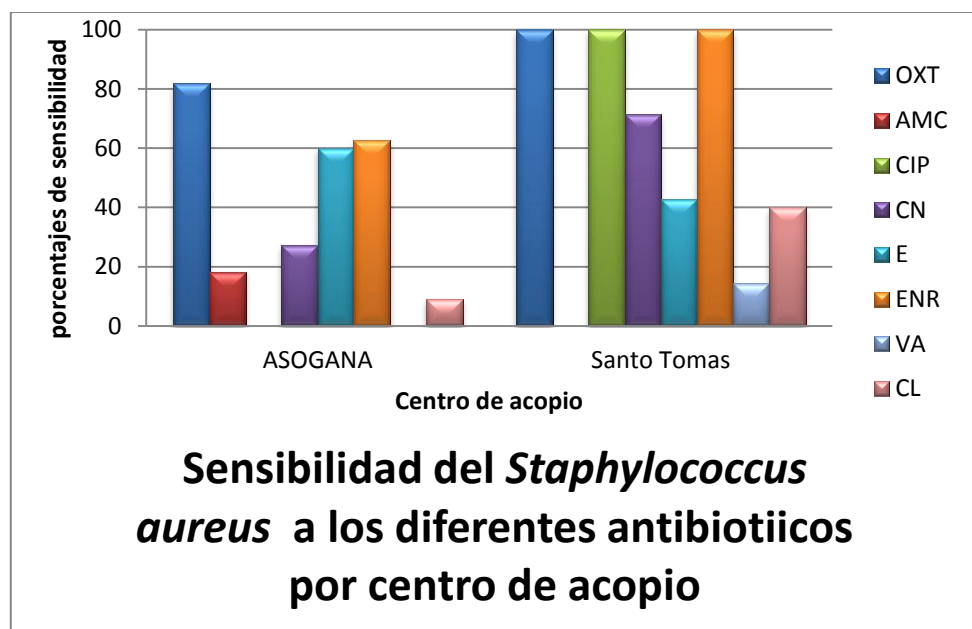
GRAFICO N° 8



### Perfil de resistencia de *Streptococcus spp* a los diferentes antibióticos

Amoxicilina- Acido clavulanico (AMC), Cefalexina (CL), Enrofloxacin (ENR), Oxitetraciclina (OXT), Gentamicina (CN), Vancomicina (VA), Eritomicina (E), Ciprofloxacina (CIP)

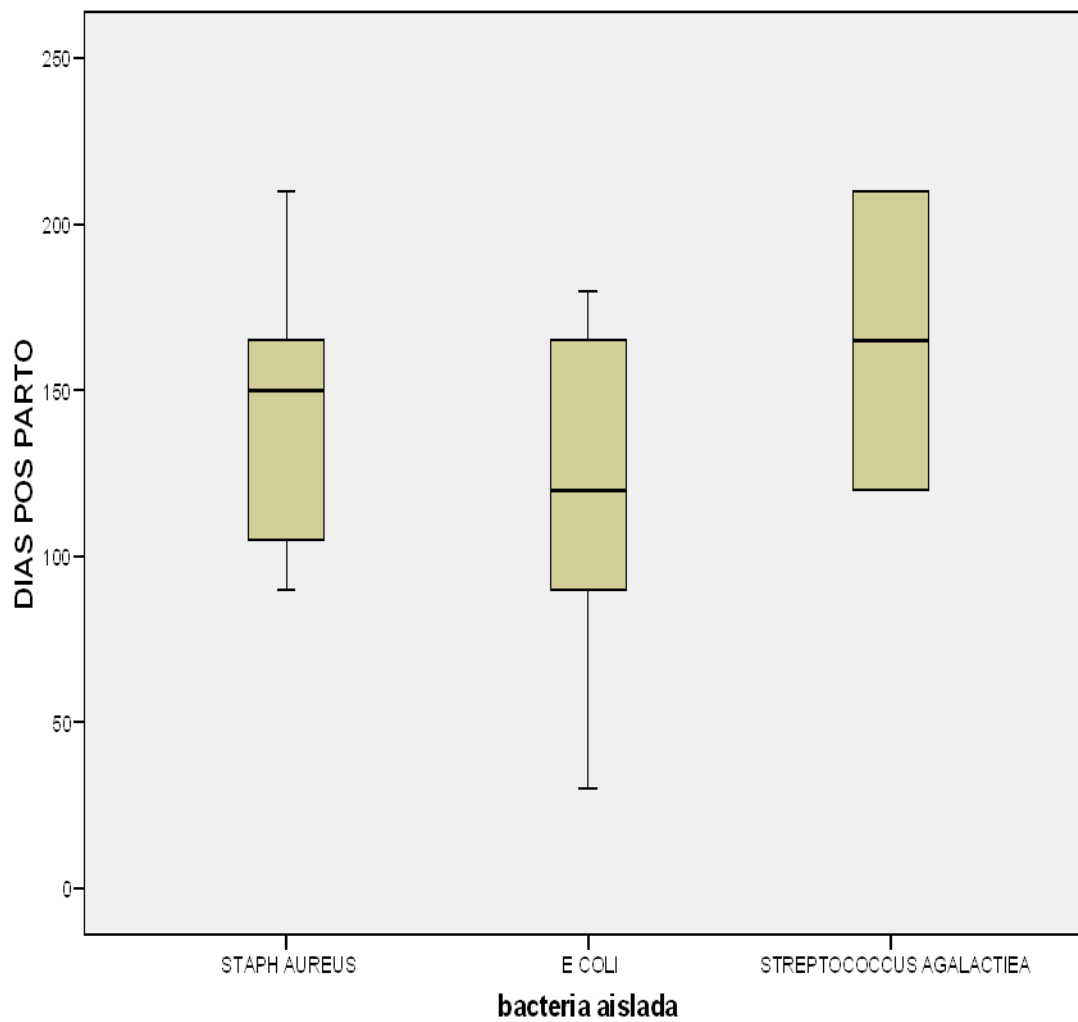
GRAFICO N° 9



### Sensibilidad del *Staphylococcus aureus* a los diferentes antibióticos por centro de acopio

Amoxicilina- Acido clavulanico (AMC), Cefalexina (CL), Enrofloxacin (ENR), Oxitetraciclina (OXT), Gentamicina (CN), Vancomicina (VA), Eritomicina (E), Ciprofloxacina (CIP). S: Sensible I: Intermedio R: Resistente.

GRAFICA N° 10



Asociación entre el agente bacteriano y los días pos parto

GRAFICA N° 11

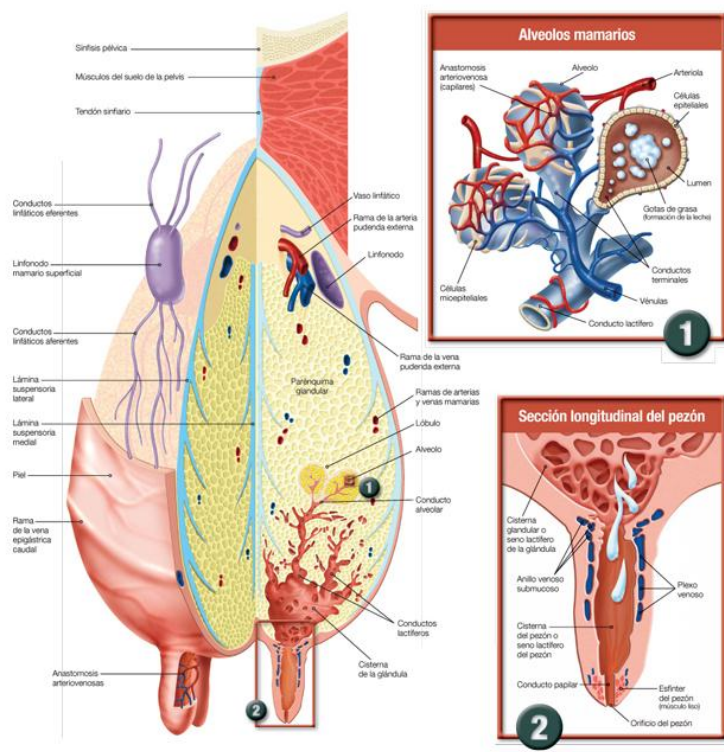


Figura N° 1

Estructura de la ubre. Anatomía de la glándula mamaria. [www.Engormix.com](http://www.Engormix.com)

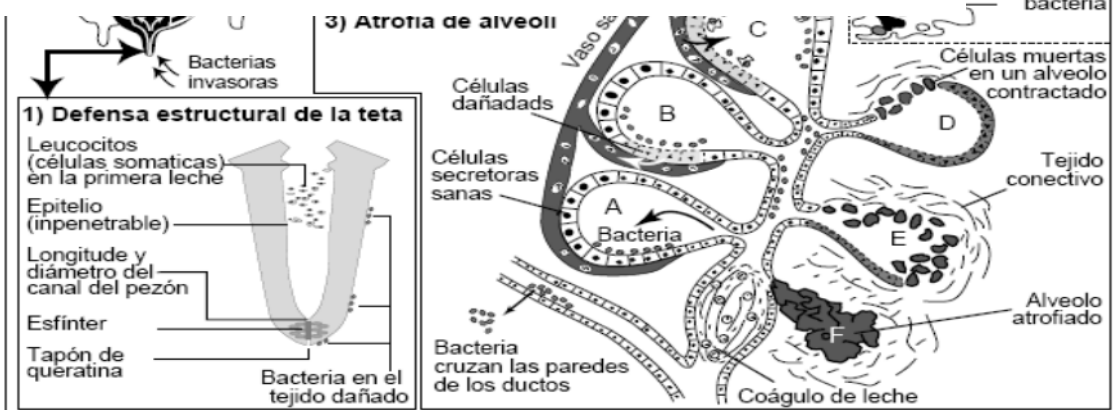


Figura N° 2

Desarrollo de la mastitis y la defensa de la ubre contra la infección. Manual  
Mastitis [www.Engormix.com](http://www.Engormix.com)

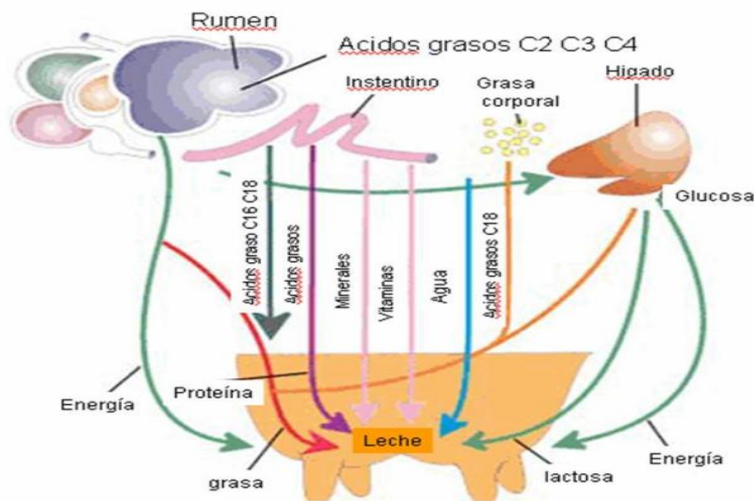


Figura N° 3

Precursores de la leche. <http://www.delaval.com.Laglándulamamaria>

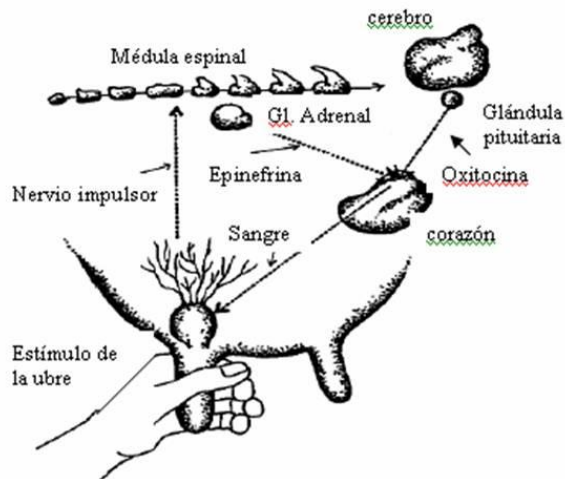


Figura N° 4

Bajada de leche mediante estimulación de ubre. <http://www.delaval.com>





Figura N° 5

Taza probadora, utilizado para la realización de despunte.

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf>



Figura N° 6

Reactivo CMT y Raqueta utilizados para diagnóstico de campo de Mastitis Subclínica.

Fotografía tomada por Norma Campos.

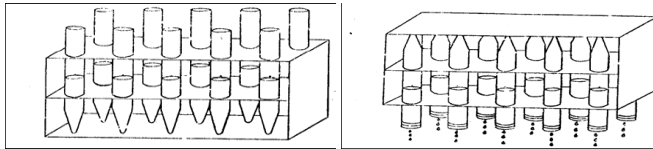


Figura N° 7

Prueba de Wisconsin para mastitis.

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf>



Figura N° 8

Imagen tomada del Dr. Gonzalo Carmona Solano. Recolecta de muestras para pruebas bacteriológicas



Figura N° 9

Conteo de células somáticas por microscopia directa



Figura N° 10

Método células somáticas. Se utiliza un kit para detectar mastitis

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf>



Figura N° 11

Método conductividad eléctrica de la leche (PCE)

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf>



Figura N° 12

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf> Papel indicador de mastitis

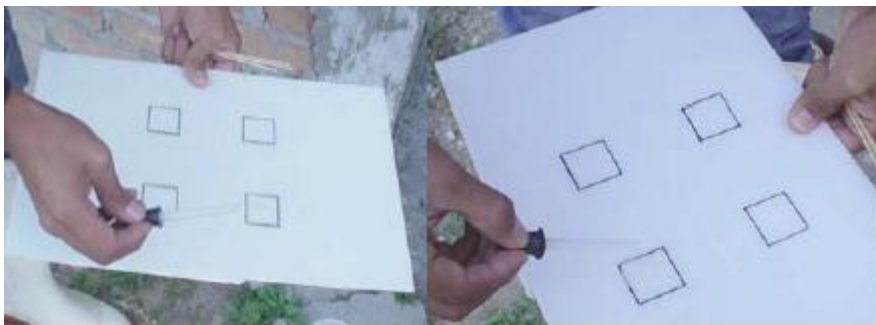


Figura N° 13

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf> Papel de la hoja blanca utilizado para diagnostico Mastitis



Figura N° 14

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf> Bastoscan contador celular



Figura N° 15

<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf> Fossomatic



### Anexo (N°3)



Universidad  
Nacional  
Autónoma de  
Nicaragua - León

Centro Veterinario  
Diagnóstico e Investigación  
CEVEDI  
Laboratorio Microbiología Veterinaria

UNAN - León  
Campus Agropecuario, León,  
Nicaragua  
Teléfono: (505) 311 1779  
(505) 311 1780  
e-mail: [cevediunanleon@gmail.com](mailto:cevediunanleon@gmail.com)



#### Ficha de Recolección de datos sobre mastitis Subclínica Bovina

|                              |                  |                      |                    |              |                   |
|------------------------------|------------------|----------------------|--------------------|--------------|-------------------|
| No de Ficha                  |                  |                      | Fecha              |              |                   |
| Nombre de la finca           |                  |                      |                    |              |                   |
| Propietario                  |                  |                      |                    |              |                   |
| Departamento                 |                  |                      |                    |              |                   |
| Municipio                    |                  |                      |                    |              |                   |
| Comunidad                    |                  |                      |                    |              |                   |
| Vaca en ordeño               |                  |                      |                    |              |                   |
| Vacas horas                  |                  |                      |                    |              |                   |
| Vacas secas                  |                  |                      |                    |              |                   |
| Numero de ordeñadores        |                  |                      |                    |              |                   |
| Vacas por ordeñador          |                  |                      |                    |              |                   |
| Explotación                  | Intensiva<br>(1) | Extensiv<br>a (2)    |                    |              |                   |
| <b>Datos sobre el Animal</b> |                  |                      |                    |              |                   |
| Nombre (ID):                 |                  | No de identificación |                    | Edad en años |                   |
| Número de partos             | 1                | 2-3                  | 4-5                | 6-7          | 8<br>-<br>ma<br>s |
| Raza                         | Pardo Suizo (1)  | Holstain (2)         | Pardo Brahaman (3) | Otras (4)    |                   |
| Litros por día               | 1-2(1)           | 3-4                  | 5-6                | 7-8          | 9<br>-<br>ma<br>s |
| No de ordeños días           | 1                | 2                    |                    |              |                   |
| CMT previa                   | Si (1)           | No (2)               |                    |              |                   |

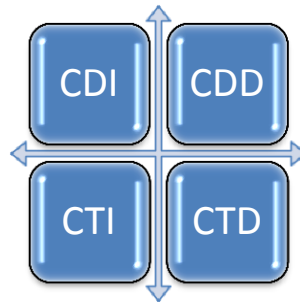


|                                                                   |                     |                          |                              |                        |                      |
|-------------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------------|------------------------------|------------------------|----------------------|
| <b>Cuantos CMT</b>                                                | 1                   | 2                        | 3                            | 3-mas                  |                      |
| <b>Días posparto</b>                                              |                     |                          |                              |                        |                      |
| <b>Antecedentes de mastitis Subclínica</b>                        | Si (1)              | No(2)                    |                              |                        |                      |
| <b>Higiene previa al ordeno</b>                                   |                     |                          |                              |                        |                      |
| <b>Asepsia del animal.</b>                                        | Buena(1)            | Mala(2)                  | <b>Desinfección de ubres</b> | Buena (1)              | Ma la (2) No lo hace |
| <b>Desinfección de extremidades traseras</b>                      | Si (1)              | No(2)                    | <b>Etapas de secado</b>      | Si (1)                 | No (2)               |
| <b>Limpieza adecuada de los recipientes recolectores de leche</b> | Si (1)              | No(2)                    | <b>Con que se seca</b>       |                        |                      |
| <b>Qué tipo de sustancia ocupa como desinfectante de la ubre</b>  | Cloro(1)            | Alcohol(2)               | Ja bón(3) Solo agua          | Y odo(4)               | No lo hace Ctro(5)   |
| <b>Higiene durante el ordeño</b>                                  |                     |                          |                              |                        |                      |
| <b>Tipo de ordeño</b>                                             | Artesanal(1)        | Pellizco Puño Martillo   | Mecánico(2)                  | Observaciones          |                      |
| <b>Baño del ordeñador</b>                                         | Si                  | No                       |                              |                        |                      |
| <b>Lavado de manos</b>                                            | Antes del ordeño(1) | Entere vaca y vaca (2)   | Entre grupo (3)              | No se lava las mano(4) |                      |
| <b>Examina los primeros chorros de leche (despunte)</b>           | Si (1)              | No (2)                   |                              |                        |                      |
| <b>El ordeñador manipula los rejos</b>                            | Si (1)              | No (2)                   |                              |                        |                      |
| <b>Si el animal defeca u orina en el ordeño</b>                   | Prosigue (1)        | Limpia inmediatamente(2) | Limpia después(3)            | No limpia(4)           |                      |
| <b>Si limpia lo hace</b>                                          | El ordeñador(1)     | Otra persona(2)          |                              |                        |                      |
| <b>El ordeñador interrumpe el ordeños</b>                         | Si (1)              | No(2)                    |                              |                        |                      |
| <b>Vestimenta adecuada, limpia y específica</b>                   | Si(1)               | No (2)                   |                              |                        |                      |
| <b>Estimulación</b>                                               | Concentr            | Ternero(                 | Oxitocina(3)                 |                        |                      |



|                                                            |                     |                  |                                   |                |                     |
|------------------------------------------------------------|---------------------|------------------|-----------------------------------|----------------|---------------------|
|                                                            | ado(1)              | 2)               |                                   |                |                     |
| <b>Pone al ternero después del ordeño</b>                  | Si (1)              | No(2)            |                                   |                |                     |
| <b>Sella con yodo</b>                                      | Si (1)              | No(2)            |                                   |                |                     |
| <b>Alimenta al animal después del ordeño</b>               | Pasto (1)           | Nave (2)         | No(3)                             | Corral (4)     |                     |
| <b>Lugar de Ordeño</b>                                     | Sala de ordeño(1)   | Corral(2)        |                                   |                |                     |
| <b>Piso de sala de ordeño</b>                              | Tierra (1)          | Concreto (2)     |                                   |                |                     |
| <b>Techo de sala de ordeño</b>                             | Si                  | No               |                                   |                |                     |
| <b>Limpieza de sala de ordeño</b>                          | Diario(1)           | 2-3 veces/sem(2) | 1 vez/sem(3)                      | No lo hace (4) |                     |
| <b>Como limpia</b>                                         | Barre(1)            | Lava con agua(2) | Lava con agua y desinfectantes(3) |                |                     |
| <b>Utiliza un protocolo de tratamiento contra mastitis</b> | Si(1)               |                  |                                   |                | No (2)              |
| <b>Tipo antibiótico</b>                                    | CN.(1) <sub>1</sub> | ENR (2)          | OT.(3)                            | PE N.(4)       | C L. C I(5) Am/ AcC |
| <b>Cuando</b>                                              | Menos de 1 mes(1)   | 2 meses(2)       | 3 a mas mese(3)                   |                |                     |
| <b>Que hace con la Leche de retiro</b>                     | Ala ternero         | Derivados        | Consumo en el hogar               | Otros animales | A copio             |
| <b>Respeto el periodo de Retiro pos tratamiento</b>        | Si (1)              | No(2)            |                                   |                |                     |
| <b>Examen clínico de la ubre</b>                           | c/1 mes(1)          | c/3 mese(2)      | No (3)                            |                |                     |
| <b>Rota los antibióticos</b>                               | Si(1)               | No(2)            |                                   |                |                     |





**California Mastitis Test (CMT)**

---

**Nombre y firma del encuestador**