



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA

TRABAJO DE TITULACIÓN

Previa a la obtención del título de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

**“ESTUDIO INTEGRAL DE LA MASTITIS BOVINA PARA CONTROLAR SU
INCIDENCIA EN LA COMUNIDAD SAN PEDRO DE IGUAZO.”**

AUTOR:

MOISÉS POMAQUERO GUZÑAY

Riobamba – Ecuador

2016

Este trabajo de titulación fue aprobado por el siguiente Tribunal

Ing. M.C. Julio Enrique Usca Méndez.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. Byron Leoncio Díaz Monroy. Ph.D.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Dr. César Antonio Camacho León.

ASESOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Riobamba, 27 de octubre del 2016.

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, **Moisés Pomaquero Guzñay**, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 27 de octubre del 2016.

Moisés Pomaquero Guzñay

C.I. 060424749-4

AGRADECIMIENTO

A Dios, por hacer de mi todo lo que soy y darme todo lo que tengo, y por su bendición todos los días de mi vida.

A mi padre José Antonio, mi madre Ana María, a mis hermanos, familiares y amigos por depositar su cariño, confianza y entrega incondicional.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo “ESPOCH”, Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Ingeniería Zootécnica, por abrirme las puertas Y brindarme la enseñanza necesaria para poder tener una herramienta fundamental en mi vida profesional.

Al Director de titulación Dr. Byron Díaz Monroy, PhD. y Asesor, Dr. César Camacho L, quienes con su aporte y conocimientos permitieron llevar adelante y concluir el presente trabajo.

Al laboratorio “LABIMA” de la Facultad de Ciencia Pecuarias, por facilitarme el laboratorio para realizar los análisis y a los técnicos que conforma el mismo.

DEDICATORIA

A mi familia por ser ejemplo en esfuerzo, sacrificio, comprensión, amor, en el apoyo de toda mi vida profesional mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir los objetivos trazados, este logro es suyo como mío.

A los Pastores Rubén y esposa, Laurence, Luis y Jennifer, quienes estuvieron en los momentos difíciles apoyándome.

CONTENIDO

	Pág.
Resumen	v
Abstract	vi
Lista de Cuadros	vii
Lista de Gráficos	viii
Lista de Anexos	ix
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u>	3
A. MASTITIS	3
1. <u>Generalidades</u>	3
2. <u>Etiología</u>	4
3. <u>Clasificación de la mastitis de acuerdo al tipo de infección</u>	4
a. Mastitis Subclínica	4
b. Mastitis Clínica	4
1.) Mastitis Clínica Subaguda	5
2.) Mastitis Clínica Aguda	5
3.) Mastitis clínica hiperaguda	5
4.) Mastitis crónica	5
4. <u>Desarrollo de la enfermedad</u>	6
a. Invasión del pezón	6
b. Establecimiento de la infección e inflamación del área dañada	7
c. Destrucción del tejido alveolar	7
d. Transmisión de varios tipos de organismos de la mastitis	8
5. <u>Patógenos</u>	9
a. Principales agentes causales de mastitis	9
1.) <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2.) <i>Streptococcus agalactiae</i>	9
3.) <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	10
4.) <i>Streptococcus uberis</i>	10
6. <u>Otros microorganismos causantes de mastitis</u>	10
a. <i>Coliformes</i>	10
b. <i>Bacillus cereus</i>	11
7. <u>Prevención</u>	11

a.	Adecuada higiene de ordeño	11
b.	Sellado de pezones luego del ordeño	12
c.	Descarte de vacas infectadas en forma crónica	12
d.	Otras prácticas útiles de manejo	12
8.	<u>Diagnóstico</u>	12
a.	Pruebas para la detección de mastitis	13
1.)	Exámenes físicos:	13
2.)	Prueba de despunte:	13
3.)	Prueba de Mastitis de California, CMT	13
9.	<u>Factores predisponentes de mastitis</u>	15
1.)	Factores físicos:	15
a.	Heridas	15
b.	Agentes químicos	15
c.	Personal	15
d.	Equipo de ordeño	15
2.)	Otros Factores	15
a.	Factores Genéticos	16
b.	Factores Nutricionales	16
c.	Factores de Manejo	16
10.	<u>Tratamiento</u>	16
B.	ANTIBIÓTICOS	17
1.	<u>Streptomicina</u>	17
a.	Mecanismo de acción	17
b.	Espectro de actividad	18
2.	<u>Tetraciclina.</u>	18
a.	Mecanismo de acción	18
b.	Farmacología	18
3.	<u>Cefalexina</u>	19
a.	Mecanismo de acción:	19
b.	Indicaciones	19
c.	Dosis y administración	19
4.	<u>Neomicina</u>	19
a.	Mecanismo de acción	20
b.	Farmacocinética	20

c.	Indicaciones	20
C.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	20
1.	<u>Toma de muestras de la leche</u>	20
2.	<u>Instrucción para la toma de muestra</u>	21
3.	<u>Pruebas bacteriológicas</u>	21
a.	Aislamiento de los microorganismos presentes en las muestras de leche.	21
b.	Identificación de los organismos más frecuentemente aislados	22
4.	<u>Antibiograma</u>	23
5.	<u>Sensibilidad y resistencia antibiótica</u>	23
D.	PREVALENCIA DE LA MASTITIS SUB CLÍNICA EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO	24
1.	<u>Definición de prevalencia de la enfermedad</u>	24
2.	<u>Prevalencia de la enfermedad en la provincia de Chimborazo</u>	24
III.	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	26
A.	LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	26
1.	<u>Condiciones meteorológicos</u>	26
B.	UNIDADES EXPERIMENTALES	27
C.	INSTALACIONES, EQUIPOS y MATERIALES.	27
1.	<u>Instalaciones</u>	27
2.	<u>Materiales</u>	27
3.	<u>Equipos</u>	28
4.	<u>Reactivos</u>	29
5.	<u>Medios de cultivos</u>	29
D.	TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	29
1.	<u>Esquema del experimento</u>	29
E.	MEDICIONES EXPERIMENTALES	30
F.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA	30
G.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	30
1.	<u>Técnica de campo por el método California mastitis test</u>	30
2.	<u>Toma de muestras de leche</u>	31
3.	<u>Aislamiento de los microorganismos presentes en las muestras de leche</u>	32
a.	Preparación del agar sangre	32

b.	Siembras de la muestras de leche	32
c.	Incubación de las placas	33
4.	<u>Identificación de grupos o especies de organismos infectantes</u>	33
a.	Fijación de las bacterias	33
b.	Tinción Gram.	33
5.	<u>Prueba de sensibilidad bacteriana a los antibióticos</u>	34
a.	Agar sangre	34
b.	Antibiograma	34
c.	Sensibilidad de la bacteria	35
IV.	<u>RESULTADOS Y DISCUSIONES</u>	36
A.	PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO	36
B.	EVALUACIÓN DE LA INCIDENCIA DE MASTITIS Y SUS AGENTES CAUSALES EN VACAS LECHERAS DE LA COMUNIDAD DE SAN PEDRO DE IGUAZO	36
1.	<u>Incidencia inicial de mastitis</u>	36
2.	<u>Identificación de los agentes causales de la mastitis subclínica</u>	39
C.	DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD DE LOS AGENTES BACTERIANOS A 6 ANTIBIÓTICOS COMERCIALES	42
1.	<u>Sensibilidad y resistencia de los patógenos Gram positivos frente a los antibióticos</u>	42
a.	Sensibilidad	43
b.	Intermedio	45
c.	Resistencia	45
2.	<u>Sensibilidad y resistencia de los patógenos Gram negativos frente a los antibióticos</u>	48
a.	Sensibilidad	49
b.	Intermedio	51
c.	Resistencia	51
D.	EFFECTIVIDAD DE LOS 4 MEJORES ANTIBIÓTICOS COMERCIALES EN VACAS LECHERAS CON MASTITIS EN ETAPA DE PRODUCCIÓN	54
1.	<u>Edad, años</u>	54

2.	<u>Peso, kg</u>	56
3.	<u>Producción de leche antes del tratamiento</u>	56
4.	<u>Producción de leche después del tratamiento</u>	56
5.	<u>Incidencia, %</u>	57
6.	<u>Eficiencia, %</u>	57
E.	EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LOS ESTUDIOS APLICADOS EN VACAS SELECCIONADAS EN LA COMUNIDAD DE SAN PEDRO DE IGUAZO	59
V.	<u>CONCLUSIONES</u>	61
VI.	<u>RECOMENDACIONES</u>	62
VII.	<u>LITERATURA CITADA</u>	63
	ANEXOS	

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en la comunidad San Pedro de Iguazo, parroquia Quimiag, cantón Riobamba y en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias. El objetivo fue realizar un estudio integral de la mastitis bovina para controlar su incidencia. Mediante la técnica california mastitis test (CMT) se muestrearon un total de 16 vacas, se reportó una incidencia de 56,24% del cuarto posterior izquierdo (CPI), 50% cuarto posterior derecho (CPD), 43,75% cuarto anterior izquierdo (CAI) y finalmente el cuarto anterior derecho (CAD) con 25%. Se aislaron patógenos gram positivos en donde sobresalieron *Staphylococcus sp* con un 60,42% y *Streptococcus sp* con un 25% y otras gram negativas. La sensibilidad se determinó mediante antibiograma, para ello se utilizaron 6 discos múltiples de penicilina, tetraciclina, estreptomina, cefalexina, lincomicina y neomicina. En gram positivas se observó una sensibilidad a la estreptomina del 66,67% y una resistencia a la penicilina del 72,73%, en cambio en gram negativas se encontró una sensibilidad a la neomicina del 85,71% y una resistencia a la cefalexina y lincomicina del 57,14%. En la evaluación de los mejores antibióticos en vacas con mastitis subclínica se reporta una alta eficiencia con la aplicación de estreptomina y la tetraciclina con el 100 y 93,75 % respectivamente, con un incremento de producción lechera de 1,87 y 0,88 litros en su orden, por lo que se recomienda la aplicación de tetraciclina para controlar la mastitis subclínica, debido a que los costos del tratamiento son bajos y eficientes.

ABSTRACT

The present research work was realized in San Pedro de Iguazo Community, Quimiag Parish, Riobamba Canton and the Animal Biotechnology and Microbiology Laboratory of the Faculty of Animal Sciences. The main objective was to realize a study of bovine mastitis to control its incidence. Through the technique of California mastitis test (CMT), a total of 16 cows were shown, an incidence was reported of 56, 24% of the left posterior quarter (CPI), 50% of the right posterior quarter (CPD), 43, 75% of the left anterior quarter (CAI), and finally 25% of the right anterior quarter (CAD). It was isolated Gram positive pathogens, where they excelled *Staphylococcus* sp with a 60.42% and *Streptococcus* sp with a 25% and other Gram-negative. The sensitivity was determined by antibiogram, for this it were used 6 multiple disks of penicillin, tetracycline, streptomycin, cephalexin, lincomycin and neomycin. In Gram-positives was observed a sensibility of the Streptomycin of 66, 67%; and a resistance to the penicillin of 72, 76%, instead in Gram-negatives it was found a sensibility to the neomycin of 85, 71% and a resistance to the cephalexin and lincomycin of 57, 14%. In the evaluation of the best antibiotics in cows with subclinical mastitis, it was are reported a high efficiency with the application of streptomycin and tetracycline with the 100 and 93, 75% respectively, with an increase in milk production of 1, 87 and 0, 88 liters in its order, And therefore the application of tetracycline to control subclinical mastitis is recommended, because treatment costs are low and efficient.

LISTA DE CUADROS

N°	Pág.
1. INTERPRETACIÓN DE LOS GRADOS DEL CMT.	14
2. DIÁMETRO DE INHIBICIÓN PARA PATÓGENOS BACTERIANOS MASTITOGÉNICOS.	24
3. CONDICIONES METEOROLÓGICAS DE LA PARROQUIA QUIMIAG.	26
4. DISEÑO DEL EXPERIMENTO.	29
5. ESQUEMA DEL ADEVA.	30
6. CONTROL DE CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT), INICIAL EN LAS VACAS DE LA COMUNIDAD DE SAN PEDRO DE IGUAZO.	37
7. IDENTIFICACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA EN VACAS DE LA COMUNIDAD DE SAN PEDRO DE IGUAZO.	39
8. PORCENTAJE DE SENSIBILIDAD, INTERMEDIO Y RESISTENTE CIA DE LOS <i>STAPHYLOCOCCUS SP</i> , <i>STREPTOCOCCUS SP</i> FRENTE A LOS ANTIBIÓTICOS COMERCIALES.	42
9. PORCENTAJE DE SENSIBILIDAD, INTERMEDIO Y RESISTENTE CIA DE LOS COCOS Y BACILOS GRAM NEGATIVOS FRENTE A LOS ANTIBIÓTICOS COMERCIALES.	49
10. EVALUACIÓN DE LOS 4 MEJORES ANTIBIÓTICOS COMERCIALES EN VACAS LECHERAS CON MASTITIS EN ETAPA DE PRODUCCIÓN.	55
11. ANÁLISIS ECONÓMICO DE LOS ESTUDIOS.	60

LISTA DE GRÁFICOS

Nº	Pág.
1. Desarrollo de la mastitis y de la defensa de la vaca contra la infección	6
2. La transmisión de varios tipos de organismos de la mastitis.	8
3. Porcentaje de incidencia de acuerdo a los cuartos evaluados con la prueba de CMT.	38
4. Porcentaje de agentes causales de la mastitis subclínica en las vacas.	40
5. Porcentaje de sensibilidad, de los <i>Staphylococcus sp</i> y <i>Streptococcus sp</i> frente a los antibióticos comerciales.	44
6. Porcentaje de sensibilidad media, de los <i>Staphylococcus sp</i> y <i>Streptococcus sp</i> frente a los antibióticos comerciales.	46
7. Porcentaje de resistencia, de los <i>Staphylococcus sp</i> y <i>Streptococcus sp</i> frente a los antibióticos comerciales.	47
8. Porcentaje de sensibilidad, de los Bacilos sp y Cocos Gram negativos frente a los antibióticos comerciales.	50
9. Porcentaje de sensibilidad Media, de los Bacilos sp y Cocos Gram negativos frente a los antibióticos comerciales.	52
10. Porcentaje de resistencia, de los Bacilos sp y Cocos Gram negativos frente a los antibióticos comerciales.	53
11. Porcentaje de eficiencia de los antibióticos comerciales en vacas con mastitis subclínica.	58

LISTA DE ANEXOS

Nº

1. BACTERIAS CAUSANTES DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA EN LA COMUNIDAD DE SAN PEDRO DE IGUAZO.
2. ANTIBIOGRAMA.
3. RESULTADOS DEL CMT POST TRATAMIENTO EN EL HATO DE SAN PEDRO DE IGUAZO.
4. CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I).
5. TEST: DUNCAN $\alpha=0,05$.
6. DEFENSA DE TRABAJO DE TITULACIÓN.

I. INTRODUCCIÓN

La mastitis es una enfermedad extendida a nivel mundial y se ha convertido en uno de los problemas más frecuentes de las ganaderías lecheras, siendo comúnmente la enfermedad más problemática que ocasiona notables pérdidas sobre la producción y la calidad de la leche. Es una enfermedad producida por diversos factores entre los que intervienen: el animal, medio ambiente, agentes causales y otros, los cuales aumentan el riesgo de infección. La presencia de esta patología en la glándula mamaria, ha sido uno de los factores más limitantes dentro del desarrollo económico en el sector ganadero, debido a que sus efectos ocasionan una notable reducción en la producción de la secreción láctea, derivada de factores físicos, químicos, mecánicos y/o infecciosos (Bradley, A. 2014).

La mastitis subclínica evoluciona sin signos inflamatorios externos. Los signos más importantes son: aumento del contenido celular de la leche y la presencia de microorganismos patógenos en la ubre. La enfermedad se diagnostica mediante las pruebas de recuento celular y un estudio bacteriológico. Actualmente el mejor indicador para estimar las pérdidas de mastitis en un hato es el recuento electrónico de las células somáticas. Para la industria de lácteos es muy significativa la transformación causada a la leche por la mastitis. El tiempo de cuajado aumenta en el caso de producción de queso y la cantidad de queso disminuye considerablemente (Concha, C. 2011).

Los agentes antimicrobianos han sido ampliamente usados para el tratamiento de mastitis bovina; existen importantes razones para evaluar la resistencia a los antibióticos, una de ellas es la obtención de información que ayudará en la elección del fármaco antimicrobiano más adecuado para el tratamiento, y el más importante desde el punto de vista de Salud Pública, que se enfoca en la detección temprana de cepas bacterianas con resistencia múltiple a distintos antibióticos para evitar la presencia de estas en la cadena de alimentos de origen animal.

Por lo mencionado anteriormente en la presente investigación, se planteó los siguientes objetivos, considerando como referencia estimaciones de prevalencia efectuadas en la misma zona.

- Diagnosticar la incidencia de mastitis y sus agentes causales en vacas lecheras de la comunidad de San Pedro de Iguazo.
- Evaluar la resistencia y sensibilidad de los agentes bacterianos a 6 antibióticos comerciales.
- Evaluar los 4 mejores antibióticos comerciales en vacas lecheras con mastitis y en etapa de producción.
- Realizar el análisis económico del estudio.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

A. MASTITIS

1. Generalidades

La mastitis es la enfermedad más común y costosa del ganado lechero en la mayor parte del mundo. La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria causada por agentes químicos o físicos, pero en su mayoría los casos están relacionados con una infección bacteriana. Se ha señalado que la aplicación de técnicas inadecuadas de ordeño en los bovinos (*Bos taurus - indicus*), favorece el establecimiento de esta entidad patológica entre un 70 a 80% de los casos (Valero, K. 2010).

La mastitis bovina es una enfermedad infecto-contagiosa de la glándula mamaria, en la cual la inflamación se produce como respuesta a la invasión, a través del canal del pezón, de diferentes tipos de bacterias, micoplasmas, hongos, levaduras y hasta algunos virus. Sin embargo, las bacterias de los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium* y algunos gérmenes Gram -, son responsables de más del 90 % de los casos clínicos y subclínicos. La enfermedad puede cursar como subclínica (la de mayor prevalencia en un rodeo), o como clínica, con alteraciones macroscópicas de la leche y síntomas palpables de la ubre y, a veces, de tipo sistémico en todo el animal (Faria, R. *et al* 2012).

Aunque en las pérdidas económicas atribuibles a la mastitis contribuyen, tanto los animales que presentan la enfermedad clínica como subclínica, las pérdidas económicas derivadas de las mastitis subclínicas son más importantes, debido a la reducción en la producción de la leche que tiende a persistir por un largo período de tiempo y al mayor número de animales afectados por unidad de producción.

Un cuarto de la ubre sano es aquel que no muestra alguna alteración patológica externa, la leche no contiene microorganismos patógenos y tiene un nivel normal de células somáticas de < 100,000/ml (Ruiz, A. *et al* 2012).

2. Etiología

Se han identificado aproximadamente 140 especies causantes de mastitis, que se dividen en patógenos contagiosos y ambientales; dentro de los primeros, los principales son *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* y *Mycoplasma*; siendo su principal vía de entrada es el canal del pezón (Barrera, J. *et al.* 2016).

Es una bacteria en forma de coco Gram + coagulasa positivo, coloniza las heridas de la piel y las hiperqueratosis producidas como consecuencia del ordeño en los esfínteres de los pezones (Ruiz, A. *et al* 2012).

3. Clasificación de la mastitis de acuerdo al tipo de infección

a. Mastitis Subclínica

La mastitis subclínica es una inflamación de la ubre sin síntomas externos reconocibles. El contenido de células somáticas esta elevado en dos de tres muestreos (con un intervalo de una semana) y se observa la presencia de patógenos de mastitis, la composición química de la leche esta alterada (Gómez, L. 2015).

b. Mastitis Clínica

La mastitis se observa con síntomas claros de una inflamación de la ubre, hay temperatura elevada, con dolores e inflamación. La leche está muy alterada macroscopicamente y con frecuencia los animales presentan fiebre (Ruiz, A. *et al* 2012).

La mastitis clínica es definida como una anormalidad en la glándula mamaria de la vaca o la leche, que puede ser fácilmente observada, se caracteriza por la tumefacción o dolor en la ubre, enrojecimiento de la misma, la leche puede presentar una apariencia anormal (Barrera, J. *et al.* 2016).

La mastitis clínica puede ser clasificada de acuerdo a su nivel de gravedad

1.) Mastitis Clínica Subaguda

Esta forma de inflamación es levemente clínica y los síntomas son alteraciones menores en la leche, como grumos, flóculos u aspecto aguachento. El cuarto afectado puede presentar leve hinchazón y sensibilidad al tacto, además de un poco o nada de calor localizado y enrojecimiento. Puede haber reducción de la producción de leche. No hay signos sistémicos de la enfermedad (Chaves, C. 2010).

2.) Mastitis Clínica Aguda

Estas mastitis se caracterizan por un ataque repentino con enrojecimiento, hinchazón y endurecimiento del cuarto afectado, el cual además es sensible al tacto. La leche tiene un aspecto muy anormal (purulento, seroso aguachento o sanguinolento) y la producción disminuye marcada y repentinamente (Concha, C. 2011).

3.) Mastitis clínica hiperaguda

Este tipo de inflamación es rara, se caracteriza por un desarrollo muy rápido; los síntomas presentados son los mismos que en el caso de la mastitis clínica aguda, pero este caso es mucho más grave por los síntomas adicionales que incluyen: fiebre, choque, fibrosis de la ubre, septicemia, extremidades frías, reducción del reflejo pupilar, (Chaves, C. 2010).

4.) Mastitis crónica

Es de larga duración y se puede establecer como cualquier otra de las formas clínicas previamente descritas o puede iniciarse con una infección subclínica, con aparecimientos clínicos repentinos e intermitentes; los síntomas son de desarrollo progresivo de tejido fibroso, alteraciones en tamaño y forma del tejido y reducción del rendimiento de la producción de leche, (Barrera, J. *et al.* 2016).

4. Desarrollo de la enfermedad

Las infecciones comienzan cuando los microorganismos penetran el canal del pezón y se multiplican en la glándula mamaria.

a. Invasión del pezón

El pezón en sí es la primera línea de defensa contra la penetración de bacteria dentro de la ubre. Normalmente, el esfínter cierra el canal del pezón fuertemente cuando la vaca no es ordeñada. La invasión del pezón se presenta generalmente durante el ordeño. Los organismos presentes en la leche o en la punta del pezón son impulsados dentro del canal del pezón y de la cisterna cuando existe la entrada indeseable de aire en la unidad de ordeño (desprendimiento o pérdidas de la unidad o remoción de la pezonera sin haber antes cerrado el vacío). Luego del ordeño, el canal del pezón permanece dilatado por una o dos horas e inclusive, el canal del pezón dañado puede permanecer parcialmente o permanentemente abierto. Los organismos del ambiente (materia fecal, cama, etc.), o aquellos que se encuentran en lesiones de la piel en la punta del pezón, pueden invadir fácilmente y abrir total o parcialmente el canal (Anon, 2010), (gráfico 1).

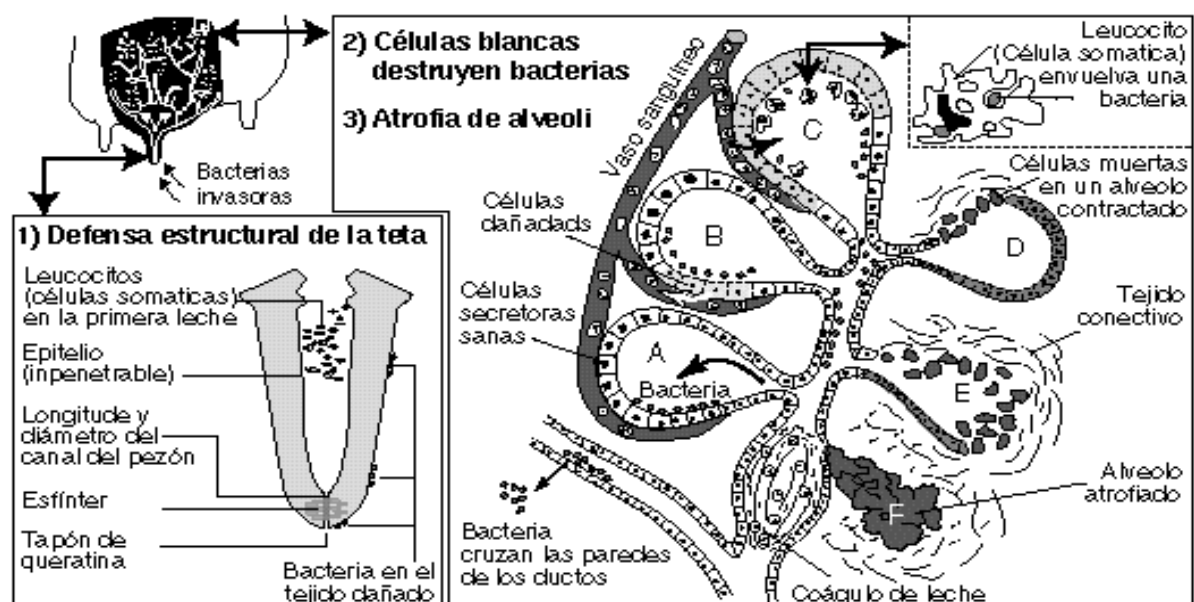


Gráfico 1. Desarrollo de la mastitis y de la defensa de la vaca contra la infección.

Fuente: http://geneticapecuaria.es.tl/*Mastitis.htm. (2016).

b. Establecimiento de la infección e inflamación del área dañada

En algunas bacterias pueden avanzar dentro de la ubre atacando y colonizando nuevos tejidos; otras pueden moverse por medio de la corriente de leche producida por el movimiento de la vaca. Las bacterias dañan primero los tejidos que recubren los grandes tubos colectores de leche. Las bacterias pueden enfrentarse con leucocitos (células blancas de la leche) presentes naturalmente en bajas cantidades en la leche. Estas células son la segunda barrera de defensa debido a que pueden englobar y destruir a las bacterias. Aun así, durante este proceso, los leucocitos liberan sustancias que atraen a más leucocitos desde el torrente circulatorio hacia la leche (Anon, 2010).

Si las bacterias no son totalmente destruidas, pueden continuar multiplicándose y comenzar a invadir los pequeños conductos y áreas alveolares. Las células secretoras de leche que son dañadas por las toxinas, liberan sustancias irritantes que conducen a un incremento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos. Leucocitos adicionales se mueven al lugar de la infección. Ellos penetran el tejido alveolar en gran medida moviéndose entre el tejido secretor de leche dañado (Barrera, J. *et al.* 2016).

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

c. Destrucción del tejido alveolar

Algunas veces los microorganismos son eliminados rápidamente y la infección se aclara. En este caso, los conductos tapados se abren y la composición y producción de leche retorna a la normal en varios días. Aun así, a medida que la infección persiste y los conductos se mantienen tapados, la leche encerrada hace que las células secretoras pasen a una etapa de descanso (sin producir) y el alvéolo comienza a reducir su tamaño. Las sustancias liberadas por los leucocitos conducen a una destrucción completa de las estructuras alveolares, que son reemplazadas por tejido conectivo y cicatriza. La destrucción del tejido

secretor de leche es, en efecto, la tercera línea de defensa de la vaca para mantener a la infección bajo control (Anon. 2010).

Por lo tanto a medida que la enfermedad progresa el número de células somáticas en la leche se eleva y se asocia con una reducción (permanente), en la producción de leche.

d. Transmisión de varios tipos de organismos de la mastitis

Un intento por controlar los diferentes tipos de infecciones, es importante considerar la fuente y formas de transmisión de la enfermedad. Los organismos que causan la mastitis viven en diferentes ambientes (materia fecal, cama, piel, etc.).

La limpieza general de las vacas y su alojamiento, como también buenos procedimientos de manejo (especialmente ordeño), son formas efectivas de controlar la difusión de la mastitis (Anon. 2010), (gráfico 2).

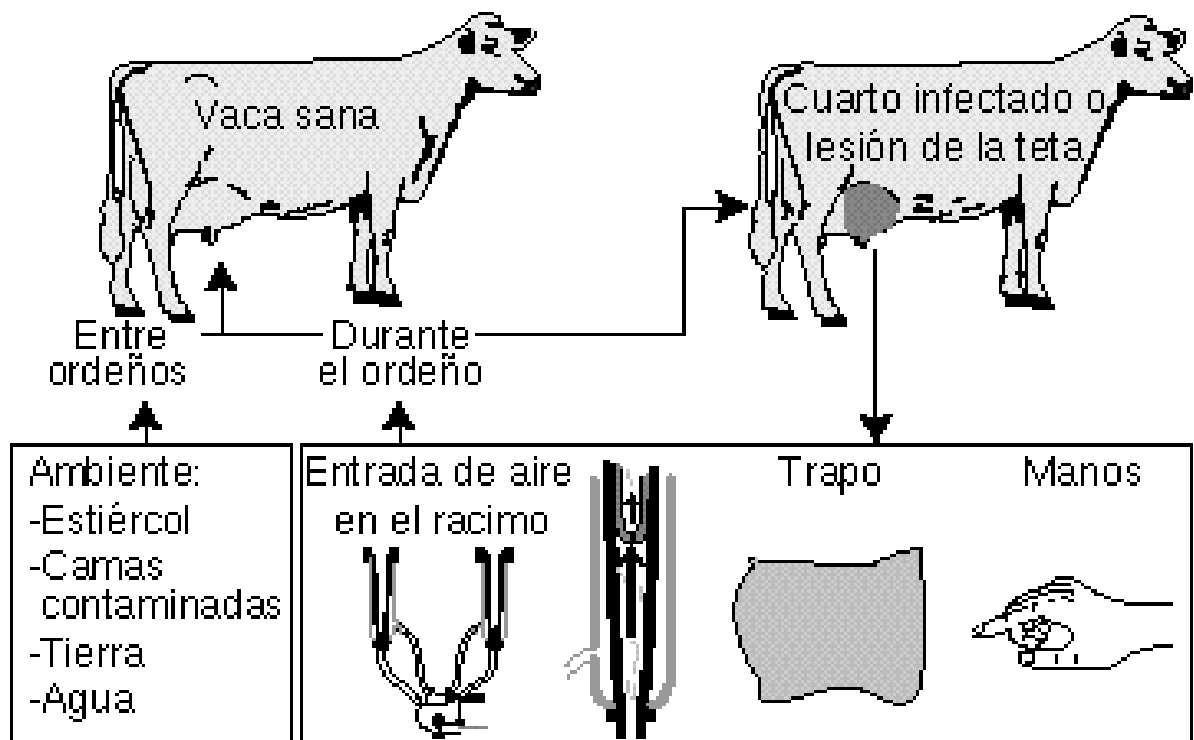


Gráfico 2. La transmisión de varios tipos de organismos de la mastitis.

Fuente: http://geneticapecuaria.es.tl/*Mastitis.htm. (2016).

5. Patógenos

La infección de la glándula mamaria siempre ocurre a través del conducto glandular pasan del exterior de la ubre al conducto glandular los gérmenes, una vez en el conducto proliferan e invaden el tejido mamario, causando daño lo cual crea una inflamación y se produce la mastitis clínica (Pereyra, E. 2015).

La mastitis es ocasionada por organismos microscópicos que penetran la ubre a través del canal de los pezones. La penetración puede ocurrir por multiplicación, movimiento mecánico, propulsión durante el ordeño o por una combinación de factores. Aproximadamente del 90 al 95% de los casos son provocados por cuatro microorganismos. Los cuales son; *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* (Aguilar, A. 2014).

a. Principales agentes causales de mastitis

1.) *Staphylococcus aureus*

Es el principal agente causante de mastitis bovina en Argentina y en el mundo. Esta bacteria ocasiona infecciones crónicas que generan importantes pérdidas a los productores y la industria lechera (Pereyra, E. L. 2015).

Uno de los microorganismos importantes, en la mastitis infecciosa es el *Staphylococcus aureus* y su importancia radica en que no es un patógeno obligado de la ubre, ya que se puede encontrar también en lesiones de la piel de los pezones, en las manos de los ordeñadores, en las camas, en los equipos de ordeño y en muchas ocasiones, las prácticas de manejo pueden hacer que este agente etiológico alcance el conducto del pezón y de ahí desencadenar una reacción inflamatoria (Calderón, A. Rodríguez, V. 2011).

2.) *Streptococcus agalactiae*

Existe la posibilidad de una transmisión mutua del bovino al humano por *B. streptococcus* y ha sido comprobada. Los *B. streptococcus* han podido ser

aislados de personas que consumen leche cruda, de manera más frecuente que de los que consumen leche pasteurizada. La prevalencia en los establos de Hesse fue de un 5% en 433 establos investigados, con altos niveles de células somáticas. El *Streptococcus agalactiae* pudo ser aislado y estaba relacionado con problemas de salud de la glándula mamaria (Ruiz, A. *et al* 2012).

3.) *Streptococcus dysgalactiae*

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, (Ruiz, A. *et al* 2012).

4.) *Streptococcus uberis*

Es importante tener en cuenta este germen, ya que cuando los programas de control de mastitis contagiosas son efectivos se puede incrementar su prevalencia, adicionalmente, es un microorganismo que tiene una amplia distribución en el hato y se puede aislar de los genitales externos, de la piel de la ubre y de los pezones de las vacas, de la cama y de cualquier material que entre en contacto con la materia fecal, (Calderón, A. Rodríguez, V. 2011).

6. Otros microorganismos causantes de mastitis

a. *Coliformes*

Probablemente la infección por *coliformes* sea más común, en nuestro país, de lo que se estimaba anteriormente. Viven en el estiércol, barro y agua contaminada. Entre las bacterias *coliformes* se incluyen los géneros *Escherichia*, *Klebsiella* y *Enterobacter*. Al igual que los *estreptococos* ambientales, las nuevas infecciones por *coliformes* son muy comunes al comienzo del período de seca y en el periparto, por lo que un ambiente saludable para las vacas secas es recomendable para controlar la enfermedad, (Chaves, C. 2010).

b. *Bacillus cereus*

Es responsable en las glándulas mamarias de las vacas infectadas de presentación de cuadros clínicos de mastitis hemorrágicas y ocasionalmente gangrenosas. Es un microorganismo aeróbico, formador de esporas, alargado con terminales redondeadas o cuadradas, que se aprecia formando cadenas. En cultivo sobre gelosa sangre, las colonias se aprecian vidriosas-glaseadas de color grisáceo verdoso que producen hemólisis (Concha, C. 2011).

7. Prevención

La prevención consiste en minimizar la exposición a los gérmenes, es decir, es importante prestar atención al entorno de la vaca, a las infecciones existentes y a las bacterias que se encuentran de forma natural en la piel. La mastitis puede estar relacionada con factores nutricionales, sobre todo con una carencia de vitamina E/selenio y un balance energético negativo debido a una bajada de inmunidad general de los animales; así es fundamental que los animales estén alimentados con una dieta bien equilibrada y materias primas de calidad. La rutina del ordeño y la higiene que se mantiene durante y entre ordeños son también puntos críticos (López, H. 2011).

Existe además un producto que permite sellar el pezón, cuando las vacas se encuentran en el periodo de secado, lo que crea una barrera física inmediata y duradera que impide que, entren en la ubre bacterias y otros microorganismos causantes de la mastitis (Chaves, C. 2010).

Este sellador interno se aplicará a continuación del antibiótico de secado, lo que se conoce como terapia combinada de secado, que disminuye la presentación de mastitis clínica en los primeros 100 días de lactancia.

a. Adecuada higiene de ordeño

Los pezones deben de ser limpiados y secados antes del ordeño. Si la leche se filtra, la presencia de partículas (material sólido), en los filtros indica una limpieza

insuficiente del pezón durante la preparación de la ubre o la falta de higiene durante la colocación y remoción de la unidad de ordeño (López, H. 2011).

b. Sellado de pezones luego del ordeño

Las investigaciones indican que el grado de nuevas infecciones puede disminuir en más del 50% cuando un desinfectante adecuado se utiliza para sumergir o rociar los pezones completamente. El sellado de pezones post-ordeño es más efectivo contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus. agalactiae*, las dos bacterias productoras de mastitis más contagiosas. El sellado de pezones no afecta las infecciones existentes (Orrego, J. *et al.* 2013),

c. Descarte de vacas infectadas en forma crónica

Orrego, J. *et al.* (2013), menciona que generalmente este método es efectivo debido a que en la mayoría de los hatos, solamente 6 a 8% de todas las vacas son las responsables de 40 a 50% de todos los casos de mastitis. Problemas de ubre: infecciones de ubre, cuartos perdidos, ubre con ligamentos vencidos (no incluye casos de emergencia).

d. Otras prácticas útiles de manejo

- Algunas prácticas simples ayudan a reducir la diseminación de la mastitis.
- Alimente a las vacas inmediatamente después del ordeño de manera de que puedan permanecer de pie por lo menos una hora antes de echarse.
- Ordeño al último a las vacas infectadas.

8. Diagnóstico

El diagnóstico de Mastitis Bovina debe estar orientado al conocimiento de la prevalencia de la enfermedad en el hato, tipo epidemiológico de la enfermedad y la resistencia bacteriana de los agentes involucrados.

Las pérdidas económicas en un hato se llegan a determinar por la disminución de la producción, para lo cual es necesario identificar y corregir a tiempo los puntos críticos que favorecen a la difusión de la enfermedad, (Boscán, J. Valeris, R. 2010). Utilizando las mismas placas de cultivo antes descritas, se procederá considerando las bacterias que crecen, las células somáticas obtenidas del control lechero o de un (CMT), además de la aparición o no de bacterias resistentes a la penicilina a determinar los tratamientos correspondientes. Todas las vacas que al secado muestran bajas células somáticas, no presentas antecedentes de mastitis durante la previa lactancia y clínicamente tienen ubres sanas (Concha, C. 2011).

No serán tratadas con antibióticos y solamente recibirán un sellado mamario con un buen producto que asegure una semana de protección.

a. Pruebas para la detección de mastitis

1.) Exámenes físicos:

(Boscán, J. Valeris, R. 2010), dice que se realizan mejor cuando la ubre de la vaca está vacía, inmediatamente después del ordeño; se examina para detectar los cuartos endurecidos, hinchados y calientes así como cuartos atrofiados o deformes con áreas de tejido cicatrizante que indican daños permanentes.

2.) Prueba de despunte:

Los primeros chorros de leche con un despuntador o jarro de fondo oscuro, se puede detectar clínicamente la leche anormal que no debe enviarse al tanque, además de identificar vacas con mastitis que necesitan tratamiento.

3.) Prueba de Mastitis de California, CMT

Esta es una prueba de campo de fácil manejo y buena sensibilidad que se fundamenta en la capacidad que tiene el reactivo Lauril Sulfato de Sodio para reaccionar con el DNA celular produciendo una viscosidad directamente

proporcional al número de células somáticas presentes en la muestra de leche. El reactivo original incluye Purpura de Bromocresol como indicador de pH, virando a azul en leches sanas y tonos de azul oscuro a violeta en casos de lesión de la glándula mamaria (pH alcalino), (Pellegrino, M. *et al.* (2010).

Una vez la vaca está lista para ser ordeñada, con pezones limpios y secos, se escurren los 3 ó 4 primeros chorros de leche de cada pezón en los compartimentos de la bandeja apropiada (Boscán, J. Valeris, R. 2010).

Se inclina la bandeja en un ángulo de 60° para igualar la cantidad de leche (deben quedar entre 2 y 4 ml de leche); Se agrega una cantidad igual de reactivo y se inicia un proceso de agitación por rotación durante 15 a 20 segundos. Leer e interpretar la prueba, (cuadro 1).

Cuadro 1. INTERPRETACIÓN DE LOS GRADOS DEL CMT.

	TIPO DE REACCIÓN	CELULARIDAD/ ml
NEGATIVO	La mezcla se mantiene líquida, de color azul.	< 200000
Trazas	Mezcla ligeramente viscosa de color azul.	200000 - 500000
1	Mezcla viscosa no adherida al fondo de color azul oscuro.	400000 - 1500000
2	Mezcla viscosa que se adhiere al fondo de color violeta	800000 - 5000000
3	Mezcla muy viscosa fuertemente adherida que forma un solo grumo de color violeta.	> 5000000

Fuente: <http://mvltda.com/articulos/mastitis-bovina/>. (2016).

9. Factores predisponentes de mastitis

1.) Factores físicos:

a. Heridas

Incrementan el riesgo de entrada de bacterias a la glándula a través de la apertura del pezón, causan nuevas infecciones y elevados recuentos de células somáticas.

b. Agentes químicos

Actúan excediendo su capacidad de controlar la microflora del medio donde se aplica y predisponen al padecimiento de infecciones mamarias, al igual que el uso de medicamentos terapéuticos sin una base técnica.

c. Personal

Ejecuta las actividades dentro del ordeño manual o mecánico que pueden dar origen a lesiones en la glándula y, además, es de quienes depende la higiene de instalaciones, equipos y animales.

d. Equipo de ordeño

Cuando el funcionamiento del equipo es ineficiente; así como, las condiciones sanitarias con que se realizan las actividades de ordeño.

2.) Otros Factores

Traumatismos de diversa índole, picaduras de insectos y exposición a la humedad o calor también pueden provocar problemas que llevan a una inflamación de la glándula mamaria.

a. Factores Genéticos

Los factores genéticos aditivos están relacionados con la mastitis; así, las vacas con ubres profundas, pezones de mayor diámetro o invertidos son predisponentes debido a que permiten a la bacteria un acceso más fácil a la cisterna del pezón. Entre otros factores, relacionados con el animal, que predisponen a la mastitis está la edad, incrementando considerablemente de la 1ra a la 2da y posteriores lactancias (López, H. 2011).

b. Factores Nutricionales

Los factores nutricionales relacionados, en vacas primerizas, con la resistencia a las mastitis son: el selenio y la vitamina E que mejoran la actividad fagocítica de las células de defensa; el cobre que tiene importantes efectos antioxidantes; el zinc que participa en la integridad de los epitelios, así como la vitamina A y el β -caroteno que están asociados con la salud de las mucosas y de no proveérseles en la dieta es indispensable sean suplementados (Orrego, J. *et al.* 2013),

c. Factores de Manejo

La limpieza general de las vacas y su alojamiento, como también buenos procedimientos de manejo, especialmente en el ordeño, son formas efectivas de controlar la difusión de la mastitis, debido a que los organismos que causan la mastitis viven en diferentes ambientes como: materia fecal, cama, piel, etc (Ocando, J. *et al* 2011).

10. Tratamiento

El tratamiento de la mastitis subclínica con antimicrobianos durante la lactancia es rara vez económico dado los altos costos del tratamiento y en general la pobre eficacia. Todo tratamiento para mastitis debe basarse en la evidencia, es decir, la eficacia de cada producto y la duración del tratamiento deben demostrarse a través de estudios científicos, (Pyörälä, S. 2016).

El tratamiento de la mastitis debe tener en cuenta el diagnóstico bacteriológico y considerar las directrices nacionales e internacionales sobre el uso prudente de antimicrobianos. En casos de mastitis aguda, en los cuales no existe un diagnóstico bacteriológico, el tratamiento debe iniciarse sobre la base de los datos del rebaño y la experiencia personal. Un rápido diagnóstico bacteriológico facilitaría la selección adecuada de los antimicrobianos, (López, H. M. 2011).

B. ANTIBIÓTICOS

Cuando se intente tratar un caso de mastitis se deben tener en cuenta tres aspectos fundamentales: eficiencia, costo beneficio y residuos de fármaco en leche.

1. Streptomycin

La estreptomycin está incluida dentro de los aminoglucósidos, un tipo de antibiótico que actúa a nivel ribosomal inhibiendo la síntesis proteica en la subunidad pequeña del ribosoma de forma que impide que se forme el complejo de iniciación de la síntesis proteica (Ramírez, J. 2011).

Su importancia se debe a que fue la primera sustancia química de actividad antimicrobiana contra el *Mycobacterium tuberculosis* conocido como el bacilo de Koch (Águila, E. 2013),

a. Mecanismo de acción

Un aminoglucósido, de la familia de los antibióticos bactericidas, muy activos especialmente frente a *enterobacterias* y otros gérmenes gramnegativos aerobios. Poseen acción rápida y actúan independientemente de la fase vital en que se encuentre la bacteria (Bouman, M. 2011).

Luego de su aplicación intramuscular, alcanza concentraciones plasmáticas máximas entre 30 a 90 minutos. La estreptomycin se une al ribosoma de la célula y produce sinergia de potenciación; además se puede combinar bien con las sales

de las penicilinas sódica, potásica y procaínica. Inhiben la síntesis proteica de las bacterias. Selectivo contra bacterias Gram negativas y algunas Gram positivas.

b. Espectro de actividad

La estreptomicina muestra actividad antimicrobiana contra las bacterias gram negativas específicamente las de tipo aerobio, como es el *Mycobacterium tuberculosis* causante de la tuberculosis. También ataca algunos cocos gram positivos, no deben usarse como monoterapia sino en combinación con drogas como betalactámicos o vancomicina por su efecto sinérgico, particularmente en la terapia contra *Enterococos*, *Estafilococos*, *Streptococo*.

2. Tetraciclina.

El Antibiótico ampliamente utilizado desde el comienzo de la era de la antibioticoterapia y mucho se pudiera escribir a propósito del uso, desuso y abuso de que han sido objeto el mismo. Se hace énfasis en el espectro antimicrobiano, algunos aspectos farmacológicos y usos clínicos (Bouman, M. 2011).

a. Mecanismo de acción

Bacteriostático. Inhibe la síntesis proteica bacteriana. Activo frente a Gram + y otros microorganismos.

b. Farmacología

Generalmente todas las tetraciclinas se absorben en el tracto gastrointestinal, fundamentalmente a nivel del estómago e intestino delgado superior, la absorción es menos completa a nivel del tracto intestinal inferior. La absorción aumenta en ayunas y se deteriora si se administra con leche u otros productos lácteos, geles de hidróxido del aluminio y magnesio, quelantes con cationes divalentes de calcio e hierro, preparados de huevos y bicarbonato de sodio, posiblemente en relación con el pH gástrico.

3. Cefalexina

Son antibiótico de amplio espectro, para administraciones intramamarias. Pertenece al grupo de las cefalosporinas, que actúan por un mecanismo similar al de la penicilina interfiriendo la síntesis de mucopéptidos formadores de la pared bacteriana. Las cefalosporinas son normalmente resistentes a la penicilinasas (Águila, E. 2013),

a. **Mecanismo de acción:**

La cefalexina, un antibiótico beta-lactámicos como las penicilinas, es principalmente bactericida. Inhibe la tercera y última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana uniéndose preferentemente a las proteínas de unión a penicilina (PBP específicas) que se encuentran dentro de la pared celular bacteriana

b. **Indicaciones**

Indicado para el tratamiento de las mastitis de bovinos, ovinos y caprinos, en producción láctea, causada por gérmenes sensibles a la cefalexina y/o gentamicina y cuando se desee una acción antiinflamatoria.

c. **Dosis y administración**

Bovinos: Una jeringa por cada cuarto afectado cada 12-24 horas durante 2 días o hasta la recuperación completa (o prescripción facultativa).

4. Neomicina

La neomicina es un fármaco de la familia de los aminoglucósidos, que se utiliza en clínica como antibiótico bactericida tanto por vía tópica como oral. Se obtiene del *Streptomyces fradiae*. Está compuesto de Neomicina A, B (la más usada) y C. Es hidrosoluble y más activa a pH alcalino.

a. Mecanismo de acción

Inhibe la síntesis de proteínas bacterianas mediante su unión irreversible a la subunidad ribosómica 30 S de las bacterias susceptibles. La neomicina se transporta de forma activa a la célula bacteriana donde se une a receptores presentes en la subunidad ribosómica 30 S. Esta unión interfiere con el complejo de iniciación entre el ARN mensajero (ARNm) y la subunidad 30.

b. Farmacocinética

La absorción por vía oral es muy pobre, en torno a un 3-5%. La unión a proteínas es baja, pero muy variable. Tarda varios días en alcanzar un estado de equilibrio de las concentraciones tisulares, que se mantiene incluso hasta semanas después de la suspensión del mismo. La excreción del fármaco absorbido es renal. El 97% no absorbido se elimina por heces inalterado.

c. Indicaciones

El uso concurrente de otros neurotóxicos y *nefrotóxicos* aumenta la posibilidad de los efectos secundarios de la neomicina. Entre ellos otros aminoglucósidos o la polimixina.

C. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

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

1. Toma de muestras de la leche

Según <http://www.agrocalidad.gob.ec/>. (2008), manifiesta que la persona que realiza el procedimiento de la toma de muestra de la leche cruda constituyen un eslabón importante, por lo que es importante contar con personal capacitado, para

evaluar en el campo las características que presentan la leche.

2. Instrucción para la toma de muestra

- Rotular los frascos o tubos, antes de la toma de la leche cruda.
- Lavar con agua y jabón la ubre por 2 minutos para retirar la suciedad y secar completamente con una toalla de papel.
- Descartar el primer chorro de leche del pezón y observar si la glándula presenta signos clínicos de mastitis. Anotar las observaciones en la hoja de registro. Registro de toma de muestra de la leche cruda. Sumergir los cuartos en una solución germicida, como hipoclorito de sodio al 4% por 30 segundos.
- Evitar que los pezones ya limpios se contaminen con la cola o las patas del animal.
- Tomar la muestra de la leche en los cuartos individuales y conservarla en frascos correctamente identificados.
- Evitar que la boca del frasco toque la punta del pezón.
- Recolectar los chorros de leche aproximadamente 40 ml, colocar inmediatamente la tapa.
- Colocar las muestras en la hielera a una temperatura de 4 °C.

3. Pruebas bacteriológicas

a. Aislamiento de los microorganismos presentes en las muestras de leche.

El medio utilizado para el aislamiento primario de la mayoría de los organismos patógenos de mastitis es agar sangre o agar sangre con 0,1%. La sangre de bovino (preferiblemente ternero) u ovino, desfibrinada u obtenida con anticoagulante, se agrega al medio base en una concentración del 5%. No se recomienda el uso de sangre de caballo o conejo ya que no revelan la presencia de la hemolisina b de *S. aureus*, (López, H. 2011).

Las placas inoculadas deben incubarse a 35-37°C por 24-48 horas. Usualmente las placas se examinan a las 18-24 horas para detectar la presencia de

organismos de crecimiento rápido. En caso de no observarse desarrollo se re incuban por otras 24 horas. Si se sospecha la presencia de organismos de crecimiento lento, la incubación puede prolongarse. Por lo comentado anteriormente es posible que una muestra tomada en condiciones asépticas contenga organismos contaminantes provenientes del canal o el orificio del pezón. El aislamiento de varios tipos de bacterias a partir de leche de cuartos individuales sugiere una toma de muestra deficiente. Si se aíslan tres o más tipos de colonias distintos se deben considerar la muestra como contaminada, salvo que se aíslen *Streptococcus agalactiae* o *Staphylococcus aureus*. Si se sospecha que la muestra está contaminada, el muestreo debería repetirse, (Bouman, M. 2011).

b. Identificación de los organismos más frecuentemente aislados

Los organismos más frecuentemente aislados en nuestro país son los cocos Gram positivos (*staphylococcus* y *estreptococos*). El diagnóstico preliminar de *S. aureus* puede hacerse sobre la base de la morfología de las colonias y la hemólisis. Una zona amplia y una estrecha de hemólisis alrededor de las colonias son características de *S. aureus*. El diagnóstico definitivo se hará sobre la base de coloración de Gram, presencia de catalasa y coagulasa en plasma de conejo. Estas son las pruebas mínimas necesarias para un laboratorio de rutina. En casos que se requiera una identificación más ajustada se pueden realizar más pruebas (producción de acetoina, presencia de cumpling factor, etc.). Es importante que se diferencien los *staphylooccus coagulasa* negativos de *S. aureus*, ya que la patogenicidad y características epidemiológicas de ambos son distintas, (López, H. 2011).

El *Corynebacterium bovis* es un bacilo Gram positivo considerado un patógeno menor. Las colonias se detectan luego de 48 hs de incubación y crecen mejor en la zona de la placa donde se depositó la primera estría de leche. La identificación se hace sobre la base de morfología microscópica, presencia de catalasa, y requerimiento de ácidos grasos insaturados. *Arcanobacterium (Actinomyces) pyogenes* es un organismo grasos insaturados. *Arcanobacterium (Actinomyces) pyogenes* es un organismo emparentado con las *Corynebacterias*, aunque causante de mastitis severas. Puede estar asociado con organismos anaerobios,

generando exudados malolientes. Se identifica sobre la base de presencia de hemólisis, ausencia de catalasa, hidrólisis de la caseína y la gelatina, etc, Martínez, D. *et al.* (2013).

4. Antibiograma

Antibiograma puede ser útil para orientar el tratamiento de las mastitis, bajo la supervisión de un veterinario clínico. El uso indiscriminado de antibióticos puede generar resistencias a los mismos, además de problemas alérgicos, así como los perjuicios que ocasionan a la industria los posibles residuos de los antimicrobianos. El fundamento de un antibiograma consiste en la cantidad de un antibiótico que es capaz de inhibir totalmente el crecimiento de un microorganismo en ciertas condiciones (Güler, L. 2012).

El antibiograma es una herramienta muy útil en la decisión de los tratamientos frente a mastitis bovinas, si se diseña, realiza e interpreta de forma correcta (Fernández, G, *et al* 2012).

5. Sensibilidad y resistencia antibiótica

Cada antibiótico se caracteriza por un espectro natural de actividad antibacteriana. Este espectro comprende las especies bacterianas que, en su estado natural, sufren una inhibición de su crecimiento por concentraciones de su antibiótico susceptibles de ser alcanzadas in vivo. A estas especies bacterianas se les dice naturalmente sensibles a dicho antibiótico (Martínez, D. *et al.* (2013).

La sensibilidad y la resistencia de patógenos se determinaron por el método de difusión del disco en agar nutritivo para cada una de las bacterias aisladas, de acuerdo con los lineamientos del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI 2009), se utilizaron 13 agentes antimicrobianos de los más usados en el control y prevención de mastitis. Se escogieron los siguientes sensidiscos: cefalotina 30ug, clindamicina 2ug, eritromicina 15ug, kanamicina 30, lincomicina 2 ug, penicilina10, tetraciclina 30 ug, vancomicina 30ug (Gutiérrez, F. *et al* 2014).

Dentro del género *Streptococcus* se identificaron dos especies; *S. agalactiae* (94%) y *S. bovis* (6%), este último mostró susceptibilidad a todos los antibióticos probados, mientras que *S. agalactiae* presentó resistencia en un 5,88% a penicilina y ampicilina, (Faría, R. *et al* 2012), (cuadro 2).

Cuadro 2. DIÁMETRO DE INHIBICIÓN PARA PATÓGENOS BACTERIANOS MASTITOGÉNICOS.

Antibiótico	Concentración	Zona de inhibición (mm)		
		Sensible (S)	intermedios (I)	resistente (R)
Penicilina	10 ui	≥ 29	21-28	≤ 20
Estreptomina	10 mcg	≥ 15	12-14	≤ 11
Tetraciclina	30 mcg	≥ 19	15-18	≤ 14
Lincomicina	2 ug	≥ 22	16-21	≤ 15
Neomicina	30 ug	≥ 17	13-16	≤ 12
Cefalexina	30 ug	≥ 18	15-17	≤ 14

Fuente: CLSI (2014).

Ui= unidad internacional.

Mcg= microgramos.

Ug= microgramos.

D. PREVALENCIA DE LA MASTITIS SUB CLÍNICA EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO

1. Definición de prevalencia de la enfermedad

La prevalencia de una enfermedad es el número total de animales que presentan síntomas o padecen una enfermedad durante un periodo de tiempo, dividido por la población con posibilidad de llegar a padecer dicha enfermedad.

2. Prevalencia de la enfermedad en la provincia de Chimborazo

Habiéndose aplicado la fórmula de muestreo que a continuación se detalla se encontraron los siguientes resultados.

$$P = \frac{c}{N}$$

P= prevalencia.

C= casos afectados.

N=población muestrear.

$$P \frac{45}{96} = 0,4687$$

P= 0,4687

P= 46,87 %

El Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. (2015), logra reportar en 6 meses de trabajo realizado, mediante la prueba de (CMT), california mastitis test, en la parroquia Quimiag, la prevalencia de mastitis de 45 casos positivos y de 51 casos negativos, de un total 96 vacas, lo que representa una prevalencia de 46,87 %.

Suarez, I. (2007), en el trabajo desarrollado en el hato de la Estación experimental TUNSHI FCP – ESPOCH, provincia de Chimborazo logra conseguir resultados del análisis de la mastitis subclínica a las vacas en producción, este se realizó según las especificaciones del producto utilizado para la prueba de campo, el Californian Mastitis Test (CMT), que se aplicó a las 51 vacas lecheras, que en ese momento se encontraban en ordeño, la prevalencia de mastitis de 20 casos positivos y de 31 casos negativos, de un total de 51 vacas, que obtuvo una prevalencia de 39,21 % de mastitis sub clínica.

Trabajo de investigación realizado en la Provincia de Chimborazo Cantón Guano, Comunidad San José de Sabañag, un total de 20 vacas en producción, según el método de CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica obtuvo 8 animales positivos y 12 animales negativos, reporta una prevalencia de mastitis sub clínica de 40 % Cuzco, G. (2015).

Agrocalidad. (2015), recopila datos de mastitis en la provincia de Chimborazo, en los diferente cantones, con el diagnóstico de la mastitis subclínica en bovinos mediante el método de MCT (California Mastitis Test), con una prevalencia de 42, 60 %.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO

La presente investigación se desarrolló en dos lugares, el trabajo de campo se efectuó en la Comunidad San Pedro de Iguazo de la parroquia Quimiag, cantón Riobamba, provincia de Chimborazo y el trabajo de laboratorio se efectuó en la Unidad de laboratorio de biotecnología y microbiología animal “LABIMA”, de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH.

El trabajo experimental tuvo una duración de 90 días distribuido en: la primera parte con la identificación de las vacas con mastitis subclínica por el método de california mastitis test (CMT), la segunda parte la recolección de las muestras de todas las vacas que se identificaron como positivas a la prueba de CMT, se transportaron las muestras al laboratorio para la identificación de los agentes causales por medio de siembras de cultivos y se dio lectura de las muestras de las leches, se realizaron antibiogramas para determinar la sensibilidad o resistencia de las bacterias a los antibióticos, esta parte se realizó en LABIMA, por último la aplicación de los tratamientos.

1. Condiciones meteorológicas

Las condiciones meteorológicas de la parroquia Quimiag se describen en el (cuadro 3).

Cuadro 3. CONDICIONES METEOROLÓGICAS DE LA PARROQUIA QUIMIAG.

CARACTERÍSTICAS	PROMEDIO
Temperatura °C	9 – 11
Precipitación, mm	500 - 2.000
Humedad relativa, %	64– 88

Fuente: Equipo técnico del GADPR Quimiag, (2015).

B. UNIDADES EXPERIMENTALES

Para ejecutar la investigación se utilizaron 16 vacas diagnosticadas con mastitis subclínica, con la aplicación de 4 tratamientos con 4 repeticiones para cada tratamiento, cada vaca correspondió a una unidad experimental.

C. INSTALACIONES, EQUIPOS y MATERIALES.

Las instalaciones, equipos y materiales que se utilizaron en la presente investigación fueron los siguientes:

1. Instalaciones

Unidad de laboratorio de biotecnología y microbiología animal “LABIMA” de la Facultad de Ciencias Pecuarias, de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2. Materiales

Materiales de campo

- Overol.
- Botas de caucho.
- Paleta CMT.
- Reactivo de CMT.
- Agua limpia.
- Hielera.
- Hielo.
- Balde.
- Papel absorbente.
- Frasco para muestras.
- Cinta bovinométrica.
- Marcador permanente.

- Hojas para registro.

Materiales de laboratorio

- Mandil.
- Cajas Petri.
- Mechero Bunsen.
- Hisopos.
- Asa.
- Agitador magnético.
- Papel absorbente.
- Porta objeto.
- Probeta de 200 ml.
- Frasco de 500 ml.
- Pinzas.
- Marcador.
- Papel aluminio.
- Espátula.
- Cinta adhesiva.
- EDTA citrato de sodio (anticoagulante).

3. Equipos

- Autoclave.
- Refrigeradora.
- Estufa.
- Cabina de flujo laminar.
- Microscopio.
- Cámara microscopio.
- Agitador magnético.
- Computadora.

4. Reactivos

- Cristal violeta.
- Yodo Gram.
- Alcohol cetona.
- Safranina.
- Aceite de inmersión.
- Alcohol.
- Xilol.

5. Medios de cultivos

- Agar Columbia base.

D. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

1. Esquema del experimento

En la elaboración de la presente investigación se utilizaron 16 vacas en producción de leche, se aplicaron cuatro tratamientos que corresponden a los cuatro mejores antibióticos evaluados en el laboratorio con 4 repeticiones, con un total de 16 animales para la investigación, (cuadro 4).

Cuadro 4. DISEÑO DEL EXPERIMENTO.

Tratamiento	Código	T.U.E	Repeticiones	Animal/ Tratamiento
Estreptomicina	T1	1	4	4
Tetraciclina	T2	1	4	4
Cefalexina	T3	1	4	4
Neomicina	T4	1	4	4
TOTAL ANIMALES				16

T.U.E= Tamaño de la unidad experimental.

E. MEDICIONES EXPERIMENTALES

- Raza, edad y peso de los animales.
- Producción de leche antes del tratamiento.
- Porcentaje de incidencia de mastitis en las vacas.
- Cuartos infectados por animal.
- Agentes causales identificados.
- Sensibilidad y resistencia a los antibióticos.
- Porcentaje de eficiencia terapéutica de los antibióticos.
- Producción de leche después del tratamiento.
- Costo por cada tratamiento.

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA

Por tratarse de un diagnóstico, durante las fases 1 a 4 se aplicó estadística descriptiva considerando medias, desviación estándar, porcentajes, rangos, valor máximo y mínimo, histogramas de frecuencias, mientras que para la fase 5 se aplicó un ADEVA, y la separación de medias según DUNCAN un nivel de significancia, $P \leq 0.05$, (cuadro 5).

Cuadro 5. ESQUEMA DEL ADEVA.

Fuente de Variación	Grados de Libertad
Total	15
Tratamientos	3
Error	12

G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

1. Técnica de campo por el método California mastitis test

Para evidenciar la presencia de mastitis subclínica se toma como referencia el método de prueba CMT:

- Lavar, enjuagar y secar la ubre con papel o franela limpia.
- Con la solución de alcohol al 70% desinfectar las manos.
- Con la solución antes indicada y algodón desinfectar los pezones.
- Secar 2 minutos.
- Eliminar los dos primeros chorros de leche antes de adquirir la muestra.
- Extraer de cada cuarto 3 ml de leche aproximadamente, depositándola en cada una de las copas de la paleta.
- Añadir el mismo volumen de CMT a cada una de las copas.
- Mezclar la muestra y el reactivo con una ligera rotación circular durante 2 minutos.
- Interpretación de los resultados.

2. Toma de muestras de leche

Para la toma de muestras se realizó según la guía del Laboratorio de diagnóstico (Livexlab 2014), para los estudios bacteriológicos.

- Lavar, enjuagar y secar la ubre.
- Con una solución de alcohol al 70% desinfectarse las manos.
- Con la misma solución y utilizando algodón desinfectar los pezones.
- Dejar secar (2 minutos). Eliminar los dos primeros chorros de leche antes de tomar la muestra.
- Ordeñar recogiendo en un recipiente estéril sin topar sus bordes 3 ml de leche aproximadamente de cada uno de los cuartos.
- En caso de que la infección esté plenamente localizada en uno de los cuartos o se requiera localizar el cuarto afectado, siguiendo las mismas recomendaciones, tomar de 2 a 3 ml de leche del cuarto afectado o de cada cuarto por separado.
- Identificar la muestra correctamente y mantenerla refrigerada hasta la llegada al laboratorio.

3. Aislamiento de los microorganismos presentes en las muestras de leche

a. Preparación del agar sangre

El agar sangre es el medio más útil para el crecimiento de todos los patógenos más comunes que permite una buena diferenciación entre las colonias: *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Micrococcus*.

- Disolver 8,5 gr de Agar Columbia base en 200 ml de agua destilada en un frasco, colocar un agitador magnético en el frasco y dejar homogenizar la mezcla durante 5 minutos.
- Esterilizar en la autoclave el medio (agar base) y las cajas Petri a 121 °C durante 20 minutos.
- En la cabina de flujo laminar enfriar el medio de cultivo a 45-50 °C.
- Añadir 10 ml de sangre humana para obtener el agar sangre.
- Ubicar las cajas Petri en la cabina de flujo laminar y verter el agar sangre en las respectivas cajas.
- Refrigerar las cajas Petri con el contenido de agar sangre.

b. Siembras de las muestras de leche

- Para realizar esta práctica se procede a desinfectar el área de trabajo que es la cabina de flujo laminar, desinfectarse las manos para evitar posible contaminación en la siembra.
- Tomar las muestras de leche de la hielera que está a 4 °C y ubicar en el área de trabajo donde se desarrollara la siembra.
- Sacar las placas de agar sangre del refrigerador y colocar en la cabina de flujo laminar.
- En la cabina de flujo laminar, ejecutar los siguientes procedimientos:
- Colocar en la mano la caja Petri siempre con el lado del agar, tomar con el otro lado de la mano el asa esterilizado en el mechero de Bunsen, esperar que se enfríen agitando de un lado a otro, tomar una muestra de leche con el asa, rápidamente se inocula por la técnica de estrías en la placa de agar

sangre, asegura la placa con una cinta para evitar posibles contaminaciones y finalmente cerrar la placa y colocar sobre la mesa de trabajo boca abajo.

c. Incubación de las placas

Ubicar las placas en la estufa; las temperaturas de incubación deben estar entre 35 y 37 °C y las placas se deben examinar después de 24 a 48 horas de incubación.

4. Identificación de grupos o especies de organismos infectantes

a. Fijación de las bacterias

Pasadas las 24 o 48 horas en la incubadora, que es el tiempo requerido para el desarrollo de las colonias de bacterias, se realizaron los siguientes procedimientos para su identificación.

- Identificación porta objetos con un marcador permanente
- Poner sobre un porta objetos una gota de agua y una pequeña muestra de un cultivo bacteriano con el asa de siembra estéril.
- Fijar la preparación, pasando a través de la llama del mechero el porta objetos, para eliminar el agua y que las bacterias queden adheridas al vidrio.

b. Tinción Gram.

Ya fijada la bacteria en el porta objetos, se procede a realizar los siguientes pasos:

- Colocar los porta objetos en la bandeja de tinción Gram.
- Cubrir con unas gotas de cristal violeta durante 1 minuto, controlar el tiempo con cronometro.
- Lavar el exceso de colorante con agua.
- Añadir el mordiente lugol, durante 1 minuto.
- Lavar el exceso de mordiente con agua.
- Retirar el excedente de Lugol con agua destilada, se sustituye con alcohol cetona y dejando actuar por un minuto. Este paso es fundamental porque en

el reside la respuesta diferencial de las Gram positivas y las Gram negativas, sabiendo que la acetona deshidrata y contrae las células por contacto. También que los poros de las Gram positivos son más pequeños que los de las Gram negativos.

- Cubrir con Safranina durante un minuto. La safranina es parcialmente soluble en H₂O e ingresa sólo en las Gram negativas ya que las otras continúan obstruidas por efecto del alcohol-acetona.
- Lavar las placas con abundante agua destilada
- Dejar secar al aire.
- Añadir una gota de aceite de inmersión.
- Identificar las bacterias en el microscopio (1000x).

5. Prueba de sensibilidad bacteriana a los antibióticos

a. Agar sangre

Preparar el agar sangre; 8,5 gr de agar en 200 ml de agua destilada, homogenizar el medio en el agitador magnético por 5 minutos, esterilizar en el autoclave a 121°C, por 20 minutos, enfriar el medio a 45-50°C, mezclar la sangre, verter de 8 a 10 ml del medio en las cajas Petri y dejar que se solidifique por unos minutos el agar sangre.

b. Antibiograma

Las pruebas de sensibilidad a los antibióticos se realizaron utilizando un multidisk (discos múltiples), que contienen niveles establecidos de antibióticos.

- Limpiar y desinfectar la cabina de flujo laminar, desinfectarse las manos.
- Sembrar un cultivo puro del aislamiento a probar, con la ayuda de un hisopo o un asa esterilizada esparcir por toda la placa el cultivo.
- Colocar los discos manualmente con pinza estéril, Debe asegurarse que contacten perfectamente con la superficie del agar, por lo que deben presionarse ligeramente sobre la superficie del agar. No deben situarse a

menos de 15 mm del borde de la placa, y han de estar distribuidos de forma que no se produzca superposición de los halos de inhibición.

- Incubar las placas invertidas (agar en la parte superior), durante 24 horas.
- Lectura de los resultados.

c. Sensibilidad de la bacteria

Después de 24 horas de estar en la incubadora que es el tiempo requerido para la inhibición, se observa una amplia zona de inhibición alrededor de los discos de antibióticos, esto no es un indicativo de que ese antibiótico será el más efectivo que uno que muestra una zona más estrecha de inhibición.

Medir el diámetro de inhibición de los antibióticos y verificar los resultados obtenidos de acuerdo a la tabla de patógenos mastitogénicos con la finalidad de comprobar si la bacteria es sensible (S), intermedio (IM) o resistente (R) a los antibióticos seleccionados.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

A. PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO

En el trabajo desarrollado por Suarez, I. (2007), en TUNSHI FCP – ESPOCH provincia de Chimborazo en 120 días de su trabajo logra alcanza una prevalencia de la mastitis subclínica 39,21 %. (MAGAP), el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (2015), en 6 meses de trabajo realizado, por el método de CMT en vacas en producción de leche en provincia de Chimborazo de la parroquia Quimiag, logra reportar una prevalencia de 46,87%. Cuzco, G. (2015), determina una prevalencia del 40 % en el trabajo realizado en el cantón Guano provincia de Chimborazo. Agrocalidad. (2015), recopila datos de mastitis bovina en la provincia de Chimborazo, en diferente cantones, mediante el método de CMT (California mastitis test), una prevalencia de 42,60%.

En base a los resultados obtenidos en los diferentes estudios arriba mencionados sobre la prevalencia de mastitis subclínica, se realizó el presente estudio de la incidencia de mastitis subclínica en la zona de Quimiag de la comunidad de San Pedro de Iguazo, en la provincia de Chimborazo en el periodo comprendido entre 18 de Enero al 14 de Abril del 2016.

B. EVALUACIÓN DE LA INCIDENCIA DE MASTITIS Y SUS AGENTES CAUSALES EN VACAS LECHERAS DE LA COMUNIDAD DE SAN PEDRO DE IGUAZO

De acuerdo a la evaluación inicial realizada en las vacas lecheras de la comunidad “San Pedro de Iguazo”, se determinó los siguientes parámetros.

1. Incidencia inicial de mastitis

Con el control de California Mastitis Test (CMT), que se realizó a las 16 vacas se logra reportar los siguientes resultados detallados en el (cuadro 6).

Cuadro 6. CONTROL DE CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT), INICIAL EN LAS VACAS DE LA COMUNIDAD DE SAN PEDRO DE IGUAZO.

N° animales evaluados	Cuartos			
	Izquierdo		Derecho	
	Anterior	Posterior	Anterior	Posterior
1	P	P	-	-
2	P	P	P	P
3	-		-	P
4	-	P	-	-
5	P		-	-
6	-	P	-	-
7	P	P	P	P
8	-	P	-	-
9	-	P	-	P
10	P	-	-	P
11	P	-	-	P
12	-	P	-	-
13	P	-	-	-
14	-	-	-	P
15	-	P	P	-
16	-	-	P	P
% de Incidencia	43,75	56,25	25	50

P= positivos.

- = no presento afectación.

De acuerdo a los resultados del presente cuadro se observa que el cuarto posterior izquierdo (CPI), presenta mayores casos de mastitis con un 56,24 %, seguido del cuarto posterior derecho (CPD), con 50 %, el cuarto anterior izquierdo (CAI), con 43,75 % y finalmente el cuarto anterior derecho (CAD), con 25 %; observándose que en la mayor incidencia se da en los cuartos traseros tanto derecho como izquierdo posiblemente esto se debe al contacto directo de corvejones, golpes al caminar en los corvejones, deyecciones de orina y heces de los animales, como se muestras en el (gráfico 3).

La anterior afirmación concuerda con lo sustentado por Martínez, E. *et al.* (2009), el mismo que demuestra que los cuartos posteriores son los que más propensos al contacto con la suciedad por estar más cerca de la contaminación fecal y de la orina, unido a los inadecuados hábitos de higiene existentes a la hora del ordeño.

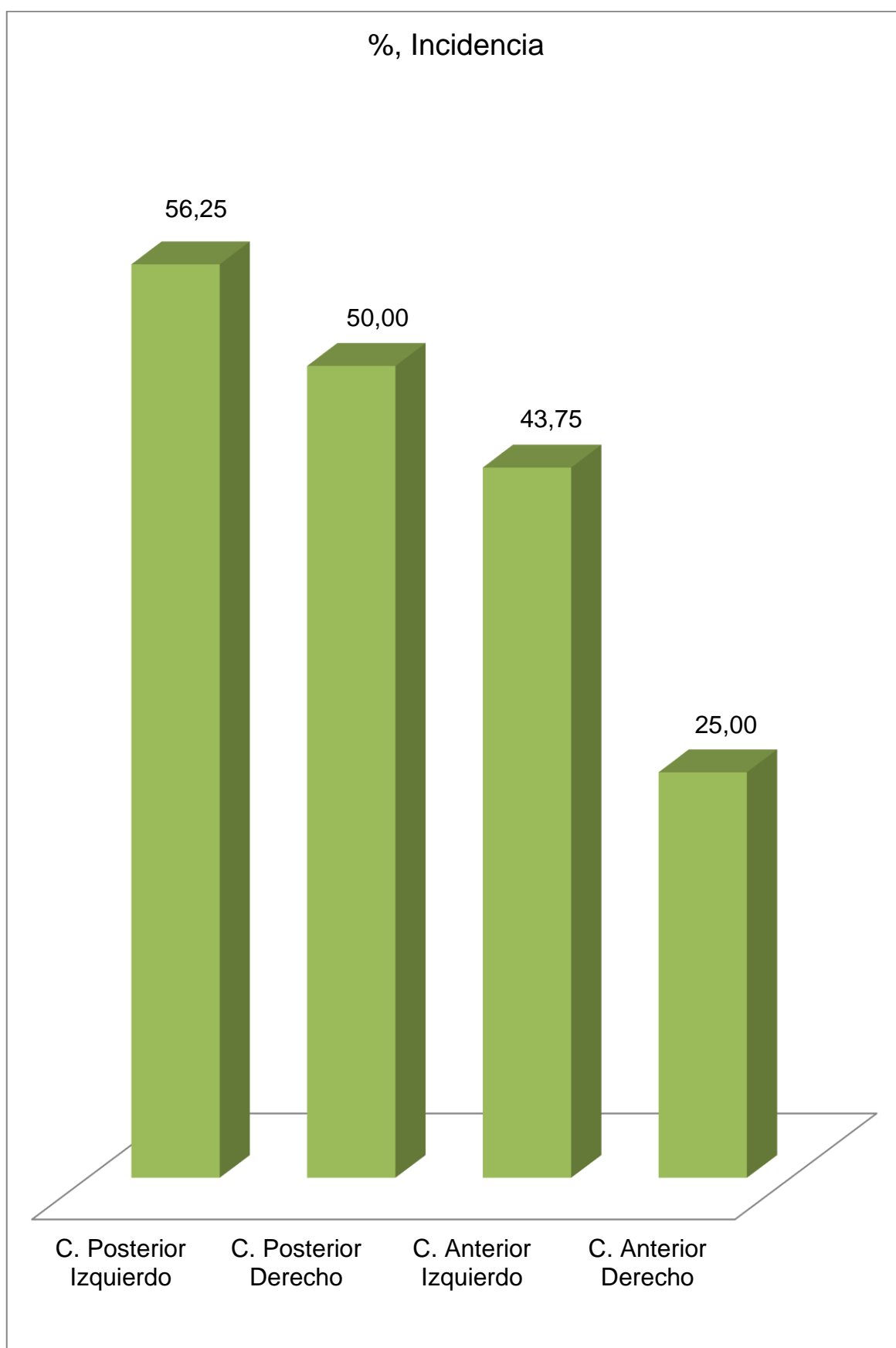


Gráfico 3. Porcentaje de incidencia de acuerdo a los cuartos evaluados con la prueba de CMT.

Estos datos guardan relación a los reportados por Gómez, O. (2015), el mismo que obtiene referencias de una mayor prevalencia de la mastitis subclínica con casos positivos del 48,3% para el cuarto posterior izquierdo y 49,3% para el cuarto posterior derecho, posiblemente esto se deba a que los ordeños se realiza de una forma manual incidiendo en el incremento de presencia de mastitis.

En relación a la ubicación de los cuartos infectados con mastitis subclínica, Suarez, I. (2007), reporta el mayor grado de infección en cuarto posterior derecho de 32,81%, seguido por el cuarto anterior derecho de 26,56%, Caraguay, M. (2012), obtuvo la mayor incidencia de mastitis en el cuarto posterior izquierdo con un susceptibilidad de 28,9 %, seguido del cuarto posterior derecho de 25,9 %, datos inferiores al ser comparados con los de la presente investigación.

2. Identificación de los agentes causales de la mastitis subclínica

Las pruebas microbiológicas realizadas en el laboratorio se detallan en el (cuadro 7, gráfico 4), con los siguientes agentes patógenos encontrados.

Cuadro 7. IDENTIFICACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA EN VACAS DE LA COMUNIDAD DE SAN PEDRO DE IGUAZO.

Agente Causal	N° de colonias	% de colonias
<i>Staphylococcus sp</i>	29	60,42
<i>Streptococcus sp</i>	12	25,00
<i>Bacilos G-</i>	5	10,42
Cocos -	2	4,17

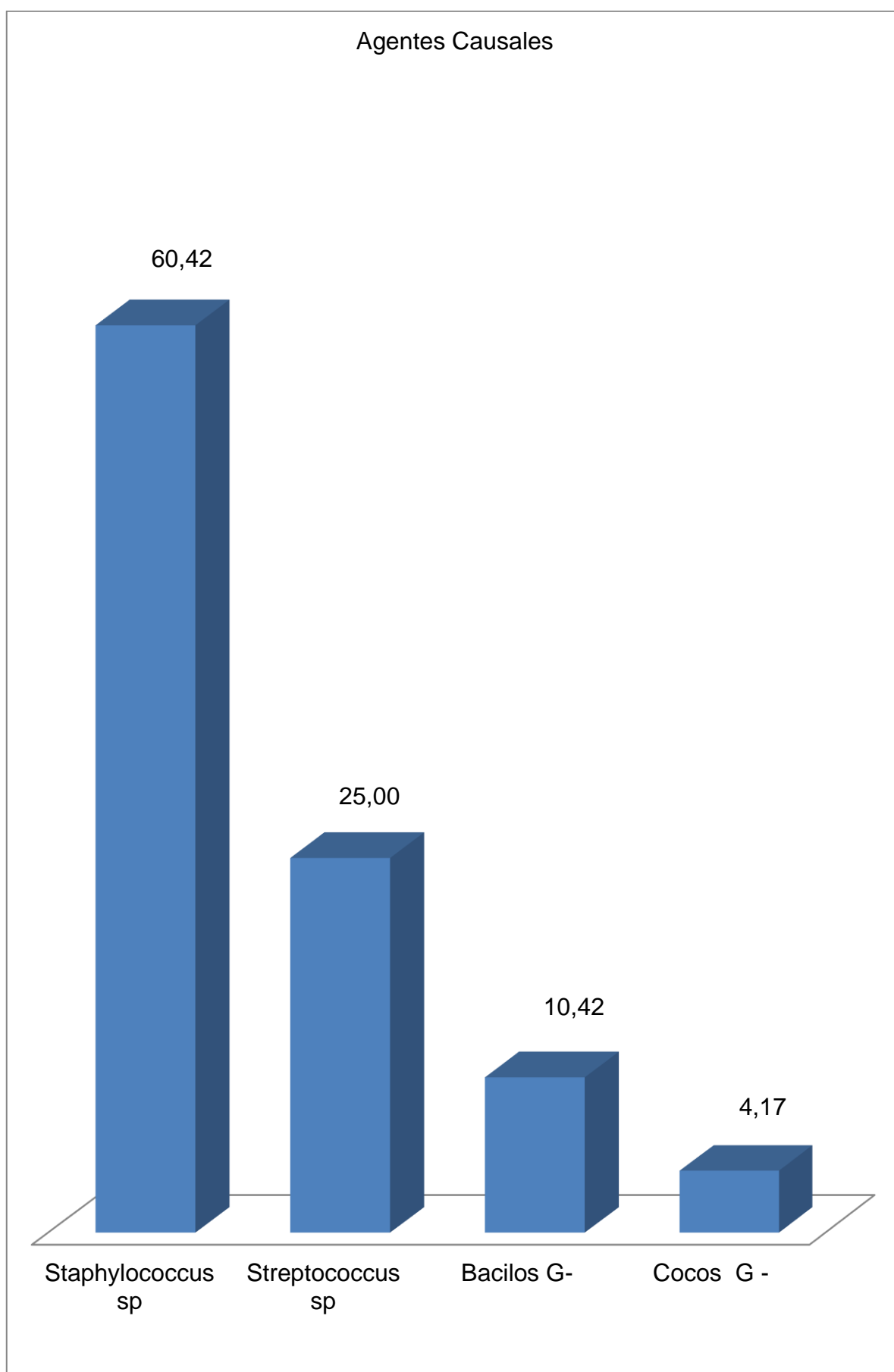


Gráfico 4. Porcentaje de agentes causales de la mastitis subclínica en las vacas.

El análisis realizado a las 16 vacas, registraron 48 colonias de agentes causales mediante las pruebas microbiológicas y la observación en el microscopio, reportando la mayor cantidad de colonias para el género *Staphylococcus sp* con 29 colonias que representa el 60,42 %, seguido del género *Streptococcus sp* de 12 colonias (25 %), mientras que en menor número de colonias se obtuvo para el género *Bacilos* con 5 colonias de bacterias Gram negativas, lo que indica un valor del 10,42% y 2 colonias para el género *Cocos G* – señalando un contenido del 4,17 %, observando la mayor incidencia para el género *Staphylococcus sp*, posiblemente esto se debe a que este patógeno es el más frecuente debido a que su reservorio son las ubres infectadas y que se eliminan por la leche, manteniéndose las colonias vivas en aguas estancadas, en las manos del ordeñador y los pisos del establo.

Lo anteriormente mencionado es sustentado por Ruiz, A. *et al.* (2012), que la glándula mamaria es el reservorio principal para los agentes contagiosos que salen al exterior en la leche. El contagio se efectúa en el ordeño, de un cuarto a otro, de una vaca a otra y son transmitidos principalmente de la siguiente forma: mediante la mano del ordeñador; a través de aerosoles de la leche; mediante las toallas para secar la ubre y mediante el equipo de ordeño.

Resultados superiores al contrastarlos con Pellegrino, M. *et al.* (2010), quienes informan que el 66,66% de los casos de mastitis subclínica fueron causados por *Staphylococcus sp*; Gómez, L. (2015), alcanzó un total en la evaluación de un hato lechero del 27,16 % de contaminación por *Streptococcus sp*; Suarez, I. (2007), en la provincia de Chimborazo, en la Estación Experimental “TUNSHI” de la FCP-ESPOCH consiguió el mayor contenido bacteriano del género *Bacilos G* con una media de 13,8%; quizás esta superioridad se debe a que las fuentes de contaminación se deba a varios factores como: el no realizar o hacer un mal lavado de pezones antes del ordeño, uso de aguas contaminadas que provienen de las acequias, inadecuado sellado de pezones, ordeño deficiente, déficit en desagües para la eliminación de excretas y orinas., etc., Ruegg, J. (2008).

Farías, J. *et al.* (2008), reportan un recuento de bacterias del género *Staphylococcus sp* en los animales sujetos a sistemas de ordeño manual con un

porcentaje de aislamiento global del 67% y para el género *Streptococcus sp* fue del 20%; datos semejantes a los reportados en la presente investigación posiblemente esto se deba a que en ordeños manuales están más propensos a bacterias ya que las salas de manipulación son improvisadas y manipuladas con personal no capacitados.

C. DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD DE LOS AGENTES BACTERIANOS A 6 ANTIBIÓTICOS COMERCIALES

Para conocer la sensibilidad y la resistencia de los antibióticos frente a los patógenos Gram positivos se utilizó 3 tipos de multidisk (discos múltiples), Penicilina, Tetraciclina y Estreptomicina. Para las bacterias Gram negativas se utilizó 3 tipos de multidisk: cefalexina, neomicina y lincomicina.

Cada uno de los Multidisks utilizados fueron de diferentes concentraciones y de diferente forma de interpretación para determinar la sensibilidad y resistencia.

1. Sensibilidad y resistencia de los patógenos Gram positivos frente a los antibióticos

Con el antibiograma se logró determinar la susceptibilidad de las bacterias ante los antibióticos, mismos que permitieron definir si la bacteria es sensible, intermedia o resistente como se muestra en el (cuadro 8).

Cuadro 8. PORCENTAJE DE SENSIBILIDAD, INTERMEDIO Y RESISTENCIA DE LOS *STAPHYLOCOCCUS SP* y *STREPTOCOCCUS SP* FRENTE A LOS ANTIBIÓTICOS COMERCIALES.

Antibióticos	Sensibilidad		Intermedio		Resistencia	
	N	%	N	%	N	%
Estreptomicina	22	66,67	3	9,09	8	24,24
Tetraciclina	15	45,45	11	33,33	7	21,21
Penicilina	7	21,21	2	6,06	24	72,73

N: número de cepas existentes.

a. Sensibilidad

Los resultados de sensibilidad 'in vitro' de los diferentes antibióticos estudiados frente a bacterias Gram positivas reportan mayor sensibilidad a la estreptomina con 66,67 %, seguida de la tetraciclina con 45,45 % y se obtuvo menor porcentaje de sensibilidad a la penicilina del 21,21%, ilustrado en el (gráfico 5), de acuerdo a lo antes mencionado y considerando la sensibilidad Picazo, J. (2008), señala que el microorganismo es inhibido por las concentraciones alcanzadas por el agente antimicrobiano cuando la dosis recomendada es usada para el sitio de la infección.

Datos superiores al ser comparados con los mencionados por Valenzuela, M. (2010), que reportó una sensibilidad in vitro de 80 cepas de *Staphylococcus sp* a la estreptomina 75 %; Cecil, R. (2002), relata los antimicrobianos fueron sensibles, estudio realizado en 166 caso tetraciclina 44,7 %; Bouman, M. (2011), describe datos superiores de sensibilidad a la penicilina G 23 %, probablemente estos deban que estos antibióticos fueron los más utilizados y los primeros en estas zonas creando resistencia a las bacterias, y por ello que los autores reportan sensibilidades bajas en sus trabajos.

Zúñiga, R. (2014), de acuerdo a los análisis que consiguió en la investigación se observa la mayor sensibilidad 60,6 %, que presentan a las bacterias *Staphylococcus sp* y *streptococcus sp*, es la estreptomina; en el trabajo de San Martín, B. *et al.* (2009), relata en su trabajo sensibilidad antimicrobiana in vitro, los antibiogramas manifestaron porcentajes altos de sensibilidad de *Streptococcus sp* frente a la penicilina G con el 61,4 %, provenientes de lecherías de la Región Metropolitana de Chile, datos superiores con respecto a los obtenidos de sensibilidad con respecto a las penicilinas al presente estudio posiblemente se deban a que estos antibióticos utilizados años atrás no hay sido utilizado de un modo masiva y alterada es por eso que presenta una mejor sensibilidad a las bacterias.

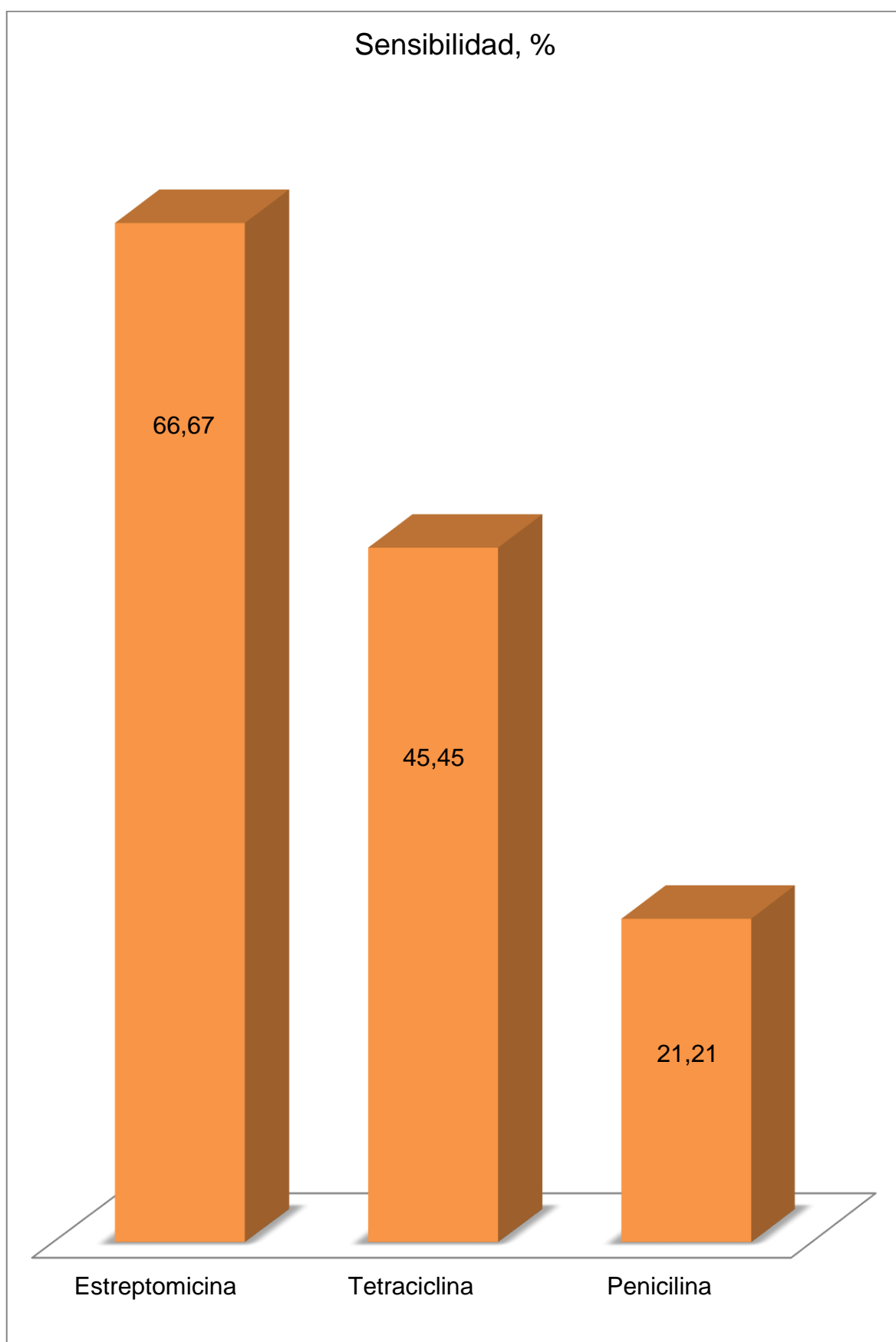


Gráfico 5. Porcentaje de sensibilidad, de los *Staphylococcus sp* y *Streptococcus sp* frente a los antibióticos comerciales.

b. Intermedio

Como se ilustra en el (gráfico 6), en la investigación experimental se evaluó también la sensibilidad media a bacterias de cepas *Staphylococcus sp*, *streptococcus sp*, logrando una sensibilidad media en la tetraciclina 33,33 %, en segundo lugar la estreptomocina 9,09 % y el en último lugar para la penicilina G con 6,06%. El término intermedio indica que el halo de inhibición se aproxima a las concentraciones de antimicrobiano alcanzables en sangre o tejidos y que puede esperarse eficacia clínica en aquellas localizaciones en las que se alcanzan altas concentraciones de antimicrobiano Picazo, J. (2008).

Resultados desarrollados por Cecil, R. (2002), presenta una sensibilidad media a la tetraciclina de 39 %; San Martín, B. *et al.* (2009), registro una sensibilidad media a la penicilina G de 7,6 %, Considerando que existe una preocupación mundial por el problema de resistencia bacteriana adquirida a los diversos antibióticos que son utilizados con mayor frecuencia en las terapias de mastitis bovina.

Trabajo realizado por Gómez, L. (2015), mismo que presenta una resistencia baja del 5,26 % con la tetraciclina al género *Staphylococcus sp*, *streptococcus sp* y una resistencia media a la penicilina G de 34,09%, siendo superior los datos de la presente investigación con respecto al grado de sensibilidad a la penicilina.

c. Resistencia

En el (gráfico 7), se encontró la mayor resistencia a las bacterias Gram positivas con el empleo de la penicilina con una media del 72,73%, seguido por la estreptomocina del 24,24 % y la tetraciclina con 21,21 % que fue la menor resistencia desarrollada; que se puede acotar lo mencionado por Picazo, J. (2008), quien señala que el término resistente se refiere aquellos microorganismos que no se inhiben por las concentraciones habitualmente alcanzadas en sangre/tejidos del antimicrobiano, o a aquellos microorganismos en los que existen mecanismos de resistencias específicos para el agente estudiado en los que no ha habido una adecuada respuesta clínica.

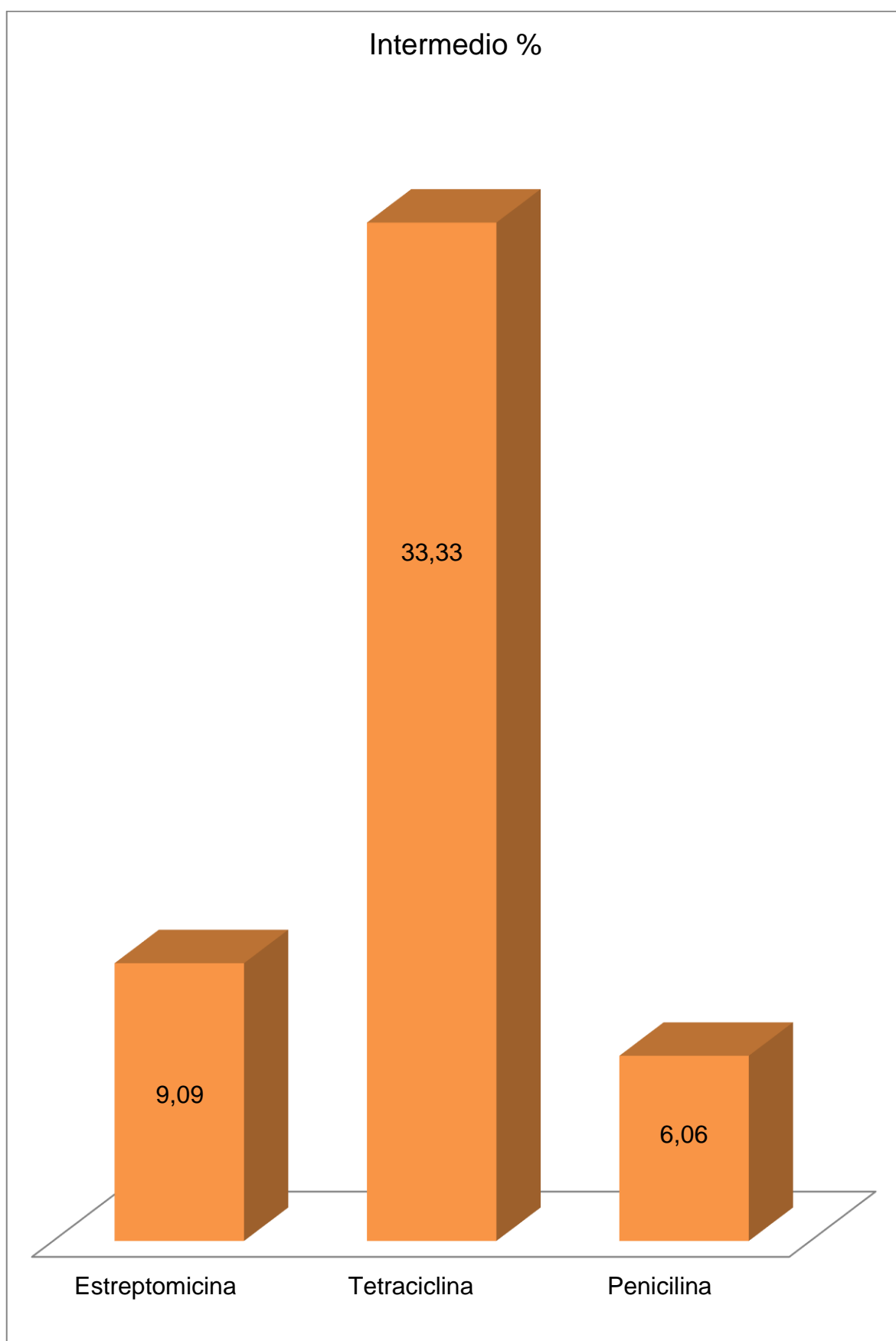


Gráfico 6. Porcentaje de sensibilidad media, de los *Staphylococcus sp* y *Streptococcus sp* frente a los antibióticos comerciales.

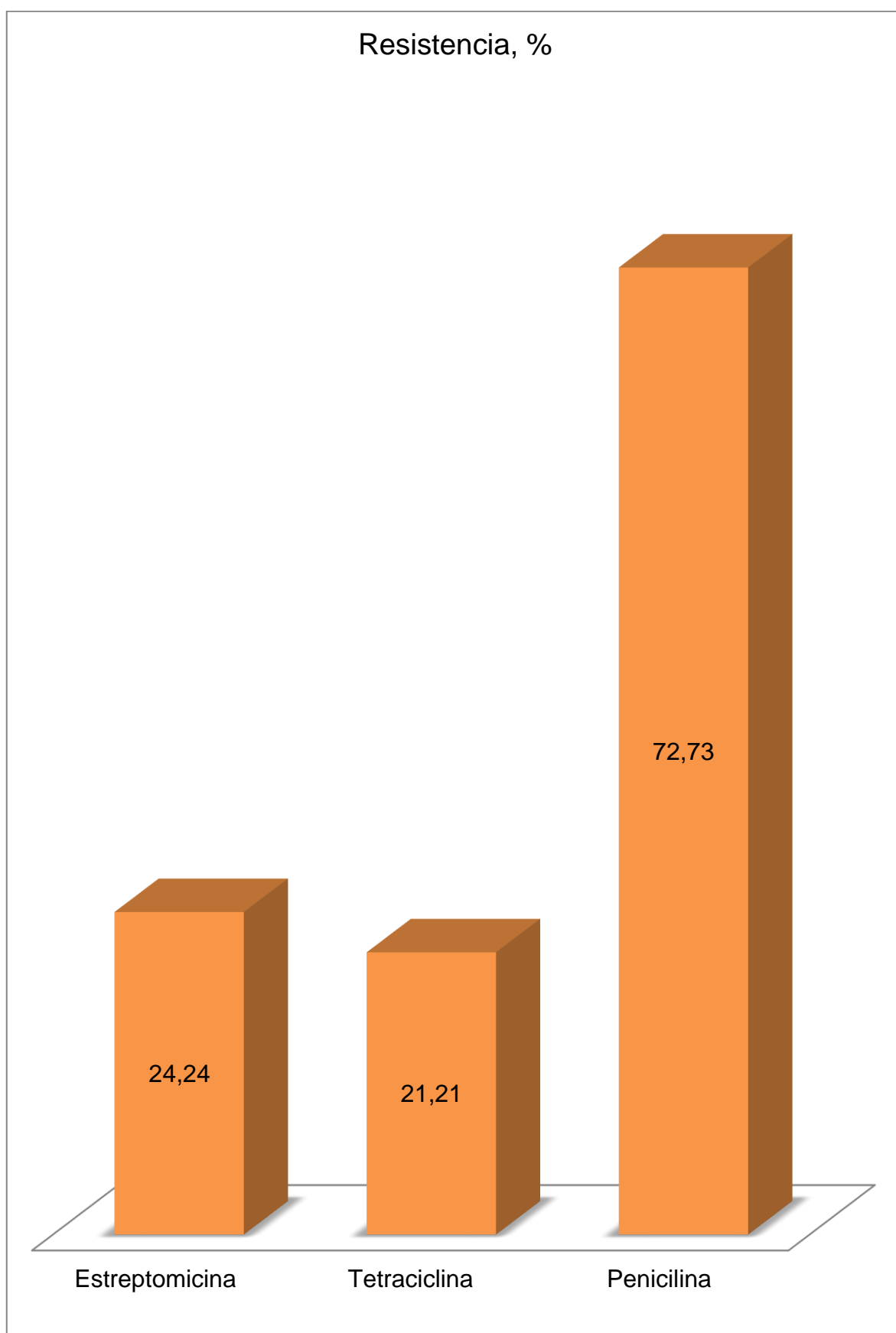


Gráfico 7. Porcentaje de resistencia, de los *Staphylococcus sp* y *Streptococcus sp* frente a los antibióticos comerciales.

El trabajo desarrollado por Bouman, M. (2011), relata que en su análisis registra la resistencia de las bacterias Gram positivas a la penicilina G en un 75 %; y una menor resistencia a la tetraciclina 26 % es posible que el extenso uso de la penicilina se volvieran resistentes al tratamiento farmacológico; Cecil, R. (2002), obtuvo datos superiores de resistencia a la estreptomicina de 34,8 %. Probablemente pueden favorecer el desarrollo de la misma, dentro de estos se destacan el uso indiscriminado de antibacterianos, la utilización de los mismos en dosis subterapéuticas, la formulación de estos fármacos como promotores de crecimiento, residualidad de antimicrobianos en alimentos de origen animal, administración de antibacterianos por personal no autorizado, formulación de antibacterianos sin diagnósticos confirmados y suspensión de tratamientos antes de su culminación. Martínez, D. *et al.* (2013).

Investigación desarrollada por San Martín, B. *et al.* (2009), señalan una resistencia a las bacterias Gram positivas frente a la penicilina G de 26,3 %; Gómez, L. (2015), reportó también resultados inferiores en su investigación con una resistencia bacteriana a la tetraciclina de 13,16 %, mencionando que la resistencia a penicilina G observada puede deberse probablemente a que en la región en estudio se ha dejado de utilizar penicilina para el tratamiento de la mastitis subclínica, privilegiando otros antimicrobianos, Güler, L. (2012).

2. Sensibilidad y resistencia de los patógenos Gram negativos frente a los antibióticos

En el laboratorio se ejecutó el proceso de antibiograma para determinar la susceptibilidad de las bacterias Gram negativas frente a los antibióticos comerciales, determinando la sensibilidad, sensibilidad intermedia y resistencia como se indica en el (cuadro 9).

Una vez identificados los agentes presentes en las mastitis se sometió cada cepa por separado a una prueba de sensibilidad, frente a lincomicina, neomicina y cefalexina.

Cuadro 9. PORCENTAJE DE SENSIBILIDAD, INTERMEDIO Y RESISTENCIA DE LOS COCOS Y BACILOS GRAM NEGATIVOS FRENTE A LOS ANTIBIÓTICOS COMERCIALES.

Antibióticos	Sensible		Intermedio		Resistente	
	N	%	N	%	N	%
Neomicina	6	85,71	-	0,00	1	14,29
Cefalexina	3	42,86	-	0,00	4	57,14
Lincomicina	1	25,00	2	28,57	4	57,14

N: número de cepas existentes.

a. Sensibilidad

De acuerdo a los resultados obtenidos del cuadro antes mencionado se da a conocer los porcentaje de sensibilidad de las bacterias bacilos Gram negativos y cocos frente a los antibióticos comerciales, presenta la mayor sensibilidad en la neomicina del 85,71 %, seguido de la cefalexina con 42,86 % y en menor porcentaje es la lincomicina de 25 %, posiblemente se deba a lo mencionado por Martínez, D. *et al.* (2013), que las bacterias Gram negativas poseen en su membrana celular externa, canales proteicos denominados porinas que se caracterizan por ser muy selectivos, se detalla en el (gráfico 8).

En el trabajo ejecutado por Zurita, L. *et al.* (2007), estudio realizado a 74 cepas bacterianas provenientes de 70 cuartos afectados, presentaron datos superiores de sensibilidad a la neomicina 100%; mientras que Gutiérrez, F. (2014), indica una sensibilidad para la cefalexina 33 % y para la lincomicina 10 %, inferior a los de la presente investigación, probablemente esto se deba a la distinta sensibilidad que ellas poseen con respecto a los antibióticos utilizados.

En la investigación elaborada por Borie, P. *et al.* (2010), reporta una elevada sensibilidad frente a la neomicina 92,70 %; Valenzuela, M. (2010), en su estudio relata una sensibilidad superior de cefalexina 80 % y lincomicina 71,2 %, datos superiores a los de la presente investigación al ser comparados con los obtenidos a la sensibilidad de la lincomicina.

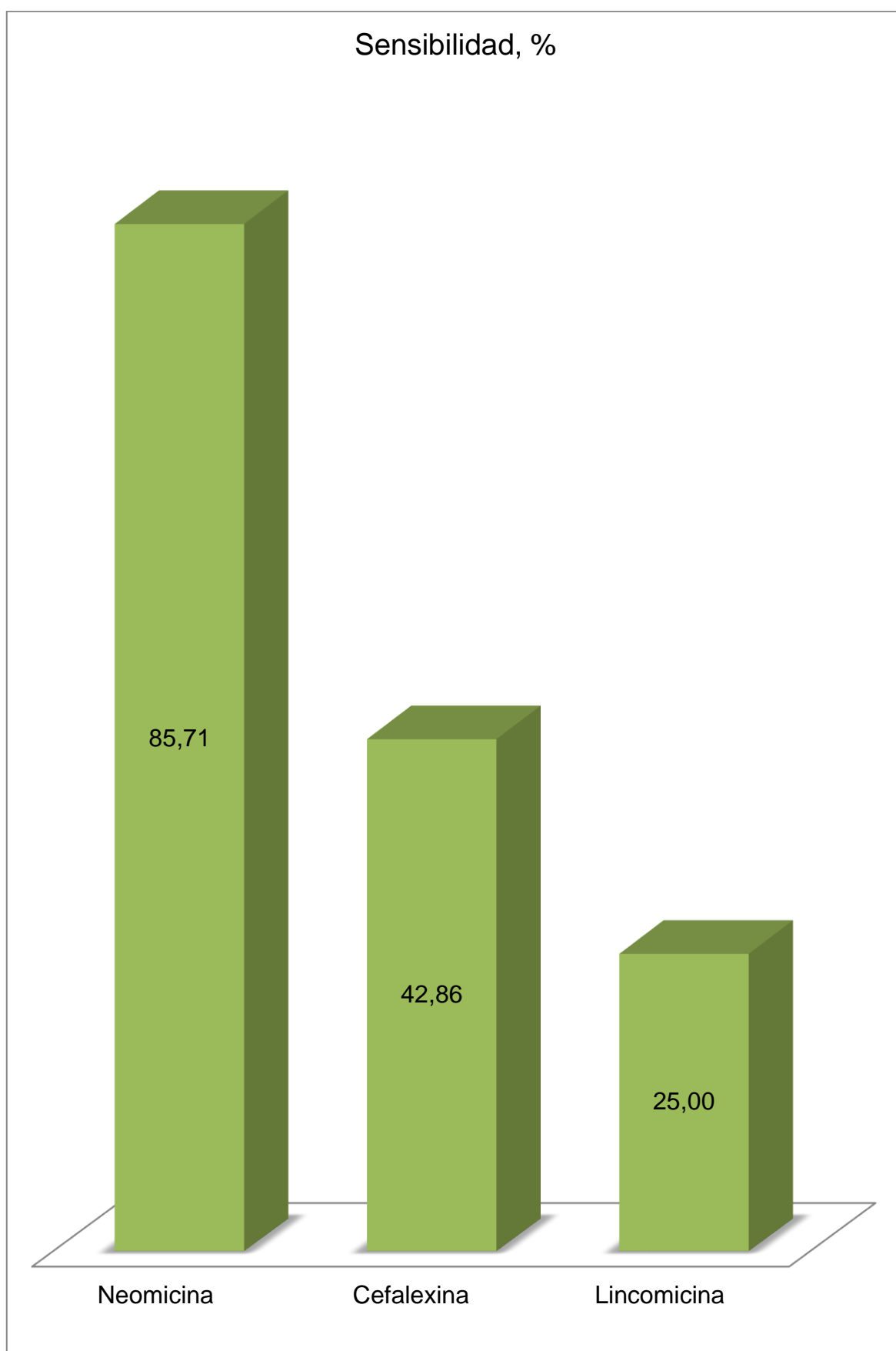


Gráfico 8. Porcentaje de sensibilidad, de los Bacilos sp y Cocos Gram negativos frente a los antibióticos comerciales.

b. Intermedio

Como se señala en el (gráfico 9), las cepas de *bacilos y cocos* aisladas en el presente estudio se consigue una sensibilidad media a la lincomicina de 28,57 %, para la neomicina y la cefalexina no presentaron sensibilidad media para las cepas estudiadas, seguramente esto se debe a que no se estudiaron un número considerable de cepas bacteriana en el laboratorio.

En el estudios ejecutado por Gutiérrez, F. (2014), mismo que relató una sensibilidad media de las cepas patógenas aisladas en leche mastitis subclínica de 50 %, de la lincomicina, para la neomicina de 11 % y 0 % para la cefalexina, datos superiores a los de la presente investigación, posiblemente se debe a que cada bacteria presentó dependencia con el tipo de mastitis y el patrón de sensibilidad antibiótica.

Investigación realizado por Zurita, L. *et al.* (2007), mismo que indica que una de las cepas de bacterias Gram negativas registró el 100% de sensibilidad media a la neomicina y el 0 % para la lincomicina, estos resultado seguramente se deben a que en el estudio realizado solo se estudió una cepa bacteriana por lo que se duda del dato tomado, además Farías, J. *et al.* (2008), en su investigación realizada con 3 cepas bacterianas frente a la Cefalexina, presento ausencia de una sensibilidad media, inferiores a los reportados en la investigación desarrollada.

c. Resistencia

Los resultados obtenidos se representan en el (gráfico 10), de las 9 cepas bacterianas estudiadas 57,14% mostraron resistencias de las cepas a la cefalexina y a la lincomicina y una menor resistencia bacteria a la neomicina de 14, 29 %, esto posiblemente se debe a que en este trabajo investigativo no se utilizó un número considerable de cepas bacterianas.

Tesis elaborada por Valenzuela, M. (2010), estudio realizado en 57 cepas bacterianas reporta una resistencia inferior 28,8% frente a la lincomicina;

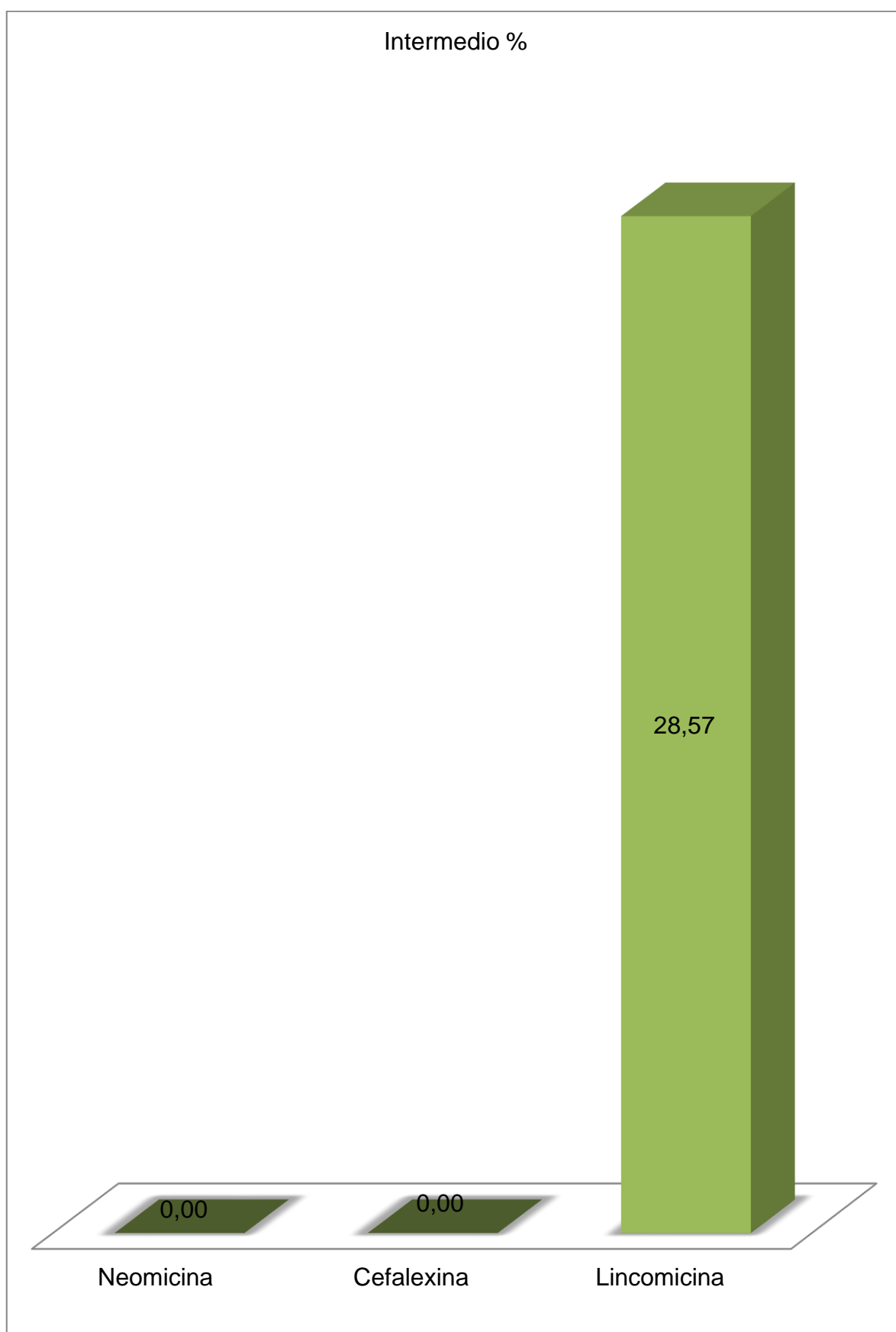


Gráfico 9. Porcentaje de sensibilidad Media, de los Bacilos sp y Cocos Gram negativos frente a los antibióticos comerciales.

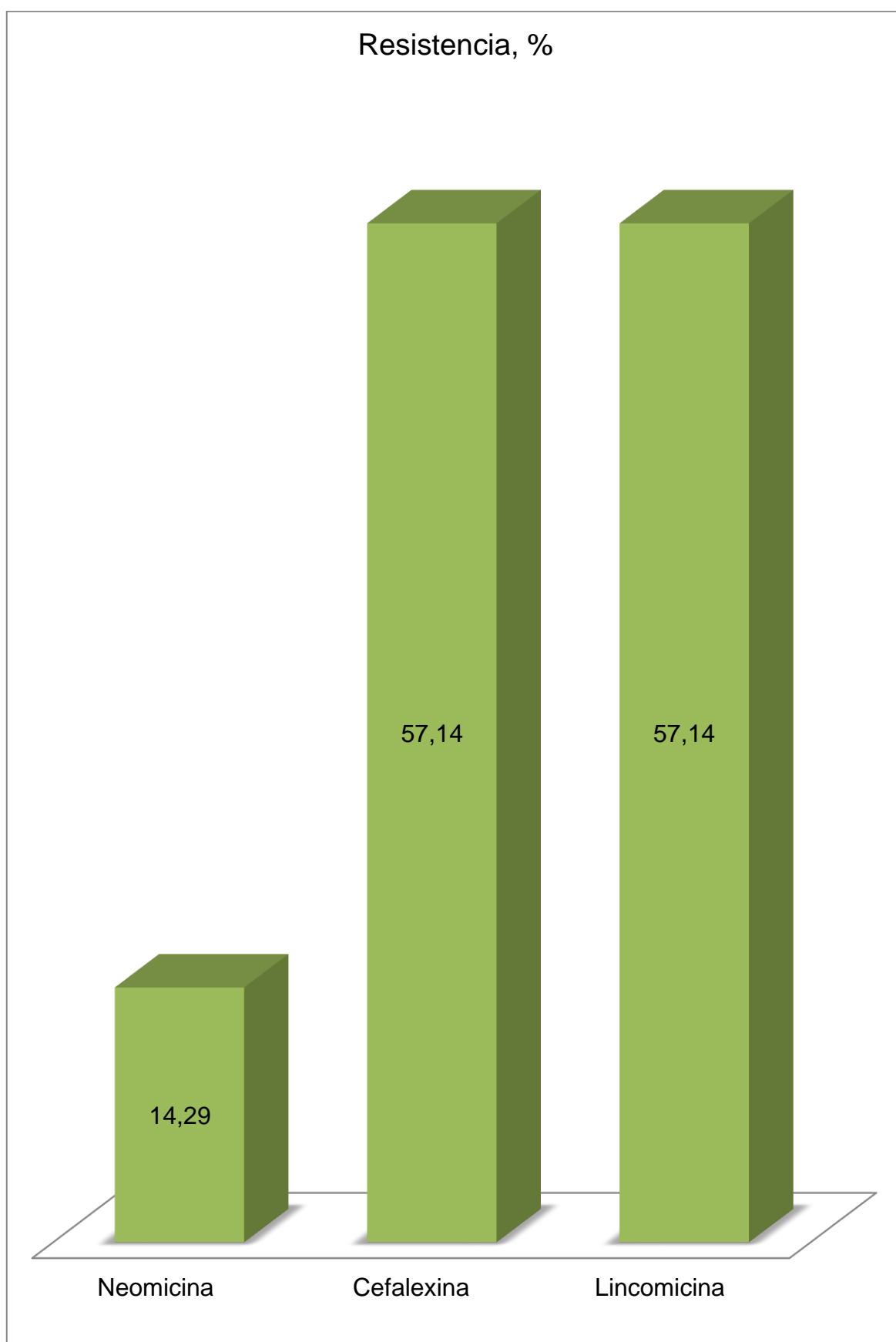


Gráfico 10. Porcentaje de resistencia, de los Bacilos sp y Cocos Gram negativos frente a los antibióticos comerciales.

Martínez, D. *et al.* (2013), en su trabajo obtuvo datos del 34% de resistente a la neomicina; Gómez, L. *et al* (2015), con 14 cepas bacterianas presentó una resistencia bacteriana frente a la cefalexina de 7,14 %, datos inferiores a los de la presente investigación, posiblemente se debe a que algunos fármacos tienen escasa penetración en el tejido de la ubre por los que presenta una resistencia de la bacteria frente a los antibióticos.

En el trabajo desarrollado por Gutiérrez, F. (2014), registró una resistencia bacteriana inferiores de 40 % frente a lincomicina y para la cefalexina 60 %. Borie, P. *et al.* (2010), reportó resistencia menor de los antimicrobianos frente a la neomicina de 7,30 %, probablemente se debe a uso excesivo de los antimicrobianos que desarrollan cada vez más resistencia de las bacterias.

D. EFECTIVIDAD DE LOS 4 MEJORES ANTIBIÓTICOS COMERCIALES EN VACAS LECHERAS CON MASTITIS EN ETAPA DE PRODUCCIÓN

Luego de la aplicación de los tratamientos, se realizó la prueba del CMT a los 8 días post tratamiento y a estos resultados se les aplicó un ADEVA, para finalmente por medio del estudio de la separación de medias según el método de Duncan reportar los siguientes resultados como se observa en el (cuadro 10).

1. Edad, años

Para la variable edad de las 16 vacas evaluadas al iniciar la investigación no presentaron diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$), entre los antibióticos comerciales utilizados obteniendo edades de 5,50 años en los tratamientos con tetraciclina y neomicina, descendiendo a 5,13 y 5 años para los animales del tratamiento con cefalexina y estreptomina, en su orden con un desviación entre media $\pm 0,41$ años.

Estos resultados son superiores a los reportados por Suarez, I. (2007), quien utilizó animales en producción de leche con edades de 4,5 a 5 años, posiblemente esto se deba a que son vacas de segundo parto y ver la incidencia de mastitis subclínica.

Cuadro 10. EVALUACIÓN DE LOS 4 MEJORES ANTIBIÓTICOS COMERCIALES EN VACAS LECHERAS CON MASTITIS EN ETAPA DE PRODUCCIÓN.

Variable	Antibióticos Comerciales								E.E	Prob.
	Estreptomicina		Tetraciclina		Cefalexina		Neomicina			
Edad	5,00	a	5,50	a	5,13	a	5,50	a	0,41	0,7628
Peso kg	415,25	a	434,25	a	427,75	a	434,25	a	9,84	0,5032
Producción de leche antes del tratamiento	10,13	a	10,50	a	10,00	a	10,25	a	0,52	0,9152
Producción de leche después del tratamiento	12,00	a	11,38	a	10,21	a	11,50	a	0,63	0,4429
Incidencia %	50,00	a	43,75	a	43,75	a	37,50	a	13,74	0,9354
Eficiencia %	100,00	a	93,75	a	62,50	a	12,50	b	13,86	0,0029

E.E.: Error Estándar.

Prob. >0,05: no existen diferencias estadísticas.

Prob. <0,05: existen diferencias estadísticas.

Prob. < 0,01: existen diferencias altamente significativas.

Medias con letras iguales en una misma fila no difieren estadísticamente de acuerdo a la prueba de Duncan.

2. Peso, kg

Los pesos registrados al inicio de la investigación, no registraron diferencias estadísticas significativas ($P>0,05$), entre los tratamientos utilizados consiguiendo mayores pesos de 434,25 kg para el tratamiento tetraciclina y neomicina, los menores pesos fueron de 427,75 kg para la cefalexina y finalmente la estreptomina de 415,25 kg con un error estándar de $\pm 9,84$ kg.

En la investigación desarrollado por Gómez, L. (2015), en su investigación trabajó con animales de raza holstein friesland registrando pesos superiores de 680 kg, quizás esto se deba a la diferencia que existen entre una holstein con una mestiza, ya que Valenzuela, M. (2010), indica que los pesos promedios de animales mestizos es de 520 kg.

3. Producción de leche antes del tratamiento

En la variable producción inicial de leche (L), no mostraron diferencias estadísticas significativas ($P>0,05$), entre los métodos utilizados logrando obtener la mejor producciones de 10,50 L para el tratamiento tetraciclina seguido de la neomicina de 10,25 L, las menores producciones de leche se registraron para la estreptomina y cefalexina con valores de 10,13 y 10 L, posiblemente se debe a que son animales mestizos de baja genética, no hay una alimentación controladas y por ende hay una baja producción de leche.

Resultados de producción manifestado por Pellegrino, M. *et al.* (2010), reportaron producciones mayores de promedios de (10-20 litros), probablemente la alta producción se debe a que son vacas mejoradas y proporcionan raciones alimenticia.

4. Producción de leche después del tratamiento

Mediante el análisis de separación de medias Duncan para la producción de leche después del tratamiento, no revelaron diferencias estadísticas significativas ($P>0,05$), entre los tratamientos registrándose la mayor producción de 12 L con el

tratamiento estreptomicina, descendiendo a una producción de 11,50 L para la neomicina, seguido de las producciones con tetraciclina de 11,38 L posteriormente la menor producción se obtuvo con el empleo de la cefalexina con una media de 10,21 L, y una variación de medias de $\pm 0,63$, lo que demuestra que la aplicación de los 4 antibióticos para tratamiento de mastitis no influyen directamente en la producción de leche pero quizás se vea reflejado en el calidad de la misma.

Ante lo mencionado anteriormente podemos acotar que el tratamiento realizados a cuartos afectados por mastitis con los diferentes antibióticos tiene una correlación negativa con parámetros de absorción y eliminación del antibiótico es así que se le considera a la estreptomicina y penicilina de lenta absorción y eliminación, dicho por Ramírez, J. (2011).

5. Incidencia, %

Los porcentajes de incidencia de mastitis subclínica reportados fueron de 50 % para la estreptomicina seguido por la tetraciclina y cefalexina con 43,75 % y por ultimo con la neomicina 37,50 %, no presentando diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$), entre los tratamiento, con una desviación estándar de $\pm 13,74$ %.

Trabajo realizado por Gómez, L. (2015), quien afirma que su prevalencia en vacas evaluadas es de 50 % para la mastitis subclínica, se podría presumir que los pequeños productores de San Pablo Urco tienen un mejor manejo en su ganado especialmente durante el ordeño.

6. Eficiencia, %

En la evaluación de los antibióticos comerciales en vacas con prevalencia de mastitis subclínica, como se detalla en el (gráfico 11), reportan diferencias estadísticas altamente significativas ($P < 0,01$), siendo las mejores eficiencias con estreptomicina, tetraciclina y cefalexina compartiendo significancia entre las medias logradas que fueron de 100, 93,75 y 62,50 %; difiriendo estadísticamente

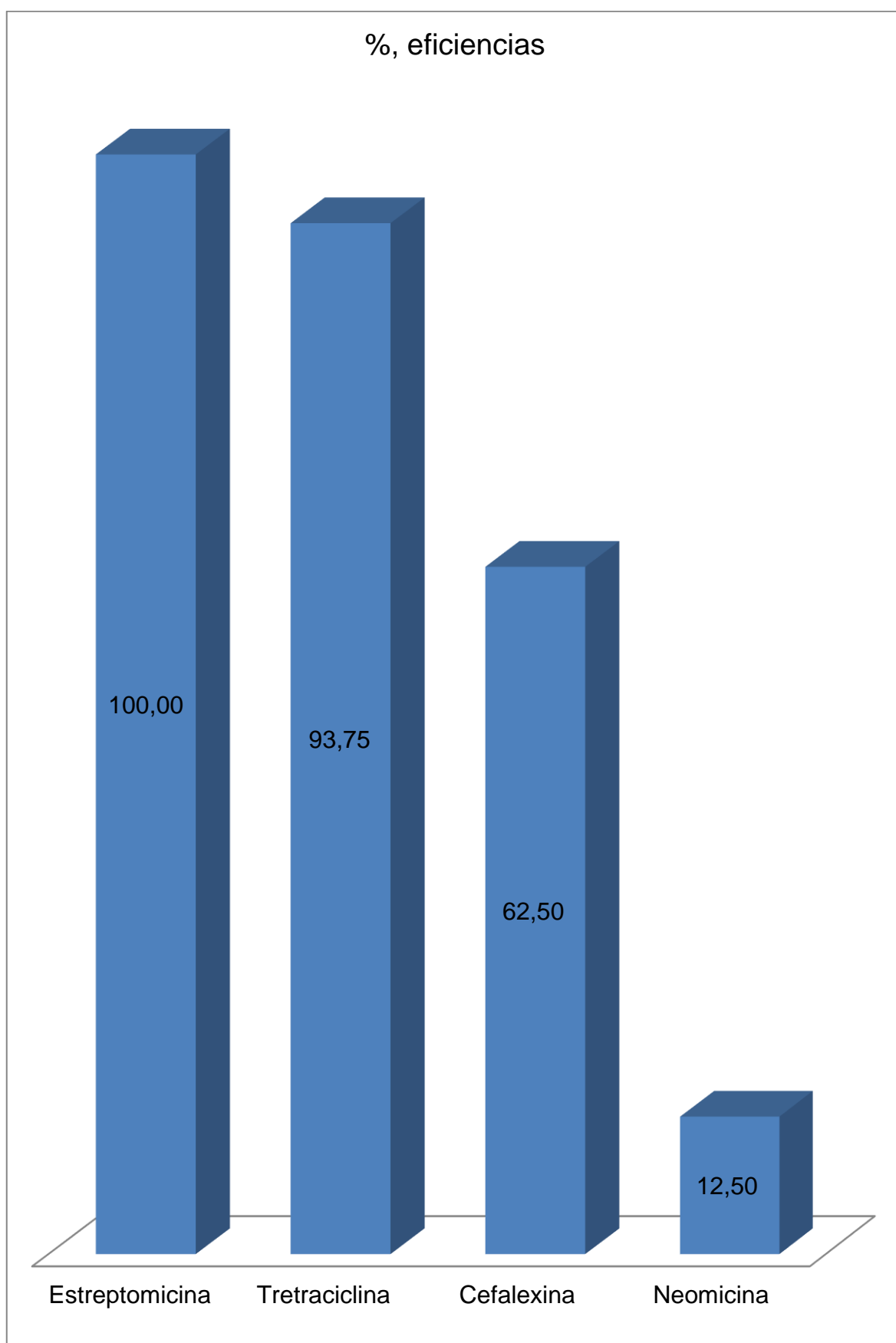


Gráfico 11. Porcentaje de eficiencia de los antibióticos comerciales en vacas con mastitis subclínica.

con respecto a la eficiencia adquirida con el empleo de la neomicina que alcanzo el valor menor de 12,50 % de eficiencia, con una desviación entre medias de \pm 13,86 %.

Estas diferencia entre los antibiótico utilizados en la mastitis subclínica quizás se deba a lo mencionado por Almeida, D. (2015), que inmediatamente después del ordeño debe repetirse la aplicación 24 horas más tarde, posiblemente se debe a que en el estudio se aplicó una sola vez el tratamiento de mastitis.

En su estudio Espinoza, M. y Mier, J. (2013), obtuvo una eficiencia a la estreptomocina 94,14%; Gómez, L. (2015), reporta una eficiencias a la tetraciclina del 81,58% y valores mayores para la cefalexina 71,43 %, datos que son inferiores a los de la presente investigación logrados con el empleo de la estreptomocina, esto probablemente se deba a lo indicado por Knapp, C. *et al.* (1012), a que el aumento de la resistencia a los antimicrobianos y la presencia de genes de resistencias han aumentado en el medio ambiente y lo que disminuye cada vez más su eficiencia terapéutica.

E. EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LOS ESTUDIOS APLICADOS EN VACAS SELECCIONADAS EN LA COMUNIDAD DE SAN PEDRO DE IGUAZO

Para la presente investigación en el análisis económico realizado para la evaluación de la 16 vacas lecheras con el empleo de cuatro antibióticos antimastíticos se determinó el siguiente costo de tratamiento en el cual se consideró los principales rubros como reactivos, material desechable, análisis microbiológicos, detallados en el cuadro 11, en el cual se puede determinar que el mayor costo de tratamiento fue con la estreptomocina con 63,88 USD además siendo el de menor costo por aplicación de tratamiento de la tetraciclina 56,83 USD; observando de esta manera que resulta más factible económicamente la aplicación de tetraciclina pero no en cuanto en eficiencia al contractar con la estreptomocina; los costos intermedios se lograron con el uso de cefalexina y neomicina con 60,52 y 57,52 USD.

Cuadro 11. ANÁLISIS ECONÓMICO.

Rubros	Tratamientos			
	Estreptomicina	Tetraciclina	Cefalexina	Neomicina
Reactivo CMT	5,80	5,80	5,80	5,80
Frascos muestras	1,45	1,45	1,45	1,45
EDTA citrato de sodio (anticoagulante)	0,62	0,62	0,62	0,62
Hielo	0,90	0,90	0,90	0,90
Marcador	0,20	0,20	0,20	0,20
Balde	0,37	0,37	0,37	0,37
Cinta bovinométrica	3,75	3,75	3,75	3,75
Papel absorbente	0,63	0,63	0,63	0,63
Trasporte	2,00	2,00	2,00	2,00
Jeringas	0,18	0,18	0,18	0,18
Cristal violeta	1,75	1,75	1,75	1,75
Yodo Gram	2,50	2,50	2,50	2,50
Alcohol cetona	1,75	1,75	1,75	1,75
Safranina	1,67	1,67	1,67	1,67
Discos de sensibilidad	2,66	2,66	4,25	4,25
Hojas para registro	0,10	0,10	0,10	0,10
Análisis de Antibiograma	20,00	20,00	20,00	20,00
Antibióticos	17,55	10,50	12,60	9,60
Costo total	63,88	56,83	60,52	57,52

V. CONCLUSIONES

En función de los resultados logrados en este estudio se concluye lo siguiente:

1. Al evaluar la incidencia de mastitis subclínica y sus agentes causales se determinó que los mayores niveles de afectación se encontraron en los cuartos posteriores izquierdo y derecho con el 56,25 y 50 % respectivamente, considerando que son los cuartos más propensos sufrir traumatismos y estar expuestos a deyecciones; en la pruebas microbiológicas realizadas se logró identificar a los agentes causales predominantes que son: el género *Staphylococcus. sp* y *Streptococcus. sp* con porcentajes de 60,42 y 25 % y en menor porcentaje que van del 10,42 y 4,17 % se identificaron agentes infecciosos de los géneros bacilos y cocos.
2. En la determinación de la sensibilidad y resistencia de los agentes bacterianos Gram positivos se reporta una mayor sensibilidad a la estreptomicina 66,67 % seguido de la tetraciclina 45,45 %, no así para la penicilina que muestra una resistencia de 72,73 %; en lo que respecta a las bacterias Gran negativas se obtuvo una sensibilidad de 85,71 % a la neomicina y una resistencia a la cefalexina y lincomicina de 57,114 %.
3. En la evaluación de los mejores antibióticos en vacas con mastitis subclínica se alcanzó las mejores eficiencias con la estreptomicina y la tetraciclina con el 100 y 93,75% respectivamente, mejorando la producción lechera con 1,87 y 0,88 L en su orden.
4. En el análisis económico luego del empleo de los cuatro antibióticos que mostraron los mejores resultados se determinó que la aplicación de tetraciclina representa un costo de 56,83 USD por tratamiento con una eficiencia del 93,75 %; la aplicación de estreptomicina muestra una eficiencia 100 % pero su costo por tratamiento es de 63,88 USD.

VI. RECOMENDACIONES

Luego de analizar los resultados y conclusiones se recomienda lo siguiente:

- Utilizar en el tratamiento de la mastitis subclínica la tetraciclina debido a que muestra una buena eficiencia terapéutica frente a los agentes patógenos y los costos de tratamiento son bajos dando mayor rentabilidad y beneficio para los ganaderos; como otra alternativa por su eficiencia se sugiere el empleo de la estreptomicina con una eficiencia del 100 % pero incrementando el costo.
- Mejorar la higiene al momento de realizar el ordeño para evitar la diseminación de agentes patógenos de la mastitis en el hato, ya que debido a una mala práctica al momento del ordeño se han demostrado una alta incidencia de mastitis subclínica en la comunidad de San Pedro de Iguazo.
- Difundir los resultados obtenidos en la presente investigación a los pequeños, medianos y grandes ganaderos de la zona y del país con el fin de resolver los problemas de mastitis con mayor eficacia reduciendo costos de producción.

VII. LITERATURA CITADA

1. AGROCALIDAD. 2015, Sanidad animal. <http://www.agrocalidad.gob.ec/sanidad-animal/>.
2. AGUILAR, A. 2014. Prevalencia de mastitis subclínica. 1a ed. Estado de Jalisco, p 4.
3. ALMEIDA, D. 2015. Determinación de la prevalencia de mastitis mediante la prueba california mastitis test e identificación y antibiograma del agente causal. Ecuador. pp 87-88.
4. ANON, 2010. Dairy Technology, CD n° 10. Westfalia Separator Food Tec GmbH, Oelde – Germany. http://geneticapecuaria.es.tl/*Mastitis.htm.
5. BORIE, P. CONSUELO, M. SAN MARTÍN, N. BETTY, M. DAVID, G. ZURICH, Z. LÁZARO. 2010. Sensibilidad frente a diferentes antibióticos y concentraciones mínimas inhibitorias de tres cefalosporinas en cepas de Escherichia Coli aisladas de mastitis. Colombia, pp 45-47.
6. BOSCÁN, J. VALERIS, R. 2010. MASTITIS BOVINA. Diagnóstico y Prevención de Enfermedades en la Ganadería Doble Propósito, 207.
7. BOUMAN, M. 2011. Análisis de los resultados de 427 muestras remitidas para aislamiento de bacterias de mastitis y antibiograma. Uruguay. p 3.
8. BRADLEY, A. 2014. Control de la mastitis por coliformes. MG Mundo ganadero, 25(257), pp 24-26.
9. BARRERA, J. MERCHÁN, M. SÁNCHEZ, D. QUIROGA, C. (2016). Agentes etiológicos de mastitis bovina en municipios con importante producción lechera del departamento de boyacá. Revista Investigación en Salud Universidad de Boyacá, p 2.
10. CALDERÓN, A. RODRÍGUEZ, V. 2011. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología en sistemas especializados en producción de leche. Colombia. Revista Colombiana Ciencias Pecuarias, 21(4), pp: 582-589.

11. CARAGUAY, M. 2012. diagnóstico de mastitis subclínica por el método california mastitis test, aislamiento, identificación y sensibilidad del germen en las ganaderías. Loja - Ecuador. p 56.
12. CECIL, R. 2002. Resistencia y sensibilidad a los antibióticos en mastitis bovina. Agricultura técnica. p 6.
13. CHAVES, C. JAVIER. 2010. Calidad de leche y Mastitis Bovina. Argentina Comisión Directiva de APROCA. p 34.
14. CONCHA, C. 2011. Nuevos aspectos de diagnóstico, tratamiento y control. Universidad de Chile, http://www.agronomia.uchile.cl/extension/circular_extensio_panimal/CIRCUL/N_33/capitulo_4.pdf.
15. CUZCO, G. 2015. Determinación de la sensibilidad de CMT para el diagnóstico de mastitis y antibiograma en la hacienda "el boliche. Técnica de Ambato-Ecuador, pp 31,32.
16. AGUILA, E. 2013. Caracterización de medicamentos veterinarios de uso frecuente. Perú. pp 34,35.
17. ESPINOZA, M. MIER, J. 2013. Determinación de la prevalencia de la mastitis e identificación y antibiograma de los agentes causales en ganaderías lecheras en el cantón del Chaco. Ecuador. pp: 77-78.
18. FARÍA, J. VALERO, K. GDPOOL, A. URDANETA, G. CAGNASSO, M. 2008. Sensibilidad a los agentes antimicrobianos de algunos patógenos mastitogénicos aislados de leche de cuartos de bovinos mestizos doble propósito. Revista Científica, p 8.
19. FARIA, R. VALERO, L. D´POOL, G. GARCÍA, U, ALLARA, C. FERNANDEZ, B, TRUJILLO, G. PEÑA, C. CERQUERA, G. 2012 Mastitis bovina generalidades y métodos de diagnóstico.
20. FERNÁNDEZ, G. LAGO, N. BARREAL, M. POMBO, M. GONZÁLEZ, J. 2015. resistencias en mastitis bovina. Argentina, 56,57.
21. GÓMEZ, L. 2015. Identificación y antibiograma de patógenos relacionados en

la mastitis bovino en 6 comunidades. Universidad de las Américas.

22. GOMEZ, O. SANTIVÁÑEZ, C. ARAUCO, F. ESPEZUA, O. MARIQUE, J. 2015. Criterios de Interpretación para California Mastitis Test en el diagnóstico de Mastitis Subclínica en Bovinos. Perú, pp: 5-6.
23. GÜLER, L. GÜLDÜNZ, K. GÜLCÜ, Y. HADIMLI, H. 2012. Antimicrobial Susceptibility and Coagulase Gene Typing of Staphylococcus aureus Isolated from Bovine Clinical Mastitis Cases in Turkey. J. Dairy Sci. 88, pp 3149–3154.
24. GUTIÉRREZ, F. DÍAZ, M. ARIAS, Y. RODRÍGUEZ, E. 2014. Sensibilidad a agentes antimicrobianos de patógenos mastitogénicos aislados en leche de vacas doble propósito. Antiplano. Revista de Ciencia y Tecnología, p 32.
25. INSTITUTO DE ESTÁNDARES CLÍNICOS Y DE LABORATORIO (CLSI). 2014. Normas para realizar las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos con discos. Norma aprobada, décima edición Volumen 34. [On line]. http://ncipd.org/control/images/NCIPD_docs/CLSI_M100-S24.pdf.
26. KNAPP, C. LIMA, L. OLIVARES, S. BOEN, E. WERNER, D. GRAHAM, D. 2012. Seasonal Variations in Antibiotic Resistance Gene Transport in the Almendares River, Havana, Cuba. p 567.
27. LIVEXLAB. 2014. Procedimiento operativo estándar toma y envío de muestras al laboratorio manual de procedimientos LIVEXLAB./20. <http://www.veterinaria.org/revistas.pdf>.
28. LÓPEZ, H. 2011. Mastitis bovina: Enfoque biotecnológico.sn. Valle – Cali – Colombia. ReCiTelA. pp 228-232.
29. MAGAP 2015. Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca.
30. MARTÍNEZ, D. CRUZ, A. MORENO, G. 2013. Resistencia de las bacterias causantes de mastitis bovina frente a los antimicrobianos más

- frecuentes, Facultad de Ciencias Agrarias. Colombia. pp 567,568.
31. MARTÍNEZ, E. PONCE, P. LÓPEZ, M. GINDRO, C. 2009. Control de la calidad higiénica de la leche cruda: una condición necesaria desde la vaca al consumidor. CENLAC / CENSA. pp: 184-194.
 32. OCANDO, J. GONZÁLEZ, C. GIRARZ, C. 2011. Manejo de la Mastitis Bovina y Programas de Control. <http://www.veterinaria.org/revistas> pdf.
 33. ORREGO, J. DELGADO, A. ECHEVARRÍA, L. 2013. Vida productiva y principales causas de descarte de vacas Holstein en la cuenca de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 14(1), pp 68-73.
 34. PELLEGRINO, M. FROLA, I. ODIERNO, L. BOGNI, C. 2010. Mastitis Bovina. Resistencia a antibióticos de cepas de taphylococcus aisladas de leche. *REDVET-Rev. electrón. vet.-Revista electrónica de Veterinaria*, 12(7). <http://www.veterinaria.org/revistas> pdf.
 35. PEREYRA, E. 2015. Estudios in vivo e in vitro sobre aspectos de la interacción patógeno-hospedador a partir de cepas seleccionadas de staphylococcus procedentes de infecciones intramamarias en bovinos. *Venezuela*. p 456.
 36. PICAZO, J. 2008. *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Chile. pp 30-39.
 37. PYÖRÄLÄ, S. 2016. El Tratamiento de la Mastitis Durante la Lactancia. *Boletín Electrónico*, 12, 01. <http://lmvltlda.com/articulos/mastitis-bovina/pdf>.
 38. RAMÍREZ, J. 2011. Eficiencia terapéutica de los antibióticos, Colombia. *Revista científica RECITELA*, p 295. <http://revistareciteia.es.tl>.
 39. RODRÍGUEZ, G. 2003. *Epidemiología de la mastitis bovina (No. Doc. 17989)* CO-BAC, Santafé de Bogotá*.
 40. RUEGG, J. 2008. *California, Principios y Bases para la prevención de mastitis*. Universidad de California, Centro Médico Veterinario. California-Estados Unidos. pp. 5-7.

41. RUIZ, A. GONZÁLEZ, D. PEÑA, J. (2012). Situación de la mastitis bovina en Cuba. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, 13(12), pp 1-12.
42. SAN MARTÍN, B. BORIE, P. GUTIÉRREZ, E. ZURICH, L. 2009. Estudio de sensibilidad y concentraciones mínimas inhibitorias de cefalosporinas sobre cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis clínica bovina. Pichimcha–Ecuador. p 78.
43. SUAREZ, I. 2007. “Evaluación de dos tratamientos alternativos para la mastitis subclínica en vacas utilizando ozono” FCP-ESPOCH. Tesis de Grado. FCPEPOCH. Riobamba-Ecuador, pp: 56-79.
44. ZUÑIGA, R. 2014. Estudio de prevalencia de mastitis subclínica en la zona alta del estado Mérida. <http://revistareciteia.es.tl>.
45. VALENZUELA, M. 2010. “sensibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis clínica bovina en rebaños lecheros de la región de los ríos”. Valdivia-Chile. p 23.
46. VALERO, K. VALBUENA, E. CHACÓN, F. OLIVARES, Y. CASTRO, G. 2010. Patógenos contagiosos y ambientales aislados de cuartos mamarios con mastitis subclínica. Revista Científica, 20(5), pp 498-505.
47. ZURITA, L. BORIE, P. GUTIÉRREZ, M. L. ZURICH, L. 2007. Estudio de sensibilidad y concentraciones mínimas inhibitorias de cefalosporinas sobre cepas de *Staphylococcus* aisladas de mastitis clínica bovina. Chile. p 678.

ANEXOS

ANEXO 1. BACTERIAS CAUSANTES DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA EN LA COMUNIDAD DE SAN PEDRO DE IGUAZO.

N° Arete	Cuartos	Muestras	Color colonia	Diámetro colonia mm	Tinción Gram	Identificación
5160	PI	1.1	a. amarillo	3	P	staphylococcus
		1.2	b. crema	3	P	streptococcus
	AI	2.1	a. amarillo	2	P	staphylococcus
		2.2	b. crema	3	P	streptococcus
7982	AI	3	crema	4	P	streptococcus
	AI	4.1	a. amarillo	4	P	staphylococcus
		4.2	b. crema	3	P	staphylococcus
4774	AD	5.1	a. amarillo	2	P	staphylococcus
		5.2	b. crema	3	P	staphylococcus
	PI	6.1	a. amarillo	4	P	staphylococcus
		6.2	b. crema	2	P	staphylococcus
	PD	7.1	a. amarillo	4	P	staphylococcus
		7.2	b. crema	3	P	staphylococcus
6960	PD	8.1	a. amarillo	4	P	staphylococcus
		8.2	b. crema	4	P	streptococcus
	AD	9.1	a. amarillo	3	P	staphylococcus
		9.2	b. crema	3	P	staphylococcus
6959	PD	10.1	a. amarillo	4	P	staphylococcus
		10.2	b. crema	4	P	staphylococcus
6794	AD	12	crema	4	N	bacilos
		14.1	a. crema	4	N	bacilos
	PI	14.2	b. crema oscuro	5	P	staphylococcus
		13	crema	3	P	streptococcus
6954	PI	15	amarillo	2	P	staphylococcus
6799	PI	16.1	a. crema oscuro	3	P	staphylococcus
		16.2	b. amarillo	3	P	staphylococcus
6810	PD	17	crema	5	N	bacilos

	PI	20	crema	3	N	bacilos
	PI	18.1	a. dorado	2	P	staphylococcus
	PI	18.2	b. amarillo	4	P	staphylococcus
6812	AI	19.1	a. crema	2	P	staphylococcus
	AI	19.2	b. amarillo	2	P	staphylococcus
	PD	22	amarillo	3	P	staphylococcus
	AD	23	crema	3	P	staphylococcus
7430	PD	21	crema	4	P	staphylococcus
	AI	24.1	a. crema	6	P	streptococcus
6914	AI	24.2	b. crema	5	N	cocos
	PD	25.1	a. crema	5	N	cocos
	PD	25.2	b. crema	4	P	streptococcus
123	AI	26	crema	5	N	bacilos g-
	PD	27	crema	3	P	streptococcus
		28.1	a. amarillo	4	P	staphylococcus
	PI	28.2	b. dorado	3	P	staphylococcus
dom		28.3	c. crema	4	P	streptococcus
inga		29.1	a. crema	7	P	streptococcus
	AD	29.2	b. amarillo	5	P	staphylococcus
		29.3	c. crema	6	P	streptococcus
6956	AI	11	crema	2	P	streptococcus

ANEXO 2. ANTIBIOGRAMA.

Antibiograma				Interpretación		
tinción Gram	Antibiograma	mm	Concentración	R	I	S
	PENICILINA	26	10 ui		I	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	20	10 mcg			S
	TETRACICLINA	19	30mcg			S
	PENICILINA		10 ui			
Streptococcus	STREPTOMICINA		10 mcg			
	TETRACICLINA		30mcg			
Staphylococcus	PENICILINA	20	10 ui	R		

	STREPTOMICINA	26	10 mcg		S
	TETRACICLINA	0	30mcg	R	
	PENICILINA	30	10 ui		S
Streptococcus	STREPTOMICINA	19	10 mcg		S
	TETRACICLINA	23	30mcg		S
	PENICILINA	16	10 ui	R	
Streptococcus	STREPTOMICINA	16	10 mcg		S
	TETRACICLINA	17	30mcg		I
	PENICILINA	37	10 ui		S
Staphylococcus	STREPTOMICINA	16	10 mcg		S
	TETRACICLINA	18	30mcg		I
	PENICILINA	11	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	15	10 mcg		S
	TETRACICLINA	16	30mcg		I
	PENICILINA	0	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	12	10 mcg		I
	TETRACICLINA	14	30mcg	R	
	PENICILINA	8	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	11	10 mcg	R	
	TETRACICLINA	21	30mcg		S
	PENICILINA				
Staphylococcus	STREPTOMICINA				
	TETRACICLINA				
	PENICILINA	10	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	17	10 mcg		S
	TETRACICLINA	16	30mcg		I
	PENICILINA	14	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	0	10 mcg	R	
	TETRACICLINA	13	30mcg	R	
	PENICILINA	12	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	18	10 mcg		S
	TETRACICLINA	16	30mcg		I
Staphylococcus	PENICILINA	31	10 ui		S

	STREPTOMICINA	18	10 mcg		S
	TETRACICLINA	20	30mcg		S
	PENICILINA	29	10 ui		S
Staphylococcus	STREPTOMICINA	27	10 mcg		S
	TETRACICLINA	17	30mcg	I	
	PENICILINA	17	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	19	10 mcg		S
	TETRACICLINA	23	30mcg		S
	PENICILINA	15	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	16	10 mcg		S
	TETRACICLINA	24	30mcg		S
	LINCIMICINA	34	2 ug		S
cocos -	NEOMICINA	37	30 ug		S
	CEPHALECINA	35	30 ug		S
	PENICILINA	0	10 ui	R	
Streptococcus	STREPTOMICINA	18	10 mcg		S
	TETRACICLINA	0	30mcg	R	
	LINCIMICINA	0	2 ug	R	
bacilos -	NEOMICINA	20	30 ug		S
	CEPHALECINA	0	30 ug	R	
	PENICILINA	13	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	14	10 mcg	I	
	TETRACICLINA	16	30mcg	I	
	PENICILINA	29	10 ui		S
Staphylococcus	STREPTOMICINA	18	10 mcg		S
	TETRACICLINA	21	30mcg		S
	PENICILINA	15	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	0	10 mcg	R	
	TETRACICLINA	13	30mcg	R	
	PENICILINA	0	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	15	10 mcg		S
	TETRACICLINA	21	30mcg		S
Bacilos -	LINCIMICINA	15	2 ug	R	

	NEOMICINA	18	30 ug		S
	CEPHALECINA	11	30 ug	R	
	PENICILINA	0	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	11	10 mcg	R	
	TETRACICLINA	19	30mcg		S
	PENICILINA	0	10 ui	I	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	19	10 mcg		S
	TETRACICLINA	16	30mcg	I	
	LINCIMICINA	14	2 ug	R	
Bacilos -	NEOMICINA	19	30 ug		S
	CEPHALECINA	12	30 ug	R	
	PENICILINA	11	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	11	10 mcg	R	
	TETRACICLINA	15	30mcg	I	
	PENICILINA	0	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	0	10 mcg	R	
	TETRACICLINA	19	30mcg		S
	PENICILINA	8	10 ui	R	
Staphylococcus	STREPTOMICINA	11	10 mcg	R	
	TETRACICLINA	20	30mcg		S
	PENICILINA	10	10 ui	R	
Streptococcus	STREPTOMICINA	14	10 mcg	I	
	TETRACICLINA	11	30mcg	R	
	LINCIMICINA	19	2 ug	I	
cocos	NEOMICINA	12	30 ug	R	
	CEPHALECINA	0	30 ug	R	
	LINCIMICINA	15	2 ug	R	
Bacilos -	NEOMICINA	27	30 ug		S
	CEPHALECINA	26	30 ug		S
	PENICILINA	13	10 ui	R	
Streptococcus	STREPTOMICINA	21	10 mcg		S
	TETRACICLINA	20	30mcg		S
Bacilos -	LINCIMICINA	19	2 ug	I	

	NEOMICINA	23	30 ug		S
	CEPHALECINA	23	30 ug		S
Streptococcus	PENICILINA	0	10 ui	R	
	STREPTOMICINA	0	10 mcg	R	
	TETRACICLINA	17	30mcg		I
Staphylococcus	PENICILINA	11	10 ui	R	
	STREPTOMICINA	20	10 mcg		S
	TETRACICLINA	17	30mcg		I
Staphylococcus	PENICILINA	19	10 ui	R	
	STREPTOMICINA	18	10 mcg		S
	TETRACICLINA	21	30mcg		S
Streptococcus	PENICILINA	11	10 ui	R	
	STREPTOMICINA	20	10 mcg		S
	TETRACICLINA	12	30mcg	R	
Streptococcus	PENICILINA	0	10 ui	R	
	STREPTOMICINA	17	10 mcg		S
	TETRACICLINA	22	30mcg		S
Staphylococcus	PENICILINA	12	10 ui	R	
	STREPTOMICINA	21	10 mcg		S
	TETRACICLINA	22	30mcg		S

ANEXO 3. RESULTADOS DEL CMT POST TRATAMIENTO EN EL HATO DE SAN PEDRO DE IGUAZO.

N° animales evaluados	CUARTOS			
	IZQUIERDO		DERECHO	
	DELANTERO	TRASERO	DELANTERO	TRASERO
1	N	N		
2	N	N	N	N
3				N
4		N		
5	N			
6		N		
7	N	N	N	P
8		N		
9		N		P
10	N			N
11	N			N
12		P		
13	P			
14				N
15		P	P	
16			N	P

ANEXO 4. CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	19179,69	3	6393,23	8,32	0,0029
Tratamientos	19179,69	3	6393,23	8,32	0,0029
Error	9218,75	12	768,23		
Total	28398,44	15			

ANEXO 5. TEST: DUNCAN alfa=0,05

Tratamientos	Medias	n	E.E.
STREPTOMICINA	100,00	4	13,86 A
TETRACICLINA	93,75	4	13,86 A
CEPHALECINA	62,50	4	13,86 A
NEOMICINA	12,50	4	13,86 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO 6. DEFENSA DE TRABAJO DE TITULACIÓN

