



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE
LOJA**

**Área Agropecuaria y de Recursos Naturales
Renovables**

**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**

“DIAGNÓSTICO DE MASTITIS SUBCLÍNICA POR EL MÉTODO CALIFORNIA MASTITIS TEST, AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y SENSIBILIDAD DEL GERMEN EN LAS GANADERÍAS DE LA PARROQUIA CHANTACO DEL CANTÓN LOJA”

**TESIS DE GRADO PREVIA A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA**

Autor:

Marcos Emanuel Caraguay Guallas

Director:

Dr. Segundo Barragán Fierro. Mg. Sc.
Loja - Ecuador

2012

APROBACIÓN

**“DIAGNÓSTICO DE MASTITIS SUBCLÍNICA POR EL MÉTODO CALIFORNIA
MASTITIS TEST, AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y SENSIBILIDAD DEL GERMEN
EN LAS GANADERÍAS DE LA PARROQUIA CHANTACO DEL CANTÓN LOJA”**

TESIS PRESENTADA AL TRIBUNAL DE GRADO COMO REQUISITO PREVIO A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA:

Dr. Luis Aguirre Mg. Sc.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. José Gaona. Mg. Sc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Médica. Diana Romero Mg.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

CERTIFICACIÓN

Dr. Segundo Barragán Fierro. Mg. Sc.

DOCENTE DE LA CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNL Y DIRECTOR DE TESIS.

CERTIFICA:

Que una vez revisado el trabajo de investigación denominado **“DIAGNÓSTICO DE MASTITIS SUBCLÍNICA POR EL MÉTODO CALIFORNIA MASTITIS TEST, AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y SENSIBILIDAD DEL GERMEN EN LAS GANADERÍAS DE LA PARROQUIA CHANTACO DEL CANTÓN LOJA”**, realizado por el Sr. **Egresado Marcos Emanuel Caraguay Guailas**, previo a la obtención del título de MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA, ha sido dirigida y prolijamente revisada desde el inicio de su ejecución; por lo tanto se autoriza su presentación final para la evaluación correspondiente

Loja, marzo del 2012

Dr. Segundo Barragán Fierro. Mg. Sc

DIRECTOR DE TESIS

AUTORÍA

Los resultados, conceptos vertidos y conclusiones del presente trabajo, son de absoluta responsabilidad de su autor.

Marcos Emanuel Caraguay G.

AGRADECIMIENTO

A través del presente, me permito exteriorizar mi profundo agradecimiento a la Universidad Nacional de Loja, forjadora de intelectuales, a la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia que me abrió sus puertas; a todos quienes de una u otra manera me ayudaron en el desarrollo de la tesis. De manera especial al Dr. Segundo Barragán Fierro Director y al Dr. Dubal Jumbo Jimbo asesor, quienes en forma constante, supieron manifestar sus criterios y conocimientos científicos que permitieron concluir con éxito el presente trabajo.

A los señores (as) propietarios de las Fincas ganaderas de la parroquia Chantaco que supieron colaborar con sus animales para el estudio de campo de la Mastitis Subclínica.

A todos, mi eterna gratitud.

EL AUTOR

DEDICATORIA

Quedan cortas estas palabras para expresar el amor, cariño y gratitud a mis padres **Luis Alfredo Caraguay Pucha y Ercilia Etelvina Guailas Ramón**, que con sus sabios consejos, sacrificio y abnegación, me apoyaron durante mi trayectoria estudiantil, me brindaron su cariño, confianza y me guiaron por el camino correcto para poder culminar con éxito mis estudios.

A mi hija **Kelly Sofía**, a mis hermanos **Byron, Janeth, Maribel, Patricio, Elizabeth y Nancy**, y a mis sobrinos quienes son mi ejemplo a seguir. Expreso mi agradecimiento por el apoyo incondicional que me han dado durante todo el tiempo para culminar con una etapa de mi vida profesional.

Al resto de mi familia que son muchos para nombrarlos pero no para olvidarlos.

Marcos Emanuel

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Contenidos	Pág.
PORTADA.....	I
APROBACIÓN.....	II
CERTIFICACIÓN.....	III
AUTORIA.....	IV
AGRADECIMIENTO.....	V
DEDICATORIA.....	VI
ÍNDICE GENERAL.....	VII
ÍNDICE DE CUADROS.....	XII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XIV
ÍNDICE DE FOTOS.....	XV
RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	2
I. INTRODUCCIÓN.....	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1. Producción de Leche.....	5
2.2. Manejo del ordeño.....	6
2.2.1. Observaciones previas al ordeño.....	6

2.2.2.	Presellado con desinfectante.....	7
2.2.3.	Colocación de las unidades.....	7
2.2.4.	Sellado después del ordeño.....	7
2.2.5.	Condiciones higiénico sanitario del ordeño.....	8
2.2.6.	Instalaciones.....	9
2.2.7.	Ubicación de la sala de ordeño.....	9
2.2.8.	Determinación del tamaño de la instalación del ordeño.....	10
2.3.	La Mastitis.....	11
2.3.1.	Definición.....	11
2.3.2.	Etiología.....	12
2.3.2.1.	Mastitis por Staphylococcus.....	12
2.3.2.2.	Mastitis por Streptococcus.....	13
2.3.2.3.	Mastitis Coliforme.....	13
2.3.2.4.	Mastitis por Actinomyces pyogenes.....	14
2.3.3.	Factores predisponentes.....	14
2.3.4.	Transmisión.....	15
2.3.5.	Desarrollo de la enfermedad.....	15
2.3.5.1.	Invasión del pezón.....	16
2.3.5.1.1.	Establecimiento de la infección e inflamación del área dañada.....	16
2.3.5.2.	Destrucción del tejido alveolar.....	17
2.3.6.	Tipos de mastitis.....	18

2.3.6.1.	Mastitis clínica.....	18
2.3.6.2.	Mastitis aguda.....	19
2.3.6.3.	Mastitis subaguda.....	19
2.3.6.4.	Mastitis crónica.....	19
2.3.6.5.	Mastitis subclínica.....	20
2.4.	Diagnóstico.....	21
2.4.1.	Diagnóstico clínico.....	21
2.4.2.	Diagnóstico subclínico.....	22
2.4.2.1.	Prueba de california mastitis test	22
2.5.	Tratamiento.....	23
2.5.1.	Tratamiento mastitis clínica.....	23
2.5.2.	Tratamiento de la mastitis subclínica.....	24
2.6.	Medios de Cultivo y de Diferenciación Bioquímicas.....	26
2.6.1.	Agar sangre.....	26
2.6.2.	Agar Salt Mannitol.....	27
2.6.3.	Agar Mac Conkey.....	28
2.6.4.	Agar TSI.....	29
2.6.5.	Medio SIM.....	30
2.7.	Procedimiento de la coloración Gram.....	31
2.8.	Antibiogramas.....	32
2.8.1.	Los antibióticos.....	32
2.8.2.	El antibiograma.....	33

2.8.3. Sensibilidad bacteriana a los antibióticos.....	34
2.8.4. Interpretación de un antibiograma.....	35
2.8.5. Resistencia bacteriana.....	36
2.8.5.1. La resistencia natural.....	37
2.8.5.2. La resistencia adquirida.....	37
2.8.5.3. Una resistencia cruzada.....	38
2.8.5.4. Una resistencia asociada.....	38
2.8.6. Método de difusión en agar.....	38
2.9. Trabajos relacionados en la provincia de Loja.....	41
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
3.1. Ubicación.....	43
3.1.1. selección y tamaño de la muestra.....	43
3.2. Materiales.....	44
3.2.1. De campo.....	44
3.2.2. De oficina.....	45
3.2.3. De laboratorio.....	46
3.3. Diagnóstico de Mastitis Subclínica.....	47
3.3.1. Prueba California Mastitis Test.....	47
3.4. Análisis de Laboratorio.....	48
3.4.1. Cultivo.....	48
3.4.2. Bacteroscopia.....	49
3.4.3. Pruebas Bioquímicas.....	50

3.5. Pruebas de Sensibilidad.....	51
3.6. Procesamiento de la información.....	54
3.7.1. Tabulación.....	54
3.7.2. Análisis.....	54
3.7. Formulación y Difusión de un plan de Bioseguridad.....	55
IV. RESULTADOS.....	57
4.1. Manejo del ordeño.....	57
4.2. Prevalencia de Mastitis Subclínica.....	58
4.2.1. De acuerdo a la raza.....	59
4.2.2. De acuerdo a la edad.....	61
4.2.3. De acuerdo al número de partos.....	62
4.3. Cuartos Afectados.....	64
4.4. Grado de Presentación.....	65
4.5. Aislamiento e identificación de los agentes etiológicos.....	67
4.6. Sensibilidad antibiótica.....	68
4.7. Pérdidas Económicas.....	70
V. DISCUSIÓN.....	72
VI. CONCLUSIONES.....	76
VII. RECOMENDACIONES.....	78
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	79
IX. ANEXOS.....	84

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadros	Pág
Cuadro 1: Componentes de la leche y su disminución por efectos de la mastitis.....	21
Cuadro 2: Fórmula del agar sangre.....	26
Cuadro 3: Fórmula del agar Salt Mannitol.....	27
Cuadro 4: Fórmula de agar Mac conkey.....	28
Cuadro 5: Fórmula del agar TSI (Triple Azúcar Hierro).....	29
Cuadro 6: Fórmula del medio SIM (Sulfuro Indol Movilidad).....	30
Cuadro 7: Vacas seleccionadas para la investigación, por barrios de la Parroquia Chantaco del Cantón Loja.....	44
Cuadro 8: Medidas higiénico–sanitarias que se realizan previo al ordeño en las ganaderías de la parroquia Chantaco, cantón Loja.....	57
Cuadro 9: Prevalencia de Mastitis subclínica en las ganaderías de la parroquia Chantaco del cantón Loja.....	60
Cuadro 10: Prevalencia de mastitis subclínica de acuerdo a la raza en la parroquia Chantaco del cantón Loja.....	60
Cuadro 11: Prevalencia de acuerdo a la edad.....	61
Cuadro 12: Prevalencia de acuerdo al Número de partos.....	62
Cuadro 13: Prevalencia de mastitis subclínica por cuarto afectado (%).....	64

Cuadro 14: Grado de presentación de la mastitis subclínica.....	65
Cuadro 15: Aislamiento e identificación de los agentes etiológicos de la mastitis subclínica.....	67
Cuadro 16 - 17: Sensibilidad del germen a los antibióticos por fincas de la parroquia Chantaco.....	68
Cuadro 18: Pérdidas Económicas causadas por la incidencia de Mastitis.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras	Pág
Figura 1: Ciclo evolutivo de la mastitis.....	15
Figura 2: Medidas higiénico-sanitarias del ordeño en las ganaderías de la parroquia Chantaco.....	58
Figura 3: Porcentajes de mastitis subclínica en los diferentes barrios de Chantaco.....	59
Figura 4: Porcentajes Prevalencia de Mastitis Subclínica de acuerdo a la raza...60	
Figura 5: Porcentajes de animales positivos a mastitis subclínica de acuerdo a la edad.....	62
Figura 6: Porcentajes de animales positivos a mastitis subclínica de acuerdo al número de partos.....	63
Figura 7: Prevalencia de mastitis subclínica en las ganaderías de la parroquia Chantaco del cantón Loja.....	65
Figura 8: Grado de presentación de la mastitis subclínica en las ganaderías de la parroquia Chantaco.....	66
Figura 9: Porcentajes de gérmenes aislados e identificados en las ganaderías de la parroquia Chantaco del Cantón Loja.....	68
Figura 10: Porcentajes totales de sensibilidad a los antibióticos.....	69
Figura 11. Porcentajes totales de sensibilidad a los antibióticos.....	70

INDICE DE FOTOS

FOTOS	Toma de muestras y prueba del CMT.....	89
FOTOS	Preparación de medios.....	90
FOTOS	Siembra de muestras.....	91
FOTOS	Coloración de placas e identificación del germen.....	92
FOTOS	Antibiogramas.....	94
FOTOS	Exposición de resultados en la parroquia Chantaco.....	95

RESUMEN

El presente trabajo se llevó a cabo en la parroquia Chantaco del Cantón Loja, con la finalidad diagnosticar la presencia de mastitis subclínica por el método de CMT (California Mastitis Test), aislamiento e identificación de las bacterias y pruebas de sensibilidad.

Se realizó el estudio en 91 fincas ganaderas con una población de 192 vacas en producción. Las variables en estudio fueron: Raza, Edad, Nº de partos y aislamiento del germen.

La incidencia de la mastitis subclínica en la parroquia Chantaco es del 44,3 % siendo más susceptible la raza Holstein con el 100 %, y más resistente la criolla con 41,50 %. La edad más susceptible a mastitis subclínica son los mayores de 4 años con el 67 %.

De acuerdo al número de partos los animales con más de tres partos son más susceptibles con un porcentaje del 78 %. Entre las bacterias causantes de la mastitis subclínica están los estafilococos con el 12 %, estreptococos 8 % y mixtos el 80 %.

SUMMARY

This work was carried out in the parish Chantaco of Loja, in order to diagnose the presence of subclinical mastitis by the method of CMT (California Mastitis Test), isolation and identification of bacteria and sensitivity testing.

Was studied in 91 cattle farms with a population of 192 dairy cows. The variables studied were: race, age, number of births and isolation of the germ.

The incidence of subclinical mastitis in the parish Chantaco is 44.3 % more likely to be the Holstein breed with 100 % more resistant and the Creole 41.50 %. The age most susceptible to subclinical mastitis are over 4 years to 67 %.

According to parity animals with more than three babies are more susceptible to a percentage of 78 %. Among the bacteria causing subclinical mastitis are staphylococci with 12 %, streptococci 8 % and 80% mixed.

1. INTRODUCCIÓN

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria causada por bacterias que han penetrado a través de fisuras y del conducto del pezón; constituye un grave problema tanto para la salud pública como para la economía de los ganaderos.

El problema no es comprendido en toda su magnitud; ya que muchos ganaderos consideran los gastos de tratamiento de los casos clínicos y la leche descartada como normales, sin considerar que las pérdidas más significativas se producen en la forma subclínica de la enfermedad.

Desde el punto de vista económico, la mastitis es la enfermedad más importante de los hatos lecheros, las pérdidas ocasionadas por esta enfermedad puede agruparse en: disminución de la producción, tiempo de retiro, medicamentos, honorarios veterinarios, pérdida del potencial genético, descarte de vacas por cuartos perdidos.

La presente investigación se orientó a realizar el estudio de la incidencia de la mastitis subclínica a través de la prueba de California Mastitis Test "CMT" en las ganaderías de la parroquia Chantaco del cantón Loja

Además permitió determinar los niveles de incidencia de la mastitis subclínica en la parroquia antes mencionada y ayudó a definir un plan de bioseguridad orientado a solucionar problemas con medidas preventivas aceptables, que además de económicas, prácticas y factibles deben ser efectivas en la reducción de los agentes causales de esta enfermedad.

Por otra parte es necesario hacer conocer que no se han realizado estudios acerca de esta enfermedad en la parroquia, por lo que no se disponía de información actualizada.

Los objetivos que se plantearon en la presente investigación fueron:

- Determinar la presencia de mastitis subclínica mediante la prueba de california mastitis test.
- Realizar el diagnóstico clínico y de laboratorio de mastitis en las ganaderías de la parroquia antes mencionada del cantón Loja, mediante los síntomas característicos de la enfermedad.
- Establecer un plan de bioseguridad para contribuir al control y prevención de mastitis en estas ganaderías, el cual será difundida a la comunidad a través de un día de campo.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. PRODUCCIÓN DE LECHE

Tradicionalmente la producción lechera se ha concentrado en la región interandina, donde se ubican los mayores hatos lecheros. Esto se confirma según los últimos datos del Censo Agropecuario del año 2000, donde el 73 % de la producción nacional de leche se la realiza en la Sierra, aproximadamente un 19 % en la Costa y un 8 % en el Oriente y Región Insular. El uso y destino de la producción lechera en el país tiene un comportamiento regular. Según estimaciones del Ministerio de Agricultura y Ganadería, entre un 25 % y un 32 % de la producción bruta se destina a consumo de terneros (autoconsumo) y mermas 2 % (Mag, 2000).

La leche fluida disponible se destina en un 25 % para elaboración industrial (19 % leche pasteurizada y 6 % para elaborados lácteos), 75 % entre consumo y utilización de leche cruda (39 % en consumo humano directo y 35 % para industrias caseras de quesos frescos), y aproximadamente un 1 % se comercia con Colombia en la frontera (Mag, 2000).

2.2. MANEJO DEL ORDEÑO

El ordeño se debe realizar de manera racional y con conocimiento de causa para evitar aquellas desagradables consecuencias que afectan tanto a la ubre (mastitis) como a las características de la leche producida en los hatos lecheros (Cappa, 1988).

Los principios básicos para el ordeño pueden resumirse en lo siguiente:

2.2.1. Observaciones Previas al Ordeño

Identifique a la vaca que va a ordeñar y revísela por cualquier signo visual de mastitis, como aquellos cuartos hinchados o enrojecidos. Asegúrese que los pezones estén limpios. Primero que todo, use guantes limpios para el ordeño. Apriete la parte baja de cada teta para sacar dos o tres chorros de leche. Dirija la leche a una copa especial para el despunte, en lugar de hacia el piso. Observe la leche a ver si tiene anormalidades. Esto le permite encontrar vacas con problemas especiales de mastitis. Las vacas reciben estimulación al tener sus dedos apretando sus pezones, y esto mejora la bajada de la leche cuando las máquinas de ordeño se colocan (Koeslag, 1985).

2.2.2. Presellado con Desinfectante

El pre-sellado elimina las bacterias de la piel de los pezones. Sumerja cada teta completamente y permita que el desinfectante trabaje por 30 segundos. Esto es importante por un par de razones: La solución desinfectante ayuda a disolver y a matar la bacteria, haciendo que se quite más fácilmente. Pero usted necesita completar el procedimiento de desinfectar las tetas, con el uso de una toalla limpia. Usted quiere que las tetas estén secas y limpias antes de poner la máquina de ordeño (Koeslag, 1985).

2.2.3. Colocación de las Unidades

El tiempo de colocación deber estar comprendido entre 60 - 90 segundos después de la primera manipulación de los pezones. Coloque la unidad rápidamente y minimice la entrada de aire en las copas. Ajuste la unidad para evitar deslizamientos; especialmente al final del ordeño (Koeslag, 1985).

2.2.4. Sellado después del Ordeño

Selle los pezones una vez retirada la unidad de ordeño usando una solución selladora. Cubra completamente el pezón y utilice recipientes limpios y selladores nuevos para cada turno de ordeño. El seguimiento del procedimiento

y rutina del ordeño establecidos de una forma consistente ayuda a asegurar leche más limpia y producción de leche máxima. De esa forma, si cualquier empleado se desvía del procedimiento del ordeño establecido, el encargado puede hablar con la persona y proveer entrenamiento (Koeslag, 1985).

2.2.5. Condiciones Higiénico Sanitario del Ordeño.

La leche es uno de los alimentos de más trascendencia durante el desarrollo del ser humano, debido a sus excelentes propiedades nutricionales, aportando una amplia gama y gran cantidad de nutrientes esenciales (proteínas de alto valor biológico, vitaminas, minerales); así desde el recién nacido hasta la vida adulta es un alimento único e indispensable (Koeslag, 1985).

Los animales sometidos a la aplicación de medicamentos que se eliminan por la leche deben ser separados y/o ser los últimos ordeñados, hasta cumplir el período de retiro especificado para el medicamento o que cumpla con la legislación establecida. (Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (Cappa, 1988).

2.2.6. Instalaciones

Si bien el ordeño mecánico se creó con el objetivo de proporcionar comodidad a quienes debían llevar a cabo la tarea y al mismo tiempo aumentar la velocidad del trabajo, la técnica permitió además obtener más leche y mejorar las condiciones de higiene (García, 1979).

Las industrias fabricantes de equipos desarrollaron sistemas cada vez más perfectos y de alta sofisticación. La interrogante es si los productores y estableros se encuentran preparados para utilizar correctamente los equipos que están instalando en la actualidad, si conocen la importancia de su buen funcionamiento, y por lo mismo la imperiosa necesidad de las revisiones periódicas de las máquinas de ordeñar (García, 1979).

2.2.7. Ubicación de la Sala de Ordeño

El primer concepto que determina la ubicación, es el de minimizar las distancias a recorrer por las vacas.

Hay una serie de otros elementos que se deben analizar:

- ✓ Acceso para sacar la leche
- ✓ Cercanía a la energía eléctrica

- ✓ Cercanía a viviendas existentes
- ✓ Facilidad para evacuar los afluentes del establo
- ✓ Que el lugar elegido sea topográficamente elevado para disminuir la necesidad de relleno (García, 1979).

2.2.8. Determinación del Tamaño de la Instalación del Ordeño.

Cuando se plantea una empresa lechera es deseable prever que la tecnología puede avanzar y existe la posibilidad de tener más vacas de las que se calculan al momento de diseñar la construcción del establo. Por lo tanto, es conveniente proyectar la instalación de la sala de ordeña dentro de ciertos límites, o dejar previsto como modificarla en el caso de que se necesite aumentar su capacidad de ordeño (García, 1979).

Para determinar el número de vacas que se podrían ordeñar en el caso de crecimiento del establo, se le debe adicionar un 20% más del proyectado en el momento de la toma de decisión, como margen de seguridad (García, 1979).

2.3. LA MASTITIS

2.3.1. Definición

El término mastitis se refiere a la inflamación de la glándula mamaria sea cual sea su causa. Se caracteriza por las alteraciones físicas, químicas y casi siempre bacteriológicas de la leche, también por modificaciones patológicas del tejido glandular (Blood et al, 1988).

La inflamación de la glándula se debe casi siempre a los efectos de infección por agentes bacterianos o micóticos, aunque son de importancia económica en la vaca lechera (Merck, 2000).

Esta inflamación se desarrolla debido a la presencia de leucocitos. Los leucocitos son creados por el sistema inmune de la vaca y transportados hacia la ubre debido a la presencia de bacterias en el canal del pezón. Una vez infiltradas en el canal del pezón, las bacterias se multiplican en número y producen toxinas (substancias tóxicas) que causan la destrucción del tejido mamario cuya función es de producir leche. La elevación en el número de leucocitos, comúnmente llamado "recuento de células somáticas", llegan a causar una reducción en la producción de leche y también alteran la composición "normal" de dicha leche.

En conjunto, estos cambios afectan negativamente la calidad y cantidad de los productos lácteos (Loor et al, 2000).

La mastitis no puede estar acompañada de síntomas obvios. La mastitis subclínica comúnmente reduce la producción de leche en un 10% aproximadamente (West, 1994).

Clásicamente se la ha definido como una “enfermedad polifactorial”, porque el riesgo de infección depende de la habilidad de la vaca para rechazarla, del tipo, número y patogenicidad de las bacterias presentes en un establo y, fundamentalmente, de las condiciones de medio ambiente y del manejo en general del ordeño (Corbellini, 2003).

2.3.2. Etiología.

Los agentes causales de la mastitis bovina en orden decreciente de frecuencia son: *Staphylococcus aureus*, *S. agalactiae*, *S. uberis*, *S. disgalactiae*, *E. colí*, *Corynebacterium pyogenes* y *Pseudomonas eruginos* (León, 1983).

2.3.2.1. Mastitis por *Staphylococcus*

El *Staphylococcus aureus* vive dentro o fuera de la ubre, en la piel del pezón y puede causar tanto mastitis clínica como subclínica. Generalmente se disemina de la misma forma que el *Streptococcus agalactiae* (Wattiaux, 1999).

2.3.2.2. Mastitis por Streptococcus

Streptococcus agalactiae necesita de la glándula mamaria para su persistencia en la naturaleza. Todos los otros estreptococos son saprofitos o potencialmente patógenos, entran en la glándula mamaria por casualidad y no dependen de ella para su supervivencia. Por lo tanto la mastitis por *S. agalactiae* es una enfermedad infecciosa específica que puede erradicarse en los hatos lecheros. El microorganismo entra en la glándula a través de la glandula de la tetilla y reside en la leche y en las superficies de los canales lácteos (Wattiaux, 1999).

Los mecanismos de defensa de la vaca pueden eliminar las bacterias de la ubre, pero las toxinas permanecen y la vaca puede llegar a morir. Las vacas libres de otras bacterias causantes de mastitis (*Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus aureus*) parecen ser más susceptibles a las bacterias coliformes (Wattiaux, 1999).

2.3.2.3. Mastitis Coliforme

Los coliformes más frecuentes son: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* y *Klebsiella spp.* Las bacterias coliformes se multiplican en los cuartos de la ubre con bajo recuento celular. La reacción inflamatoria siguiente destruye la población coliforme, liberando endotoxinas. La toxemia resultante causa signos locales y sistémicos de mastitis aguda y puede ocurrir la muerte. La secreción láctea cesa y se observan signos prominentes de anorexia, depresión, deshidratación y pérdida rápida de peso. La secreción del cuarto o cuartos afectados generalmente es pardusca y acuosa (West, 1994).

2.3.2.4. Mastitis por *Actinomyces Pyogenes*

La mastitis debida a *A. pyogenes* es frecuente en las vacas secas y en las novillas que pastorean durante los meses de verano en campos de pastura y que tienen acceso a los estanques o zonas húmedas, el vector para la difusión de animal a animal es la mosca *Hidrotæa irritans* (Merck, 2000).

2.3.3. Factores Predisponentes

Entre los distintos factores predisponentes que contribuyen a su desarrollo, podemos considerar:

- a. Vaciamiento incompleto de las mamas
- b. Retención de leche

- c. Aumento del intervalo entre las mamadas
- d. Agotamiento de la madre
- e. Falta de higiene en el ordeño (Alburg, 2003).

2.3.4. Transmisión

La ubre de las vacas enfermas, es el principal punto de origen de la infección. Su propagación se efectúa de un animal a otro a través de las máquinas ordeñadoras, utensilios de ordeño, moscas y manos de los operarios, cuando las condiciones de higiene y sistemas de ordeño no son las más adecuadas (Life, 2000).

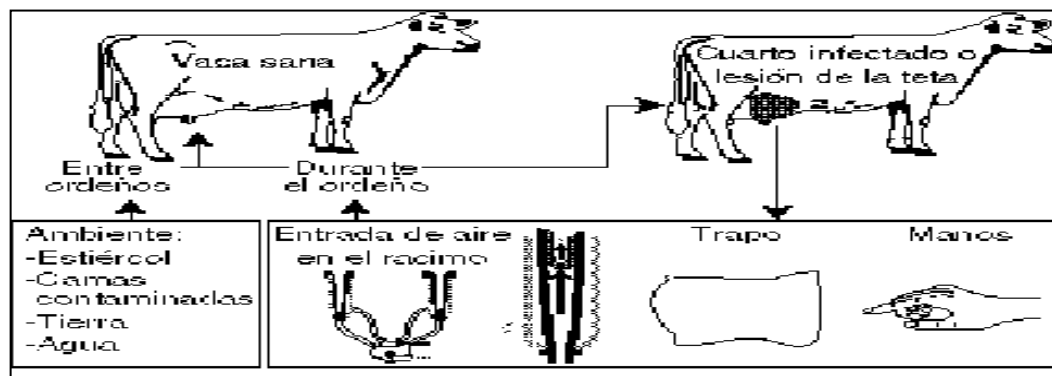


Figura 1. Ciclo evolutivo de la mastitis

Fuente: Wattiaux, 1999.

2.3.5. Desarrollo de la Enfermedad

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

2.3.5.1. Invasión del pezón

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 (Wattiaux, 1999).

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 (Wattiaux, 1999).

2.3.5.2. Establecimiento de la Infección e Inflamación del Área Dañada

Algunas bacterias pueden avanzar dentro de la ubre atacando y colonizando nuevos tejidos; otras pueden moverse por medio de la corriente de leche producida por el movimiento de la vaca. Las bacterias dañan primero los tejidos que recubren los grandes tubos colectores de leche y pueden enfrentarse con leucocitos (células blancas en la leche) presentes naturalmente en bajas cantidades. 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 (Wattiaux, 1999).

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 (Wattiaux, 1999).

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 (Wattiaux, 1999).

2.3.5.3. Destrucción del Tejido Alveolar

Algunas veces los microorganismos son eliminados rápidamente y la infección se aclara. En este caso, los conductos tapados se abren, la composición y producción de leche retorna a la normal en varios días. 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 (Wattiaux, 1999).

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 (Wattiaux, 1999).

2.3.6. Tipos de Mastitis

2.3.6.1. Mastitis Clínica

Durante el período seco el animal es extremadamente susceptible a contraer una infección ambiental causada por *Streptococcus*, especialmente durante las primeras dos semanas y los últimos 7 a 10 días antes de parir o durante los primeros 7 a 10 días de lactancia. La incidencia de infecciones al parir es el doble de las que ocurren cuando la vaca deja la lactación (Loor et al, 2003).

La mastitis clínica puede ser subaguda, aguda o crónica.

a. Mastitis Aguda

Los temblores pueden acompañar al ataque. Más tarde hay un aumento en la temperatura, pulso lleno y rápido, cortas y rápidas respiraciones y un aspecto inquieto. El animal golpea con las pezuñas, y normalmente tiene miedo de tumbarse debido al dolor ocasionado a la ubre. Rechaza la comida y no rumia. Cuando se examina la ubre, se encuentra que un cuarto este hinchado, tenso enrojecido y es muy doloroso al tacto en poco tiempo la coloración puede cambiar a un purpura profundo o azulado y la hinchazón aumenta (West, 1994).

b. Mastitis Subaguda.

Tiene curso similar al de forma aguda, pero los síntomas aparecen más lentamente, gran dificultad en el ordeño, conteniendo la primera leche extraída pequeños coágulos y gran número de células epiteliales de revestimiento; y más Tarde aparece un dolor gradualmente en aumento de hinchazón en el cuarto afectado (West, 1994).

c. Mastitis Crónica.

Muestra escasa perturbación, casi ausencias de dolor lento aumento progresivo en la densidad de la glándula, disminución o cuartos afectados (West, 1994).

2.3.6.2. Mastitis Subclínica

Esta se caracteriza por el aumento de células somáticas y cambios físico-químicos que no son visibles; solamente se descubre mediante pruebas como la prueba de California Mastitis Test y los contadores celulares electrónicas. Las mastitis Subclínica pueden convertirse en mastitis clínicas (agudas o crónicas), en ello estriba su importancia junto al peligro que representa para la vaca y la pérdida de la producción lechera (Kleinschroth, 1991).

Este tipo de mastitis no presenta signos; se manifiesta con el descenso continuo del contenido de la leche de los cuartos afectados y la presencia de microorganismos causales, en la ubre debido a que no se presentan cambios físicos; en la leche generalmente pasa desapercibido en ese tipo de mastitis. Los gérmenes habituales son los estafilococos y estreptococos. Los cambios en la secreción varían desde el producto blanco, en forma de motas, en otro un producto muy acuoso o seroso con coágulos amarillos grandes a un producto acuoso y parduzco con motas arenosas finas que darían paso a una mastitis crónica (Merck, 2000).

La mastitis subclínica produce disminuciones y aumentos en todos aquellos elementos que son necesarios y los que no lo son para elaboración del queso; que perjudican la calidad de este. La acción de fermentación de los estreptococos sobre la lactosa acidifica los quesos, finalmente la mastitis clínica y

subclínica altera el olor y sabor de la leche, lo cual se transmite a los quesos y derivados (Torres, 1984).

Los componentes que sufren disminución son:

Cuadro 1. Componentes de la leche y su disminución por efectos de la mastitis.

COMPONENTE	DISMINUCIÓN	AUMENTOS
Lactosa	5 a 20 %	
Proteínas totales	5 a 20 %	
Caseína	6 a 18 %	
Sólidos totales	3 a 12 %	
Grasas	5 a 12 %	
Cloruros		Sobre el 0. 14 %
Lipasas		Producen rancidez

Fuente: Torres, 1984.

2.4. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de mastitis podemos enfocarlo en: diagnóstico clínico, diagnóstico subclínico y diagnóstico de laboratorio.

2.4.1. Diagnóstico Clínico.

Básicamente se realiza en base a los métodos tradicionales de inspección para comprobar cambios de coloración de la piel, aumento de volumen de la glándula, presencia de soluciones de continuidad, etc. Y palpación para comprobar temperatura, sensibilidad, textura, fibrosis, nódulos, abscesos, etc. Luego, se examina la secreción láctea, microscópicamente, para lo cual se utilizará un vaso

de fondo negro, especialmente para apreciar la formación de grumos o flóculos (Gómez, 1999).

2.4.2. Diagnóstico Subclínico

Como su nombre lo indica, la metodología es utilizada para el diagnóstico de la mastitis subclínica. Se han utilizado numerosos métodos, siendo los más utilizados aquellos que miden la concentración de células somáticas en la leche (Life, 2000). De éstos, los más conocidos y utilizados son:

2.4.2.1. Prueba de California Mastitis Test

Existe comercialmente un equipo de CMT que comprende una cuchara de plástico y todos los reactivos necesarios. Esta prueba identifica la presencia de ácido desoxiribonucleico de las células somáticas de la leche, pudiendo este contenido celular ser afectado por factores patológicos como la mastitis o fisiológicos y ambientales, como el periodo de lactación, momento de colección de la muestra, entre otros (Life, 2000).

La prueba de CMT se basa en que el principio activo del producto, por sus características detergentes, precipita la sustancia proteica presente en la leche, originada en la desintegración de los leucocitos que acuden a la ubre en el proceso de defensa frente a la infección. A mayor cantidad de leucocitos, por la mayor cantidad de bacterias, más denso es el precipitado lo que nos indica un

mayor grado de infección de la glándula mamaria. El colorante incluido en su fórmula hace más visible la reacción (Gómez, 1999).

2.5. TRATAMIENTO

2.5.1. Tratamiento Mastitis Clínica

Los antibióticos que se han estado empleando en el tratamiento de la inflamación de la glándula mamaria, muchos de los cuales se usan en forma indiscriminada, dosis inadecuada o por tiempo muy corto, ineffectividad contra algunas cepas microbianas, etc., lo que ha contribuido en gran forma a la aparición de cepas microbianas resistentes, como ocurre en forma especial con *Staphylococcus aureus* (Wattiaux, 1999). Entre los antibióticos más utilizados en mastitis están:

Las penicilinas que pueden agruparse en aquellas que tienen efecto contra ciertos organismos Gram positivos: penicilina G procaínica Y benzatina. Las penicilinas continúan siendo muy eficaces contra las mastitis estreptocócicas: aquellas penicilinas que son inactivadas por beta lactamasa, se ha demostrado que tienen una débil eficacia en el tratamiento de las mastitis estreptocócicas. Con la aparición de cepas estafilocócicas resistentes, se han ido descubriendo varias penicilinas que tratan eficazmente a este tipo de cepas, como metacilina, óxacilina, cloxacilina, dicloxacilina y nafcilina. Otros agentes antimicrobianos

efectivos contra estafilococos son: cefalosporina, lincomicina, eritromicina, y kanamicina (Wattiaux, 1999).

En mastitis producidas por coliformes y otros Gram. negativos, se han utilizado con buen efecto: ampicilina, hetacilina, amoxilina, carberícilina, prolimixina B, novobiocina, kanamicina, óxitetraciclina, neomicina, gentamicina, colistina, dihidroestreptomina, ácido nalidíxico, furaltadona y cloramfenicol. Sin embargo, muchas de estas drogas también facilitan el desarrollo de resistencia múltiple vía extracromosomal o factor de transferencia R⁺ (Wattiaux, 1999).

2.5.2. Tratamiento de la Mastitis Subclínica

Altos conteos de células somáticas en la leche indican mastitis subclínicas, pero esto no debe de ser utilizado como criterio para tratar vacas con antibióticos debido a que, el grado de curación es generalmente bajo. Los casos de mastitis subclínica son mejor tratados al momento del secado (Wattiaux, 1999).

Durante la lactancia el tratamiento se hará sólo en casos excepcionales, por ejemplo, en el saneamiento de un foco infeccioso o en vacas jóvenes y valiosas o bien en el rechazo de la leche por exceso celular. Si se conoce el germen causal y existe un antibiograma, el tratamiento podrá realizarse de forma específica (Barragán, 1998).

2.6. MEDIOS DE CULTIVO Y DE DIFERENCIACIÓN BIOQUÍMICAS

2.6.1. Agar Sangre

Medio para propósitos generales, para el aislamiento y cultivo de numerosos microorganismos. Con la adición de sangre, el medio es útil tanto para el

aislamiento y cultivo de microorganismos aerobios y anaerobios nutricionalmente exigentes a partir de una gran variedad de muestras, como para la observación de reacciones de hemólisis (Merck, 2000).

Cuadro 2. Formula del agar sangre

FÓRMULA EN GRAMOS POR LITRO	
Infusión de músculo de corazón	375.0
Peptona	10.0
Cloruro de sodio	5.0
Agar	15.0
pH final: 7.3 ± 0.2	

Fuente: Merck, 2000

Suspender 40 g del polvo en un litro de agua destilada. Dejar reposar 5 minutos y mezclar perfectamente hasta obtener una suspensión homogénea. Calentar con agitación frecuente y hervir 1 minuto. Esterilizar 15 a 121°C. a 15 libras de presión por 15 minutos. Enfriar a 37°C agregar sangre de cordero, homogeneizar y distribuir en placas. Sembrar por inoculación directa del material en estudio, sobre la superficie del medio de cultivo (Merck, 2000).

2.6.2. Agar Salt Mannitol.

Medio de cultivo selectivo y diferencial, utilizado para el aislamiento y diferenciación de estafilococos. Recomendado para el aislamiento de estafilococos patogénicos a partir de muestras clínicas, alimentos y otros materiales de importancia sanitaria (Merck, 2000).

Cuadro 3. Formula del agar Salt Mannitol

Fórmula (en gramos por litro)	
Extracto de carne	1.0
Pluripeptona	10.0
d-Manitol	10.0
Cloruro de sodio	75.0
Agar	15.0
Rojo de fenol	0.025
pH final: 7.4 ± 0.2	

Fuente: Merck, 2000

Suspender 111 g de polvo por litro de agua destilada. Reposar 5 minutos y mezclar calentando a ebullición durante 1 o 2 minutos. Distribuir y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos a 15 libras de presión. Con un haza de platino esterilizada se recogió parte de la muestra y Sembrar en superficie del agar. Incubar 18-24 horas a 35-37 °C, en aerobiosis (Merck, 2000).

La American Public Health Association (A.P.H.A) recomienda la incubación durante 3 días a 32 °C, en aerobiosis.

2.6.3. Agar Mac conkey

Este medio se utiliza para el aislamiento de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos. Permite diferenciar bacterias que utilizan o no, lactosa en muestras clínicas, de agua y alimentos. Todas las especies de la familia Enterobacteriaceae desarrollan en el mismo (HIMedia laboratorios Put. Ltd) (Merck, 2000).

Cuadro 4. Formula de agar Mac conkey

Fórmula (en gramos por litro)

Peptona	17.0
Pluripeptona	3.0
Lactosa	10.0
Mezcla de sales biliares	1.5
Cloruro de sodio	5.0
Agar	13.5
Rojo neutro	0.03
Cristal violeta	0.001
pH final: 7.1 ± 0.2	

Fuente: Merck, 2000

Suspender 50 g del polvo por litro de agua destilada. Reposar 5 minutos y mezclar hasta uniformar. Calentar suavemente y hervir 1 a 2 minutos hasta disolver. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos a 15 libras de presión. Sembrar en superficie, utilizando la técnica de Pour Plate: sembrar 1 ml de muestra y agregar aproximadamente 15 ml de medio de cultivo fundido y enfriado a 38 °C. Incubar 18-48 horas, a 37 °C, en atmósfera aeróbica (Merck, 2000).

2.6.4. Agar TSI

Medio universalmente empleado para la diferenciación de enterobacterias, en base a la fermentación de glucosa, lactosa, sacarosa y a la producción de ácido sulfhídrico. En el medio de cultivo, el extracto de carne y la pluripeptona, aportan los nutrientes adecuados para el desarrollo bacteriano. La lactosa, sacarosa y glucosa son los hidratos de carbono fermentables. El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el sulfato de hierro y amonio, es la fuente de iones Fe^{3+} , los cuales se combinan con el

ácido sulfhídrico y producen sulfuro de hierro, de color negro. El rojo de fenol es el indicador de pH, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico (HIMedia laboratorios Put. Ltd) (Merck, 2000).

Cuadro 5. Formula del agar TSI (Triple Azúcar Hierro)

Fórmula (en gramos por litro)	
Extracto de carne	3.0
Pluripeptona	20.0
Cloruro de sodio	5.0
Lactosa	10.0
Sacarosa	10.0
Glucosa	1.0
Sulfato de hierro y amonio	0.2
Tiosulfato de sodio	0.2
Rojo de fenol	0.025
Agar	13.0
pH final: 7.3 ± 0.2	

Fuente: Merck, 2000

Suspender 62,5 g del polvo por litro de agua destilada. Mezclar bien y calentar con agitación frecuente, hervir 1 o 2 minutos hasta disolución total. Llenar hasta la tercera parte de los tubos de ensayo. Esterilizar a 121°C por 15 minutos. Enfriar en pico de flauta profundo. A partir de un cultivo puro, sembrar en TSI, picando el fondo y extendiendo sobre la superficie del medio. Incubar A 35-37°C durante 24 horas, en aerobiosis (Merck, 2000).

2.6.5. Medio SIM

Es un medio semisólido destinado a verificar la movilidad, producción de indol y de sulfuro de hidrógeno en un mismo tubo. Es útil para diferenciar miembros de la familia Enterobacteriaceae (HIMedia laboratorios Put. Ltd) (Merck, 2000).

Cuadro 6. Fórmula del medio SIM (Sulfuro Indol Movilidad)

Fórmula (en gramos por litro)	
Tripteína	20.0
Peptona	6.1
Sulfato de hierro y amonio	0.2
Tiosulfato de sodio	0.2
Agar	3.5
pH final: 7.3 ± 0.2	

Fuente: MERCK, 2000

Suspender 30 g del polvo por litro de agua destilada. Mezclar hasta disolver; calentar agitando y hervir durante un minuto. Distribuir unos 4 ml en tubos de hemólisis y esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Solidificar en posición vertical. A partir de un cultivo de 18-24 horas en medio sólido, sembrar por punción profunda con aguja de inoculación recta (no usar ansa con anillo). Se debe inocular el centro del tubo, y la punción debe abarcar 2 tercios de profundidad del medio de cultivo desde la superficie. Es importante que la siembra se realice en línea recta. Incubar 24 horas, a 35-37 °C, en aerobiosis. Luego de la incubación, agregar 3-5 gotas de reactivo de Kovac's o de Erlich. (Merck, 2000)

2.7. PROCEDIMIENTO DE LA COLORACIÓN GRAM

El protocolo para la coloración Gram: Recoger muestra estéril, hacer el extendido en espiral, dejar secar a temperatura ambiente, fijar la muestra al calor (flameado 3 veces aproximadamente), agregar violeta de genciana y esperar 1 minuto, éste tinte dejará de color morado las bacterias Gram positivas, enjuagar

con agua, agregar lugol, esperar 1 minuto y enjuagar con agua, agregar alcohol acetona y esperar 1 minuto y enjuagar con agua. Agregar fuchina y esperar 1 minuto, éste colorante dejará de color rosado las bacterias Gram negativas. Finalmente se enjuaga, se seca y se observa al microscopio óptico con lente de 100x con aceite de inmersión (Mayberry, 2002).

Según el primer paso en cualquier tinción debe ser siempre la fijación con calor. Posteriormente el cristal violeta penetra en todas las células bacterianas (tanto Gram positivas como Gram negativas (Mayberry, 2002).

2.8. ANTIBIOGRAMAS.

2.8.1. Los Antibióticos

Un antibiótico ha sido definido como una sustancia química producida por un microorganismo capaz de inhibir el desarrollo de otros microorganismos. Los antibióticos modificados por manipulaciones químicas aún se consideran como tales. Un agente antimicrobiano es activo contra los microorganismos y puede ser producido en forma natural por microorganismos o sintéticamente en el laboratorio (Val, 2010).

Ya que no se puede predecir la susceptibilidad de las bacterias, hongos y virus a los agentes antimicrobianos, con frecuencia es necesario estudiar la sensibilidad

individual de cada patógeno a estas drogas, pudiéndose elegir entonces el agente apropiado, que proporciona mayores posibilidades de una evolución. En líneas generales y en función sobre su forma de actuar sobre los microorganismos, hablamos de dos grandes grupos de antibióticos:

a. Antibióticos primariamente **bactericidas**: Ejercen una acción letal e irreversible sobre el microbio (Fosfomicina, Vancomicina, B-Lactámicos, Polimixina, Aminoglucósidos, Rifampicina, Acido Nalidíxico, Quinoleinas, Nitrofurantoinas) (Val, 2010).

b. Antibióticos primariamente **bacteriostáticos**: Inhiben el crecimiento pero no matan al microorganismo, permitiendo que las propias defensas del huésped pueden eliminar a las bacterias (Tetraciclina Cloranfenicol. Sulfonamidas Trimetoprim. Lincomicina Clindamicina. Macrólidos) (Val, 2010).

2.8.2. El Antibiograma

El primer objetivo del antibiograma es el de medir la sensibilidad de una cepa bacteriana que se sospecha es la responsable de una infección a uno o varios antibióticos. En efecto, la sensibilidad in vitro es uno de los requisitos previos

para la eficacia in vivo de un tratamiento antibiótico. El antibiograma sirve, en primer lugar, para orientar las decisiones terapéuticas individuales (Val, 2010).

El segundo objetivo del antibiograma es el de seguir la evolución de las resistencias bacterianas. Gracias a este seguimiento epidemiológico, a escala de un servicio, un centro de atención médica, una región o un país, es como puede adaptarse la antibioterapia empírica, revisarse regularmente los espectros clínicos de los antibióticos y adoptarse ciertas decisiones sanitarias, como el establecimiento de programas de prevención. Hay pues un doble interés: Terapéutico y epidemiológico. Siempre que una toma bacteriológica de finalidad diagnóstica haya permitido el aislamiento de una bacteria considerada responsable de la infección (Val, 2010).

2.8.3. Sensibilidad Bacteriana a los Antibióticos

La determinación de la Concentración Inhibidora Mínima (CIM) es la base de la medida de la sensibilidad de una bacteria a un determinado antibiótico. La CIM se define como la menor concentración de una gama de diluciones de antibiótico que provoca una inhibición de cualquier crecimiento bacteriano visible. Es el valor fundamental de referencia que permite establecer una escala de actividad del antibiótico frente a diferentes especies bacterianas (Val, 2010).

Hay diferentes técnicas de laboratorio que permiten medir o calcular de rutina, y de manera semicuantitativa, las CIM (métodos manuales y métodos automatizados o semiautomatizados). Estos diferentes métodos de rutina permiten categorizar una cierta cepa bacteriana en función de su sensibilidad frente al antibiótico probado. Esta cepa se denomina **Sensible (S), Intermedia (I) o Resistente (R)** al antibiótico. Para un determinado antibiótico, una cepa bacteriana es, según la NCCLS:

- a. Sensible, si existe una buena probabilidad de éxito terapéutico en el caso de un tratamiento a la dosis habitual.
- b. Intermedia, cuando el éxito terapéutico es imprevisible. Se puede conseguir efecto terapéutico en ciertas condiciones (fuertes concentraciones locales o aumento de la posología).
- c. Resistente, si la probabilidad de éxito terapéutico es nula o muy reducida. No es de esperar ningún efecto terapéutico sea cual fuere el tipo de tratamiento.

Este hecho permite ensayar un número reducido de antibióticos, sin limitar por ello las posibilidades terapéuticas (Val, 2010).

2.8.4. Interpretación de un Antibiograma

Ciertos mecanismos de resistencia se expresan débilmente in vitro, cuando se inscriben en el DNA bacteriano. Su expresión en el organismo, en donde las condiciones en cuanto a medios son diferentes, expondría al riesgo de fracaso terapéutico. Para evitar esto, el antibiograma debe ser interpretado de manera global a fin de descubrir, a través de la comparación de las respuestas para cada antibiótico, un mecanismo de resistencia incluso débilmente expresado. Así, gracias a la interpretación, una cepa que aparece como falsamente sensible será categorizada como I o R Ejemplo: Una cepa de *Klebsiella pneumoniae* productora de BLSE puede aparecer sensible in vitro a las cefalosporinas de 3ª generación. El resultado de Sensible debe ser corregido a Intermedio o Resistente, ya que la utilización de estos antibióticos correría el riesgo de provocar un fracaso terapéutico (Val, 2010).

2.8.5. Resistencia Bacteriana

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. Las especies bacterianas que no se encuentran incluidas dentro de dicho espectro se denominan naturalmente resistentes (Val, 2010).

El antibiótico no crea resistencia, pero selecciona las bacterias resistentes eliminando las sensibles. Es lo que se conoce con el nombre de presión de selección. El aumento de la frecuencia de las cepas resistentes va unido casi siempre al uso intensivo del antibiótico en cuestión (Val, 2010).

2.8.5.1. **La resistencia natural** es un carácter constante de todas las cepas de una misma especie bacteriana. El conocimiento de las resistencias naturales permite prever la inactividad de la molécula frente a bacterias identificadas (después del crecimiento) o sospechosas (en caso de antibioterapia empírica). En ocasiones, constituye una ayuda para la identificación, puesto que ciertas especies se caracterizan por sus resistencias naturales (Val, 2010).

2.8.5.2. **La resistencia adquirida** es una característica propia de ciertas cepas, dentro de una especie bacteriana naturalmente sensible, cuyo patrimonio genético ha sido modificado por mutación o adquisición de genes. Contrariamente a las resistencias naturales,

las resistencias adquiridas son evolutivas, y su frecuencia depende a menudo de la utilización de los antibióticos. En el caso de numerosas especies bacterianas, y teniendo en cuenta la evolución de las resistencias adquiridas, el espectro natural de actividad no es ya suficiente para guiar la elección de un tratamiento antibiótico. En ese caso, se hace indispensable el antibiograma (Val, 2010).

2.8.5.3. **Una resistencia cruzada** es cuando se debe a un mismo mecanismo de resistencia. En general, afecta a varios antibióticos dentro de una misma familia (Ejemplo: La resistencia a la oxacilina en los estafilococos se cruza con todos los β -lactámicos). En ciertos casos, puede afectar a antibióticos de familias diferentes (Val, 2010).

2.8.5.4. **Una resistencia asociada** es cuando afecta a varios antibióticos de familias diferentes. En general, se debe a la asociación de varios mecanismos de resistencia (Ejemplo: La resistencia de los estafilococos a la oxacilina va frecuentemente asociada a las quinolonas, aminoglicósidos, macrólidos y ciclinas) (Val, 2010).

2.8.6. Método de Difusión en Agar

Una vez demostradas las grandes ventajas de las técnicas de dilución en caldo, el paso siguiente, pensando sobre todo en poder realizar fácilmente pruebas de sensibilidad de un microorganismo frente a múltiples antibióticos a la vez, consistió en buscar la manera de aplicar la idea directamente a las placas de agar (Val, 2010).

Las primeras pruebas se realizaron inoculando la superficie de una placa de agar con el microorganismo en estudio, colocando pequeñas cubetas (de metal o vidrio) sobre el agar y agregando las soluciones de los diferentes antimicrobianos dentro de dichas cubetas. Los agentes antimicrobianos difundían en el medio en forma radial alrededor de la cubeta e inhibían el desarrollo del microorganismo en la zona donde su concentración era suficientemente alta. Las áreas de inhibición grandes indicaban una actividad antimicrobiana más efectiva (Val, 2010).

Este método fue modificado en 1947 por Bondi y col. incorporando el agente antimicrobiano a discos de papel de filtro. Fue un paso adelante gigantesco ya

que el uso de los discos de papel permitía preparar un gran número de pruebas idénticas y almacenarlas para uso futuro (Val, 2010).

En 1966, después de los estudios realizados por Bauer, Kirby, Sherris y Turk, ensayando diferentes cepas bacterianas, el empleo de los discos de papel de filtro para las pruebas de sensibilidad fue estandarizado y correlacionado definitivamente con las CMI correspondientes. El método de difusión por disco (o método Kirby-Bauer), en función sobre todo de su comodidad, economía y fiabilidad, ha sido, y aun es, uno de los más utilizados en los laboratorios de todo el mundo (Val, 2010).

El microorganismo a investigar se inocular en una o varias placas de agar y sobre su superficie se disponen los discos correspondientes a varios antibióticos. Se incuban las placas durante 16-24 horas a 35°C y al cabo de este tiempo se estudia el crecimiento en ellas. Se valora el diámetro de la zona de inhibición que se forma alrededor de cada disco y se compara con las referencias oportunas publicadas por el NCCLS. Con esta referencia podemos informar si el microorganismo es Sensible, Intermedio o Resistente (S, I, R) a cada uno de los antibióticos ensayados en las placas (Val, 2010).

2.9. TRABAJOS RELACIONADOS SOBRE EL TEMA EN LA PROVINCIA DE LOJA

Angamarca y Paqui, 1990, realizaron el diagnóstico de la mastitis subclínica en bovinos en cuatro parroquias del cantón Saraguro de la provincia de Loja, examinándose 557 muestras, de los cuales 178 casos resultaron positivos al California Mastitis Test, que representa el 32.5 %.

Codena, 2003. Realizó el diagnóstico de mastitis subclínica en bovinos en la Parroquia Yangana de la Provincia de Loja, examinándose 1000 muestras, de las cuales 269 casos resultaron positivos al California Mastitis Test, que representa el 26.9 %.

Angamarca, 2004. Realizó el diagnóstico de la mastitis subclínica en bovinos en la parroquia Gualiel de la provincia de Loja, examinándose 500 muestras, de los cuales 99 casos resultaron positivos al California Mastitis Test, que representa el 19.8 %.

Espinoza 2005. Realizó el diagnóstico de la mastitis subclínica en bovinos en el cantón Celica de la provincia de Loja, examinándose 341 muestras, de los cuales 230 casos resultaron positivos al California Mastitis Test, que representa el 67.4 %.

Lima, 2004. Realizó el diagnóstico de la mastitis subclínica en bovinos en la hoya de Loja, examinándose 592 muestras, de los cuales 172 casos resultaron positivos al California Mastitis Test, que representa el 29.1 %.

Cueva, d; Peñaloza, G.2001. Realizó el diagnóstico de Mastitis Subclínica en bovinos del cantón Atahualpa, provincia del Oro, examinándose 451 muestras, de los cuales 187 resultaron positivos al California Mastitis Test, que representa el 41,4 %.

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. UBICACIÓN

El trabajo de campo se lo realizó en 91 ganaderías ubicadas en la parroquia Chantaco del Cantón Loja; que se encuentra a una altitud de 2230 m.s.n.m, con una temperatura promedio de 18°C, la situación geográfica: Longitud 3° 53' 28" Sur y Latitud 79° 15' 20" Oeste. Presenta una pluviosidad de 400, 2 mm y pertenece a la formación ecológica (bs – MB).

3.1.2. Selección y tamaño de la muestra

El estudio se realizó en 91 fincas ganaderas con una población de 192 vacas en producción. El periodo de duración del trabajo fue de 4 meses (21 de Marzo del 2011 a 1 de Agosto del mismo año).

Se tomó en cuenta todas las fincas ganaderas de cada barrio, y todas las vacas en producción.

Cuadro 7. Vacas en producción seleccionadas para la investigación, por barrios de la Parroquia Chantaco del Cantón Loja.

BARRIOS	Nº DE FINCAS	TOTAL DE ANIMALES
Lindero	7	16
Cañaro	14	26
El Auxilio	10	18
San Nicolás	10	21
Fátima	11	21
Cumbe	20	53
Chantaco	19	37
Total	91 fincas	192 animales

Fuente: Asociación de Ganaderos de Loja (2010)

La fase de laboratorio se realizó en el Laboratorio de Diagnostico Veterinario de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la “Universidad Nacional de Loja”, ubicado en la Argelia al sur de la ciudad de Loja.

3.2. MATERIALES

3.2.1. De Campo

Los materiales de campo que se utilizaron en la presente investigación son:

- 192 Vacas en producción
- Fincas ganaderas
- Muestras de leche

- Reactivo C.M.T (California Mastitis Test)
- Paleta de diagnóstico
- Fundas plásticas esteriles
- Formularios de registro
- Libreta de campo
- Overol
- Botas
- Jabón
- Franela y gasa para limpieza de la ubre
- Cámara fotográfica
- Maletín
- Cinta maski
- Gel refrigerante
- Marcador permanente

3.2.2. De Oficina

- Computadora
- Calculadora
- Hojas de papel bond
- Esferos
- Folletos
- Libros
- Internet

3.2.3. De Laboratorio

- Agar Sangre
- Agar Salt manitol
- Agar Mac Conkey
- Medio TSI (Triple-Azúcar-Hierro)
- Medio SIM (Sulfuro-Indol-Movilidad)
- Microscopio
- Asa de platino
- Refrigeradora
- Cajas Petri de vidrio
- Mechero de Bunsen
- Placas porta objetos
- Pipetas
- Estufa
- Horno de Pasteur
- Autoclave
- Balanza electrónica
- Agua destilada
- Tinción Gram (Violeta de genciana, Lugol, alcohol acetona y fushina)
- Aceite de inmersión
- Sangre de ovino
- Agujas
- Algodón
- Guantes
- Matraz, erlenmeyer, bolitas de cristal, tapón y manguerita de caucho flexible.
- Camara Fotográfica.
-

3.3. DIAGNÓSTICO DE MASTITIS SUBCLINICA

3.3.1. Prueba California Mastitis Test

Para la realización de la prueba de (CMT) se procedió de la siguiente manera:

- Se realizó el lavado de la ubre y desinfección de pezones con alcohol, antes de tomar la muestra respectiva.
- Se eliminaron los primeros chorros de leche y se toman de 2 a 3 cc. de la leche de cada pezón, directamente en la paleta.
- Una vez tomada la muestra se le añade una cantidad de 2 a 3 cc. del reactivo CMT.
- Seguidamente se procede a homogenizar con movimientos circulares en la paleta por un tiempo aproximado de 20 segundos.
- Concluido este procedimiento se realizó la lectura de acuerdo al grado de gelificación, interpretado T (trazas), con una, dos o tres cruces anotando estos resultados en los registros respectivos.
- Luego se elimina la muestra anterior y se proceda a lavar la paleta con agua y jabón, para ser usada en el siguiente análisis y así sucesivamente.

3.4. ANALISIS DE LABORATORIO

3.4.1. Cultivo.

Para determinar el agente más representativo de las muestras de mastitis se tuvo que seguir varios procesos: incubación de las muestras, siembra, purificación, aislamiento e identificación de patógenos. Una vez que las muestras llegaron al laboratorio se registró de acuerdo con los siguientes datos: fecha, número de muestras, tipo de muestra y procedencia de finca. El sobrante de las muestras fue eliminada

Los medios de cultivo tanto generales como específicos fueron preparados previamente.

Luego de ser incubadas las muestras a 37° C por 24 horas en la estufa, se sembró, en cajas Petri de agar sangre y agar Mac Conkey, con su respectiva identificación. Los medios fueron incubados durante 24 horas a una temperatura de 37° C. Después de este periodo se realizó la lectura de las cajas para determinar la presencia o ausencia de patógenos, registrando cada uno de estos datos. Cuando las muestras presentaban crecimiento de colonias se procedió a realizar la coloración de Gram para una primera clasificación de bacterias.

3.4.2. Bacteroscopia.

En un lugar estéril se procedió a preparar la placa mediante frotis utilizando para ello una pequeña cantidad de cada colonia recogida con la ayuda de un asa de platino; posteriormente se realizó la extensión de la misma sobre la placa portaobjetos con movimientos giratorios, para poder observar bacterias separadas.

Luego del frotis se fijó la placa al calor, evitando quemar las bacterias, pues varía su morfología y dificulta su observación. Para las placas preparadas se empleó la coloración de Gram y se observó al microscopio utilizando el lente de 100 con aceite de inmersión. Por medio de la observación se llegó a clasificar las bacterias de acuerdo a su forma y coloración. Por la forma en: Cocos; y por la coloración solo se observaron bacterias Gram positivas con color azul- violáceas (moradas). Los cocos positivos presentaron agrupaciones en racimos o en cadenas, observación que permitió la identificación de grupos de Staphylococcus o Streptococcus respectivamente. Y no se observó bacterias Gram negativas (enterobacterias).

3.4.3. Pruebas Bioquímicas.

La caracterización de las bacterias encontradas se realizó por medio de pruebas bioquímicas específicas para bacterias positivas o negativas según el caso. Se llegó a caracterizar solo el género y no la especie de las bacterias encontradas .

Para esto, se realizó una purificación de la colonia en agar sangre si fue una bacteria positiva y en agar Mac Conkey si fue una bacteria negativa. De esta manera se obtuvo en el medio de cultivo colonias con las mismas características en agar sangre y cabe destacar que no hubo crecimiento de colonias en agar Mac Conkey, es decir no se detectó la presencia de bacterias gram negativas, por lo que se determinó que en el trabajo de investigación actual no hay mastitis por enterobacterias.

Las pruebas bioquímicas son un conjunto de medios que al reaccionar positiva o negativamente, expresan las características propias e inconfundibles de un determinado patógeno. Por tal motivo permiten llegar a una identificación precisa del patógeno.

Las pruebas bioquímicas para bacterias Gram positivas en forma de cocos se basó en: pruebas de agar sangre, para determinar la presencia de Staphylococcus y Streptococcus se identificó por las características de las colonias.

En la prueba de agar Salt manitol se tomó una colonia aislada con un asa de platino que permita realizar la siembra de la colonia en la placa de agar manitol, la reacción se observó a las 24 horas. Una reacción positiva se observó al cambio de coloración de rojo a amarillo.

En el caso de las bacterias Gram negativas no se utilizó el medio TSI (Triple Azúcar Hierro), que sirve para formación de burbujas, grietas, presencia de sulfuro ferroso (color negro), ni el medio SIM que sirve para determinar la motilidad de las enterobacterias, debido a que no se encontró bacterias Gram negativas en este trabajo de investigación.

3.5. PRUEBAS DE SENSIBILIDAD

El antibiograma se utilizó con la finalidad de medir la sensibilidad bacteriana frente al uso de varios antibióticos ya que existen reacciones distintas. Por medio del antibiograma se determinó el antibiótico más efectivo para los patógenos encontrados. Una vez identificadas las bacterias se procedió a realizar el antibiograma en este caso para las bacterias encontradas, (**Streptococcus y Staphylococcus**) lo cual se utilizó discos de sensibilidad para bacterias Gram positivas.

Se utilizó diferentes antibióticos en forma de discos de 10 mcg del laboratorio **Bioanalyce**: Penicilina (P), Tetraciclina (TE), Cloxacilina (CX), Neomicina (N), Estreptomina (SS), Gentamicina (GN), Kanamicina (K). Para realizar el antibiograma se utilizó agar Sangre para antibiogramas que es utilizado para bacterias Gram positivas y Gram negativas.

Para este procedimiento fue necesario verificar que todos el medio esté correctamente elaborado y libre de contaminación. En el caso de las cajas petri para la elaboración de antibiogramas el agar sangre debió tener una capa de 5mm de espesor, cubriendo en su totalidad la caja petri, el agar estuvo completamente gelificado para iniciar el procedimiento. Las bacterias fueron sembradas en Caldo Cerebro Corazón para lo cual se utilizó tubos con 5ml de caldo, se dejó incubar por 12 horas hasta que el caldo este turbio. Se usaron pipetas de 1ml con las que se recogió la suspensión del germen que presentaba una alta turbidez, la suspensión debe cubrir la superficie de la caja petri, se eliminó el sobrante y se dejó secar el inóculo por un periodo de 3 minutos.

Después de transcurrido este periodo se colocó los discos de sensibilidad escogidos de acuerdo a la clasificación de la bacteria. Los discos se colocaron sobre el agar mediante pinzas estériles, se oprimió los discos suavemente con una pinza para asegurar el contacto de los discos con el medio de cultivo. Se colocaron siete discos por cada caja los cuales estuvieron espaciados de manera

que la distancia a la pared de la placa sea de 15 mm. Y entre ellos de 30 mm. Las muestras fueron incubadas a 37° C por un periodo de 24 horas aproximadamente.

Una vez que se observó claramente los halos alrededor de los discos se procedió a medir con una regla milimetrada de forma circular la zona de inhibición. Las interpretaciones seguirán las normas establecidas por el NCCLS (Tabla 1 a 5) pero, por regla general, un diámetro de inhibición de 30 a 35 mm es indicativo de una cepa altamente sensible, mientras que diámetros de zona de inhibición inferiores a 10 mm son los que presentan las cepas resistentes.

Los resultados fueron analizados de acuerdo al halo que presentó cada uno de los discos utilizados. La ausencia del halo se interpretó como la resistencia de la bacteria al antibiótico, mientras que la presencia de halo se interpretó como la sensibilidad de la bacteria frente al antibiótico, lo cual depende de la concentración de antibiótico en el disco para determinar si fue sensible, intermedio o resistente, de acuerdo a escalas estandarizadas.

3.6. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

3.6.1. Tabulación

Se elaboraron cuadros estadísticos de cada variable para facilitar su posterior análisis e interpretación.

3.6.2. Análisis

Se aplicó la estadística descriptiva para calcular promedios y/o porcentajes de acuerdo a cada variable.

3.6.3. Interpretación

Se realizó la interpretación descriptiva y explicativa de cada variable lo que permitió la elaboración de las conclusiones.

3.7. FORMULACIÓN Y DIFUSIÓN DE UN PLAN DE BIOSEGURIDAD

Se formuló un plan de bioseguridad con los siguientes elementos:

1. Establecer un plan de limpieza de utensilios, instalaciones y manos del ordeñador.
2. Dar un buen manejo de la ubre y evitar los golpes bruscos.
3. Llevar una rutina de ordeño: lavado de la ubre, masaje, ordeñar siempre por el mismo lado y el mismo grupo de vacas.
4. Utilizar selladores de pezón de excelente calidad después de cada ordeño.
5. Ordeñar primero las vacas sanas y al final las vacas con problemas o en tratamiento.
6. Realizar la prueba de California Mastitis Test por lo menos una vez al mes, llevando los respectivos registros de control.
7. Tratar las vacas con mastitis clínica o subclínica usando antibióticos específicos.
8. Proteger la ubre durante el periodo de secado.
9. Hacer un escurrido a fondo en cada ordeño.
10. Recordar siempre que un buen ordeño es responsabilidad del ordeñador.

Para la difusión se planificó y se ejecutó un día de campo con la participación de los ganaderos de la zona en el cual se realizó una conferencia sobre los siguientes aspectos.

1. Que es la mastitis subclínica, causas, diagnóstico, tratamiento y prevención.
2. Resultados obtenidos.
3. Conclusiones.
4. Recomendaciones.

4. RESULTADOS

4.1. MANEJO DEL ORDEÑO

Se considera que una de las causas predisponente para la presencia de mastitis es el manejo higiénico-sanitario del ordeño. Los resultados obtenidos por medio de encuestas a los ganaderos y observación directa, se detallan en el cuadro 8 y se esquematiza en la figura 2.

Cuadro 8. Medidas higiénico – sanitarias que se realizan previo al ordeño en las ganaderías de la parroquia Chantaco, cantón Loja.

Sector	Nº Fincas	Lavado de la Ubre				Aseo del ordeñador			
		SI		NO		SI %		No%	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Linderos	7	6	85,7	1	14,3	4	57,1	3	42,9
Cañaro	14	10	71,4	4	28,6	6	42,9	8	57,1
El Auxilio	10	7	70,0	3	30,0	5	50,0	5	50,0
S. Nicolás	10	8	80,0	2	20,0	6	60,0	4	40,0
Fátima	11	9	81,8	2	18,2	7	63,6	4	36,4
Cumbe	20	18	90,0	2	10,0	12	60,0	8	40,0
Chantaco	19	15	78,9	4	21,1	10	52,6	9	47,4
TOTAL	91	73	80,2	18	19,8	50	54,9	41	45,1

Fuente: Investigación directa

Elaborado por: El autor

El 80,2 % de los productores realizan un lavado breve de la ubre sin tomar las debidas precauciones (secado) residuos de agua por los que contaminan la leche, mientras que el 19,8 % no lo realizan. Así mismo respecto al aseo del ordeñador

el 54,9 % si realizan, mientras que el 45,1 % no lo hacen, cabe mencionar que el agua que utilizan es de vertientes y acequias.

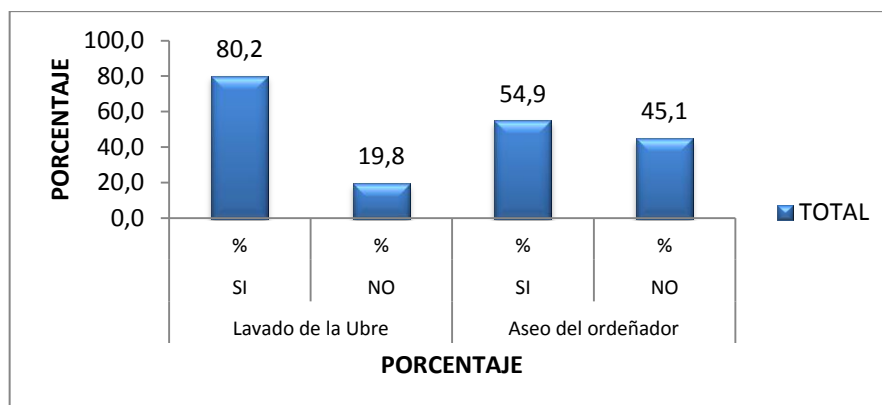


Figura 2. Medidas higiénico-sanitarias durante el ordeño en las ganaderías de la parroquia Chantaco.

4.2. PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA

Se realizó la prueba California Mastitis Test (CMT) en cada una de las ganaderías estudiadas, cuyos resultados se resumen en el cuadro 9 y se esquematizan en la figura 3.

Cuadro 9. Prevalencia de Mastitis subclínica en las ganaderías de la parroquia Chantaco del cantón Loja.

BARRIOS	Nº DE ANIMALES	POSITIVOS		NEGATIVOS	
		Nº	%	Nº	%
LINDEROS	16	10	62,5	6	37,5
CAÑARO	26	9	34,6	17	65,4
AUXILIO	18	9	50,0	9	50
S. NICOLAS	21	13	61,9	8	38,1
FATIMA	21	11	52,4	10	47,6
CUMBE	53	19	35,8	34	64,2
CHANTACO	37	14	37,8	23	62,2
TOTAL	192	85	44,3	107	55,7

Fuente: Investigación directa

Elaborado por: El autor

Se estudiaron un total de 192 animales, de los cuales 85 es decir el 44,3 % resultaron positivas a mastitis subclínica, mientras que 107 animales equivalentes al 55,7 % negativo. Se observa mayor incidencia de la enfermedad en las ganaderías del sector Linderos con el 62 %; mientras que en Cañaro se registró menor presencia con el 34,6 %.

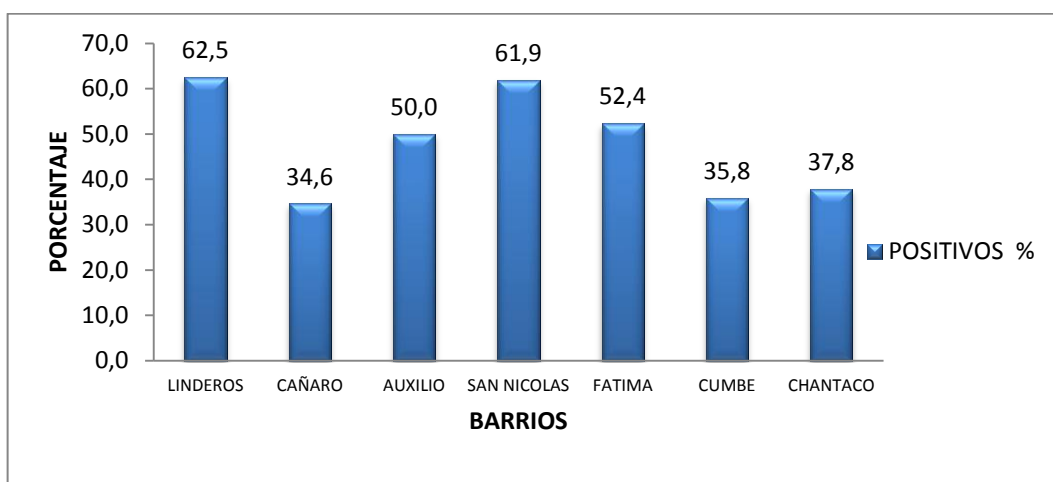


Figura 3. Porcentajes de mastitis subclínica en los diferentes barrios de Chantaco.

4.2.1. Prevalencia de Acuerdo a la Raza

Se sistematizó los resultados del diagnóstico de mastitis subclínica de acuerdo a la raza. Los resultados se muestran en el cuadro 10 y esquematizado en la figura

4.

Cuadro 10. Prevalencia de mastitis subclínica de acuerdo a la raza en la parroquia Chantaco del cantón Loja.

RAZA	Nº DE ANIMALES	POSITIVOS		NEGATIVOS	
		Nº	%	Nº	%
HOLSTEIN	3	3	100,00	0	0,00
MESTIZA	42	21	50,00	21	50,00
CRIOLLA	147	61	41,50	86	58,50
TOTAL	192	85	44,2	107	55,7

Fuente: Investigación directa

Elaborado por: El autor

Como observamos el cuadro 10, en la zona de estudio el 76 % de la población ganadera corresponde a la raza criolla, el 22 % mestiza y el 2 % a Hosltein. Del número total de vacas diagnosticadas, el 44,3 % resultó positivo, de los cuales el 100 % la raza Holstein, el 50 % corresponde a la raza mestiza y el 41,5 % son animales criollos.

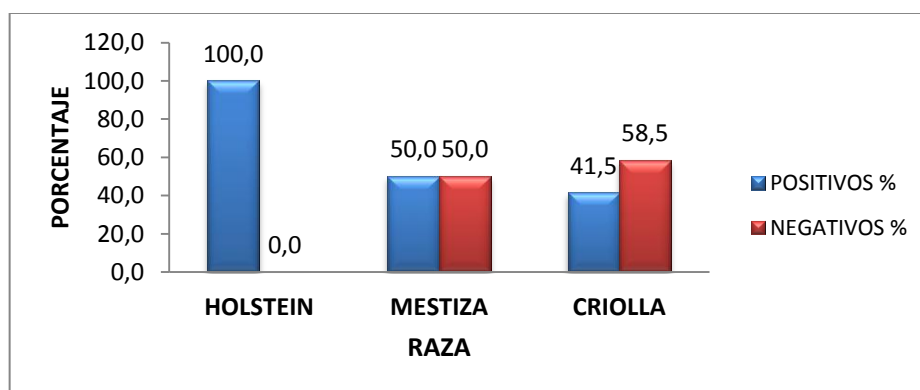


Figura 4. Porcentajes Prevalencia de Mastitis Subclínica de acuerdo a la raza.

4.2.2. Prevalencia de acuerdo a la Edad

Se ordenó y clasificó los resultados de acuerdo a la edad de los animales. Los resultados se muestran en el cuadro 11 y esquematizado en la figura 5.

Cuadro 11. Prevalencia de mastitis subclínica de acuerdo a la edad.

Edad	Nº de animales	Positivos		Negativos	
		Nº	%	Nº	%
< a 4 años	72	5	6,94	67	93,06
4 en adelante	120	80	66,67	40	33,33
TOTAL	192	85	44,27	107	55,73

Fuente: Investigación directa

Elaborado por: El autor

En el cuadro 11 se puede apreciar que de todas las muestras analizadas en cuanto a la edad de los animales, las más propensas a presentar mastitis subclínica son los animales de 4 años de edad en adelante, en este parámetro se analizaron 120 animales de las cuales 80 resultaron positivas con un porcentaje del 66.67 %, mientras que los animales menores a 4 años son menos susceptibles, ya que de una población de 72 animales solo el 6.94 % resultaron positivas.

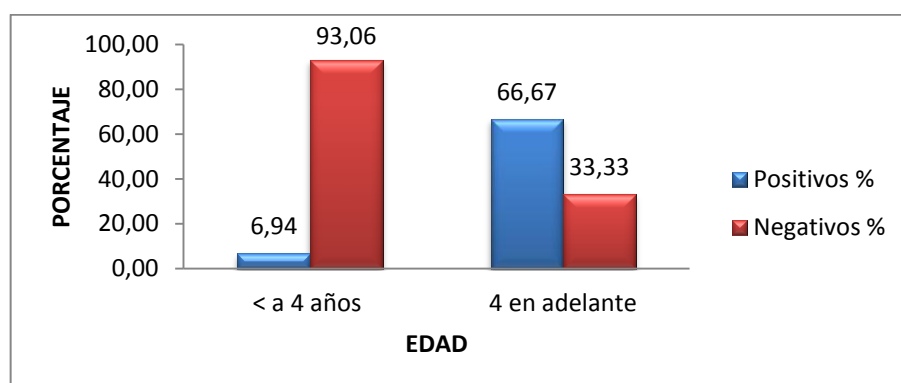


Figura 5. Porcentajes de animales positivos a mastitis subclínica de acuerdo a la edad.

4.2.3. Prevalencia de acuerdo al número de Partos

Se estableció los resultados del diagnóstico de mastitis subclínica de acuerdo al número de partos de los animales. Los resultados se muestran en el cuadro 12 y esquematizado en la figura 6.

Cuadro 12. Prevalencia de mastitis subclínica de acuerdo al Número de partos.

Nº de Partos	Nº de Animales	Positivo		Negativo	
		Nº	%	Nº	%
< 3	107	18	16,8	89	83,2
3 a 5	71	55	77,5	16	22,5
> 5	14	12	85,7	2	14,3
Total	192	85	44,3	107	55,7

Fuente: Investigación directa

Elaborado por: El autor

En el cuadro 12 podemos observar que los animales más susceptibles a mastitis subclínica son los animales mayores de 5 partos con 85.7 %, a continuación se

ubican de 3 a 5 partos con el 77.5 %, mientras que los animales menores a 3 partos, solamente el 16,8 % fueron positivos.

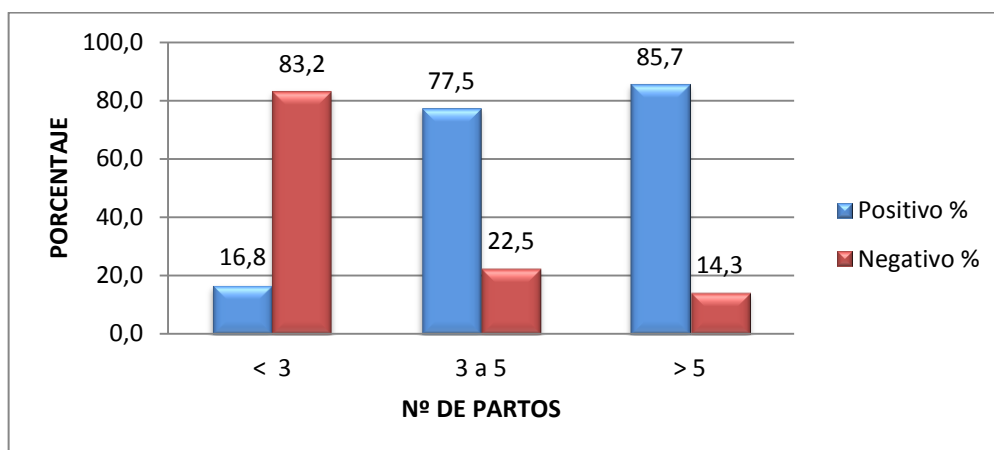


Figura 6. Porcentajes de animales positivos a mastitis subclínica de acuerdo al número de partos.

4.3. CUARTOS AFECTADOS

Se procedió a sistematizar la información de los cuartos afectados, cuyos resultados se exponen en el cuadro 13 y se grafican en el figura 7.

Cuadro 13. Prevalencia de mastitis subclínica por cuarto afectado (%).

Sector	Nº Cuartos Afectados	CUARTOS AFECTADOS							
		AI	%	PI	%	AD	%	PD	%
Lindero	15	2	13,33	7	46,7	5	33,3	1	6,7
Cañaro	18	6	33,33	4	22,2	4	22,2	4	22,2
El Auxilio	13	2	15,38	4	30,8	4	30,8	3	23,1
S. Nicolás	21	3	14,29	8	38,1	4	19,0	6	28,6
Fátima	15	3	20,00	4	26,7	4	26,7	4	26,7
Cumbe	33	7	21,21	8	24,2	7	21,2	11	33,3
Chantaco	20	6	30,00	4	20,0	4	20,0	6	30,0
TOTAL	135	29	21,5	39	28,9	32	23,7	35	25,9

Fuente: Investigación directa

Elaborado por: El autor

De acuerdo a los resultados del presente cuadro se observa que el cuarto posterior izquierdo presenta mayor susceptibilidad con un 28,9 %, seguido del cuarto posterior derecho con 25,9 %, el anterior derecho con 23.7% respectivamente y finalmente el anterior izquierdo con el 21.5 %.

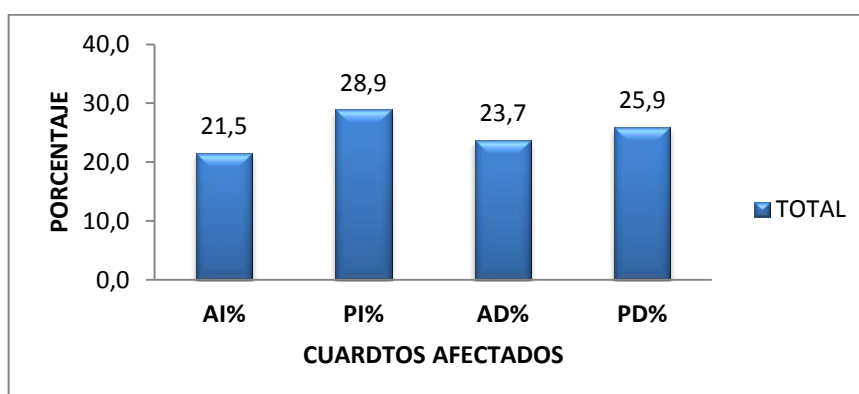


Figura 7. Porcentajes de cuartos afectados en el diagnóstico de mastitis subclínica en las ganaderías de la parroquia Chantaco del cantón Loja.

4.4. GRADO DE PRESENTACIÓN

El grado de presentación de Mastitis Subclínica se determinó con el método de California Mastitis Test (CMT), cuyos resultados se detallan en el cuadro 14 y se esquematizan en la figura 8.

Cuadro 14. Grado de presentación de la mastitis subclínica.

Sector	Nº Cuartos Afectados	Grado de Presentación							
		(Trazas)		(+)		(++)		(+++)	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Linderos	15	7	46,67	5	33,3	3	20	0	0
Cañaro	18	5	27,8	8	44,4	4	22,2	1	5,6
Auxilio	13	4	30,8	5	38,5	2	15,4	2	15,4
S. Nicolás	21	9	42,9	7	33,3	3	14,3	2	9,5
Fátima	15	3	20,0	6	40,0	5	33,3	1	7
Cumbe	33	13	39,4	11	33,3	7	21,2	2	6
Chantaco	20	6	30,0	8	40,0	5	25,0	1	5,0
TOTAL	135	47	34,8	50	37,0	29	21,5	9	6,7

Fuente: Investigación directa

Elaborado por: El autor

Del total de cuartos afectados a mastitis subclínica, en un 34,8 % se presenta en forma de trazas es, 37,0 %, 21,5 % dos cruces y el 6,7 % tres cruces, decir que de acuerdo a su presentación la enfermedad es más grave. El porcentaje de negatividad es de 55,7 %.

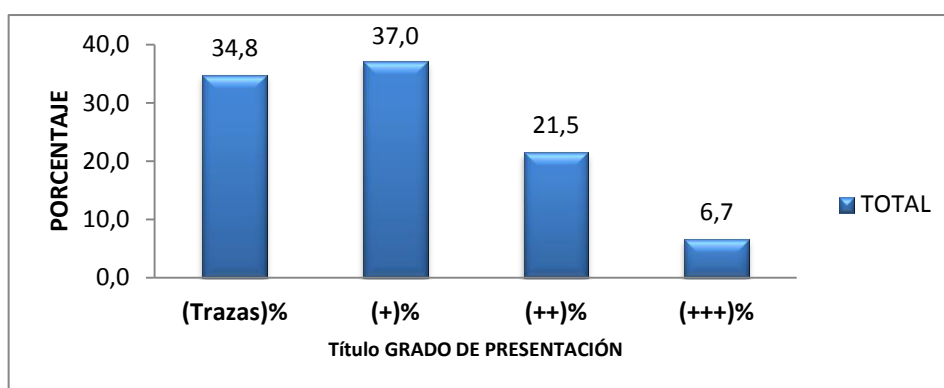


Figura 8. Grado de presentación de la mastitis subclínica en las ganaderías de la parroquia Chantaco.

4.5. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LOS AGENTES ETIOLÓGICOS

De acuerdo a las pruebas bioquímicas realizadas se presentan a continuación los patógenos encontrados en las distintas fincas visitadas (Cuadro 15).

Cuadro 15. Aislamiento e identificación de los agentes etiológicos de la mastitis subclínica en las ganaderías de la parroquia Chantaco del cantón Loja.

Sectores	Nº de muestras	Estafilococos		Estreptococos		Mixtos	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%
Linderos	10	3	30	1	10	6	60
Cañaro	9	0	0	2	22,2	7	77,8
Auxilio	9	1	11,1	0	0	8	88,9
San Nicolás	13	2	15,4	0	0	11	84,6
Fátima	11	1	9,1	1	9,1	9	81,8
Cumbe	19	1	5,3	2	10,5	16	84,2
Chantaco	14	2	14,3	1	7,1	11	78,6
TOTAL	85	10	11,8	7	8,2	68	80,0

Mixtos = Estafilococos y Estreptococos.

Fuente: Investigación directa

Elaborado por: El autor

Como se puede apreciar en el cuadro 15 en las 85 fincas que resultaron positivas mediante pruebas bioquímicas y observación en el microscopio se identificó el 11,8% de estafilococos, el 8,2 % estreptococos y el 80,0 % gérmenes mixtos (Estreptococos y Estafilococos).

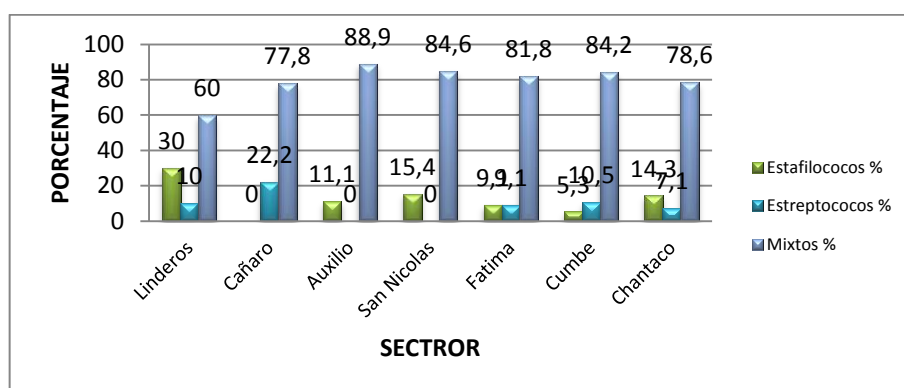


Figura 9. Porcentajes de gérmenes aislados e identificados en las ganaderías de la parroquia Chantaco del Cantón Loja.

4.6. SENSIBILIDAD ANTIBIOTICA

Para conocer la sensibilidad de los patógeno se utilizaron siete tipos de discos de sensibilidad: TE (Tetraciclina), P (Penicilina), S (Estreptomina), N (Neomicina), GN (Gentamicina), CX (Cloxacilina) y K (Kanamicina).

Cuadro 16. Sensibilidad del germen a los antibióticos por fincas de la parroquia Chantaco

Sector	Nº de Nuestras	Tetraciclina			Penicilina			Streptomina			Neomicina		
		S	MS	R	S	MS	R	S	MS	R	S	MS	R
Linderos	7	57,1	14,3	28,6	57,1	28,6	14,3	28,6	42,9	28,6	71,4	14,3	14,3
Cañaro	7	57,1	14,3	28,6	42,9	28,6	28,6	57,1	14,3	28,6	57,1	28,6	14,3
Auxilio	9	44,4	22,2	33,3	55,6	22,2	22,2	33,3	33,3	33,3	66,7	11,1	22,2
S. Nicolás	9	55,6	11,1	33,3	66,7	11,1	22,2	33,3	22,2	44,4	55,6	22,2	22,2
Fátima	8	37,5	25,0	37,5	50,0	37,5	12,5	25,0	37,5	37,5	75,0	12,5	12,5
Cumbe	12	41,7	33,3	25,0	58,3	25,0	16,7	50,0	25,0	25,0	58,3	25,0	16,7
Chantaco	12	41,7	25,0	33,3	50,0	25,0	25,0	25,0	41,7	33,3	66,7	25,0	8,3
TOTAL	64	46,9	21,9	31,3	54,7	25,0	20,3	35,9	31,3	32,8	64,1	20,3	15,6

S = Sensible, MS = Moderadamente Sensible, R= Resistente.

Fuente: Investigación directa

Elaborado por: El autor

Se determinó que Staphylococcus spp, Streptococcus spp. Fueron sensibles a Neomicina con 64,1 %, Penicilina con un total de 54.7 %, seguido de Tetraciclina con 46,9 %, y Estreptomycinina 35,9 %.

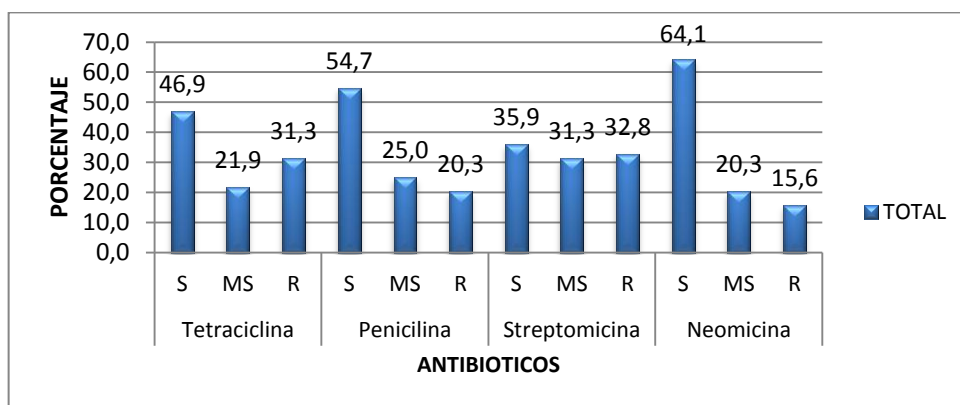


Figura 10. Porcentajes totales de sensibilidad a los antibióticos.

Cuadro 17. Sensibilidad del germen a los antibióticos por fincas de la parroquia Chantaco.

Sector	Nº de Nuestras	Gentamicina			Cloxacilina			Kanamicina		
		S	MS	R	S	MS	R	S	MS	R
Linderos	7	42,9	14,3	42,9	57,1	14,3	28,6	28,6	28,6	42,9
Cañaro	7	57,1	14,3	28,6	42,9	28,6	28,6	28,6	42,9	28,6
Auxilio	9	55,6	11,1	33,3	33,3	22,2	44,4	55,6	33,3	11,1
S. Nicolás	9	33,3	33,3	33,3	44,4	33,3	22,2	33,3	22,2	44,4
Fátima	8	62,5	12,5	25,0	25,0	37,5	37,5	50,0	12,5	37,5
Cumbe	12	25,0	25,0	50,0	33,3	16,7	50,0	41,7	41,7	16,7
Chantaco	12	41,7	41,7	16,7	25,0	33,3	41,7	50,0	25,0	25,0
TOTAL	64	43,8	23,4	32,8	35,9	26,6	37,5	42,2	29,7	28,1

S = Sensible, M = Moderadamente Sensible, R= Resistente.

Fuente: Investigación directa

Elaborado por: El autor

Como se aprecia en el cuadro 17 se presentó sensibilidad a Gentamicina 43,8 %, seguido con el 42,2 % y Cloxacilina con 35,9 %; mientras que se observó resistencia a cloxacilina con 37,5 % y a estreptomicina con 32,8 % a nivel de las ganaderías de la parroquia Chantaco del cantón Loja.

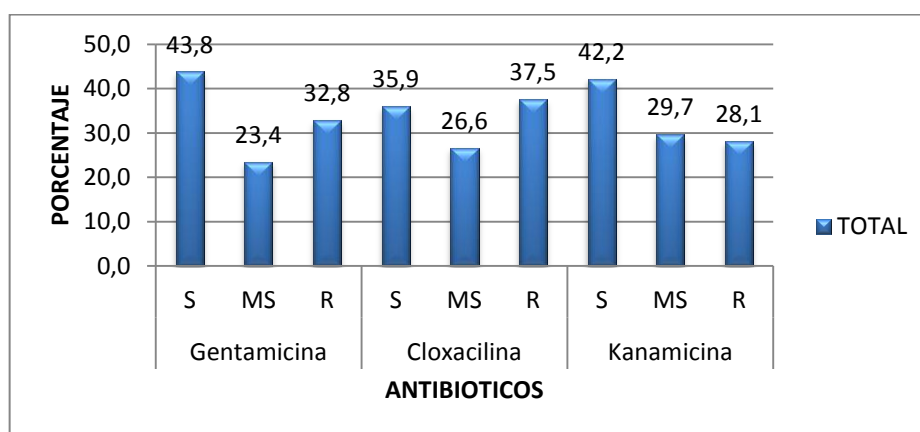


Figura 11. Porcentajes totales de sensibilidad a los antibióticos.

4.7. PERDIDAS ECONÓMICAS

Para estimar las pérdidas económicas se consideró el número de cuartos afectados, el grado de gelificación de las muestras positivas, y la disminución de producción de leche diaria, por vaca y total. Los resultados se los presentamos en el cuadro 18.

Cuadro 18. Pérdidas Económicas causadas por la incidencia de Mastitis Subclínica
en las fincas de la parroquia Chantaco

Grado de Gel	Dis. Prod (%)	Nº de Cuartos	Producción Normal/L.	Litros Perdidos/día	Costo	Pérdida Total/día	Perdida Por año
T	6	47	58,8	3,5	0,6	2,1	645,1
+	10	50	62,5	6,3	0,6	3,8	1143,8
++	16	29	36,3	5,8	0,6	3,48	1061,4
+++	25	9	11,3	2,8	0,6	1,69	514,7
Total		135	168,8	18,4		11,0	3364,9

Fuente: Investigación directa

Elaborado por: El autor

Número de cuartos en estudio = 135

Promedio de producción de leche/vaca/día = 5

Pérdida anual (USD) = 11 x 305 = 3364,9 USD/año

Como se demuestra en el cuadro 18 existe una pérdida de 18,4 litros de leche por día, tomando en cuenta el costo de \$0.60 centavos (USD) el precio estimado que se maneja en el lugar resulta un total de 11 (USD) diarios de pérdidas, lo que representa un total de 3364.9 (USD) anuales a nivel de la Parroquia Chantaco.

5. DISCUSIÓN

En lo que tiene que ver con el manejo durante el ordeño en el cuadro 8 se puede apreciar que el 80,2 % de los ganaderos realizan el lavado utilizando principalmente agua, mientras que el 19,8 % no lo realiza, esto implica que las condiciones higiénico-sanitarias son limitadas favoreciendo la proliferación de bacterias (*Streptococcus* y *Staphylococcus*), que causan enfermedades como la mastitis subclínica de esta manera afectando la calidad de la leche y sobre todo a la salud de los consumidores. Además se observa que el 45,1 % de las personas no realizan el lavado de sus manos previo al ordeño, contribuyendo de esta manera a la contaminación del producto; mientras que el 54,9 % de los ganaderos practica la limpieza previa de sus manos, utilizando simplemente agua proveniente de las vertientes de las zonas de pastoreo. Estos resultados concuerdan con estudios realizados en La Hoya de Loja por (Lima, 2004) quien señala que el 85 % de la población no realizan una buena higiene y que la falta de esta práctica probablemente sea la causa de la alta incidencia de la Mastitis Subclínica en el sector.

En relación al Diagnóstico de mastitis subclínica mediante el método California Mastitis test (CMT), se observa un alto índice de prevalencia con el 44,3 % que probablemente se debe a las malas condiciones higiénico-sanitarias durante el ordeño y la falta de conocimiento acerca de esta enfermedad por parte de los

señores ganaderos de esta población. Según (Kleinschroth, 1991) veterinario especialista en higiene de la leche expresa: La salud e higiene de la ubre son factores determinantes para obtener el mejor rendimiento en las vacas de producción lechera. Datos similares a los obtenidos por (Luna, 2005) trabajo realizado en la provincia de Loja, cantón Gonzanamá se encuentra en un porcentaje del 61.7 % de prevalencia.

El cuarto Posterior Izquierdo (P.I.) presento mayor susceptibilidad para adquirir la mastitis subclínica con un 28,9 %; mientras que en estudios similares realizados por (Luna, 2005) se determinó que el cuarto de mayor susceptibilidad fue el anterior derecho (AD) con un 24,9 %.

De acuerdo al grado de presentación se pudo evidenciar que la mastitis subclínica en este sector se encuentra en un mayor grado en forma de una cruz (+) con un 37 %. Estos resultados no concuerda con el estudio realizado por (Lima 2004) de acuerdo a sus resultados el mayor grado de presentación es en forma de trazas (T), con el 68.96 %.

De acuerdo a la raza, la Holstein fue la más sensible ya que del 2 % de la población todos resultaron positivos en un 100 %, y la criolla resulto más resistente con un 41,5 %. Según (Kleinschroth, 1991) indica gracias a la genética se han conseguido ubres muy desarrolladas y productivas pero también muy sensibles. En comparación con el trabajo de (Angamarca, 2004) en la parroquia

Gualiel del cantón Loja, menciona que en este sector la mayoría de animales comprenden a la por raza criolla con el 95 % y solamente el 5 % son de raza mestiza cruce entre la Criolla y Holstein.

De acuerdo a la edad se determinó que los animales más propensos a mastitis subclínica son los de 4 años en adelante con un porcentaje de 66,6 %. Según (Kleinschroth, 1991) la edad elevada supone mayor predisposición, por una menor tendencia a la curación, alteración de los pezones, etc. La frecuencia de la infección crece con el número de lactaciones.

El número de partos fue altamente significativo sobre el diagnóstico de mastitis subclínica del tercer parto en adelante tienen mayor susceptibilidad sobre el 77,5 %. Este trabajo coincide con los estudios realizados en el Cantón Atahualpa provincia del Oro por (Cueva y Pañaloza, 2002) y por (Zambrano, Echeverri y López, 2006) en Colombia, quienes determinan que las vacas de tres partos en adelante son más afectadas por mastitis subclínica que vacas de 1 y 2 partos. Estos resultados pueden ser producto del desgaste de las vacas multíparas por sus múltiples lactancias lo cual se asocia a conteos de células somáticas mayores.

El agente patógeno más representativo en esta investigación fue *Staphylococcus* spp, con 97,6 % de un total de 85 muestras. Estos resultados concuerdan con los datos obtenidos por (Acuña y Rivadeneira 2008) en una investigación realizada

en Pichincha, donde se encontró a *Staphylococcus aureus* con 55,5 % como patógeno más representativo de un total de 141 muestras. El mismo trabajo discrepa con la presente investigación ya que en este caso no se encontró bacterias Gram negativas.

En el caso de la sensibilidad de las bacterias Gram positivas estas presentaron características de reacción similares frente a los siguientes antibióticos siendo todas las bacterias analizadas, en su mayoría fueron resistentes para Cloxacilina ya que solo el 35,9 %, resultados que concuerdan con (Acuña y Rivadeneira 2008) estudio en el que tuvieron mayor resistencia de los gérmenes encontrados a este antibiótico. En el mismo trabajo obtuvieron sensibilidad intermedia y resistencia de las bacterias Gram negativas en la mayoría de los casos para Penicilina, datos que no concuerdan con la presente investigación que tuvimos sensibilidad en un 54,7 %.

En el presente trabajo Investigativo se encontró altos porcentajes de resistencia a los diferentes antibióticos que se utilizó, estos datos concuerdan con (Martin et al. 2002), en una investigación realizada en Chile en la Xª Región, quienes obtuvieron altos porcentajes de resistencia (> 25 %) para *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp.

6. CONCLUSIONES

El desconocimiento de la enfermedad y las malas prácticas del ordeño es un factor desfavorable a la presencia de la mastitis subclínica.

El manejo durante el ordeño el 80,2 % de los ganaderos lavan la ubre, mientras que el 19,8 % no lo realizan. En la higiene de las manos previo al ordeño el 54,9% de los ganaderos si practica la limpieza, mientras que el 45,1% de los ganaderos no lo realizan.

El mayor porcentaje de mastitis se presentó en Barrio Linderos, San Nicolás, Fátima y El Auxilio; los posibles motivos fueron desconocimiento de esta enfermedad y una mala aplicación en las prácticas de ordeño.

En la zona de estudio el 76 % de la población ganadera corresponde a la raza criolla, el 22 % mestiza y el 2 % a Hosltein; la Holstein fue la más susceptible a mastitis subclínica y la criolla fue la más resistente a esta enfermedad.

La incidencia de mastitis subclínica de acuerdo a la edad; los más susceptibles fueron los animales de 4 años en adelante con el 67 % esto se debe a la alteración que sufren los pezones con la edad y una menor tendencia a la curación debido a la baja de defensas.

Las vacas más sensible a mastitis subclínica fueron las del tercer parto en adelante con el 78%.

En la leche las bacterias Gram positivas más representativas fueron: estafilococos con el 12 %, estreptococos 8 % y gérmenes mixtos el 80,0 %, mientras que hubo ausencia de las bacterias Gram negativas.

Los antibióticos más eficientes contra las bacterias Gram positivas fue Neomicina con el 64,1 %, Penicilina 54. 7, Tetraciclina 46,9 %, Gentamicina 44 %, Kanamicina 42 %, cloxacilina 36 % y Estreptomicina 35,9 %.

Existe una pérdida total de 18,4 litros de leche por día, el costo de \$0.60 centavos (USD) por litro, resulta un total de 11 (USD) diarios de pérdidas, lo que representa un total de 3364.9 (USD) anuales a nivel de la Parroquia Chantaco.

7. RECOMENDACIONES

Es necesario capacitar a los ganaderos sobre la importancia de mantener buenas normas de higiene durante el proceso del ordeño: lavado, secado y sellado de la ubre; lavado de las manos y utensilios; así como los efectos negativos de la enfermedad en la salud de los consumidores y también en lo relacionado a las pérdidas económicas que genera la presencia de la mastitis en los hatos ganaderos.

Se recomienda realizar la prueba de California Mastitis Test (CMT) mensualmente a fin de detectar en forma oportuna la mastitis subclínica para facilitar su control y consecuentemente mejorar la calidad de la leche, redundando en la salud de los consumidores.

Utilizar para el control de la mastitis los antibióticos: Neomicina, Penicilina, Tetraciclina y Gentamicina por ser más eficientes.

Continuar investigando sobre la sensibilidad de los gérmenes generadores de la mastitis subclínica a fin de lograr determinar antibióticos con mayor eficiencia, lo que redundará en mayor rentabilidad para los pequeños ganaderos.

8. BIBLIOGRAFÍA

Acuña, V. 2008. Aislamiento, Identificación y Antibiograma de patógenos presentes en leche con mastitis en ganaderías bovinas en la provincia de Pichincha. Sangolquí, Ecuador, tesis previa la obtención del título de Ing. Agropecuario. Consultado 5 Jun 2011. Disponible en:

<http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2553/1/T-ESPE-IASA%20I-003435.pdf>

Agila, C. 1975. Identificación y Sensibilidad a los principales antibióticos de los gérmenes de la mastitis bovina en la Hoya de Loja. Pp. 14-21.

Alburg S. A, 2003, Mastitis; LatínSalud_com.htm, pp 59, 70, 104.

Angamarca, J. 2004. Diagnóstico de Mastitis Subclínica en bovinos de la parroquia Gualal del cantón Loja. Pp.7-10.

Angamarca y Paqui, 1990, Diagnóstico de la mastitis subclínica en bovinos en el cantón Saraguro de la provincia de Loja, por el método California Mastitis Test.

Codena, 2003. Diagnóstico de mastitis subclínica en bovinos en la Parroquia Yangana de la Provincia de Loja.

Barragán, Segundo, 1998, Mastitis, Descripción y Desarrollo de la enfermedad. Folleto del departamento de Patología Clínica y Sanidad Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias. Loja - Ecuador. pp. 1 – 12.

Blood, D.E. Henderson, J.A., 1988. Medicina Veterinaria. 6ta edición. México DF., Editorial Interamericana. pp. 541-542

Burh, S. 1980. Guía veterinaria para ganaderos. México, DF. MX. UTEHA. Pp. 104-107.

Cappa Vittorio; 1988, Libro, Cría de la vaca y el ternero, Barcelona-España pp. 145-154

Corbellini, Carlos N. 2003. III Seminario Internacional Competitividad en leche y carne. La mastitis bovina y su impacto sobre la calidad de la leche, Argentina. Consultado 2 jul 2010. Disponible en: www.e-campo.com.

Cueva, D; Peñaloza, G.2001. Diagnóstico de Mastitis Subclínica por dos métodos: California Mastitis Test y Conductividad Eléctrica; en bovinos del cantón Atahualpa, provincia de el Oro. Loja, Ecuador. Tesis previa a la obtención del título de Dr. En Medicina Veterinario y Zootecnia. Pp 37, 41.

Ensminger, M. 1978. Producción bovina para la leche. México, DF. MX. Interamericana. Pp. 287, 324- 326, 357-359. (Biblioteca de Producción Animal).

Espinosa, Diego. 2005. Diagnóstico de Mastitis Subclínica en bovinos por el método CMT en el Cantón Celica. Provincia de Loja. Pp. 4-11-2019.

García, J. 1979. Manual de Ordeño Mecánico. Madrid.Es. Ministerio de Agricultura. Pp. 178-179.

Gómez, A. 1994. Boletín técnico N° 3. Quito, EC. Laboratorios LIFE. Pp. 2-3.

LIFE, 2000, Vademécum veterinario; enfermedades de bovinos, equinos y porcinos; Quito, Ecuador. Pág. 76.

Kleinschroth, E. 1991. La mastitis: diagnóstico, prevención y Tratamiento. Barcelona, ES. EDIMED. Pp. 5, 6 y 11.

Koeslag, J. 1985. Bovinos de Leche. Mexico. DF. MX: Trillas. Pp. 31, 37.

León, F. 1983. Manual del ganadero, 8va edición. Quito (Ecuador). Editorial Poligráfica Cárdena, Pp. 3-4.

Lima, M. 2004. Diagnóstico de mastitis subclínica en bovinos de la hoyada de Loja mediante la prueba del C.M.T. (California Mastitis Test). Pp. 21-29

Lor Juan J, et al 2000, aspectos básicos sobre el desarrollo de la mastitis, Ordemex. Blocksburg, pp 18 – 25

Luna, A. 2005. Prevalencia de Mastitis Subclínica por el Método de California Mastitis Test en el cantón Gonzanamá. Pp. 4-6

MAG, 2000. Producción de leche. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Quito, Ecuador. Estadísticas PP. 5-6

MANUAL AGROPECUARIO, 2002, Libro; Mastitis. Biblioteca de Campo. Primera Edición. Bogotá- Colombia, pp. 90.

Mayberry, W. 2002. Coloración Gram. East Tennessee State University USA. (En línea). Consultado 2 jul 2010. Disponible en:

www.microbelibrary.org/ASMOOnly/details.asp?id=1095&Lang=Spanish

MERCK, 2000. El manual de Merck de veterinaria 5 ed. Barcelona, ES.

Océano. Pp. 1164-1166.

Martin, B. 2002. Resistencia bacteriana en cepas patógenas aisladas de mastitis en vacas lecheras de la V Región, Región Metropolitana y Xª Región, Chile. Universidad Austral de Chile. (En línea). Chile. Consultado 2 mar 2007. Disponible en <http://www.scielo.cl>.

Torres, H. y López, M. 1984. Mastitis Subclínica en el Proyecto de Queserías Rurales del Ecuador. Quito-Ecuador. Editorial Mendieta. Pp. 9- 12

Val, D. 2010. Los Antibióticos. On line (en línea). Consultado 10 Ene. 2011.

Disponible en:

<http://www.microinmuno.gb.fcen.uba.ar/SeminarioAntibioticos.htm>

Vorbelk, G. Gómez, A 1994. Terapia veterinaria. Boletín Informativo Trimestral LIFE. Quito, EC. Pp. 2-3.

Wattiaux Michel A. 1999; Mastitis La enfermedad y su transmisión. Cap. 23. Instituto Babcock para el desarrollo y la investigación Internacional de la lechería. Madison. Babwebcalshp.cals.wisc.edu. pp 193 – 205

West, G. 1994. Diccionario Enciclopédico de Veterinaria. 19^a ed. Barcelona España. Editorial TEXT. Pp. 518-519-520.

Zambrano JC, Echeverri J, López-Herrera A. Alelos del gen BoLA DRB3.2 están asociados con mastitis en vacas lecheras. Rev Colomb Cienc Pecu 2011;

Consultado 2 jul 2011. Disponible en:

[www.uco.es/conbiand/aica/templatemo_110 lin.../getfile.php?](http://www.uco.es/conbiand/aica/templatemo_110_lin.../getfile.php?)

9. ANEXOS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

**ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

Proyecto de tesis: “Diagnóstico de mastitis subclínica por el método California Mastitis Test, Aislamiento, Identificación y Sensibilidad del germen en las ganaderías de la parroquia Chantaco del cantón Loja.”

ANEXO 1. Registro de incidencia de la Mastitis Subclínica.

Nombre del propietario.....Tipo de finca: Grande ();
Mediana (); Pequeña (). Sistema de Manejo:.....
Animales en Producción..... Barrió.....

Nombre del animal	Cuartos Mamarios				Cuartos positivos	Litros	Edad	Raza	N. de partos
	AI	PI	AD	PD					
	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++					
	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++					
	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++					
	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++					
	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++					

SIMBOLOGIA:

AI: Anterior izquierdo
PI: Anterior derecho
AD: Posterior izquierdo
PD: Posterior derecho

N: Negativo
T: Traza
+: Una cruz
++: Dos cruces
+++: Tres cruces

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Proyecto de tesis: "Diagnóstico de mastitis subclínica por el método California Mastitis Test, Aislamiento, Identificación y Sensibilidad del germen en las ganaderías de la parroquia Chantaco del cantón Loja."

ANEXO 2. Boleta de Campo para Identificar las Condiciones Higiénico Sanitarias del Ordeño

Número de vacas en producción _____

1. Estado de las vacas

a) # vacas sanas:

b) # vacas enfermas.

c) Se realiza el control de enfermedades infecto contagiosas. SI ___ NO ___

d) Se curan heridas de los pezones. SI ___ NO ___

2. Aseo de las vacas

PREORDEÑO

Se realiza el:

a) Aseo de la vaca en el pre-ordeño SI ___ NO ___

b) Aseo de la ubre:	Cepillado	SI ___	NO ___
	Lavado	SI ___	NO ___
	Secado	SI ___	NO ___
	Sellado	SI ___	NO ___
	Aseo del ordeñador	SI ___	NO ___

c) El masaje es en forma: Suave ___ Fuerte ___ o con ternero _____

d) Se realiza depilado de la ubre SI ___ NO ___

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Proyecto de tesis: Diagnóstico de mastitis subclínica por el método California Mastitis Test, Aislamiento, Identificación y Sensibilidad del germen en las ganaderías de la parroquia Chantaco del cantón Loja.”

ANEXO 3. Registro de las Pérdidas Económicas Ocasionadas por la Mastitis Subclínica.

#. Vaca o Nombre	Cuartos Mamarios				Pérdida en lit. por cuarto	Pérdida Total en lit.	Pérdida en \$
	AI	PI	AD	PD			
	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++			
	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++			
	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++			
	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++			
	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++	Trazas + ++ +++			

FOTOGRAFIAS

9.1. TOMA DE MUESTRAS Y PRUEBA DEL CMT



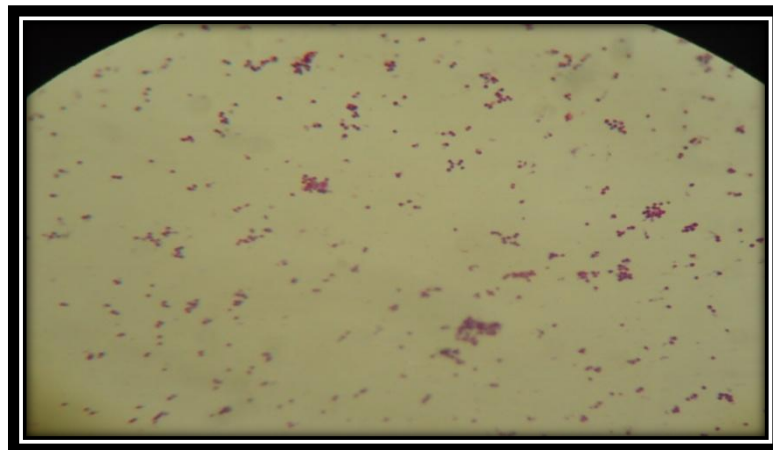
9.2. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO



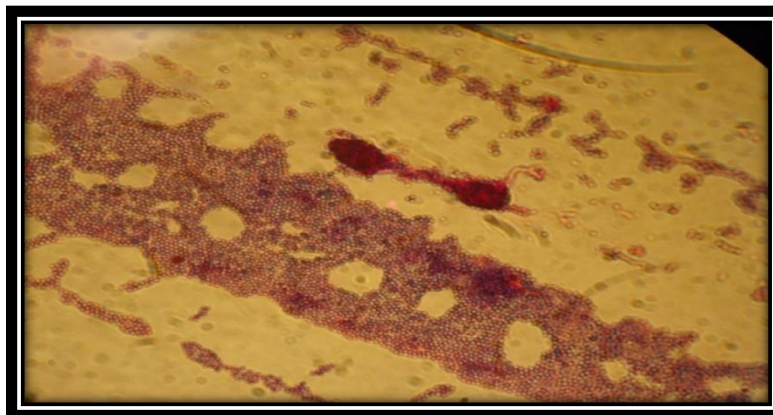
9.3. SIEMBRA DE MUESTRAS



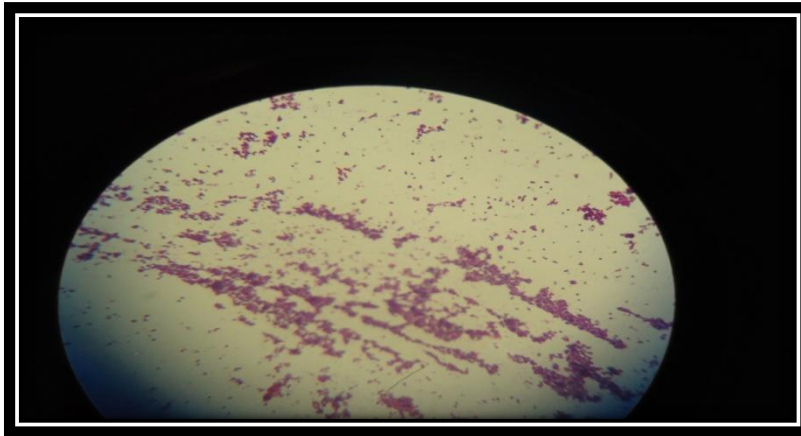
9.4. COLORACIÓN DE PLACAS E IDENTIFICACIÓN DEL GERMEN



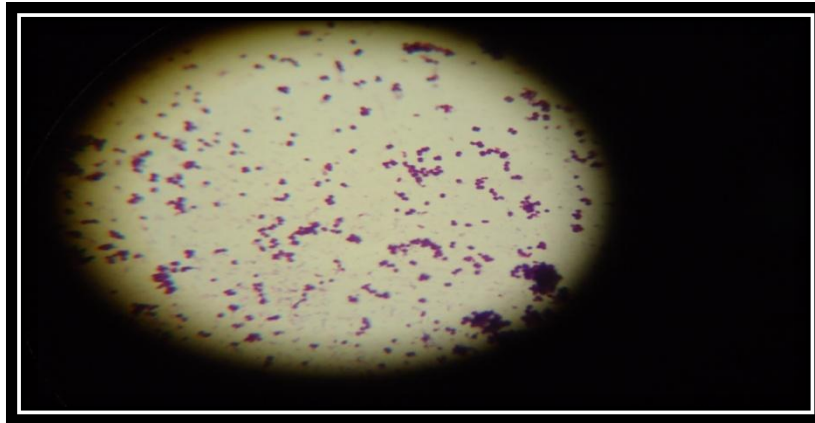
Streptococcus



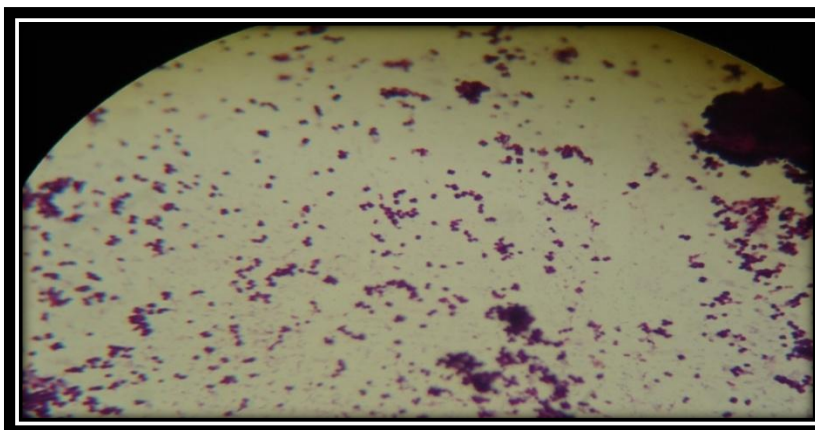
Staphylococcus



Staphylococcus

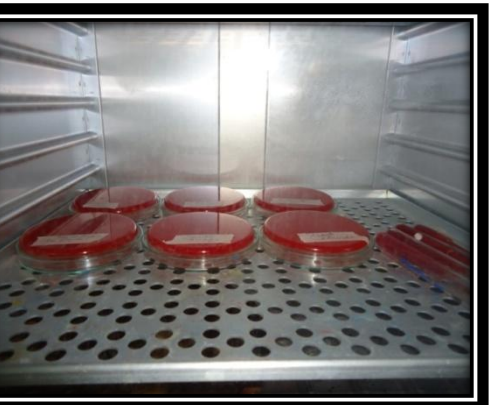
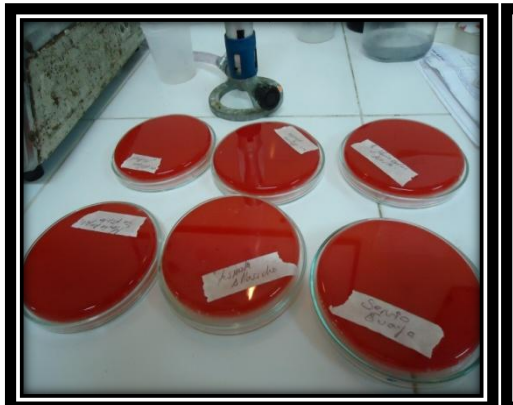


Streptococcus



Streptococcus

9.5. ANTIBIOGRAMAS





9.6. EXPOSICIÓN DE RESULTADOS EN LA PARROQUIA CNANTACO

