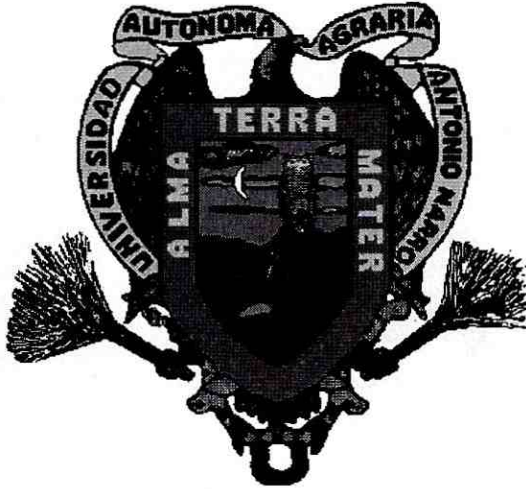


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**“RESISTENCIA INTRÍNSECA A GENTAMICINA  
POR *Staphylococcus aureus* EN LECHE DE  
VACAS CON MASTITIS CLÍNICA”.**

**POR:**

**JOSÉ LUIS HERNÁNDEZ PAULÍN**

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”  
UNIDAD LAGUNA.**

001594

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

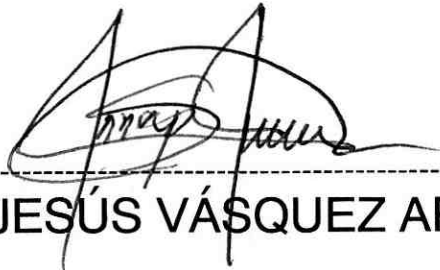
**“RESISTENCIA INTRÍNSECA A GENTAMICINA  
POR *Staphylococcus aureus* EN LECHE DE  
VACAS CON MASTITIS CLÍNICA”.**

**T E S I S**

**POR:**

**JOSÉ LUIS HERNÁNDEZ PAULÍN**

**ASESOR PRINCIPAL:**



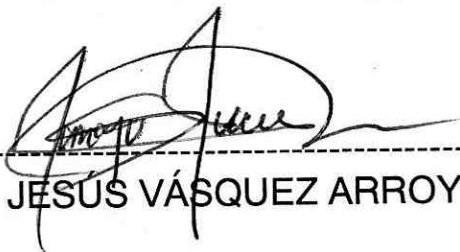
---

**DR. JESÚS VÁSQUEZ ARROYO**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

**PRESIDENTE DEL JURADO:**



---

**DR. JESÚS VÁSQUEZ ARROYO**

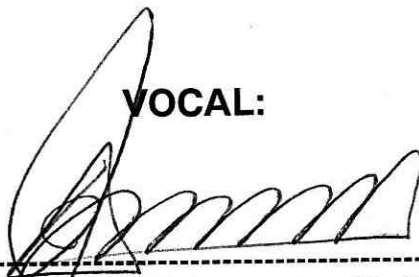
**VOCAL:**



---

**M. V. Z. E. P. MARIA HORTENSIA CEPEDA ELIZALDE**

**VOCAL:**



---

**M. V. Z. JESÚS ALFONSO AMAYA GONZÁLEZ**

**VOCAL SUPLENTE**



---

**DR. AGUSTÍN CABRAL MARTELL**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA**

**POR:**

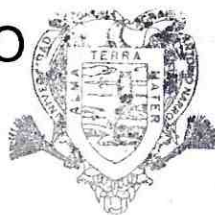
**JOSÉ LUIS HERNÁNDEZ PAULÍN**

**TESIS QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN  
DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO REQUISITO  
PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA.**

**APROBADO POR:**

  
-----  
**DR. JESÚS VÁSQUEZ ARROYO  
PRESIDENTE DEL JURADO**



  
-----  
**M. V. Z. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA  
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE  
CIENCIA ANIMAL**

Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal  
UAAAN - UL



## DEDICATORIA

### A MI DIOS

Mucho agradezco A mi Dios, por brindarle la paz y tranquilidad a mi corazón y que no permite que desfallezca en los momentos críticos y difíciles de mi vida.

### A MIS PADRES:

#### A MI PADRE.

Sr. Francisco Hernández Ramírez.

Al dulce y tierno memoria con todo respeto y agradecimiento por el aliento de superación que siempre me inculco en mí; con sus deseos de amor sembró un germen de bondad en cada hijo para formar hombre de bien.

#### A MI MADRE

Sra. Catalina Paulín Pérez.

Con profundo admiración y gran cariño. Por darme la existencia y por cuyo grande amor por sus hijos, se ha esforzado y sacrificado, logrando darnos lo mejor de sí misma. Por que es una luz que me guía, una mano extendida que me dice: puedo ayudarte.

### A MIS HERMANOS:

Emilio ; Quien siempre me ha mostrado todo su afecto y me ha motivado con su apoyo incondicional y en todo momento para seguir adelante. María Isabel, Julia, Marcelina, Ernestina, Juan , Pedro, Paula. Porque unidos continuemos el camino hacia nuestra superación.

### A MIS TÍOS

Cirilo Hernández Basilio y Sra. María Isabel Hernández Hernández, sus hijos: Cirilo, Gregorio; Quienes siempre me dieron ánimos y apoyo en la culminación de mi carrera.

### A MI ESPOSA

Marina Doroteo Zamora.

Que con su amor, cariño, apoyo y comprensión, me motivo a seguir adelante y lograr este objetivo.

### A MIS HIJOS

Maritza, Dalia, Aída Isabel, que siempre habrá una razón para seguir adelante.

A MIS ETERNOS AMIGOS DE LA JUVENTUD.

M. V. Z. Guillermo Hernández, M. V. Z. Juan Maldonado, M. V. Z. Roberto Hernández., M. V. Z. Antonio Cruz, M. V. Z. Ricardo Martínez, M. V. Z. Edgar Camargo, M. V. Z. Pedro Corona, con quienes compartí penas y alegrías.

A mis compañeros y amigos de la generación 1996-2001.

A todos aquellos que me brindaron su amistad y apoyo durante mi estancia en la universidad.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco profundamente a mi ALMA TERRA MATER, por haber permitido que terminará mi formación como profesionista dentro de sus aulas.

Al Dr. Jesús Vásquez Arroyo por su profundo interés y disponibilidad mostrados hizo posible la realización de mi tesis.

Al Sr. Carlos Slim Elu presidente de teléfonos de México (Telmex) por haberme apoyado con una beca económica durante mi estancia en la universidad que de alguna u otra manera contribuyera para la terminación de esta meta.

Al Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología (COECYT) por haberme apoyado con una beca económica para la realización e investigación científica para la terminación de mi tesis.

Al M. C. Pedro Antonio Robles Trillo. Por su buena disposición y consejos. Mi afectuoso gratitud a su apoyo incondicional para llevar a cabo el presente trabajo.

A todos los maestros que de alguna manera aportaron parte de sus conocimientos para que yo terminara mi formación académica.

# INDICE

PÁGINA.

<b>RESUMEN</b>	4
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	6
<b>II. OBJETIVO</b>	8
<b>III. HIPÓTESIS</b>	8
<b>IV. REVISIÓN DE LITERATURA.</b>	9
4.1. Anatomía e histología de la glándula mamaria.	10
4.2. Inmunología de la glándula mamaria.	11
4.3. La leche y sus componentes.	14
4.4. Microorganismos contagiosos.	15
4.5. <i>Staphylococcus aureus</i> .	16
4.5.1. Mastitis.	16
4.5.2. Características de la infección.	17
4.6. Patogenia clínica.	17
4.6.1. Epidemiología de mastitis y fisiopatología.	18
4.7. clasificación de la mastitis.	19
4.7.1. Mastitis clínica.	19
4.7.2. Mastitis aguda.	19
4.7.3. Mastitis subclínica.	19
4.7.4. Mastitis crónica.	20
4.8. Métodos de detección de mastitis.	20
4.8.1. Prueba de despunte:	20
4.8.2. Prueba de California.	22
4.8.3. Prueba de Wisconsin.	23
4.8.4. Conteo de células somáticas (CCS).	23
4.8.5. Análisis de muestra para mastitis en tanque.	25
4.8.6. Prueba de catalasa.	26
4.8.7. Cultivo de bacterias a través de muestra de leche.	26
4.9. Tratamiento a través de antibióticos.	25

4.9.1. Tratamiento homeopático.	35
4.9.2. Resistencia de antibióticos.	36
4.9.3. Reservorios primarios en hatos lecheras.	38
4.9. 4. Un programa para control de mastitis.	38
4.9.5. La erradicación de <i>Staphylococcus aureus</i>	40
<b>V. IMPLICACIONES SANITARIAS.</b>	41
5.1. Detección de problemas vinculados a los residuos de antibióticos.	41
5.2. Métodos para la detección de residuos de antibióticos en leche.	44
<b>VI. MATERIALES Y METODOS.</b>	46
6.1. Ubicación del experimento.	46
6.2. Material biológico.	46
6.3. Variables de estudio.	46
6.4. Conteo celular somático (CCS).	48
<b>VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	49
<b>VIII. CONCLUSIONES</b>	56
<b>IX. CONTRIBUCIONES</b>	57
<b>X. REFERENCIAS</b>	58

## ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Características de la inmunidad innata y específica (adaptativa).	13
CUADRO 2. Formato de diagnóstico de Mastitis.	21
CUADRO 3. Comparación de pruebas de California y conteo celular somático	22
CUADRO 4. Datos sobresalientes de fármacos comunes para tratamiento de mastitis.	28
CUADRO 5 Fármacos en la terapéutica intra mamaria y sistémica de la mastitis bovina.	33
CUADRO 6 Muestra de resistencia de antibióticos de 86 aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> en Noruega de mastitis bovina.	37
CUADRO 7 Niveles permitidos de algunos fármacos en muestras de leche.	45
CUADRO 8 Determinaciones de la carga microbiana (UFC/ ml y conteo Celular Somático de muestras de leche provenientes de vacas con tratamiento para mastitis clínica durante tres muestreos.	50
CUADRO 9 Determinaciones de la CMI por la gentamicina de 26 aislados de <i>S. aureus</i> .	54



## RESUMEN

La mastitis es un proceso inflamatorio del tejido de la glándula mamaria que se genera a partir de factores físico- químico-mecánico y de tipo infeccioso, provocado por bacterias oportunistas como el *Staphylococcus aureus* en forma aguda y en forma crónica las bacterias de tipo ambiental, tales como *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli*, virus y levaduras. La infección intramamaria (IMI) es confirmada por varias pruebas como: conteo celular somático, prueba de California, prueba de Wisconsin y cultivos bacterianos, cuando un animal se califica positivo se aplica un tratamiento en general con antibióticos la consecuencia residual en leche por estos antibióticos ha creado resistencia a gérmenes patógenos, alergias, reacciones cancerígenas estos se observan en los consumidores de este tipo de leche que pueden ser humanos o el propio animal; Sin embargo, en este trabajo se estudiaron y se determinaron en 30 muestras la carga bacteriana (UFC/ml) y Conteo Celular Somático de muestras de leche provenientes de vacas que estaban en tratamiento para mastitis clínica, también se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria por la gentamicina de 26 aislados de *Staphylococcus aureus*. Para crear la probabilidad de reducir la presencia de bacterias patógenas, su resistencia sobre los distintos antibióticos, disminuir el Conteo de Células Somáticas, que para nosotros es de importancia para la salud en forma particular de humanos. Las muestras fueron tomadas en un Establo particular que por norma de ética profesional no se menciona el nombre del productor en la cual ubicado en el poblado de Jabonoso Gómez Palacio, Durango, en los meses Abril--Junio, Septiembre –Octubre del 2001, las muestras se llevaron al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. U. L., procesando los cultivos de aislamientos por medios de pruebas en Base de Agar Baird Parker, yema de huevo estéril más telurito al 1% para el aislamiento selectivo de *Staphylococcus aureus*, Agar para *Staphylococcus* No.110 para el aislamiento selectivo y recuento de estafilococos, En los resultados se presentaron como presencia o ausencia basados en características morfológicas y coloración de la colonia en el medio de cultivo, los resultados que se obtuvieron en el primer muestreo bajo tratamiento con

antimicrobiano la presencia de *Staphylococcus aureus* y conteo de números de colonia, se dieron datos promedios de 3,400.00 UFC/ml de leche. El segundo muestreo transcurrido 3 días de tratamiento, el lote testigo se redujo en colonias con un promedio de 800.000 UFC/ml. Se concluye que tratamientos con dosis de gentamicina recomendada por el laboratorio es multirresistente el *Staphylococcus aureus*, que se caracteriza por ser un agente patógeno contagioso, en el campo de la mastitis clínica bovina, la reducción de conteo celular somática no fue significativa, el dato significativo es propio de utilizarse en futuros estudios de antibióticos especialmente en tratamientos dirigidos a mastitis bovina así como el establecimiento de medidas preventivas para reducir la exposición de patógenos contagioso que afecta la teta, tales como: una higiene estricta en el momento de la ordeña aplicación de desinfectantes eficaz en la teta para prevenir la propagación del *Staphylococcus aureus* que es un patógeno contagioso.

## I.- INTRODUCCIÓN.

La mastitis bovina es una enfermedad multifactorial y es una de las más difíciles de controlar. La mastitis es una de las infecciones más importantes que afecta a las vacas lecheras y con ellas las continuas pérdidas económicas asociadas representan una preocupación para los productores. Se estima que la mastitis afecta en un promedio de 37.5% de las vacas en producción. Las pérdidas estimadas son mucho mayores a los 2,000 pesos anuales por vaca infectadas por mastitis (Aguilar- Valdez et al., 1999).

Esta puede ser causada por diferentes especies bacterianas, de las más comunes son *Staphylococcus* y *Streptococcus*.

Mastitis, término proveniente del griego “mastos” que significa “pechos” e “itis” que significa “inflamación”, finalizado con el término, inflamación de la glándula mamaria, el cual tiene una mayor predilección en el ganado bovino, que por su gran capacidad genética se encuentra especializado en la producción de leche, como ejemplos, Algunas razas como son Holstein, Suiza, Jersey. La mastitis pueden ser causadas por: microorganismos contagiosos (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactie*, *Mycoplasma bovis*, *Corinebacterium bovis*), microorganismos del medio ambiente (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli*); microorganismos oportunistas (*Staphylococcus aureus*). Y otros microorganismos. La prevalencia de la especie varía geográficamente, temporalmente y también debido a las medidas de control adoptadas en establos. Además, diferentes patógenos son típicos de diferentes tipos de mastitis (clínica, subclínica o mastitis de ternera) (Alais, 1970).

A nivel regional de la Comarca Lagunera, se manejan 192, 078 cabezas de ganado, con una variación en aumento de un 16.3%. La producción de leche oscila en 1, 540,365,000 litros con una variación en aumento de 5.5% datos sobre salientes ( SAGARPA, 2000).

Existen tratamientos propios a partir de antibióticos que son los más usuales para contrarrestar infecciones creadas en la glándula mamaria, como ejemplo tenemos: penicilinas (sódicas, potásicas, procaínicas, benzatinicas), bacitracina, colicistina, que se caracterizan por ser de espectro reducido. Pudiendo mencionar algunos ingredientes activos también utilizados como son las cefalosporina, aminoglicosidos, macrolidos, nitrofuranos, tetraciclinas, quinolonas, caracterizados por ser de amplio espectro.

Se presenta como alternativa una Solución, para reducir la presencia de microorganismos en particular el *Staphylococcus aureus* como microorganismo contagioso u oportunista mediante la realización de aislamiento de la bacteria, la realización de antibiogramas, métodos de higiene estricto para poder sugerir términos para las concentraciones de antimicrobianos en tejidos; Concentración bactericida óptima, cuando se logra la máxima tasa de mortalidad bacteriana; Concentración mínima inhibitoria; a la concentración de fármacos necesario para inhibir el desarrollo del microorganismo y concentración mínima antibacteriana, cuando se obtiene un efecto antimicrobiano a pena perceptible.

Es importante mencionar que nuestra investigación tratará de analizar la presencia de *Staphylococcus aureus* con resistencia a tratamientos antimicrobianos en vacas lecheras con mastitis clínica, su grado de acción la reducción de microorganismos patógenos, así como la probabilidad de disminuir el conteo de células somáticas por mililitro de leche.

A pesar de que la gentamicina tiene una distribución moderada o baja, su gran potencial la ha constituido como opción para una amplia gama de infecciones. Se absorbe bien en los sitios de aplicación y brinda biodisponibilidades superiores a 90%; más aún, se absorbe del útero para generar valores séricos y tisulares importantes, que varía entre las 4 y 13 ordeñas. Idealmente, se recomienda mantener durante la mitad o dos terceras partes del intervalo de dosificación, concentraciones plasmáticas superiores a los 10 a 12  $\mu\text{g}$  / ml para lograr una eficiencia máxima. Se reconoce, en forma práctica, que una bacteria con una concentración mínima inhibitoria de 8  $\mu\text{g}$  /ml o más, es resistente al tratamiento con gentamicina (Sumano0, 1997).

## II. OBJETIVOS.

### Objetivo general.

Determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* y su resistencia intrínseca a antibióticos (gentamicina), en muestras de leche proveniente de vacas con mastitis clínica.

## III. HIPÓTESIS.

A pesar del tratamiento de la mastitis clínica con antibiótico encontraremos a *Staphylococcus aureus* presente en leche.

#### IV. REVISIÓN DE LITERATURA.

La Comarca Lagunera es una de las zonas más importantes a nivel nacional por su gran tecnología y alta genética en sus animales le permite que con una menor cantidad de cabezas de ganado lechero que otros estados de la república, produzca mayores cantidades de leche y de mejor calidad.

Las cuentas bacterianas elevadas deforman el sabor de la leche y a la vez indica la prevalencia de la mastitis en el hato, la cual reduce la producción de leche en los cuartos afectados y aumenta la adulteración con antibiótico o sustancias químicas lo que resulta en la contaminación de tanques completos de leche. Por la pérdida más importante es cuando la leche no satisface las exigencias del consumidor, porque a la larga se reduce el consumo. De ahí la producción de leche de alta calidad es de interés para el productor lechero (Núñez, 1997).

Aún existen personas, incluyendo productores lecheros, que creen erróneamente que el proceso como la filtración, la pasteurización y la homogeneización dan como resultado productos lácteos de alta calidad (Nelson, 1994).

“Leche de calidad”, se califica a través de los constituyentes de la leche como son: cuenta bacteriana, aspecto, conteo de células somáticas (CCS) y adulteración. La leche se compone de 87.3% de agua, 3.8% de grasa y 8.6% de sólidos no grasos (SNG), se incluyen azúcar (lactosa), proteína (caseína), y minerales (calcio y fósforo). La cantidad exacta de cada constituyente varía ligeramente con las diferentes razas y líneas genealógicas del ganado lechero (Nelson, 1994).

Pruebas de droga sensibilidad in vivo: agente de diagnóstico para el estudio “in vivo” de la sensibilidad de *Staphylococcus aureus*. Esta prueba se fundamenta en que al colocar un multidisco impregnado con diferentes antimicrobianos, sobre un medio sólido inoculado con la bacteria, el antimicrobiano difundirá, formándose un gradiente (halo) de concentración, el cual inhibirá o permitirá el crecimiento de la bacteria.



Concentración mínima inhibitoria (CMI).

La concentración mínima del antibiótico, capaz de bloquear el crecimiento bacteriano visible en el tubo, se define como la concentración mínima inhibitoria del fármaco para dicho microorganismo; la gentamicina su CMI es de 10 - 12  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , (Sumano. 1997). En la cual se comprobó que el *Staphylococcus aureus* fue resistente a la gentamicina.

#### 4.1. Anatomía e histología de la glándula mamaria.

La glándula mamaria y las células que la constituyen representan un órgano bajo un complejo control endocrino que va desde estados tempranos de desarrollo, a la preñez y lactación en el ciclo regresivo (Larson,1997).

Dentro de la teta el canal del pezón es un ducto que se comunica con una cavidad cuya capacidad es de 30- 45 ml, llamada cisterna de la teta, que se separa del canal del pezón por una serie de tejidos plegados, generalmente en número de cuatro a ocho que radia en varias direcciones, recibiendo el nombre de rosetas de Furstenberg, y sirve como un medio adicional para prevenir la salida de la leche (Ensminger, 1980).

La cisterna de la teta, se separa de la cisterna de la glándula por un nuevo doblez de tejido. Ramificaciones de la cisterna de las glándulas forman un sistema extensamente ramificado, conductos mamarios, el alvéolo (millones, unidad funcional), descarga sus secreciones en estos ductos (Pérez- Gavilán y Pérez-Gavilán,1984).

La unidad básica productora de leche en la ubre es pequeña y semejante a un bulbo con un centro hueco y recibe el nombre de alvéolo. Cuando un alvéolo llena a su capacidad tiene un diámetro aproximado de 0.1 a 0.3 mm. (Ensminger, 1980).

Los alvéolos están formados por una capa de células epiteliales, que son responsables de secretar leche, la función es triple:

- Remueve nutrimento a la sangre.
- Transforma estos en leche.
- Descarga leche en el lumen.

En el intervalo de los ordeños la leche se acumula en los espacios alveolares, en los ductos de la leche y en las cisternas (Philpot y Nickerson, 1992).

Cada alvéolo esta rodeado por una red de capilares de los cuales se extraen el nutrimento. También se encuentran rodeados por un tipo especializado de células musculares llamada células mioepiteliales que son sensibles a la oxitocina. Cuando la oxitocina es secretada en la sangre estimula la concentración de estas células musculares, iniciándose la eyección de leche (Ensminger, 1980).

La secreción de leche esta regulada primordialmente por los mecanismos hormonales. Sin embargo, la excreción de la leche se inicia a través de mecanismos nerviosos (Pérez – Gavilán, 1984).

#### **4.2. Inmunología de la glándula mamaria.**

Factores de inmunidad innata y específica asociados con tejidos de la glándula mamaria y la secreción, también tienen una función vital en la protección de la glándula de enfermedades infecciosas. Factores asociados con el manejo intensivo del ganado lechero pueden afectar profundamente la inmunología de la glándula mamaria y la capacidad del hospedero para resistir a la mastitis. En años recientes, considerables esfuerzos se han enfocado en aumentar los mecanismos de defensas naturales de la glándula mamaria durante periodos de la más alta susceptibilidad a la enfermedad (Sordillo, et al, 1997).

Una forma para decrecer el impacto de la mastitis sobre la industria lechera es incrementar la capacidad natural de la vaca para resistir a la enfermedad. La defensa de la glándula mamaria contra los patógenos causales de la mastitis es mediada por varios factores anatómicos, celulares y protección soluble, (Bellanti, 1994).

La inmunidad innata también conocida como natural o nativa, es una defensa predominante durante las primeras etapas de la infección. Respuestas no específicas están presentes o son activada rápidamente en el sitio de infección por numerosos estímulos; sin embargo, ellas no son aumentadas por repetidas exposición del mismo daño. La respuesta innata o no específica de la glándula mamaria esta mediada por las barreras físicas del extremo de la teta, macrófagos,

neutrófilos, células como eliminadores naturales NK y por ciertos factores solubles. Inversamente lo específico o sistema de inmunidad adquirida, reconoce determinantes específicos de un patógeno que facilitan la eliminación selectiva. El reconocimiento de factores patogénicos esta mediado por anticuerpos macrófagos y varias poblaciones linfoides. Debido a la "memoria" de ciertos linfocitos, la respuesta de inmunidad específica puede ser aumentados por repetidas exposiciones un patógeno. En la glándula mamaria, tanto los factores de protección adquirida e innatos están coordinados para proveer optima protección de la enfermedad (Tizzar, 1995).

**Defensa anatómica.** La mastitis se presenta cuando la bacteria gana la entrada a la glándulas mamaria utilizando como vía el canal de la teta. por esta razón el extremo da la teta, se considera la primera línea de defensa. El canal de la teta esta forrado con queratina, la estructura de la queratina permite atrapar bacterias invasoras, así evita su migración en la cisterna de la glándula. Ya que existen agentes bacteriostáticos tales como el mirístico, palminoleíco y linoleico. Adicionalmente, proteínas catódicas en el canal pueden unir electrostáticamente a patógenos de la mastitis, que altera las paredes bacterianas, así proporcionan la mayor susceptibilidad a la presión osmótica (Sordillo, et al,1997).

**Defensa celular.** Patógenos que son capaces de atravesar la abertura del pezón estableciendo una infección intramamaria (IMI), el CCS, consiste de varios tipos de células, incluyendo neutrófilos, macrófagos, linfocitos y una pequeña porción de células epiteliales. En la glándula mamaria lactante sana, el total de CCS son con frecuencia <100,000 por ml. de leche. Durante una IMI, sin embargo, el CCS puede incrementarse a >1,000,000 CCS/ml justo dentro de pocas horas. Diversos estudios han demostrado que la severidad y duración de la mastitis esta críticamente relacionada al retardo de la respuesta migratoria de los leucocitos y la actividad bactericida de CCS en el sitio de infección, (Sórdillo, et al, 1997). Algunas bacterias liberan subproductos, enterotoxinas o componentes de pared celular para que ellos crezcan y colonicen la glándula mamaria. Estos factores bacterianos tanto directa e indirectamente sirven como quimioatrayentes para

leucocitos. Si el CCS se mueve rápidamente del torrente sanguíneo y son capaces de eliminar el estímulo inflamatorio (bacteria), entonces el reclutamiento de leucocitos cesa y los niveles de CCS retornan a niveles saludables. Prolongada diapédesis de leucocitos, la bacteria causa daños al tejido parenquimal mamario, resultando en un decremento de la producción de leche. Los neutrófilos componen el 90% del total de los leucocitos. Los antígenos de las bacterias ingeridas son procesados y presentadas dentro del macrófago. Existiendo también linfocitos B y T, que se ha determinado también su acción en IMI. Aunados a ellos las células NK, que participan activamente en IMI, (Sórdillo et al, 1997).

**Cuadro 1. Características de la inmunidad innata y específica (adaptativa), (Abbass, et al., 1999).**

<b>Características</b>	<b>Innata</b>	<b>Específica (adaptativa)</b>
<b>Características</b>	Relativamente baja	Alta
Especificidad por los microorganismos	Limitada	Amplia
Diversidad	Relativamente estereotipada	Muy especializada
Especialización Memoria	No	Sí
<b>Componentes</b> Barreras físicas y químicas	Piel, epitelio, mucosa, productos químicos, antimicrobianos (ej. defensas)	Sistema inmunitarios, cutáneos y mucosos; Secretores.
Proteínas sanguíneas	Complemento	Anticuerpos.
Células	Fagocitos (macrófagos, neutrofilos), células citocidas naturales.	Linfocitos B, T, NK.

**Defensas solubles.** Los factores solubles están asociados con funciones de defensa de la glándula mamaria aunados con defensa celular en leche y tejido, estas proteínas son producidas por linfocitos B, Los anticuerpos en secreciones lácteas son sintetizados localmente o aun selectivamente transportados o trasudados por el suero. Cuatro clases de Ig son conocidas influyen las defensas de la glándula mamaria contra bacterias de mastitis: IgG1, IgG2, IgA e IgM. Alcanzan concentraciones durante la calostrogénesis (Sordillo, et al., 1997).

### **4.3. La leche y sus componentes.**

En condiciones naturales los mamíferos producen leche suficiente para sus crías. Sin embargo, mucho antes de que el hombre hiciera historia, encontró que la leche era buena, para él, lo que resultó en la domesticación (incluyendo) de vaca, el búfalo y la cabra (aún y cuando) la oveja, el cerdo y otros mamíferos han sido utilizados para producir leche en diferentes partes del mundo (Pérez- Gavilán, 1984).

La leche presenta una reducida cantidad de gérmenes inmediatamente después de la extracción de una ubre sana. Sin embargo, ya en la cisterna mamaria la leche se contamina por cocos que pueden producir fenómenos de descomposición, número es importante confiriendo un sabor amargo, el contenido microbiano puede ser considerable cuando la vaca padece alguna enfermedad mamaria (Martínez, 1992).

Estudios realizados demuestran que la leche presenta un medio de cultivo ideal para los microorganismos. Pueden actuar de diversas maneras. Por una parte existen los perjudiciales que influyen negativamente sobre los procesos tecnológicos para la industria lechera, por otra parte, pueden causar enfermedades como brucelosis, salmonelosis, así como los tratamientos a través de antibióticos que influyen de manera indirecta en la resistencia que constantemente esta creando a bacterias infecciosas. A demás de aumentar la adulteración con antibióticos o sustancias químicas lo que resulta en la contaminación de tanques completos de leche (Núñez, 1997).

Los grandes logros que se han realizado en las continuas investigaciones en aislar el agente etiológico en las presentaciones de mastitis y de acuerdo al microorganismo encontrado en la glándula mamaria hay medicamentos específicos para un óptimo tratamiento.

Las mastitis pueden ser causadas por:

- Microorganismos contagiosos.
- Microorganismos del medio ambiente.
- Microorganismos oportunistas.
- Otros microorganismos (Olguín y Trejo, 1997).

#### 4.4. Microorganismos contagiosos.

En este grupo están incluidos los siguientes microorganismos:

- *Staphylococcus aureus*.
- *Streptococcus agalactiae*.
- *Mycoplasma bovis*.
- *Corynebacterium bovis*.

La transmisión se realiza de cuartos infectados a los que no están infectados, esto por lo general ocurre en el ordeño según Fernández ,( 1997).

Microorganismo medio ambientales:

Los principales incluyen dos tipos de bacterias:

La de las especies "Streptococcus" ó estreptococo ambiental.

Coliformes.

Los estreptococos ambientales incluyen los *Streptococcus uberis* y los *Streptococcus dysgalactiae*.

Los Coliformes incluyen *Escherichia Coli*, *Klebsiella oxitoca* y *Enterobacter aerogenes*.

Estos microorganismos se encuentran en el estiércol, en lugares de reposo y en la tierra.

Microorganismos oportunistas:

Este grupo de bacterias incluye más de veinte especies de estafilococos diferentes de *Staphylococcus aureus*.



Otros microorganismos:

Una gran variedad de otros microorganismos puede causar mastitis. Las infecciones con algunos de esos microorganismos son debidas casi siempre a los malos procedimientos curativos (Fernández,1997).

La capacidad de microorganismos de sobrevivir en el medio cercano a la vaca; esto es, su resistencia a influencias ambientales, incluyendo procedimientos de limpieza y desinfección.

La capacidad para colonizar el conducto del pezón.

Su capacidad para adherirse al epitelio mamario y establecer una reacción mastítica. Su resistencia al tratamiento antibiótico (Wattiaux,1999).

#### **4.5. *Staphylococcus aureus*.**

Los *Staphylococcus* son cocos gram positivos que pueden agruparse en forma de racimos. Miden de 0.5 - 1.5 micra; inmóviles, anaerobios facultativos, catalasa positivos, que se desarrollan en medios que contienen NaCl 10% a temperaturas de 18 – 40 °C. La presencia de estafilococos se demuestra ampliamente usando la prueba de reacción de catalasa. Las Bacterias pueden diferenciarse con relación a la estructura de su pared celular mediante una tinción diferencial denominada Tinción de Gram. Se puede discriminar entre dos grandes grupos de bacterias: Gram positivas ( se tiñen de violeta) y Gram negativas (se tiñen rosadas), (Gallardo–Escalante et al., 1992).

##### **4.5. 1. Mastitis.**

La mastitis es una reacción inflamatoria de la glándula mamaria. El termino se deriva de palabras griegas “mastos” que significa pechos” e “itis” que quiere decir inflamación. La inflamación es la respuesta de los tejidos productores de leche en la ubre a una lesión traumática o a la presencia de microorganismos infecciosos que han ingresado a la ubre (Wattiaux, 1999).

Se estima que la mastitis afecta en un promedio de 37.5% de las vacas en producción, ocasionando la mayor pérdida económica en todos los animales productores de leche en el mundo. Existen estudios que indican que la mastitis

representa el 70 a 80%, calificado como mastitis y un 20 a 30% de mastitis clínica (Olgún y Trejo, 1997).

#### **4.5. 2. Características de las infección causadas por *Staphylococcus aureus*.**

Es común que las características de este patógeno contagioso tiene la habilidad para colonizar y crecer sobre la piel de la teta dentro del ducto de la misma. Esta habilidad probablemente contribuye al contagio natural, que es un factor que prevalece la infección en el cuarto de la vaca las incidencias puede ser mayor en hato que carece de un método de control adecuado. El desarrollo de la infección es cuando la teta esta en etapa de ordeña y en el tratamiento en la vaca seca, el 50% de la infección prevalece de vacas infectadas y comúnmente el 50% prevalece en el cuarto. La realización de estas medidas de control y la aplicación de desinfectante, la mayoría de los países lecheras mas significativos del mundo tiene una marcada reducción en la prevalencia de infecciones causado por *Staphylococcus aureus*, que generalmente producen la mastitis subclínica y sólo el 40% de las infecciones produce síntomas clínicos. Frecuentemente las células que están en cuartos infectados excede 1,000,000 cells. /ml y estas infecciones contribuyen al aumento del CCS en tanques de leche (BTSCC) con más de 500,000 cells. /ml. Las infecciones son de larga duración en la ausencia de tratamiento con antibiótico y las características es que pasan de meses a años o durante el tiempo de vida de la vaca. El predominio de *Staphylococcus aureus* en muchos hatos lecheras americana en rebaños confinados, la práctica de desinfección de la teta en el tratamiento en la vaca seca disminuye un 5% y el 1% en los cuartos en las vacas en ordeña (Trinidad et al.,1990).

#### **4.6. Patogenia clínica.**

Los mecanismos por los cuales los agentes patógenos de la mastitis producen las lesiones de la enfermedad conocida como mastitis es compleja por lo que quizá resulte más satisfactorio explicarla en términos de dos etapas:

**INVASIÓN:** es la etapa en la que los microorganismos pasan del exterior de la ubre a la leche además de encontrarse en el ducto del pezón. La presencia de

la densidad de población de las bacterias causales en el medio. El tono del esfínter de los pezones, en el período directamente después del ordeño, cuando se haya más relajado. La debilidad del esfínter facilita la invasión permitiendo la aspiración y crecimiento de bacterias en la tetilla.

**INFECCIÓN:** etapa en la que los gérmenes se multiplican rápidamente e invaden el tejido mamario, dependiendo de la susceptibilidad del animal. La susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos normalmente utilizados. Esto puede depender de la resistencia natural o adquirida, resultante del empleo inadecuado de los antibióticos.

La infección se produce más fácilmente en el período seco por virtud de la ausencia del flujo físico (Blood et al., 1993).

**INFLAMACIÓN:** Etapa en la que aparece la mastitis clínica, aumentando notablemente el recuento de leucocitos de la leche ordeñada. La capacidad invasora de los agentes patógenos por ejemplo los estreptococos causantes de un daño menor en las células secretoras, en tanto que los estafilococos causan degenerativos macroscópicas (Cullor, 1991).

#### **4. 6.1. Epidemiología de mastitis y fisiopatología.**

La inmensa mayoría de infecciones intra mamarias (IMI), y aquellos de importancia económica significativa, es causado por especies de estafilococos, estreptococos, y microorganismos Gram-negativos. Se sabe que la epidemiología de varios patógenos ha producido agrupaciones basadas en la fuente primaria de patógenos en hatos lecheras que infecta el cuarto mamario. Se reconocen tres grupos de patógeno mayores y se han designado como patógenos contagiosos, patógenos medio ambiental y el estafilococos coagulasa-negativo (CNS), de vez en cuando se refieren a los oportunistas que son la flora superficial de la piel. Los patógenos contagiosos son claramente los causantes la mayoría de las infecciones intra mamarias (IMI) en una post-ordeña ante la desinfección en los extremos de la teta y la terapia de la vaca seca. El éxito de éstas medidas es el control contra los patógenos contagioso que se ha demostrado repetidamente alrededor del mundo. Claro que estas medidas no controlan los

patógeno medio ambientales y mientras estos tienen un impacto *S. coagulans-negativo* (CNS), estos medios de control no reduce relativamente muchos patógenos contagiosos. Mientras los CNS tienen historias de ser "menos" patógenos, estos siguen convirtiéndose en importantes aumento como el umbral máximo de volúmenes aceptable para que sea una continúa reducción de conteo de células somáticas (SCC) en leche (Larry y Hogan, 1990).

#### **4.7. CLASIFICACIÓN DE LA MASTITIS.**

Cabe destacar la manera de cómo se tiene calificada a la mastitis, sus principales características, esto nos facilita llevar a cabo un diagnóstico preciso, rápido y eficiente, por esto se describen sus distintas formas de presentación. Como se define por cultivo de leche positivo, estuvieron presentes en 48% de todas las vacas y en 36% de vacas en establos. Más del 75% de las que fueron causadas por *S. spp.* Además de *S. aureus*, *S. agalactiae* (Wilson, 1997).

##### **4.7.1. Mastitis clínica.**

En este tipo de infección se indican que existen condiciones anormales en la ubre y la leche. Esta puede tener (grumos), coágulos o un aspecto acuoso, con las características que muestra esta infección según experiencia es factibles utilizar terapias basadas en antibióticos.

##### **4.7.2. Mastitis aguda.**

Puede incluir hinchazón repentina del cuarto infectado que puede sentirse caliente, duro y sensible al tacto. Este tipo de mastitis puede hacerse sistémico, con signos de fiebre, pulso rápido, depresión, debilidad y pérdida de apetito (Bath, 1982).

##### **4.7.3. Mastitis subclínica.**

Es mucho más sutil y no puede detectarse por observación visual, sin embargo se puede detectarse haciendo pruebas que detecten la presencia de microorganismos infecciosos o resultados de inflamación, tales como células

somáticas (CCS). Algunas personas no alcanzan a apreciar la persistencia e importancia económica de la mastitis subclínica, ya que la leche mantiene su apariencia normal. Esta forma subclínica es también importante porque constituye una reserva de microorganismos que transmiten la infección a otros animales en el hato (Phillpot y Nickerson, 1992).

#### **4.7.4. Mastitis crónica.**

La clase crónica es más leve y pueden pasar sin que el operador la detecte hasta que se convierte en clase aguda. En la mastitis crónica puede no existir hinchazón. La leche, sin embargo, generalmente, muestra grumos y una consistencia a la inspección. Por lo general más de un cuarto está involucrado a la vez. La producción de leche baja y la ubre puede arruinarse a menos que se empiece un tratamiento durante los estudios tempranos de la enfermedad (Diggins, 1987).

### **4. 8. MÉTODOS DE DETECCIÓN DE MASTITIS.**

Es necesario que el personal de la sala de ordeño tengan presentes estos métodos para hacer uso de ellos, sobre todo los más prácticos, para tratar de llevar un control estricto sobre animales que estén iniciando la infección, a continuación se describen algunos.

#### **4.8.1. Prueba de despunte.**

Los primeros chorros de leche se examinan durante la preparación de la ubre para el ordeño. El examen adecuado de la leche requiere el empleo de una copa para el análisis, de preferencia con fondo negro brillante que permita la identificación de los cambios de color o la presencia de coágulos, grumos y pus. Cuando la leche tiene aspecto acuoso durante los primeros chorros, no se le da la importancia, pero si persiste después de diez extracciones o más debe considerarse anormal. Como el vaquero no dispone a menudo de tiempo para examinar la leche en busca de posible mastitis, se acostumbra a dirigir los primeros chorros sobre el suelo y en algunos establos sobre placas negras





-Negativos otros estreptococos; + a *Staphylococcus aureus*, A).- B- Bacilos; B).- H = Hongos; L = Levaduras, -1=10 colonias; 2 = 15 colonias; 30 + 50 colonias; ND No desarrollo, - NEG = cultivo negativo; CONT = Contaminada; ; MC = Mastitis clínica; VS = Vaca Seca; NC = No se completó.

#### 4.8.2. Prueba de California.

El modo más indicado de detectar los niveles elevados de células somáticas estando junto a la vaca es mediante la prueba de California, esta prueba se realiza después de que la ubre haya sido preparada para el ordeño y se han desechado dos a tres chorros de leche inicial de cada cuarto.

**CUADRO 3. Comparación de pruebas de California y conteo celular somático;** Es decir que CMT 3 contiene 81 veces más células que la leche de la prueba de California 0. Los productores de lácteos que tengan problemas con autoridades sanitarias por elevada cuenta celular en la leche del hato deberían retener la leche producida por vacas con una prueba de California alto. Los resultados de cada animal deben anotarse para futuras referencias (Philpot y Nickerson, 1992).

RESULTA -DOS	GELATINA	RESULTADO	GELATI NA	REACCIÓN CMT.	CONTEO CÉLULA S.
0	NADA	N = NEGATIVO	NADA	0	100,000
T	POCO	S = SOSPECHOSO	ALGO	T	300,000
1	POCO MODERADA	P = POSITIVO	FORMA DA	1	900,000
2	MODERADA			2	2,700,000
3	MUCHA			3	8,100,000

De cada cuarto o (pezón), se hace fluir dos o tres chorros hacia el compartimiento apropiado en la paleta de la prueba de California. Luego se inclina la paleta a una posición casi vertical para dejar que escurra casi toda la leche suficiente y el exceso de leche que permanece en la paleta imposibilita la lectura precisa de los resultados (Philpot y Nickerson, 1993).

Después de mezclar la leche y el reactivo (en igual cantidad de leche), en la paleta, se hace rotar la paleta suavemente, se leen los resultados como negativos, indicio o reacción 1,2, ó 3, según la cantidad de gel formado en la muestra. Las vacas durante la primera semana después del parto o en las últimas etapas de la lactación dan siempre reacción fuerte positiva (Pérez, 1986).

#### **4.8.3. Prueba de Wisconsin.**

Un indicador del estado de mastitis en el hato. La prueba para mastitis tomando muestras directamente del tanque (WMT), detecta niveles de conteo celular por medio del gel formado cuando el DNA de células somáticas reacciona con el detergente Wisconsin (alkil- arial – dextrol), cuya medición se lleva a cabo en un tubo (WMT) calificado en milímetros, de la columna viscosa resultante de la reacción del reactivo con las células somáticas presentes en la leche. Una lectura de 3 mm equivalente a una cantidad de leucocitos de más de 140,000 por milímetro de leche, siendo este valor mínimo que tiene como índice de mastitis subclínica y el máximo de 35 milímetros con 2,800,000 células somáticas por milímetro, con cuantiosas pérdidas económicas (Burciaga, 2001). Los rebaños con puntuaciones baja entre 3 y 12 mm. Están en condiciones buenas a regulares con medición celular hasta 750,000 CCS/ml. Mientras que los rebaños con puntuaciones superiores a 12 mm. requieren de atención, inmediata, (Nickerson 1993; Internet ,1998).

#### **4.8.4. Conteo de Células Somáticas (CCS).**

La medida de CCS desde programas de mejoramiento en ganado lechero se usa mundialmente como un indicador de mastitis subclínica. En virtud de que los CCS de tanques de leche se usan como una herramienta de vigilancia para

controlar mastitis a nivel del establo, CCS se usan como trazador de vacas infectadas subclínicamente (Laevens, et al., 1997).

Las infecciones intramamarias (IMI) han sido reconocidas como el factor principal que influye en el CCS. Muchos investigadores han examinado el CCS en vacas bacteriológicamente negativas. En éstos factores como parto, fase de lactación y producción de leche han sido asociada con la variación en CCS. Además de éstas, otros factores incluyendo la técnica empleada para medir CCS, métodos de cultivo y de manera importante, la definición de IMI, contribuye a la variación del CCS en vacas bacteriológicamente negativas (Laevens et al., 1997).

Los resultados encontrados indicaron que incluso un simple aislado de *estafilococos coagulasa positiva* (ECP) *Corynebacterium bovis* o cocos esculina positiva (CEP) incrementan significativamente los niveles de CCS. Diferencias Mínimas Significativas (DMS) de CCS para pruebas bacteriológicos negativas y vacas con un simple aislado de ECN, C. Bovis o CEP fueron 3.9, 3.97, 4.08 y 4.17 respectivamente. Efectos significativos de parto, etapa de lactación y la interacción de ambos podrían no ser encontradas cuando únicamente vacas con bacteriología negativa fueron consideradas. DMS de CCS para vacas en el primero, segundo y tercer parto fueron 3.80, 3.93, y 3.97, respectivamente. Sin embargo, los efectos de parto, etapa de la lactación e interacción fueron significativas cuando todas las 180 vacas fueron incluidas. Por lo tanto, estos efectos pudieran ser debidos a factores que están presentes en los grupos infectados. Para detectar la presencia de la mastitis en las vacas en forma individual o en el hato, pueden hacerse varias pruebas ala vez por vaca y en el laboratorio (Laevens et al., 1997).

La cuenta de células somáticas de la leche cruda es el segundo método en orden de importancia más comúnmente utilizado para evaluar la calidad de leche. Solo superado por la cuenta bacteriana. Los leucocitos (glóbulos blancos), y el pequeño % de células epiteliales son las que se denominan colectivamente "células somáticas". Las células epiteliales de los tejidos secretorios de leche, que representan el 1, 2 % restante, se encuentran presentes como resultado de una lesión o infección. La leche de una vaca no infectada contiene menos de 200,000 células por milímetro mientras que los niveles superiores a 500, 000 indican que

hay un estado anormal en la ubre y que probablemente hay una mastitis (Wattiaux, 1999).

Cuando los leucocitos llegan a la ubre, rodean y destruyen los microorganismos y liberan sustancias que permiten que los fluidos de la sangre pasen y diluyan las toxinas bacterianas o productos irritantes. Los leucocitos también asisten en la eliminación de tejidos secretorios de leche dañados.

Las cuentas celulares ofrecen por lo menos cinco ventajas distintas:

1. Señales de deficiencias en el manejo.
2. Indicación de cultivos y otras pruebas de sensibilidad.
3. Indicación para secar prematuramente y tratamiento de vacas secas.
4. Indicación de tratamiento durante la lactancia.
5. Indicación para desechar del hato.

Las muestras sólo se deberán de tomar de pezones limpios y secos, desinfectados con una pequeña parte de algodón, humedecida en alcohol al 70%, para mejores resultados, se debería someter a todo el rebaño a un programa de sellado de pezones varios días antes de obtener la muestra. Estas muestras se recogen en tubos de ensayo o recipientes de boca angosta, previamente esterilizadas, se deberán colocar sobre hielo hasta que sean llevados al laboratorio para su procesamiento en un lapso de tiempo de 24- 36 hrs., (Campos, 1994).

#### **4.8.5. Análisis de muestra para mastitis en tanque.**

En centro de Nueva York y parte del Noreste de Pennsylvania, la mayoría de los establos (7%) usan este servicio como un procedimiento de monitoreo una o dos veces por año y 30% hacen en respuesta a CCS de tanques que son >750,000 CCS/ml, (Wilson et al., 1997).

El conteo de células somáticas en tanque provee una excelente manera para analizar el conteo celular en leche en el hato, pero los resultados son muy pocos sobre el número de casos clínicos de mastitis, el grupo de vacas que padecen, alguna clase de infección. El objetivo debe ser: bajar gradualmente el

total del conteo de células en el tanque con medidas efectivas para controlar la mastitis (Blood et al., 1993).

#### **4.8.6. Prueba de catalasa.**

Las células somáticas contienen la enzima catalasa que libera el oxígeno molecular del peróxido de hidrógeno y este fenómeno es la base de la prueba aplicada a la leche. Mientras mayor sea el contenido de células somática, mayor será el volumen de oxígeno liberado (Pérez, 1986).

#### **4.8.7. Cultivo de bacterias a través de muestra de leche.**

Es un método típico de examen para describir mastitis. Deben efectuarse con muestras de diferentes de cada cuarto, o de muestras conjuntas que incluyen leche de los cuatro cuartos. Se prefieren las muestras de cuartos individuales, pues los costos de tratamiento requieren que se trate el número posible de cuarterones en cada ubre. El cultivo de muestras de leche procedente de cuarterones que se han tratado recientemente, trae el inconveniente de que se eliminan bacterias importantes. Sin embargo el muestreo debe retrasarse hasta al menos doce horas después del tratamiento (Blood, 1993).

Sin embargo un cultivo para cada vaca ayuda a identificar vacas para el tratamiento (*Streptococcus agalactiae*), o para segregación, (especie *Mycoplasma*). La bacteria aislada de los cultivos puede ser aprobada para ver la resistencia a los antibióticos y guiar la selección de drogas (Nikerson y Philpot, 1992).

A continuación se explica sobre los antibióticos utilizados para la investigación, tanto para el tratamiento de mastitis clínica, tratando de comprender que a pesar de tratamiento encontramos *Staphylococcus aureus* que resisten a estos antibióticos.

#### **4.9. Tratamiento a través de antibióticos.**

Es evidente que la terapia contra mastitis es resolver rápidamente la enfermedad para permitir la venta de leche libre de residuos, evitar daño a la

glándula mamaria y evitar que se disemine la infección, a través de una elección precisa del antibiótico.

Para un tratamiento antes de conocer resultados es necesario establecer la clasificación de la mastitis, así como la perfusión de la glándula mamaria no es problema ya que la sangre circula en ella en aproximadamente 10 litros, de sangre por minuto (Sumano, 1997).

A continuación se sugieren términos para las concentraciones de antimicrobianos en tejidos: concentración bactericida óptima (CBO), cuando se logra la máxima tasa de mortalidad bacteriana; concentración mínima inhibitoria (CMI), a la concentración de fármacos necesario para inhibir el desarrollo del microorganismo y concentración mínima antibacteriana (CMA), cuando se obtiene un efecto antimicrobiano apenas perceptible.

Estudios de sensibilidad de antibióticos resultan en lo siguiente:

- 1.- Gentamicina, sulfas- trimetropim trabajan de 80 a 90% contra Coliformes invitro.
- 2.- Polimixina B y cefalexina trabajan con un 60 a 80% invitro.
- 3.- Tetraciclinas, ampicilinas, neomicina, kanamicina funcionan en un 40 a 60% invitro.
- 4.- La administración intramamaria de enrofloxacin diluida en solución salina (250 mg/ cuarto en ml) tiene un espectro de curación de 83.3% en mastitis subclínica debida a especies de *Staphylococcus* y de *Corynebacterium*, así como en casos clínicos de mastitis de origen bacteriano no determinado.
- 5.- Los valores de concentración B- hemolítico, *Staphylococcus aureus* y *Corynebacterium pyogenes* son relativamente bajos, un  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .
- 6.- La gentamicina es eficaz cuando se administra por vía intramamaria y posiblemente si se incluyera en liposomas *Staphylococcus aureus*. podría aumentar la destrucción de formas "L".
- 7.- En contraste, la kanamicina sólo requiere 48 hrs. después de su uso intramamario, y se dice que, junto con la espiramicina, es eficaz contra cocos gram positivos (kanamicina 50 mg + espiramicina 400 mg/ cuarto).



Nuevos antibióticos como el florfenicol, así como las quinolonas y el norfloxacil, son nuevas drogas que han demostrado una adecuada distribución sistémica por vía intramamaria en los tratamientos de la mastitis (Sumano, 1997).

A continuación se observa el cuadro que proporciona datos sobre salientes sobre fármacos más comunes usados actualmente:

**CUADRO 4. Datos sobresalientes de fármacos comunes para tratamiento de mastitis.**

Producto	Costos	Dosis	Presentación	Ingrediente activo
Birosin	\$ 49.00	1ml/30 kg	50 ml	Ampicilina estéril
Ketofen	\$ 33.00	15 ml/DT	50ml	Ketoprofeno
Actynocef	\$ 327.00	30ml/DT	100 ml	Cefalosporina
Pectfloxin	\$ 349.00	.5ml/kg/ 24 hrs.	250 ml	Enrofloxacin
Bioflor	\$ 615.00	2ml/10kg/3 días	250 ml	Tianfenicol
Cefalexil	\$ 169.00	1ml/10kg/24 hrs.	100 ml	Cefalexina/ colistina
Minoxel Plus	\$ 233.00	2mg/ kg/3 días	100 ml	Ceftiofur
Pniyectyl	\$ 262.00	1ml/10 kg/24hrs.	250 ml	Penicilina G, Procaínica D Dihidro-estreptomicina
Pirodex	\$ 84.00	15ml	100 ml	Piroxican
Rilexine(tubo) 500	\$ 17.00	Dosis total	8 gr	Cefalexina

**OXITOCINA:** la oxitocina facilita la remoción de la leche y su uso es benéfico todos los casos de mastitis teniendo una particular importancia para la mastitis por Coliformes al eliminar los mediadores de la inflamación, la dosis recomendada 30 UI, IV cada 2 horas (Craven, 1987).

La descripción que a continuación se hace es como el *Staphylococcus aureus* califica a la mastitis en el ganado lechero. La mastitis causado por *Staphylococcus aureus* es un problema común que afecta diariamente a los productores de hato lechero. Aproximadamente el 80% de los establos lecheros tienen niveles de infección con este patógeno. El *S. aureus* es un patógeno

contagioso que se extiende rápidamente de vaca en vaca en algún hato, mientras puede existir a un nivel muy bajo con prácticas de higiene mínimas en los hatos. Muchos hatos lecheros se observan alguna forma de mastitis clínica mientras la infección subclínica poco a poco hay pérdidas de las ganancias económicas. Sin embargo, otros hatos pueden experimentar altos niveles de casos de mastitis clínicas en los cuales pueden progresar a mastitis gangrenosa. Son los resultados de tratamientos incorrecto, el éxito en una terapia en la lactancia que va de 15 a 70% (Search, 1992).

La respuesta de la terapia en la vaca Seca puede ser igualmente variable pero la proporción del tratamiento es normalmente mayor de 50%. Las enfermedades *estafilococicas* es una infección de los animales de diversas naturalezas. En los alimento de los animales el *S. aureus* está en contacto más a menudo. El *S. hycus* es la que causa cierta infección superficial en la piel de los cerdos y ganado vacuno, y varía según las especies *estafilococicas*, como el *S. chomogenes*, *S. simulans*, *S. epidermitis*, *S. warneri*, y *S. caprae* la mastitis subclínica causa en el ganado vacuno y caprino. La patogenicidad del *S. aureus* se basa en una información pobre y complejas y los factores en una forma rara de virulencia en lugar de una sola o dominante toxina ( Howard,1993).

Las infecciones intramamaria por el *Staphylococcus aureus* que parece ocurrir frecuentemente en las vacas. Los hatos con una higiene pobre en la ubre la incidencia aumenta el volumen de CCS en leche, pero también se ha informado que la infección esta presente en los establos con un mayor calidad de higiene en la glándula mamaria. Las infecciones intramamarias causado por el *Staphylococcus aureus* se comporta como una enfermedad contagiosa, mientras un animal esta como indicador a la transmisión animal juega un papel importante en la dinámica de la población. Sólo una proporción de animales que experimentan una infección intramamaria permanece infectada. La variación animal existe con respecto a la habilidad de eliminar el *Staphylococcus aureus* que infecta a la glándula mamaria. Los factores que influyen son:



- Tener mayor habilidad para el diagnóstico, comprender a tiempo los factores o durante la fase de eliminación de la infección, en la cual tiene un mayor impacto en la prevención de la transmisión de *Staphylococcus aureus* en la población de hatos lecheros.
- La duración media de la infección es uno de los dos factores principales que componen, junto con nuevos casos de infecciones, determinando la habilidad de reproducirse de microorganismos contagiosos. La cantidad reproductiva es el parámetro sumario que indica si una infección se propaga en una población susceptible, permanecerá estable endémicamente o permanecerá exóticamente. La manera para como reducir el *Staphylococcus aureus* es mediante un buen programa de prevención, en las condiciones que se encuentran, de acuerdo a la cantidad reproductiva, reducir este parámetro en el periodo de infecciones no sólo es importante para las vacas individuales, sí no también para la población en general del hato (Schukke et al., 1999).

Frecuentemente es necesario iniciar un tratamiento antes de contar con los resultados de pruebas bacteriológicas. La elección se realiza por lo tanto usualmente en base de la apreciación clínica. Un buen diagnóstico permite la determinación del agente causal y bajo el criterio de gram positivo o negativo se debe utilizar antibióticos en forma específicas, si existe confusión en el diagnóstico o se sospecha de una infección mixta se recomienda utilizar antibióticos de amplio espectro o de combinaciones de estos altamente sinérgicos. Si embargo, es importante recalcar que la toma de muestras para cultivo y pruebas de sensibilidad ya que son de gran ayuda para realizar el diagnóstico definitivo y para cambiar el tratamiento en caso de ser necesario, la toma de muestras para este análisis debe tomarse antes de iniciar la medicación. Los factores económicos también juega un papel muy importante en muchos casos (Wattiaux, 1999).

Para ser de utilidad médica un antibiótico debe satisfacer los siguientes requisitos:

- Tener una poderosa acción in-vivo.
- Tener una acción específica.

- Tener baja toxicidad para los tejidos del huésped.
- Permanecer activo en presencia de fluidos corporales.
- Ser resistente a la acción de enzimas en los tejidos (tripsinas).
- Ser estable.
- Ser excretado rápidamente.
- No inducir resistencia fácilmente.

Los antibióticos se pueden dividir en cinco grupos basados en su mecanismo y acción:

- 1.-Acción sobre la pared celular .
- 2.-Acción sobre la membrana celular.
- 3.-Acción sobre las síntesis de proteínas.
- 4.-Acción sobre las síntesis de ácidos nucleicos.
- 5.-Acción sobre procesos metabólicos esenciales.

Otra clasificación basada en espectro de acción, si es de amplio o reducido. De espectro reducido significa que solo actúa contra gram positivas o gram negativas y de amplio espectro significa que actúa contra todas. Una clasificación más es sobre su acción bacteriostática o bactericida (Sumano, 1997).

Económicamente es un error tratar animales que presentan mastitis subclínica en función de los elevados costos de tratamiento, solo es recomendable cuando la detección de *Streptococcus agalactiae* con curación de un 98% con penicilina - novobiocina. Se recomienda tratamiento intramamario y parenteral en caso de mastitis hiperaguda. Para lograr una mayor eficiencia en el tratamiento de antibiótico vía intramamaria, se recomienda hacerlo en la glándula previamente ordeñada (Sumano, 1997).

Es muy importante la elección de un antibiótico, poner mucha atención en los efectos adversos o las contraindicaciones sobre el paciente, así como respetar los períodos del retiro de carne y leche, para evitar parcialmente los problemas de salud pública. El elegir un medicamento efectivo y con un tiempo de retiro corto es altamente rentable para el ganadero, ya que reduce el manejo y sobre todo las pérdidas por eliminación de leche. Para que un producto pueda cumplir con este

importante requisito, debe tener una buena biodisponibilidad, rápida absorción, distribución y eliminación. Esto se logra no solo a través de características farmacocinéticas del principio activo (antibiótico), sino también del vehículo contenido en su formulación (Rojano y Ulises, 1999).

Al hablar de tratamiento de mastitis en un establo, en cualquier establo del mundo, deben de tomarse dos puntos básicos: el primero consiste en comprender que no existe un tratamiento que sea eficaz contra todos los tipos de mastitis causado por un solo germen; segundo, es que la mastitis es inevitablemente y que salvo causas muy específicas, se puedan controlar, pero no erradicar (Martínez, 1992).

La mastitis es una de las enfermedades que más frecuentemente afecta al ganado bovino lechero. Su importancia económica se reconoce mundialmente por lo que se han utilizado muchos fármacos para su tratamiento y como siempre ocurre en las enfermedades multifactoriales, éstos cambian con el tiempo y deben revisarse periódicamente (Moore y Heider, 1984).

Existen tres formas de terapia: la externa; pomadas o ungüentos; rubefacientes, la administración intramamaria (antibióticos), y la administración parenteral (intramuscular, subcutánea, intravenosa). (Martínez, 1992).

La perfusión mamaria no es ningún problema, ya que en vacas sanas es hasta de 10 litros por minuto; así el fármaco ideal para el tratamiento de la mastitis deberá tener un espectro apropiado, alcanzar concentraciones antimicrobianas sin afectar otros sistemas, ser altamente liposoluble, y unirse poco a proteínas plasmáticas. Permitirán el regreso a la producción con el mínimo de reducción en capacidad productiva, se ha estimado que la producción láctea se ve reducida de 9 al 45 % (Craven, 1987 y Sumano, 1997).

**CUADRO 5 Fármacos en la terapéutica intramamaria y sistémica de la mastitis bovina (Sumano, 1997).**

Microorganismo	vía	Antibacteriano y dosis (mg/kg).
<i>Staphylococcus aureus</i>	Parenteral	Eritromicina (10, BID, MI), tilosina (20,BID, MI), Cloxaxilina (25,quid, MI), tetraciclina (10,BID, IV), cefalonina (12.5,TID,intramuscular),penicilina G procaínica (25000 UI/kg, SID, BID) contra microorganismos sensibles.
	Intramamaria	Cefalosporinas, cloxacilina, penicilina-kanamicina, eritromicina, tetraciclinas, rifampín.
Especies de estreptococcus	Parenteral	Penicilina G procaínica (25000 UI/kg, SID, BID,IM) macrólidos, tetraciclinas, (dosis contra <i>Staphylococcus aureus</i> ).
	Intramamaria	Penicilina-estreptomicina penicilina G, cefalosporina, cloxacilina.
<i>E. coli</i> especies de klebsiella	Parenteral	Gentamicina (5, BID, IM), polimixina B, florfenicol (20, BID, IM), cloranfenicol o tiamfenicol (50,BID,,IV),tetraciclinas (20,BID, IV ), kanamicina((10, B- TID, IM), enrofloxacina (10, IM o IV).
	Intramamaria	Cefalosporinas de segunda o tercera generación; neomicina, kanamicina, gentamicina, ampicilina-cloxacilina, o cefalosporinas, polimixina B y enrofloxacina y norfloxacina.

SID = una vez al día; BID = dos veces al día; TID = tres veces al día; QUID = cuatro veces al día; MI = intramuscular; IV = intravenosa.

La introducción de penicilinas en la terapia de mastitis bovina dió resultados fabulosos contra *S. agalactiae*; en la reducción de la incidencia de mastitis por este agente trajo como consecuencia el desarrollo de mastitis causadas por otros agentes resistentes a la penicilina, por *Staphylococcus aureus*. *E. coli* que representan aproximadamente el 7% de casos clínicos, por esto el impacto del uso de antimicrobianos. Se ha encontrado que , el efecto directo de la terapia intramamaria en el rango de curación total (clínica y bacteriológica), puede ser sólo del 29% y para infecciones por *S. aureus*, todavía menor del 17 % (Dodd, 1997).

Se debe considerar como bueno un promedio de curaciones del 73% al 90% al secado, de 60% al 70% en mastitis subclínica y de 62% al 70% en mastitis clínica durante la lactancia (Jones y Ward, 1990).

La preocupación relacionada con el uso de antibióticos generalmente involucra:

Problemas de residuos en la leche.

El potencial de incrementar la resistencia bacteriana a los antibióticos usados en las vacas lecheras y la transferencia de resistencia a patógenos de humanos (Aderson y Smith, 1986).

En realidad el uso de antibióticos en el control de mastitis es que la mayoría de ellos tienen cierta eficiencia contra bacterias Gram positivas, mientras que la mayoría de patógenos Gram negativos son resistente a los antibióticos para el uso en ganado lechero (Larry et al., 1991).

En el caso de aminoglicosidos (estreptomina, neomicina, gentamicina, no es recomendable por vía parenteral porque se fijan a los tejidos y pueden constituir un problema de residuos por ser altamente ionizados en el plasma y se distribuyen probablemente a la glándula mamaria. En el caso de la neomicina se ha calculado que su eficiencia se reduce hasta quinientas veces en presencia de leche. Las sulfonamidas como antimicrobianos de amplio espectro, contra bacterias del género *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* (sulfa + trimetroprim). Funcionan con el pH alcalino teniendo por lo tanto buena distribución en la glándula mamaria vía endovenosa lenta (Wattiaux, 1999).

En el caso de que se prevea una destrucción tisular importante o cuando el proceso inflamatorio vaya a provocar un tejido cicatrizal excesivo es necesario el uso de glucocorticoides (flunixinina- meglumina). Donde sea observado que la pérdida de capacidad productiva abarca hasta un (9 a 45%) teóricamente los antiinflamatorios esteroidales capaces de inhibir la fase de vasodilatación, edema, migración celular, suprimir proliferación de fibroblastos.

#### **4.9.1. Tratamiento homeopático.**

La palabra homeopatía proviene del griego *homois*, (semejante) y *pathos* (sufrimientos), se define que es un sistema terapéutico que consiste en curar las enfermedades por medio de sustancias capaces de determinar una afección análoga a la que se quiere combatir Fragoso, (1999). Para Dood, (1999), la homeopatía es una terapéutica basada en la prescripción de sustancias capaces de provocar síntomas iguales o parecidos a los que presenta el sujeto enfermo. Es de todos conocido que el fundador de la filosofía médica homeopática fue el medico Alemán Christian Samuel Federico Hahnemann, en 1796: Si la ley de la medicina se conoce y proclama como real, verdadera y natural, el deberá encontrar su aplicación tanto en animales así como en el hombre (Internet, 1998).

La homeopatía es aquella rama curativa, cuyo origen y base son las plantas naturales, éstas se han definido por quienes las han estudiado sobre todo por medio de la práctica y observación descubriendo en ellas una propiedad óptima para un género epidémico o común denominador patológico, así a través del perfil terapéutico más semejante se a llegado a terapéutica específicas. Pues en el área de zootecnia se a probado su capacidad de mejorar la conversión alimenticia y de promover el crecimiento. Así utilizada en el tratamiento de mastitis clínica y subclínica actualmente en ganado lechero demostrando algunas ventajas (personal). Asegura además la pureza y la buena calidad de los productos comestibles de origen animal, ya que la acción catalizadora de los productos homeopáticos se realiza a dosis tan pequeñas que no dejan residuos que afectan al consumidor Silva, (1994).



La acción del medicamento homeopático, el cual está dirigido al enfermo como una totalidad integrada por síntomas de tres esferas o planos del enfermo:

- Plano mental (Psíquico)
- Plano funcional
- Plano orgánico

Presenta la ley de curación, alternativas como Homeopatía, Acupuntura, Herbolaria. En 1883 el Veterinario Alemán Guillaume Lex utilizó cuatro remedios fundamentales para curar cólicos y las cojeras de caballos, en prevención de abortos y las neumonías ( Silva , 1994).

El veterinario en ayuda de la homeopatía trata enfermedades de las diferentes especies a su cuidado de una manera sencilla, eficaz y económica; que es compatible con otros tratamientos y que es inofensiva Sumano, (1997).

#### **4.9.2. Resistencia de antibióticos.**

La resistencia de antibióticos es un factor que podría ser de importancia en la propagación y establecimientos de *Staphylococcus aureus*. La cantidad de aislamientos de muestras y la resistencia de antibióticos entre las cepas aisladas en leche de bovino es generalmente bajo en Noruega, pero la propagación y establecimiento existen reportes de cepas de *Staphylococcus* multiresistentes. Los aislamientos pertenecientes a estas cepas, en la cual demuestra la resistencia de penicilina y tetraciclina, donde notifica las muestras de serología. La producción de enterotoxinas por *Staphylococcus* y pueden estar asociadas con plásmidos que es una condición favorable para la producción de penicilinasa. Así, la prevalencia de resistencia de antibióticos podría influir en la prevalencia asociado genéticamente y favorecer la virulencia de la bacteria (Tollersrud et al., 2000).

Dado el creciente número de casos de resistencia de los microorganismos a los diversos antibióticos, se ha vuelto cada vez más difícil de nuevos mecanismos de resistencia que permiten a las bacterias escapar a la acción de los antibióticos, ya que las especies bacterianas mutan de modo natural, se reproducen de manera acelerada y poseen una escasa cantidad de ácido desoxirribonucleico. Estas mutaciones pueden dar origen a microorganismos resistentes a los antibióticos;



tales microorganismos, a través de posteriores cambios genéticos, pueden llegar a adaptarse y así perpetuar la infección (Sumano, 1997).

Las bacterias se hacen (o son) resistentes mediante la producción de B-lactamasas, enzimas que atacan el núcleo B- lactámico. Las lactamasas pueden transmitirse vía plásmidos, a demás, las bacterias gram negativas son pocos sensibles a algunas penicilinas, las cuales son incapaces de difundirse a través de las capas externas de estas bacterias (Sumano, 1997).

**CUADRO 6 Muestra de resistencia de antibióticos de 86 aislamiento de *Staphylococcus aureus* en Noruega de mastitis bovina, (Tollersrud et al., 2000).**

Muestras	Resistencia fenotipo	No. de aislamiento	Número enterotoxina
1	Penicilina G	3	8
2	Streptomycin	2	8
3	Penicilina G, Streptomycin	1	1
4	Penicilina G, Tetracycline, Streptomycin.	1	13
5	Penicilina G, Streptomycin(a)	1	14
6	Streptomycin(a), Tetracycline(a).	2	8
7	Streptomycin(a).	9	8
8	Ninguno.	67	0

(a) sensible intermedia.

El uso de antibióticos específicos como promotores de crecimiento, por ejemplo el avoparcina, ha sido el asunto de mucha crítica debido a la posible selección de genes/bacterianas resistente a vancomicina (una molécula terapéutica estrechamente relacionado al avoparcina) y su difusión subsecuente al humano donde está droga parece ser el último antibiótico disponible para tratar infecciones debido a *Enterococcus* y *Staphylococcus* que son multiresistentes.

Las decisiones recientes de los países Europeos para retirar las avoparcina, bacitracina y drogas que pertenecen a la familia de macrolidos-estreptograminas-lincosamidas (tylosina, espiramicina, el virginamicina) hace que se vea la situación actual acerca de riesgos para la salud pública. El objetivo especial de este problema es tener conocimiento presente en los mecanismos de resistencia animal y patógeno zoonotico a los antibióticos de mayor uso en medicina veterinaria. Se presta la atención especial al papel de mutaciones y los elementos móviles, como plásmidos, transfusiones, e integristas, en la emergencia y difusión de genes/bacteria resistente (Chaslus-Dancla, 2001).

#### **4.9.3. Reservorios primarios en hatos lecheras.**

La característica común de los patógenos contagiosos es la fuente primaria de microorganismos para infectar las glándulas mamarias sanas de las glándulas mamarias infectadas en el hato. Los reservorios de patógeno están principalmente a la hora de la ordeña por el contacto con fomites, incluso la máquina de ordeña; manos de los ordeñadores; y los trapos comunes, las esponjas, etc., que se utilizan para la preparación de la ubre, (Trinidad et al.,1990)

#### **4.9.4. Un programa para control de mastitis.**

Es posible implementar un buen control de la mastitis en vacas en producción, teniendo como resultado la reducción del porcentaje de vacas infectadas por mastitis subclínica como mastitis clínica, a continuación lo describiremos:

- Mantenimiento de un ambiente higiénico y de prácticas higiénicas al ordeño.
- Evitar la propagación de bacterias de la mastitis de un cuarto infectado a otro no infectado, a través de la maquina de ordeño con cuatro mangueras individuales, así como la presencia de un recolector.
- Las vacas deben ingresar al ordeño con ubres limpias y secas.
- Eliminación de bacterias presentes en la superficie de los pezones a través de una predesinfección antes de la aplicación de las pezoneras.
- Utilizar toallas individuales para el secado de cada pezón.

- Realizar la prueba de leche sacando dos o tres chorros de leche de cada cuarto para describir la mastitis clínica a través de una tasa de fondo negro.
- Estimular consistentemente a través de la bajada de la leche entre 30- 60 segundos.
- Evitar el escape de aire de las maquinas que se crea a través del deslizamiento de la maquina y el escape de aire hacia los pezones (introducción de bacterias).
- Evitar el sobre ordeño; quitar las pezoneras tan pronto como cese el flujo de leche.
- Siempre cerrar la válvula de vacío antes de quitarla.
- Practicar el flujo de las maquinas de ordeño, para que todas las vacas sean ordeñadas con maquinas desinfectadas, pudiendo ser a través del reflujo automático.
- Desinfectar los pezones para que las bacterias en el establo no puedan invadirlo inmediatamente después del ordeño (sellador).
- Revisar el sistema todos los meses para comprobar el funcionamiento perfecto.
- Dar un refugio de protección confiable a las vacas, contra las inclemencias del clima (lluvia, calor, frío), ya que el estrés frecuentemente eleva el recuento de células somáticas.
- Controlar el ambiente; la cama y el estiércol son dos áreas más peligrosas, mantener el pelo de las ubres siempre bien recortado.
- Separar las vacas con mastitis de las vacas sanas, para que no puedan causar infecciones en las vacas sanas.
- Tratar casos clínicos, desinfectar el pezón con algodón bien empapado de alcohol y usar tubos estériles de antibiótico.
- Instalación de un método donde la leche de vaca bajo tratamiento no mezclar con leche del hato.
- Practicar tratamiento de vacas secas usando tubos individuales.
- Eliminar vacas con infecciones crónicas, cualquier vaca que haya tenido tres infecciones o más durante la lactancia es conveniente eliminarla.

- Realizar cultivo de su hato sobre todo en grandes recuentos de células somáticas o una erupción repentina de mastitis.
- Mantener limpio en la sala de partos disminuyendo la mastitis durante la primera lactancia (nunca alimentar becerras con leche infectada que contenga antibiótico (Germania ,1998).

#### **4.9.5. La erradicación de *Staphylococcus aureus*.**

En el hato lechero se ha llevado a cabo medidas de control en algunos establos lecheros en rebaño confinados en muchos hatos, mantienen la prevalencia de infección menos de 1% en los cuartos. Sin embargo, la erradicación es mucho más difícil que para el *Streptococo agalactiae* y en una forma u otra la infección esta presente y eso parece ser la fuentes de *S. aureus* en hatos lecheros en rebaños confinados, en la cual infectan las glándulas mamarias. Estudios recientes mencionan que las vacas paren en corrales donde las vaquillas pueden ser una fuente de reservorio de *S. aureus* que infecta el hato. Los datos de Louisiana en los EE.UU. indicaron que aproximadamente el 37% de las vaquillas están infectados en el hatos. Otros estudios confirman que las vacas paren crías infectadas con *S. aureus* pero en la mayoría de los hatos el nivel es menor al 1%. Las lesiones están presenté en la teta que albergar al *S. Aureus* y el control es difícil en hatos con lesiones extensas, causadas por resquebrajamiento, por irritación química, o por lesiones mecánicas. En algunos estudios se ha informado que las lesiones de la teta en las vaquillas es causadas por picaduras de moscas y posiblemente un factor que contribuye con una mayor incidencia de vaquillas infectadas. Otras maneras de propagar el *S. aureus* en los hatos incluyen en la compra de animales de reemplazo infectados y posiblemente en humanos que están infectados que contamina en la ordeña (Shearer y harmon, 1993).

## V. IMPLICACIONES SANITARIAS.

La necesidad de implementar en México un programa más a fondo sobre la detección de antibióticos en leche, así como de hormonas entre otras, esto con su respectiva multa para que se tome con seriedad tanto por el productor así como por el promotor, nos son de gran necesidad por que las consecuencias se observan en los consumidores, que traen consigo problemas de salud crónicos y se desea contrarrestar lo más pronto posible.

### 5.1. Detección de problemas vinculados a los residuos de antibióticos.

La confianza del consumidor en leche segura y sana y el éxito de la industria lechera van de la mano. Actualmente, el objetivo se está desplazado desde la seguridad del consumidor hacia la rentabilidad del productor (Rodríguez, 1999).

Lo importante es que les corresponde a los productores de leche y a sus veterinarios el utilizar antibióticos y otras drogas en forma legal (Upjohn, 1997).

#### ¿Que es un residuo químico?

Es un compuesto originario o derivado del mismo metabolismo que se acumula, deposita o almacena dentro de las células, tejidos, órganos de un animal o en los productos de consumo como la leche, huevo después de su uso para controlar o tratar una enfermedad (Rodríguez, 1999).

La administración de drogas a un animal por medio de alimentos, inyecciones o infusiones en la ubre en la formación de metabolitos, más la droga, forman el residuo total, los cuales no están permitidos por la Administración de Drogas y Alimentos en los Estado Unidos (FDA), ya que son permisibles en músculos, leche y algunos órganos comestibles como hígado, riñón (Rodríguez, 1999).

Se comenta que la presencia de residuos de antibióticos en leche puede inducir a alergias (incluso mortales), y resistencia bacteriana, a otro nivel puede afectar los procesos de industrialización de la leche (Sumano, 1996).

Las causas de adulteración a nivel del camión, tanque usualmente pueden ser rastreados hasta las vacas ordeñadas por error, tales como:

- Vacas recientemente secadas y tratadas que son ordeñadas accidentalmente.
- Vacas tratadas con antibióticos que no han llegado al final de su periodo de descarte de leche.
- Vacas que habiendo parido muy temprano tuvieron un periodo de secado muy corto pasando desapercibido (Fuhrmann,1998).

Otras formas de incrementar los residuos violatorios:

- No seguir el periodo de suspensión designado por alguna droga.
- Administrar al animal dosis más altas que las indicadas en la etiqueta del producto.
- Administrar la droga por alguna vía que no está indicada en la etiqueta del producto (Upjohn,1997).

Existen algunos artículos de la Norma Oficial Mexicana que dan a conocer como la leche puede contaminarse, y cuales serán sus consecuencias:

Articulos 248. Que considera contaminada la leche cuando contenga:

- 1.- Microorganismos patógenos, cuerpos extraños, residuos de antibióticos, hormonas.
- 2 .- Microorganismos no patógenos, sustancias plaguicidas, metales pesados, bacteriostáticos, bactericidas, cualquier sustancia tóxica en sustancias que rebasen los límites máximos establecidos por la secretaría.

Articulo 249. La leche procedente de animales tratados con bacteriostáticos, bactericidas, hormonas o cualquier otra sustancia, no podrá destinarse para el consumo humano dentro de los periodos de eliminación que señalen las normas correspondientes (Sumano, 1997).

En efecto la National Milk Residue date base informo a comienzos de 1995, que menos del 1% (0.44%),de los 170 mil millones de litros de leche producidos en los E. U. A. fueron eliminado de la cadena alimenticia humana debido a residuos ilegales de drogas en un lapso de un año, entre 1993 y 1994 (Fuhrmann,1995).



Todos los camiones con tanques de leche fluida, deben ser sometido a pruebas rápidas para antibióticos Beta-lactámicos (Penicilinas, Cefalosporinas), antes que la leche sea procesada. Este requerimiento está detallado en el apéndice N del reglamento sobre leche pasteurizada "PMO", emitido en 1991 por la conferencia nacional sobre envíos interestatales de leche. Desde entonces, la Administración de Drogas y alimentos en los Estados Unidos "FDA", a evaluado y aceptado 16 pruebas rápidas para monitoreo de antibióticos beta- lactámicos en tanques de leche, (Rodríguez, 1999).

Corlett ( 1995) explica que, para controlar la leche fluida al transportarla se emplean los siguientes procedimientos:

El transportador de leche conserva una muestra proveniente de cada tanque de leche en granel.

La planta de procesado utiliza una de las 16 pruebas aceptadas para controlar antibióticos Beta- lactámicos en la muestra.

Si la muestra indica "positivo" se requiere una prueba de reconfirmación.

Si el laboratorio que detecta la muestra positiva es certificado, la leche se considera adulterada.

Si las drogas son utilizadas de acuerdo a las instrucciones de etiqueta, la probabilidad de contaminar un tanque es extremadamente remoto, (Rodríguez, 1999).

Algunos antibióticos como los Nitrofuranos, su utilización provocan un efecto carcinogénico, administrado vía oral. Otro producto como lo es el cloranfenicol ha demostrado que es capaz de inducir anemia aplástica irreversible, esta condición es letal y no depende de la dosis (Sumano,1996).

La manera más conveniente y eficaz para reducir los fármacos es, disminuyendo el nivel de mastitis en los hatos lecheros, ya que esta misma es la enfermedad que con mayor frecuencia requiere terapia con antibióticos (Wattiaux, 1999).

En México, se establecieron los primeros lineamientos respecto a la expedición de un código sanitario en el año 1976 y posteriormente con la expedición de un reglamento del diario oficial de la federación el 18 de enero de



1998. En el reglamento de la ley general de salud en materia de control sanitario de actividades, establecimientos, productos y servicios, en 1988, se realizan ajustes de poca trascendencia. Dichos reglamentos no han cambiado sustancialmente del original de 1976 (Sumano, 1997).

## **5.2. Métodos para la detección de residuos de antibióticos en leche.**

Basado en sus investigaciones Cullor dice, las pruebas de residuos que tienen bajas tasas de selectividad (un alto número de resultados de falsos positivos) fueron removidos del mercado y otras pruebas que dan resultados erróneos, fueron modificados por los fabricantes para minimizar falsos positivos, (Contreras et al., 1997).

**DIFUSIÓN EN GELOSA** (método tradicional): consiste en empapar un papel filtro con leche y colocarlo en una caja petri, con una mezcla de un medio de cultivo y una bacteria hipersensible como el *Bacillus stearothermophilus* variedad *calidolactis*. Detectando principalmente penicilina, incubando por 2.5 h a 55 °C, sí se obtiene un halo de inhibición de 12 mm equivale a 0.01 UI /ml de leche, sin embargo para espiramicina, cloranfenicol, sulfonamidas es diferente (Contreras et al., 1997).

**ELECTROFORESIS**: determina residuos que no tienen actividad antimicrobiana, evitando interpretaciones falsas por aglutinas de la leche como la lactotrasferrina. Se puso en práctica en 1979. Presentando:

Eliminación de sustancias de actividad antimicrobiana como los antibióticos naturales, incluyendo lacto-peroxidasa, aglutinina y lactoferrinas del calostro. Permite una cierta clasificación de los principales grupos farmacológicos. El método consiste en aplicar 0.1 ml de leche problema en una capa de glucosa haciendo pasar una corriente eléctrica de 150 a 160 V. con un potencial a gelosa de 100 V. por cuatro horas, a una intensidad de 40 mA, la gelosa debe tener un pH de 5 o de 8.6, los compuestos migran, la fracción que migra del fármaco, se determina con base en un estándar. La presencia de antibiótico se revela con algún microorganismo de los antes citados en un medio de cultivo similar. Así la

penicilina migra al ánodo y la neomicina migra a los dos polos, el resto de antibióticos migran al cátodo, (Sumano, 1997).

**CROMATOGRAFÍA LÍQUIDO DE ALTA PRESIÓN:** consiste en colocar por participación. Entre la fase líquido móvil y estacionario a la muestra problema. El líquido móvil no debe ser un solvente con respecto al líquido estacionario, un subgrupo de este tipo de cromatografía es la que se realiza en papel. Dentro de las posibilidades utilizadas en la cromatografía líquida tenemos el hallazgo de antibióticos como cloranfenicol a razón de dos partes por billón (PPB), en la leche Allan (1997), oxitetraciclina en concentración de 0.05 a 5 PPM en tejidos, 0.1PPM tilosina en tejido. También hemos manejado la prueba para detectar antiparasitarios como el bitionol, encontrado a 0.34 PPM en leche, furazolidona 10 PPB en vísceras (Martínez 1992); y se uso para determinar la presencia de ivermectina en la leche y en plasma encontrado 0.2 mg (Toutain, 1993).

**CUADRO 7 NIVELES PERMITIDOS DE ALGUNOS FARMACOS EN MUESTRAS DE LECHE.**

FARMACO	NIVEL PERMITIDO EN LECHE	DÍAS DE DESCARTE DE LECHE
Penicilinas	0.1 UI/ml	4 Días
Cloxacilina	0.004 PPM	12 Días
Cloranfenicol	2 PPB	12 Días
Colistina	0.5 PPM/ml	4 Días
Ampicilina	0.001 PPM/ml	3 Días
Tetraciclinas	0.2 mg/ml	3 Días

Una prueba se considera falso positivo cuando, ningún antibiótico este presente en la leche o cuando el antibiótico estuviera presente pero abajo de los niveles de tolerancia. Un resultado falso positivo resultara en una leche descartada que podría ser legalmente vendida y representa una pérdida de venta para el productor. Varios factores contribuyen a los falsos positivos, incluyendo CCS en leche, Lactoferrina, lisozima y otros productos de inflamación (Contreras et al., 1997).

## **VI. MATERIALES Y METODOS.**

El diseño experimental para evaluar resultados fue completamente al AZAR con 30 repeticiones. Gracias a la ayuda del productor fue posible que parte del material fuera aportado por el establo y se generó mayor investigación sobre el antibiótico que comúnmente se utilizaban para la terapia de la mastitis clínica saber si funcionan y en que medida se puede aplicar, y así como se obtuvo las muestras de leche.

### **6.1. Ubicación del experimento.**

El estudio se llevo a cabo en un Establo particular que por norma de ética profesional no se da a conocer el nombre del productor, que esta ubicado en el poblado de Jabonoso, Gómez Palacio Durango, el cual cuenta con 1,325 cabezas de ganado lechero, con una producción media de 21 litros por vaca.

### **6.2. Material biológico.**

Se trabajó con treinta vacas de la raza Holstein, como grupo experimental que se encontraba con mastitis clínica bajo tratamiento con antibióticos, las vacas utilizadas entraban en un rango de dos a cuatro partos, con un peso corporal de entre 500 y 800 kilogramos con una producción promedio de 21 litros por vaca y una calificación corporal de 2.8 y 3.5.

### **6.3. Variables de estudio.**

Determinación de mastitis.

#### **A) Prueba de California:**

Previo a la determinación del tratamiento se determino la infección del cuarto glandular de cada vaca por medio de la prueba de California (CTM), las cuales se identificaron por medio del número de la vaca correspondiente y de

acuerdo al lado donde se encontrará el cuarto afectado, se hace fluir dos o tres chorros de leches hacia el compartimiento apropiado en la paleta de la prueba de California (CTM). Luego se inclina la paleta a una posición casi vertical para dejar que escurra la leche suficiente ya que el exceso de leche que permanece en la paleta imposibilita la lectura precisa de los resultados (Philpot y Nickerson, 1992). Después de mezclar la leche y el reactivo (en igual cantidad de leche), en la paleta, se rota suavemente se leen los resultados como negativos, indicio o reacción 1, 2, ó 3 según la cantidad de gel formado en la muestra.

## B) Bacteriológicas.

### b.1- Estimación de cuenta en placas para *Staphylococcus aureus*.

De cada muestra de leche, se tomó 1 ml y se diluyó en 9 ml de una solución de agua peptonada buferada al 0.1% (Difco), obteniéndose diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ . De cada dilución se tomó un ml y se sembró por el método de extensión en cajas petri con medio de cultivo Bair Parker (Difco). Se incuban a  $35^{\circ}\text{C}$  y se leyeron resultados a las 72 h. Para la cuantificación de *Staphylococcus aureus*; Se empleo el medio de agar sangre (DIBICO). Para la cuantificación de microorganismos en placa se siguieron las indicaciones (Swanson et al., 1992).

### b. 2- Aislamiento de cepas microbianas.

Se seleccionaron colonias aislados características de *S. Aureus* y *Streptococcus* spp. De cada colonia se realizó la siembra, así como la práctica de tinción de Gram.

### b. 3.- Determinación de resistencia intrínseca a antibióticos( RIA).

Se seleccionaron 26 aislados al azar se les determinó su capacidad de crear ante la presencia de diferentes concentraciones de gentamicina a partir de una solución patrón se prepararon diferentes concentraciones, 10  $\mu\text{g}$ , 30  $\mu\text{g}$ , 35  $\mu\text{g}$ , 40  $\mu\text{g}$ , 45  $\mu\text{g}$ , 50  $\mu\text{g}$ , 55  $\mu\text{g}$ , 60  $\mu\text{g}$ , 65  $\mu\text{g}$ , 70  $\mu\text{g}$  (Swanson et al., 1992).

## METODO DE BAUER- KIRBY

### Resistencia intrínseca a antibióticos.

Este método más utilizado para determinar la susceptibilidad de las bacterias a los antimicrobianos. Es una prueba de difusión en disco único. Cuando se siembra una placa o disco de Agar en forma uniforme con un cultivo particular de bacterias, y se colocan discos con antibióticos sobre la superficie de la placa, el antibiótico se difundirá desde el disco hacia el medio. En donde el cultivo es sensible a un antibiótico, se presentará una zona de inhibición del crecimiento, rodeando al disco que contenga ese antibiótico. En donde el cultivo sea resistente al antibiótico, ocurrirá el crecimiento hasta llegar al disco, y aun por debajo de éste (Delaat, 1983).

### **6.4. Conteo celular somático (CCS).**

La cantidad de células somáticas de la leche cruda es el segundo método en orden de importancia más comúnmente utilizado para evaluar la calidad de leche. Solo superado por la cuenta bacteriana. Los leucocitos (glóbulos blancos), y el pequeño % de células epiteliales son las que se denominan colectivamente "células somáticas". Los leucocitos, que representan casi el 100% del total de las células en la leche, se encuentran presentes como respuesta a una lesión o infección.

Las células epiteliales de los tejidos secretorios de leche, que representan el 1,2 % restante, se encuentran presentes como resultado de una lesión o infección. La leche de una vaca no infectada contiene menos de 200,000 células por milímetro, mientras que los niveles a 500, 000 indican que un estado anormal en la glándula mamaria y que probablemente hay una infección, o sea, una mastitis.

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

La finalidad del estudio fue referirse a vacas infectadas de preferencia en sólo uno de los cuartos (TI, TD, DI, DD), las cuales fueron seleccionadas a través de la prueba de California (CTM), fijando a un grupo de vacas con una infección mayor a tres, cuatro, cinco de acuerdo con la calificación asignada por la prueba anteriormente mencionada, de otra manera llamada mastitis clínica, la cual estuvieron bajo tratamiento con antibiótico que se caracteriza visualmente por presentar en la ubre (inflamación, fibrosis, calor, enrojecimiento, edema, cuarto más desarrollado), las características propias de las muestras de cada cuarto infectado son: (agua amarilla, agua incolora, agua con quesos, leche en forma de crema blanca, leche blanca + quesos, leche con puntas, leche rosada). Características propias de pezones de cuartos infectados fueron: (pequeños, inflamados con presencia de heridas, con el esfínter abierto más de lo normal, con esfínter casi cerrado y con presencia de hiperqueratosis en el esfínter).

Los resultados bacteriológicos y del conteo celular somático en el momento de iniciarse el tratamiento con antibióticos, se presentan en el cuadro 8; en el mismo se observa que la mayoría de los animales presenta elevados conteo celulares 1,700, 000 células por ml de leche que se consideran como mastitis clínica criterios de (Ruegg et al., 2000).

El Consejo Nacional de Mastitis de México manifiesta que es factible obtener recuentos de *Staphylococcus aureus* iguales o menores a 50 UFC/ ml de leche, (Loo et al., 2000).

**CUADRO 8 Determinación de la carga microbiana (UFC/ ml ) y conteo celular Somático de muestras de leche provenientes de vacas con tratamiento para mastitis clínica durante tres muestreos.**

PRIMER MUESTREO			SEGUNDO MUESTREO		TERCER MUESTREO	
No. vaca	UFC/ml	CCS x 1000	UFC/ml	CCS x 1000	UFC/ml	CCS x 1000
939	720	2180	260	2000	190	300
1711	530	2000	300	1525	50	300
2094	210	2200	210	2000	110	350
2105	80	2250	80	1700	130	400
2336	410	2100	410	1500	30	420
2919	480	2170	400	1800	230	600
3767	150	1700	370	1000	250	550
3876	1430	2150	780	1650	40	400
3883	2060	2320	790	2000	150	460
3889	680	2100	270	1850	0	400
4398	510	2000	510	1500	190	370
4474	570	2140	570	1950	60	450
4521	350	2000	150	1800	520	500
4664	320	2050	970	1750	0	550
4704	1550	2160	1320	2000	50	450
5056	820	2280	580	1900	10	600
5230	1020	2200	500	1850	110	500
5267	2550	2380	650	2000	170	550
5322	650	2000	650	1950	0	350
5608	500	2010	350	2000	60	800
6073	1170	2155	550	1300	70	480
5454	2520	2300	1490	1700	70	520
5625	3430	2390	1500	1550	20	300
6103	1000	2160	190	1500	0	400
5623	3430	2370	1500	2000	20	700
5138	1700	2300	1000	1850	130	600
<b>Total</b>	<b>28840</b>	<b>56065</b>	<b>16,350</b>	<b>45625</b>	<b>2660</b>	<b>12300</b>
<b>Promedio</b>	<b>1068.15</b>	<b>2155</b>	<b>628.9</b>	<b>1754.8</b>	<b>102.3</b>	<b>473.07</b>

Los resultados que se obtuvieron del primer muestreo de los animales que estuvieron bajo tratamiento con antibiótico (gentamicina), presentaron un promedio 1,068 UFC/ml de leche de *Staphylococcus aureus*, así como en el conteo celular somático presentes respectivamente; en la cual es considerados como mastitis



clínica de acuerdo con (Sórdillo et al.,1997), y pasando 3 días se realiza el segundo muestreo obteniendo con un promedio de 628 UFC/ml en la cual hay una reducción significativa del 58.8 %, y en el tercer muestreo a los 13 días post-tratamiento, se observó con un promedio de 102.3 UFC/ml de leche que representa el 9.57% y por lo tanto se deduce que a pesar del tratamiento brindado aún existe la prevalencia de *Staphylococcus aureus*; En cuanto a conteo celular somático la disminución fue, de 1,682,000 células por ml de leche. Con este resultado se cree que aun persista la mastitis clínica según (Schepers et al., 1997).

Conteo celular somático: el umbral de conteo celular somático designado por Estados Unidos para ejercer una acción es de 500,000 células /ml de leche, en comparación con la Unión Europea, cuyo umbral regulador actualmente es de 400,00 CCS/ml de leche, sin embargo la medición se lleva a cabo de distinta forma ( Ruegg, et al., 2000).

De acuerdo a nuestros resultados se determinaron valores promedio de CCS, en vacas sanas de 200,000 CCS/ml de leche, con un parámetro específico, el cual al elevarse a nivel de campo será símbolo del grado de infección del cuarto muestreado.

Es preciso mencionar que los animales utilizados para la investigación fueron previamente diagnosticados a través de la prueba de California, y por consiguiente calificados como mastitis clínica (Promedio de 1,700, 000 CCS/ml.), en leche y la presencia de la bacteria oportunista *Staphylococcus aureus*. Los datos obtenidos a través de nuestra investigación se encontró que existieron cuartos gravemente afectados, de conteos celulares somático de 2,390, 000 de células / ml a pesar de encontrarse bajo tratamiento con antibióticos.

Datos referentes en tratamiento con antibióticos, el nivel máximo de un cuarto muestreado de un animal fue de 2,000,000 en CCS. De acuerdo a datos presentados por (Philpot y Nikerson, 1992); quienes determinan que la prueba de California, marca positiva a partir de presencia de gelatina y observada en forma visual, puede ser moderada que indica igual o mayor a 900,000 CCS.

Se ha demostrado estudios que existen cepas de *Staphylococcus aureus* que son muy resistentes y que puede causar enfermedades muy serias en humanos, como un microorganismo que puede representar un riesgo de salud pública, (Jarret, 2000). Se recomienda que la leche debe mantenerse fría por debajo de 4° C hasta ser pasteurizada (Dersan, 2000).

Existen vacas de altas producción, que tiene un promedio de 200,000 CCS, sin embargo existen vacas que se aproxima en un promedio de 250,00 CCS, como sospechoso a mastitis sin que estas lo padezcan (Linn, 2000).

En general sé trataron por 5 días y posteriormente a esta actividad se corrió la prueba de California, la cual fue clave para dar a los animales de alta.

Existe diferencia entre los datos obtenidos en los resultados finales de conteo celular, de animales que fueron dados de alta durante la investigación realizada, en comparación a los datos proporcionados (Philpot y Nikerson, 1992); se cree que esto debido a que las muestras post- tratamiento que fueron tomadas inmediatamente, en la cual hay una gran cantidad de secreciones y excreciones de la glándula tales como: leucocitos, células epiteliales presentes en leche, que hay cantidades elevadas, por mantener la defensa propia de la reacción de la infección e inflamación causadas por el agente patógeno de la glándula mamaria (Sórdillo et al., 1997).

En otros estudios realizados a través de cultivos bacteriológicos en muestras de leche, existen problemas de interpretación, es bien sabido que algunos tipos de microorganismos que producen mastitis son eliminados en la leche, tal como el *Staphylococcus aureus* que va del 15 al 20 %, de las vacas infectadas. Las células somáticas tratan de destruir a la bacteria, si la bacteria está dentro de la célula, no crecen en el medio y tendremos cultivos negativos. Ejemplo, brote agudo de Coliformes, se tienen 300,000 bacterias con resultados de 10 millones de células somáticas (Ruegg et al., 2000).

De acuerdo con los resultados encontrados, los niveles de antibiótico empleados, esta utilizando lo indicado por el laboratorio tomando como dosis el margen mayor, (3 – 5 mg/kg Vs 5 mg /kg = 40 ml x vaca que es lo que se aplica como regla general ), sin embargo no toman en cuenta el peso individual de cada animal, la edad por consiguiente la utilización rutinaria en el tratamiento con el mismo antibiótico por lo que se ha generado una gran resistencia bacteriana.

Afortunadamente, ninguno de los aislados fueron resistentes a la vancomicina (4 µg/ ml de medio), que significaría un alto riesgo a la salud pública.

Hablar de resistencia microbiana a antibióticos y como afectan a la salud humana, es razonable pensar del porque solo se cuida el descarte de antibióticos principalmente beta lactamasa ya que si estos se encuentran presentes en los silos de leche, al productor se le podría multar hasta con un 50% en el descuento del precio de cada litro de leche contaminada.

Observando algunos establos, en los cuales se trata la mastitis con antibióticos, los cuales se encuentran presentes en leche, y en virtud de no existir una prueba óptimo para su detección, estos siguen encontrándose a través de la leche, existen algunos ejemplos de ellos como: furasolidona, espiramicina, sulfonamidas, y otras infinidades de antibióticos propios que puede crear degeneración teratogénico en la salud humana, además la administración de antibióticos de mala elección, dosis inadecuada va causar una resistencia bacteriana.

Es necesario mencionar la influencia del costo- beneficio en el tratamiento, algo estudiado detenidamente por el dueño del establo lechero, esto implica el costo unitario por un tratamiento, costo del tratamiento en general hasta que la vaca sale a la producción nuevamente, días de descarte del antibiótico en leche después del último tratamiento (traducido a leche eliminada del silo), si la vaca es redituable con este problema aunado a sus antecedentes como el % de fertilidad, existencia de cuartos secos, procedencia, presencia de abortos, edad del animal estos son los factores que hay que determinar si la vaca es rentable o no de lo contrario tomar la decisión para el desecho.

**CUADRO 9 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), por la gentamicina de 26 aislados de *S. aureus*.**

Tra	No. vaca	10	30	35	40	45	50	55	60	65	70
1	939	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
2	1711	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
4	2094	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
5	2105	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
6	2336	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
7	2919	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
8	3767	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
9	3876	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
10	3883	R	R	R	R	R	R	R	R	R	s
11	3889	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
12	4398	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
13	4474	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
14	4521	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
15	4664	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
16	4704	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
17	5056	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
18	5230	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
19	5267	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
20	5322	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
21	5608	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
22	6073	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
23	5454	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
24	5625	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
25	6103	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
26	5623	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S

(Tra).- tratamiento, ®.- Resistente, (s) .- sensible

Por experiencia, para disminuir al máximo la presencia de mastitis en un hato lechero depende de actividades indispensables tales como; limpieza adecuada de los corrales y pasillos, higiene óptima de la sala de ordeña, utilizando selladores probados, control de los vectores, inspeccionar periódicamente para un buen funcionamiento de las maquinas de ordeña, instalaciones adecuadas, así como de mantenimiento preventivo, evitar sobre ordeños, realizar ordeña a fondo cuando se requiera por ejemplo: cuando las vacas se van secar, tener un control de manejo adecuado para evitar el contagio de las vacas infectadas a las sanas, desinfección constante y con la concentración recomendada en los pezones durante el ordeño, es preciso que el encargado tenga pleno conocimiento de las ventajas de tener un confort óptimo para todos los animales existentes en el hato, de todas las edades, así como el uso del medicamento adecuado con capacidad suficiente para eliminar agentes patógenos, esto depende en una parte del M. V. Z. encargado de designar los tratamientos, así como de la disponibilidad del dueño del establo para la compra del material que se requiera, claro sin dejar a tras la salud humana.

## VIII. CONCLUSIONES.

De acuerdo con los resultados encontrados, se concluye que:

1).- Existe la presencia de *Staphylococcus aureus* en muestras de leche proveniente de vacas con mastitis clínica.

2).- El *Staphylococcus aureus* es resistente intrínsecamente a gentamicina. Ya que basándose a la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria es óptimo mencionar que su acción bactericida y /o bacteriostática es muy bajo contra el *Staphylococcus aureus* en lo cual es sugerible la utilización de diferentes tipos de antimicrobianos así como la dosis adecuada recomendado por el laboratorio, tiempo recomendado para su utilización tomando en cuenta que el uso y abuso de antibiótico crean resistencia a las bacterias oportunistas especialmente como es el *Staphylococcus aureus*, ya que se comporta como un agente infecto- contagioso, que causa la mastitis subclínica, clínica y crónica esto es propio de un beneficio al productor hablando de economía correlacionado con el costo- beneficio de cultivos bacterianas, pruebas de conteo de células somáticos, la realización de antibiogramas, además de que al término del tratamiento, sí el animal sana se puede reincorporar a la línea de ordeña sin ningún problema de descarte de leche.

## IX. CONTRIBUCIONES.

Es preciso mencionar que la investigación que realizamos sobre mastitis clínica, solo es un parámetro de varios que se pueden obtener, tanto de la teoría estricta sobre el tema, como de la realidad del área donde se investigue.

La mastitis clínica ha sido estudiada por mucho tiempo, con una sola posibilidad de un buen control a través de un tratamiento efectivo, de tal manera que el animal regrese a producción en el menor tiempo posible sin ningún obstáculo para explotar el máximo su potencial genética de producción. Se ha observado que existen tratamientos con antibióticos inadecuados en mastitis clínica lo que ocasiona una resistencia e incremento en costo - beneficio, pues ocasionalmente el animal finaliza con el secado del cuarto, desecho del animal a rastro por alguna infección extremosa y por falta de una producción rentable.

Finalmente se debe eliminar la probabilidad de la presencia de residuos de antibiótico en leche en la cual debe ser inocua, ya que atenta en forma crónica contra la salud del consumidor, esto al tratar con antibióticos y no se da un tiempo adecuado para su eliminación según (Sumano, 1997).

En el caso de que compañeros estudiantes de medicina Veterinaria deseen investigar sobre mastitis, recomiendo tomar en cuenta que existen artículos que manifiestan una mayor susceptibilidad a mastitis en los cuartos traseros, otro autor menciona claramente que las muestras post-tratamiento, final se debe tomar de 5 - 7 días después de que el animal se dió de alta a producción, en especial cuando de trate de investigar los niveles de CCS. Gracias a estos estoy seguro que se cosecharán resultados reales.

Existen varios puntos de estudios sobre mastitis relacionadas al cultivo de bacterias para cerciorarse que tipo de agente patógeno se encuentra en la glándula mamaria antes de iniciar el tratamiento y así la utilización de antibiótico de elección y con la dosis adecuada es de vital importancia, y que podría inhibir el riesgo de adquirir resistencia a los microorganismo y evitar el riesgo de consumo de residuos de antibióticos a través de la leche, es importante continuar con esta investigación.



## X. REFERENCIAS.

- Abbas, A. K., A. H. Lichtman y J. S. POBER. 1999. Inmunología celular y molecular. 3ra de Interamericana- Mc Graw Hill. México, D.F. 1999. pp 552.
- Abecasis, J. (1985): Aspects de la Recherche en Homéopathie. Editions Boiron.
- Aguilar – Valdés. A. (SNI), y Luévano –González, A. 1999 Marzo. Impacto social y económico de la ganadería lechera en la región Lagunera. Importancia de la actividad lechera. Sexta edición. pp 3- 4.
- Alais Ch. 1970. Ciencia de la leche. Infección de la mama y sus consecuencias. México D. F., SEGUNDA EDICIÓN. SECSA.
- Allan B. Noah D. Cohen. Leo Timms. 1997. J. Dairy Sci. Bovine lymphocyte antigen class II alleles as risk factors for high somatic cell counts in milk of lactating dairy cows. College of veterinary medicine Texas. 80: 406-412.
- Anderson K.L. 1989. Compendium for continuing education for the practicing veterinaria. NO. 11. 1125- 1133.
- Anderson K. L. Smith A. et al., Coliform and Mastitis. Am. J. Vet. 6- 47. pp 172- 1366.
- Ávila T. S., 1997. Brote de mastitis por microorganismos oportunistas. Revisión de acontecer bovino. No. 17 pp 16- 17.
- Bath D. L. et al., 1992. Ganado lechero principios, prácticas, problemas y beneficios. Edit., interamericana. México D. F. pp 357- 362.
- Beer J., 1981. Enfermedades infecciosa de los animales domésticos, causadas por hongos, bacterias, virus y levaduras. Tomo II. Edit. Acribia. Zaragoza España. pp 3-5.
- Bellanti J. A. 1994. Inmunología. Origen de células de la médula ósea. 3ra edición. Interamericana. México D. F. pp. 301-312.
- Blood D. C. Radostits O.M. 1992. Medicina veterinaria . Mastitis. Edición 7. Editorial Interamericana. Nueva York. pp 539-597.
- Blood D.C., Henderson J.A. Rodostits O.M. et, el., 1993. Medicina veterinaria III. Edit. Americana. 6ta. Edición . México. pp 370- 415.

- Burciaga Álvarez J. G. 2001. Laboratorio de análisis clínicos veterinarios. Análisis bacteriológico y conteo celular somático. Establo los compadres. Torreón Coahuila.
- Chaslus –Dancla. , 2001. Equipe Résistance Aux Antibiotiques, Unité de Pahologie Aviaire et Parasitologie INRA, Centre de tours, 37380 Nuzilly, Fance.
- Contreras, A., M.J. Paader, A.L. Di Carlo, R.H. Miller and P. Rainard. Evaluati6n of selected antibiotic residues screening tests for milk from individual goats. J. Dairy Sci. 1997. 80: 1113- 1118.
- Craven, N. 1987. Efficacy and finantial value of antibiotic traatment of bovine clinical mastitis during the dry period. J. Dairy Sci, No 70:2658- 2665.
- Cullor J. S., 1993. The control treat ment, and prevention of varius types of the bovine mastitis. Veterinary medicine. Volumen 45. pp 571- 579.
- Cullor J. S., 1991 Mastitis in dairy cows shedding new light on a castly problem. Veterrinary medicine. Vol., 86. No., 8. pp 828.
- Diggins R.V. et al. 1987. Vacas leche y sus derivados. 3ra edici6n .Edit. C. E. C. S. A. México D.F. pp 269.
- Dodd, F.H. August. 1997. Mastitis terapy. The role of therapy in mastitis control. International mastitis symposium, macdonald college, Ste Anne the Bellevue Quebec, Canadá. pp 161- 175.
- Esminger M. 1980. Zootecnia general. Edit. Ateneo. Pag.351.
- Fragoso R. P. 1999. Terapia Homeopática en la mastitis subclínica Bovina. Universidad Central de las Villas. Facultad de ciencias Agropecuarias. pp 2-6.
- Fernández J. A. del Río. 1997. México holstein. Recomendaciones para el control de mastitis. Volume 5. pp 25- 26.
- Fuhrmann DVM. 1998. Lechero latino. Detection de problemas vinculados a residuos de drogas. Invierno. Tampa Arizona. pp 16-20.
- Germania Dairy. 1998. Lechero latino. Un buen programa para controlar mastitis. Invierno. pp 8-14.
- Howard, D.V. M.,M. S. 1993. Current Veterinary. Therapy 3. Food Animal practice. Internet. 1998. Clases. aces. Uiuc. Edu/AnSci308/mastitisb.html

- Jean Duval, agr., M. Sc. 1997. Treating mastitis without antibiotics.
- Jones G.F. and Ward, G. E. 1990. Evaluation of systemic administration of Gentamicin for treatment of Coliforms mastitis in cows. J.A. med, assn., vol. 197. pp 731-735.
- Larry K.S. and Hogan J.S. 1991. Memoria del segundo congreso nacional de control de mastitis contagiosa y ambiental. The ahio agricultural research and development center. University, Woster. Ohio 44691.
- Larson B.L., 1979. Biosynthesis and secretion of milk proteins: a review J. dairy sci. Vol.46. pp 161.
- Laevens, H., H. Deluyker, Y.H. Schukken, L. De Meulemeester, R. Vandermeersch, E. of Muelenare and A. De Kruif. Influence of parity and starge of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. J. Dairy Sci. 1997.80: 3219-3226.
- Martínez M. A., 1992. Avances en medicina veterinaria. Mastitis bovina. Edición especial, México Holstein. pp 27-28.
- Moor G.A. and Heider L.E. 1984. Treatmen of mastitis. Vet. Clinic. Of north America large, an prac., 6: 323- 333.
- Nelson P. W., 1994. La producción de leche de calidad y el control de la mastitis (Schering Plouh).
- Nickerson C.S. 1993. Controlling *Staphylococcus aureus*, trough prevention an therapy. Veterinary Medicine. Vol. 87. No.9. pp 366.
- Norman L. Haberm H. L. DWM.1999. Lechero latino. Esta usted perdiendo \$ a causa de la mastitis por Coliformes. 3er cuarto. Centro América. pp 28-30.
- Norma oficial Mexicana NOM-115- 1994, Bienes y servicios. Método para aislar el *Staphyloccus aureus* en alimentos.
- Núñez G. J., 1997. Evaluación de infecciones múltiples en la glándula mamaria de vacas lecheras en dos establos de la comarca lagunera.
- Olguín B. A., Trejo R. L., 1997. México Holstein. Brote de microorganismos por mastitis oportunistas. Volumen 3. pp 15-17.

- Pérez G. R., 1984 Introducción a la bioquímica y microbiología de la leche. Editorial trillas. México D. F.
- Pharmacia Upjohn. 1997. Lechero latino. Protegiendo el uso de antibióticos en el ganado lechero. Centro América. pp 6.
- Philpot W.N., Nickerson C.S. 1992. Mastitis. El contra ataque. Hill farm station Louisiana agricultura experimental center. Edit. Babson bros. E.U.A. pp 3-23.
- Prytchard E. D.(enero 2000), Hoards Dairyman en español. La pérdida de leche por mastitis ha sido subestimada. Unversidad estatal del estado de Carolina del Norte. Año 7. Número 1 pp 17.
- Rodríguez C. 1999. Lechero latino. Prevención de residuos de antibióticos de antibióticos en leche. Primer cuarto. pp 18- 20.
- Rojano F. Ulises A. 1999. Antibióticos. Información general. Tec. Intervet: BTIM. pp 93-103.
- Ruegg Panela, Shook George. Febrero, 2000. Hoards dairyman en español. Si se aplicarán las normas con promedios geométricos de CCS. Año 7, núm. 2, México D. F. pp 98- 106.
- Schepers A. J. Y Schukken H. 1997. J. Dairy Sci. Estimation of variance compnents for somatic cell counts to determine threstholds for uninfected quartes. Utrecht university. Sci. 80: 1833-1840.
- Silva C. E. 1994. Homeopatía veterinaria. UNAM. Talleres de diseño y comunicación. pp 29.
- Sordillo L.M. Shafer- Weaver, and Derosa D. 1997. Bovine inmunology. Inmunobiology of the mamary gland. Pensylvania State university. J. Dairy Sci. 80. pp 1551- 1565.
- Sumano L. H. 1997. Farmacología veterinaria. Capitulo 41. Glandula mamaria, lactación y mastitis. México D. F. segunda edición. Editorial McGraw- Hill interamericana. pp 519.
- Sumano L. H. 1998. 1er congreso internacional de M. V. Z. Bases farmacológicas del tratamiento de la mastitis bovina. Tratamientos tradicionales y nuevas

- opciones para un viejo problema. 1era edición. Gómez Palacio Durango. pp 91-124.
- Swanson, K.M. J., Busta, F.F, Peterson, G. H., & Jonson M. G. 1994. Colony count methods. In; Compendium of methods for the microbiologicas examination of food. Vanderzant C. and Splittstoesser, D. F. editors. American Public Healt Association. Washington, D. C. pp 75 –95.
- Tizzar G. R.1995. Inmunología veterinaria. Mecanismos de inmunidad por enfermedades bacterianas. Cuarta edición. Interamericana.
- Tore Tollesrsrud. 2000. Staphylococcus aureus; bovine; mastitis; MLEE; serotype; enterotoxin. National Veterinary Institute, P.B. 8156, 0033 Oslo Dep., Norway.
- Tyler, J., Spears, H., Cullor, J., Smith, W., elson, R. 1991. Dairy Sci. Mital J-5 vacuna para gram negativos. México D. F. Vol.74 Pag.1235.
- Wattiaux Michel. 1999. Esenciales lecheros. Composición de la leche y valor nutricional. Madison Wisconsin. Marzo. pp 73- 100.
- Wilson D. J., R. N. González and H. H. Das. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: prevalence and effects on somatic cell count and milk production. J. Dairy Sci. 1997. 80: 2592- 2598.