

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE ZOOTECNIA

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIAS PECUARIAS



**PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO DE LA MASTITIS
SUBCLÍNICA DE VACAS EN EL DISTRITO DE VILLA RICA**

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

PABLO EDUARDO GABANCHO LA TORRE

PROMOCIÓN 2008 - I

Tingo María - Perú

2009

L73

G11

Gabancho La Torre, Pablo Eduardo

Prevalencia y Factores de Riesgo de la Mastitis SubClínica de Vacas en el Distrito de Villa Rica. Tingo María, 2009

53 h.; 8 cuadros; 6 fgrs.; 40 ref.; 30 cm.

Tesis (Ingeniero Zootecnista) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Zootecnia.

PREVALENCIA / MASTITIS SUBCLÍNICA / FACTORES DE RIESGO /
BACTERIAS / STAPHYLOCOCCUS AUREUS / REGRESIÓN LOGÍSTICA
TINGO MARÍA / RUPA RUPA / LEONCIO PRADO / HUÁNUCO / PERÚ.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE ZOOTECNIA
Av. Universitaria Km. 2 Teléfono: (062) 561280
TINGO MARÍA

"Año de la Unión Nacional Frente a la Crisis Externa"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 13 de mayo del 2009, a horas 7:00 p.m. para calificar la tesis titulada:

PREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO DE MASTITIS SUBCLINICA EN VACAS EN EL DISTRITO DE VILLA RICA.

Presentada por el bachiller **Pablo Eduardo GABANCHO LA TORRE**; después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobada con el calificativo de **"MUY BUENO"**

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el **TÍTULO DE INGENIERO ZOOTECNISTA**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del título, de conformidad con lo establecido en el Artículo 95, inciso "i" del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 13 de mayo del 2009

M.Sc. **TEODOLFO VALENCIA CHAMBA**
Presidente



M.Sc. **MIGUEL PEREZ OLANO**
Miembro

(Ausente)

M.éd Vet. **LISANDRO TAFUR ZEVALLOS**
Miembro

Méd. Vet. **JORGE TURPO CALCINA**
Miembro - Asesor

DEDICATORIA

A Dios:

Por brindarme salud y vida, los que hicieron posible terminar una de mis metas trazadas.

A mis padres:

Lucía La Torre Figueroa y Francisco Gabancho Cáceres, por su apoyo y esfuerzo incondicional, brindado para hacer realidad mi gran anhelo, terminar mi carrera y ser un hombre de bien para la sociedad.

A mis hermanos y familiares:

Francisco y Kristel; a mi abuelita Lidia que en paz descansa; primos, tíos y demás familiares que de una u otra forma me apoyaron en el trayecto de mi formación profesional.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva mi Alma Mater.

Al M.V. Jorge Suplicio Turpo Calsina, asesor del trabajo, por el apoyo, dedicación, consejos y conocimientos brindados.

A los docentes de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por su abnegada enseñanza y consejos brindados durante mi vida universitaria.

A mis padres Lucia y Francisco por el apoyo brindado por hacer posible que logre con todas mis metas, a mis hermanos Kristel y Francisco que siempre estuvieron conmigo en los momentos buenos y malos.

A mis amigos: Marco, Hugo, Enrique, Bolige, Quintana, Micky y demás amigos de la Facultad de Zootecnia; también a mis amigos de Villa Rica - AVIRPOX.

A mis tíos y tías: Miriam, Herminio, Ricardo, Martha, por el apoyo brindado en el momento de trabajo de campo.

ÍNDICE

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Aspectos generales e importancia económica de la mastitis en vacas...	3
2.2. Agentes etiológicos de la mastitis en vacas.....	5
2.2.1. Género <i>Staphylococcus</i>	6
2.2.2. Género <i>Streptococcus</i>	8
2.2.3. Enterobacterias.....	10
2.2.4. <i>Corynebacterium bovis</i>	12
2.3. Epidemiología.....	12
2.4. Patogenia.....	14
2.5. Formas de mastitis bovina.....	16
2.5.1. Mastitis clínica.....	16
2.5.2. Mastitis subclínica.....	17
2.6. Diagnostico de la mastitis subclínica.....	18
2.6.1. Prueba de California Mastitis Test (CMT).....	18
2.6.2. Análisis bacteriológicos.....	20
2.6.3. Recuento de células somáticas.....	21
2.6.4. Prueba de whiteside.....	22
2.6.5. La prueba de conductividad eléctrica.....	22
2.7. Prevalencia e incidencia de la mastitis clínica y subclínica.....	23
2.8. Factores de riesgo de la mastitis subclínica.....	27
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29

3.1. Lugar y fecha del trabajo experimental.....	29
3.2. Tipo de investigación.....	29
3.3. Población (Universo de estudio).....	30
3.3.1. Animales.....	30
3.4. Alimentación.....	30
3.5. Metodología de estudio.....	31
3.5.1. Toma de muestras.....	31
3.5.2. Análisis de muestras.....	31
3.5.2.1. Prueba de Mastitis California (CMT).....	31
3.5.2.2. Análisis bacteriológicos.....	32
3.5.3. Procesamiento de datos.....	33
3.6. Variables independientes.....	33
3.7. Análisis estadístico.....	33
3.7.1. Tamaño de muestra.....	33
3.7.2. Tamaño de muestra ajustado.....	34
3.7.3. Tamaño de muestra estratificado.....	34
3.7.4. Prevalencia.....	35
3.7.5. Determinación de factores de riesgo.....	35
3.8. Variables dependientes.....	36
IV. RESULTADOS.....	37
4.1. Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos en el distrito de Villa Rica.....	37
4.2. Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por razas en el distrito de Villa Rica.....	38

4.3. Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por edad el distrito de Villa Rica.....	39
4.4. Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por lugar en el distrito de Villa Rica.....	40
4.5. Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por raza en el distrito de villa Rica.....	42
4.6. Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por edad en el distrito de Villa Rica.....	43
4.7. Evaluación del factor de riesgo de las variables lugar, raza, edad sobre la presentación de la mastitis subclínica de vacunos mediante regresión logística en el distrito de Villa Rica.....	45
V. DISCUSIÓN.....	46
5.1. Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por lugar, raza y edad en el distrito de Villa Rica.....	46
5.2. Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por lugar, raza y edad en el distrito de Villa Rica.....	48
5.3. Evaluación del factor de riesgo en la presentación de mastitis subclínica causados por microorganismos <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> y <i>Escherichia coli</i> por medio de regresión logística modelo Odds Ratio de las variables lugar, raza y edad en el distrito de Villa Rica.....	50
VI. CONCLUSIONES.....	52
VII. RECOMENDACIONES.....	53
VIII. ABSTRACT.....	54

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 55

X. ANEXOS..... 63

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Los criterios básicos de la interpretación de la prueba CMT.....	31
2	Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por localidad en el distrito de Villa Rica.....	36
3	Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por raza en el distrito de Villa Rica.....	37
4	Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por edad en el distrito de Villa Rica.....	38
5	Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por lugar en el distrito de Villa Rica.....	40
6	Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por raza distrito de Villa Rica.....	41
7	Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por edad en distrito de Villa Rica.....	43
8	Evaluación de los factores de riesgo de la presentación de la mastitis subclínica por medio de regresión logística modelo Odds Ratio de las variables lugar, raza y edades en el distrito de Villa Rica.....	44
9	Ficha de evaluación de la prevalencia de la mastitis subclínica de vacas en el distrito de villa rica.....	64
10	Análisis de regresión logística para <i>Staphylococcus aureus</i> en la presentación de la mastitis subclínica de vacunos por lugar, raza y edad en el distrito de Villa Rica.....	65

11	Análisis de regresión logística para <i>Streptococcus agalactiae</i> en la presentación de la mastitis subclínica de vacunos por lugar, raza y edad en el distrito de Villa Rica.....	65
12	Análisis de regresión para <i>Escherichia coli</i> en la presentación de la mastitis subclínica de vacunos por lugar, raza y edad en el distrito de Villa Rica.....	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por lugares en el distrito Villa Rica.....	37
2	Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por razas en el distrito de Villa Rica.....	38
3	Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por edad en el distrito de Villa Rica.....	39
4	Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por lugar en el distrito de Villa Rica.....	40
5	Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por raza en el distrito de Villa Rica.....	42
6	Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por edad en distrito de Villa Rica.....	43

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el distrito de Villa Rica, provincia de Oxapampa, departamento de Pasco, en Perú. El objetivo fue determinar la prevalencia y los factores de riesgo de la mastitis subclínica de vacunos de leche. En el estudio se utilizaron 135 vacas de las razas Holstein, Brown Swiss/criollo y Brown Swiss; agrupados en edades de menores de 3 años, 3.5 a 5 años y mayores de 5 años. Los resultados obtenidos para la prevalencia de la mastitis subclínica en forma general en el distrito de Villa Rica fue de $34,8 \pm 8,04$ %. Asimismo, la prevalencia alta de la mastitis subclínica por lugar Cakazu, para raza Holstein y edad mayor de 5 años fueron de $35,9 \pm 10,64\%$; $80 \pm 35,06$ % y $26 \pm 15,81\%$ respectivamente. La prevalencia de los microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* y *Pseudoma sp* fueron de $31,1 \pm 7,81\%$, $21,5 \pm 6,93$ %, $15,6 \pm 6,12$ % y $1,48 \pm 2,04\%$ respectivamente. Del mismo modo, los animales mayores de 5 años representan factor de riesgo para la presentación mastitis subclínica (OR 6,21; IC 1,72 - 22,45). En conclusión, la prevalencia de mastitis subclínica es alta en los animales de la raza Holstein, animales mayores de 5 años y el microorganismo más prevalente es el *Staphylococcus aureus*. En tal sentido, se debe tomar medidas de prevención y control de la mastitis subclínica.

I. INTRODUCCIÓN

En la amazonia la crianza de ganado vacuno destinada a la producción de leche está aumentando progresivamente, esto con la finalidad de incrementar el consumo de leche en la población humana. La leche constituye fuente nutritiva para los seres humanos, especialmente para niños. Sin embargo, las vacas destinadas a la producción de leche padecen una serie de enfermedades infecciosas, el principal es la mastitis, esta enfermedad es de distribución mundial. La mastitis está presente en todos los hatos de producción de leche, la enfermedad tiene dos formas de presentación la clínica y la subclínica.

La mastitis subclínica es considerada como un proceso multifactorial donde se conjugan factores propios del animal, el agente causal, factores ambientales y de manejo, donde se incluye el ordeño, el cual juega un papel determinante en la presencia de la enfermedad. Asimismo, la mastitis es debida a técnicas inadecuadas de ordeño, caracterizada por malas condiciones higiénico-sanitarias, falta de desinfección antes y después del ordeño, sumándose el ordeño mecánico, aspectos como diseño, manejo y mantenimiento inapropiado de las máquinas de ordeño.

La detección de la mastitis subclínica puede realizarse mediante diversas pruebas diagnósticas, una de éstas es el cultivo bacteriológico de la leche proveniente de cada cuarto del animal, a través de la cual puede obtenerse un diagnóstico válido para el tratamiento y pronóstico de la mastitis bovina. Sin embargo, esta prueba no es totalmente confiable, por cuanto, aun cuando se realice en laboratorios especializados, los resultados pueden verse afectados por un número importante de factores difíciles de controlar.

En la zona de Villa Rica es necesario conocer la prevalencia de la mastitis subclínica y sus agentes etiológicos, para elaborar programas adecuados de prevención y control de mastitis subclínica y mastitis clínica. En tal sentido, en el presente trabajo se plantea la siguiente Hipótesis: La prevalencia de mastitis subclínica (MSC) en ganado productor de leche en el distrito de Villa Rica es mayor al 25% lo cual afecta la calidad de la leche para consumo humano influenciado por factores de riesgo. Los objetivos fueron determinar la prevalencia de la mastitis subclínica en vacas en el distrito de Villa Rica, determinar la prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica en el distrito de Villa Rica, Identificar los factores de riesgo de la mastitis subclínica en vacas en el distrito de Villa Rica.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Aspectos generales e importancia económica de la mastitis en vacas

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria. El término se deriva de las palabras griegas "mastos" que significa mama, y del sufijo "itis" inflamación. La inflamación de la glándula mamaria va acompañada de cambios físicos, químicos y microbiológicos de la leche BLOOD et al. (1992). La aparición de la mastitis depende de diversos y numerosos factores estos pueden ser: dependientes del animal, del medio ambiente y el agente causal, por lo que se la califica como una enfermedad multifactorial. Asimismo, el riesgo de la infección está determinado por la relación del animal con las influencias del medio ambiente (JUBB et al., 1991).

Los efectos de la mastitis se manifiestan en múltiples formas: los principales son dos: las pérdidas económicas para el productor lechero y la baja calidad de los productos manufacturados con leche PHILPOT (1999). En el Perú las pérdidas económicas ocasionadas por mastitis son reconocidas como el mayor problema en los hatos lecheros, ocasionando una pérdida por campaña de S/.534.00 soles por vaca al año. Además, la mastitis a nivel subclínico, los signos clínicos que presenta la enfermedad no son evidentes y el productor lechero no puede percatarse del problema BEDOLLA y PONCE

DE LEÓN (2008). En USA las pérdidas anuales estimadas alcanzan a los US\$ 200 por vaca al año, lo que significa una pérdida total de aproximadamente US\$ 2.000 millones al año (De GRAVES y FETROW, 1993).

Las pérdidas anuales por vaca con mastitis se pueden dividir en: reducción de producción láctea entre 69,3% y 70,0%; leche no comercializable entre 8,0% y 11,0%; costos de tratamiento y servicio médico veterinario entre 5,0% y 8,0%; eliminación prematura y valor bajo de venta de vientre 14,0% y 14,7% PHILPOT (1978). Por otro lado, la mastitis reduce la cantidad y calidad de la leche, por lo tanto de los productos manufacturados con ella, por la reducción de lactosa, materia grasa, sólidos no grasos y caseína (De GRAVES y FETROW, 1993).

Asimismo, en cuanto a minerales y elementos traza, su contenido sufre variaciones durante la mastitis. La habilidad selectiva del epitelio de la glándula mamaria para concentrar iones disminuye durante la mastitis y la permeabilidad pasiva aumenta. Como consecuencia, el sodio y el cloro aumentan su concentración en la leche y disminuye considerablemente el calcio, fósforo, magnesio y potasio. JUBB et al. (1991). El pH de la leche aumenta principalmente por el paso desde la sangre del ion bicarbonato, debido al incremento de la permeabilidad celular determinado por la inflamación BLOOD et al. (1992). La alteración de la composición físico-química de la leche da lugar a nivel de planta a que: se eleve lentamente la acidez, se produzca una mala coagulación por el cuajo (cuajada blanda),

disminuyan los rendimientos, se originen aromas menos característicos y sabores desagradables en yogurt, mantequilla, etc. Debido al desequilibrio de las cepas microbianas, la conservación es más difícil, ya que las lipasas provocan un enranciamiento prematuro y exista riesgo de coagulación por el calor.

El problema de la mastitis debe ser enfocado desde un punto de vista: la mastitis clínica es aquella que manifiesta signos clínicos y la mastitis subclínica la que no manifiesta ningún signo clínico. Los primeros afectan a la vacas en forma individual, en cambio, el segundo producen un problema generalizado y puede extenderse a todo hato PHILPOT (1969). Además, la mastitis sub clínica es la más prevalente y la que causa las mayores pérdidas económicas BOOTH (1995). Se estima que en un hato de 100 vacas, por cada vaca con mastitis clínica hay 49 con mastitis subclínica y del total de las pérdidas económicas se estima que entre el 75 y 80% corresponde a mastitis subclínica (BLOOD et al., 1992).

2.2. Agentes etiológicos de la mastitis en vacas

La mastitis puede ser causada por más de 100 microorganismos, incluyendo bacterias, mycoplasmas, hongos, algas y virus. Las bacterias son el grupo de mayor importancia PHILPOT (1999). Más del 95% de los cuadros de mastitis subclínica y clínica son causados sólo por un pequeño grupo de

bacterias, entre ellas están los: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus uberis*, PHILPOT (1978) y JUBB, KENNEDY y PALMER (1991) aunque han adquirido cada vez más importancia bacterias gram negativas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulasa negativo* (SCN) y *Corynebacterium bovis* (BLOOD y RADOSTIST, 1992).

LAMMERS et al. (1999) menciona que el *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) es el agente principal que causa la infección intramamaria en los rumiantes por lo que se le considera el agente causal más importante y frecuente de la mastitis bovina. Aunque varios patógenos bacterianos pueden causar la mastitis, el *S. aureus* es el primer agente etiológico en la mayor parte del mundo ha surgido como el más prevaleciente, y una vez establecido en la glándula mamaria es muy difícil de erradicar, causando las pérdidas económicas más considerables en la industria de la leche.

2.2.1. Género *Staphylococcus*.

VADILLO et al. (2002) y BROOKS et al. (2002) indica que los *Staphylococcus* sp, son células esféricas o cocos grampositivos (de 0.5 a 15 µm de diámetro) inmóviles, no forma esporas; generalmente están dispuestas en forma de racimo irregulares parecido a racimo de uvas. Los estafilococos crecen con facilidad en todos los medios de cultivo en condiciones aerobias o

microaerofilas. El género *Staphylococcus* contiene al menos más de 32 especies y varias subespecies, las especies de importancia clínica solo son algunos. Los estafilococos según produzcan o no la enzima coagulasa, se dividen en dos grandes grupos: Estafilococos coagulasa positivos (ECP) y estafilococos coagulasa negativos (ECN). Existe una buena correlación entre la producción de coagulasa y la capacidad patógena de los estafilococos de tal manera que, en general, se considera que los ECP son patógenos y que los ECN no lo son. No obstante, algunas especies de ECN se han relacionado con procesos patológicos tanto en animales como en el hombre.

Staphylococcus aureus: Es un patógeno contagioso cuyo principal reservorio es la glándula mamaria infectada, pudiendo encontrarse también en lesiones de los pezones y otras partes del cuerpo, como en vagina; sin embargo, no es capaz de colonizar la piel sana. Otros reservorios de menor importancia los constituyen el hombre, las moscas, alojamientos, equipos y otros animales no bovinos SMITH y HOGAN (1995). Las infecciones tienden a ser subclínicas y crónicas, con episodios periódicos de mastitis clínica, pudiendo causar también mastitis gangrenosa. Este patógeno se asocia a una disminución considerable en la producción de leche y un gran aumento de su contenido celular HARMON (1996) JUBB, KENNEDY y PALMER (1991) y AIELLO y MAYS (2000).

Staphylococcus coagulasa negativo: Incluye numerosas especies de *Staphylococcus*, dentro de las cuales destacan *S. hyicus*, *S. epidermidis*.

Asimismo, estos patógenos se consideran como patógenos oportunistas y forman parte de la flora normal de las vacas, teniendo como reservorio principalmente la piel, pelos, vagina y canal del pezón SMITH Y HOGAN (1995), PHILPOT (1999) y AIELLO y MAYS (2000). Sin embargo, las infecciones causadas por especies *S. epidermidis* aparentemente está más relacionada con las personas que trabajan en la lechería.

2.2.2. Género *Streptococcus*.

BROOKS, BUTEL y MORSE (2002) indica que los estreptococos son bacterias esféricas grampositivas que por lo general forman pares de cadena durante su crecimiento. Los estreptococos crecen en medios sólidos como colonias discoides. Asimismo, los estreptococos son un grupo heterogéneo de bacterias y no hay un sistema apropiado para clasificarlos. Las especies importantes causantes de la mastitis son *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, etc.

El género *Streptococcus* se ha dividido recientemente en 3 géneros: *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Lactococcus*. En general, causan diferentes tipos de enfermedades en vacas lecheras, como la mastitis subclínica o episodios de mastitis clínica aguda y subaguda. Las especies de este género más comúnmente involucradas en casos de mastitis son: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*.

JUBB, KENNEDY y PALMER (1991) mencionan que el *Streptococcus agalactiae* son clasificados como un patógeno contagioso importante, su diseminación ocurre principalmente durante el proceso de ordeño. Tiene como principal reservorio el pezón y la ubre infectada, por lo que se considera un microorganismo obligado de la glándula mamaria HARMON (1996). Asimismo, el microbio responde bien a tratamientos y medidas de control convencionales, principalmente terapia de secado y sellado post ordeño, pudiendo erradicarse del rebaño (HOGAN et al., 1989 y PHILPOT, 1999).

Streptococcus dysgalactiae: tiene características de patógeno contagioso; SMITH y HOGAN (1995). Sin embargo, en la mayoría de los trabajos se clasifica como un patógeno ambiental HARMON (1996); debido a que epidemiológicamente se comporta como patógeno contagioso en algunos hatos y como ambiental en otros. Según Mc DONALD (1984) normalmente las infecciones subclínicas desarrollan rápidamente un cuadro clínico, razón por la cual la mayoría de las infecciones son tratadas de inmediato y eliminadas.

Enterococcus spp: Son agentes causales de la mastitis subclínica y clínica poco frecuentes. Sin embargo, los *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* pueden causar problemas esporádicos de la mastitis subclínica y clínica. Los microorganismos se pueden aislar principalmente del tracto intestinal, glándula mamaria infectada y del ambiente general de la lechería (JUBB, KENNEDY y PALMER, 1991 y AIELLO y MAYS, 2000).

2.2.3. Enterobacterias

BROOKS, BUTEL y MORSE (2002) indican que las enterobacterias son un gran grupo heterogéneo de bacilos gramnegativos cuyo hábitad natural es el intestino del hombre y los animales. Asimismo, las enterobacterias son dotados de motilidad por los flagelos peritricos o carentes de motilidad; crecen sobre peptona o medios con extracto de carne, crecen bien en Agar MacConkey. Asimismo, los microorganismos crecen en condiciones aerobias y anaerobias. Esta familia de microbios incluye muchos géneros, las especies principales son *Escherichia coli*, *Shigella* sp, *Salmonella* sp, *Enterobacter* sp, *Klebsiella* sp, etc.

FARIA et al. (2005), JUBB et al. (1991) y VADILLO et al. (2002) indican que la *Escherichia coli* son cepas hemolíticas y son bacilos gramnegativo; las colonias son mucoides de color cremoso blanco en agar sangre. *Escherichia coli* es el microorganismo ambiental más predominante que causa inflamación de la glándula mamaria en las vacas en la etapa de producción. Estos microbios existen en grandes cantidades en las heces y de aquí que la infección es predominante en las vacas estabuladas y especialmente cuando la higiene es deficiente. Los factores predisponentes son la lluvia y la humedad, los cuales favorecen la desimanación del agente

infeccioso. Del mismo modo, para la diseminación de la materia fecal y el desplazamiento y multiplicación de *E. coli*.

Las bacterias gram negativas son consideradas patógenos ambientales, por lo que la exposición a ellas ocurre principalmente entre los ordeños, ya que se encuentran en el entorno de la vaca, como camas, agua y alimentos. En éstas se encuentran *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp., *Pasteurella* spp. y *Citrobacter* spp. (SMITH y HOGAN, 1995).

En el caso de *Escherichia coli*, hay trabajos que indican que la mayoría de las infecciones ocurren en el peri parto, durando en general menos de 10 días, con una respuesta baja a la terapia antibiótica SMITH y HOGAN (1995). No obstante, VADILLO et al. (2002) encontraron que un alto porcentaje de casos de mastitis clínica causados por *Escherichia coli*, durante la lactancia, provenían de infecciones ocurridas en el período seco, principalmente al inicio y al final de éste periodo.

E. coli son capaces de persistir durante largos períodos de tiempo en la glándula mamaria y causar uno o más episodios clínicos de mastitis durante la lactancia GREEN (2000). Asimismo, se han desarrollado algunas vacunas, como la *Escherichia coli* J5, capaces de reducir la la prevalencia y incidencia. Asimismo, la severidad de los casos clínicos causados por

Escherichia coli, así como por otras bacterias gram negativas (HOGAN y SMITH, 1996).

2.2.4. Género *Corynebacterium*

Los *Corynebacterium bovis* son microorganismo patógeno contagioso, sus reservorios principales son el pezón, conducto del pezón y la glándula mamaria infectada, pudiendo ser también reservorio potencial el tracto reproductivo. En ese sentido, la transmisión ocurre fundamentalmente durante el ordeño. Además, se considera un patógeno menor, por causar infecciones mamarias ocasionales, generando un pequeño aumento del recuento celular de células somáticas y una ligera disminución de la producción de leche, entonces rara vez se traduce en mastitis clínica. Asimismo, el tratamiento de secado es una forma efectiva en la eliminación de infecciones intramamarias causadas por *Corynebacterium bovis*, mientras que el uso de un sellado post ordeño adecuado, es una medida de gran valor para el control de este patógeno (JUBB, KENNEDY y PALMER ,1991 y AIELLO y MAYS, 2000).

2.3. Epidemiología

JUBB, KENNEDY y PALMER (1991) indican que en la presentación de la enfermedad intervienen tres factores, los cuales son el agente etiológico, hospedero y ambiente. Los hospederos afectados son las

vacas destinadas a la producción de leche especialmente vacas seleccionadas para alta producción de leche. Los Microorganismos principales causantes de la mastitis son *Streptococcus agalactiae*, este es un microorganismo obligatorio de la glándula mamaria y no sobrevive mas allá de ella, históricamente es el agente principal, el otro agente es el *Staphylococcus aureus*.

Asimismo, el *Staphylococcus aureus* aparece por uso inadecuado de antibióticos en el tratamiento y en la actualidad es el principal agente. La *Escherichia coli* es el tercer agente en la presentación de la mastitis. La mastitis es problema en todo establo lechero, es de importancia en vacas lecheras. La enfermedad es problema de hato y no problema individual. La mastitis lleva pérdidas económicas importantes a los criadores de ganado lechero (VADILLO et al., 2002).

JUBB, KENNEDY y PALMER (1991), KLEINSCHROTH, RABOLD y DENEKE (1991), la mastitis se divide en tres grupos, dependiendo de donde habitan los microorganismos causantes: a).- Mastitis contagiosa: Es cuando los microorganismos causantes de la enfermedad permanecen en ubres afectadas de mastitis clínica o subclínica, y se transmiten de vaca a vaca o de pezón a pezón a través de las manos del ordeñador, las pezoneras y en un número reducido de casos, por los vectores biológicos (artrópodos dípteros). Las bacterias causantes de la mastitis de este tipo son *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis*. b).- Mastitis originada en la piel de los pezones: Este tipo de mastitis es causada por *Streptococcus uberis*

y *Streptococcus dysgalactiae*, estas bacterias habitan en la piel erosionada de los pezones y se transmiten igual que la mastitis contagiosa. Por esta razón, se debe mantener la piel de los pezones sin lesiones es uno de los objetivos de un programa de control de mastitis. c).- Mastitis ambiental: En esta forma epidemiológica los microorganismos que la producen están en el ambiente e ingresan a la glándula mamaria cuando el pezón esta con el esfínter dilatado generalmente después del ordeño, entra en contacto directo con heces, barro contaminado, agua sucia, etc. Este tipo de mastitis es frecuente en los hatos de crianza intensiva o estabulados en forma permanente o durante los períodos de invierno, donde las vacas, una vez terminado el ordeño, pueden poner en contacto la punta del pezón con elementos contaminados del medio ambiente, generalmente con *Escherichia coli* (BEDOLLA y PONCE DE LEÓN, 2008).

2.4. Patogenia

AIELLO y MAYS (2000), indican que la patogenia de la mastitis tiene tres fases invasión, infección e inflamación. La fase de invasión es cuando ocurre el ingreso de microorganismo, depende de varios factores: como son los factores genético, manejo y microorganismo. Factor genético; conformación de pezones, cortos o largos problemas en la adaptación a la maquina ordeñadora, el conducto papilar normal es de 13-14 mm, si es menor o mayor problema de mastitis. Asimismo, el conducto papilar tiene epitelio secretor, secreta una sustancia que es bacteriostático y la musculatura del

esfínter de los pezones actúa como barrera física. Factor manejo; A mayor frecuencia de ordeño mayor presentación de mastitis. Asimismo, el tipo de ordeño influye en la presentación de mastitis, el ordeño manual es más sano que el ordeño mecánico, la máquina de ordeño con el tiempo de uso generalmente presenta problemas de succión, pulsaciones y mal funcionamiento de la cámara de vacío.

JUBB, KENNEDY y PALMER (1991) y AIELLO y MAYS (2000). El microorganismo causante de la mastitis esta alrededor del pezón, el microbio primero entra por esfínter del pezón luego coloniza cisterna del pezón, cisterna de la glándula mamaria, luego al conducto galactóforo a partir de este invade a los alvéolos mamarios. Asimismo, el agente a través de esta vía puede invadir al sistema. En la fase de infección, las bacterias llegan, establecen y colonizan la glándula mamaria, el factor contribuyente es el ordeño, a mayor frecuencia de ordeño existe mayor evacuación de la leche, entonces existe mayor probabilidad de presentación de la mastitis; en el ordeño siempre existe una última gota de leche que es un excelente caldo de cultivo para el desarrollo de la bacteria. La inflamación es la fase donde se produce la patogenicidad del agente infeccioso, produce un exudado inflamatorio alcalino, este producto del paso de iones bicarbonato y cloruros hacia los alvéolos mamarios. La cuenta de microorganismo aumenta por multiplicación de bacterias, también aumenta el recuento de células somáticas (macrófagos 90% neutrófilos 10 %), la inflamación desencadena en mastitis subclínica y mastitis clínica.

JUBB, KENNEDY y PALMER (1991), BLOOD y RADOSTIST (1992), mencionan que el desarrollo de la enfermedad, se realiza en tres fases: Invasión; en la cual el agente pasa desde el exterior del pezón hacia la leche localizada dentro del canal del pezón. En la fase de infección; el agente se multiplica y rápidamente se difunde en el tejido mamario. Después de la invasión puede establecerse una población bacteriana en el conducto glandular y utilizando esta residencia como base, ocurrirá una serie de multiplicaciones y desimanación en el tejido mamario. La fase de inflamación; ocurre por la acción de las exotoxinas producidas por bacterias grampositivas y endotoxinas por gramnegativas liberadas por agentes en los tejidos, causando marcada inflamación y dolor en la glándula mamaria.

2.5. Formas de mastitis bovina

2.5.1. Mastitis clínica

Los animales afectados por la enfermedad muestran signos clínicos visibles, esto puede comprobarse externamente a través de signos generales como la fiebre, disminución de apetito, por la inspección visual y palpación de la ubre, etc. La leche aparece con grumos de pus, sangre, como cortada y el o los cuartos afectados pueden tener a lo menos uno de los siguientes síntomas locales en la ubre (rubor, tumor, calor, dolor) AIELLO y MAYS (2000) y BLOOD y RADOSTIST (1992). Asimismo, de acuerdo con el curso evolutivo de la enfermedad y el grado de los signos clínicos, pueden

diferenciarse cuatro formas de mastitis clínica: hiperaguda, subaguda, aguda y crónica. En esta línea, la mastitis hiperaguda; presenta los signos de la inflamación y estos son acompañados por los signos sistémicos de fiebre, depresión, temblores musculares, pérdida de apetito, y rápida pérdida de peso. Igualmente, la mastitis aguda, también presenta los signos de la inflamación, acompañado generalmente de fiebre y leve depresión. La subaguda: donde los signos de la inflamación están disminuidos y no van acompañados por efectos sistémicos (JUBB, KENNEDY y PALMER, 1991).

AIELLO y MAYS (2000) y BLOOD y RADOSTIST (1992) mencionan que la mastitis crónica, es una forma de mastitis que se produce por una infección persistente de la ubre, esta permanece la mayor parte del tiempo en la forma subclínica, pero ocasionalmente puede evolucionar a la forma clínica. Después de lo cual retorna temporalmente a la forma subclínica.

2.5.2. Mastitis subclínica

La mastitis subclínica evoluciona sin signos clínicos inflamatorios externos visibles. Los signos más importantes de este tipo de mastitis son el aumento del contenido celular en la leche (células somáticas) y la presencia de los microorganismos causales en el cuarto afectado o en la glándula mamaria. La enfermedad se comprueba mediante examen del contenido celular de las muestras de leche y el estudio bacteriológico JUBB, KENNEDY y PALMER

(1991). Las grandes células (células somáticas) en la leche son de dos tipos: células epiteliales secretoras muertas y macrófagos de la sangre. El número de células somáticas se incrementa en la leche, en la época de lactancia tardía, donde la glándula se prepara para el período seco o como consecuencia de daño por mastitis. Por consiguiente, puede proporcionar información válida sobre la incidencia y prevalencia de la mastitis (BEDOLLA y PONCE DE LEÓN, 2008 y BLOOD y RADOSTIST, 1992).

2.6. Diagnóstico de la mastitis subclínica

2.6.1. Prueba de California Mastitis Test (CMT)

FARIA et al. (2005) y GONZALES et al. (2007) La prueba de California (CMT) es una prueba de campo de fácil manejo y buena sensibilidad que se fundamenta en la capacidad que tiene el reactivo Lauril Sulfato de Sodio para reaccionar con el DNA celular produciendo viscosidad directamente proporcional al número de células somáticas presentes en la muestra de leche. Asimismo, la prueba de CMT se puede realizar en el campo y laboratorio. En el campo al momento de ordeño, pero los pezones deben estar limpios y secos, se deben eliminar los primeros chorros de leche de cada pezón en los compartimentos de la bandeja apropiada. Luego, se inclina la bandeja en un ángulo de 60° para igualar la cantidad de leche en cada uno (deben quedar

entre 4 y 5 ml de leche). Luego se agrega una cantidad igual de reactivo y se inicia un proceso suave de agitación por rotación durante 15 a 20 segundos.

FARIA et al. (2005) la prueba de CMT mide en forma indirecta el número de células somáticas /ml. Normalmente la leche de una glándula mamaria sana tiene menos de 100.000 células/ml donde el 80% de las células son macrófagos y el 20% ó menos corresponden a neutrófilos. Cuando hay inflamación originada en un proceso infeccioso el número de células somáticas aumenta por incremento de los neutrófilos que acuden a cumplir su acción fagocítica en el sitio de la infección llegando a representar hasta el 90% del recuento de células somáticas.

En la literatura no hay coincidencia sobre el número de células a partir del cual se considera que una glándula mamaria está afectada de mastitis, pero en términos generales recuentos superiores a 500.000 células /ml con más del 50% de neutrófilos se deben considerar como cuadros de mastitis. Número que se verá incrementado hasta varios millones según la intensidad y extensión de la lesión. El CMT es una prueba que tiene una alta sensibilidad pero presenta algunas deficiencias en especificidad, dando falsos positivos durante la primera semana después del parto pero muy especialmente en vacas que tienen más de 7 meses de producción y varios partos. En estos casos el grado de viscosidad es similar en los 4 pezones (FARIA et al., 2005).

2.6.2. Análisis bacteriológicos

JUBB, KENNEDY y PALMER (1991). El análisis bacteriológico se realiza mediante el cultivo, aislamiento y caracterización de los microorganismos causantes de la mastitis del hato. De acuerdo a la agrupación de agentes causantes de la mastitis se tiene: Mastitis contagiosa: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis*. Mastitis originada en la piel de los pezones: *Streptococcus dysgalactiae*, *S. bovis*, *S. uberis*, entre otros. Mastitis microbios del ambiente: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp.

FARIA et al. (2005). Todas las bacterias causantes de mastitis se multiplican bien en Agar sangre convirtiéndose en el medio básico para el proceso de aislamiento del agente etiológico. Con el fin de aumentar las posibilidades de éxito del aislamiento y aprovechando las propiedades de la leche como medio de cultivo, las muestras se pre incuban a 37° C durante 6 a 8 horas y posteriormente se siembra en Agar Sangre. Luego, para la caracterización de las bacterias se utilizan medios selectivos como Agar Salmonella-Shigella (SS), Agar Mc CONKEY, etc.

2.6.3. Recuento de células somáticas

FARIA et al. (2005) y PERIS et al. (1991). El recuento de células somáticas (RCS) se realiza por diferentes metodologías, las más utilizadas son el recuento microscópico directo (RMD), el recuento electrónico como contadores de partículas y el recuento automatizado soportado en epifluorescencia. Por la disponibilidad de equipos y posibilidades de aplicación se analizan los pasos fundamentales del recuento microscópico directo. El procesamiento de las muestras se iniciará con una buena homogenización y luego extender 10µl de leche en un área de 1 cm² en una lámina portaobjetos, se fijará al aire, se puede ayudar con un flameo sobre el mechero. Las muestras fijadas se desengrasarán con un lavado con xilol y las láminas se colorearán con Azul de Metileno al 1% durante un minuto. Los frotis coloreados se observan al microscopio utilizando objetivo 100X, y se deben recorrer como mínimo 10 campos en diferentes puntos del frotis. El promedio del número de células por campo, se multiplica por el FM y el valor obtenido corresponderá al número de células/ml. Determinación del diámetro del campo microscópico (d) en milímetros utilizando una lámina micrométrica o en cm². Cálculo del factor microscópico FM. $FM = 40.000 / 3.1416 \times d^2$; Volumen de leche examinado 10µl extendido en un cm². La descripción completa de la muestra está descrita en Standard Methods for The Examination of Dairy Products, 16^a Edición.

2.6.4. Prueba de whiteside

LOZA (1982) afirma que al mezclar hidróxido de sodio (NAOH) al 4% con la leche en proporción de 1:5 esta se torna viscosa y se observa filamentos sí el contenido de células es alta. BLOWER y EDMENDMERSON (1995) reportaron que es una prueba de laboratorio en la que las células somáticas reaccionan con compuestos químicos, el hidróxido de sodio. Cuando los recuentos exceden de 500.000 ejerce coagulación.

2.6.5. La prueba de conductividad eléctrica

PERIS et al. (1991). La prueba de conductividad eléctrica se fundamenta en el aumento de los iones de sodio y cloro como consecuencia de la lesión del tejido glandular, los cuales aumentan la conductividad eléctrica. Cuando se calcula la sensibilidad y especificidad de esta prueba frente a la presencia de grumos en la muestra da 68.2 % y 81.9 % respectivamente; cuando la comparación se hace frente al recuento de células somáticas se obtuvo un 68 y 88 % y cuando se hace frente al aislamiento de bacterias sólo se logra el 61 y 66 % respectivamente.

2.7. Prevalencia e incidencia de la mastitis clínica y subclínica en vacas destinadas a la producción de leche

Los patógenos contagiosos, principalmente *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*, han sido considerados los agentes causales de mastitis más comunes. Sin embargo, en los últimos estudios se ha encontrado una disminución de la prevalencia de estos patógenos y un aumento de la importancia de agentes ambientales; principalmente estreptococos ambientales, como *Streptococcus uberis*, y coliformes como *Escherichia coli*. Esto se asocia, principalmente, al mejoramiento en las medidas de control adoptadas por los productores de leche alrededor del mundo, que han sido más eficientes en controlar las bacterias contagiosas causales de la mastitis (JUBB, KENNEDY y PALMER, 1991).

MURRIETA (2002) demostró en un trabajo de investigación que la incidencia de la mastitis subclínica en el ganado lechero de la zona de Tingo María – Aucayacu y Montevideo, es baja 22,9%; La *Escherichia coli* es la bacteria mas predominante, seguido del *Staphylococcus* en la producción de la mastitis subclínica, la enrofloxacin presento una mayor acción frente a la *Escherichia coli* inhibiendo el crecimiento y desarrollo de las colonias frente a la oxitetraciclina, cloranfenicol y la gentamicina. El ganado cruzado presenta mayor número de animales sensibles a la mastitis subclínica en comparación a las razas Holstein y la raza Brown swiss, el mal manejo y la mala higiene son

la mayor causa de la incidencia de la mastitis subclínica en la zona de Tingo María – Aucayacu.

LOZA (1982) encontró que en la zona de la selva la incidencia de la mastitis se reportó 86.54% casos de vacas afectadas con mastitis subclínica en los departamentos de Loreto, San Martín, Ucayali y Huánuco. Lo cual indica que la incidencia de la mastitis subclínica es alta y los agentes etiológicos más importantes encontrados en los análisis de laboratorio son: los *Streptococcus* sp y *Escherichia coli*.

MORALES et al. (2006) en un trabajo con 400 muestras de leche se estudiaron la mastitis clínica y subclínica donde reportan frecuencia para *Streptococcus agalactiae* 27,94%, *Staphylococcus aureus* 23,82%, *Escherichia coli* 21,76% y *Corynebacterium* sp 5%. Asimismo, ARAUCO y MAYORGA (2006) en estudios en la EEA el Mantaro de la UNCP reporta para las bacterias *Staphylococcus epidermidis* y *Streptococcus agalactiae* 33,33 % respectivamente, *Staphylococcus aureus* 23,8 % y para el *Streptococcus pyogenes* 9,53 %.

ARMENTEROS et al. (2006) mencionan que en un estudio de prevalencia de mastitis en vacas lecheras de primer parto y patrón de sensibilidad de las bacterias aisladas en una lechería especializada, se tuvo que los microorganismos aislados fueron: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Staphylococcus coagulasa* negativa, *Corynebacterium* sp,

Escherichia coli, *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa* y algunas infecciones mixtas con la combinación de *S.aureus* más *S. agalactiae*, para un porcentaje de afectación de 19,2%; 7%; 5,7%; 4,4%; 2,2%; 1,31%; 1,3% y 0,9 %, respectivamente.

JORDAN (1976) reporta que la incidencia de la mastitis bovina en la zona de Tingo María y alrededores es alta (68,51%) y los agentes etiológicos mas importantes encontrados en la mastitis bovina en la provincia de Leoncio Prado son: *Streptococcus agalactiae* 36,3%, *Streptococcus pyogenes* 12,6%, *Streptococcus faecalis* 4,3%, *Streptococcus epídermicus* 18,6%, *Streptococcus bovis* 14,8%, *Staphylococcus aureus* 28,6%, *Staphylococcus albues* 22,3%.

En Dinamarca, un estudio realizado entre 1991 y 1994, indicó prevalencias de vacas con mastitis subclínica del orden 42%, 46%, 50% y 47% para cada año de estudio HUDA (1995). Por otro lado, en la India se encontraron prevalencias de 29,42% y 33,47%, al comparar vacas Kankrej con cruzas Holstein con Kankrej, respectivamente PRAFUL y PANCHMUKHI (1995). En México, PÉREZ (1996), al recopilar datos provenientes de diferentes lugares del país durante 5 años, encontró una frecuencia de mastitis subclínica cercana al 50%.

PASTOR y BEDOLLA (2008) en un estudio de determinación de la prevalencia de mastitis bovina en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, mediante la prueba de California, concluyeron que la prevalencia de mastitis

encontrada en el ganado lechero de este municipio fue del 43%, ellos indican que el resultado obtenido fue elevado de acuerdo a lo reportado internacionalmente por varios autores, por lo que se recomiendan que los productores tomen las medidas adecuadas para prevenir y controlar dicha enfermedad.

FORSHELL et al. (1995) calcularon la incidencia de mastitis clínica en países nórdicos, estableciendo frecuencias de 21, 30, 56 y 32 casos/100 vacas/año para Suecia, Noruega, Dinamarca y Finlandia, respectivamente. En el Reino Unido, se ha observado una disminución sustancial de la incidencia de la mastitis clínica desde la década de 1960 (135 – 150 casos/100 vacas/año), hasta la década de 1980 (35 – 55 casos/100 vacas/año), manteniéndose en alrededor de 40 casos/100 vacas/año a partir de 1990 (BRAMLEY, 1992 BOOTH, 1998 y GREEN, 2000).

Por otro lado, en Ontario, Canadá, un estudio realizado entre mayo de 1993 y marzo de 1995, el cual incluyó a 65 rebaños lecheros con un total de 2.840 vacas, informa una frecuencia de 19,8% de casos nuevos de mastitis clínica durante el período de lactancia (LESLIE et al., 1996).

MILTENBURG et al. (1995) determinaron para el sur de Holanda una incidencia de mastitis clínica de 12,7 casos/100 vacas/año, durante el período julio 1992 a julio 1993; encontrando una alta variación entre rebaños. En 89 rebaños se presentaron entre 0 y 10 casos/100 vacas/año, en 46 entre

10 y 20 casos/100 vacas/año, en 23 entre 20 y 30 casos/100 vacas/año y en 13 sobre 30 casos/100 vacas/año.

En Israel, SHPIGEL et al. (1995) encontraron una incidencia de mastitis clínica de 20,8 casos/100 vacas/año, con una incidencia anual de 23,0; 27,6; 25,6 y 30,7 casos/100 vacas/año, desde 1990 a 1993, respectivamente. Adicionalmente, en su estudio se evidenció una gran variación entre rebaños para este indicador de mastitis, con valores que fluctuaron entre 4,2 y 126,8 casos/100 vacas/año.

2.7. Factores de riesgo de la mastitis subclínica

NOVOA et al. (2003) menciona que en epidemiología, los factores de riesgo son aquellas características y atributos (variables) que se presentan asociados diversamente con la enfermedad o el evento estudiado. Los factores de riesgo no son necesariamente las causas, sólo sucede que están asociadas con el evento o presentación de la enfermedad. Como constituyen una probabilidad medible, tienen valor predictivo y pueden usarse con ventajas tanto en prevención individual como en la población. El estudio epidemiológico que mejor identifica un factor de riesgo es un estudio prospectivo como el estudio de cohortes.

NOVOA et al. (2005) en un estudio de factores de riesgo asociados a la prevalencia de mastitis clínica y subclínica en 10 hatos, estudiaron la

asociación entre los factores de riesgo y la variación dependiente de la mastitis subclínica. En el modelo logístico multivariado se estudiaron 18 variables donde las variables condición corporal (<23,5 puntos) (OR 2,086 IC 95% 2,064 – 2,108) es un factor de riesgo para la presentación de la enfermedad y la variable resbalamiento de las pezoneras (OR 2,355 IC 95% 2,340 – 2,370), constituyo el factor con mayor fuerza de asociación, para presentar la mastitis subclínica. Asimismo, el OR 2,355 indica las veces más posibilidades de desarrollar la enfermedad.

DOHERR et al. (2007) en estudios de factores de riesgo asociados con la mastitis subclínica en vacas lecheras en sistemas de crianza convencional, se estudiaron varias variables donde la raza holstein (OR: 1,965; IC95%: 1,163 – 3,321) Jersey y Brown Swiss (OR: 4,21; IC95%: 1,804 – 9,823), los animales de las razas indicadas son factor de riesgo para presentación de la mastitis subclínica y clínica. Asimismo, SURIYASATHAPORN et al. (2000), en un estudio de bajo conteo de células somáticas un factor de riesgo para presentar la mastitis clínica en hato lechero, el estudio varias variables donde las variables lactación temprana, intermedia y retención de placenta son factor de riesgo para la presentación de mastitis.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y fecha del trabajo experimental

El estudio se realizó en las localidades de Bocaz, CaKazu y Villa Rica pertenecientes al distrito de Villa Rica en la provincia de Oxapampa del departamento de Pasco - Perú, geográficamente ubicado entre las coordenadas 75°,15',00" - 75°,16',20" de Longitud Oeste y 10°,42',30" - 10°,45',00" de Latitud Sur, altitudinalmente está comprendido sobre los 1,470 m.s.n.m. El promedio Anual de la precipitación pluvial es 1,529 mm., con temperatura media anual de 17.7°C. La humedad relativa en promedio para la zona es de 89%. De acuerdo a los pisos ecológicos se halla comprendido entre la Yunga Fluvial (1,000 - 2,300 m.s.n.m.) y la Quechua (2,300 - 3,500 m.s.n.m.) en el declive oriental de la Cordillera Andina, que mira la llanura Amazónica; su clima es templado, propia de la Selva Alta, húmedo y semicálido, en la estación invernal eventualmente seco. El trabajo experimental se realizó durante de 3 meses de junio a agosto del 2008.

3.2. Tipo de investigación

La investigación que se realizó es de tipo explorativa.

3.3. Población (Universo de Estudio)

El distrito de Villa Rica tiene aproximadamente 6100 bovinos: Villa Rica 2141, sector Bocaz 459, sector Cakazu 3500, todos son vacunos de doble propósito (Ministerio de Agricultura – SENASA – Pasco – 2007). En consecuencia, el tamaño de muestra para el presente estudio fue de 135 animales

3.3.1. Animales

En el presente estudio se utilizó 135 vacas de las razas Brown Swiss (BS), Holstein (H) y Brown Swiss x criollo. Agrupados en edades menores de 3 años, 3.5 años a 5 años y mayores de 5 años.

3.4. Alimentación

Los animales recibieron alimentos a base de forraje verde y alimento concentrado de acuerdo a la forma de crianza del criador, bajo un sistema extensivo o semi intensivo. Asimismo, los animales recibieron mezcla de sal común con sal mineral y agua a discreción.

3.5. Metodología de estudio

3.5.1. Toma de muestras

Las muestras de leche se tomaron directamente de los pezones del primer ordeño de los cuartos que resultaron positivos a la prueba de Mastitis California Test, luego se colocaron en frascos de polietileno de 10 ml de capacidad previamente rotulados, después las muestras se colocaron en cajas de tecnopor, dentro de ella cajas de cartón para mantener la temperatura de 6°C para lo cual se colocó con refrigerantes para evitar la muerte de los microorganismos causantes de las mastitis subclínica, ya que desde la toma de la muestra hasta llegar al destino será de 24 horas de viaje, para lo cual fueron enviados y llevados al laboratorio de sanidad animal de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, para su respectivo análisis.

3.5.2. Análisis de muestras

3.5.2.1. Prueba de Mastitis California (CMT)

La prueba de CMT se realizó directamente en el campo. Para lo cual se utilizó el reactivo Original Schalm CMT California Mastitis Test – TechniVet, el cual se diluye en proporción de 1 a 8, (1 ml de reactivo con 7 ml de agua destilada). La prueba CMT se realizó con 5 ml de leche

con igual cantidad de reactivo Lauril Sulfato de Sodio y luego, se inicia movimiento suave en rotación durante 15 a 20 segundos, después de tiempo si hace la lectura de la reacción y se interpreta el resultado..

Cuadro1.-Los criterios básicos de la interpretación de la prueba CMT:

Grado	Tipo de Reacción	Celularidad / ml
N	Mezcla se mantiene líquida	< 200.000
S	Ligera viscosidad	200.000 - 500.000
+	Mezcla viscosa no adherida al fondo	400.000 -1.500.000
++	Mezcla viscosa que se adhiere al fondo	800.000 - 5.000.000
+++	Mezcla muy viscosa fuertemente adherida que forma un solo grumo.	>5.000.000

N: negativo, S: Sospechoso

3.5.2.2. Análisis bacteriológicos

El análisis bacteriológico se realizó mediante el cultivo, aislamiento y caracterización de los microorganismos causantes de la mastitis en vacunos; el cultivo se realizó en base a las bacterias más frecuentes de la mastitis como es el *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp. Las muestras fueron preincubadas a 37° C durante 6 a 8 horas y posteriormente sembradas en Agar Sangre. Luego para la caracterización de las bacterias se utilizó medios selectivos como Agar Mac Conky y Cled Agar.

3.5.3. Procesamiento de datos:

Las prevalencias de la mastitis subclínica y microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* y *Pseudoma* sp. se calculó utilizando la fórmula de ARMITAGE y BERRY (1987). Asimismo, el factor de riesgo se procesó mediante el programa estadístico STATA 10.

3.6. Variables Independientes

- Lugar
- Raza
- Edad

3.7. Análisis Estadístico

3.7.1. Tamaño de muestra

$$n = \frac{Z^2 pq}{d^2}$$

Donde:

- n = tamaño de muestra
- Z = confianza 95%
- p = Prevalencia referencial
- q = $1 - p$
- d = precisión

El tamaño de muestra para el presente estudio es 138 vacas, la prevalencia es desconocida, en este caso la prevalencia se tomo 10%.

3.7.2. Tamaño de muestra ajustado

El tamaño de muestra ajustado, se calculo mediante la siguiente formula.

$$n = \frac{n_o}{1 + n_o/N}$$

Donde:

- n_o : n calculado en la fórmula anterior
- N : Tamaño de población y/o de subpoblación (distrito)
- n : 135 animales

3.7.3. Tamaño de muestra estratificado

$$nh = \frac{n}{N} x Nh$$

Donde:

- nh : Tamaño de muestra para cada estrato
- n_o : Tamaño de muestra ajustado
- N : Tamaño de población universo de estudio
- Nh : Tamaño de la sub población (distritos)
- nh : Villa Rica = 47
- nh : Sector Bocaz = 10
- nh : Sector Cakazu = 78

Total = 135

3.7.4. Prevalencia

Para determinar la prevalencia de la enfermedad se utilizó la siguiente fórmula ARMITAGE y BERRY (1987). La prevalencia se expresa con un intervalo de confianza de 95 %.

$$P = \frac{N^{\circ} \text{ de casos positivos}}{\text{Total de animales en riesgo}} \times 100$$

$$p = p \pm z_{(95\%)} \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

$$ic = p \pm z_{(95\%)} \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

Donde:

- P = Prevalencia
- Z = Nivel de confianza al 95%
- IC = Intervalo de confianza
- n = Tamaño de muestra

3.7.5. Determinación de factores de riesgo

Para el análisis de las variables se utilizó el modelo de regresión logística multivariada y el grado de asociación de factores de riesgo lo brindaron los valores de Odds Ratio (OR), cuyo cálculo se incluyó en el modelo logístico.

$$y = \frac{b^0}{1 + b_1 e^{b_{21x1}} + b_{22x2} + b_{2n xn}}$$

Donde:

Y = Enfermedad mastitis

B_i = Coeficientes de modelo (1:0...n)

X_j = Variables independientes (j:1...n).

e $b_{21x1} + b_{22x2} + \dots + b_{2n xn}$ = Exponencial del modelo

3.8. Variables Dependientes

- Prevalencia de mastitis subclínica
- Prevalencia de microorganismos: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* y *Pseudoma sp.*
- Factores de riesgo de la mastitis subclínica

IV. RESULTADOS

4.1. Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos en el distrito de Villa Rica

En el Cuadro 2 y Figura 1 se observa la prevalencia de la mastitis subclínica en el distrito de Villa Rica. La prevalencia global obtenida para la mastitis subclínica fue de $34,8 \pm 8,04$ ($P < 0,05$). En los sectores Bocaz, Cakazu, y Villa Rica fue del $30 \pm 28,4\%$; $35,9 \pm 10,64\%$ y $34 \pm 13,44 \%$ respectivamente. Asimismo, la prevalencia no es significativa por localidad ($P < 0,05$).

Cuadro 2. Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por localidad en el distrito de Villa Rica.

Lugar	N	Positivos	$P \pm IC$
Bocaz	10	3	$30 \pm 28,4$
Cakazu	78	28	$35,9 \pm 10,64$
Villa Rica	47	16	$34 \pm 13,44$
Total	135	47	$34,8 \pm 8,04$

N: número de animales en estudio, P: Prevalencia (%), y IC: Intervalo de confianza

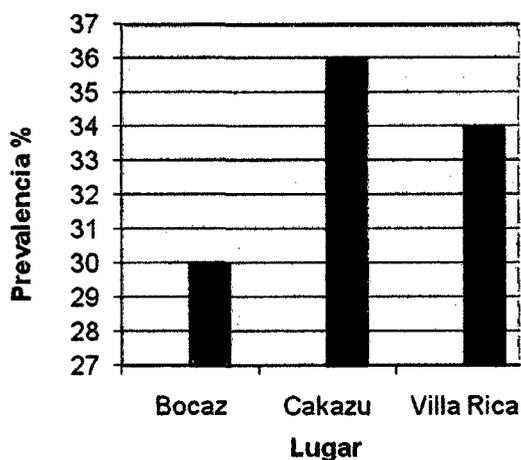


Figura 1. Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por lugares en el distrito de Villa Rica.

4.2. Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por raza en el distrito de Villa Rica

En el Cuadro 3 y Figura 2 se observa la prevalencia de la mastitis subclínica por razas en el distrito de Villa Rica, la prevalencia de la mastitis subclínica para la raza Holstein es mayor en $80,0 \pm 35,06\%$ ($P < 0,05$) en comparación a otras razas.

Cuadro 3. Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por raza en el distrito de Villa Rica

	N	Positivos	P ± IC
Holstein	5	4	80 ± 35,06
Brown Swiss/criollo	21	9	42,8 ± 21,16
Brown Swiss	109	34	31,2 ± 8,69
Total	135	47	34,8 ± 8,04

N: número de animales en estudio, P: Prevalencia (%) y IC: Intervalo de confianza

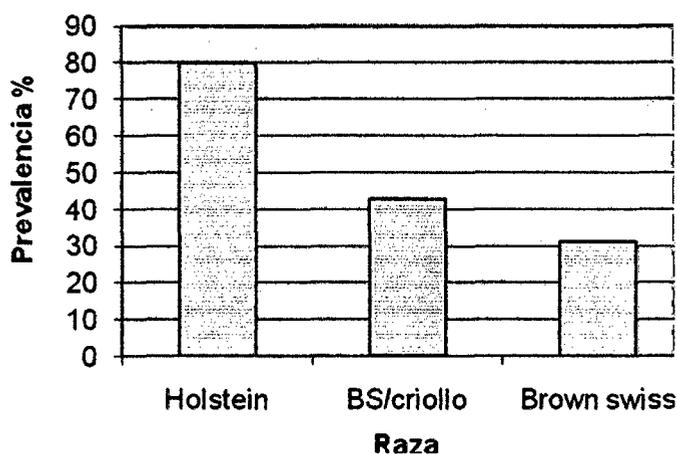


Figura 2. Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por raza en el distrito de Villa Rica.

4.3. Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por edad en el distrito de Villa Rica

En el Cuadro 4 y Figura 3, se observa la prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por edad en el distrito de Villa Rica. La prevalencia de la mastitis subclínica en forma global fue $34,8 \pm 8,04$ % ($p < 0,05$); y la prevalencia alta se observa en animales mayores de 5 años de edad.

Cuadro 4. Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por edad en el distrito de Villa Rica.

Edad	N	Positivos	$P \pm IC$
< 3 años	26	6	$23,07 \pm 16,19$
3.5 a 5 años	71	20	$28,17 \pm 10,46$
> 5 años	38	21	$55,26 \pm 15,81$
Total	135	47	$34,8 \pm 8,04$

N: número de animales en estudio, P : Prevalencia (%) y IC: Intervalo de confianza

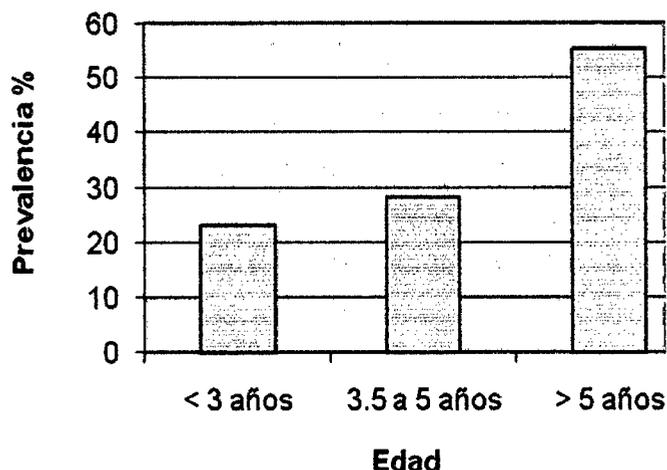


Figura 3. Prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por edad en el distrito de Villa Rica.

4.4. Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por lugar en el distrito de Villa Rica

En el Cuadro 5 y Figura 4 se observa la prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por localidad en el distrito de Villa Rica. La prevalencia global obtenida para los microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* y *Pseudomona* sp fue de $31,1 \pm 7,81\%$; $21,5 \pm 6,93\%$; $15,6 \pm 6,12\%$ y $1,48 \pm 2,04\%$ ($P < 0,05$). La prevalencia alta se observa para los microorganismos *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*.

Cuadro 5. Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por lugar en el distrito de Villa Rica

Lugar	N	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Streptococcus agalactiae</i>		<i>E. coli</i>		<i>Pseudoma sp</i>	
		p	P ± IC	p	P ± IC	p	P ± IC	p	P ± IC
Bocaz	10	3	30 ± 28,4	1	10 ± 18,59	1	10 ± 18,59	0	0
Cakazu	78	24	30,8 ± 10,24	10	12,8 ± 7,41	17	21,8 ± 9,16	1	1,28 ± 2,49
Villa Rica	47	15	31,9 ± 13,32	18	38,3 ± 13,89	3	6,4 ± 6,9	1	2,13 ± 3,15
Total	135	42	31,1 ± 7,81	29	21,5 ± 6,93	21	15,6 ± 6,12	2	1,48 ± 2,04

N: número de animales en estudio, p: Positivos, P: Prevalencia (%) y IC: Intervalo de confianza

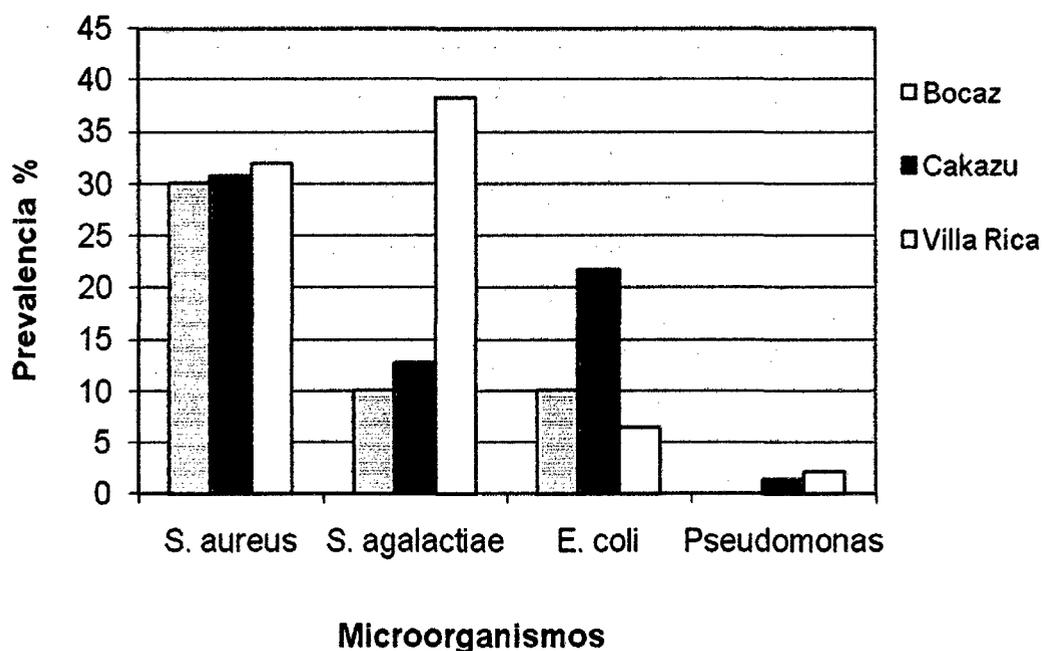


Figura 4. Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por lugar en el distrito de Villa Rica.

4.5. Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por raza en el distrito de Villa Rica

En el Cuadro 6 y Figura 5 se observa la prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica por razas en el distrito de Villa Rica. La prevalencia general obtenida para los microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* y *Pseudomona sp* fue de $31,1 \pm 7,81\%$; $21,5 \pm 6,93 \%$; $15,6 \pm 6,12 \%$ y $1,48 \pm 2,04\%$ ($P < 0,05$) respectivamente. En la raza Holstein se observa prevalencia alta para los microbios indicados; seguido para los animales de la raza Brown swiss.

Cuadro 6. Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por raza en el distrito de Villa Rica

Raza	N	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Streptococcus agalactiae</i>		<i>E. coli</i>		<i>Pseudoma sp</i>	
		p	P ± IC	p	P ± IC	p	P ± IC	p	P ± IC
Holstein	5	3	60 ± 42,94	2	40 ± 17,17	3	60 ± 2,94	0	0
Brown Swiss/Criollo	21	8	38,1 ± 0,77	5	23,8 ± 18,21	3	14,3 ± 14,97	1	4,76 ± 9,11
Brown Swiss	109	31	28,4 ± 8,46	22	20,2 ± 7,5	15	13,8 ± 6,47	1	0,92 ± 1,8
Total	135	42	31,1 ± 7,81	29	21,5 ± 6,93	21	15,6 ± 6,12	2	1,48 ± 2,04

N: número de animales en estudio, p: Positivos, P: Prevalencia (%) y IC: Intervalo de confianza

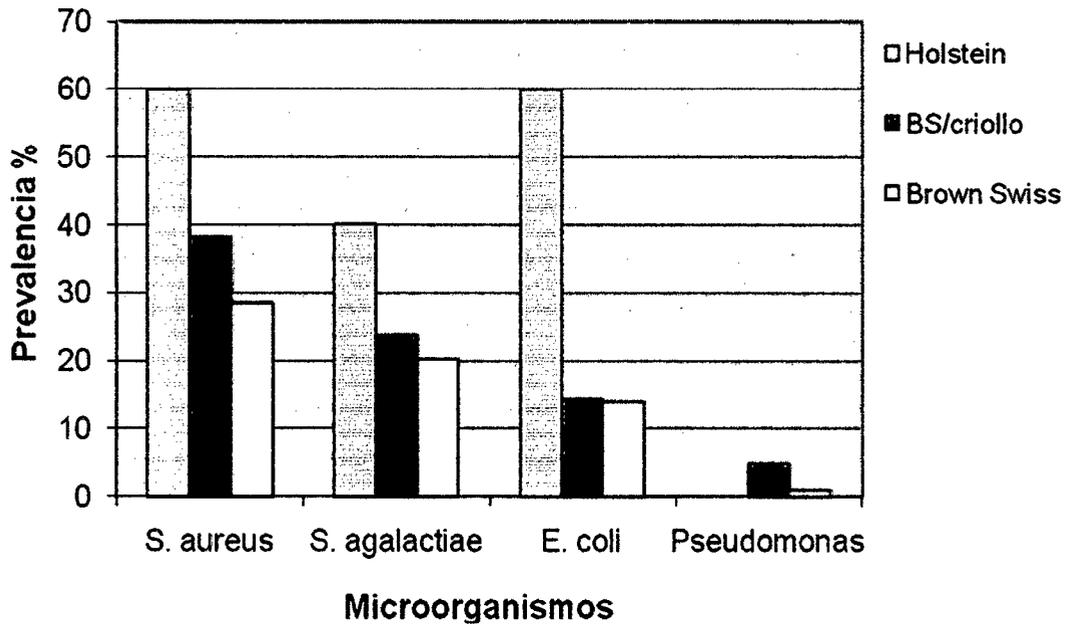


Figura 5. Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por raza en el distrito de Villa Rica.

4.6. Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por edad en el distrito de Villa Rica.

En el Cuadro 7 y Figura 6 se observa la prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica por edades en el distrito de Villa Rica. La prevalencia general obtenida para los microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* y *Pseudomona* sp fue de $31,1 \pm 7,81\%$; $21,5 \pm 6,93\%$; $15,6 \pm 6,12\%$ y $1,48 \pm 2,04$ ($P < 0,05$) respectivamente. Asimismo, en el cuadro y figura se observa la prevalencia alta en los animales mayores de 5 años de edad para los microbios indicados.

Cuadro 7. Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por edad en el distrito de Villa Rica.

Edad	N	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Streptococcus agalactiae</i>		<i>E. coli</i>		<i>Pseudomona sp</i>	
		p	P ± IC	p	P ± IC	p	P ± IC	p	P ± IC
< 3 años	26	4	15,4 ± 13,87	5	19,2 ± 15,13	1	3,6 ± 7,16	0	0
3.5 a 5 años	71	18	25,4 ± 10,12	11	15,5 ± 8,42	11	15,5 ± 8,42	2	2,8 ± 3,84
> 5 años	38	20	52,6 ± 15,87	13	34,2 ± 15,08	9	23,7 ± 13,52	0	0
Total	135	42	31,1 ± 7,81	29	21,5 ± 6,93	21	15,6 ± 6,12	2	1,48 ± 2,04

N: número de animales en estudio, p: Positivos, P: Prevalencia (%) y IC: Intervalo de confianza

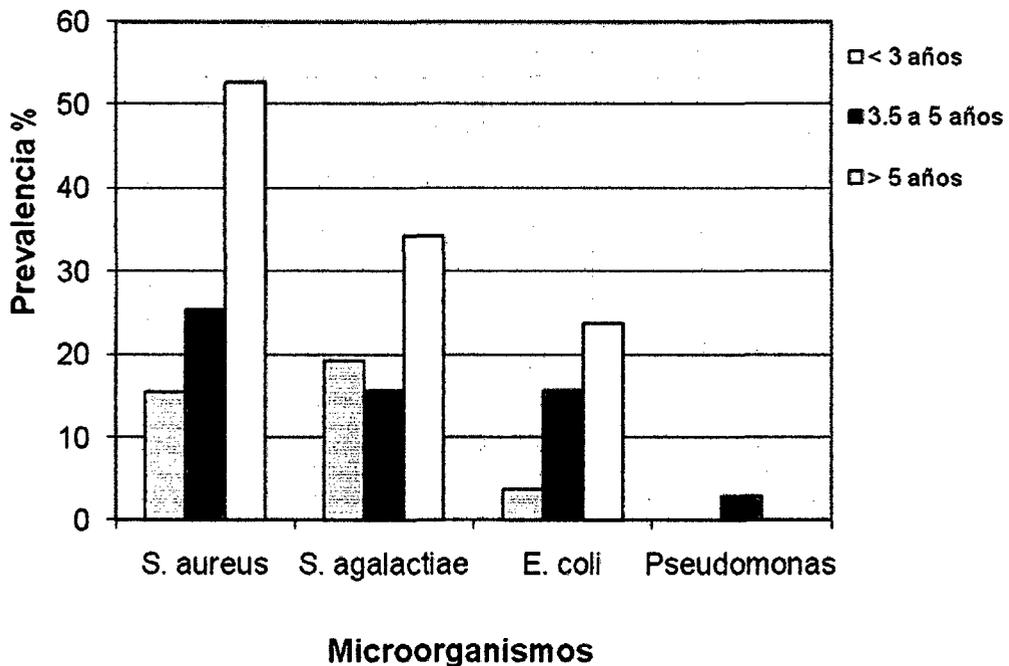


Figura 6. Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por edad en el distrito de Villa Rica.

4.7. Evaluación del factor de riesgo de las variables lugar, raza y edad sobre la presentación de la mastitis subclínica de vacunos mediante la regresión logística, en el distrito de Villa Rica

En el Cuadro 8, se observa la evaluación del factor de riesgo mediante la regresión logística, actuando como basal sector Bocaz, la raza Holstein y vacunos menores de 3 años de edad. Los resultados indican que la raza Holstein es factor de riesgo para adquirir la mastitis subclínica. Los lugares, otras razas y edades no son factores de riesgo para la presentación de mastitis subclínica.

Cuadro 8. Evaluación del factor de riesgo de la presentación de mastitis subclínica por medio de regresión logística modelo Odds Ratio de las variables lugar, raza y edad en el distrito de Villa Rica.

Variable	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Streptococcus agalactiae</i>			<i>Escherichia coli</i>		
	OR	IC inf.	IC sup	OR	IC inf.	IC sup	OR	IC inf.	IC sup
Cakazu	0,71	0,15	3,32	0,95	0,10	8,88	1,68	0,18	15,71
Villa Rica	0,77	0,16	3,72	4,44	0,50	39,14	0,46	0,04	5,36
BS/criollo	0,32	0,04	2,76	0,27	0,03	2,50	0,11	0,01	1,37
Brown swiss	0,27	0,04	1,88	0,29	0,04	2,11	0,11	0,10	0,98
3,5 a 5 años	1,92	0,56	6,52	0,99	0,28	3,49	4,04	0,47	34,46
> 5 años	6,21	1,72	22,45	2,58	0,71	9,41	7,22	0,79	65,12

OR: Odds Ratio, IC inf: Intervalo de confianza inferior y IC sup: Intervalo de confianza superior

V. DISCUSIÓN

5.1. Prevalencia de la mastitis subclínica en vacunos de forma global por lugar, raza y edad en el distrito de Villa Rica

Según el Cuadro 2 y Figura 1, la prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos en el distrito de Villa Rica en forma general fue de $34,8 \pm 8,04\%$ ($P < 0.05$). La prevalencia en las localidades de Bocaz, Cakazu y Villa Rica fue de $30 \pm 28,4\%$; $35,9 \pm 10,64\%$ y $34 \pm 13,44\%$ respectivamente; estos resultados obtenidos concuerdan con MURRIETA (2002), MORALES et al. (2006) y no concuerda con JORDAN (1976), el autor reporta 68,51%. Asimismo, según el Cuadro 3 y Figura 2 la prevalencia de la mastitis subclínica por razas, se tiene que la raza Holstein presenta prevalencia alta $80 \pm 35,06\%$, estos resultados concuerdan con JUBB et al. (1991) y BLOOD (1992) quienes señalan que los vacunos de alta producción de leche como la raza Holstein son susceptibles a adquirir la mastitis subclínica y clínica. En estos animales, los microorganismos causantes de la mastitis están alrededor del pezón, los microorganismos primero entran por el esfínter del pezón, luego colonizan el cisterna del pezón, cisterna de la glándula mamaria y después al conducto galactóforo a partir de esta estructura invaden a los alvéolos mamarios. Asimismo, los microorganismos causantes de la mastitis, a través de esta vía pueden invadir al sistema y pueden ocasionar infección sistémica. En la fase de infección, las bacterias llegan, establecen, multiplican y colonizan la glándula

mamaria produciendo cuadros inflamatorios de diversos grados como la inflamación hiperaguda, aguda y crónica. Asimismo, BLOOD (1992) indica que el factor predisponente de la mastitis clínica y subclínica en vacas es el tipo de ordeño; el ordeño manual es más sano que el ordeño mecánico, porque este último está sujeto a variaciones o alteraciones en el equipo de ordeño. Asimismo, en las vacas de alta producción de leche se aumenta el número de ordeños, esto hace que haya mayor evacuación de la leche, con la que existe más probabilidad de presentación de mastitis; en el ordeño, sobre todo en el mecánico, siempre existe una última gota de leche que es un excelente caldo de cultivo para la proliferación de los microorganismos causantes de mastitis. En la etapa del proceso inflamatorio, el agente infeccioso produce alteración de los componentes de la leche donde el exudado inflamatorio alcalino es producto del paso de iones bicarbonato y cloruros hacia los alvéolos mamarios en este caso se observa alteración de la leche. En consecuencia, la inflamación de la glándula mamaria desencadena la mastitis subclínica y mastitis clínica.

Según el Cuadro 4 y Figura 3 la prevalencia de la mastitis subclínica de vacunos por edad en el distrito de Villa Rica en forma global fue de $34,8 \pm 8,04 \%$ ($P < 0,05$). Asimismo, se debe indicar que en el país y otros países no existen estudios sobre la presentación de la mastitis clínica y subclínica en la edad de las vacas. Sin embargo en el presente estudio se demuestra que todas las edades son susceptibles a presentar mastitis clínica y subclínica. Pero, en el estudio se demuestra que los animales mayores de 5 años son más susceptibles a la presentación de la mastitis y esto concuerda

con NOVOA (2005) quien menciona que en los animales mayores su sistema inmunológico ya sea humoral y celular está en decadencia, porque los órganos del sistema ya no están funcionando a la perfección porque hay desgaste propio de la edad.

5.2. Prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica en vacunos por lugar, raza y edad en el distrito de Villa Rica

Según el Cuadro 5 y Figura 4 la prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica en forma general para vacunos por lugar en el distrito de Villa Rica. Para los microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* y *Pseudomona* sp la prevalencia fue de $31,1 \pm 7,81$ %; $21,5 \pm 6,93$ %; $15,6 \pm 6,12$ % y $1,48 \pm 2,04$ ($P < 0,05$) respectivamente. Se tiene que el *Staphylococcus aureus* ($31,1 \pm 7,81$ %) presenta mayor porcentaje de prevalencia de la mastitis subclínica en comparación a los demás agentes etiológicos, estos resultados obtenidos concuerdan con LAMMERS (2000) y HARMON (1996) quienes consideran que el *Staphylococcus aureus* es el agente causal más importante, por eso se dice que es el primer agente etiológico mas prevaeciente de la mastitis subclínica y que una vez establecido en la glándula mamaria es difícil de erradicar.

Según el Cuadro 6 y figura 5 se tiene que la prevalencia de los microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por razas en

el distrito de Villa Rica, la raza Holstein presenta prevalencias altas para las bacterias *Staphylococcus aureus*, $60 \pm 42,94 \%$, *Streptococcus agalactiae* $40 \pm 17,17\%$ y *Escherichia coli* $60 \pm 42,94 \%$ ($P < 0,05$), estos resultados obtenidos no concuerdan con MORALES et al. (2006), ARAUCO et al. (2006) y JORDAN (1976), pero cabe indicar que estos autores no estudiaron a los microorganismos por razas sino en forma general. Pero mis resultados si concuerdan con lo que mencionan JUBB (1991) y BLODD (1992) que la raza Holstein es una raza de alta producción de leche, por eso estos animales necesitan condiciones ambientales y climáticas óptimas para la producción de leche, ya que esta raza de vacunos son susceptibles a diferentes tipos de enfermedades ya sean infecciosas y parasitarias, dentro de las enfermedades infecciosas tenemos a la mastitis subclínica y clínica.

Según el Cuadro 7 y Figura 6 para la prevalencia de microorganismos causantes de la mastitis subclínica de vacunos por edades en el distrito de Villa Rica, se obtuvo que los animales mayores de 5 años de edad, presentan prevalencias altas para las bacterias *Staphylococcus aureus*, $52,6 \pm 15,87 \%$, *Streptococcus agalactiae* $34,2 \pm 15,08\%$ y *Escherichia coli* $23,7 \pm 13,52 \%$ ($P < 0,05$), estos resultados obtenidos no se pueden comparar si es alto o bajo porque no existen estudios a nivel nacional e internacional relacionados a los microorganismos con la edad de los animales. Sin embargo mis resultados concuerdan con NOVOA (2005) quien menciona que en los animales mayores de 5 años la función que cumple su sistema inmune está en proceso de decadencia por desgaste propio de la edad de los animales, por lo

tanto sus defensas se encuentran disminuidas por efecto de la edad, es por eso que se obtuvo que los animales mayores presentaron prevalencias altas para las bacterias causantes de la mastitis subclínica.

5.3. Evaluación de los factores de riesgo en la presentación de mastitis subclínica causados por microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli* por medio de regresión logística modelo Odds Ratio de las variables lugar, raza y edad en el distrito de Villa Rica.

Según el Cuadro 8 se indica y se analiza los factores de riesgo o exposición de la presentación de la mastitis subclínica en el distrito de Villa Rica; la localidad de Bocaz, la raza Holstein y la edad de los animales menores de 3 años actúan como controles o basales. Dentro de la variable edad se tiene que los animales mayores de 5 años (OR: 6.21; IC: 1,72 – 22,45) constituye un factor de riesgo, al presentar la posibilidad de desarrollar la enfermedad en 6,21 veces más, estos resultados concuerdan con NOVOA et al. (2003) quien reportó que los animales mayores de 5 años y 7 años de edad son factores de riesgo en la presentación de la mastitis subclínica. Los lugares y las razas no son factores de riesgo para la presentación de la mastitis subclínica. Estos resultados obtenidos no concuerdan con DOHERR et al. (2007), el autor indica que la raza Holstein y Brown Swiss son susceptibles a la presentación de mastitis subclínica y clínica. Del mismo modo no concuerda con los reportados por MORALES et al. (2006) y ARAUCO et al. (2006). Los

autores indican que la raza Holstein es muy susceptible para contraer la infección por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli*. En consecuencia, los resultados obtenidos en el presente estudio en relación a los factores de riesgo, comparados con otros autores la raza Holstein es predisponente a la mastitis; en el presente estudio en la zona estudiada los criadores no se dedican a la crianza de esta raza, porque no se adapta bien a la zona y los ganaderos prefieren criar razas adaptadas o que se adapten mejor a la zona de la selva.

VI. CONCLUSIONES

- La prevalencia de la mastitis subclínica de vacas en el distrito de Villa Rica en forma general fue $34,8 \pm 8,04\%$.
- Los vacunos de la raza Holstein presentan prevalencia alta de la mastitis subclínica $80,0 \pm 35,06\%$ ($P < 0,05$) en comparación a otras razas.
- La prevalencia alta de la mastitis subclínica se presenta en animales mayores de 5 años de edad.
- Los microorganismos prevalentes y causantes de mastitis subclínica fueron *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* y *Pseudoma sp*
- Los animales mayores de 5 años representan un factor de riesgo para la presentación de la mastitis subclínica, los lugares y las razas no representan factores de riesgo para la mastitis subclínica la cual no afecta la leche para consumo humano.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de prevalencia e incidencia de la mastitis subclínica en diferentes épocas del año.

- Estudiar los factores de riesgo con otras variables como número de partos, días de lactación, etc.

- Estudiar el efecto antibacteriano de los agentes causantes de la mastitis.

- Programar en el calendario sanitario la evaluación de la mastitis subclínica una vez al mes en vacas de alta producción de leche (Holstein).

VIII. ABSTRACT

This research work was carried out in Villa Rica district, Oxapampa province, Pasco department – Peru. The objective of this study was to determine the prevalence and risk factors for subclinical mastitis in dairy cattle. Also, in this work 135 cattle from Brown Swiss x Criollo, Holstein and Brown Swiss breeds were used, grouped in different ages: under 3 years, from 3.5 to 5 years and older than 5 years. General results for subclinical mastitis prevalence in Villa Rica district was: $34,8 \pm 8,04\%$, likewise these results showed high prevalence in Cakazu village, in Holstein breed and in older than 5 years cows, which were as follow: $35,9 \pm 10,64\%$; $80,00 \pm 35,06\%$ and $26 \pm 15,81\%$ respectively. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* and *Pseudomona* sp. prevalence were: $31,1 \pm 7,81\%$; $21,5 \pm 6,93\%$; and $1,48 \pm 2,04\%$ respectively. Similarly older than 5 years animals represent a risk factor for subclinical mastitis presentation (OR: 6,21 ; IC: 1,72 – 22,45). In conclusion, subclinical mastitis prevalence is high in Holstein breed and in older than 5 years animals, and *Staphylococcus aureus* was the most prevalent microorganism. In this regard, must be taken measures for subclinical mastitis prevention and control.

IX. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

AIELLO, S. y MAYS, A.; 2000; Manual Merck de Veterinaria; Quinta edición; Océano Grupo Editorial S.A., Impreso en España.

ARMENTEROS, M., PONCE. P., CAPDEVILA J., ZALDÍVAR, V. y HERNÁNDEZ, R.; 2006; Prevalencia de mastitis en vacas lecheras de primer parto y patrón de sensibilidad de las bacterias aisladas en una lechería especializada. *Rev. Salud Anim. Vol. 28 No. 1 (2006): 8-12.*

ARMITAGE, P. y BERRY, G.; 1987; *Statistical methods in medical research.* Segunda Edición. Great Britain. Blackwell scientific publication; P 115 – 120.

ARAUCO, F. y MAYORGA, N.; 2006; Monitorio epidemiológico de la mastitis subclínica en ganado Brown Swiss de la EEA el Mantaro - UNCP. XXIX Reunión Asociación Producción Animal (APPA) Huancayo 2006.

BEDOLLA, C. y PONCE DE LEÓN, M.; 2008; Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera REDVET. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504, 2008 Volumen IX Número 4.

BLOOD, C. y RADOSTIST, M.; 1992; Medicina veterinaria; 7ma edición; Editorial Internaciones Mc Graw-Hill. Vol. 2 ; 1191 p.

BOOTH, J.; 1995; Progress in the control of mastitis. In: Proceedings 3rd IDF International Mastitis Seminar. Tel Aviv, IL. May 28–June 1, 1995. Federation Internationale de Laiterie/International Dairy Federation (FIL/IDF). book II, session 4, p. 3–10.

BRAMLEY, J.; 1992; Identifying mastitis problems and strategies for control. In: 31st Annual Meeting NMC. Arlington, Virginia. February 10-12, 1992. National Mastitis Council (NMC); p. 5–14.

BROOKS G. F, BUTEL J. S, Y MORSE S.A. 2002 Microbiología Médica 17ª edición, Editorial manual Moderno. 844 p.

DeGRAVES, F. y FETROW, J.; 1993; Economics of mastitis and mastitis control. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.* 9: 421-434.

DOHERR, M., ROESCH, M., SCHEREN, W., SCHALLIBAUN, M. y BLUM, J.; 2007; Risk factors associated with subclinical mastitis in cows on Swiss organic and conventional production system farms. *Veterinari medicina* 52, 2007 (11); p. 487 – 495.

FARÍA, R., GARCÍA, U., D'POOL, G., KUTCHYNSKAYA, V., ALLARA, C. y ANGELOSANTE, G.; 2005; Detección de mastitis subclínica en bovinos mestizos doble propósito ordeñados en forma manual o mecánica. Comparación de tres pruebas diagnósticas. Revista Científica V.15 N° 2 Maracibo abril 2005 ISSN 0798-2259 versión impresa.

FORSHELL, K., ØSTERÅS, O., AAGAARD, K. y KULKAS, L.;1995; Disease recording and cellcount data in 1993 in Sweden, Norway, Denmark and Finland. In: Proceedings 3rd IDF International Mastitis Seminar. Tel Aviv, IL. May 28–June 1, 1995. Federation Internationale de Laiterie/International Dairy Federation (FIL/IDF). book II, session 4, p. 50–54.

GONZALES, C., SCARAMELLI, A., CORDERO, F., TIRADO, M., DIAZ, D. y CLERE, K.; 2007; Prevalencia de mastitis en un rebaño Brahaman y su efecto sobre el peso de los becerros ajustado a 205 días. XX Reunion asociación latinoamericana de producción animal (ALPA) y XXX reunión asociación peruana de producción animal (APPA) Cuzco octubre del 2007.

GREEN, M.; 2000; Situación actual de la mastitis en UK. In: Mastitis Bovina. Curso Internacional. Valdivia, CL. 23–25 Noviembre 2000. U. Austral de Chile, Fac. Cs. Veterinarias.

- HARMON, R.; 1996; Controlando la mastitis causada por patógenos contagiosos. In: Reunión Regional 1996 Consejo Nacional de Mastitis. Querétaro, MX. 26 Julio 1996. National Mastitis Council (NMC). p. 11–19.
- HOGAN, J., SMITH, K., HOBLET, K., SCHOENBERGER, P., TODHUNTER, D., HUESTON, W., PRITCHARD, D., BOWMAN, G., HEIDER, L., BROCKETT, B. y CONRAD, H.; 1989; Field survey of clinical mastitis in low somatic cell count herds. *J. Dairy Sci.* 72:1547–1556.
- HUDA, A.; 1995; Subclinical mastitis in Denmark 1991–1994. In: Proceedings 3rd IDF International Mastitis Seminar. Tel Aviv, IL. May 28–June 1, 1995. Federation Internationale de Laiterie/International Dairy Federation (FIL/IDF). book II, session 4, p. 98–99.
- JORDAN, S.; 1976; Diagnostico de los Principales Agentes Etiológicos de la Mastitis Bovina en la Provincia de Leoncio Prado. Tesis Ing Zootecnista. Tingo Maria, Perú. Universidad Nacional Agraria de la selva; 62 p.
- JUBB, K., KENNEDY, P. y PALMER, N.; 1991; Patología de los animales domésticos tomo III, 3ª edición, Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur; 571 p.

- KLEINSCHROTH, E., RABOLD, K. y DENEKE, J.; 1991; La mastitis diagnostico, prevención y tratamiento; Editorial EDIMED; p 77.
- LAMMERS, A., NUIJTEN, P., KRUIJT, E., STOCKHOFE-ZURWIEDEN, N., VECHT, U., SMITH, H., y VAN ZIJDEVELD, F.; 1999; Cell tropism of *Staphylococcus aureus* in bovine mammary gland cell cultures. *Veterinary Microbiology*. 67; p. 77-89.
- LESLIE, K; GODKIN, M., SCHUKKEN, Y. y SARGEANT, J. ; 1996 ; Milk quality and mastitis control in Canada: progress and outlook. In: 35th Annual Meeting NMC. Nashville, Tennessee. February 18-21, 1996. National Mastitis Council (NMC); p. 19–30.
- LOZA, P.; 1982; Diagnostico de Mastitis subclínica por el Método de Whiteside Modificado en Ganado Lechero de Selva Tesis Ing Zootecnista. Tingo Maria, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva; 78 p.
- Mc DONALD, J.; 1984; Streptococcal and staphylococcal mastitis. *Vet. Clin. North Am.* 6:269–285.
- MILTENBURG, J., DE LANGE, D., CRAUWELS, A., BONGERS, J. y ELBERS, A.; 1995; Estimating the incidence of clinical mastitis in dairy herds in the southern Netherlands. In: Proceedings 3rd IDF International Mastitis Seminar. Tel Aviv, IL. May 28–June 1, 1995. Federation Internationale de

Laiterie/International Dairy Federation (FIL/IDF). book II, session 6; p. 86–87.

MORALES, S. CALLE, S. PINTO, C. y ANTUNEZ, O.; 2006; Estudio de la frecuencia de agentes bacterianos causantes de mastitis en bovinos durante el 2000 a 2005. XXIX Reunión científica anual (APPA) Huancayo 2006.

MURRIETA, L.; 2002; Incidencia e Identificación del Agente Etiológico Causante de la Mastitis Subclínica en Ganado Lechero en la zona de Tingo Maria-Aucayacu. Tesis Ing. Zootecnista. Tingo Maria, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva; 62 p.

NOVOA, R., ARMENTEROS, M., ABELEDO, M., CASANOVAS, E., VALERA, R., CABALLERO, C. y PULIDO, J.; 2005; Factores de riesgo asociados a la prevalencia de mastitis clínica y subclínica; rev. Salud Anim. Vol. 27 N°2: 84-88.

NOVOA, R., ARMENTEROS, M. y ABELEDO, M.; 2003; Evaluación epizootiológica y económica de la mastitis bovina en rebaños lecheros especializados de la provincia de Cienfuegos; Tesis de Maestría; Universidad Agraria de la Habana – Cuba; 116p.

PASTOR, G. y BEDOLLA, C.; 2008; Determinación de la prevalencia de mastitis bovina en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, mediante la prueba de California. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504. 2008 Volumen IX Número 10.

PÉREZ, M.; 1996; Milk quality and mastitis control in Mexico. In: 35th Annual Meeting NMC. Nashville, Tennessee. February 18-21, 1996. National Mastitis Council (NMC); p. 31–32.

PERIS, C., MOLINA, P., FERNANDEZ, N., RODRIGUEZ, M. y TORRES, A.; 1991; Variation in somatic cell count, California mastitis test, and electrical conductivity among various fractions of ewe's milk. J Dairy Sci 74:1553-1560.

PHILPOT, W. ; 1978 ; Manejo de la mastitis. Illinois, US. Babson Bros; 72p.

PRAFUL, R. y PANCHMUKHI, N. 1995; Epidemiology and cost-effectiveness of control of subclinical mastitis. In: Proceedings 3rd IDF International Mastitis Seminar. Tel Aviv, IL. May 28–June 1, 1995. Federation Internationale de Laiterie/International Dairy Federation (FIL/IDF). book II, session 4, p. 119–120.

SHPIGEL, N., WINKLER, M., ZIV, G. y SARAN, A.; 1995; Clinical, bacteriological and epidemiological aspects of clinical mastitis in israeli

dairy cows. In: Proceedings 3rd IDF International Mastitis Seminar. Tel Aviv, IL. May 28–June 1, 1995. Federation Internationale de Laiterie/International Dairy Federation (FIL/IDF). book II, session 6, p. 23–27.

SMITH, K. y HOGAN, J.; 1995; Epidemiology of mastitis. *In*: Proceedings 3rd IDF International Mastitis Seminar. Tel Aviv, IL. May 28–June 1, 1995

SURIYASATHAPORN, W., SCHUKEKEN, Y., NIELEN, M. y BRAND, A.; 2000; Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a Dairy Herd. *J Dairy Sci* 83: 1248-1255.

THRUSFIELD, M.; 1990; Epidemiologia veterinaria. Zaragoza, España, Ed. Acribia S.A.; 330 p.

VADILLO, S., PÍRIZ, S. Y MATEOS, E. 2002. Manual de Microbiología Veterinaria. Ed. McGraw-Hill-Interamericana. España.

X. ANEXOS

Cuadro 10.- Análisis de regresión logística para *Staphylococcus aureus* en la presentación de la mastitis subclínica de vacunos por lugar, raza y edad en el distrito de Villa Rica.

Variable	Odds Ratio	Std. Err.	z	P>z	[95% Conf. Interval]
Cakazu	0,7131931	0,5591801	-0,43	0,666	0,1533986 3,315835
Villa Rica	0,7741051	0,6199338	-0,32	0,749	0,1611107 3,719423
BS/criollo	0,3226658	0,3533433	-1,03	0,302	0,0377245 2,759831
Brown Swiss	0,2689308	0,2672801	-1,32	0,186	0,038341 1,886328
3,5 a 5 años	1,916844	1,198561	1,04	0,298	0,5627933 6,528671
> 5 años	6,218663	4,073509	2,79	0,005	1,722349 22,45293

Cuadro 11.- Análisis de regresión logística para *Streptococcus agalactiae* en la presentación de la mastitis subclínica de vacunos por lugar, raza y edad en el distrito de Villa Rica.

Variable	Odds Ratio	Std. Err.	z	P>z	[95% Conf. Interval]
Cakazu	0,9526209	1,085462	-0,04	0,966	0,1020987 8,888324
Villa Rica	4,436817	4,92884	1,34	0,18	0,5028929 39,1442
BS/criollo	0,2721219	0,3080749	-1,15	0,25	0,029587 2,502803
Brown Swis	0,296146	0,2963861	-1,22	0,224	0,0416499 2,105706
3,5 a 5 años	0,9928716	0,6371651	-0,01	0,991	0,2822561 3,492552
>5 años	2,581852	1,70335	1,44	0,151	0,7085327 9,408116

Cuadro 12.- Análisis de regresión para *Escherichia coli* en la presentación de la mastitis subclínica de vacunos por lugar, raza y edad en el distrito de Villa Rica.

Variable	Odds Ratio	Std. Err.	z	P>z	[95% Conf.	Interval]
Cakazu	1,686105	1,920316	0,46	0,646	0,1809031	15,71533
Villa Rica	0,4642514	0,5795216	-0,61	0,539	0,040198	5,361692
BS/criollo	0,1157921	0,1462706	-1,71	0,088	0,009737	1,376991
Brown Swiss	0,1147704	0,1260309	-1,97	0,049	0,0133387	0,9875188
3,5 a 5 años	4,040816	4,419171	1,28	0,202	0,4737693	34,46445
>5 años	7,216434	8,099944	1,76	0,078	0,7996654	65,12339