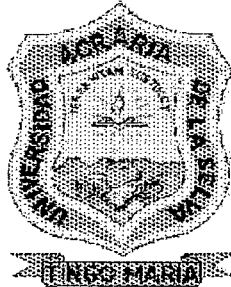


UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE ZOOTECNIA

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIA ANIMAL



**INCIDENCIA E IDENTIFICACION DEL AGENTE ETIOLOGICO CAUSANTE
DE LA MASTITIS SUBCLINICA EN GANADO LECHERO EN LA ZONA DE
TINGO MARIA - AUCAYACU**

TESIS

Para optar él titulo de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

HENRRY MURRIETA LOZANO

PROMOCION 2001-II

“Excelencia Profesional Para un Desarrollo Sostenible”

Tingo María - Perú

2002



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María - Perú

FACULTAD DE ZOOTECNIA

Av. Universitaria Km. 2 Telf. (064) 561280 Fax: (064) 561156 E-Mail: faczoot@unas.edu.com.pe

"AÑO DE LA VERDAD Y LA RECONCILIACIÓN NACIONAL"

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 06 de setiembre del 2002, a horas 06:00 p.m., para calificar la tesis titulada:

"INCIDENCIA E IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE ETIOLÓGICO DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA EN GANADO LECHERO EN LA ZONA DE TINGO MARÍA - AUCAYACU"

Presentada por el Bachiller HENRRY MURRIETA LOZANO; después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobado 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 Art. 81 inc. m, del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 12 de setiembre del 2002.

Med. Vet. TEODOLFO VALENCIA CH.
Presidente

Ing. M.Sc. TULITA ALEGRIA GUEVARA
Miembro

Ing. M.Sc. JORGE RIOS ALVARADO
Miembro



Ing. M.Sc. MIGUEL PÉREZ OLANO
Asesor

Med. Vet. LISANDRO TAFUR ZEVALLOS
Asesor

DEDICATORIA

A mis padres ROBERTO y
MERCEDDES por sus consejos
enseñanzas y valoración
durante mis estudios

A mis hermanos DORA,
ROBERTO, JORGE Y
ROLANDO por el apoyo moral
y espiritual.

A mis sobrinos DORIANA Y JORGE.

En memoria de mi abuelo
ROBERTO y mi hermana
NANCY.

A dios a quien lo debo todo.

AGRADECIMIENTO

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIAS DE LA SELVA, por la formación profesional que me brindo.

FACULTAD DE ZOOTECNIA, por la enseñanza y capacitación depositada en mi para el futuro.

PROFESORES DE LA FACULTAD DE ZOOTECNIA, por la preparación académica brindada.

Ing. MSc. Miguel Perez Olano, por el asesoramiento y confianza depositada en mi persona durante el desarrollo de mi tesis.

MV. Lisandro Tafur Zevallos, por el asesoramiento y confianza y confianza depositada en mi persona durante el desarrollo de mi tesis.

MV. MSc. Daniel Paredes López, por compartir sus conocimientos del laboratorio en los análisis de las muestras.

MV. MSc Teodolfo Valencia Chamba, en la aprobación de mis tesis como presidente del jurado.

Ing. MSc. Jorge Ríos Alvarado, en la aprobación de mi tesis como miembro del jurado.

Ing. MSc. Tulita Alegria Guevara, en la aprobación de mi tesis como miembro del Jurado.

ÍNDICE

	Pag.
I. Introducción	1
Objetivos	2
II. Revisión de literatura	3
2.1. Origen de la mastitis	3
2.2. La mastitis	6
2.3. Patógenia	8
2.4. El ambiente y la mastitis	9
2.4.1. Mano sucia	10
2.4.2. Toallas para secar	11
2.5. Desarrollo de la infección	11
2.6. Contagio	11
2.7. Riesgo de infección	12
2.8. Mastitis y frecuencia de ordeño	13
2.8.1. Ordeño con ternero	14
2.8.2. El Ordeño manual sin ternero utilizando presión	15
2.8.3. La ordeñadora mecánica y su relación con la mastitis	15
2.9. Agentes contaminantes	15
2.9.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2.9.2. <i>Streptococcus agalactiae</i>	18
2.9.3. <i>Streptococcus uberis</i> y <i>streptococcus dysgalactiae</i>	18
2.9.4. <i>Echerichia coli</i>	19

2.10. La Prueba de mastitis subclínica	21
2.10.1. Prueba CMT	21
2.10.2. Prueba de Whiteside	22
2.11. Cultivo bacteriano	22
2.12. Antibiograma	23
2.13. Mecanismo de acción de los fármacos que controlan las enterobacterias y bacterias catalasa positiva	24
2.13.1. Oxitetraciclina	24
2.13.2. Cloranfenicol	24
2.13.3. Enrofloxacin	25
2.13.4. Gentamicina	26
2.14. Prevención	26
2.15. Antecedentes de la enfermedad	31
III. Materiales y métodos	33
3.1. Lugar y fecha	33
3.2. Materiales	33
3.3. Animales muestreados	34
3.4. Método de california mastitis test en el campo	34
3.4.1. Método de CMT	34
3.5. Método de análisis microbiológico de las muestras	35
3.5.1. Cultivo bacteriológico de la leche	35
3.6. Método de tinsión de gram	36
3.7. Método del conteo de biomasa bacteriana	36
3.8. Antibiograma	37

3.9. Variables en estudio	38
3.9.1. Variables independientes	38
3.9.2. Variables dependientes	38
3.10. Análisis estadísticos	38
IV. Resultados	39
V. Discusiones	51
VI. Conclusiones	57
VII. Recomendaciones	58
VIII. Abstract	59
VIII. Bibliografía	60
ANEXO	
Resumen	

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Pag.
1. Distribución mensual de vacas y cuartos positivos a mastitis	31
2. Numero y porcentajes de vacas estudiados mediante la prueba de California Mastitis Test.	40
3. Numero y porcentaje de los cuartos estudiados mediante la Prueba de California Mastitis Test.	42
4. Grados de reacción de las muestras de leche sometida a la prueba California Mastitis Test.	45
5. Grado de Crecimiento bacteriano y tipo de acción de los antibióticos	47
6. Cantidad de microorganismos en las placas.	48
7. Numero de vacas muestreadas de acuerdo a raza y cruces.	49
8. Grados y índices.	50
9. Anexo	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras	Pag.
1. Vacas con mastitis subclínica	41
2. Cuartos muestreados	43
3. Cuartos positivos.	43
4. Cuartos negativos.	44
5. Grados de reacción.	46

RESUMEN

El presente trabajo titulado "incidencia e identificación del agente etiológico causante de la mastitis subclínica en ganado lechero en la zona de Tingo María –Aucayacu, para lo cual se plantea los siguientes objetivos: cuantificar el porcentaje de animales infectados con mastitis subclínica en la zona e identificar los agentes etiológico de la mastitis subclínica propios de la zona de Tingo María – Aucayacu. Para el diagnóstico de la mastitis subclínica se utilizó el reactivo CMT (campo), cultivos bacteriológicos de la leche, método de tinción de gram, método del conteo de biomasa bacteriana y el antibiograma. En los resultados la incidencia de la mastitis subclínica en las zonas muestreadas Tingo María – Aucayacu es de 77 (22.90%) vacas con reacciones positivas de los 310 (100%) vacas analizadas. En los cuartos analizados 139 (11.29%) cuartos fueron positivos de 1240 (100%) cuartos. El agente de mayor presencia es la *Echerichia coli* y de menor presencia del *Staphylococcus*. El grado de confiabilidad de la prueba CMT del 92.5% y el índice de la mastitis subclínica de 0,29. Se concluye que la incidencia de la mastitis subclínica en la zona de Tingo María – Aucayacu es baja 22.9%. La *Echerichia coli* es la bacteria mas predominante, seguido del *Staphylococcus* como agentes determinantes de la mastitis subclínica la cual se demostró en el aislamiento y cultivo así como en la susceptibilidad al antibiograma. La enrofloxacin presento una mayor acción frente a la *Echerichia coli* inhibiendo el crecimiento y desarrollo de las colonias frente a la oxitetraciclina, cloranfenicol y la gentamicina.

I. INTRODUCCIÓN

La población ganadera en la zona de Tingo María – Aucayacu se ha incrementado, en mayor proporción el ganado productor de leche, el mismo que exige un manejo adecuado de los animales para obtener un producto de calidad que es la leche. Este manejo debe realizarse desde varios puntos de vista entre los que se encuentran el aspecto sanitario de la vaca y la higiene de la ubre en el ordeño.

En el aspecto sanitario, la mastitis clínica y subclínica son enfermedades infecciosas propia de los mamíferos y especialmente en el ganado vacuno lechero, es la enfermedad más importante desde el punto de vista económico en una explotación de ganado lechero, ocasionando así la disminución en cantidad y la calidad de la leche, dando lugar a una disminución de los ingresos alterando en la salud de la cría y como de los consumidores de leche fresca y en la elaboración de los derivados de la leche, debido a la transmisión de agentes patógenos.

El problema materia de investigación fue: ¿Qué porcentaje del total de las vacas de ordeño está infectado con mastitis subclínica en la zona de Tingo María - Aucayacu?. Lo que nos lleva a plantear la siguiente hipótesis: La

incidencia de la mastitis subclínica en ganado lechero de la zona de Tingo María – Aucayacu es alto (80%) lo que afecta la calidad del producto.

OBJETIVOS:

- Cuantificar el porcentaje de animales infectados con mastitis subclínica en la zona de Tingo María - Aucayacu.
- Identificar los agentes etiológicos de la mastitis subclínica propios de la zona de Tingo María – Aucayacu.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Origen de la mastitis

La formación de la mastitis según KLEINSCHROTH (1991) indica que depende de numerosos factores: animal, medio ambiental y germen causal. Por este motivo se la califica como "enfermedad multifactorial". El riesgo de la infección viene determinado por la relación del animal con las influencias del medio ambiente. Si esta controversia predomina las agresiones ambientales sobre la capacidad defensiva del microorganismo, la glándula del animal mostrara una predisposición a la infección y se formara una mastitis. El animal puede poner en marcha dos mecanismos: la capacidad de defensa congénita (resistencia genética) y la insensibilidad adquirida (inmunidad). La resistencia genética de la mastitis propicia la selección en la cría de estirpes con este factor, aunque a causa del bajo grado de heredabilidad del carácter y que son poco los animales resistentes a la mastitis, los resultados sólo se manifiestan tras largo tiempo. La inmunidad no siempre es del mismo grado, existen variaciones individuales y temporales. En general la inmunidad de la glándula mamaria es escasa. De la acción conjunta de las funciones defensivas se deriva la capacidad de resistencia del animal frente a los gérmenes causales y factores ambientales. La capacidad de resistencia tampoco es absoluta, ya

qué varía en el tiempo y de un animal a otro. Como causa posible de una baja resistencia se consideran los factores siguientes:

- Enfermedades generales: con alteraciones postnatales, inflamaciones uterinas, trastornos gastrointestinales, afecciones pódalas, etc. Estos procesos aminoran la capacidad defensiva.

- Edad: la edad avanzada supone mayor predisposición, por una menor tendencia a la curación, alteraciones de los pezones, etc. La frecuencia de la infección crece con él numero de lactaciones.

- Forma de la ubre: las ubres colgantes suponen un mayor peligro de infección o de lesión y, por tanto, un mayor riesgo de mastitis.

- El surco anovulvar es un importante reservorio de gérmenes que arriesgan la infección.

- Afecciones de la piel de la ubre: viruela, eczema, verruga, producen, a causa del dolor, un ordeño defectuoso, lo cual se traduce a un mayor riesgo de enfermedad.

- Estadío de lactación: mayor susceptibilidad en la primera y ultima semana de la lactancia así como la primera semana del secado del periodo en qué el animal no da leche.

- Trastorno metabólicos: errores en la alimentación: debilitamiento de la capacidad de resistencia, mayor predisposición.

- Lesiones en la ubre: gran riesgo de mastitis.

Los gérmenes pueden penetrar en la ubre través de tres vías: A través de los conductos que desembocan en el pezón, por la sangre o por el tejido linfático. GALEANO (2000) reporta que la primera es la vía más común de entrada de gérmenes, especialmente en los casos en los que existe un estancamiento de las secreciones. La vía sanguínea es más rara y ocurre en casos de infecciones generalizadas del organismo. En el caso de lesiones de la piel del pezón o de la aureola la vía de entrada es a través del sistema linfático. En la mastitis la mama es dolorosa, suele verse una zona enrojecida y tumefacta.

BAILEY (2000) sugiere que esta inflamación se desarrolla debido a la presencia de leucocitos. Los leucocitos son creados por el sistema inmune de la vaca y transportados hacia la ubre debido a la presencia de bacterias en el canal del pezón. Una vez infiltradas en el canal del pezón, las bacterias se multiplican en número y producen toxinas (substancias toxicas) que causan la destrucción del tejido mamario cuya función es de producir leche. Cualquier trauma que recibiera el pezón también puede afectar su grado de susceptibilidad hacia invasiones bacterianas, colonización, y eventualmente infecciones. Condiciones asociadas con un fuerte impacto físico (golpes) contra el esfínter del pezón pueden llegar a impulsar bacterias hacia el interior de pezones sanos.

2.2. La mastitis

DE LA TORRE (1999) y MERCK (2000) señaló que la mastitis es la inflamación de la glándula mamaria generalmente causada por gérmenes patógenos que ocasionan cambios físico-químicos en la leche y lesiones en la ubre; las vacas infectadas producen menos leche debido a que las células que la producen son destruidas. Los factores más predisponentes a la infección dentro de la glándula son: la poca higiene durante el ordeño, las maquinas de ordeño defectuosos, el manejo erróneo del ordeño, las lesiones en las tetillas, las úlceras en las tetillas, y las poblaciones de patógenos en el medio ambiente.

BLOWEY *et. al.*, (1995) Aporta que la mastitis significa simplemente inflamación de la ubre. La mayoría de los granjeros asocian a la mastitis con un cuarterón inflamado y con un cambio del aspecto de la leche. Estos cambios son debido a la respuesta inflamatoria de la vaca a la infección. Sin embargo, la mastitis también se puede presentar en la forma subclínica. Esto significa que a pesar de que en la ubre existe infección, no existen cambios externos que indiquen su presencia. Gran parte de la información necesaria para reducir la incidencia de mastitis ha estado disponible durante los 60 años últimos.

KLEINSCHROTH (1991) y MELLENERGER (2001) mencionó que la mastitis es una inflamación de la glándula mamaria (inflamación de la ubre). La enfermedad puede parecer como mastitis subclínica, es decir, sin síntomas apreciables, o bien como mastitis clínica, con signos evidentes de la

enfermedad (tumefacciones o endurecimiento del sector mamario correspondiente, alteraciones de la leche, etc.). La inflamación es la reacción del organismo ante los elementos desencadenantes del proceso como: Bacterias y sus toxinas, parásitos, productos químicos, acciones mecánicas (golpes, choques, presiones), calor, frío, etc. mediante la inflamación, el organismo intenta eliminar las influencias patógenas.

VELEZ (1997) señalo que la mastitis es una infección de la glándula mamaria, causadas por diversos microorganismos patógenos, algunos de los causales son comunes en el medio ambiente de los establos: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium pyogenes*, *Corynebacterium ovis* y *Staphylococcus spp*, tanto del tipo hemolítico, como del no hemolítico.

WATTIAUX (2000) indica que la mastitis, o la inflamación de la glándula mamaria, es la enfermedad más común y costosa del ganado lechero en la mayor parte del mundo. A pesar del estrés y las lesiones físicas que puede causar la inflamación de la glándula, la infección por bacterias invasoras u otros microorganismos (hongos y virus) son las principales causas de mastitis. En contraste, la mastitis subclínica es sutil y mas difícil de corregir. La vaca se muestra saludable, la ubre no muestra ningún signo de inflamación y la leche aparentemente normal. A pesar de ello, los microorganismos y células blancas de la leche (células somáticas) que combaten las infecciones se encuentran elevadas en gran número en la leche. Las perdidas de leche y de

ganancias debido a las mastitis clínicas son obvias, la producción de leche cae en forma abrupta y la leche de las vacas tratadas con antibióticos debe ser descartada durante tres o cuatro días. Además, mucho más leche se pierde debido a mastitis subclínica debido a:

- La gran mayoría de los casos son subclínicos (en promedio, por cada caso clínico, existen de 20 a 40 subclínicos).

- La reducción en la producción de leche debido a la mastitis subclínica tiende a persistir por un largo período de tiempo y afecta la producción de las vacas infectadas.

2.3. Patógenia

BLOOD (1992) sugiere que la aparición de la Mastitis se inicia en términos de tres etapas: invasión, infección y inflamación. La invasión es la etapa en que los microorganismos pasan del exterior de la ubre a la leche que se encuentra en el conducto glandular. La de infección es la etapa en que los gérmenes se multiplican rápidamente e invaden 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 diseminaciones en el tejido mamario dependiendo la infección del mismo de la susceptibilidad del animal. Esta a su vez produce inflamación, etapa en la cual aparece la mastitis clínica y en que aumenta notablemente la cuenta de leucocitos en la leche ordeñada. Las investigaciones

de los factores que rigen el recuento celular en la leche han sido ampliamente revisados. Cabría esperar que la introducción de microorganismos en la ubre daría origen a la aparición de mastitis, pero este no es el caso en forma obligada. Se registran variaciones considerables en cuanto a facilidad para que la mastitis pueda establecerse en diversos animales y por acción de diferentes bacterias. Estas variaciones dependen de respuestas diferentes a cada una de las tres etapas de desarrollo de la enfermedad. Es posible que la infección repetida o la recurrencia de infecciones preexistentes, pueda producir un estado de hipersensibilidad tisular que hace a la glándula más susceptible a los ataques de la inflamación.

2.4. El ambiente y la mastitis

BLOWEY *et. al.*, (1995) afirma que el mantenimiento de un ambiente limpio y agradable para las vacas es de mayor importancia tanto en el control de la mastitis como en la producción de leche limpia y de calidad. Cualquiera que sea el ambiente, los dos factores principales que pueden conducir a un aumento de la mastitis y de la contaminación bacteriana de la leche son:

- Alojamiento: el confinamiento conduce a un contacto más estrecho vaca – a – vaca y por tanto a una oportunidad mayor para la contaminación fecal.

- Humedad: las condiciones húmedas facilitan el desplazamiento de las heces sobre la ubre y permiten una multiplicación más importante de los organismos ambientales.

COTRINO (2001) reporta que la infección es la que se produce alrededor del ordeño por microorganismos que provienen de la piel de los pezones, manos del ordeñador, pezoneras, agua, aire y en general de todo el ambiente que rodea el sitio de ordeño. Esta es la fuente de contaminación más importante, tanto por el número como por la variedad de bacterias que puede llegar a la leche; es también muy susceptible a modificarse ya sea en forma positiva o negativa y por esto es muy fácil tener un buen recuento de bacterias en un ordeño y al siguiente uno muy alto o viceversa. Esta fuente de contaminación puede aportar bacterias de tan diverso origen que los recuentos de Preincubados, Coliformes o Termodúricos se verán incrementados.

2.4.1. Manos sucias

Las manos sucias del ordeñador es una fuente de contaminación para el establecimiento de las bacterias dentro de la ubre de la vaca aumentando la incidencia de la mastitis subclínica debido a la fuerte carga de un conjunto de microorganismos contaminantes.

2.4.2. Toallas para secar

Las toallas que se utiliza en el secado de la ubre después del lavado tienen que ser lavada y desinfectada para disminuir la carga microbiana y minimizar la incidencia de la Mastitis Subclínica en las vacas.

2.5. Desarrollo de la infección

KLEINSCHROTH (1991) menciona que la causa inmediata de la mastitis es la infección de la ubre con gérmenes patógenos que a través del canal del pezón, llegan al tejido glandular multiplicándose en el mismo que se realiza teniendo dos vías posibles:

- La contaminación con gérmenes existentes en la leche que proceden del cuartero infectado, durante el ordeño, especialmente si se trata de un ordeño ciego.

- La proliferación de los gérmenes en el canal del pezón es mayor lo cual sucede con mayor frecuencia en el intervalo entre ordeño y durante el periodo seco.

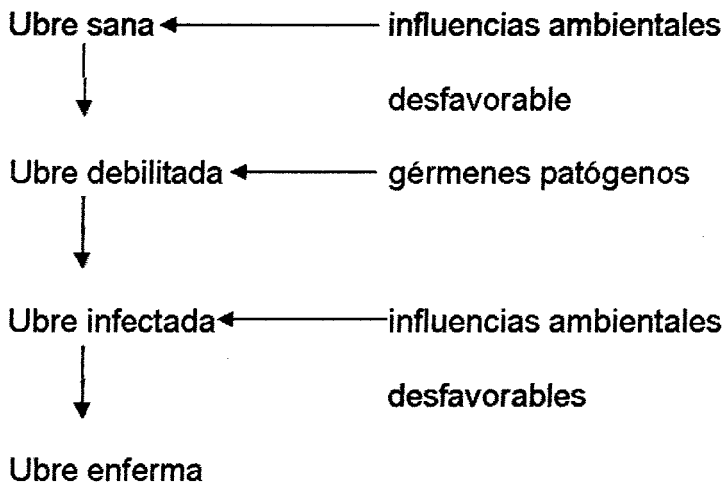
2.6. Contagio

WATTIAUX (2000) aporta que el pezón en sí es la primera línea de defensa contra la penetración de bacteria dentro de la ubre. Normalmente, el esfínter cierra el canal del pezón fuertemente cuando la vaca no es ordeñada. La invasión del pezón se presenta generalmente durante el ordeño. Los organismos presentes en la leche o en la punta del pezón son impulsados

dentro del canal del pezón y de la cisterna cuando existe la entrada indeseable de aire en la unidad de ordeño (desprendimiento o pérdidas de la unidad o remoción de la pezonera sin haber antes cerrado el vacío). Luego del ordeño, el canal del pezón permanece dilatado por una o dos horas e inclusive, el canal del pezón dañado puede permanecer parcialmente o permanentemente abierto. Los organismos del ambiente (materia fecal, cama, etc.) o aquellos que se encuentran en lesiones de la piel en la punta del pezón, pueden invadir fácilmente y abrir total o parcialmente el canal.

2.7. Riesgo de infección

KLEINSCHROTH (1991) indica que el riesgo de infección se halla determina por el numero de gérmenes patógenos, la frecuencia de contacto de las glándulas mamarias con los microorganismos, la patógenia de los gérmenes y la capacidad defensiva específica de la ubre del animal. La influencia desfavorable del medio ambiente (errores en el ordeño, maquinas de ordeño mal arregladas, animales en malas condiciones de estabulación y alimentación, etc.) conduce a un debilitamiento de la capacidad defensiva de la ubre y favorecen la infección, de la misma forma que la favorecen la higiene insuficiente, las lesiones de la teta y la proliferación de gérmenes alrededor del animal. No todas las infecciones producen obligatoriamente una inflamación de la ubre. La evolución probable se muestra en el cuadro adjunto:



2.8. Mastitis y frecuencia del ordeño

BLOWEY *et. al.*, (1995) explica qué la actividad del flujo de ordeño, a saber, la extracción de leche a través del conducto del pezón, elimina las bacterias. Esta eliminación es parte integrante del mecanismo de defensa natural que contribuye a reducir el riesgo de la mastitis. Esto es especialmente cierto por lo que se refiere a organismos adherentes como *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus* para los cuales se cree como un mecanismo de invasión es el crecimiento lento a través del conducto del pezón. Por tanto las vacas que son ordeñadas tres veces al día generalmente son menos sensibles a la mastitis que las vacas que son ordeñadas dos veces al día. La frecuencia aumentada del ordeño también disminuye la presión de la leche en el interior de la ubre, de modo especial inmediatamente antes del ordeño siguiente. La presión excesiva en el interior del pezón acorta el conducto del pezón y al hacerlo aumenta más la sensibilidad a los organismos de la mastitis que invaden la ubre. Todo esto presupone un funcionamiento óptimo del equipo de ordeño. Si el funcionamiento de la ordeñadora mecánica

es deficiente, con pulsación imperfecta y / o con impactos de los pezones, en tal caso la frecuencia aumenta del ordeño conducirá a un riesgo aumentado de mastitis.

WATTIAUX (2000) aporta que le ordeño tanto manual como mecánico son maneras de extraer la leche de la vaca en la cual se describe:

2.8.1. Ordeño con ternero:

La mayoría de la leche se acumula dentro del alvéolo entre los ordeños. El reflejo de liberación de leche comienza con el estímulo de los nervios cuyos impulsos son interpretados por el cerebro (hipotálamo) para indicar a la vaca que el ordeño es inminente. Un estímulo o combinación de los siguientes estímulos externos pueden iniciar el reflejo de liberación de leche:

- El contacto físico de la succión del ternero o el de un operador limpiando los pezones (que son sensibles al contacto y a la temperatura).
- La visión del ternero (especialmente en *Bos indicus*- vacas tipo cebú)
- El sonido de la máquina de ordeño.

2.8.2. El ordeño manual sin ternero utilizando presión

En el ordeño manual, la mano toma todo el largo del pezón. El pulgar y el índice comprimen la parte superior del pezón y al mismo tiempo los demás dedos apretar hacia adentro y hacia abajo. La mayor presión dentro de la ubre (relativa a la presión atmosférica fuera del pezón) forzar la leche a pasar el esfínter.

2.8.3. La ordeñadora mecánica y su relación con la mastitis

BLOWEY *et. al.*, (1995) señala que la ordeñadora puede repercutir en la frecuencia de una o más maneras:

- Comportarse como un fómite (esto es, como un vector).
- Dañar el extremo del pezón.
- Aumentar la colonización bacteriana en el extremo del pezón.
- Originar fuerza de impacto.

2.9. Agentes contaminantes

BLOWEY (1999) menciona que los agentes etiológicos de la mastitis son los siguientes:

- **Gran positivos:**
 - ❖ *Staphylococcus aureus.*
 - ❖ *Streptococcus agalactiae.*

- ❖ *Streptococcus dysgalactiae*.
- ❖ *Bacillus cereus*.
- ❖ *Bacillus licheniformis*.
- ❖ *Streptococcus fecalis*.
- ❖ *Mycoplasma*.

- Gran negativos:

- ❖ Coliformes:
 - ✓ *E. Coli*.
 - ✓ *straptococcus uberis*.
 - ❖ Otros coliformes:
 - ✓ *Citrobacter*.
 - ✓ *Enterobacter*.
 - ✓ *Klebsiella*.
 - ✓ *Pseudomonas aeruginosa*.
 - ❖ *Pasteurella*.
- Hongos.
- Levaduras.

2.9.1. *Staphylococcus aureus*.

BLOWEY *et. al.*, (1995) indica que los *Staphylococcus* son cocos hemolíticos gram – positivo observados como colonias blancas en agar – sangre. Catalasa – positiva y a veces mencionados como *Staphylococcus* coagulasa – positiva. El reservorio de los *staphylococcus aureus* se encuentra

en el interior de la glándula mamaria. Se sabe perfectamente que los estafilococos son difíciles de tratar y que una vez instaurada la infección, resulta sumamente difícil de eliminarlo. Una vez fijado en el interior de la ubre, los *Staphylococcus* con frecuencia se amurallan mediante tejido fibroso, los *staphylococcus aureus* son capaces de vivir en el interior de las células como los macrófagos, los PMN_s (leucocitos polimorfonucleares, células destructoras de bacterias, también denominados neutrófilos) y las células epiteliales.

KLEINSCHROTH (1991) señala que los *Staphylococcus* se hallan también en las proximidades del animal y en la piel del mismo; no obstante, se encuentran principalmente en las glándulas mamarias infectadas. Después de los *Streptococcus* son los gérmenes más frecuentes en la mastitis. Los transmisores habituales son los utensilios del ordeñador, los trapos y las manos del ordeñador. Los *Staphylococcus* poseen la capacidad de penetrar en los tejidos profundos y de encapsularse en ellos.

WATTIAUX (2000) reporta que el *Staphylococcus aureus* vive dentro o fuera de la ubre, en la piel del pezón y puede causar tanto mastitis clínica como subclínica. Generalmente se disemina de la misma forma que el *Streptococcus agalactiae*. La infección tiende a producir cicatrices, que resultan en sacos de infección encerradas en la ubre que son difíciles de alcanzar por los antibióticos. Tales sacos pueden romperse y abrirse a otras partes de la glándula más tarde.

2.9.2. *Streptococcus agalactiae*

WATTIAUX (2000) menciona que el *Streptococcus agalactiae* es la causa más común de infecciones subclínicas pero muy rara vez produce una severa enfermedad (mastitis aguda). Este organismo vive en la ubre de la vaca y sobrevive solamente un corto período de tiempo por fuera de la glándula mamaria. Se disemina principalmente durante el ordeño por medio de la máquina de ordeño, las manos contaminadas del operador, materiales (tela) utilizados para lavar la ubre. Este organismo puede infectar también la ubre de una ternera joven si ha sido alimentada con leche contaminada. La infección permanece en forma indefinida en la glándula mamaria de la novilla. EL *Streptococcus agalactiae* puede ser erradicado del hato con un tratamiento apropiado combinado con buenas prácticas de manejo. Aún así, se puede llegar a diseminar fácilmente en el hato luego de la compra de un animal infectado

2.9.3. *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae*

WATTIAUX (2000) sugiere que estos organismos se encuentran en la cama (especialmente camas orgánicas: paja, aserrín, etc.), aguas estancadas y tierra. Pueden encontrarse también en la piel de la vaca (pezón y abdomen) y en los órganos reproductores. Estos organismos son generalmente transferidos desde el medio ambiente al pezón entre los ordeños, pero algunas transferencias pueden tener lugar durante el ordeño. Estos organismos no pueden ser eliminados del hato debido a que son parte normal del medio ambiente. El grado de infección de estas bacterias tiende a incrementarse

cuando las condiciones favorecen su crecimiento, por ejemplo, durante los meses húmedos del año. El *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae* son responsables también por la mayoría de las mastitis que se presentan ya sea al comienzo o al final del período de seca. Además de estas dos especies de bacterias, existen muchos otros estreptococos ambientales (*Strep. bovis*, *Strep. fecalis*) que pueden causar mastitis.

2.9.4. *Escherichia coli*.

BLOWEY *et. al.*, (1995) señala que la *E. coli* son cepas hemolíticas y anhemolíticas de bacilos gram – negativo. Colonias mucoides de color cremoso – blanco en agar – sangre. Es el microorganismo ambiental mas predominante que provoca mastitis. Existen en grandes cantidades en las heces y de aquí que la infección se presente principalmente en las vacas estabuladas y especialmente cuando la higiene es deficiente. Las circunstancias lluviosas y humedades son sin duda factores exacerbantes, ya que estas circunstancias permiten la diseminación de la materia fecal y el desplazamiento y multiplicación de *E. coli*. La *E. coli* penetra en el conducto del pezón mediante propulsión y de aquí se observa una incidencia aumentada de mastitis en caso de funcionamiento subóptimo de la ordeñadora mecánica o en las técnicas de ordeño que ocasiona impactos del extremo de los pezones. Los síntomas de la mastitis típica por *E. coli* consisten en un cuarterón duro, caliente e hinchado con una secreción acuosa.

KLIENSCHROTH (1991) indica que los gérmenes coliformes pueden estar presentes en cualquiera de las partes que rodean al animal. Se hallan tanto en el mismo animal (intestino) como en sus alrededores. La mastitis por *E. coli* son muy frecuentes inmediatamente después del parto y también durante la lactación.

WATTIAUX (2000) aporta que las bacterias coliformes son habitantes normales del suelo e intestino de las vacas. Se acumulan y multiplican en la materia fecal y en la cama. Los coliformes pueden causar mastitis solamente si las partículas contaminadas del medio ambiente entran en contacto con la ubre. A diferencia de las bacterias descritas previamente, los coliformes no se adhieren a los conductos y al alveolo de la ubre, en lugar se multiplican rápidamente en la leche y producen toxinas que son absorbidas dentro del torrente circulatorio. Como resultado, las infecciones por coliformes conducen a mastitis clínicas agudas. La temperatura corporal de la vaca puede elevarse a 40°C y el cuarto infectado se inflamara y se volverá sensible al tacto. Los mecanismos de defensa de la vaca pueden eliminar las bacterias de la ubre, pero las toxinas permanecen y la vaca puede llegar a morir. Las vacas libres de otras bacterias causantes de mastitis (*Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus aureus*) parecen ser más susceptibles a las bacterias coliformes.

2.10. La prueba de mastitis subclínica

2.10.1. Prueba de California Mastitis Test (CMT)

WATTIAUX (2000) menciona que para esta prueba, la leche de cada cuarto se mezcla con una solución detergente. La leche de los cuartos infectados forma un gel; la consistencia del gel es evaluada en forma visual. Esta reacción se relaciona en general con el número de células somáticas en la leche, y una reacción positiva indica mastitis.

MERCK (2000) indica que existe un juego que comprende una cuchara de plástico y todo los reactivos necesarios. Se mezclan cantidades iguales (2 ml.) de reactivo (sulfanato de alquilo) y leche en las indentaciones de la paleta de plástico, por medio de un movimiento circular; las muestras negativas no forman gel, las muestras positivas preservan grados variables de gelatinización producida cuando el detergente de la prueba CMT reacciona con el ADN de los leucocitos, lo cual refleja el grado de inflamación de la ubre. Hay un grado elevado de correlación entre la CMT y el recuento celular somático. La CMT puede usarse para calcular el recuento celular somático de la leche a granel del rebaño, leche en tambores o leche de una sola tetilla.

VELEZ (1995) sugiere que al añadir sulfanato de alquilo que se combina con el ADN de la célula, se forma un gel mas o menos consistente, de acuerdo al grado de infección. La reacción se inicia cuando el obtenido de células sobre pasa de las 150,000 por ml.

BLOWEY *et al.*, (1995) señala que es una prueba sencilla que es útil para describir la mastitis subclínica por valores groseramente el recuento de las células de la leche. La CMT no proporciona un resultado numérico, sino más bien una indicación de si el recuento es elevado o bajo.

2.10.2. Prueba de whiteside

VELEZ (1997) 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 si el contenido de células es alta.

BLOWEY *et al.*, (1995) reporto 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.

2.11. Cultivo bacteriano

WATTIAUX (2000) aporta que generalmente, esta prueba se desarrolla en vacas seleccionadas para las que los conteos de células somáticas de muestras compuestas revelan un problema persistente serio. Los cultivos de leche de una vaca individual identifican la especie bacteriana, por lo tanto es la forma más confiable para decidir un tratamiento óptimo con antibióticos para una vaca en particular.

BLOOD (1992) señalo que el cultivo de muestras de la leche es un método estándar de examen para describir mastitis. Deba ejecutarse con muestras de cuartos individuales o de muestras compuestas que incluyen leche de los cuatro cuartos. De preferencia las muestras de cuartos individuales pues los costos del tratamiento requiere que se traten el menor numero posible de cuartos de la ubre. El cultivo de muestras de leche de tanques comunes también se ha examinado como medio para vigilar la frecuencia de mastitis en la manada.

2.12. Antibiograma

DEL POZO(2000) Se entiende por antibiograma el estudio de la sensibilidad "in vitro" de las bacterias a los antibióticos. Por extensión, se suele incluir el estudio de la sensibilidad a las sulfamidas y otros quimioterápicos. Utilidad: La razón por la cual es conveniente el estudio del antibiograma de una bacteria determinada radica en el hecho de la diferente sensibilidad a los antibióticos de las distintas especies bacterianas y, más aún, en el hecho de que en numerosas especies existen grandes diferencias de sensibilidad a un determinado antibiótico entre unas y otras cepas. El antibiograma es un método de diagnóstico rápido y preciso. Con ayuda del antibiograma se puede escoger el antibiótico más adecuado para el tratamiento de una enfermedad.

2.13.Mecanismo de acción de los fármacos que controlan las enterobacterias y bacterias catalasa positiva

2.13.1. Oxitetraciclinas

DEL POZO (2000) y ARIAS (2002) menciona que su mecanismo de acción es como unos agentes bacteriostáticos. Inhiben de manera reversible la síntesis proteica al nivel de la subunidad 30 S de los ribosomas bacterianos. Otras acciones (quelan magnesio, inhiben la fosforilación oxidativa). El antibiótico llega a los ribosomas de las bacterias gram negativas mediante dos procesos: difusión pasiva a través de los canales hidrófilos formados por porinas, proteínas de la membrana externa del germen y transporte activo por un sistema que depende de energía y que bombea todo el fármaco a través de la membrana citoplásmica interna. No se conoce el mecanismo de acción de las bacterias gram positivas, también dependa de un sistema de energía para realizar su mecanismo de acción. Es un antibióticos de amplio espectro que actúa sobre microorganismos gram (+) y (-), clamidias, rickettsias, micoplasmas, espiroquetas y actinomicetos. Las bacterias poseen tienen resistencia adquirida mediante plásmidos, que se relaciona con el transporte de las tetraciclinas al interior celular y bombas de flujo

2.13.2. Cloranfenicol

DEL POZO (2000) manifiesta que Inhibe la síntesis proteica al antagonizar reversiblemente la unión del aminoacidil-RNAt al sitio A de la subunidad 50 S de los ribosomas bacteriano.

ARIAS (2002) sugiere que el cloranfenicol penetra fácilmente a las bacterias, tal vez por difusión facilitada y se une en forma reversible a la subunidad ribosómica 50s (cerca del sitio de acción de macrólidos y clindamicina, con quienes establece inhibición competitiva). La consecuencia de la unión del cloranfenicol a la subunidad 50s es que impide la unión de la porción aminoacil del aminoacil-ARN de transferencia a su sitio aceptor del ribosoma y, por ello, se impide la acción de la peptidil transferasa. Se evita, por tanto, la formación de enlaces peptídicos entre aminoácidos y la transpeptidación, es decir, los fenómenos de transferencia de la cadena peptídica ya formada al nuevo aminoácido presente en el sitio A (aceptor) del ribosoma.

2.13.3. Enrofloxacin

ARIAS (2002) anuncia que es una quinolona que inhiben la síntesis proteica al ligarse en forma reversible a subunidades ribosómicas 50s. Se piensa que la eritromicina no inhibe de manera directa la formación de los enlaces péptidos, si no que más bien bloquea la fase de traslocación, en la cual una molécula de peptidil ARNt recién sintetizada se desplaza de un sitio aceptor en el ribosoma al sitio peptidil o donador. Las bacterias gram positivas acumulan unas 100 veces más eritromicina que los microorganismos gram negativos.

RETIS (2001) determina que en anillo monocíclico de lactona con 2 moléculas sacarídicas adheridas. Actúan inhibiendo la síntesis de proteínas

dependiente de RNA. Estos fármacos son oxidados por la citocromo p450 y por ello se debe evitar el uso concomitante de drogas que se metabolizan por esta misma vía (cisaprida, pimozida, terfenadina, astemizol).

2.13.4. Gentamicina

LAFFUE (2001) menciona que son ATB (antibióticos) bactericidas de espectro limitado a gram negativos. Deben alcanzar el citoplasma bacteriano para poder ejercer su acción a nivel ribosomal. Pasan la membrana externa a través de porinas por un proceso pasivo y no dependiente de energía. Luego realizan el pasaje a través de la membrana celular; este paso requiere energía que proviene del transporte de protones (es contragradiante logrando así altas concentraciones del aminoglúcido en el citoplasma). Se unen a la subunidad 30S a nivel de las proteínas S12, S3, S4, S5. Bloqueando el inicio de la síntesis proteica al fijar el complejo 30S-50S al cordón de inicio del ARN mensajero acumulándose como complejos de inicio anormales "monosomas de estreptomicina" (impidiendo la elongación) ocasiona la terminación prematura e induce la síntesis de proteínas anormales en la bacteria.

2.14. Prevención

WATTIAUX (2000) propone que la prevención de la mastitis puede conseguirse siguiendo pasos muy simples que tienen como objetivo el reducir el grado y la duración de la infección como son:

Adecuada higiene de ordeño: Los pezones deben de ser limpiados y secados antes del ordeño. Si la leche se filtra, la presencia de partículas (material sólido) en los filtros indica una limpieza insuficiente del pezón durante la preparación de la ubre o la falta de higiene durante la colocación y remoción de la unidad de ordeño.

La máquina de ordeño debe funcionar y ser operada adecuadamente: Las fluctuaciones pueden reducirse considerablemente evitando las entradas de aire o deslizamientos de la unidad durante el ordeño, y apagando el vacío de la unidad antes de que las pezoneras sean removidas. El regulador de vacío debe ser mantenido limpio y su exactitud debe monitorearse en forma regular.

Sellado de pezones luego del ordeño: Las investigaciones indican que el grado de nuevas infecciones pueden disminuir en más del 50% cuando un desinfectante adecuado se utiliza para sumergir o rociar los pezones completamente. El sellado de pezones post-ordeño es más efectivo contra la infección del *Staphylococcus aureus* y *Strep. agalactiae*, las dos bacterias productoras de mastitis más contagiosas. El sellado de pezones no trata solo previene las infecciones existentes.

Tratamiento al secado de todos los cuartos: El uso efectivo de un antibiótico a largo plazo colocado en cada cuarto de la ubre en el último ordeño de la lactancia, reduce la incidencia de nuevas infecciones durante el período de seca. Además, la terapia de secado de las vacas es la mejor forma

de curar las mastitis crónicas y subclínica que durante la lactancia son tratadas muy rara vez.

Tratamiento adecuado y a tiempo de todos los casos clínicos:

Una terapia adecuada debe ser decidida por el veterinario, la vaca debe ser manejada de adecuadamente durante el ordeño para evitar la diseminación de la enfermedad.

Descarte de vacas infectadas en forma crónica: Generalmente este método es efectivo debido a que en la mayoría de los hatos, solamente 6 a 8% de todas las vacas son las responsables de 40 a 50% de todos los casos de mastitis.

Una buena nutrición mantiene la capacidad de la vaca para defenderse de las infecciones: Las deficiencias de selenio y vitamina E en la dieta han sido asociadas con un incremento del grado de nuevas infecciones.

Otras prácticas útiles de manejo: Algunas prácticas simples ayudan a reducir la diseminación de la mastitis.

- Alimentar a las vacas inmediatamente después del ordeño de manera de que puedan permanecer de pie por lo menos una hora antes de echarse.

- Ordeño al último a las vacas infectadas.

PHILLIPS (1998), aporta las siguientes prevenciones:

Disminución de la contaminación bacteriana de los pezones: la limpieza de los pezones es punto de partida, pero es necesario evitar en general la presencia de suciedad cargada de bacterias y no solo de prevenir el asentamiento físico de éstas en la ubre. Un pezón limpio es más fácil de desinfectar que otro recubierto de barro y heces.

Prevención del ingreso de bacterias en la ubre: el canal del pezón cuenta con defensas contra la penetración bacteriana, incluido un mecanismo de cierre relativamente eficiente, si bien esto último puede variar de unas vacas a otra. La queratina que reviste el conducto es una barrera física con la finalidad de impedir la invasión bacteriana.

Prevención del asentamiento de gérmenes patógenos en la ubre: los principales sistemas ofensivos que se oponen al establecimiento de las bacterias en la glándula mamaria son los componentes humorales y celulares del sistema inmunitario.

NOGUERA (2000), menciona las siguientes prevenciones:

Higiene en el ordeño para evitar la transmisión de gérmenes de una vaca a otra.

- Se debe bañar a las vacas en conjunto antes del ordeño, dejándolas reposar por un rato en un lugar aparte del sitio de ordeño. Esta

medida hace que se estimule el defecado y la micción, evitando que lo hagan durante el ordeño.

- Lavado de ubres en forma individual y secada con papel absorbente. Con esta práctica no sólo se retira el lodo y el estiércol de la piel, sino que también se estimula la baja de la leche.

Realizar un buen ordeño con un escurrido total de la leche de la ubre. Al finalizar el ordeño debe aplicarse un sellador en el orificio del pezón, evitando así la penetración de gérmenes que infecten la ubre.

Revisión periódica de los pezones y del equipo de ordeño cuando es mecánico, sustituyendo pezoneras viejas y agrietadas que son fuente de infección. Al finalizar el ordeño pasar las pezoneras por una solución desinfectante. Si el ordeño se realiza a mano, el ordeñador debe lavarse las manos con agua y luego sumergirlas en una solución desinfectante.

Además de estas medidas profilácticas se debe realizar, cada cierto tiempo, el California Mastitis Test (CMT) al rebaño. Esta es una prueba para determinar la mastitis en rebaños más que en vacas individuales.

Tratar correctamente los casos clínicos. Ordeñar a fondo y a mano los cuartos afectados y aplicar el tratamiento curativo. Las vacas con mastitis deben ordeñarse al final.

Establecer un programa de secado. Al secar una vaca se debe aplicar un tratamiento con antibióticos, especialmente en vacas con antecedentes de mastitis. Con esta práctica se reducen las infecciones en el parto siguiente.

AGÜERO (2000) menciona sobre los valores de prevalencia de vacas y cuartos afectados por cualquier forma de mastitis. Las cifras para el total del estudio resultan claramente mayores en comparación a las estimaciones de prevalencia más recientes de la zona central, que indican un 64,84% y 41,10% de vacas y cuartos afectados por mastitis, respectivamente (Moraga *et al.*, 1994). Además indica que , se observan fluctuaciones mensuales, particularmente en la prevalencia por cuartos. En cambio, no hubo diferencias entre estaciones para ambos indicadores de prevalencia, que alcanzaron respectivamente a 89,02% y 66,19% (primavera), y 86,73% y 67,57% (verano).

Cuadro 1: Distribución mensual de vacas y cuartos positivos a mastitis

mes	vacas			cuartos		
	total	positivas		total	positivos	
		Nº	%		Nº	%
septiembre						
1999	147	139	94,56	588	456	77,55
octubre 1999	145	127	87,59	580	364	62,76
noviembre						
1999	145	123	84,83	580	372	64,14
diciembre						
1999	140	116	82,86	560	324	57,86
enero 2000	134	118	88,06	536	383	71,46
febrero 2000	133	119	89,47	532	393	73,87
total estudio	844	742	87,91	3376	2292	67,89

Fuente Agüero (2000)

DE LA TORRE (1999) indica que el grupo experimental estaba formado por 280 vacas lactantes de raza Pardo Suizo, a las cuales se les tomaron 1170 muestras de leche de cuartos individuales y se les realizaron la prueba de California Mastitis Test: De las muestras evaluadas 969 resultaron con índice de negativos + trazas (87.5 %) y 138 cuartos resultaron positivos (12.5 %). Se realizaron 1216 análisis de leche del tanque a los cuales se les aplicó la prueba de Wisconsin Mastitis Test: 10 muestras dieron entre 100.000 a 300.000 células/ml (62.5 %) y 5 muestras resultaron + 300.000 a 500.000 células/ml (31.3%).

LAZO (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* y *Echerichia coli*.

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 más importantes encontrados en la mastitis bovina en la provincia de Leoncio Prado son: *Streptococcus agalactiae* 36.3%, *Streptococcus pyogenes* 12.6%, *Streptococcus faecalis* 04.3%, *Streptococcus epidermicus* 18.6%, *Streptococcus bovis* 14.8%, *Staphylococcus aureus* 28.6%, *Staphylococcus albus* 22.3%.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y Fecha

El presente trabajo fue efectuado en la zona de Tingo María – Aucayacu comprendiendo todo el tramo de la carretera Tingo María – Aucayacu y alrededores de Tingo Maria. Teniendo una duración de tres meses se encuentra ubicado en el departamento de Huánuco, provincia de Leoncio Prado, distrito de Rupa Rupa se encuentra ubicado geográficamente a 09°17'05" de latitud Sur, 76°01'07" de longitud oeste y una altitud de 660 m.s.n.m. ecológicamente esta considerado como bosque húmedo pre-montano Tropical, la misma que presenta en promedio una temperatura anual de 24.51°C y una precipitación pluvial de 3194 mm distribuidos con una mayor intensidad de enero – abril.

Las muestras de campo fueron realizadas del 20 de enero al 18 de abril.

3.2. Materiales:

- Vacas en producción de leche.
- Reactivo de test california.
- Paleta.

- Caldo de cultivo: agar de cultivo
- Tubos de ensayo.
- Placas petri.
- Agua destilada.

3.3. Animales muestreados

Se hicieron un muestreo en total 310 animales (100%) tomados en los hatos lecheros que al momento de realizar el presente estudio se encontraban en producción. Los animales que se analizaron son: de la raza Brown Swiss 68 (21.94%), Holstein 70 (22.58%) y la gran mayoría son Cruces (Europeos x Cebú ó Criollos) 172 (55.48%).

3.4. Método de Test Mastitis California (TMC) en el campo.

3.4.1. Método del California Mastitis Test:

Según MELLENERGER (2000) menciona que se debe realizar los siguientes pasos:

Paso 1: Se toma una muestra del segundo chorro de leche ordeñada que es aproximadamente 5 cc de leche de cada cuarto. Dicha cantidad es la que quedaría en la paleta la misma es mantenida en forma casi vertical.

Paso 2: Se vierte una cantidad igual al de la leche de solución de TMC en cada espacio de la paleta.

Paso 3: Se mueve la paleta con movimientos circulares con el fin de mezclar bien los contenidos por espacio de 10 segundos.

Paso 4. Se "lee" los resultados en forma rápida, La reacción desaparece a los 20 segundos y es calificada visualmente según la siguiente escala:

- **Reacción negativa.**- la mezcla de la leche con el líquido del test conserva su fluidez y no muestra alteraciones visibles.
- **Reacción positiva (+).**- la muestra se vuelve estriosa.
- **Reacción positiva media (++)**- mezcla bastante mucilaginosa (movimiento lento de la mezcla).
- **Reacción positivo alta (+++)**- la mezcla parece muy mucilaginosa y gelatinosa, no fluye ligeramente y se forman grumos.

3.5. Método de análisis microbiológico de las muestras.

3.5.1. Cultivo bacteriológico de la leche.

- Limpiar los extremos del pezón con una torunta empapado de alcohol al 70% ejerciendo presión sobre el esfínter externo para asegurar la salida de suciedad y sustancias ceras por el orificio.
- Se debe realizar el frotamiento activo, especialmente de los pezones con extremos invertidos.
- Recoger los primeros chorros de leche, ya que la población bacteriana suele ser mas alta en esto que en los posteriores.
- Recolectar la muestra de cada uno de los cuartos, en frascos de capucho de caucho movilizable o rosca.
- Poner la placa petri con el agar sangre.

- Durante la siembra inclinar el peso para evitar e la medida de lo posible la entrada de polvo, escama cutánea y pelo.

- Poner en la incubadora a 37°C durante 48 a 72 horas.

- Tomar la lectura de los resultados obtenidos.

3.6. Método por tinción de gram.

- Se extrae con una Ansa de kolle una colonia y se pone en un porta objeto.

- Se pasa por el juego para fijarlo bien.

- Se adiciona el cristal violeta por 2 minutos y luego se lava con agua a chorro continuo.

- Se adiciona lugol por 2 minutos y luego se lava con agua a chorro continuo.

- Se adiciona alcohol cetona por 10 a 20 segundos y se lava con agua a chorro continuo.

- Se adiciona el fucsina por 2 minutos y luego se lava con agua a chorro continuo.

- Luego se lleva al microscopio electrónico para su lectura final.

- Lectura de los resultados.

3.7. Método del conteo de biomasa bacteriano

- Se contó las colonias crecidas en la placas.

- Se agrupo las placas según los números de colonias presentes ya sea de 1-10, 11-20 (+), 20-30 (++) y 30 a más (+++) en cada muestra sembrada.

- Se saca el promedio por cada grupo.

- Se multiplica el promedio de las muestras por 10^1 .

3.8. Antibiograma

- Limpiar los extremos del pezón con una torunta empapado de alcohol al 70% ejerciendo presión sobre el esfínter externo para asegurar la salida de suciedad y sustancias céreas por el orificio.

- Se debe realizar el frotamiento activo, especialmente de los pezones con extremos invertidos.

- Recoger los primeros chorros de leche, ya que la población bacteriana suele ser mas alta en esto que en los posteriores.

- Recolectar la muestra de cada uno de los cuartos, en frascos de capucho de caucho movilizable o rosca.

- Poner la placa petri con el agar sangre.

- Durante la siembra inclinar el peso para evitar e la medida de lo posible la entrada de polvo, escama cutáneas y pelo.

- Colocar los discos impregnados de antibiótico.

- Poner en la incubadora a 37°C durante 48 a 72 horas.

- Tomar la lectura de los resultados obtenidos.

3.9. Variables en estudio

3.9.1. Variables independientes

- Mastitis subclínica.

3.9.2. Variable dependiente

- Incidencia del agente etiológico.
- Indicadores.
- Identificación de microorganismos.
- Cantidad de tipos de microorganismos.
- Raza.

Y como prueba complementaria: tratamiento de la mastitis

subclínica

3.10. Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron sometidos a la prueba de el análisis descriptivo.

IV. RESULTADOS

4.1. Incidencia del agente etiológico

Los resultados de los análisis de laboratorio sobre la incidencia del agente etiológico de la mastitis subclínica en las zonas muestreadas se encontró una mayor presencia de la *Echerichia coli* y menor presencia del *Staphylococcus*. La presencia de la mastitis subclínica en las zonas muestreadas desde Tingo Maria – Aucayacu donde se muestrearon 310 (100%) vacas de las cuales 239 (77.10%) vacas fueron negativas y 77 (22.90%) vacas con reacciones positivas del total de vacas muestreadas fueron de las razas Holsteín, Brown Swiss y cruces.

4.2. Indicadores

Los indicadores utilizados para el diagnóstico y control de la mastitis subclínica son la prueba de California Mastitis Test realizado en el campo y el antibiograma realizado en el laboratorio, lo cual se menciona en los siguientes cuadros.

En el cuadro 2, se muestran los resultados de los animales evaluados mediante la prueba de California Mastitis Test. En las zonas de:

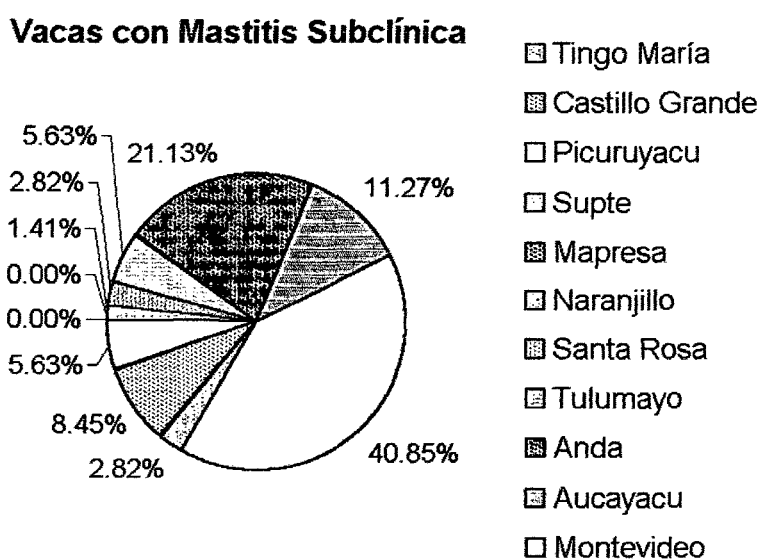
Picuruyacu, Tingo María, Castillo Grande, Anda, Tulumayo, Santa Rosa Montevideo, Aucayacu, Naranjillo, Supte y Mapresa.

Cuadro 2: Numero y porcentaje de vacas estudiadas mediante la prueba de California Mastitis Test

lugar	Nº de vacas examinadas	con mastitis subclínica	
		Nº	%
Tingo María (Granja Zoot.)	04	02	50
Castillo Grande (Sr. Diaz)	12	06	50
Picuruyacu (Sr. Manrique)	06	04	6.67
Supte (Sr. Aguilar)	04	--	0.0
Mapresa (Sr. Castillo)	04	--	0.0
Naranjillo (Sr. Condeso)	06	01	16.67
Santa Rosa (Srs. Alvarado, Fernández y Durand)	09	02	22.22
Tulumayo (CIPTALD)	12	04	33.33
Anda (Srs. Monjaras, Matias y Malqui)	34	15	44.12
Aucayacu (Modulo y Srs. Cahuana, Contreras)	48	08	16.67
Asociación ganadera Montevideo	171	29	16.96
TOTALES	310	71	
PORCENTAJES	100	22.9	

En el grafico 1 se observa los porcentajes de la mastitis subclínica en las zonas muestreadas, obteniéndose un mayor porcentaje las zonas de Montevideo (40.85%), Anda (21.12%) y Aucayacu (11.27%) seguido por las zonas de menor porcentaje, Castillo Grande, Tulumayo, Picuruyacu, Tingo María, Santa Rosa y Naranjillo.

Figura 1: Vacas con mastitis subclínica



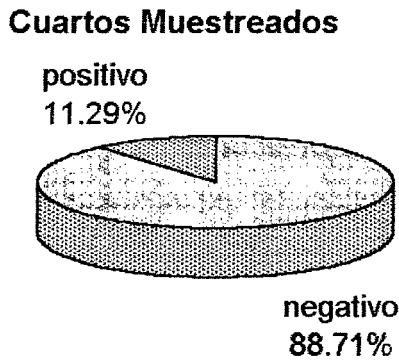
En el cuadro 3, se menciona los resultados de los cuartos examinados mediante la prueba de California Mastitis Test, evaluándose 1240 cuartos (100%), se encontraron que 1100 cuartos (88.71%), negativos mientras que 139 cuartos (11.29%) positivos con mastitis clínica, mastitis subclínica y pezones perdidos por la mastitis. Siendo las zonas de mayor incidencia: Picuruyacu, Tulumayo, Tingo María, Castillo Grande, seguido por las zonas de menor incidencia: Anda, Montevideo, Aucayacu y Santa Rosa, seguido de la zonas donde no hay incidencia Supte, Mapresa y Naranjillo.

Cuadro 3: Numero y porcentaje de los cuartos estudiados mediante la prueba de California Mastitis Test

lugar	numero de vacas	numero total de cuartos	estado de los cuartos			
			negativo		positivo	
			N°	%	N°	%
Tingo Maria Granja zoot	04	16	13	81.25	3	18.75
Castillo Grande (Sr. Diaz)	12	48	39	81.25	9	18.75
Picuruyacu (Sr. Manrique)	06	24	19	79.17	5	20.83
Supte (Sr. Aguilar)	04	16	16	100.00	-	0.00
Mapresa (Sr. Castillo)	04	16	16	100.00	-	0.00
Naranjillo (Sr. Condeso)	06	24	23	95.83	1	4.17
Santa Rosa (Srs. Alvarado, Fernández y Durand)	09	36	33	91.67	3	8.33
Tulumayo (CIPTALD)	12	48	38	79.17	10	20.83
Anda (Srs. Monjaras, Matias y Malqui)	34	136	117	86.03	19	13.97
Aucayacu (Modulo y Srs. Cahuana, Contreras)	48	192	175	91.15	17	8.85
Asociación gadera Montevideo	171	684	611	89.33	73	10.67
TOTALES	310	1240	1100		140	
PORCENTAJES	100	100	88.71		11.29	

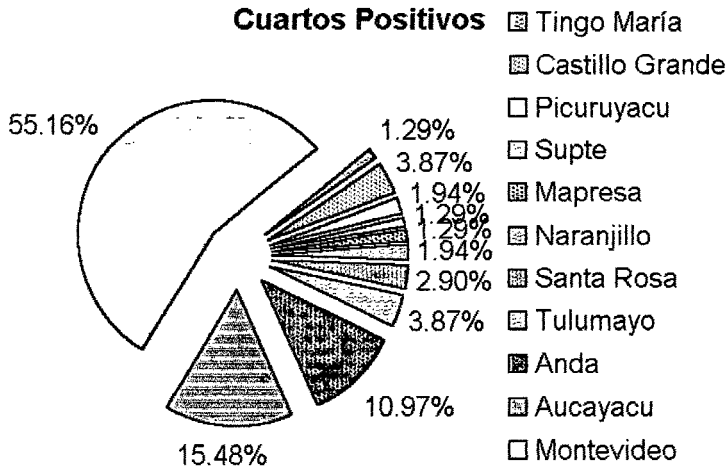
En la grafico 2 se observa los resultados de los cuartos evaluados en las zonas muestreadas de los cuales los cuartos positivos son en menos porcentajes (11.29%) y los cuartos negativos en mayor porcentajes (88.71%).

Figura 2: Cuartos muestreados



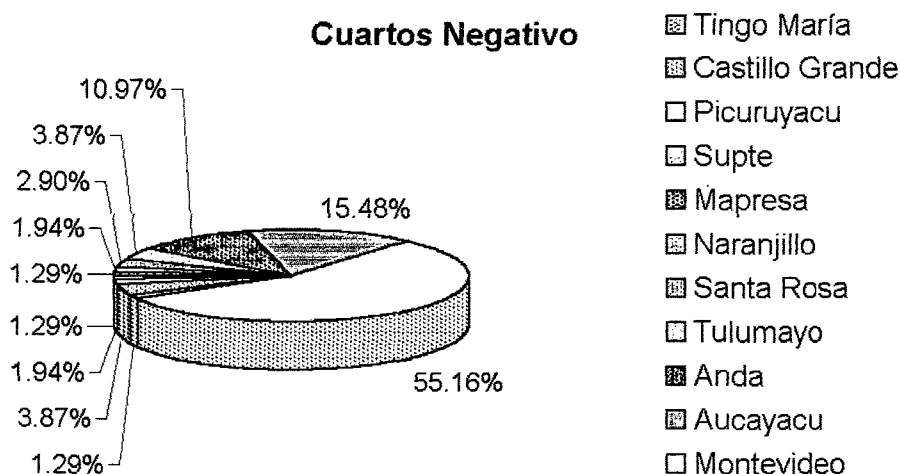
En la grafico 3 se observa el porcentaje de los cuartos positivos en las diferentes zonas muestreadas de mayor casos positivos, Montevideo, Aucayucu, Anda y los de menor casos positivos, Tulumayo, Castillo Grande, Santa Rosa, Naranjillo, Picuruyacu, Supte, Mapresa Y Tingo María.

Figura 3: Cuartos positivos



En la grafico 4 se observa el porcentaje de los cuartos negativos en las diferentes zonas muestreadas de mayor casos negativos, Montevideo, Aucayucu, Anda y los de menor casos negativos, Tulumayo, Castillo Grande, Santa Rosa, Naranjillo, Picuruyacu, Supte, Mapresa Y Tingo María.

Figura 4: Cuartos negativos



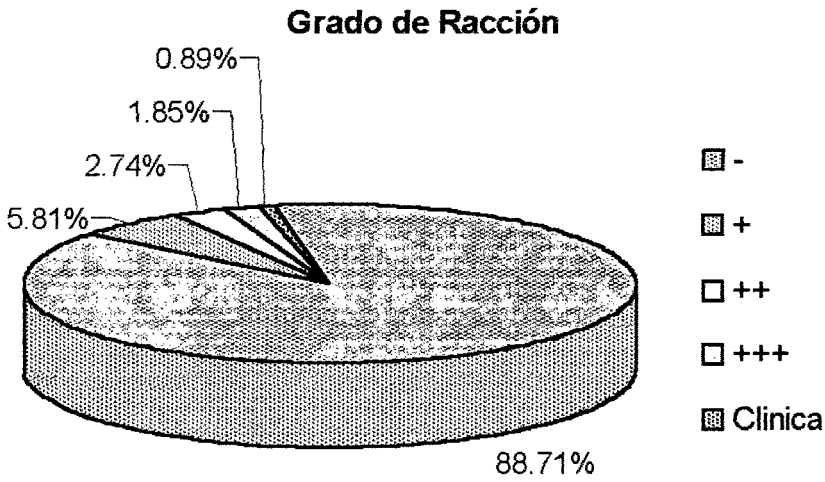
En el cuadro 4: se menciona los diferentes grados de reacción de la leche muestreadas durante el diagnóstico mediante la prueba de California Mastitis Test, obteniendo el mayor puntaje de el grado de reacción de la Mastitis Subclínica: 23 (1.85%) muestras de leche, teniendo el grado de reacción de tres cruces (+++), en Las zonas de Picuruyacu, Tulumayo, Anda y Montevideo, 34 (2.74%) muestras de leche, teniendo el grado de reacción de dos cruces (++) , en las zonas de Castillo, Picurayacu, Santa Rosa, Tulumayo, Anda, Aucayacu y Montevideo, 72 (5.81%) muestras de leche, teniendo el grado de reacción de una cruz (+) en las zonas de Tingo María, Castillo, Picurayacu, Supte, Mapresa, Naranjillo, Santa Rosa, Tulumayo, Anda y Aucayacu, 1100 (88.71%) muestras de leche, teniendo el grado de reacción de negativo (-) en las zonas donde no hubo ningún caso de mastitis Subclínica son Supte y Mapresa y 11 (0.89%) muestras de leche estaban con Mastitis Clínica en la zonas de Tulumayo, Anda, Aucayacu y Montevideo.

Cuadro 4: Grados de reacción de las muestras de leche sometida a la prueba de California Mastitis Test.

Lugar	muestra	Grados de reacción									
		-		+		++		++++		clínica	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Tingo María (Granja zoot)	16	13	81.25	3	18.75	-	-	-	-	-	-
Castillo Grande (Sr Díaz)	48	39	81.25	6	12.50	3	6.25	-	-	-	-
Picuruyacu (Sr. Manrique)	24	19	79.17	1	4.17	2	8.33	2	8.33	-	-
Supte (Sr. Aguilar)	16	16	100.00	-	-	-	-	-	-	-	-
Mapresa (Sr. Castillo)	16	16	100.00	-	-	-	-	-	-	-	-
Naranjillo (Sr. Condezo)	24	23	95.83	1	4.17	-	-	-	-	-	-
Santa Rosa (Srs. Alvarado, Fernández y durand)	36	33	91.67	2	5.56	1	2.77	-	-	-	-
Tulumayo (CIPTALD)	48	38	79.17	4	8.33	2	4.17	3	6.25	1	2.08
Anda (Srs. Monjaras, Matisa y Malqui)	136	117	86.03	4	2.94	5	3.68	8	5.88	2	1.47
aucayacu (Modulo Y Srs. Cahuana y Contreras)	192	175	91.15	10	5.21	5	2.60	-	-	2	1.04
Asociación ganadera Montevideo	684	611	89.33	41	5.99	16	2.34	10	1.46	6	0.88
TOTALES	1240	1100		72		34		23		11	
PORCENTAJES	100	88.71		5.81		2.74		1.85		0.89	

En el grafico 5 la Mastitis Subclínica se observa el porcentaje de los grados de reacción en los cuartos muestreados en los diferentes zonas dando un mayor porcentaje la reacción negativa (88.71%), la reacción una cruz (5.81%), la reacción dos crucez (2.74%), la reacción tres crucez (1.85%) y en la Mastitis Clínica es un bajo porcentaje (0.89%).

Figura 5: Grado de reacción



4.3. Identificación de microorganismos

En el cuadro 5 se muestra los grados de crecimiento de las bacterias y la reacción de los antibióticos frente a la susceptibilidad de las bacterias.

Cuadro 5. Grado de crecimiento bacteriano y tipo de acción de los antibióticos

bacteria		
Antibióticos	<i>E.coli</i>	tipo de acción frente a la bacteria
Oxitetraciclina	+	Mecanismo enzimático de eflujo activo, el crecimiento es mediano en un 40% aproximado.
Cloranfenicol	++	Mecanismo enzimático de inactivación y detoxificación, el crecimiento es alto en un 60% aproximado.
Enrofloxacin	-	Inhibe la síntesis del ácido nucleicos, el crecimiento es bajo 15% aproximado.
Gentamicina	+++	Inhibe la síntesis de la proteína, el crecimiento es alto de la <i>Echerichia coli</i> en un 75% aproximado.

- No hay crecimiento, + crecimiento bajo, ++ crecimiento medio y +++ crecimiento alto.

4.4. Cantidad de microorganismos

Para la obtener la cantidad de microorganismos se realizo mediante el conteo de la biomasa bacteriana y el repique.

En los análisis de laboratorio mediante los cultivos realizados a las 67 muestras de los diferentes grados (+, ++, +++), se observaron los

crecimientos de las colonias patógenas de todas las muestras identificando a las bacterias mas predominantes como:

Staphylococcus aureus.- son cocos hemolíticos gram – positivo colonias blancas en agar – sangre.

Echerichia coli.- son cepas hemolíticas y anhemolíticas de bacilos gran – negativos, colonias mucoides de color cremosos – blanco en agar – sangre.

En el cuadro 6 se muestra la cantidad de microorganismos obtenidos en el conteo de las colonias de las bacterias en las placas después de la incubación.

Cuadro 6. Cantidad de microorganismos en las placas

	Promedio de colonias	Numero total de colonias de bacterias
-	7	70
+	16	16
++	26	260
+++	41	410
TOTALES	90	900

1 – 10 (-), 10 – 20 (+), 20 – 30 (++) y 30 a más (+++).

4.5. Razas

En el cuadro 7 se muestra las razas y cruces, también el número de vacas muestreadas, de los cuales en mayor número de animales muestreados son los cruces con 172 (55.48%), Holstein con 70 (22.58%) y Brown Swiss 68 (21.94%).

Cuadro 7: Número de vacas muestreadas de acuerdo a raza y cruces

lugar	numero de vacas muestreadas	raza y cruces		
		Brown Swiss	Holstein	Cruces
Tingo María (Granja Zoot)	04	-	4	-
Castillo Grande (Sr. Díaz)	12	3	3	6
Picuruyacu (Sr. Manrique)	06	-	-	6
Supte (Sr. Aguilar)	04	-	-	4
Mapresa (Sr. Castillo)	04	-	1	3
Naranjillo (Sr. Condezo)	06	2	3	1
Santa Rosa (Srs. Alvarado, Fernández y Durand)	09	2	2	5
tulumayo (CIPTALD)	12	4	2	6
Anda (Srs. Monjaras, Matias y Malqui)	34	8	12	14
Aucayacu (Modulo y Srs. Cahuna Contreras)	48	34	3	11
Montevideo	171	15	40	116
TOTALES	310	68	70	172
PORCENTAJES	100	21.94	22.58	55.48

En el cuadro 8 se observa el grado de confiabilidad del la prueba CMT, índice total de la incidencia, grado de incidencia de la Mastitis Subclínica y grado de incidencia en las razas y cruces de los animales muestreados.

Cuadro 8 grados y índices

grados y índices	%
Grado de confiabilidad del CMT.	92.5
Índice total de la incidencia de la mastitis subclínica.	0.29
Grado de incidencia de la mastitis subclínica.	22.9
Grado de incidencia de la mastitis subclínica en las Razas y Cruces.	
- Cruces	12.58
- Holstein	5.48
- Brown Swiss	4.84

Los resultados de la incidencia de la mastitis subclínica obtenidas en el diagnóstico mediante la prueba de California Mastitis Test, obtenidos bajo las condiciones de ordeño e higiene en cada establo, número de ordeño y infraestructura de los establos lecheros, se indican en los cuadros ANEXO 1, 2 y 3, las fotos 1, 2, 3, 4 y 5 del anexo.

V. DISCUSIÓN

5.1. La incidencia de los agentes etiológicos de la mastitis subclínica en las zonas muestreadas son de mayor presencia la *Echerichia coli* seguidamente el *Staphylococcus* lo cual difiere con lo establecido por LAZO (1982) quien indica que el agente etiológico de mayor presencia son los *Streptococcus* seguido de la *Echerichia coli* trabajo realizado en los departamentos de Loreto, Ucayali, San Martín y Huánuco, por JORDAN (1976) quien indica que el agente etiológico de mayor presencia son los *Streptococcus* y *Staphylococcus* realizado en la provincia de Leoncio Prado. Además varía el orden tal como mencionan, KLEINSCHROTH (1991) y VELEZ (1997) indicando que los agentes etiológicos son los *Streptococcus sp*, *Echerichia coli*, *Corinobacterium sp* y los *Staphylococcus sp* que son frecuentes en la mastitis, BLOWEY (1999), WATTIAUX (2000) y GALEANO (2000) indica que los *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* los cuales ingresan a través del conducto del pezón y que son causantes primarios en la mastitis debido a que son comunes en las infecciones subclínicas. Además la incidencia de los agentes etiológicos en la formación de la mastitis va depender de varios factores: KLEINSCHROTH (1991) menciona que la formación de la mastitis depende de tres factores: animal, medio ambiental y gérmenes causales, para este caso sería la *Echerichia coli* encontrado siendo un microorganismo que se

encuentra en el suelo e intestino de las vacas, BLOOD (1992) y BLOWEY (1999) menciona que la mastitis se puede presentar en forma subclínica lo cual significa que existe infección y no presentan cambios externos.

La incidencia de los agentes etiológicos de acuerdo al ordeño BLOWEY (1999) menciona que el ordeño mecánico puede o no ayudar a la presencia de la mastitis, lo cual actúa como un fomite, dañando los extremos de los pezones y ayuda a aumentar el número de bacterias en el extremo de los pezones lo cual ayuda a la mayor incidencia de la infección debido a que el orificio del pezón queda abierto de una a dos horas. Además menciona que las vacas ordeñadas tres veces al día son menos sensibles a la mastitis que las vacas ordeñadas dos veces al día.

La incidencia de la mastitis subclínica en las zonas muestreadas es debido al mal manejo de los animales antes, durante y después del ordeño con una mala higiene lo cual conlleva a un aumento de la infección en los pezones de las vacas en producción lo cual se observa en el cuadro 1 del anexo, BLOWEY (1999) menciona que el mantenimiento de un ambiente limpio y agradable para las vacas es de mayor importancia para el control de la mastitis, BAILEY (2000) y COTRINO (2001) explica que los microorganismos provenientes de la piel de los pezones, manos del ordeñador, pezoneras, agua y aire son debido a la mala higiene antes y después del ordeño, WATTIAUX (2000) indica que luego del ordeño el canal del pezón queda dilatado por una o

dos horas por lo cual ingresan los microorganismos para la formación de la mastitis.

Para controlar la presencia de la mastitis puede realizarse un adecuado manejo e higiene de la persona, del animal y de toda la ubre (los cuatro pezones) dando una buena limpieza a los pezones y secándolas, la máquina ordeñadora debe funcionar adecuadamente, después del ordeño debe realizarse el tanponamiento de los pezones para evitar el ingreso de microorganismos y la desinfección de las manos para ordeñar la siguiente vaca, aporta PHILIIPS (1998), WATTIAUX (2000) y NOGUERA (2000).

5.2. La prueba de California Mastitis Test tiene un grado de confiabilidad de 92.5% en el diagnóstico de la mastitis subclínica, con una dilución de 1:8 (1 cm de reactivo por 8 cm de agua destilada), es una prueba sencilla y útil como lo confirma BLOWEY (1999) indicando que es una prueba sencilla y útil dando una proporción de recuento elevado o bajo de células somáticas. VELEZ (1997) menciona que el reactivo CMT resulta de añadir sulfonato de alquilo que se combina con el ADN de la célula y se forma un gel más o menos consistente a una respuesta positiva de la Mastitis Subclínica y MERCK (2000) menciona que el grado de gelificación producido por el detergente de la CMT es debido a la reacción con el ADN de los leucocitos.

En el trabajo de investigación el porcentaje de los resultados de los animales muestreados para el diagnóstico de la mastitis subclínica en la zona de Tingo María – Aucayacu se observa que la incidencia de la enfermedad en

las vacas es baja (22.9%) lo cual difiere a los trabajos realizado por JORDAN (1976) con 68.51%, LAZO(1982) con 86.54% y AGÜERO (2000) con el 87.91%.

En cuanto al numero y porcentaje de los cuartos estudiados que resulto bajo (11.29%) lo cual difiere a los trabajos realizados por DE LA TORRE (1999) con 12.5% y AGÜERO (2000) con 67.89%. En cuanto al 0.89% de la mastitis clinica encontrado esta relacionado con WATTIAUX (2000) quien menciona que para cada caso de mastitis clinica existe de 20 a 40 casos de mastitis subclinica.

La prueba del antibiograma es un método de diagnostico rápido y preciso donde da a conocer el mecanismo de acción de los fármacos frente a la sensibilidad de las bacterias causantes de la mastitis lo cual menciona DEL POZO(2002). Además el crecimiento de las bacterias y el tipo de acción de los antibióticos frente al crecimiento de las bacterias donde se puede observar que la mejor respuesta dio la enrofloxacin donde el crecimiento de la bacterias en aproximadamente 15% actuando como inhibidor de la síntesis de la proteína debido a que es un antibiótico de tipo quinolona que tiene mejor acción en enterobacterias gram negativos mencionado por ARIAS (2002) seguido por la oxitetraciclina con crecimiento bajo (40%) actúa en el mecanismo enzimático de flujo activo inhibe de manera reversible la síntesis de proteína, mencionan DEL POZO (2000) y ARIAS (2002) el cloranfenicol con crecimiento medio (60%) actúa en el mecanismo enzimático de inactivación y detoxificación,

también inhibe la síntesis proteica en forma reversible, mencionan DEL POZO (2000) y la gentamicina con crecimiento alto (75%) actúa como bloqueador de la síntesis proteica e induce a la síntesis de proteínas anormales en la bacteria, menciona LAFFUE (2001).

5.3. La identificación de los microorganismos de la mastitis como resultados obtenidos de los análisis de laboratorio y son en mayor presencia la *Echerichia coli*, que es una cepa hemolítica de bacilos gram negativo, colonias mucoides cremoso – blanco en agar sangre, menciona BLOWEY (1999) y de menor presencia es el *Staphylococcus*, son cocos hemolíticos gram positivo, colonias blancas en agar sangre, menciona BLOWEY (1999). Obtenidos en los resultados de los análisis de laboratorio lo cual difiere con lo mencionado por JORDAN (1976) y LAZO (1982).

5.4. El número de los microorganismos es de 900 colonias del promedio total de las muestras analizadas en agar sangre menciona BLOWEY (1999) y fueron determinados por el método de examen de dilución directa en el laboratorio de sanidad animal de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

5.5. En las razas la incidencia de la Mastitis Subclínica es de 22.9% y la mayor incidencia se dio en el ganado cruzado (BS x H, BS x CRIOLLO, H x CRIOLLO y otros cruces) con 39 animales (12.58%), seguido por la raza Holstein con 17 animales (5.48%) y la raza Brown Swiss con 15 animales

(4.84%) lo cual se diferencia a lo obtenido por DE LA TORRE (1999) quien determino que la raza Holstein es mas sensible que la raza Brwon Swiss.

El grado de confiabilidad de la prueba California Mastitis Test que es de 92.5% lo cual indica que tiene un margen de error de 7.5%, el índice total de la incidencia de mastitis subclínica es de 0.29 según cuadro 8, el grado de incidencia total de la mastitis subclínica es de 22.9% lo cual es menor a lo obtenido por JORDAN (1976) y LAZO (1982).

VI. CONCLUSIONES

En el presente trabajo de investigación, se utilizó la prueba de California Mastitis Test para el diagnóstico de la mastitis subclínica en el ganado bovino de Tingo María – Aucayacu y Montevideo, de acuerdo a los resultados y observaciones obtenidas se concluye que:

1. La incidencia de la mastitis subclínica en la zona de Tingo María – Aucayacu es baja 22.9%.
2. La *Echerichia coli* es la bacteria más predominante, seguido del *Staphylococcus* en la producción de la mastitis subclínica la cual se demostró en el aislamiento y cultivo así como en la susceptibilidad al antibiograma.
3. La enrofloxacin presentó una mayor acción frente a la *Echerichia coli* inhibiendo el crecimiento y desarrollo de las colonias frente a la oxitetraciclina, cloranfenicol y la gentamicina.
4. El ganado cruzado presenta mayor número de animales sensibles a la mastitis subclínica en comparación a las razas Holstein y la raza Brown Swiss.
5. El mal manejo y la mala higiene son la mayor causa de la incidencia de la mastitis subclínica en las zonas de Tingo María – Aucayacu.

VII. RECOMENDACIÓN

1. Utilizar un control de la mastitis subclínica para las zona de Tingo María – Aucayacu mediante manejo e higiene.
2. Se recomienda utilizar un antibiótico tipo quinolona para el tratamiento de la mastitis causada por la *Echerichia coli* en la zona de Tingo María – Aucayacu.

VIII. ABSTRACT

In this research was evaluated the incidence of the subclinical mastitis in the dairy cattle of Tingo María and Aucayacu for this purpose 1240 milk samples of 310 dairy cows were tested with California Mastitis Test (CMT). The positive milk samples were cultured in blood agar, the isolates identical and then tested for antibacterial sensitivity. The milk of 77 (22.90%) cows shown positive reaction to CMT. From this milk sample *E. coli* and *Staphylococcus ssp* were isolated. In the antibacterial sensitivities test, *E. coli* and *Staphylococcus ssp* shown sensitivity to Enrofloxacina. This research it could be concluded that the incidence of subclinical mastitis in the dairy cattle population from Tingo María and Aucayacu is 22.9%.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- AGÜERO, S. 2000. Prevalencia de Mastitis Subclínica en un Centro de Acopio Lechero, Comuna de María Pinto, Región Metropolitana (Chile). [En línea] (<http://www.veterinaria.uchile.cl/Actividades/Congreso2000Cd/salud/V42sal~1.doc>. 16 de julio del 2002)
- ARIAS, F. 2002. Mecanismo de Acción de los Fármacos. [En línea] (http://mediweb.galeon.com/TEMAS/mecanismo_atb.htm .22 de mayo del 2002)
- BAILEY TOM L. 2000. Aspectos Básicos Sobre el Desarrollo de Mastitis. Bacterias Causantes de la Mastitis. [En línea] (http://www.uasnet.mx/centro_profesional/emvz/61-70.htm#PP62, 23 de julio del 2002)
- BLOOD, D. 1992. Medicina Veterinaria Aplicada. 7^{ma} Ed. Guadalajara México, Interamericana. S.A 1008 p
- BLOWEY, R. EDMENDSON, P. 1995. Control de la Mastitis en Granjas de Vacunos de leche. Zaragoza España, Acribia S.A. 208 p.
- COTRINO, A. 2001. Bacteriología de la Leche Cruda. [En línea] (<http://lmvltida.com/programas/ar01.html>. 16 de junio del 2002)
- DE LA TORRE, J. 1999. Prevalencia de Mastitis Subclínica Bovina en Ganado Pardo Suizo Puro en Estabulación Completa. [En línea]

(<http://www.ucla.edu/ve/dveterin/Resumenes/SP-4.htm>. 08 de agosto del 2002)

DEL POZO, C. 2002. Mecanismo de Acción de los Fármacos. [En línea] (<http://www.ugr.es/~farma/guion67med.htm> 24 de mayo del 2002)

GALEANO, H. 2000. Procesos Inflamatorios. [En línea] (<http://www.patagonia.com.ar/salud/cancermama/mama7.asp> 18 de julio del 2002)

JORDAN, S.1976. Diagnostico de los Principales Agentes Etiológicos de la Mastitis Bovina en la Provincia de Leoncio Prado. Tesis Ing. Zootecnista. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 62 p.

KLEINSCHROTH, E. 1991. La Mastitis. 2da ed. Zaragoza – Madrid España, Edimed. 77 p.

LAFFUE, C. 2001. Mecanismo de Acción de la Gentamicina. [En línea] (<http://www.estafilococo.com.ar/aminoglucosidos.htm> 24 de mayo del 2002)

LOZA, P. 1982. Diagnostico de Mastitis Subclínica Por el Método de Whiteside Modificado en Ganado Lechero de Selva Tesis Ing. Zootecnista. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 78 p.

MELLENBERGER, R. 2001. Dept. of Animal Sciences, Michigan State University. [En línea] (<http://www.uwex.edu/milkqualdy/dairyfarm/cmtposter/factsheetenespañol.pdf> 16 de junio del 2002)

MERCK. 2000. El Manual Merck de Veterinaria. 5ta ed. Barcelona España, Centrum. S.A. 2558 p.

- NOGUERA, K. 2000. Prevención y Control de la Mastitis . [En línea] (<http://www.fonaiap.gov.ve/publica/divulga/fd59/mastiti.html> 09 de julio del 2002)
- PHILLIPS, C. 1998. Avances de la Ciencia de la Producción Lechera. Barcelona España, Acribia S.A. 417 p.
- RETIS, O. 2000. Fármacos y su Mecanismos de Acción. [En línea] (<http://www.tuotromedico.com/temas/antibioticos.htm> 24 de mayo del 2002)
- VELEZ, M. 1997. Producción de Ganado Lechero en el Trópico. 2^{da} ed. Honduras, Zamorano Academic Press. 189 p.
- WATTIAUX, M A. 2000. Reproducción y Selección Genética Capítulo 23: Mastitis. [En línea] (<http://www.redvya.com/veterinarios/veterinarios/especialidades/ovino/Especialista/Articulo09.htm> 08 de agosto del 2002)

ANEXO

Cuadro anexo 1: Relación del sistema de ordeño e higiene con la incidencia de la enfermedad en las vacas cuyo resultados fueron positivo a la prueba de California Mastitis Test.

ordeño e higiene	numero	porcentaj	numero	Porcentaj	sin mastitis		con mastitis	
	de	e (%)	de vacas	es (%)	subclínica		subclínica	
	establos				N°	%	N°	%
Ordeño mecánico correcto e higiene adecuado.	01	5.88	12	3.87	6	50.00	6	50.00
Ordeño con ternero correcto e higiene adecuada.	04	23.53	51	16.45	41	80.40	10	19.60
Ordeño con ternero correcto e higiene inadecuada.	07	41.18	215	69.35	171	79.53	44	20.47
Ordeño con ternero incorrecto e higiene inadecuada	05	29.41	32	10.33	21	65.63	11	34.37
TOTALES	17		310		239		71	
PORCENTAJES	100		100		77.10		22.90	

Cuadro anexo 3: Relación de la infraestructura del establo con la incidencia de la enfermedad en las vacas muestreadas mediante la prueba California Mastitis Test.

infraestructura del establo	establos		numero de vacas	porcentajes (%)	sin mastitis subclínica		con mastitis subclínica	
	Nº	%			Nº	%	Nº	%
	Bueno	3	17.64	58	18.71	43	74.14	15
Regular	7	41.18	54	17.42	36	66.67	18	33.33
Malo	7	41.18	198	63.87	160	80.81	38	19.19
TOTALES	17		310		239		71	
PORCENTAJES	100		100		77.10		22.90	

Cuadro anexo 2: Incidencia de la mastitis subclínica de acuerdo al número de ordeño por día en las vacas cuyas muestreadas mediante la prueba California Mastitis Test.

numero de ordeño por día	numero de establos	porcentajes (%)	numero de vacas muestreadas	porcentajes (%)	sin mastitis subclínica		con mastitis subclínica	
					Nº	%	Nº	%
01 ordeño	10	58.82	270	87.10	218	80.74	52	19.26
02 ordeños	7	41.18	40	12.90	21	52.50	19	47.50
TOTALES	17				239		71	
PORCENTAJES	100				77.10		22.90	

FE DE ERRATAS

Página	Líneas	Dice	Debe decir
16	10	<i>straptococcus</i>	<i>streptococcus</i>
19	5	ambianta-les	ambientales
20	2	delas	de las
32	22	<i>Streptococeus</i>	<i>Streptococcus</i>
42	19	gadera	ganadera