

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man in a red and white robe, likely a saint or scholar, holding a book. The figure is surrounded by various symbols: a golden crown at the top, a golden lion rampant on the right, a golden castle on the left, and two golden columns flanking the central figure. The background is a light blue sky with a white cloud. The entire seal is set against a light green background.

**“EVALUACIÓN DE UNA BACTERINA AUTÓGENA A BASE DE  
*Staphylococcus aureus* CONTRA LA MASTITIS EN VACAS  
LECHERAS”**

**JORGE DAVID GONZÁLEZ ELIZONDO**

**GUATEMALA, MARZO DEL 2009**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

“EVALUACIÓN DE UNA BACTERINA AUTÓGENA A BASE DE  
*Staphylococcus aureus* CONTRA LA MASTITIS EN VACAS LECHERAS”

**TESIS**

Presentada a la honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina  
Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala

**POR**

**JORGE DAVID GONZÁLEZ ELIZONDO**

**AL CONFERÍRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE**

**MÉDICO VETERINARIO**

**GUATEMALA, MARZO 2009**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**JUNTA DIRECTIVA**

**DECANO:** Lic. Zoot. Marco Vinicio de la Rosa Montepeque  
**SECRETARIO:** Med.Vet. Marco Vinicio García Urbina  
**VOCAL I:** Med.Vet. Yery Edgardo Véliz Porras  
**VOCAL II:** Mag. Sc. M.V. Fredy Rolando González Guerrero  
**VOCAL III:** Med. Vet. Y Zoot. Mario Antonio Motta González  
**VOCAL IV:** Br. David Granados Dieseldorff  
**VOCAL V:** Br. Luis Guillermo Guerra Bone

**ASESORES**

Mag. Sc. M.V. Fredy Rolando González Guerrero  
Med.Vet. Blanca Zelaya de Romillo  
Mag. Sc. M.V. Gustavo Taracena Gil

**HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

**EN CUMPLIMIENTO CON LO ESTABLECIDO POR LOS  
ESTATUTOS DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE  
GUATEMALA, PRESENTO A CONSIDERACIÓN DE USTEDES EL  
TRABAJO DE TESIS TITULADO**

**“EVALUACIÓN DE UNA BACTERINA AUTÓGENA A BASE DE  
*Staphylococcus aureus* CONTRA LA MASTITIS EN VACAS  
LECHERAS”**

**Que fuera aprobada por la Junta Directiva de la Facultad de Medicina  
Veterinaria y Zootecnia como requisito previo a optar el título profesional de**

**MÉDICO VETERINARIO**

## **ACTO Y TESIS QUE DEDICO**

**DEDICO EL ACTO Y LA TESIS:** A mi padre, a mi madre y a mis hermanas por brindarme ese apoyo incondicional durante todos estos años de estudios universitarios.

**A MIS COMPAÑEROS DE CARRERA:** que me brindaron toda su amistad, su ayuda incondicional y sus palabras de aliento en más de una ocasión.

**A MIS AMIGOS GUATEMALTECOS Y COSTARRICENSES:** que siempre me extendieron una mano sin esperar nada a cambio.

**A TODAS AQUELLAS PERSONAS:** que me brindaron su ayuda de una y mil maneras durante todos mis años de estudios.

**A ESTA CASA DE ESTUDIOS:** que me dio la oportunidad de lograr culminar la carrera que siempre anhelé.

**A GUATEMALA:** por recibirme y hacerme sentir como en un segundo hogar.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A DIOS:** por el don de la vida y por la fortaleza que me dio durante todos estos años para nunca rendirme en el cumplimiento de ésta meta.

**A MIS PADRES:** por ser un ejemplo de perseverancia y lucha, por darme la oportunidad de poder estudiar, y por todo el apoyo que me han brindado durante toda mi vida.

**A LA ESCUELA CENTROAMERICANA DE GANADERÍA:** por facilitarme la realización de éste trabajo.

**A MIS ASESORES:** por brindarme su ayuda y sus conocimientos para lograr culminar éste trabajo.

**A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA:** que me abrió sus puertas para poder cumplir ésta meta en mi vida.

**A MIS CATEDRÁTICOS:** por brindarme todos sus conocimientos y toda su experiencia para formarme como todo un buen profesional.

**A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA:** por hacerme sentir orgullosamente san carlista.

# ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPÓTESIS	2
III. OBJETIVOS	3
3.1 General	3
3.2 Específicos	3
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	4
4.1 Mastitis en ganado vacuno	4
4.1.1 Definición	4
4.1.2 Importancia	4
4.1.2.1 Impacto económico	4
4.1.2.2 Impacto en la industria láctea	5
4.1.2.3 Impacto en la salud pública	6
4.1.3 Clasificación	6
4.1.3.1 Mastitis subclínica	6
4.1.3.2 Mastitis clínica	6
4.1.4 Etiología	7
4.1.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	8
4.1.4.1.1 Factores de virulencia del <i>Staphylococcus aureus</i>	9
4.1.4.1.2 El <i>Staphylococcus aureus</i> y los biofilms bacterianos	10
4.1.5 Epidemiología	12
4.1.5.1 Transmisión	13
4.1.5.2 Factores de riesgo	14
4.1.5.2.1 Factores de riesgo del animal	14
4.1.5.2.2 Factores de riesgo ambientales y de manejo	15
4.1.5.2.3 Factores de riesgo del agente patógeno	16
4.1.6 Patogenia	17
4.1.7 Signos clínicos	19
4.1.7.1 Anomalías en la leche	20
4.1.7.2 Anomalías físicas de la ubre	21
4.1.7.3 Respuesta sistémica	21
4.1.8 Diagnóstico	21
4.1.8.1 Conteo de células somáticas	22
4.1.8.2 Cultivo bacteriano	23

4.1.8.3 Test California (CMT)	24
4.1.9 Tratamiento	25
4.1.9.1 Tratamiento en mastitis por <i>Staphylococcus aureus</i>	27
4.1.10 Control y prevención	30
4.2 Vacunas contra la mastitis	32
V. MATERIALES Y MÉTODOS	38
5.1 Materiales	38
5.1.1 Área de estudio	38
5.1.2 Recursos humanos	38
5.1.3 De laboratorio	39
5.1.4 De campo	39
5.1.5 Reactivos	39
5.1.6 De tipo biológico	39
5.1.7 Centros de referencia	40
5.2 Métodos	40
5.2.1 Métodos de campo	40
5.2.2 Monitoreo	41
5.2.3 Diseño estadístico	41
5.3 Análisis estadístico	41
5.4 Análisis de datos	42
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
6.1 Grupo control	43
6.2 Grupo preventivo	44
6.3 Grupo terapéutico	45
VII. CONCLUSIONES	48
VIII. RECOMENDACIONES	49
IX. RESUMEN	50
X. ANEXOS	51
XI. BIBLIOGRAFÍA	55



## I. INTRODUCCIÓN

La leche es uno de los alimentos más completos para la población humana, es natural que forme parte de las estrategias de seguridad alimentaria, respecto a su producción y comercio internacional.

Por lo tanto, es de vital importancia el poder brindar un producto de excelente calidad a los consumidores finales, viéndose éstos beneficiados desde el punto de vista de salud, de igual forma que el productor desde el punto de vista económico.

La mastitis es una afección muy grave que deteriora el estado de salud del animal, causada por diversos agentes infecciosos, entre los principales se encuentran las bacterias *Staphylococcus*, *Streptococcus* y bacterias coliformes que intervienen tanto en la mastitis clínica y subclínica, las cuales llevan una severa disminución en la producción y calidad de la leche, generando pérdidas económicas apreciables, e incluso si no se trata adecuadamente, puede ocasionar la muerte del animal.

La mastitis es tratada comúnmente con antibióticos, los cuales representan un elevado costo para los ganaderos, dichos antibióticos son una preocupación industrial, ya que sus residuos en la leche interfieren en el proceso de fabricación de muchos productos lácteos, además de poder causar efectos sobre la salud pública. El uso continuo e indiscriminado de éstos antibióticos puede causar resistencia microbiana en un hato lechero, ocasionando entonces un tratamiento ineficaz.

Para reducir la afección de la mastitis en ganado bovino y evitar el uso de antibióticos, lo ideal es aumentar las medidas de higiene implementando buenas prácticas de ordeño, junto con la aplicación preventiva de vacunas, teniendo presente que no es posible erradicar en su totalidad la mastitis porque hasta el momento no hay una vacuna 100% efectiva, pero sí es posible reducir significativamente su incidencia; disminuyendo el costo de tratamientos por vaca con mastitis.

El propósito del presente trabajo es evaluar una bacterina elaborada a partir de la cepa de *Staphylococcus aureus* aislada del hato lechero de la Escuela Centroamericana de Ganadería ECAG, ubicada en Atenas, Costa Rica; y demostrar, mediante la vacunación la eficacia de la bacterina en vacas lecheras. Los resultados de éste estudio serán útiles para la prevención y el control sanitario de la mastitis clínica y subclínica en el ganado productor de leche.

## II. HIPÓTESIS

La aplicación de la bacterina autógena a base de *Staphylococcus aureus* es efectiva en un porcentaje mayor al 50% para el tratamiento de mastitis clínica y subclínica en vacas lecheras de la Escuela Centroamericana de Ganadería.

La aplicación de la bacterina autógena a base de *Staphylococcus aureus* reduce la incidencia de casos clínicos y subclínicos de mastitis en vacas lecheras de la Escuela Centroamericana de Ganadería.

### III. OBJETIVOS

#### 3.1 General:

- Evaluar la efectividad de una bacterina autógena a base de *Staphylococcus aureus* en la prevención y en el tratamiento de mastitis clínica y subclínica en el hato lechero bovino en estudio.

#### 3.2 Específicos:

- Determinar la efectividad de la bacterina autógena a base de *Staphylococcus aureus* en el tratamiento de mastitis clínica y subclínica en vacas lecheras de la Escuela Centroamericana de Ganadería.
- Determinar el efecto de la aplicación de la bacterina autógena a base de *Staphylococcus aureus* sobre la incidencia de mastitis clínica y subclínica en vacas lecheras de la Escuela Centroamericana de Ganadería.

## **IV. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **4.1 MASTITIS EN GANADO VACUNO**

#### **4.1.1 DEFINICIÓN**

La mastitis bovina está considerada como una de las enfermedades más complejas y costosas de las que afectan a la industria láctea. Su complejidad se debe a los numerosos y variados agentes patógenos que pueden causarla, la variedad y magnitud de la respuesta que puede producirse en el animal infectado, los múltiples factores que influyen en su ocurrencia y los resultados encontrados en las medidas de control. (12)

La mastitis es una inflamación del parénquima de la glándula mamaria, independientemente de su causa. (9) Se produce como respuesta al daño causado por diferentes agentes agresores, microorganismos y sus toxinas, productos químicos, traumas, temperaturas extremas, etc. La gran mayoría de los casos de mastitis se debe a la penetración de microorganismos, generalmente bacterias. (12)

Se caracteriza por diversos cambios físicos y químicos en la leche y por alteraciones patológicas en el tejido glandular. Los cambios más importantes que se producen en la leche incluyen la modificación del color, la presencia de coágulos y un gran número de leucocitos. En muchos casos clínicos la glándula mamaria presenta hinchazón, calor, dolor e induración. (9)

#### **4.1.2 IMPORTANCIA**

##### **4.1.2.1 Impacto económico**

El tremendo impacto económico de la mastitis se deriva de la reducción en la producción de leche, el descarte de la leche no comerciable, los costos de los reemplazos, costo de servicios veterinarios y tratamientos, labor extra y depreciación de los animales. (12)

Adicionalmente, la mastitis causa alteraciones en la composición láctea que tiene un impacto negativo en el rendimiento de la leche y en la calidad y vida útil de los productos derivados. (12)

La mastitis produce una pérdida económica para los productores al aumentar los costos de la producción y disminuir la productividad. El desempeño prematuro de vacas potencialmente rentables debido a una mastitis crónica es también una pérdida notable. Debido a las grandes pérdidas económicas, los programas eficaces de control de la mastitis poseen un potencial de recuperación elevado de las inversiones. Las pérdidas económicas se pueden dividir en (12):

- Pérdida de la producción de leche. (12)
- Retirada de la leche de vacas con mastitis clínica y tratadas. (12)
- Costos de sustitución de las vacas desechadas. (12)
- Trabajo extra que se necesita para realizar el tratamiento y el control. (12)
- Servicios veterinarios para el tratamiento y el control. (12)
- Programa de control. (12)

Existen costos adicionales como los residuos antimicrobianos en la leche de vacas tratadas, el control de la calidad de la leche, la elaboración de los alimentos lácteos, la calidad nutritiva de la leche, la degradación de la leche por el elevado número de bacterias o CCS y la interferencia con el potencial genético de algunas vacas por su desecho involuntario temprano, debido a una mastitis crónica. (9)

#### **4.1.2.2 Impacto en la Industria Láctea**

Existe amplia documentación de que la secreción de la vaca con mastitis subclínica cambia, por más que no se note mirando la leche. Éste cambio empieza a partir de recuentos muy bajos: 100-150 mil células/ml de leche. El tejido que produce la leche está dañado, y produce menos grasa y proteína, en particular caseína. Hay numerosos trabajos que han podido cuantificar una disminución en el rendimiento del queso en la medida que aumenta el recuento celular. El queso no cuaja bien y pierde muchos sólidos en el suero. Con recuentos altos (1 millón) la reducción en eficiencia llega al 13 %. Las células somáticas contienen enzimas que atacan a las proteínas de la leche. Las mismas son resistentes a altas temperaturas y siguen actuando sobre el producto final. En queso llega a romper la textura y causa un gusto desagradable. En leche en polvo y leche larga vida también puede llegar a dar un gusto desagradable pudiendo incluso gelificar la leche larga

vida. En quesos artesanales, elaborados con leche cruda, un alto nivel de células somáticas casi siempre va de la mano con altos niveles de *Staphylococcus aureus*, una de las causas principales de intoxicación en los humanos. (5)

#### **4.1.2.3 Impacto en la Salud Pública**

La presencia de *Staphylococcus aureus* en la leche comercial puede presentar un riesgo para el consumidor, por la capacidad del microorganismo de producir enterotoxinas y la toxina del síndrome del shock tóxico (TSST-1), que causa una intoxicación alimentaria grave. (9)

La leche contaminada pone en peligro la salud de quienes la consumen, en el caso del hombre cobra gran importancia la diseminación de bacterias causantes de enfermedades tales como: tuberculosis, brucelosis, faringitis estreptocócica, entre otras. (3)

### **4.1.3 CLASIFICACIÓN**

#### **4.1.3.1 Mastitis Subclínica**

La mastitis subclínica es la presencia de una infección sin síntomas aparentes de inflamación local o afectación sistémica. Aunque pueden aparecer episodios transitorios de leche anómala o inflamación de las ubres, estas infecciones son en su mayoría asintomáticas y, si la infección persiste durante al menos 2 meses, son denominadas crónicas. Una vez establecida, muchas de estas infecciones persisten durante lactaciones enteras o durante la vida de las vacas. (6)

#### **4.1.3.2 Mastitis Clínica**

La mastitis clínica es una respuesta inflamatoria a la infección que provoca anomalías visibles de la leche (por ejemplo, color, coágulos de fibrina). Cuando la extensión de la inflamación aumenta, los cambios en la ubre (tumefacción, calor, dolor, enrojecimiento) podrían ser también evidentes. (6)

Cuando el equilibrio entre las defensas del hospedador y los patógenos invasores produce una notable respuesta inflamatoria, los síntomas clínicos se hacen aparentes (6)

Los casos clínicos que incluyen síntomas locales sólo son conocidos como casos leves o moderados. Si la respuesta inflamatoria incluye afección sistémica (fiebre, anorexia, shock), el caso es denominado severo. Si el comienzo es muy rápido, como a menudo ocurre en casos clínicos severos, es denominada caso agudo de mastitis severa. Las vacas más gravemente afectadas tienden a presentar más secreciones serosas en el cuarto afectado. Aunque cualquier número de cuartos puede resultar infectado simultáneamente en mastitis subclínica, típicamente solo un cuarto mostrará mastitis clínica. La mastitis gangrenosa también puede aparecer, en particular cuando infecciones subclínicas y crónicas de *Staphylococcus aureus* se agravan debido a la inmunosupresión (por ejemplo, en el parto). (6)

Los coliformes (bacilos gram negativos fermentadores de lactosa de la familia Enterobacteriaceae) son la causa más común de mastitis clínicas severas. Tras la infección, el número de coliformes en la leche aumenta rápidamente, a menudo alcanzando el pico de concentración bacteriana a las pocas horas. Si las concentraciones bacterianas son lo suficientemente altas para producir una reacción inflamatoria aguda, la afectación sistémica es una consecuencia frecuente. (6)

#### **4.1.4 ETIOLOGÍA**

Casi cualquier bacteria o microorganismo micótico que de un modo oportunista invade tejidos y causa infección puede producir mastitis. No obstante, la mayoría de infecciones son causadas por varias especies de estreptococos, estafilococos y bacilos gram negativos, especialmente organismos de origen entérico fermentadores de lactosa, comúnmente denominados coliformes. (6)

Según su epidemiología, las mastitis pueden clasificarse como contagiosas o ambientales. Los agentes que las producen son innumerables, aunque los principales grupos etiológicos son responsables de más del 95% de los procesos. (4)

Entre los agentes patógenos contagiosos se encuentra el *Streptococcus agalactiae* y el *Staphylococcus aureus*, que residen principalmente en la ubre de las vacas infectadas; la fuente de infección es otra vaca afectada y la exposición de los cuartos no infectados está limitada al proceso de ordeño. Y entre los agentes patógenos ambientales se puede

mencionar al *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* y los coliformes son residentes comunes del ambiente de la vaca, como por ejemplo la cama. (9)

#### 4.1.4.1 *Staphylococcus aureus*

El *Staphylococcus aureus* es un microorganismo esférico aproximadamente de 0.8 micrómetros de diámetro, que en frotis teñido con la técnica de gram aparece de color púrpura (gram positivo) y en racimos, haciendo honor a su nombre en griego "staphylo" que quiere decir en racimo de uvas; no son móviles, ni forman esporas, generalmente no capsulados aunque en ocasiones pueden aparecer aislamientos con cápsula. (3)

Este microorganismo es un gran éxito de patógenos causantes de mastitis, en la medida en que ha evolucionado para producir infecciones de larga duración con escasos signos clínicos. La mayoría de las infecciones por este agente patógeno son subclínicas en la naturaleza y se detecta por la producción de leche de mala calidad. Si bien la mastitis clínica puede ocurrir esporádicamente, los animales afectados rara vez están gravemente enfermos y de los principales efectos económicos de esta enfermedad es la reducción de la producción de leche y de la calidad de las indemnizaciones recibidas por el productor. (11)

Los animales están en riesgo de éste organismo en toda la lactancia y, a menudo, la infección ocurre después de períodos prolongados de exposición. (11)

El *Staphylococcus aureus* ha sido la causa más frecuente de mastitis bovina en las vacas de leche en todo el mundo. En los rebaños con CCS bajos, la prevalencia de infección en las vacas varía entre el 1 y el 10%. En otros rebaños, especialmente en los que tienen un CCS alto, hasta el 50% de las vacas pueden estar infectadas con *Staphylococcus aureus*, con una tasa de infección de los cuartos del 10 al 25%. (9)

La glándula mamaria infectada de las vacas en lactación es el reservorio y la fuente principal de éste microorganismo. El cuál puede estar presente en la piel de los pezones y en sus orificios externos, material de camas, alimentos, material del alojamiento, otros animales de la granja no vacunados y maquinaria. Se cree que la mayoría de las transmisiones entre las vacas ocurre en el momento del ordeño, al estar contaminadas las manos del operario y las pezoneras de las máquinas de ordeño. (9)

La tasa de infección del *Staphylococcus aureus* depende la capacidad del sistema inmunitario para reconocer y eliminar éstas bacterias. El desarrollo, la persistencia, ó



ambos, de la mastitis estafilocócica dependen de la interacción entre las bacterias invasoras y el sistema de defensa del huésped, principalmente de las células somáticas de una glándula infectada, constituidas por polimorfo nucleares en más del 95%. La fagocitosis y la destrucción de las bacterias pueden ser también ineficaces debido a las concentraciones bajas de opsoninas, una falta de fuente energética y por la presencia de caseína y glóbulos de grasa en la leche. La función de las células polimorfo nucleares intramamarias (células somáticas) puede estar también afectada por la inmunodepresión inducida por el tratamiento de las vacas con cortisol y dexametasona. (9)

Las bacterias, a lo largo de su evolución, se han adaptado a los mecanismos de defensa del hospedador, creando una envoltura de exopolisacáridos capsulares que recubren la pared bacteriana. La capa de exopolisacáridos capsulares es muy gruesa y está muy poco cohesionada por lo que los nutrientes, los antibióticos ó incluso una proteína grande pueden atravesarla. Así los anticuerpos la atraviesan sin dificultad, alcanzando la pared bacteriana y uniéndose a ella. Debido al espesor de la capa de exopolisacáridos los anticuerpos quedan enmascarados y no puede entrar en contacto con los receptores de los fagocitos. Por esta razón, en muchas ocasiones los anticuerpos dirigidos frente a la pared bacteriana no pueden eliminar a las bacterias productoras de exopolisacáridos y la infección continua a pesar de la vacunación previa. Para fagocitar a una bacteria rodeada de una cápsula de exopolisacáridos necesitamos producir anticuerpos frente al exopolisacárido y no frente a la pared bacteriana. (10)

#### **4.1.4.1.1 Factores de Virulencia del *Staphylococcus aureus***

El *Staphylococcus aureus* tiene varios factores de virulencia relacionados con su patogenicidad y persistencia en el tejido mamario, a pesar de los mecanismos de defensa adecuados y la terapéutica antimicrobiana. Éste microorganismo tiene la capacidad de colonizar el epitelio y el canal del pezón. Se puede unir y adherir a las células epiteliales de la glándula mamaria. Se une específicamente a las proteínas de la matriz extracelular, la fibronectina y el colágeno, que pueden ayudar a las células epiteliales a introducir al microorganismo, protegiéndolo frente a los factores bactericidas exógenos y endógenos. (9)

Las cepas de *Staphylococcus aureus* producen toxinas, algunas de las cuales pueden causar disfunción fagocitaria. La toxina beta, o una combinación de la toxina alfa y beta, es

producida por la mayoría de las cepas patógenas que se aíslan en los bovinos, pero su importancia patogénica es dudosa. La toxina beta lesiona las células epiteliales secretoras mamarias bovinas, aumenta los efectos de la toxina alfa, incrementa la adherencia de *Staphylococcus aureus* a las células epiteliales mamarias, y aumenta la proliferación del microorganismo. Casi todas las cepas producen coagulasa, que convierte el fibrinógeno en fibrina; esto parece que facilita la invasión de los tejidos. La leucocidina, producida por *Staphylococcus aureus*, puede inactivar a los neutrófilos. (9)

Muchas de las cepas estafilocócicas (coagulasa negativas y positivas) son capaces de producir una capa extracelular de exopolisacáridos, rodeando la pared celular. Esta estructura capsular y su producción de viscosidad se han asociado con la virulencia contra los mecanismos de defensa del huésped. (9)

Un factor patogénico importante es la capacidad del microorganismo para colonizar y producir micro abscesos en la glándula mamaria, de manera que está protegido de los mecanismos normales de defensa, incluyendo la actividad fagocitaria de los neutrófilos. La dificultad para eliminar los estafilococos se debe principalmente a la capacidad de éstas bacterias para sobrevivir en los lugares intracelulares. También, a la capacidad de transformarse en una forma L no susceptible cuando se exponen a los antimicrobianos, y para volver a las formas estándar cuando se retira el tratamiento con antimicrobianos. (9)

#### **4.1.4.1.2 El *Staphylococcus aureus* y los Biofilms bacterianos**

Muchas de las infecciones que afectan a los animales están producidas por bacterias que son comensales en el cuerpo del hospedador. Un ejemplo es el *Staphylococcus aureus*, que colonizan la piel. Cuando las bacterias colonizan tejidos vivos, utilizan mecanismos de adhesión para evitar ser eliminadas. En la adhesión inicial a los epitelios normalmente participan adhesinas y fimbrias. Sin embargo, estas adhesinas y fimbrias son "peligrosas" para la bacteria porque su "adhesividad" hace que sean fácilmente reconocidas por los fagocitos circulantes y, por ello, rápidamente eliminadas. Para defenderse, las bacterias han desarrollado un interesante sistema. Una vez adheridas a los epitelios, comienzan a multiplicarse mientras emiten señales químicas que las "comunican". Cuando la concentración de estas señales supera un umbral determinado se activan los mecanismos genéticos de producción de exopolisacáridos. De este modo, las bacterias se están

multiplicando embebidas dentro de una matriz de exopolisacáridos, lo que da lugar a la formación de un biofilm. (10)

Los biofilms son comunidades bacterianas englobadas en una matriz de exopolisacáridos producida por las bacterias y adheridas a una superficie viva o inerte. En la naturaleza constituyen un modo de crecimiento protegido que permite la supervivencia de las bacterias en un medio hostil. Las estructuras que forman éstas micro colonias contienen canales por los que circulan los nutrientes, y en las distintas partes del biofilm las células expresan diferentes genes, como si fueran un tejido organizado. Ocasionalmente estos agregados bacterianos liberan células individualizadas que se dispersan y multiplican rápidamente, colonizando otros lugares. (10).

La micro colonia provoca la aparición de una respuesta inmune, aunque su tamaño es demasiado grande como para ser fagocitada. Es más, la liberación de enzimas de los fagocitos que rodean la colonia puede producir daños en los tejidos alrededor del biofilm, lo que favorecerá el crecimiento del mismo. Por otro lado, las bacterias englobadas en los biofilms son extremadamente resistentes a los tratamientos antibióticos. Esta resistencia puede explicarse por 3 hipótesis que no son necesariamente excluyentes: (10)

- Aunque los antibióticos pueden penetrar en el biofilm, no alcanzan una concentración suficiente en algunas partes del mismo. (10)
- Las bacterias situadas en la base del biofilm son metabólicamente inactivas y por ello resistentes a algunos antibióticos. (10)
- Existen mecanismos de degradación activa de los antibióticos que evitan que en algunas partes del biofilm se alcancen concentraciones efectivas. (10)

La micro colonia sigue creciendo en volumen y las bacterias que están cerca del epitelio tienen un acceso difícil a los nutrientes del medio externo. Sólo aquéllas localizadas en las capas superiores continúan multiplicándose, situación que crea poblaciones bacterianas con diferencias en su metabolismo. Ocasionalmente, por razones puramente mecánicas, se desprenden algunas bacterias o, más normalmente, algunas dejan de producir estos exopolisacáridos para "soltarse" en el medio. A este fenómeno en el que algunas bacterias dejan de expresar unos determinados genes se le denomina variación de fase. Estas células individualizadas son las que intentarán colonizar otras superficies u otros individuos para crear nuevas micro colonias. Las bacterias individualizadas en el medio

externo son fagocitadas con facilidad por las células inflamatorias que rodean a la micro colonia y son susceptibles a los antibióticos. (10)

Sin embargo, en la vida del animal se producen con frecuencia situaciones estresantes que pueden dar lugar a una inmunodepresión generalizada. En esos momentos, las bacterias que se individualizan pueden superar la barrera inflamatoria y extenderse a otros tejidos. De hecho, la continua aparición de estos brotes agudos es lo que caracteriza a los procesos crónicos. Por ejemplo, en las mastitis crónicas por *Staphylococcus aureus* es sintomático ver que un animal presenta brotes agudos cada pocas semanas ó meses, sin curarse nunca, mientras que en las meningitis estreptocócicas o en la dermatitis lo normal es que el proceso se presente de un modo recurrente en una misma explotación durante años. Estas patologías agudas se solucionan puntualmente con un tratamiento antibiótico, incluso a veces por sí solas, pero no así los procesos crónicos. (10)

En cualquier caso, la práctica demuestra que en los procesos crónicos mediados por biofilms los tratamientos antibióticos no pueden eliminar la infección. Para prevenir la cronificación de éstos procesos podemos utilizar vacunas dirigidas frente a los factores de adhesión bacterianos o podemos inducir una respuesta humoral temprana frente a los exopolisacáridos responsables de la formación del biofilm, de forma que evitemos la aparición de éstas micro colonias. (10)

#### **4.1.5 EPIDEMIOLOGÍA**

La mastitis bovina es una enfermedad de distribución mundial y ha sido catalogada como la más costosa de todas las enfermedades que afectan al ganado lechero. (12)

Desde el punto de vista epidemiológico, los patógenos causantes de la mastitis se han clasificado en los siguientes tres grupos, de acuerdo a su origen y forma de transmisión en el rebaño (12):

- Patógenos Contagiosos: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma bovis*, y *Corynebacterium bovis*. (12)
- Patógenos Ambientales: *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Arcanobacterium pyogenes* y muchos otros agentes. (12)

- Patógenos Oportunistas: *Staphylococcus hycus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus intermedius* y muchas otras especies de estafilococos, que forman parte de la flora normal de piel. (12)

Todo el ganado lechero tiene vacas con mastitis subclínicas, no obstante, la prevalencia de vacas infectadas varía desde 15-75%, y los cuartos desde 5-40%. Las vacas lecheras adultas tienen mayor riesgo de infección, tanto durante la lactancia como durante el período seco. (6)

Muchos casos son transitorios, por eso, desde una perspectiva epidemiológica, la valoración de la mastitis clínica se basa en la incidencia y no en la prevalencia. (6)

Las condiciones climatológicas, la variación estacional, la densidad y alojamiento de las poblaciones de ganado, y las condiciones de gestión pueden afectar la incidencia y la etiología. Sin embargo, esto es muy frecuente y tiene una gran importancia económica en especies cuya principal función es la producción de leche para productos lácteos diarios, particularmente el ganado lechero. (6)

#### **4.1.5.1 Transmisión**

El reservorio principal de la infección es la glándula mamaria; la infección de cada glándula mamaria se produce a través del conducto del pezón, originándose bien a partir de una ubre infectada, bien a través del medio. En las vacas lecheras, la infección que se origina a partir de las ubres infectadas se transmite a la piel del pezón de otras vacas por las pezoneras de la máquina de ordeño, las manos del ordeñador, las ropas u otro material que pueda actuar como un vehículo inerte. (9)

En novillas primíparas se han descrito infecciones con *Staphylococcus* y *Streptococcus* previas al parto, asociada con la dermatitis en los pezones producida por la mosca *Haematobia irritans*, la cual puede albergar *Staphylococcus aureus*, especialmente en climas cálidos. (6)

#### 4.1.5.2 Factores de Riesgo

##### 4.1.5.2.1 Factores del riesgo del animal

- **Edad y número de parto:** La prevalencia de cuartos infectados aumenta con la edad, alcanzando el nivel máximo a los 7 años. (9)
- **Estado de lactación:** La mayoría de las infecciones nuevas se producen durante la primera parte del período seco y en los 2 primeros meses de la lactación. (9)
- **Prevalencia de infección en el rebaño:** Cuánto mayor sea la prevalencia de la enfermedad en el rebaño, mayor será la tasa de infecciones nuevas y la duración de la infección. (9)
- **Características de ordeño y morfología de la ubre y el pezón:** Una tasa de ordeño alta y un diámetro ancho del canal del pezón se han asociado con un aumento del CCS o con el riesgo de infección intramamaria. Una disminución de la distancia entre el pezón y el suelo supone también un factor de riesgo para las mastitis clínicas y puede estar asociado con un incremento de la incidencia de lesiones en los pezones. (9)
- **Condición física del pezón:** El extremo del pezón es la primera barrera contra los agentes patógenos invasores, y la eficacia de los mecanismos de defensa del pezón dependen de la integridad de su tejido; su deterioro causa un aumento del riesgo de infección intramamaria. (9). La hiperqueratosis del orificio del pezón es una anomalía que se observa con frecuencia en las vacas lecheras debido a la máquina de ordeño; el grado de hiperqueratosis puede aumentar por un sistema de ordeño deficiente. (9)
- **Estado nutricional:** Las vitaminas A y E, y el Selenio pueden contribuir a la resistencia frente a ciertos tipos de mastitis. Los primeros estudios realizados sobre éste tema demostraron que la adición a la dieta de antioxidantes como el selenio y las vitaminas A y E tenían un efecto beneficioso en la salud de la ubre de las vacas lecheras, al disminuir la incidencia y la duración de las mastitis clínicas. (9)
- **Resistencia genética a la mastitis:** Se considera que las variaciones en la profundidad de la ubre, la longitud, la forma y la morfología del orificio del pezón están asociadas con diferencias en la mastitis. La producción de queratina en el

canal del pezón y las características físicas y bioquímicas de la queratina son factores importantes que contribuyen a la resistencia frente a la mastitis. Muchos de los mecanismos de defensa de la ubre, incluyendo la lisozimas, la lactoferrina, las inmunoglobulinas y los leucocitos, son productos directos de los genes y tienen una base genética. En el ganado vacuno lechero, las estimaciones de la herencia de la mastitis clínica es de casi el 0.05; esta estimación tan baja indica que en la mastitis clínica existe una influencia genética muy pequeña, pero la influencia ambiental es muy importante. (9)

- ***Otras enfermedades concurrentes:*** La retención de placenta y las lesiones y llagas en los pezones pueden estar asociadas con una mayor incidencia de mastitis. (9)
- ***Función inmunitaria de la glándula mamaria:*** La función inmunitaria de la glándula mamaria se altera durante el período peri parto; es susceptible a la mastitis durante los períodos de transición, como el período seco y la calostro génesis. (9)
- ***Mastitis previas:*** Las vacas con antecedentes de mastitis en la lactación anterior pueden tener una susceptibilidad casi doble de presentar mastitis clínica en la lactación actual. (9)

#### **4.1.5.2.2 Factores de riesgo ambientales y de manejo**

- ***Calidad y manejo del alojamiento:*** Factores como el clima, el sistema de alojamiento, el tipo de cama, y la pluviometría interactúan para influir en el grado de exposición de la punta de los pezones a los agentes patógenos de la mastitis. Las principales fuentes de agentes patógenos ambientales proceden del medio de la vaca, incluyendo la cama, el suelo, el pienso y el agua de bebida. Los agentes patógenos ambientales se multiplican en el material de la cama, que están en contacto directo y prolongado con los pezones del animal. Los materiales de cama orgánicos, como la paja, el aserrín y las virutas de madera y papel proporcionan un medio ideal de crecimiento a los microorganismos patógenos. Los materiales inorgánicos, como la arena, retienen menos humedad y no proporcionan una fuente de nutrientes a los agentes patógenos; el recuento bacteriano en éstos materiales es normalmente inferior al de los materiales orgánicos. (9) El hacinamiento, la

ventilación deficiente y el acceso a agua sucia y áreas fangosas donde las vacas se reúnen, son factores de riesgo importantes. (9).

- ***Prácticas de ordeño:*** La falta de empleo de métodos demostrados y fiables de control de la mastitis es un factor de riesgo importante. Es un aspecto clave que incluye la eficacia del personal de ordeño, las máquinas de ordeño, una velocidad alta de ordeño y, especialmente, la higiene en la sala de ordeño. Las ubres y los pezones húmedos son un factor de riesgo para el aumento del CCS, especialmente en presencia de golpes en el pezón por deslizamiento de las pezoneras. El empleo de una toalla de secar diferente para cada vaca y el uso eficaz de una solución germicida para desinfectar el pezón después del ordeño son factores esenciales para controlar la mastitis. (9)
- ***Estación del año:*** La relación entre la incidencia de la mastitis y la estación anual es variable, dependiendo de las condiciones geográficas y climáticas. En las áreas subtropicales y tropicales, la incidencia puede ser superior en los partos de invierno y primavera, por el aumento de la presión de infección que causa una humedad elevada. En los climas templados, la incidencia de mastitis es superior en otoño e invierno, cuando se producen los partos, coincidiendo con un período de estabulación mayor. (9)

#### **4.1.5.2.3 Factores de riesgo del agente patógeno**

- ***Viabilidad de los microorganismos patógenos:*** La capacidad del agente patógeno para sobrevivir en el medio inmediato de la vaca, esto es, su resistencia a las influencias ambientales, incluyendo los métodos de limpieza y desinfección, es una característica de cada microorganismo patógeno. (9)
- ***Factores de virulencia:*** La influencia de muchos factores de virulencia bacteriana depende de la fase de la lactación y la gravedad de la infección intramamaria, así como de los efectos provocados por los factores de virulencia en el tejido mamario bovino. Entre éstos factores de virulencia se encuentran: (9)
  - ***Capacidad de colonización:*** La capacidad de los microorganismos patógenos para colonizar el conducto del pezón, adherirse al epitelio



mamario e iniciar la mastitis, es una característica esencial de las causas bacterianas de mastitis. (9)

- *Toxinas:* Las cepas aisladas de *Escherichia coli* que causan mastitis producen una endotoxina lipopolisacárida que es responsable de muchos cambios inflamatorios y sistémicos que se observan durante las mastitis aguda por coliformes. Los aislados de *Staphylococcus aureus* de infecciones intramamarias producen muchos factores potenciales de virulencia, incluyendo enterotoxinas, coagulasa,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$ -toxinas, hemolisina, hialuronidasa y leucocidinas, que participan en los distintos grados de la inflamación característica de la mastitis por estafilococos. (9)

#### 4.1.6 PATOGENIA

La infección de las glándulas mamarias ocurre siempre a través del canal del pezón y parece que la secuencia natural, es el desarrollo de inflamación después de la infección. Sin embargo, la evolución de la mastitis se puede clasificar en tres fases: invasión, infección e inflamación. (9)

La invasión representa la fase en la que los microorganismos patógenos se desplazan desde el exterior del pezón a la leche, dentro del canal del pezón. (9)

La infección es la fase en la que los agentes patógenos se multiplican rápidamente e invaden el tejido mamario. Después de la invasión, los microorganismos pueden localizarse en el canal del pezón y desde aquí pueden ocurrir una serie de multiplicaciones y extensiones en el tejido mamario, frecuente u ocasionalmente, dependiendo de su susceptibilidad. La multiplicación de algunos microorganismos puede causar la liberación de endotoxinas, como en las mastitis por coliformes, que causa efectos sistémicos graves con consecuencias inflamatorias mínimas. (9)

La infección es seguida de la inflamación, fase en la que se produce la mastitis clínica, con distintos grados de anomalías clínicas de la ubre y efectos sistémicos variables, de leves a intensivos; entonces se pueden producir anomalías importantes y subclínicas en la leche. Las anomalías de la ubre incluyen una hinchazón notable, un aumento de la temperatura y, en las fases agudas y fulminantes, gangrena y, a veces, formación de

abscesos y atrofia de las glándulas en las fases crónicas. Los efectos sistémicos se deben a los mediadores de la inflamación. Los cambios más importantes en la leche comprenden una disminución de la producción, la presencia de los productos de la inflamación y cambios marcados en la composición de la leche. (9)

Las células somáticas de la leche son de varios tipos, incluyendo neutrófilos, macrófagos, linfocitos y un porcentaje pequeño de células epiteliales. La gravedad y la duración de la mastitis están críticamente relacionadas con la rapidez de la respuesta migratoria de los leucocitos y con la actividad bactericida del CCS en el lugar de la infección. Algunas bacterias liberan subproductos metabólicos, entero toxinas o componentes de la pared celular, al colonizar y multiplicarse en la glándula mamaria. Estos factores bacterianos, directa o indirectamente, actúan como quimio-atrayentes de los leucocitos. Si las células somáticas se desplazan rápidamente desde la corriente sanguínea y son capaces de eliminar los estímulos inflamatorios (bacterias), cesa la movilización de los leucocitos y el CCS recupera los valores normales. Si las bacterias son capaces de sobrevivir a esta respuesta inmediata del huésped, la inflamación continúa, provocando la migración de las células somáticas entre las células secretorias mamarias adyacentes, hacia la luz de los alvéolos. La diapédesis prolongada de los leucocitos causa la lesión del tejido mamario, provocando una disminución de la producción láctea. (9)

Los neutrófilos son el tipo celular predominante en los tejidos y las secreciones mamarias durante la inflamación; pueden constituir >90% de los leucocitos totales de las glándulas mamarias. Cuando llegan al lugar de la infección, fagocitan y destruyen a los microorganismos patógenos. Los neutrófilos ejercen su efecto bactericida por medio de la explosión respiratoria que produce radicales hidroxilo y de oxígeno, componentes importantes del mecanismo destructor dependiente de oxígeno. (9)

La patogenia de la mastitis estafilocócica aguda y crónica en la vaca es la misma, siendo distinto el grado de compromiso del tejido mamario. En ambas formas, cada foco comienza con una fase aguda que se caracteriza por la proliferación de las bacterias en los conductos galactóforos y, en menor grado, en los alvéolos. En la mastitis aguda, los conductos pequeños se bloquean rápidamente por coágulos de fibrina, causando un compromiso más grave del área obstruida. En la forma crónica hay menos focos de inflamación y la reacción es más leve; la inflamación está limitada al epitelio de los

conductos. Estos signos remiten a los pocos días y se sustituyen por proliferación del tejido conjuntivo alrededor de los conductos, que causa el bloqueo y la atrofia del área drenada. La inflamación leucocitaria en el estroma, la cubierta epitelial y la luz alveolar indican una deficiencia obvia de la capacidad secretora y de síntesis debido a la limitación de la luz alveolar y la distensión del estroma. (9)

Los cambios patológicos de las células epiteliales secretoras de leche desde el proceso inflamatorio a menudo llevan consigo un descenso en la capacidad funcional. Según la patogénesis, las pérdidas funcionales pueden continuar en las siguientes lactaciones, lo que altera la productividad y el incremento potencial de peso de las crías. Aunque la mayoría de las infecciones cursan relativamente con una inflamación local subclínica o clínica, los casos más severos pueden conducir a agalactia ó incluso a una afección profunda sistémica que provoca la muerte. (6)

#### **4.1.7 SIGNOS CLÍNICOS**

Los signos clínicos de la mastitis incluyen anomalías en la secreción, el tamaño, la consistencia y la temperatura de las glándulas mamarias y, frecuentemente, una reacción sistémica. Las formas clínicas de la mastitis normalmente se clasifican según su gravedad y duración. La gravedad se caracteriza por (9):

- Forma fulminante: inflamación grave, con hinchazón, calor y dolor en el cuarto, con una reacción sistémica intensa, que puede ser mortal. (9)
- Forma aguda: inflamación grave sin reacción sistémica intensa. (9)
- Forma subaguda: inflamación leve con anomalías persistentes en la leche. (9)
- Forma subclínica: cuando hay signos de inflamación, por ejemplo un CCS alto en la leche sin anomalías visibles en la misma ni en la ubre. (9)

La mastitis estafilocócica aguda ocurre con más frecuencia al comienzo de la lactación. Se produce hinchazón intensa de la glándula y la leche es purulenta ó contiene muchos coágulos gruesos. Se puede producir una fibrosis extensa y una pérdida importante de la función. (9)

La mastitis estafilocócica fulminante normalmente se produce en los primeros días posteriores al parto y es muy letal. Existe una reacción sistémica intensa con un aumento de la temperatura a 41-42°C, frecuencia cardiaca rápida (100-120/min), anorexia completa,

depresión profunda, ausencia de movimientos ruminales y debilidad muscular, a menudo hasta el punto de mantener el animal una posición en decúbito. El inicio de las reacciones sistémicas y locales es repentino. La vaca afectada puede estar normal en un ordeño, y postrada y en estado comatoso en el siguiente. El cuarto afectado está visiblemente hinchado, duro y doloroso con la palpación, causando cojera grave en el lado afectado. (9)

La gangrena se produce siempre y puede ser evidente muy pronto. Se produce un cambio de color a azul, que puede extenderse posteriormente para afectar a la base de la ubre y a toda la zona o parte del pezón, pero puede estar limitado en las zonas laterales y la base de la ubre. Al cabo de 24 horas, las áreas gangrenosas adquieren un color negruzco y exudan suero, pudiendo formarse enfisema subcutáneo y ampollas. La secreción se reduce a una cantidad pequeña de líquido seroso sanguinolento sin olor, ni coágulos, ni copos. Los cuartos no afectados de la misma vaca a menudo están hinchados y puede existir edema subcutáneo amplio enfrente de la ubre causado por la trombosis de las venas mamarias. La toxemia es profunda y normalmente el animal muere, salvo que se administre pronto un tratamiento apropiado. Incluso, en éstos casos, se pierde el cuarto y las áreas gangrenosas se esfacelan. La separación comienza después de 6 a 7 días, pero si no hay interferencia, la parte gangrenosa puede permanecer unida durante semanas. Después de la separación, la zona exuda pus durante muchas semanas antes de cicatrizar. (9)

#### **4.1.7.1 Anomalías en la leche**

Para detectar anomalías en la leche se requiere el empleo de una copa de análisis, preferiblemente con el fondo negro y brillante, que permita la detección del cambio de color, así como coágulos, copos y pus. El cambio de color puede deberse a que esté teñida de sangre ó tenga un aspecto acuoso. Si la leche tiene un aspecto acuoso en los dos primeros chorros de ordeño, tiene poca importancia, pero si persiste durante 10 ó más chorros se considera una anomalía. Los coágulos ó copos normalmente se acompañan de un cambio de color y son siempre importantes, indicando un grado intenso de inflamación, incluso si son pequeños y aparecen solo en los primeros chorros. Los coágulos de sangre tienen poca importancia en la mastitis, así como tampoco los tapones pequeños de cera que se observan a menudo en la leche, durante los primeros días posteriores al parto,

especialmente en las novillas. Los copos al final del ordeño pueden ser indicativos de tuberculosis mamaria en el ganado vacuno. (9)

#### **4.1.7.2 Anomalías físicas de la ubre**

La palpación y la inspección de la ubre están dirigidas a detectar fibrosis, hinchazón inflamatoria y atrofia del tejido mamario. La fibrosis puede consistir en un aumento difuso del tejido conjuntivo o, generalmente, una superficie más nodular al palpar ligeramente la zona. La hinchazón inflamatoria aguda es siempre difusa y se acompaña de calor y dolor, y anomalías importantes en la secreción. En los casos graves, puede haber áreas de gangrena, ó se pueden formar abscesos en el tejido glandular. (9)

#### **4.1.7.3 Respuesta sistémica**

Se puede presentar ó no una respuesta sistémica, incluyendo toxemia, fiebre, taquicardia, estasis ruminal, depresión, posición en decúbito y anorexia, dependiendo del tipo y la gravedad de la infección. (9)

#### **4.1.8 DIAGNÓSTICO**

Los análisis de laboratorio son valiosos para establecer el diagnóstico y el control de la mastitis, pues permiten examinar las muestras de leche en cuanto a bacterias, células y cambios químicos y, obtener una prueba de sensibilidad antimicrobiana. (9)

Es posible diagnosticar las mamitis clínicas por la sintomatología que producen: anormalidades en la secreción láctea, inflamación de la glándula mamaria, disminución de la producción, entre otros. Cuando se observan éstas alteraciones, pueden tomarse muestras de leche antes de proceder con el tratamiento, cuyo análisis microbiológico permitirá determinar el agente etiológico de la enfermedad. (4)

El diagnóstico de las mamitis subclínicas entraña mayores dificultades, ya que al no ser procesos aparentes es necesario disponer de sistemas de identificación lo más precisos posibles. El procedimiento más utilizado para detectar altos recuentos es el Test California (CMT), aunque existen otras prácticas habituales y rutinarias que se utilizan con la misma finalidad, como la palpación de las ubres ó el despuntado de los pezones. (4)

#### **4.1.8.1 Conteo de Células Somáticas (CCS)**

El recuento de células somáticas es el método aceptado para el diagnóstico de la mastitis a nivel de cuartos y animales, así como para la vigilancia de la situación de la mastitis en las fincas y es uno de los principales parámetros para evaluar la calidad de la leche producida. Ofrece una serie de ventajas sobre los métodos anteriores, entre ellas: el procedimiento puede automatizarse, puede aplicarse sobre muestras preservadas y es mucho más preciso, objetivo y repetitivo. Las principales desventajas son el alto costo de los equipos, la necesidad de constante revisión técnica y el requerimiento de personal entrenado, lo que obliga a centralizar los servicios; como consecuencia, otra desventaja es que resulta difícil el acceso inmediato a los resultados. El CCS en leche se ha utilizado para conocer de manera rápida y efectiva el estado de salud del cuarto ó ubre y para vigilar los progresos logrados en los programas de control de mastitis. El valor límite del CCS que se considera como normal es de 250.000 células/ml de leche, pero éste valor puede variar según las políticas de cada país. El CCS en leche de tanque ha sido universalmente aceptado como un buen estimador del estado de salud de las ubres del rebaño y un excelente indicador de la calidad y, a veces, de la seguridad de la leche producida. Las grandes compañías lácteas en muchos países del mundo, incluyendo Latinoamérica, apoyándose en las legislaciones particulares, han establecido programas de pagos de incentivos y penalizaciones, basados en el promedio mensual del CCS. Los múltiples factores que afectan el contenido de células en leche de tanque hace difícil establecer un límite universal. Lo ideal es que cada país establezca su propio límite, seleccionado en base a su situación particular, considerando los aspectos de salud pública involucrados. (12)

Tanto las mamitis clínicas como las subclínicas poseen una característica común: producen un incremento de las células defensivas de la vaca en la ubre, mayoritariamente leucocitos procedentes del sistema circulatorio. Éstas células, denominadas somáticas, se eliminan con la leche. Su cuantificación permite determinar la presencia de enfermedad y el grado de inflamación de la glándula mamaria. (4)

Los recuentos son útiles principalmente para crear conciencia en los granjeros de la existencia de un problema de mastitis en el rebaño, de manera que cuando el recuento de células somáticas en el tanque colectivo exceda los límites permitidos esté indicado realizar una investigación adicional mediante otras técnicas. Además, junto con los pagos ya

existentes por las medidas higiénicas, basados en un recuento estándar de bacterias totales, las granjas lecheras se enfrentan a una presión financiera para producir una leche de calidad higiénica. (9)

Las pérdidas de producción esperada con un recuento de 200 000 células/ml de leche se exponen en la siguiente tabla: (9)

<b>Recuento de células somáticas en la leche del tanque colectivo (células/ml de leche)</b>	<b>Porcentaje de cuartos infectados en el rebaño</b>	<b>Porcentaje de pérdidas en la producción</b>
200 000	6 %	0 %
500 000	16 %	6 %
1 000 000	32 %	18 %
1 500 000	48 %	29 %

**Fuente:** El Manual Merck de Veterinaria, 6 ed.

#### **4.1.8.2 Cultivo Bacteriano**

El cultivo de una muestra de leche del tanque colectivo puede ser un método eficaz para analizar los rebaños lecheros en cuanto a la presencia de los principales microorganismos patógenos de la mastitis. (9)

La presencia de bacterias ambientales y de coliformes en el cultivo de la leche del tanque colectivo puede estar relacionada con el nivel general de la higiene ambiental y de ordeño del rebaño. (9)

Las técnicas de cultivo que se utilizan proporcionan un recuento total de bacterias, un recuento termodúrico (ó recuento de pasteurización), recuentos de coliformes y *Staphylococcus aureus* y un examen cualitativo estándar bacteriano (ó cultivo diferencial), para determinar los tipos de bacterias presentes. Hay que procurar que los rebaños presenten un recuento bacteriano bajo (inferior a 10 000/ml de leche) para asegurar una calidad alta de la leche. Muchos rebaños tienen habitualmente recuentos bacterianos de 1000/ml de leche ó menos. (9)

<b>CLASIFICACIÓN DE LA LECHE SEGÚN EL RECuento BACTERIANO</b>		
<b>GRADO</b>	<b>RECuento BACTERIANO</b>	<b>PRECIO</b>
Premium	De 0 a 100.000	Precio base +2%
Excelente	De 100,001 a 200,000	Precio base
A	De 200,001 a 500,000	25% menos del precio base
B	De 500,001 a 700,000	50% menos del precio base
C	Mayor de 700,000	100% menos del precio base

Fuente: Reglamento de recibo de leche, Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L, Costa Rica.

#### **4.1.8.3 Test California (CMT)**

El CMT es una prueba de campo económica, sencilla y rápida, que detecta con buena sensibilidad y especificidad el estado de salud de la ubre, mediante una estimación gruesa del contenido de células somáticas. Se basa en la gelificación que tiene lugar cuando el ADN liberado de las células somáticas presentes en la leche por la acción de un detergente aniónico como el alkyl-aril-sulfonato de sodio; por tanto, a mayor contenido celular en la leche, mayor gelificación. Su principal desventaja es la subjetividad implícita en la lectura de los resultados. (12)

Una vez mezclados la leche y el reactivo preparado en un contenedor blanco, se lee el resultado como una reacción negativa, traza, 1, 2 ó 3, dependiendo de la cantidad de gel que se haya formado en la muestra. Las vacas en la primera semana después del parto ó en las últimas fases de la lactación pueden proporcionar una reacción positiva muy fuerte. (9)

La prueba de California para la mastitis es una técnica indirecta adecuada, más barata y rápida que el recuento celular y tan preciso como un método de diagnóstico, pero requiere una recogida especial de la leche, mientras que la técnica del recuento celular utiliza la leche que se recoge para otros objetivos, normalmente para comprobar el contenido de grasa. (9)

Para hacer la prueba de CMT, se toma el instrumento (paleta para CMT) por el mango dirigido hacia la cola de la vaca, se descartan los dos primeros chorros de leche de cada pezón y seguidamente se colectan en cada una de las charolas de plástico (debiendo estar la superficie bien pulida y uniforme), 2 ml de leche de cada glándula y se anexan a cada uno de los compartimientos la misma cantidad del reactivo de California, cuidando que la proporción de reactivo a leche sea de 1:1. De inmediato se mezclan la leche y el



reactivo mediante un movimiento rotatorio suave, haciendo la lectura de la reacción alrededor de los 7 segundos, momento en que alcanza el pico la reacción. (13)

Son múltiples las aplicaciones de esta prueba, a continuación se enumeran algunas de éstas: (3)

- Identificación de vacas con mastitis subclínica en las glándulas mamarias. (3)
- Determinar la frecuencia de vacas con mastitis subclínica en el hato. (3)
- Conocer a las vacas candidatas a padecer de infecciones latentes. (3)
- Identificar vacas de elevada producción que se encuentran en alto riesgo de presentar cuadros clínicos de mastitis. (3)
- Determinar con buena aproximación el número de células somáticas en leche. (3)
- Predecir el grado de irritación prevalente en la (s) glándula (s) afectada (s). (3)
- Permite percatarnos del estado de salud que guardan las ubres ordeñadas en el hato. (3)
- Sugerirnos la clase del microorganismo causante del daño glandular. (3)
- Es un instrumento útil en el monitoreo del comportamiento del programa de control de mastitis establecido para el hato. (3)
- Predecir las posibles mermas en producción de leche según el grado de irritación y número de células somáticas en leche. (3)

#### **4.1.9 TRATAMIENTO**

La terapia es dada sobre la premisa de que los costos del tratamiento van a ser superados por los aumentos en la producción tras la eliminación de la infección. En el caso de agentes patógenos contagiosos, la eliminación también podrá dar lugar a un decrecimiento del reservorio de la infección para vacas no infectadas previamente. Ninguna pérdida económica importante sucederá como resultado del retraso de la terapia hasta que el cultivo bacteriano esté completado. No obstante, muchos casos subclínicos seleccionados como potenciales candidatos para el tratamiento tienen infecciones crónicas; especialmente

en el caso de *Staphylococcus aureus*, la predicción de los resultados terapéuticos por prueba in vitro no es fiable. (6)

Un aspecto importante del tratamiento es la identificación positiva precisa del animal ó de los animales que se tratan, y el registro de la información clínica y de laboratorio relevante, los tratamientos utilizados y el control de la respuesta. Una información útil incluiría (9):

- La identificación de la vaca. (9)
- Los cuartos afectados. (9)
- La fecha de comienzo de la mastitis. (9)
- El número de la lactancia. (9)
- La fecha del parto. (9)
- La identificación del agente o de los agentes patógenos. (9)
- El tratamiento empleado, incluyendo la dosis, la vía de administración y la duración. (9)
- El momento en que se retira la leche de la comercialización y cuándo vuelve a incorporarse. (9)
- El nivel más reciente de producción láctea. (9)

La primera decisión que hay que tomar es si tratar un caso particular con antibióticos, parenteralmente ó por infusión intramamaria, ó ambas, ó ninguna; ó si es preciso administrar un tratamiento de sostén. (9)

La distribución del medicamento vía de administración intramamaria puede no ser adecuada debido a la fibrosis extensa y a la formación de micro abscesos en la glándula; es importante evaluar el estado inmune de las vacas desde el punto de vista de la duración de la infección, el número de cuartos infectados, y otras variables. (6) La difusión de los fármacos administrados por infusión a menudo está impedida por el bloqueo de los conductos galactóforos y los alvéolos con restos inflamatorios. (9)

Actualmente se utilizan con mucha frecuencia terapias combinadas vía parenteral e intramamaria, que permiten obtener mayores concentraciones antibióticas en los tejidos infectados y, como consecuencia, mayores índices de curación. (6)

La selección del antimicrobiano empleado frente a un microorganismo patógeno se debe de basar en el resultado del cultivo y la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos.

El cultivo y la prueba de sensibilidad del microorganismo no es necesariamente una base justificable para seleccionar el antimicrobiano que se empleará, y la respuesta al tratamiento en los casos clínicos a menudo no está relacionada con los resultados *in-vitro* de las pruebas de sensibilidad. Sin embargo, un programa de tratamiento en un rebaño que está vigilado continuamente como parte de un programa de control sanitario, debe basarse en las pruebas de sensibilidad de los microorganismos frente a los antimicrobianos. (9)

En las vacas en lactación, el tratamiento preferido es el que mantiene una concentración mínima inhibitoria de 72 horas sin necesidad de realizar infusiones múltiples y sin prolongar el tiempo de retirada. Los antimicrobianos más eficaces para el período seco son los que persisten más tiempo en la ubre, preferiblemente hasta 8 semanas. Estas características dependen del tiempo de liberación del vehículo de la formulación, del tamaño de la partícula y de la capacidad de difusión del antibiótico. (9)

#### **4.1.9.1 Tratamiento en mastitis por *Staphylococcus aureus***

Las infecciones intramamarias por *Staphylococcus aureus* a menudo finalizan en abscesos profundos. El tratamiento es difícil, porque la resistencia a antibacterianos (en especial  $\beta$ -lactámicos) es más frecuente en comparación con infecciones estreptocócicas, y *Staphylococcus aureus* puede sobrevivir intracelularmente después de la fagocitosis cuando se reduce la concentración de antibacterianos. Las infusiones intramamarias sólo pueden curar el 35-40% de las infecciones; sin embargo, éste número será sustancialmente menor para las infecciones crónicas. (6)

Las cepas de *Staphylococcus aureus* son productoras de  $\beta$ -lactamasa, por lo cual no son eficaces contra las penicilinas  $\beta$ -lactámicas. (9)

La tasa de éxito del tratamiento de infecciones intramamarias crónicas o subclínicas causadas por *Staphylococcus aureus* puede ser aumentada al usar ambas terapias, parenteral e intramamaria, a la vez. No obstante, el tratamiento sistémico implica el uso de fármacos, y los períodos de supresión en carne y leche deben de ser determinados judicialmente. El tratamiento debe de ser administrado durante períodos suficientemente largos (5-10 días) para permitir la destrucción efectiva del patógeno. (4)

A veces, la agalactia prematura aparecerá en los cuartos crónicamente infectados, particularmente en cuartos infectados con patógenos resistentes. El sacrificio puede ser la opción práctica para éstas vacas. Como alternativa es común secar el cuarto infectado y continuar con el ordeño de la vaca. Esto puede tener algún beneficio para animales genéticamente superiores dentro de un hato ó para las vacas que se mantienen hasta el parto; por lo general, la producción láctea de estas vacas puede permanecer igual. El objetivo es eliminar la infección causando fibrosis del cuarto afectado, además de reducir el riesgo de un incremento en la patogenicidad ó efectos sistémicos en la vaca, así como reducir el riesgo de infección en otras vacas. (6)

Debido al amplio uso, y a menudo indiscriminado, de la penicilina, gran parte de las mastitis están causadas por bacterias resistentes a la penicilina, especialmente por *Staphylococcus aureus*. (9)

*Staphylococcus aureus* tiene un porcentaje de curación muy bajo. Sólo se recomienda el tratamiento en lactación en casos de mamitis clínicas. Para ello utilizaremos (4):

- Vía intramamaria: cefalosporinas de 1ª generación, como el cefacetrilo o pirlimicina. (4)
- Vía parenteral: fluoroquinolonas, como la marbofloxacina. (4)

La infección latente por *Staphylococcus aureus* es muy común. Los animales positivos deben segregarse y ordeñarse en último lugar. Se recomienda la eliminación del animal del rebaño cuando el RCS del portador asciende a 500 000 células/ml. En éste momento la infección pasaría a ser crónica, sin posibilidad de curación. (4)

El tratamiento de secado recomendado para vacas infectadas por *Staphylococcus aureus* es el intramamario basado en cloxacilina ó cefalosporinas. (4)

El tratamiento de las mamitis por *Staphylococcus aureus* es complicado. Los estafilococos producen cápsulas de exopolisacáridos que envuelven las colonias, lo que dificulta tanto la acción de los fármacos como su inmunización. Otro inconveniente es su capacidad de vivir en el interior de los macrófagos y células epiteliales a modo de parásito intracelular. A estas dos circunstancias debe añadirse la resistencia de la bacteria a los b-lactámicos. (4)

Si una nueva infección por *Staphylococcus aureus* no se trata, la bacteria penetra en los tejidos de la glándula mamaria de la vaca, ubicándose a la pared de la zona, provocando la formación de un absceso, para eventual formar tejido cicatrizal. Estas áreas de tejido cicatrizal son difíciles de penetrar por los antibióticos aún concentraciones eficaces. La bacteria también puede escapar del efecto aniquilador de algunos antibióticos, así como el de los neutrófilos (glóbulos blancos). Como éstas células blancas de la sangre intentan eliminar las bacterias a través de la fagocitosis, muchos organismos se vuelven inactivos y no son fagocitados por los neutrófilos o eliminados por antibióticos que penetran en la célula. Las bacterias pueden permanecer inactivas a la fagocitosis de los neutrófilos. Cuando las células blancas mueren, usualmente 5-7 días, las bacterias se liberan para reanudar la división y el proceso de infección. El desarrollo de la resistencia a los antibióticos y la formación de L-formas en el tratamiento con algunos antibióticos beta-lactámicos (por ejemplo, la penicilina) son razones adicionales para el fracaso en la terapia. (8)

La mastitis por *Stafilococcus aureus* por su habilidad de vivir en colonias dentro de la glándula mamaria, muestran una evidencia clara a cronificarse y el índice de éxito de la terapia antibiótica es limitado. (15)

Muchos de los antibióticos utilizados en las explotaciones agrícolas son aplicados por los trabajadores que pueden no estar familiarizados con los principios de la terapia con antibióticos y no pueden adherirse a los regímenes terapéuticos recomendados. Existe la preocupación de que los antibióticos que se utilizan en animales han creado un reservorio de resistencia bacteriana que pueden ser transferidos a los seres humanos a través de diversos productos alimenticios. (14)

La resistencia a los antibióticos es por cuatro mecanismos principales: alteraciones en el sitio de destino de los antibióticos (tales como cambios en las proteínas de unión a la penicilina), las drogas y la degradación enzimática que inactivan los antibióticos (por ejemplo, penicilinasas), los cambios en la permeabilidad de la pared celular que impiden el acceso a los antibióticos, y el aumento de la actividad de las bombas de flujo de salida en la pared de la célula que impiden acumulación de los antibióticos dentro de la célula. (14)

Mecanismos de resistencia puede surgir ya sea a través de mutaciones cromosómicas en los genes de las bacterias ó mediante la transferencia de elementos extra cromosómicos tales como plásmidos, integrones, y transposones. (14)

#### **4.1.10 CONTROL Y PREVENCIÓN**

Aunque su erradicación es virtualmente imposible, algunos programas de control permiten reducirla a niveles aceptables. En los países desarrollados la rentabilidad de las explotaciones lecheras depende del mantenimiento de bajos niveles de mastitis y la producción de leche de buena calidad, a fin de evitar penalizaciones y acceder a los pagos de incentivos por calidad de leche. Los excelentes niveles de producción y calidad de la leche, logrados en algunos países, se relacionan con (13):

- El reconocimiento de la importancia de la mastitis como factor que limita la producción de leche y por tanto, la rentabilidad de las fincas lecheras. (13)
- La aplicación de programas de control de mastitis y producción de leche de calidad.
- El desarrollo de políticas lecheras coherentes y bien definidas. (13)
- El establecimiento de sistemas de vigilancia de mastitis y calidad de leche, basados en métodos de diagnósticos, como el cultivo bacteriológico y el recuento de células somáticas en leche, usados para cumplir los programas de incentivos y penalizaciones. (13)

El control de la mastitis se basa en la adopción de estrategias de control preventivo que incluye el buen ordeño higiénico, el uso correcto del equipo de ordeño, instalaciones limpias y secas, programas de nutrición adecuados, identificación y tratamiento de las vacas que infectadas con mastitis subclínica y clínica. En todo el mundo, muchos productores de leche han adoptado éstos procedimientos para producir leche de alta calidad. Sin embargo, la mastitis sigue siendo la más común y costosa enfermedad del ganado lechero y muchos productores siguen luchando por alcanzar sus objetivos de calidad. (11)

Sin duda, es posible mantener un rebaño con una baja prevalencia de menos del 2% de vacas infectadas con *Staphylococcus aureus*. Dado que en la mayoría de los rebaños, el reservorio más importante del organismo patógeno son las vacas infectadas, la mayoría de los procedimientos de control se basan en la reducción de la probabilidad de propagación entre las vacas. (7)

Hay dos objetivos generales para el control de *Staphylococcus aureus*. El primero consiste en reducir la prevalencia de cuartos infectados en los rebaños, y esto reduce efectivamente la infección a otras vacas. La segunda es poner en marcha medidas que minimicen el riesgo de nuevas infecciones intramamarias y esto significa la prevención de propagación de vaca a vaca y en segundo lugar, desde el medio ambiente a la vaca. (7)

La reducción de la prevalencia de infección en los rebaños es, esencialmente, por tratamiento, el sacrificio, el secado de los cuartos infectados y asegurar que las vacas primerizas se encuentren no infectadas. (7)

Las tasas de curación bacteriológica con la terapia antibacteriana durante la lactancia son generalmente pobres (seguramente peor que durante el período seco). Las investigaciones indican que se puede esperar la curación de aproximadamente el 20-60% de los casos. Las tasas de curación bacteriológica con una terapia antibiótica durante el período seco son por lo general de un 80% y, por tanto, el período seco es el momento de elección para el tratamiento de la mastitis causada por *Staphylococcus aureus*. (7)

El sacrificio de una vaca infectada crónicamente con *Staphylococcus aureus* a logrado una reducción de la prevalencia del rebaño y también una reducción en el riesgo de propagación de la infección. Sin embargo, viene con un costo por vaca sacrificada. La decisión del sacrificio es compleja y depende de la situación del rebaño según el conteo de células somáticas, de la mastitis clínica y de la capacidad dentro de la ganadería para evitar la propagación de la infección; el costo de un sacrificio debe ser mitigado por el costo y la probabilidad de éxito del tratamiento, así como por el potencial de reposición de la ganadería. Una vaca de alta edad con enfermedad clínica, alto CCS, CMT positivos frecuentemente y tejido mamario con fibrosis es claramente más elegible para el sacrificio que vacas jóvenes con aumentos leves del CCS. (7)

El control de mastitis mediante vacunación, no es algo nuevo, varios laboratorios han planteado el esquema desde hace por lo menos dos décadas y han desarrollado productos para ser utilizados en programas de control con éxito relativo. Las variaciones en el éxito de los programas de vacunación se han achacado a diversos factores, diversidad etiológica, imposibilidad de contemplar en una vacuna todo el espectro etiológico del complejo mastitis bovina, variaciones en los serotipos locales, variaciones en la

patogenicidad bacteriana, características inmunológicas propias de la glándula mamaria, entre otros. (10)

#### 4.2 VACUNAS CONTRA LA MASTITIS

Las vacunas tienen como objetivo aumentar la concentración de inmunoglobulinas en sangre ó leche frente a un patógeno determinado. (4)

Para las mastitis por coliformes se han desarrollado vacunas gracias al descubrimiento de bacterias mutantes gram-negativas. Las bacterinas que utilizan la tecnología núcleo-antígeno basado en la mutación J5 *Escherichia coli* pueden ser útiles en la reducción de la incidencia y la gravedad de la mastitis clínica causada por coliformes. Los programas de vacunación que utilizan estas bacterinas deberían incluir múltiples administraciones durante el período seco para reducir la incidencia de mastitis clínica de coliformes que se asocia frecuentemente con el comienzo de la lactancia. (6)

La primera dosis se administra al secado, la segunda a los 30 días y una tercera 14 días después del parto. Las condiciones ideales para la vacunación se darían si todas las vacas coincidiesen al mismo tiempo en el periodo de secado; como en la práctica esto es imposible, se suele administrar una primera dosis a todos los animales de la explotación, independientemente de su estado productivo (incluidas novillas preñadas no paridas), una segunda dosis un mes después y una tercera a los seis meses. Se recomienda una revacunación anual. Existe también la posibilidad de combinar la vacunación con terapia antibiótica, tanto en lactación como en secado. (6)

En el siglo pasado se ha investigado ampliamente la inmunización frente a la mastitis bovina por *Staphylococcus aureus*. Se han administrado diferentes vacunas basadas en antígenos celulares ó solubles, con ó sin adyuvantes, a vacas lecheras, pero la protección contra la infección y la enfermedad clínica ha sido insatisfactoria. (9)

Numerosos agentes pueden causar mastitis en vacas lecheras, pero *Staphylococcus aureus* es el agente etiológico más común de mastitis bovina, aunque diversas prácticas de gestión para disminuir la prevalencia de *Staphylococcus aureus* han sido adoptadas en el marco de la producción lechera moderna, muchas lecherías todavía tienen un cierto nivel de infección con *Staphylococcus aureus*. Para hacer frente a éste problema, la vacunación para prevenir la mastitis ha sido objeto de preocupación para muchos investigadores. Estas



vacunas han sido empleados con *Staphylococcus aureus* vivos o muertos, toxoides o en combinación con los preparativos de las células muertas y toxoides. Con estas vacunas se han reportado aumento de anticuerpos específicos de *Staphylococcus aureus* en el suero, y mejorando la producción de leche y reduciendo las células somáticas en la leche. (10)

El uso de la vacunación para el control de las enfermedades infecciosas en el ganado lechero es común y la vacunación contra los agentes patógenos de mastitis es una estrategia de control utilizada por algunos empresarios del sector lácteo. Investigaciones sobre vacunas contra la mastitis se ha llevado a cabo durante al menos 30 años y varias vacunas contra la mastitis están disponibles comercialmente. (11)

Hay varias vacunas comerciales disponibles actualmente en los Estados Unidos para la inmunización contra la mastitis causadas por *Staphylococcus aureus* y *E. coli*. Hay dos bacterinas contra *Staphylococcus aureus* comercializadas en los EE.UU, una se comercializa como Lysigin Somato-Staph® que contienen el antígeno tipos I, II, III, IV y diversos grupos de *Staphylococcus aureus*. Vacunas contra la mastitis por coliformes se comercializan como J-5 Bacterina® y Mastiguard®. Una bacterina-toxoide (J-VAC ®) está también disponible. Vacunas contra la mastitis por gram negativos (Endovac-Bovi®) contiene re-17 mutante de *Salmonella typhimurium*. (11)

La inmunización eficaz contra la mastitis ha sido un objetivo de los investigadores durante muchos años. Varios autores han examinado los problemas relacionados con la vacunación contra la mastitis. La naturaleza de la enfermedad crea una serie de desafíos únicos para la producción de una inmunidad exitosa contra la mastitis, sin embargo, el propósito de la vacunación es aumentar la respuesta inmune. En el caso de mastitis, una mayor respuesta inmune no siempre es considerada beneficiosa. Uno de los componentes de la respuesta inmune es la migración de un gran número de glóbulos blancos (llamados células somáticas) a la glándula infectada. La presencia de células somáticas en la leche no es considerada un resultado positivo, ya que las células somáticas son indicadoras de la existencia de mastitis, además de reducir la calidad de la leche. La eficacia de la inmunización es difícil debido a la naturaleza misma de la leche. El volumen de leche en la glándula diluye el número de las células inmunitarias disponibles para luchar contra la infección y los componentes de la leche como grasa y la caseína reducen la capacidad bactericida de la lucha contra la infección por las células inmunitarias. Además, la vaca está

expuesta a numerosos organismos que tienen el potencial para causar mastitis y la leche es un excelente sustrato para el crecimiento bacteriano. (11)

La definición del éxito de una vacuna contra la mastitis puede variar dependiendo de la situación del rebaño. Los ganaderos pueden esperar que las vacunas reduzcan la severidad y la frecuencia de mastitis, además de prevenir nuevas infecciones y eliminar las actuales infecciones. Si bien estas expectativas parecen razonables, es poco probable que una vacuna sea capaz de lograr todos éstos resultados. Además, la evaluación de vacunas contra mastitis se complica por la biología subyacente de los distintos microorganismos patógenos causantes de mastitis. (11)

A menos que una vacuna pueda prevenir nuevas infecciones en toda la lactancia y reducir drásticamente el CCS de los animales afectados, puede ser difícil para un productor reconocer el beneficio de la utilización de una vacuna contra *Staphylococcus aureus*. (11)

La capacidad de las vacunas comerciales contra *Staphylococcus aureus* para reducir el desarrollo de infecciones crónicas pueden ser útil en algunos rebaños que mantienen programas de control contra *Staphylococcus aureus*, pero para la mayoría es debido a la prevención de nuevas infecciones. El fracaso para prevenir nuevas infecciones es, probablemente, la razón por la que ésta vacuna se utiliza en forma limitada en los programas de control de mastitis. (11)

Ha habido varios enfoques para el desarrollo de vacunas experimentales dirigidos al control de la mastitis por *Staphylococcus aureus*. Los investigadores han intentado desarrollar vacunas dirigidas hacia factores de virulencia específicos responsables del desarrollo de mastitis. Las vacunas han sido formuladas sobre la base de los componentes de la pared celular bacteriana (proteína A), factores de adherencia bacteriana (factores que permiten al *Staphylococcus aureus* adjuntarse a las células epiteliales mamarias) y pseudocapsulas bacterianas (una capa que rodea a las bacterias y reduce la capacidad de los leucocitos para destruir las bacterias). Los resultados de estos estudios han sido inconsistentes y confusos a interpretar. (11)

Investigadores de Australia han publicado varios documentos que describen los resultados de los ensayos con el uso de una vacuna inactivada, producida a partir de cepas del *Staphylococcus aureus* que producen pseudocapsulas. El reto experimental del estudio documentado es que esta vacuna pueda estimular el desarrollo de la lucha contra la

pseudocapsula de anticuerpos y reducir el desarrollo de los síntomas clínicos. La vacuna no reduce significativamente el CCS ó aumenta los rendimientos de leche en las vacas infectadas. Los resultados de éste estudio fueron interesantes porque no hay efecto significativo de la vacunación en el CCS ó en la mastitis clínica cuando los datos de todos los rebaños se incluyeron en el análisis. Sin embargo, éste estudio no demuestra que se observaron diferencias entre los rebaños. Cuando el análisis se limitó a un único rebaño que presentaba una alta prevalencia de mastitis por *Staphylococcus aureus*, en los animales vacunados había una reducción de los signos de mastitis clínica y la reducción del desarrollo de nuevas infecciones de mastitis subclínica. (11)

Una vacuna inactivada que consiste en un *Staphylococcus aureus* encapsulado, no encapsulado, y en exopolisacáridos, ha sido desarrollada y probada en Argentina, la prueba de campo parte de los estudios que se llevaron a cabo en hatos lecheros con pobre calidad de la leche y una moderada prevalencia de infecciones por *Staphylococcus aureus*. En éstas condiciones, la vacuna redujo con éxito nuevas infecciones intramamarias por *Staphylococcus aureus*, pero no varió significativamente el CCS. (11)

La vacunación se ha empleado como un complemento a la terapia con antibióticos, así como una medida preventiva de mastitis causada por *Staphylococcus aureus*. Varias vacunas han sido evaluadas para la protección contra la mastitis. Los resultados son variables, pero algunos estudios han demostrado la disminución de nuevas infecciones ó el aumento de las tasas de curación en vacas y novillas. Un estudio con novillas vacunadas a los 6 meses de edad, 14 días más tarde y, a continuación, en intervalos de 6 meses mostró una disminución del 43% en los cuartos con mastitis crónica durante la preñez. En otros estudios con vacas, la terapia con pirlimicina ha sido comparada con la vacunación por sí sola ó en combinación con la terapia antibiótica. El estudio han demostrado que la terapia además de aplicarse la vacunación en general, producen resultados que son mejores que cualquiera de las terapia individuales ó de la vacunación por sí sola. (1)

En general, parece haber progresos en el desarrollo de una vacuna eficaz contra el *Staphylococcus aureus*, pero la eficacia de estas vacunas parece variar por rebaño. El mayor efecto de las vacunas parece ser una disminución en el desarrollo de los síntomas clínicos junto con programas de manejo preventivo necesarios para reducir efectivamente la tasa de nuevas infecciones. (11)

El cambio de enfoque centralizando del control en la prevención misma de la mastitis subclínica, implica la búsqueda incesante y permanente de metodologías de control de bajo costo, fácil aplicación y rápido retorno económico, que permitan el control de la enfermedad sin necesidad de detener la producción ó disminuir ingresos. Uno de los factores determinantes del éxito ó fracaso del desarrollo inmunitario de la glándula mamaria contra las infecciones bacterianas, es el hecho de que las vacunas estaban planteadas en base a antígenos capsulares, pero al estar las bacterias actuantes “rodeadas” de una capa de exopolisacáridos se dificultaba la interacción del antígeno con el anticuerpo. Por esta razón, en muchas ocasiones los anticuerpos dirigidos frente a la pared bacteriana no pueden eliminar a las bacterias productoras de exopolisacáridos y la infección continúa a pesar de la vacunación previa. Para fagocitar a una bacteria rodeada de una cápsula de exopolisacáridos necesitamos producir anticuerpos frente al exopolisacárido y no frente a la pared bacteriana. (15)

La aparición en el mercado de éste tipo de vacunas, basada en el desarrollo de antígenos liposomales, nos ha abierto un nuevo panorama en el control de mastitis. Han demostrado ser de gran utilidad en el tratamiento y prevención de mastitis subclínicas la utilización de vacunaciones en base a exopolisacáridos. Estas vacunas actúan aumentando la concentración de inmunoglobulinas en sangre ó en leche contra un patógeno específico, inhibiendo el crecimiento bacteriano ó neutralizando las toxinas causantes del daño mamario, específicamente contra *Staphylococcus aureus*. (10)

La vacunación contra mastitis utilizando antígenos combinados capsulares y exopolisacáridos demostró ser una alternativa válida y una herramienta eficaz en el control de mastitis subclínicas, reduciendo los contajes de células somáticas, disminuyendo los brotes y casos, así como aumentando la producción lechera al mantener las vacas con reacciones inflamatorias nulas o muy bajas. Es necesario cuantificar, además del descenso de células somáticas, y la producción extra del rodeo sano, la disminución del gasto en insumos (antibióticos), mano de obra, y pérdida de pago por calidad. (15)

Las vacunas desarrolladas contra la mastitis no han tenido mucho éxito en el pasado. Hace varias décadas se elaboró un toxoide a base de *Staphylococcus aureus* para inmunizar las vacas contra mastitis causadas por éste germen, pero lamentablemente tuvo poco éxito. Hasta hace poco, la única vacuna que ha demostrado un éxito razonable ha sido

la J-5 (basada en una mutante de *E. coli*) en el control de mastitis aguda causada por coliformes (*E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Serratia*), con un 70 a 80% de reducción en la mastitis clínica, siguiendo un programa de 3 vacunaciones: (60 y 30 días antes del parto, y al parto). (2)

En los últimos años se descubrió que *Staphylococcus aureus*, al infectar la ubre, formaba una pseudo-cápsula o micro cápsula a base de exopolisacáridos que interfería con la fagocitosis. Esta pseudo-cápsula no se forma en los cultivos in vitro. Se han desarrollado métodos para elevar la respuesta inmunogénica de los exopolisacáridos, que de por sí es muy débil y protege al germen de los mecanismos de defensa de la ubre. Esta es la base para las nuevas vacunas contra mastitis por *Staphylococcus aureus*, que resultan en la opsonización y fagocitosis de las bacterias. Sin embargo, aún está por resolverse la identificación de todos los serotipos capsulares causantes de la mastitis para la elaboración de vacunas más efectivas. Casi un 60% de los antígenos capsulares aún no han sido tipificados. En éstas vacunas, como en muchas otras, hay que destacar el rol de los adyuvantes liposomales, formados a base de colesterol y fosfolípidos, que favorecen la fagocitosis. (2)

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 MATERIALES

#### 5.1.1 Área del estudio

La Escuela Centroamericana de Ganadería (ECAG) es una institución regional de educación superior, establecida por Ley de la República de Costa Rica #4401 de 01 de septiembre de 1969. Está ubicada en Balsa de Atenas, Costa Rica, Centroamérica. Con una altitud de 698 metros sobre el nivel del mar. Existen dos estaciones climáticas bien marcadas: lluviosa que se prolonga de mayo a noviembre, y seca de diciembre a abril. La temperatura promedio oscila entre 25 y 30°C. Se dispone de una finca de 525 hectáreas, 200 de las cuales están cubiertas de bosque secundario, por plantación forestal y por regeneración natural, con alto valor de la biodiversidad. Ofrece a la sociedad cinco carreras: Tecnología de Alimentos, Agro ecoturismo, Producción Animal, Asistencia Veterinaria y Manejo Forestal y de Vida Silvestre; así como también cursos de capacitación y asistencia a empresarios y trabajadores del sector. La finca está dotada de unidades de producción tradicional bovina, porcina, ovina, caprina y zoo criaderos de especies no tradicionales como cocodrilos y tepezcuintles. La ECAG procura un manejo limpio de los sistemas de producción. Para ello se ha implementado un sistema de tratamiento de desechos, utilizando lombricultura, compost, biodigestor y reciclaje. Asimismo, un separador de sólidos y lagunas, en el área de la porqueriza.

#### 5.1.2 Recursos Humanos

- Supervisor en el lugar de estudio: Dr. MV Edwin Espinoza.
- Personal encargado del hato lechero de la ECAG.
- Estudiante a cargo de la investigación: Jorge David González Elizondo.
- Asesores de tesis:
  - Mag. Sc. M.V. Fredy Rolando González Guerrero
  - Med.Vet. Blanca Zelaya de Romillo
  - Mag. Sc. M.V. Gustavo Taracena Gil

**5.1.3 De Laboratorio:**

- Bacterina contra afecciones Esfalicococcicas; fabricada a partir de un cepa de *Staphylococcus aureus* aislada de muestras de leche propias del hato lechero de la ECAG. Elaborada por Servicios Laboratoriales Laboratorio SERLAB, ubicado en Heredia, Costa Rica.

**5.1.4 De Campo:**

- Paleta para la realización del California Mastitis Test.
- Recipiente para el pre sellador de pezones.
- Recipiente para el sellador de pezones.
- Toallas para secado de pezones (papel).
- Frasco de fondo oscuro.
- Hielera.
- Jeringas.
- Agujas.
- Registros de Control.
- Lapiceros

**5.1.5 Reactivos:**

- Reactivo para el examen de California Mastitis Test.
- Solución yodada IO-Shield de Ecolab como pre sellador.
- Solución yodada IO-Shield de Ecolab como sellador.

**5.1.6 De tipo biológico:**

- Vacas en lactación del hato lechero de la Escuela Centroamericana de Ganadería.
- Se trabajó con un total de 53 vacas.

### 5.1.7 Centros de Referencia:

- Servicios Laboratoriales Laboratorio SERLAB, Heredia, Costa Rica.
- Libros para consulta de literatura propiedad del estudiante.
- Internet.

## 5.2 MÉTODOS

### 5.2.1 Métodos de Campo:

- **Capacitación de personal:**

Se realizó una charla sobre buenas prácticas de ordeño al personal encargado del hato lechero, además de la proyección de un video sobre la mastitis bovina; para facilitar un buen resultado en la investigación.

- **Recopilación de datos:**

La investigación se inició con la recopilación de datos de la prevalencia actual de mastitis en el hato lechero, mediante el California Mastitis Test, para determinar la presencia de vacas con mastitis subclínica y clínica.

- **División de Grupos:**

Las 53 vacas en lactación del hato lechero se dividieron de la siguiente forma:

- a) Grupo Terapéutico: Integrado por todas las vacas lecheras que presentaron mastitis clínica o subclínica al examen de California Mastitis Test.
- b) Grupo Preventivo: Integrado por las vacas lecheras que presentaron un resultado negativo al examen de California Mastitis Test.
- c) Grupo Control: Integrado por vacas lecheras que presentaron un resultado negativo al examen de California Mastitis Test.



- **Aplicación de la bacterina:**

La bacterina se mantuvo en refrigeración hasta su empleo; el día de su uso se transportó en hielera para mantener la cadena fría. Posteriormente se realizó la aplicación de la bacterina a todo el hato bovino lechero en lactación, dividiéndose la aplicación de la siguiente manera:

- Grupo Terapéutico: 4 aplicaciones de la siguiente forma, 10cc por vía subcutánea el primer día, 5cc por vía subcutánea el tercer día, 5cc por vía subcutánea el quinto día y 10cc por vía subcutánea el doceavo día.

- Grupo Preventivo: 1 aplicación de 10cc por vía subcutánea. Si a los 8 días de la primera aplicación existió un CMT positivo se repitió una dosis de 10cc por vía subcutánea para ayudar al organismo a eliminar la afección.

- Grupo control: No se aplicó la bacterina.

### **5.2.2 Monitoreo:**

Se realizó cada semana el examen de California Mastitis Test a las vacas lecheras del Grupo Terapéutico, Preventivo y Control. El monitoreo se realizó durante diez semanas, después de aplicada la bacterina.

### **5.2.3 Diseño estadístico:**

El estudio comprendió dos fases. Para el grupo terapéutico fue un tipo de estudio clínico y para el grupo preventivo y control se utilizó un diseño irrestricto al azar con dos tratamiento.

### **5.3 Análisis Estadístico:**

Las variables a analizar fueron las siguientes:

- Efectividad del tratamiento.
- Incidencia de mastitis clínica y subclínica.

Para el Grupo Terapéutico, se evaluó la efectividad en la recuperación de mastitis clínica o subclínica del animal. (Porcentaje, tablas y graficas).

Para el Grupo Preventivo y Control se evaluó la incidencia (la presentación de casos nuevos) de mastitis clínica y subclínica de los animales durante el estudio.

#### **5.4 Análisis de Datos:**

- Se utilizó Estadística Descriptiva, y los datos se presentan en tablas y gráficas.
- Para el grupo terapéutico se utilizó diferencia de proporciones entre positivos y negativos a la prueba CMT posterior al tratamiento.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En éste trabajo se evaluó la efectividad de una bacterina autógena a base de *Staphylococcus aureus*, en la prevención y tratamiento de la mastitis bovina, aplicándose a un total de 53 vacas lecheras en fase de lactación, pertenecientes a un hato lechero de la Escuela Centroamericana de Ganadería ECAG, ubicada en Atenas, Costa Rica con problemas de mastitis a causa de dicho agente patógeno.

El total de la vacas se dividió en tres grupos, al primer grupo de 11 animales se le aplicó el protocolo terapéutico, al segundo grupo de 22 animales, el protocolo preventivo y al tercero de 20 animales, se le tomó como grupo control, por lo cual no se le aplicó la bacterina con la finalidad de conocer si es necesario la aplicación de dicha bacterina en un programa de control de mastitis, en comparación al empleo solamente de buenas prácticas de ordeño. Dicho estudio se monitoreó por medio del California Mastitis Test durante 10 semanas, comprendido entre el 19 de junio del 2008 al 19 de agosto del 2008.

### 6.1 GRUPO CONTROL:

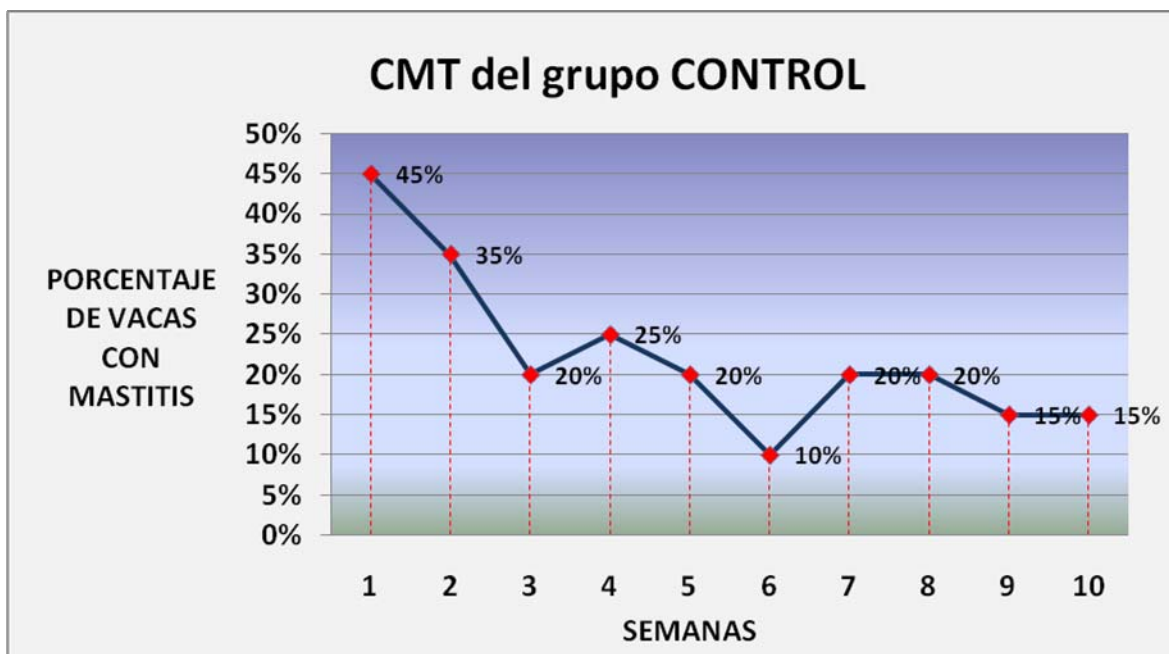
Se monitoreó por medio del CMT al grupo control, con el fin de observar la importancia de la implementación únicamente de buenas prácticas de ordeño en la rutina diaria de un hato lechero (ver tabla II y gráfico II). Verificándose dicha importancia en el manejo de los hatos, ya que se demostró la reducción en la incidencia semanal de mastitis, desde iniciado el estudio (45%), donde se empezaron a implementar dichas prácticas, hasta su finalización (15%), dándonos a entender que dichas prácticas deben de tomarse como una rutina en todos los ordeños de un hato lechero, con el fin de lograr reducir en lo máximo posible la incidencia de mastitis en las vacas lecheras, además de poder obtener una leche de mejor calidad para el consumidor.

**Tabla II. Incidencia semanal de mastitis. Grupo Control.**

GRUPO	SEMANAS									
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10
<b>control</b>	9 de 20 45%	7 de 20 35%	4 de 20 20%	5 de 20 25%	4 de 20 20%	2 de 20 10%	4 de 20 20%	4 de 20 20%	3 de 20 15%	3 de 20 15%

Semana #1: Sin la aplicación de la bacterina.

**Gráfico II. Incidencia semanal de mastitis. Grupo Control.**



Para controlar la mastitis bovina se deben de abarcar muchos factores que la pueden desencadenar, que incluyen desde la nutrición, manejo, ambiente, instalaciones, genética e incluso el equipo de ordeño y el personal, por lo que hay que plantear programas de control muy detallados y fáciles de cumplir con el fin de lograr reducir la incidencia de mastitis en los hatos lecheros; actualmente se está implementado el uso de bacterinas en dichos programas, con el objetivo principal de aumentar la defensa inmune de las vacas lecheras contra los agentes patógenos causantes de mastitis.

## **6.2 GRUPO PREVENTIVO:**

Analizando los datos del CMT en el grupo preventivo, se observa una oscilación en la incidencia semanal de mastitis (ver tabla III y gráfica III), desde iniciado el estudio (13,63%) hasta su finalización (0%), presentando resultados que indican que el uso únicamente de la bacterina no garantiza la reducción en la incidencia de mastitis en el hato lechero, por lo que es necesario aplicar la bacterina en conjunto con buenas prácticas de ordeño para lograr reducir la incidencia de mastitis de una forma más eficiente en los hatos lecheros. El uso de dichas bacterinas puede dar resultados muy variables de hato en hato, debido a la gran cantidad de factores que los pueden alterar, entre los que se pueden

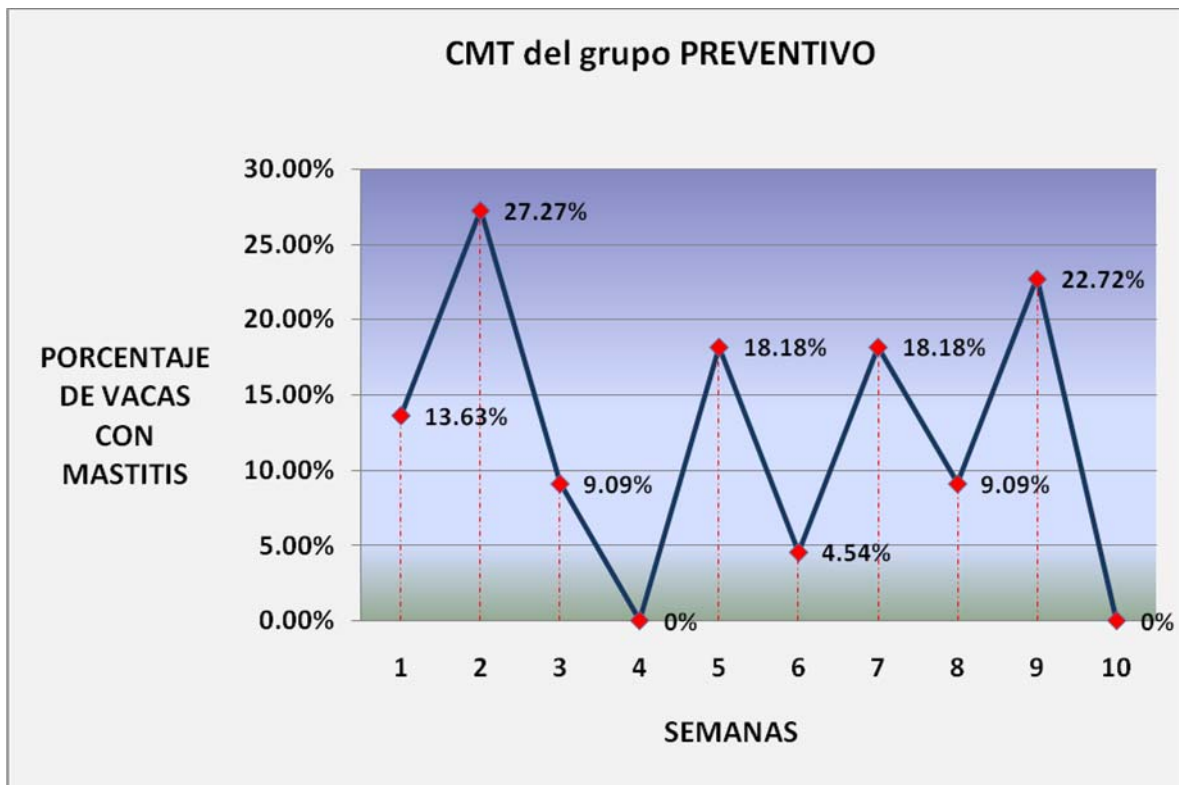
mencionar, la diversidad etiológica de la mastitis, lo que hace imposible contemplar en una vacuna toda la amplitud etiológica, las variaciones en los serotipos bacterianos, los factores de virulencia bacteriana, y las características inmunológicas de la glándula mamaria.

**Tabla III. Incidencia semanal de mastitis. Grupo Preventivo.**

GRUPO	SEMANAS									
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10
preventivo	3 de 22 13,63%	6 de 22 27,27%	2 de 22 9,09%	0 de 22 0%	4 de 22 18,18%	1 de 22 4,54%	4 de 22 18,18%	2 de 22 9,09%	5 de 22 22,72%	0 de 22 0%

Semana #1: Sin la aplicación de la bacterina

**Gráfica III. Incidencia semanal de mastitis. Grupo Preventivo**



### 6.3 GRUPO TERAPÉUTICO:

Se analizaron los resultados del CMT en el grupo terapéutico de vacas, con el fin de observar la eficacia de la bacterina en el tratamiento de la mastitis clínica y subclínica (ver tabla IV y gráfico IV), encontrándose que la efectividad de la bacterina es muy poca

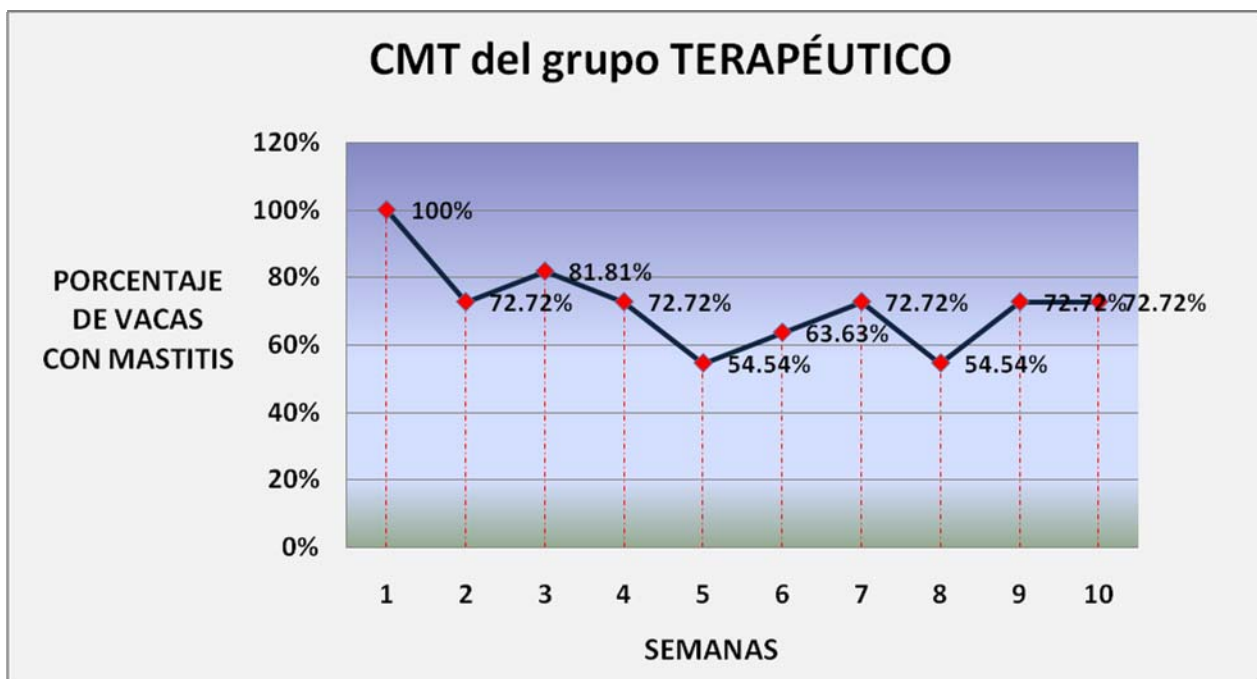
(27,28%), lo que nos indica que el tratamiento de mastitis causada por *Staphylococcus aureus* debe de ser tratado en lo posible con antibióticos adecuados, según los resultados de un antibiograma, además de otras ayudas terapéuticas, en las que se puede incluir el uso de una bacterina con el fin de causar una mejor respuesta inmune en el animal, pero a la vez teniendo presente las pautas terapéuticas para mastitis causadas por *Staphylococcus aureus*.

**Tabla IV. Incidencia de mastitis en diferentes semanas. Grupo Terapéutico.**

GRUPO	SEMANAS									
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10
terapéutico	11 de 11 100%	8 de 11 72,72%	9 de 11 81,81%	8 de 11 72,72%	6 de 11 54,54%	7 de 11 63,63%	8 de 11 72,72%	6 de 11 54,54%	8 de 11 72,72%	8 de 11 72,72%

Semana #1: Sin aplicación de la bacterina

**Gráfico IV. Incidencia de mastitis en diferentes semanas. Grupo Terapéutico.**



El tratamiento para la mastitis causada por *Staphylococcus aureus* debe de basarse según el resultado de un antibiograma, pero hay que tener en cuenta su resistencia a los  $\beta$ -lactámicos, y su capacidad de sobrevivir intracelularmente, lo que hace que la efectividad del tratamiento sea muy pobre, causando por lo general que la vaca sea desechada del hato,

representando un alto costo para el ganadero. En los últimos años se descubrió que el *Staphylococcus aureus*, al infectar la ubre forma una microcápsula a base de exopolisacáridos que interfería con la fagocitosis, lo cual es un indicativo de que hay que desarrollar métodos para elevar la respuesta inmunogénica contra esos exopolisacáridos, y que dichos métodos sean la base para las nuevas vacunas contra mastitis causada por *Staphylococcus aureus*.

## VII. CONCLUSIONES

- La capacidad protectora de la bacterina autógena a base de la especie bacteriana aislada en el área de estudio (*Staphylococcus aureus*), se demuestra por la menor incidencia al momento de culminar la investigación en el grupo preventivo (0%), en relación con los animales del grupo control no vacunados (15%).
- El grupo de animales vacunados de forma terapéutica, la incidencia de mastitis se redujo solamente en un 27,28%, indicando lo poco efectiva que es la bacterina en el tratamiento de mastitis clínica y subclínica a causa del *Staphylococcus aureus*.
- Los resultados de esta investigación, comprueban las ventajas que ofrece una bacterina autógena en la prevención de la mastitis en vacas lecheras, no así para su curación, aplicándose en las condiciones de las explotaciones lecheras a nivel de campo.
- La implementación adecuada de las buenas prácticas de ordeño pudo observarse en el grupo control, que es un factor influyente en la baja incidencia de mastitis clínica y subclínica.
- Se hace necesario recalcar que las medidas para controlar la mastitis consisten en: aplicar una rutina de ordeña higiénica, usar y mantener de manera adecuada el equipo de ordeño, dar tratamiento a la piel de la ubre y pezones, aplicar exámenes a las vacas que se deseen introducir a la explotación, llevar un registro de datos sobre el estado de salud de las hembras, conservar un ambiente limpio y emplear un esquema de vacunación adecuado para prevenir la enfermedad.



## VIII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda implementar un programa de control y prevención contra la mastitis, el cual debe ser planteado según las condiciones de la explotación, entre el veterinario, el administrador y el personal de la explotación.
- La aplicación de una bacterina puede reducir la severidad y la duración de la mastitis, pero para lograr una mayor efectividad se recomienda realizar su aplicación lo más temprano posible, realizando ésta inmunización en la etapa de novilla pre-parto, evitando así una posible infección que comprometa la vida productiva de la vaca lechera; repitiendo el protocolo preventivo cada 3 meses para garantizar una buena inmunización en el ganado lechero.
- Utilizar el California Mastitis Test (CMT) como una herramienta económica y rápida para identificar vacas con mastitis subclínica en los hatos lecheros, se recomienda realizarlo una vez por semana ó por lo menos cada 15 días, con el fin de poder brindar un rápido tratamiento.
- Debido a que el Conteo de Células Somáticas es el principal método de control de calidad de la leche en las explotaciones lecheras y en las plantas procesadoras de leche, se recomienda mantener un constante monitoreo de la calidad de la leche que se produce en cada hato, con dicha prueba, además es útil para evaluar individualmente a cada vaca.
- Se recomienda realizar un cultivo bacteriano de la leche del tanque para determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* en el hato, si el cultivo del tanque da positivo, es recomendable realizar un cultivo individual y un antibiograma de aquellas vacas con recuentos de células somáticas superior a las 200,000 cél/ml, para poder brindar un tratamiento adecuado.
- A pesar de la relación costo beneficio no se pudo demostrar , la aplicación de la bacterina autógena si presenta beneficio desde el punto de vista del bienestar de los animales.

## IX. RESUMEN

El propósito de éste trabajo fue evaluar una bacterina autógena a base de *Staphylococcus aureus*, en el hato lechero de la Escuela Centroamericana de Ganadería ECAG, ubicada en Atenas, Costa Rica; durante un periodo de diez semanas, comprendidos entre el 19 de junio del 2008 al 19 de agosto del 2008 y demostrar, mediante la vacunación la eficacia de la bacterina en la prevención y tratamiento de la mastitis en vacas lecheras. La bacterina se aplicó a un total de 53 vacas lecheras en fase de lactación, dividiéndose el total de vacas en tres grupos, al primer grupo de 11 animales se le aplicó el protocolo terapéutico, al segundo grupo de 22 animales, el protocolo preventivo y al tercero de 20 animales, se le tomó como grupo control, por lo cual no se le aplicó la bacterina con la finalidad de conocer si es necesario la aplicación de dicha bacterina. Al grupo terapéutico se le administró 4 aplicaciones de la siguiente forma, 10cc por vía subcutánea el primer día, 5cc por vía subcutánea el tercer día, 5cc por vía subcutánea el quinto día y 10cc por vía subcutánea el doceavo día. Al grupo preventivo se le administró 1 aplicación de 10cc por vía subcutánea. Y al grupo control no se aplicó la bacterina. Todo el estudio se monitoreó por medio del examen de California Mastitis Test aplicándolo a los tres grupos. En el grupo control se verificó la importancia de la implementación de buenas prácticas de ordeño, ya que se demostró la reducción en la incidencia semanal de mastitis, desde iniciado el estudio (45%), hasta su finalización (15%). En el grupo preventivo, se observó una oscilación en la incidencia semanal de mastitis, desde iniciado el estudio (13,63%) hasta su finalización (0%), presentando resultados que indican que el uso únicamente de la bacterina no garantiza la reducción en la incidencia de mastitis en el hato lechero, por lo que es necesario aplicar la bacterina en conjunto con buenas prácticas de ordeño. En el grupo terapéutico la efectividad de la bacterina es muy poca (27,28%), lo que nos indica que el tratamiento de mastitis causada por *Staphylococcus aureus* debe de ser tratado en lo posible con antibióticos adecuados, según los resultados de un antibiograma, además de otras ayudas terapéuticas.

## **X. ANEXOS**





**Anexo #3**

“Evaluación de una bacterina autógena a base de *Staphylococcus aureus* contra la mastitis en vacas lecheras”

<b>Control del CMT del grupo PREVENTIVO</b>										
# VACA	<b>SEMANAS</b>									
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8	#9	#10
463 ESP	N	N	N	N	3	N	N	N	N	N
478 ESP	3	3	N	N	N	N	N	N	N	N
776 ESP	N	N	1	N	3	3	2	1	2	N
786 ESP	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
803 ESP	N	1	N	N	N	N	1	N	N	N
808 ESP	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
809 ESP	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
832 ESP	T	N	N	N	1	N	2	N	N	N
838 ESP	N	N	N	N	N	N	N	N	1	N
855 ESP	N	N	N	N	3	N	N	N	N	N
856 ESP	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
865 ESP	N	N	1	N	N	N	N	N	1	N
51 DP	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
113 DP	N	T	N	N	N	N	N	N	N	N
120 DP	N	T	N	N	N	N	N	1	T	N
138 DP	N	T	N	N	N	N	N	N	N	N
169 DP	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
190 DP	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
192 DP	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
208 DP	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
286 DP	T	N	N	N	N	N	1	N	1	N
473 DP	N	T	N	N	N	N	N	N	N	N

**P=Positivos:**

**Trazas, Grado 1, Grado 2, Grado 3.**

**N=Negativos**

## XI.BIBLIOGRAFÍA

1. Anderson, K; Pritchard, D. s.f. An update on Staphylococcus aureus mastitis (en línea). North Carolina State University, USA. Consultado 3 jun 2008. Disponible en [http://www.cals.ncsu.edu/an\\_sci/extension/dairy/newsletters/0403nlet.PDF](http://www.cals.ncsu.edu/an_sci/extension/dairy/newsletters/0403nlet.PDF)
2. Andresen, H. 2001. Mastitis: prevención y control (en línea). Revista Investigación Veterinaria. Perú. Consultado 9 mayo 2008. Disponible en <http://scielo.org.pe/pdf/rivep/v/2n2/a10v12n2.pdf>
3. Ávila Téllez, S; Gutiérrez Chávez, A. 2004. Mastitis en ganado bovino (en línea). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México. 24 Jul. Consultado 21 mayo 2008. Disponible en <http://academicos.cualtos.udg.mx/DiplomadoCalidadLeche/doctos/24jul04/Mastitis%20en%20Ganado%20Bovino.doc>
4. Boehringer Ingelheim S.A. 2002. Consulta (en línea). España. 12 Abr. Consultado 4 jun 2008. Disponible en <http://www.solomamitis.com>
5. Bouman, M. 2005. La economía de producir leche de bajo recuento celular (en línea). COLAVECO. Uruguay. Consultado 9 mayo 2008. Disponible en <http://www.vet-uy.com/colaveco/publicaciones/publicaciones/003/003.htm>
6. El Manual Merck de Veterinaria. 2003. Ed. Por Clarence Fraser. 6ed. Barcelona, ES, Oceano. 2736p.
7. Green, M; Bradley, A. 2004. Clinical Forum: Staphylococcus aureus mastitis in cattle (en línea). Revista UK-VET. Reino Unido. 04 Jul. Consultado 3 jun 2008. Disponible en <http://www.ovg.co.uk/Staph%20aureus%20mastitis%20in%20cattle.pdf>

8. Jones, GM; Bailey, TL; Roberson, JR. 1998. Staphylococcus aureus: Cause, detection and control (en línea). Virginia Cooperative Extension, VSU, USA. Mar. Consultado 3 jun 2008. Disponible en <http://www.ext.vt.edu/pubs/dairy/404-229.html>
9. Radostits,O et al. 2002. Medicina Veterinaria; Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. Trad. I Álvarez Baleriola y colaboradores. 9 ed. Madrid, ES, Interamericana. p.711-812
10. Rimbaud, E; Lorenzo, P. 2004. Nuevas alternativas en el control de la mastitis: Inmunización del ganado con vacunas en base a exopolisacáridos (en línea). Uruguay. Consultado 9 mayo 2008. Disponible en [http://www.vet-uy.com/articulos/artic\\_bovi/050/0013.htm](http://www.vet-uy.com/articulos/artic_bovi/050/0013.htm)
11. Ruegg, P. 2002. Evaluating the Effectiveness of Mastitis vaccines (en línea). UW-Madison, USA. Consultado 3 jun 2008. Disponible en <http://www.wisc.edu/dysci/uwex/brochures/mastitisvaccineefficacy.pdf>
12. Scaramelli, A; Gonzalez, Z. 2005. Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina (en línea). Venezuela. 09 Feb. Consultado 9 mayo 2008. Disponible en [http://avpa.ula.ve/docuPDFs/libros\\_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo9-s5.pdf](http://avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo9-s5.pdf)
13. \_\_\_\_\_. 2005. Prevención y control de la mastitis bovina (en línea). Venezuela. Consultado 9 mayo 2008. Disponible en [http://avpa.ula.ve/docuPDFs/libros\\_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo10-s5.pdf](http://avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo10-s5.pdf)
14. Tikofsky, L. 2002. A comparison of antibiotic susceptibility patterns for Staphylococcus aureus in organic and conventional dairy herds (en línea). Organic Farming Research Foundation, Cornell University, USA. 25 Mar. Consultado 3 jun 2008. Disponible en [http://ofrf.org/funded/reports/schukken\\_00-65.pdf](http://ofrf.org/funded/reports/schukken_00-65.pdf)



15. Tirado Acosta, C. 2006. Inmunización del ganado vacuno como alternativa para el control de la mastitis (en línea). Servicios Técnicos Hipra Andinas S.A. Perú. 23 Ago. Consultado 9 mayo 2008. Disponible en [http://www.engormix.com/inmunización\\_ganado\\_vacuno\\_como\\_s\\_articulos\\_885\\_GDL.htm](http://www.engormix.com/inmunización_ganado_vacuno_como_s_articulos_885_GDL.htm)