

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

Evaluación del efecto de extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli* en el tratamiento de mastitis clínica en vacas lecheras especializadas.

ESTUARDO JUVENTINO RUANO ESTRADA

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2007

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

Evaluación del efecto de extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli* en el tratamiento de mastitis clínica en vacas lecheras especializadas.

TESIS

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

POR

ESTUARDO JUVENTINO RUANO ESTRADA

AL CONFERÍRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE:

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2007

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

DECANO:	Lic. Zoot. Marco Vinicio De La Rosa Montepeque
SECRETARIO:	Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina
VOCAL I:	Med. Vet. Edgardo Véliz Porras
VOCAL II:	Mag. Sc. M.V. Fredy Rolando González Guerrero
VOCAL III:	Med. Vet. Edgar Bailey Vargas
VOCAL IV:	Br. José Abraham Ramírez Chang
VOCAL V:	José Antonio Motta Fuentes

Asesores

Mag. Sc. M.V. Fredy Rolando González Guerrero

Med. Vet. Ligia Anaité González Quiñónez

Med. Vet. Jacqueline Escobar

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

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

**Evaluación del efecto de extracto de *Propionibacterium
granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli* en el
tratamiento de mastitis clínica en vacas lecheras
especializadas**

QUE FUERA APROBADO POR LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD
DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMO REQUISITO PREVIO A OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO

TESIS QUE DEDICO

A DIOS	Por ser luz en mi camino y por darme la oportunidad de alcanzar todas mis metas y por bendecirme siempre.
A LA VÍRGEN MARÍA	Por escuchar mis súplicas y mis plegarias, y por darme fortaleza en los momentos difíciles de mi vida.
A LOS ÁNGELES	Por cuidar mis pasos y protegerme en el camino de la vida.
A MIS PADRES	Por depositar su confianza en mí, por su invaluable esfuerzo que hoy se cosecha parte de el y sobre todo por su amor, cariño y comprensión.
A MARÍA PAULA	Mi dulce y tierno amor, por haber llegado en el momento más oportuno a mi vida, por alentarme con solo escuchar su voz a seguir adelante cuando más desanimado me encontraba y por su amor incondicional.
A MIS HERMANOS	Mirna Violeta, Lesbith Claribel, Virgilio Otoniel, por apoyarme en todos los momentos de mi vida y darme fuerzas para seguir adelante.
A MIS SOBRINOS	Alvaro, Jairo, Adonai, Elizabeth, Ana Cristina, Adrea María y Ana Francisca, por comprenderme en momentos difíciles y demostrar su cariño y amor.
A MIS AMIGOS	Por todos los momentos de alegría y tristeza que hemos pasado juntos, por su cariño, por ser apoyo moral durante mi carrera y por su valiosa e incondicional amistad.
A LA FINCA SAN JULIÁN	Por contribuir en mi formación personal y profesional.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS, A LA VÍRGEN MARÍA Y A TODOS LOS ÁNGELES

A MIS PADRES

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

A LA ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA

A MIS ASESORES DE TESIS

A MIS COMPAÑEROS DE PROMOCIÓN

A MIS AMIGOS

A DON MIGUEL ORTÍZ

A FINCA SAN JULIÁN

A LA Inga. SILVIA SOTO MAYOR

Y A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE COLABORARON EN MI FORMACIÓN PERSONAL, PROFESIONAL, EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN Y EN MI EJERCICIO PROFESIONAL SUPERVISADO.

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 ANATOMÍA BÁSICA DE LA UBRE	4
4.2 DEFINICIONES DE DIFERENTES FORMAS DE MASTITIS	4
4.2.1 Mastitis clínica	5
4.2.2 Mastitis subclínica	5
4.2.3 Mastitis crónica	6
4.2.4 Mastitis no específica	6
4.2.5 Infecciones bacterianas específicas	7
4.2.5.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	7
4.2.5.2 <i>Streptococcus agalactiae</i>	8
4.2.5.3 <i>Escherichia coli</i>	9
4.3 DEFINICIÓN Y SIGNIFICADO DE LAS CÉLULAS SOMÁTICAS	9
4.3.1 Conteo de células somáticas	11
4.4 PATOGÉNESIS	11
4.4.1 Invasión de la ubre	11
4.4.2 Establecimiento de la infección	12
4.4.3 Respuesta del tejido a la infección	13
4.5 PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO	14
4.5.1 Examen físico	14

4.5.2	Prueba de despunte	14
4.5.3	Prueba de Mastitis de California.....	15
4.5.4	Conductividad eléctrica.....	17
4.5.5	Cultivos bacteriológicos de muestras de leche	17
4.5.6	Análisis de muestra de tanque.....	19
4.6	ESTRATEGIA PARA EL CONTROL DE MASTITIS	20
4.7	MÉTODOS DE CONTROL	21
4.7.1	Manejo de la crisis	21
4.7.2	Manejo completo	22
4.7.3	Plan completo para el control de la mastitis	23
4.7.3.1	Buena higiene de ordeño.....	23
4.7.3.2	Uso de sistemas de ordeño adecuados.....	23
4.7.3.3	Sellado de los pezones después del ordeño.....	24
4.7.3.4	Tratamiento de secado a todos los cuartos de las vacas.....	24
4.7.3.5	Tratamiento inmediato a casos clínicos.....	24
4.7.3.6	Eliminación de las vacas con infección crónica.....	24
4.8	TRATAMIENTO DE LA MASTITIS.....	26
4.8.1	Recuperación espontánea	26
4.8.2	Terapia de droga	26
4.8.3	Terapia de mastitis tóxica aguda	27
4.8.4	Terapia de mastitis subaguda.....	29
4.8.5	Terapia de mastitis subclínica	30
4.8.6	Terapia de secado	30
4.8.7	Tratamientos intramamarios	32
4.8.8	Nuevas estrategias de tratamiento	33
4.8.9	Terapia de apoyo.....	35
4.8.10	Respuesta celular después de la terapia.....	35
4.8.11	Drogas disponibles para el tratamiento de mastitis	36
4.8.12	Residuos antimicrobianos.....	36
4.8.13	Prueba de resistencia antibiótica	37

4.8.14	Descarte	39
4.9	INMUNOMODULACIÓN	39
4.9.1	Inmunomoduladores de acción inespecífica.....	40
4.9.2	Inmunomoduladores de acción específica.....	41
4.9.3	Tipos de inmunomoduladores y acción terapéutica.....	41
4.10	CARACTERÍSTICAS DEL INMUNO ESTIMULANTE.....	43
4.10.1	Composición del inmuno estimulante a utilizar	43
4.10.2	Mecanismo de acción	44
4.10.3	Terapia convencional.....	44
4.10.4	Refuerzo del sistema inmune	45
4.10.5	Activación celular	46
4.10.6	LPS y PBG en la respuesta específica	46
4.10.7	LPS y PBG : activación de macrófagos	47
4.10.7.1	Enzimas hidrolíticas.....	47
4.10.7.2	Estimulantes celulares.....	47
4.10.7.3	Metabolitos del oxígeno.....	47
V.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	48
5.1	MATERIALES	48
5.1.1	Recursos humanos.....	48
5.1.2	Recursos biológicos.....	48
5.1.3	Recursos de campo.....	48
5.1.4	Recursos de laboratorio.....	49
5.2	METODOLOGÍA	50
5.2.1	Descripción del área de estudio.....	50
5.2.2	Descripción del experimento	50
5.2.3	Análisis estadístico	51
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
VII.	CONCLUSIONES	54
VIII.	RECOMENDACIONES	55

IX. RESUMEN.....	56
X. BIBLIOGRAFÍA.....	57
XI. ANEXOS.....	59

I. INTRODUCCIÓN

La mastitis es una enfermedad infecto-contagiosa causada por una serie de microorganismos patógenos, los cuales no se han podido erradicar, sino tan solo controlar por medio de medidas sanitarias.

La presencia de mastitis en un hato lechero, trae como consecuencia pérdidas económicas debido al descarte de leche, aplicación de antibióticos para su tratamiento, manejo especial de los animales enfermos, pérdidas en la producción, descarte de vacas con mastitis crónica, etc.

La inmunomodulación se refiere a la acción fisiológica o farmacológica sobre el sistema inmune que tiene como resultado la optimización de su acción defensiva. Los inmunoestimulantes se pueden dividir en específicos y no específicos. Los no específicos son aquellos que estimulan la respuesta de células sin que estén dirigidas a un antígeno en particular, mientras que los específicos son los que van a inducir una respuesta inmune a un antígeno o patógeno determinado.

En el presente estudio se pretendió evaluar el efecto terapéutico del inmunoestimulante (extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli*) como tratamiento de mastitis clínica en vacas lecheras con las siguientes variables: tasa y tiempo de curación.

II. HIPÓTESIS

El uso de extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli* en el tratamiento de la mastitis clínica aumenta la tasa de curación y disminuye el tiempo de convalecencia en vacas lecheras especializadas.

III. OBJETIVOS

3.1 GENERAL

Contribuir al estudio farmacológico de inmunoestimulantes en el tratamiento de mastitis clínica en vacas lecheras.

3.2 ESPECÍFICOS

- Evaluar la tasa de curación y el tiempo de convalecencia en vacas que presenten mastitis clínica con el tratamiento de inmunoestimulantes (extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli*) junto con terapia antimicrobiana, y compararlo con tratamiento sólo con antibiótico.
- Evaluar el costo beneficio del tratamiento con extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli* en mastitis clínica.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 ANATOMÍA BÁSICA DE LA UBRE

El interior de cada cuarto se compone de: cisterna de pezón, cisterna de la glándula, ductos de la leche y el tejido productor. Estos tejidos contienen millones de sacos microscópicos llamados alvéolos. Cada alvéolo se alinea con las células productoras de leche y se rodea de células musculares que se contraen y se cierran para extraer la leche durante el ordeño. En el intervalo de los ordeños, la leche se acumula en los espacios alveolares, en los ductos de la leche y en las cisternas. Durante el ordeño, el líquido acumulado sale a través de los canales del pezón (5, 6, 8, 10, 12, 13).

4.2 DEFINICIONES DE DIFERENTES FORMAS DE MASTITIS

La mastitis es una reacción inflamatoria de la glándula mamaria. El término se deriva del Griego **mastos**, que significa pechos e **itis** que quiere decir inflamación de. La inflamación es la respuesta de los tejidos productores de leche en la ubre a una lesión traumática, o la presencia de microorganismos infecciosos que han ingresado a la ubre. En la gran mayoría de los casos la enfermedad es causada por microorganismos.

El propósito de la inflamación es doble; en primer lugar es la de eliminar o neutralizar microorganismos invasores, y en segundo lugar, el de ayudar a reparar los tejidos lesionados, para así regresar la glándula a su normal funcionamiento.

Los síntomas de la inflamación varían ampliamente y dependen del grado de reacción del tejido de la ubre a la infección (2, 12, 10).

4.2.1 Mastitis clínica

La mastitis clínica se caracteriza por sus anormalidades visibles en la ubre o en la leche. Éstas varían enormemente en su severidad durante el curso de la enfermedad. Los casos clínicos se pueden definir como: subagudos, agudos y superagudos.

Son subagudos (medianamente clínicos) cuando los síntomas incluyen solamente alteraciones menores en la leche y en los cuartos afectados, como grumos, escamas o secreciones descoloridas. El cuarto puede estar también ligeramente hinchado y sensible.

Los casos de mastitis aguda se caracterizan por un ataque repentino, enrojecimiento, hinchazón, dolor, endurecimiento, leche anormal y reducción en la producción. También pueden estar presentes otros síntomas sistémicos, tales como fiebre y falta de apetito.

Los superagudos son poco comunes e incluyen los síntomas mencionados anteriormente pero también incluyen depresión, pulso y respiración agitada, pérdida de coordinación muscular, extremidades frías, falta de reflejo en las pupilas, deshidratación y diarrea (2, 8, 10, 12).

4.2.2 Mastitis subclínica

La mastitis subclínica es mucho más sutil y no puede detectarse por observación visual, sin embargo, se puede identificar haciendo pruebas que detecten la presencia de microorganismos infecciosos o de resultados de

inflamación tales como células somáticas. Algunas personas no alcanzan a apreciar la persistencia e importancia económica de la mastitis subclínica porque la leche mantiene su apariencia normal. Esta clase de enfermedad es importante por las siguientes razones:

- Es de 15 a 40 veces más frecuente que su manifestación clínica.
- Usualmente precede a la clínica.
- Es difícil de detectar.
- Reduce la producción de leche.
- Afecta la calidad de la leche (2, 3, 12).

Esta forma subclínica es también muy importante porque constituye una reserva de microorganismos que transmiten la infección a otros animales en el hato (2, 3, 12).

4.2.3 Mastitis crónica

La forma crónica puede comenzar en cualquiera de las formas clínicas o como una mastitis subclínica que puede ser detectada con signos intermitentes de mastitis clínica, tiene usualmente un desarrollo progresivo de tejido cicatrizante, y un cambio en el tamaño y forma de la glándula afectada, acompañada de pérdidas o reducciones en la producción de leche. El tiempo entre los episodios de mastitis clínica y subclínica puede variar enormemente, dependiendo de los microorganismos infecciosos, de la tensión del animal y otros factores (2, 3, 12).

4.2.4 Mastitis no específica

Se conoce también como mastitis aséptica. Esta forma ocurre cuando los microorganismos no pueden ser aislados en las muestras de leche. Estos casos pueden ser clínicos o subclínicos (2, 3, 12).

4.2.5 Infecciones bacterianas específicas

4.2.5.1 *Staphylococcus aureus*

Estas bacterias son altamente dañinas a los tejidos de la glándula mamaria porque producen toxinas. Inicialmente, la bacteria daña los tejidos de las paredes de las cisternas, luego pasan a los ductos y crean unos bolsillos profundos de infección en los tejidos alveolares. A esto le siguen las formaciones de abscesos y encerramiento de las bacterias en los tejidos cicatrizantes. Dichos encerramientos pueden ser mecanismos de defensa útil para mantener la infección en un solo sitio, pero están formados de tejido cicatrizal, responsable en cierto modo de una curación pobre con los antibióticos durante la lactancia, lo que ocurre comúnmente con las infecciones del *Staphylococcus aureus* (5, 6, 10, 12, 13).

Durante las primeras etapas de infección el daño es mínimo y reversible, si se trata efectivamente en sus primeras fases, el cuarto volverá a su producción de leche casi normal en las lactancias siguientes. Si hay microorganismos que permanecen dentro de las áreas tapadas, los abscesos pueden ser más grandes y convertirse en abultamientos apreciables en el tejido de la ubre (5, 6, 10, 12, 13).

Ocasionalmente *Staphylococcus aureus* produce toxinas que son proteínas de bajo peso molecular. Cuando son excretadas al exterior son exotoxinas y cuando se quedan fijas a las bacterias son endotoxinas. Se clasifican en varios grupos:

- Hemolisinas: rompen los eritrocitos. Forman poros en la membrana de los hematíes, haciendo que estallen.
- Leucocidinas: son toxinas que matan a los polimorfos nucleares, macrófagos, haciendo poros en su membrana.
- Exfoliatina: provoca la ruptura de las capas más superficiales de la piel, dando lugar a la descamación de la misma.

- Enterotoxinas: causan gastroenteritis. Son termoestables (soportan elevadas temperaturas). Estimulan el vómito, provocan peristaltismo intestinal.

Las toxinas hacen que los vasos de la sangre se contraigan y produzcan un cierre masivo, parando todo el flujo de la sangre en el área afectada. Esta mastitis superaguda con gangrena lleva a la pérdida del cuarto y en algunos casos, a la muerte de la vaca. La mastitis con gangrena se caracteriza por manchas azulosas, frío en los tejidos afectados y secreción de suero de sangre por la piel (5, 6, 10, 12, 13).

4.2.5.2 *Streptococcus agalactiae*

Este microorganismo primero infecta el sistema de los ductos en la parte baja de la ubre pero puede propagarse ampliamente y dañar el tejido de la glándula. Los ductos se engrosan y este proceso junto con las partículas de tejido y los glóbulos blancos, eventualmente puede cerrar los ductos, bloqueando el drenaje de los tejidos productores de leche. La leche se acumula en estas áreas, resultando en la involución de los tejidos cicatrizantes y en la reducción en la producción de la leche.

Si se administra un tratamiento efectivo y a tiempo, y si la ubre se estimula y descarga completamente durante el ordeño, los grumos desaparecen y el área afectada se recupera. En caso de que continúe la infección, la mastitis por *Streptococcus agalactiae* se convierte en una inflamación crónica, con manifestaciones periódicas. La acumulación de toxinas de los microorganismos intensifica la respuesta inflamatoria, resultando en la pérdida del tejido productor de la leche. *Streptococcus agalactiae* rara vez produce una enfermedad severa, pero un daño fuerte en el cuarto puede convertirlo en improductivo en las lactancias futuras (5, 6, 10, 12, 13).

4.2.5.3 *Escherichia coli*

Esta bacteria produce la endotoxina (lipopolisacárido de membrana) que aparece después de morir la bacteria y causa un rápido movimiento de células somáticas hacia la leche. La infección coliforme aparece más que todo en los cuartos con conteos de células somáticas bajos; esta condición permite un crecimiento bacterial no restringido. Generalmente se acompaña de inflamación y fiebre como respuesta del sistema. Ocasionalmente la infección puede causar la muerte, dependiendo de la virulencia de la bacteria y la resistencia de la glándula mamaria. Las respuestas sistemáticas que acompañan a la mastitis aguda son los resultados de la absorción de la endotoxina en la sangre (toxemia).

La leche se torna de color amarillo, ésta contiene grumos, escamas y su producción baja drásticamente. La destrucción del tejido productor de leche puede ocurrir, pero generalmente si la bacteria es eliminada, la vaca se recupera en pocos días y retorna a su producción de leche normal. A veces resulta una forma de infección coliforme aguda y ésta produce un cese de producción de leche por completo, pero las vacas afectadas algunas veces producen leche normalmente en las lactancias siguientes (5, 6, 10, 12, 13).

La mastitis coliforme crónica se desarrolla cuando la repuesta inicial de inflamación y la afluencia de células somáticas, pierden el poder para eliminar todas las bacterias. Esta forma de mastitis se caracteriza por sus períodos de manifestaciones agudos, los cuales eventualmente son lo suficientemente severos como para destruir todas las bacterias (5, 6, 10, 12, 13).

4.3 DEFINICIÓN Y SIGNIFICADO DE LAS CÉLULAS SOMÁTICAS

Cuando se hiere o se infecta el tejido de la ubre, casi inevitable e inmediatamente ocurre una inflamación de cualquier grado. Durante ésta, un número importante de células blancas se acumulan en la leche, éstas son parte

importante de los mecanismos de defensa naturales de la vaca, su presencia en el área afectada de la glándula mamaria produce como resultado una batalla continua, las células blancas tratando de absorber y digerir los microorganismos responsables de la infección y los microorganismos tratando de multiplicarse y escapar de las células blancas (2, 3, 12).

Las investigaciones han demostrado que cuando las vacas se encuentran bajo tensión, las células blancas en la ubre son menos efectivas en combatir los microorganismos causantes de la mastitis. Por lo tanto, se deben realizar todos los esfuerzos necesarios para ofrecer al ganado un ambiente tranquilo (2, 3, 12).

Las células blancas en la leche, junto con un número relativamente menor de células epiteliales del tejido productor de leche, constituyen lo que todo productor, médico veterinario, especialista de lechería y hombre de campo conoce como células somáticas. La proporción de células blancas y células epiteliales varían de acuerdo al tipo de infección, pero como regla general las células blancas constituyen del 98% al 99% del total. Las células blancas y las epiteliales se encuentran presentes en grandes cantidades en respuesta a una herida o a una infección (2, 3, 12).

El conteo de células somáticas en la leche es ampliamente utilizado en la industria para identificar aquellas vacas que pueden estar infectadas o para estimar la prevalencia de mastitis en el hato.

La leche de vacas normales o sin infecciones generalmente tiene un conteo de células somáticas en el rango de 50.000 a 200.000 células por milímetro cúbico. Cuando el conteo excede las 200.000 células las probabilidades de infección son mayores (2, 3, 12).

4.3.1 Conteo de células somáticas

Existen actualmente contadores electrónicos y computarizados de células que hacen posible el conteo de células somáticas en todas las vacas de ordeño. Este conteo se hace con la mezcla total de leche de todos los cuartos en cada vaca, generalmente cada mes. El estudio de estos archivos es una ayuda para ver el progreso que revela las diferencias en el control de mastitis. Al igual que con la prueba de la paleta (California Mastitis Test), estos conteos no deben usarse para identificar vacas para el tratamiento sin hacer antes un cultivo bacteriológico de leche por cada cuarto (3, 12).

4.4 PATOGÉNESIS

4.4.1 Invasión de la ubre

La mastitis resulta cuando los microorganismos pasan a través del canal del pezón, se resisten a las líneas de defensas de la leche y se multiplican. El canal del pezón es la principal barrera contra los microorganismos que causan la mastitis. Estos microorganismos pueden irrumpir en el canal del pezón multiplicándose dentro del canal, o por movimiento físico resultado de la presión localizada en el pezón cuando la vaca se mueve. Durante el ordeño mecánico, los microorganismos pueden ser impulsados hacia el canal y penetrar la cisterna del pezón. Este es el resultado de los retro impactos en la punta causados por el resbalamiento de las pezoneras. Las infecciones causadas de esta manera son muy raras y ocurren casi totalmente cuando no hay flujo de leche en el pezón.

El potencial para la invasión es mayor para los microorganismos que forman parte de la flora normal del canal del pezón. Dichos microorganismos pueden sobrevivir por meses. La práctica de sumergir los pezones en un

germicida efectivo después de cada ordeño, reduce enormemente las colonizaciones en el canal (2, 3, 12, 13).

4.4.2 Establecimiento de la infección

La habilidad de los microorganismos para adherirse a los tejidos en el interior de la ubre puede afectar su habilidad para permanecer en él, especialmente durante la lactancia, que es cuando la ubre tiene evacuaciones periódicas en cada ordeño. Los *Streptococcus sp.* y los *Staphylococcus aureus* se adhieren muy bien a los tejidos que revisten los espacios donde se recoge la leche.

La *Escherichia coli* no se adhiere, pero sí se multiplica rápidamente en cuartos con bajo conteo de células somáticas. El resultado de la mastitis por *Escherichia coli* dependen muchísimo de la habilidad de los glóbulos blancos para eliminar dichos organismos. Si el conteo de células somáticas es alto (mayor de 500.000 por milímetro) cuando los microorganismos de *Escherichia coli* entran a la ubre, y si hay rápido movimiento de glóbulos blancos en la ubre como respuesta a dicha invasión, las posibilidades para que ésta se elimine son buenas. Sin embargo, la leche de bajo conteo somático puede ofrecer un ambiente propicio al crecimiento y establecimiento de *Escherichia coli* en la ubre (3, 12).

La interacción de las bacterias con las células somáticas también afecta el establecimiento de la infección. Dichas células son también la segunda línea de defensa de la vaca. Una de las funciones de las células somáticas es la de atacar y destruir microorganismos. Si éstos son eliminados por las células, la infección se detiene. Si persiste, lo que sigue es una infección crónica. Los microorganismos entonces entran a los pequeños ductos y áreas alveolares en la parte baja de la ubre, posiblemente por multiplicación y por flujos de leche producidos por el movimiento de la vaca. Allí se producen toxinas y otros irritantes que activan los glóbulos blancos causantes de inflamación y muerte de células productoras de leche.

Esto resulta en la descarga de sustancias que atraen más glóbulos blancos al área afectada en un intento de destruir los microorganismos infecciosos. Factores como líquidos y coagulantes de sangre también afectan los tejidos para la producción de la ubre (3, 12).

4.4.3 Respuesta del tejido a la infección

Después de que las células somáticas cruzan los vasos sanguíneos y circulan por los tejidos de la ubre hacia el sitio del tejido enfermo, se acumulan alrededor de los alvéolos, los ductos y cisternas antes de entrar en la leche. Las células somáticas se mueven a través de la pared de los tejidos por entre las células epiteliales y pueden producir sustancias que causan la destrucción de células productoras de leche, causando una reducción en la producción láctea (5, 10, 12, 13).

La presencia de microorganismos, sus toxinas, células somáticas y líquidos en el área afectada pueden hacer que el resto de células saludables productoras de la leche queden en un estado de quietud llamado involución. Además, partículas de tejido, células somáticas y microorganismos pueden obstruir los ductos en el área de drenaje del tejido productor de leche.

Si se llegan a eliminar los microorganismos los ductos para drenaje se destapan y la composición de la leche vuelve a su normalidad en varios días. Cómo un cuarto enfermo desarrolla nuevamente la habilidad de segregar es realmente incierto, pero las células productoras de leche pueden repararse a sí mismas, las células en reposo vuelven a activarse nuevamente y el tejido aumenta su actividad y compensa el tejido improductivo, dando como resultado el retorno a la producción de leche. De otra forma, si la infección continúa y los ductos permanecen cerrados, la leche se acumula en los alvéolos, ejerciendo presión en las células productoras de leche, éstas se duermen o se destruyen, dependiendo de lo severo de la infección.

Después de la destrucción, las estructuras alveolares se renuevan permanentemente por tejido cicatrizal, reduciendo la producción de la leche en la lactancia actual y las futuras (5, 10, 12, 13).

4.5 PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO

4.5.1 Examen físico

Los exámenes físicos se realizan mejor cuando la ubre de la vaca está vacía, inmediatamente después del ordeño. Ésta se examina para detectar los cuartos endurecidos, hinchados y calientes debido a la mastitis aguda, así como también, los cuartos atrofiados o deformes con áreas de tejido cicatrizante que indican daños permanentes (2, 3, 4, 5, 10, 12, 13).

4.5.2 Prueba de despunte

Los primeros chorros de leche se examinan durante la preparación de la ubre para el ordeño. Este proceso se conoce como prueba de primeros chorros o despunte. Este método permite detectar clínicamente la leche anormal que no debe enviarse al tanque, e identificar así, las vacas que tienen mastitis y necesitan atención. La leche anormal muestra decoloración, escamas, grumos y partículas. El remover la primera leche también estimula a la vaca.

Tradicionalmente los primeros chorros de la leche se observan usando una taza especial de prueba. Este proceso puede utilizarse cuando las vacas se ordeñan en corrales o establos. Cuando se usan las tazas de prueba, éstas deben lavarse y desinfectarse después de cada uso. En salas de ordeño donde los pisos se riegan con agua, los primeros chorros pueden observarse en el piso.

Una baldosa negra se incorpora al suelo de concreto para agilizar el procedimiento. Este proceso evita salpicar con leche infectada a los pezones sanos y las ubres de otras vacas, así como el manejo de tazas contaminadas por el operario, el área debe lavarse inmediatamente. La leche jamás debe probarse en la mano, por el traspaso de microorganismos de un pezón a otro o de una vaca a otra (2, 3, 4, 5, 10, 12, 13).

4.5.3 Prueba de Mastitis de California

Las pruebas de Mastitis de California Test (CMT) y pruebas similares, estiman el contenido de células somáticas en la leche. Los puntajes se relacionan ampliamente al número de células somáticas en la leche. El número de células somáticas aumenta durante el ordeño y permanece alto por varias horas después, aún viniendo de cuartos enfermos. Para resultados confiables las pruebas deben de realizarse justo antes del ordeño, después de estimular la vaca con descarga de los primeros chorros de leche. La prueba CMT contiene el reactivo Lauril Sulfato de Sodio para reaccionar con el DNA celular produciendo viscosidad directamente proporcional al número de células somáticas presentes en la muestra de leche. Las reacciones tienen un puntaje de 0, T, 1, 2, 3, dependiendo de la cantidad de gelatina que se forma cuando la leche se mezcla con el reactivo (cuadro No.1).

Cuadro No.1 Formación de gelatina en una prueba de CMT (12)

Gelatina	Resultado
Negativo	0
Trazas	T
Poco-moderada	1
Moderada	2
Mucha	3

Muchos lecheros prefieren usar un sistema de puntaje más simple así como se muestra en el cuadro No. 2.

Cuadro No. 2 Forma simple de resultados de la prueba de CMT (12)

Gelatina	Resultado
N = Negativo	Nada
S = Sospechoso	Algo
P = positivo	Formada

Las pruebas muestran que las reacciones se relacionan con el promedio del conteo de células somáticas tal como se muestra en el cuadro No.3.

Cuadro No. 3 Relación entre resultado de CMT y conteo de células somáticas (12)

Resultado CMT	Conteo de células somáticas
0	100,000
T	300,000
1	900,000
2	2,700,000
3	8,100,000

La prueba de CMT no señala las vacas a tratarse porque solamente un 60% de vacas con un conteo somático de más de 500,000 células por milímetro, son las que realmente están infectadas por microorganismos (2, 3, 12).

4.5.4 Conductividad eléctrica

La medida de conductividad eléctrica es útil bajo condiciones de investigación, pero actualmente tiene una aplicación muy limitada en los hatos. Este método para detectar la mastitis confía en los diferentes niveles de concentración de sal que ocurren entre los cuartos infectados y sanos de la misma vaca. La presencia de bacterias infecciosas aumenta el sodio y cloro en la leche mientras disminuyen los iones de calcio y lactosa. El cloro y el sodio aumentan en los cuartos infectados porque salen de la sangre durante la inflamación (3, 12).

4.5.5 Cultivos bacteriológicos de muestras de leche

Consisten en el cultivo, identificación y sensibilidad antibiótica del microorganismo causante de la mastitis. Los resultados son importantes para un mejor entendimiento de problemas específicos del hato, hacer las recomendaciones de terapia y tomar decisiones importantes en cada caso.

Es a menudo necesario cultivar muestras de los cuartos infectados, para identificar los microorganismos involucrados en casos clínicos de mastitis y separar los animales sin infección, de los que presentan mastitis subclínica.

Un cultivo para cada vaca a veces ayuda a identificar vacas para el tratamiento o para segregación. Los cultivos de cuartos individuales se recomiendan en el caso de mastitis raras y severas que no responden al tratamiento esto permite una mejor terapia y manejo del problema. Cultivos de

todas las vacas antes del secado y en el parto ayudan a chequear el programa de secado.

Es buena práctica recoger muestras de leche de cada caso clínico y guardarlas en frío o congeladas hasta que puedan ser cultivadas. El médico veterinario del hato o el lechero pueden acumular un archivo de todos los casos y del microorganismo para ayudar a comprender el problema de mastitis clínica del hato. Esto permite además un diagnóstico temprano de nuevas o serias infecciones en el hato para que se tomen medidas de control que puedan iniciarse inmediatamente (2, 3, 12).

La confianza en los cultivos de laboratorio depende de la manera en que las muestras hayan sido recogidas, guardadas y manejadas. Cuando se toman muestras del cuarto deben botarse dos o tres chorros de leche y el pezón frotarse por unos segundos con un algodón empapado en alcohol al 70% antes de recoger las muestras.

Si la persona que está tomando la muestra se encuentra del lado derecho de la vaca los pezones anterior y posterior izquierdo deben de limpiarse primero, y luego los pezones anterior y posterior derechos, si se encuentra del lado izquierdo de la vaca los pezones anterior y posterior derechos deben ser los primeros en limpiarse, y luego los pezones anterior y posterior izquierdos. Cuando la punta del pezón se seque deben recogerse las muestras en tubos de ensayo, si la persona que toma la muestra se encuentra del lado derecho, se toman las muestras de los pezones anterior y posterior derechos, y luego, los pezones anterior y posterior izquierdos, y se realiza de forma contraria cuando el que toma la muestra se encuentra del lado izquierdo. Luego de recogerlas, deben refrigerarse hasta ser llevadas al laboratorio (2, 3, 5, 12).

4.5.6 Análisis de muestra de tanque

Para detectar la mastitis a nivel del hato se puede hacer un estudio del conteo total de células somáticas, del total de bacterias y de los tipos de éstas en el tanque.

Un rango total de más de 200,000 células por milímetro sugiere la presencia de mastitis en el hato. Sin embargo para algunos hatos el conteo total llega casi al máximo y conteos de 300,000 células o menos son comunes, el nivel de 200,000 células es prácticamente una meta. Una pérdida de producción sustancial se asocia con conteos altos de células.

El conteo de células somáticas del tanque provee una excelente manera para chequear los conteos de células en la leche del hato, pero revela muy poco sobre número de casos clínicos de mastitis, el grupo de vacas envuelto, o las clases de infecciones presentes. Cuando la leche de los cuartos afectados se mezcla con la de los cuartos normales, el conteo de células de vacas y el de todo el hato aumenta en el tanque. Un reporte mensual del conteo de células provee un dato general del progreso en el control de mastitis

Otro conteo total y diferente puede determinarse haciendo cultivos de la leche del tanque. Si los conteos de bacterias son elevados, la identificación a través de cultivos puede proveer guías para identificación de la fuente o fuentes de los conteos elevados. Por ejemplo el *Streptococcus agalactiae* de vacas infectadas puede ser el único motivo de que el número de células sea elevado; también otro tipo de bacteria puede originarse del medio ambiente y de la mala limpieza de los equipos. Algunos tipos de bacterias de otras fuentes se combinan para dar conteos altos de bacterias.

En los hatos se debe tratar de tener conteos bajos de células somáticas (menos de 10,000 células por milímetro) para asegurar la calidad de la leche (3,12).

4.6 ESTRATEGIA PARA EL CONTROL DE MASTITIS

El programa de control para ser aceptado debe ser económico, práctico y efectivo bajo casi todas las condiciones de manejo, y también debe reducir nuevas infecciones. Este programa debe además, parar las infecciones ya existentes, reducir la incidencia de mastitis clínica y sujetarse a modificaciones de métodos mejorados, que se desarrollen mediante las investigaciones (2, 3, 5, 12, 13).

Es fácil ver si el aumento de nuevas infecciones es menor que el crecimiento de la eliminación, entonces así, el nivel de la mastitis disminuye. En cambio, el nivel aumenta si el crecimiento de las nuevas infecciones es más alto que la velocidad a la cual éstas son eliminadas. Bajo circunstancias actuales la manera en que estos factores influyen en el nivel de infección es bastante compleja. Esto es porque la población del hato cambia, las infecciones causadas por diferentes microorganismos de mastitis tienen distintas duraciones, las vacas no están continuamente en el hato y existen cambios de estaciones. Si el crecimiento y la duración disminuyen la infección en un 50%, eventualmente el nivel de infección cae al 50%. Pero si ambos se reducen al 50%, el nivel cae en un 75% (2, 3, 5, 12, 13).

La duración de la infección puede reducirse, sólo si se incrementa la velocidad a la cual las infecciones se eliminan. Desafortunadamente, existen sólo cuatro maneras de llevar esto a cabo. Estas son, descarte de la vaca, tratamiento durante la lactancia, tratamiento en el secado y la curación espontánea (en el que la vaca se cura por sí misma) (2, 3, 5, 12, 13).

Debido a que las investigaciones no han podido proporcionar ninguna manera efectiva para la curación espontánea, se debe enfocar en cortar la duración con el uso efectivo de antibióticos y otros terapéuticos en el tratamiento de ambas la mastitis, tanto de en forma clínica como subclínica. Las infecciones

pueden ser eliminadas por medio del descarte de vacas infectadas, pero hay límites económicos en el número de animales que pueden ser eliminados en un hato (2, 3, 5, 12, 13).

4.7 MÉTODOS DE CONTROL

Consiste en encontrar un programa específico para cada hato en particular. Sabiendo de antemano que existen diferencias entre las áreas y más aún, entre los diferentes países, los métodos de control de mastitis son básicamente los mismos. Hay dos métodos básicos para controlar la enfermedad:

- Manejo de la crisis.
- Manejo completo (2, 3, 10, 12).

4.7.1 Manejo de la crisis

Estos métodos abarcan una investigación de emergencia en la cual todos los factores de manejo del hato, medio ambiente, sistema de ordeño y procedimientos son analizados detalladamente por especialistas. En suma, las muestras de leche se recogen de las vacas y se cultivan en un laboratorio de diagnóstico. Esto hace que se confirme el punto de la infección, así como también los microorganismos causantes de la enfermedad. También provee información para el tratamiento o descarte de vacas específicas y ayuda a identificar los factores que causan las infecciones.

Este método es esencial cuando la acción inmediata es necesaria en hatos con un alto nivel de células somáticas en el total de la leche o de gran repetición de mastitis clínica. Es además poco práctico hacerlo en gran escala, porque requiere de un gran número de personal entrenado y gastos de laboratorio bastante altos; pero es un acercamiento costoso y tiene escasa oportunidad de ser usado en más de un hato al mismo tiempo. Además, aún usando el mejor

equipo del mercado, es a veces imposible señalar las razones precisas para los altos niveles de infección o mastitis clínica.

El uso primario de este método es en hatos con problemas serios de mastitis. Actualmente, el sistema de control no tiene como meta primordial la erradicación de un microorganismo en particular (12).

4.7.2 Manejo completo

El segundo y más práctico de los métodos busca la adopción de guías de manejo que sean aplicables a todos los hatos lecheros sin conocer cuáles son los microorganismos de mastitis específicos o cuáles son los cuartos infectados. Un objetivo primordial de este método es el de reducir el número de componentes en el programa de control, prácticamente al mínimo. Estos programas no deben ser dirigidos exclusivamente a los hatos con niveles altos de infección porque su mayor beneficio viene de la mayoría de los hatos que tienen un nivel de infecciones comunes (12).

Las investigaciones han demostrado que un programa basado en diagnóstico, tratamiento y descarte de la vaca, puede abarcar solamente una minoría de hatos, y debe así mismo, ser de valor limitado en la reducción del nivel general de infección dentro de muchos hatos. Como alternativa, se ha desarrollado un programa que reduce el crecimiento de nuevas infecciones y acorta la duración de las existentes. El éxito de este programa es bien conocido por los especialistas en mastitis en todo el mundo. Este comprende la aplicación consciente de unas pocas prácticas básicas que se pueden describir como “Plan completo para el control de la mastitis” (12).

4.7.3 Plan completo para el control de la mastitis

4.7.3.1 Buena higiene de ordeño

El primer objetivo para una buena higiene en el ordeño es tener unos pezones que estén limpios y secos. Debe usarse una mínima cantidad de agua o de solución higiénica para preparar los pezones y ubres para el ordeño. Los pezones deben de secarse enteramente, preferiblemente con una toalla desechable. Otra alternativa que ha ganado aceptación muy amplia es la práctica de un presellado, donde los pezones se sumergen en una solución yodada de presellado. Seguidamente al tiempo recomendado de sumersión, los pezones se secan para prevenir que los residuos de germicida contaminen la leche (2, 3, 4, 5, 12, 13).

4.7.3.2 Uso de sistemas de ordeño adecuados

Se deben hacer todos los esfuerzos para que los sistemas cumplan con las normas de funcionamiento que se pueden resumir en unos pocos, simples pero importantes puntos:

- Proveer un nivel de vacío estable de 11 pulgadas a 12 pulgadas de mercurio (275 milímetros a 300 milímetros o 37 a 41 kilopascales) en la unidad durante el flujo máximo de leche.
- Evitar los resbalamientos de las pezoneras durante el ordeño.
- Cortar el vacío antes de retirar las pezoneras (2, 3, 5, 5, 12, 13).

4.7.3.3 Sellado de los pezones después del ordeño

La transferencia de algunos microorganismos de la mastitis es inevitable durante el ordeño, aún bajo las mejores condiciones higiénicas. Para destruir los

microorganismos restantes en los pezones al final del ordeño, es necesario ejercer alguna forma de higiene post-ordeño. El procedimiento que más se usa es el de sumergir los pezones en un desinfectante poco después de que se retira la unidad de ordeño. La gran mayoría de productos en el mercado de los Estados Unidos de América reducen el incremento de la infección en más de un 50% cuando se usan selladores apropiadamente, junto con otros componentes del “Plan completo para el control de la mastitis”. Se recomienda que cada pezón se sumerja totalmente o se rocíe en su totalidad (2, 3, 5, 5, 12, 13).

4.7.3.4 Tratamiento de secado a todos los cuartos de la vacas

Se recomienda un tratamiento de secado para cada cuarto de la vaca con un producto formulado y comercialmente adquirible. El momento preciso para el tratamiento es al final del último ordeño de la lactancia (2, 3, 5, 5, 12, 13).

4.7.3.5 Tratamiento inmediato a casos clínicos

Básicamente, esto abarca la detección clínica de la mastitis tan pronto como sea posible, iniciando una terapia adecuada, dando una serie de tratamientos recomendados y manteniendo archivos de éstos.

4.7.3.6 Eliminación de las vacas con infección crónica

Las vacas que no responden favorablemente al tratamiento y continúan con manifestaciones repetidas de mastitis clínica deben ser descartadas. Su presencia en el hato puede hacer que se infecten otras vacas.

Los componentes individuales del “Plan completo de control de la mastitis” contribuyen a la reducción o prevalencia en el nivel de la mastitis, afectando bien

sea, la velocidad o la duración de la infección tal como se presenta en el cuadro No. 4.

Cuadro No. 4. Componentes de control y dinámica de la infección controlada

Componentes de control	Dinámica de la infección controlada
Higiene adecuada de ordeño	Disminuye la cantidad de mastitis
Buenas unidades de ordeño	Disminuye la cantidad de mastitis
Sellado de pezones	Disminuye la cantidad de mastitis
Tratamiento de Secado	Disminuye la duración de mastitis*
Tratamiento casos clínicos	Disminuye la duración de mastitis
Descartes	Disminuye la duración de la mastitis

*El tratamiento de secado tiene algún efecto en reducir la cantidad de infecciones, al disminuir los nuevos casos en el período seco (2, 3, 4, 5, 12, 13).

El “Plan completo de control de mastitis” no debe interpretarse como un indicativo de que otras prácticas de manejo no sean importantes. Por ejemplo, la higiene en el medio ambiente de la vaca debe ser de relevancia, sin importar si la vaca está dentro de un establo, corral, o en pastoreo. También son importantes otras numerosas consideraciones de manejo; incluyendo cosas como el período de secado, fuente de reemplazos del hato, dieta suplementaria y tensión (2, 3, 4, 5, 12, 13).

4.8 TRATAMIENTO DE LA MASTITIS

4.8.1 Recuperación espontánea

Cuando la vaca se cura por sí misma de una infección, se conoce como recuperación espontánea. Las investigaciones indican que esto sucede en cerca del 20% de las infecciones confirmadas. La mayoría de las recuperaciones espontáneas parecen suceder en aquellos cuartos con infecciones suaves o recientes, y sólo raramente en los casos de infecciones bien establecidas o crónicas. Es muy probable que inmediatamente después de que se establece una infección, tengan lugar unos cambios en el sistema inmunológico de la vaca para tratar de eliminar los microorganismos infecciosos. Por ejemplo, el número de células blancas así como su actividad antimicrobial se elevan, y con la ayuda de anticuerpos producidos en la ubre, tratan de sobreponer la infección. La recuperación espontánea se incrementa en las vacas vacunadas y es probable que la concentración elevada de anticuerpos en la leche sea responsable, en parte, por dichas curas (12).

Ya que el mecanismo de la recuperación espontánea no se ha entendido completamente, no se puede capitalizar al máximo este fenómeno (11).

4.8.2 Terapia de droga

Ya se ha mostrado que tanto la recuperación espontánea como el descarte, tienen limitaciones serias en cuanto a la eliminación de las infecciones. Esto deja a la terapia de droga como la alternativa principal para eliminar las infecciones existentes en el hato. Al eliminar infecciones es posible reducir el nivel de mastitis en meses en vez de años (2, 3, 4, 5, 12, 13).

Los medicamentos continúan siendo un papel importante en el control de la mastitis. No sólo son útiles en curar muchas vacas de sus infecciones, sino que pueden salvar la vida a algunas. Adicionalmente a estos beneficios ampliamente

reconocidos, los antibióticos pueden ser usados para prevenir infecciones, particularmente cuando se administran como terapia al secado (2, 3, 4, 5, 12, 13).

La principal preocupación de la mayoría de productores es cómo hacer el mejor uso de los antibióticos y otras drogas para el tratamiento de los casos clínicos. Dichos casos requieren atención pronta y adecuada, aunque cada caso debe ser considerado individualmente. Es importante identificar cualquier vaca tratada y que se le lleve su historia clínica, si se desea obtener algún progreso en el control de la mastitis y al mismo tiempo evitar los residuos de droga en la leche (2, 3, 4, 5, 12, 13).

4.8.3 Terapia de mastitis tóxica aguda

La mastitis tóxica aguda es más frecuentemente causada por bacterias coliformes, aunque otros microorganismos pueden producir casos severos. Cuando se presentan dichos casos, se debe llamar al médico veterinario de inmediato. Una terapia exitosa debe orientarse principalmente a los efectos de las endotoxinas que producen una depresión severa, deshidratación progresiva, dificultad en sostenerse, diarrea y otros síntomas que varían en cada caso. A continuación se presenta un resumen del tratamiento recomendado por un investigador de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Minesota:

- Ordeñar el cuarto afectado cada 2 a 3 horas. Se puede utilizar oxitocina para facilitar la evacuación de la leche y eliminar los elementos tóxicos e impurezas.
- Aplicar grandes volúmenes de soluciones balanceadas electrolíticas intravenosamente (los fluidos vía oral, no son absorbidos en dicho caso). De 20 litros en la primera a segunda hora y hasta 60 litros en un período de 12 horas. Si la vaca no se puede parar, administrar de 150 a 250 gramos de bicarbonato de sodio con los primeros 3 a 5 litros del electrolito. Esta terapia restaura los líquidos vitales del cuerpo, diluye las toxinas y contraataca la acidosis.

- Añadir 500 mililitros de glucosa al 50% a los primeros litros de electrolitos.
- Contraatacar la prostaglandina inflamatoria administrando intravenosamente 1.1 mg/kg de peso vivo (p.v.) de Flunixin meglumine.
- Administrar corticosteroides (bajo la dirección de un Médico Veterinario) en los casos tóxicos superagudos, pero debe ser enfatizado que dichas drogas no deben usarse nunca en otros casos de mastitis. Se prefiere sulfato de sodio dexametasona acuoso. Se recomienda una sola dosis que se puede repetir si es necesario para aliviar signos de choque endotóxico.

Dichas drogas restringen los mecanismos de defensa naturales de la vaca. El administrarlas a los animales durante los últimos tres meses de preñez, puede inducir a un parto prematuro, seguido de retención de placenta e infección del útero. Sin embargo ayuda a reducir las inflamaciones y el dolor; permiten la eliminación de las secreciones tóxicas y también promueven la mejor difusión de las infusiones intramamarias.

- Administrar antibióticos y sulfa intravenosamente (nunca IM en casos de choque tóxico). En los Estados Unidos de America dentro de las drogas que se pueden utilizar, se incluyen: Oxitetraciclina (11 mg/kg p.v.), ampicilina de sodio (11 mg/kg p.v.) o sulfonamidas (198 mg/ kg p.v. dosis inicial). La cefalosporina y ampicilina intramamaria pueden ser útiles también (12).

El Médico Veterinario al seleccionar la droga para el tratamiento de dichos casos, se basa en la experiencia previa con el hato, y en los signos clínicos y circunstancias del medio ambiente. La selección es más fácil si se han tomado muestras de todos los casos clínicos antes de iniciar la terapia, para realizar un cultivo de laboratorio e identificar el microorganismo. Se pueden hacer pruebas de resistencia a la droga con dichos microorganismos para ayudar a la decisión de tratamiento de terapia en casos futuros (12).

4.8.4 Terapia de mastitis subaguda

La mayoría de los casos de mastitis clínica caen en esta categoría. La intensidad del tratamiento es reducida, comparada con los casos de mastitis tóxica aguda. En realidad, una infusión intramamaria con un producto aprobado por la Oficina Federal de Alimentos de Estados Unidos de América (food and drug administration -FDA-) por un mínimo de 3 días, acompañada de un escurrido frecuente a mano para remover las secreciones, es generalmente suficiente. El tratamiento debe continuarse hasta por lo menos 24 horas después del desaparecimiento de los síntomas clínicos. De lo contrario, la infección puede suprimirse sólo hasta el nivel subclínico. Una verdadera cura, donde todos los microorganismos se eliminan del cuarto afectado, sucede sólo en el 10% al 50% de los casos. La velocidad de curación depende de cuánto tiempo ha estado presente la infección, de la edad de la vaca, del tipo de microorganismo y de otros factores (2, 3, 4, 5, 12, 13).

La falla del tratamiento puede deberse a lo tarde que se haya iniciado la aplicación de éste, a la mala selección de la droga o de los niveles de aplicación, a suspender el tratamiento muy temprano, a la resistencia de los organismos a la droga usada, a la presencia de infecciones profundas que están protegidas por un tejido cicatrizante y a las formaciones en "L", (Son colonias de células bacterianas carentes total o casi totalmente de pared celular con formas pleomórficas, irregulares y globulares, que se producen de forma espontánea en algunas especies bacterianas con presencia de antibiótico). Muchos consideran que el fracaso de los tratamientos se debe a la resistencia de los organismos al antibiótico, sin embargo las investigaciones y las experiencias clínicas de campo, han demostrado que el parar el tratamiento prematuramente junto con la presencia de infecciones profundas (tejidos cicatrizantes), son factores mucho más importantes (2, 3, 4, 12, 13).

4.8.5 Terapia de mastitis subclínica

Si se espera realizar una contribución importante hacia la reducción de los casos de mastitis, es necesario tratar las infecciones subclínicas tanto como las clínicas. Generalmente hay entre 15 y 40 casos subclínicos por cada clínico. Como regla, el tratamiento de una mastitis subclínica durante la lactancia, se recomienda sólo cuando el productor está en peligro de perder su mercado debido al alto porcentaje de vacas infectadas. El microorganismo que puede tratarse más rápidamente durante la lactancia es *Streptococcus agalactiae*. Los porcentajes de curación están generalmente en el rango del 90% a 95% (2, 3, 4, 5, 12, 13).

El tratamiento de otras infecciones subclínicas en la lactancia, tales como estreptococos ambientales y los diversos estafilococos, no son recomendadas porque el porcentaje de curación puede ser tan bajo como un 10% y raramente excede del 40% al 50%. Dichas infecciones son tratadas mejor en el secado. En realidad algunas vacas con infecciones crónicas, y con conteos de células somáticas altos, pueden no responder al tratamiento de secado y deben ser eliminadas del hato (2, 3, 4, 5, 12, 13).

4.8.6 Terapia de secado

El tratar todos los cuartos de todas las vacas en el secado es uno de los componentes más importantes del “Plan completo del control de la mastitis”. Es el tiempo preferido para tratar las infecciones subclínicas. Las ventajas de realizar el tratamiento de secado incluyen:

- El porcentaje de curación es más alto que cuando se trata durante la lactancia.
- Se pueden utilizar en forma segura, dosis más concentradas y de acción prolongada.
- Se reducen las incidencias de nuevas infecciones durante el período seco.

- Los daños en el tejido se recuperan antes del parto.
- Se reduce la mastitis clínica después del parto.
- No hay residuos de droga en la leche.

Un tratamiento de secado se mejora con el uso de productos de liberación lenta que mantienen el nivel de antibióticos por un largo período de tiempo en la ubre seca. Los productos diseñados para los animales en lactancia no deben ser empleados para tratar las vacas en el secado y tampoco se deben utilizar productos para vacas secas en el tratamiento de los animales lactando (2, 3, 4, 5, 12, 13).

El tratamiento de todos los cuartos de todas las vacas tiene la ventaja de llegar a todos los cuartos infectados, siendo más efectivo que el tratamiento selectivo, en prevenir las nuevas infecciones en el período seco y no requieren de procedimientos de laboratorio o selección (2, 3, 4, 5, 12, 13).

Las vacas pueden secarse con éxito, bien sea interrumpiendo abruptamente el ordeño u ordeñando una sola vez al día durante varios días. El procedimiento puede acelerarse al reducir la energía en el alimento justamente antes e inmediatamente después del cese de los ordeños (2, 3, 4).

Varios investigadores han tratado de mejorar el porcentaje de curación al administrar un segundo tratamiento a las 2 ó 3 semanas del secado. El tratamiento adicional no resulta en una mejoría por lo que no es recomendado. Aún más, la punta del pezón de una vaca seca es muy difícil, si no imposible de desinfectar adecuadamente y una infusión intramamaria puede resultar en la introducción forzada de microorganismos por el canal del pezón. Por lo tanto, el procedimiento tiene el potencial de hacer más daño que beneficio (2, 3, 4, 5, 12, 13).

4.8.7 Tratamientos intramamarios

Los procedimientos para administrar el tratamiento a las vacas son críticos para obtener los resultados deseados. Lo más importante es que la punta del pezón debe desinfectarse antes de la infusión para minimizar el número de bacterias presentes en el orificio del pezón que pueden ser llevadas con la cánula al canal. Para obtener esto, el pezón debe ser frotado vigorosamente con una gasa con alcohol al 70%, generalmente ofrecida con los tubos de la mastitis o con algodón empapado en alcohol al 70%. La punta del pezón se debe limpiar hasta que el elemento que se esté usando para desinfección (gasa o algodón) aparezca limpio después de la última frotada ((2, 3, 4, 5, 12, 13).

El método de infusión de la droga puede causar mastitis inadvertidamente al introducir microorganismos por el canal del pezón. La inserción completa de la jeringa convencional de tratamiento de mastitis puede resultar en una dilatación temporal del músculo esfínter y el tapón de queratina que normalmente sella el canal, se pierde algunas veces, permitiendo la entrada de los microorganismos. La queratina puede ser forzada contra la pared interior del pezón por la cánula, creando una apertura mayor de la normal. La jeringa puede también empujar microorganismos colonizados en la cisterna del pezón e inducir infecciones.

Cuando la cánula se inserta por el orificio "desinfectado" (proceso que no elimina el 100% de la bacterias) los microorganismos sobrevivientes pueden ser llevados junto con ésta y entrar a la cisterna. Si los microorganismos que ganan el acceso a la cisterna por estas rutas son resistentes o inaccesibles a la droga inyectada, se puede producir una nueva infección. Los estudios diseñados para comparar la inserción completa y la parcial de sólo 2 milímetros a 3 milímetros de la punta de la cánula, han demostrado que la mastitis al momento del parto se reduce marcadamente al emplear la inserción parcial (2, 3, 4, 5, 12, 13).

Debido al éxito de la técnica de inserción parcial, los laboratorios farmacéuticos han desarrollado nuevas jeringas para ayudar a insertar sólo la punta de la cánula en el pezón. Básicamente las nuevas jeringas para el tratamiento de la mastitis han sido diseñadas para formar un sello con el canal del pezón y ofrecer soporte durante la infusión. El uso de la inserción parcial es opcional ya que se puede remover el accesorio y permitir la inserción total. El uso de estos nuevos tubos en el secado han dado como resultado un 50% de reducción de nuevas infecciones causadas por los principales microorganismos causantes de la mastitis en la época de parto (2, 3, 4, 5, 12, 13).

4.8.8 Nuevas estrategias de tratamiento

El propósito de la terapia intramamaria es ayudar a las defensas naturales de la vaca a eliminar los microorganismos invasores. Sin embargo, la mayoría de las preparaciones han sido diseñadas con poca o ninguna atención a los mecanismos de defensa naturales de la ubre y a cómo éstos influyen en la efectividad de la terapia de antibióticos. Por lo tanto, se necesitan nuevas estrategias de tratamiento para mejorar el porcentaje de curación para los casos existente de mastitis y para reducir las nuevas incidencias (12, 14, 16).

La mastitis resulta después que los microorganismos penetran la queratina del canal, se sobreponen a las defensas de la leche y se multiplican en la ubre. La interacción de las bacterias con las células somáticas influye enormemente el establecimiento de la infección. Dichas células reaccionan envolviendo los microorganismos y eliminándolos, pero también influyen en la efectividad de la terapia antibiótica intramamaria. Los microorganismos pueden sobrevivir dentro de las células blancas después de haber sido absorbidos, produciendo infecciones recurrentes después de la subsecuente liberación de dichas células (12, 14, 16).

Así como las células somáticas pueden influir en el éxito de la terapia intramamaria, a su vez también pueden ser influenciadas por los antibióticos. Estos funcionan destruyendo el proceso de mantenimiento de la vida de las células bacterianas; sin embargo, algunos antibióticos afectan de igual manera a las células somáticas. Por lo tanto, además de considerar la susceptibilidad al antibiótico de la bacteria infecciosa y qué tan bien un medicamento en particular puede penetrar el tejido infectado, es importante tener en cuenta el efecto que el antibiótico pueda tener sobre el sistema defensivo de la ubre, especialmente sobre la habilidad de las células somáticas de destruir microorganismos. Sólo se deben emplear antibióticos aprobados para la terapia intramamaria (12, 14, 16).

Para una terapia intramamaria efectiva es necesario que el antibiótico alcance los sitios de la infección y que permanezca a unos niveles adecuados por el tiempo necesario para eliminar o inhibir el crecimiento de todos los microorganismos infecciosos. Las infecciones son frecuentemente resistentes a la terapia intramamaria, debido a la inaccesibilidad a los microorganismos producida por los tejidos cicatrizados, por las inflamaciones y por el bloqueo de los conductos de la leche. Por lo tanto, el método terapéutico más efectivo para el tratamiento de las infecciones puede ser la administración sistemática combinada con la infusión intramamaria. La falta de éxito en curar las infecciones crónicas intramamarias, particularmente aquellas causadas por *Staphylococcus aureus*, ha llamado a una reevaluación de las estrategias de tratamiento.

A pesar de la disponibilidad de varios antibióticos contra el *Staphylococcus aureus* con una buena actividad en el laboratorio, los porcentajes de curación tanto en las vacas en lactación como en tratamiento de secado son pobres. Este poco éxito sugiere que la concentración adecuada de antibiótico activo no está entrando en contacto con los microorganismos infecciosos durante el tiempo suficiente para ser efectivo. La terapia sistémica ofrece otra ruta al antibiótico para que alcance las áreas infectadas del tejido profundo ya que los antibióticos pueden pasar de la sangre al tejido mamario y a las células somáticas. También la terapia

sistémica si se emplea sola, no implica riesgo de infección con microorganismos inducidos por el canal durante la infusión (12, 14, 16).

La combinación de inyecciones intramusculares junto con las infusiones intramamarias han producido concentraciones más altas de antibióticos en el tejido y una curación mayor (12, 14, 16).

4.8.9 Terapia de apoyo

No hay sustituto a un buen cuidado para la recuperación de una mastitis clínica. El proveer agua fresca para tomar, heno de buena calidad y un ambiente confortable y protegido es importante. También el vaciado frecuente del cuarto infectado ayuda a remover las sustancias tóxicas que resultan de la infección. El uso de la hormona de la bajada de la leche, la oxitocina, facilita la completa remoción de la leche, impurezas y toxinas. En los casos donde se desarrolla gangrena, puede ser necesario el remover quirúrgicamente el pezón por parte de un médico veterinario, para ayudar al drenaje del material tóxico y aumentar las posibilidades de salvar a la vaca (12).

4.8.10 Respuesta celular después de la terapia

El tiempo para la disminución sustancial del nivel de células somáticas después de un tratamiento efectivo (la eliminación de todos los microorganismos de un cuarto previamente infectado), depende de la cantidad de daño causado por la infección al tejido. El rango varía de pocos días con algunos estreptococos a pocos meses con algunos estafilococos (12).

4.8.11 Drogas disponibles para el tratamiento de mastitis

Existen varios antimicrobianos aprobados por la FDA para el uso intramamario en ganado de leche. Los productos contienen uno o más de los siguientes antibióticos: amoxicilina, ampicilina, cefapirina de sodio, cloxacilina, deshidrostreptomina, eritromicina novobiocina y penicilina procaína G. También hay preparaciones para uso intramuscular o intravenoso no marcadas para uso intramamario. Estas contienen deshidrostreptomina, penicilina procaína G y ciertas drogas de sulfa (1, 13).

4.8.12 Residuos antimicrobianos

La FDA ha expresado una fuerte desaprobación a la presencia de residuos ilegales de drogas en la leche o en la carne de vacas descartadas. La leche es cuidadosamente monitoreada debido a que es universalmente producida y ampliamente utilizada en una variedad de productos alimenticios. Se debe realizar todo el esfuerzo necesario para asegurar que la leche, sus derivados y la carne, estén libres de residuos de droga (1, 3, 5, 12).

Hay una buena razón para preocuparse, ya que los humanos son muy sensibles a ciertas drogas, más aún, se teme que la presencia de drogas en los alimentos produzca una resistencia a la terapia de drogas en las personas (1, 3, 5, 12).

La mayoría de los productores son muy conscientes acerca de tomar todas las precauciones posibles para evitar los residuos de droga, especialmente en vacas tratadas por mastitis. Debe recordarse sin embargo, que las inyecciones intramusculares, los bolos uterinos, y los antibióticos en alimentos pueden producir residuos en la leche. Esto se complica más con el hecho de que los tiempos con

residuos son generalmente más largos para dichos productos, que para las infusiones intramamarias (1, 3, 5, 12).

Para evitar los residuos detectables en la leche, es imperativo que las instrucciones en la etiqueta se sigan al pie de la letra. Se debe prestar especial atención a las dosis, vías de administración y tiempo de espera. En los casos en que el médico veterinario administra el tratamiento, es importante obtener información por escrito de la droga utilizada y del tiempo de espera para vender la leche (2, 3, 5, 12).

Se debe mantener una historia escrita de todas las vacas tratadas. Esta información puede ser útil en la toma de decisiones de eliminación de las vacas problema con mastitis crónica. Más aún, es deseable tener una persona designada para el manejo de los antibióticos y el tratamiento de las vacas (2, 3, 5, 12).

Otra manera de reducir el riesgo de residuos de droga es reducir el nivel de mastitis y otras infecciones en el hato a un nivel mínimo práctico. Esto reduce la necesidad de utilizar drogas. Los lecheros también deben considerar obtener los materiales necesarios para realizar las pruebas de residuos de droga en su propia granja (2, 3, 5, 12).

Es importante que los animales tratados no sean vendidos para ser sacrificados, hasta que el tiempo de espera para la eliminación de residuos en la carne haya pasado (2, 3, 5, 12).

4.8.13 Prueba de resistencia antibiótica

Si los porcentajes de curación parecen particularmente bajos en los tratamientos de mastitis clínica y subclínica, es posible que el microorganismo causante de la infección, sea resistente a los antibióticos que se emplean. Por ejemplo, el *Staphylococcus aureus* es generalmente resistente a la penicilina y se debe considerar otro antibiótico. En dichos casos se aconseja recoger muestras

de leche de los cuartos infectados o del tanque de leche para un cultivo. En el laboratorio se aíslan los microorganismos específicos de las muestras y los prueban contra un espectro de antibióticos o de otras drogas para determinar a cuál o a cuáles son resistentes o susceptibles.

La técnica más común utilizada es la prueba de Agar en Placa, desarrollado por Kirby Bauer el cual consiste en que en la superficie de una placa de agar Müller-Hinton (medio de cultivo enriquecido, diseñado especialmente para hacer ensayos de sensibilidad) se inocula una cantidad estandarizada de bacterias, sembrándolas en forma pareja para obtener después de la inoculación un "césped" bacteriano. A continuación se colocan discos de papel filtro, impregnados con concentraciones conocidas de los diferentes antibióticos. El antibiótico difundirá desde el papel filtro al agar en forma radial. Se incuba la placa por 18 horas a 37°C, luego se miden los halos de inhibición de desarrollo y se interpretan. Los resultados se expresan como: *Sensible* (S), *Intermedio* o *Moderadamente sensible* (I) y *Resistente* (R).

Es importante recordar que los microorganismos susceptibles a un antibiótico en el laboratorio pueden resistir la droga en la ubre por las siguientes razones:

- La bacteria puede estar protegida del antibiótico por el proceso inflamatorio.
- La concentración de antibiótico en el sitio de la bacteria puede ser muy bajo o muy transitorio.
- La acidez de la secreción mamaria puede ser tal, que hace que el antibiótico no trabaje.
- El antibiótico puede estar ligado a las proteínas presentes en el cuarto afectado.
- El antibiótico puede degradarse rápidamente.
- El antibiótico puede estar combinado con otra droga y haber perdido su efectividad.

- El crecimiento bacterial puede haber disminuido por las condiciones de las secreciones y el antibiótico puede que requiera un rápido crecimiento bacteriano para ser efectivo.
- Ciertos elementos, tales como las concentraciones fisiológicas de calcio, pueden antagonizar la actividad de algunos antibióticos.

Los microorganismos que aparecen como resistentes en el laboratorio, pueden asumirse como que no responden al tratamiento con antibiótico. Es importante que el término "prueba de resistencia antibiótica" sea usado, en lugar de "prueba de susceptibilidad antibiótica", porque la resistencia es predecible en forma más precisa que la susceptibilidad en esta prueba (2, 10, 12).

4.8.14 Descarte

El descarte (eliminación) algunas veces es el único medio práctico de eliminar las infecciones crónicas del hato. Se debe considerar eliminar del hato aquellas vacas repetitivas que son un problema constante y cuya presencia continua en el hato constituye una reserva de microorganismos, que al final de cuentas, pueden diseminarse a las vacas sanas (2, 3, 4, 5, 12, 13).

4.9 INMUNOMODULACIÓN

Inmunomodulación es la acción fisiológica o farmacológica sobre el sistema inmune que tiene como resultado la optimización de su acción defensiva ante agresiones externas.

Las sustancias inmunomoduladoras tienen la capacidad de modular la respuesta inmune por un proceso de estimulación o supresión de ésta; dentro de las cuales, a los inmunopotenciadores se les atribuyen funciones importantes en

las inmunodeficiencias de algunos tipos de infecciones virales y bacterianas, y en especial, en el tratamiento del cáncer cuando las radiaciones y los medicamentos anticancerosos rompen el equilibrio del sistema inmune (9).

Entre los usos mencionados se une la posibilidad de potenciar la inmunogenicidad de vacunas con antígenos sintéticos, incluidos dentro de las vacunas de nueva generación, así como para la inmunización experimental en la obtención de antisueros policlonales y anticuerpos monoclonales. En este último caso a los inmunopotenciadores se les denomina adyuvantes inmunológicos. Es por ello que dentro de la Inmunología Experimental se incluyen las investigaciones hacia la búsqueda y evaluación de nuevas sustancias con actividad inmunomoduladora y con mayor fuerza hacia la inmunopotenciación, o sea, hacia la estimulación de la respuesta inmune (9).

Los inmunomoduladores actúan a diferentes niveles del sistema inmune, por la necesidad de desarrollar agentes que puedan inhibir o intensificar selectivamente poblaciones o subpoblaciones de células para la respuesta inmune como: linfocitos, macrófagos, neutrófilos asesinos (NK por sus siglas en ingles), citotóxicas (CTL), o la producción de mediadores solubles como las citoquinas.

Los inmunomoduladores en sus mecanismos de acción pueden actuar de forma específica o inespecífica (9).

4.9.1 Inmunomoduladores de acción inespecífica

Son agentes que logran una estimulación o supresión de la respuesta inmune sin que la actividad de las células estimuladas vaya dirigida hacia un antígeno determinado. Se diferencian en 3 tipos según su acción, los que actúan sobre el sistema inmune normal (Tipo I), los que actúan sobre el sistema inmune

inmunodeprimido (Tipo II) y los que actúan sobre el sistema inmune funcionalmente normal e inmunodeprimido (Tipo III) (9).

4.9.2 Inmunomoduladores de acción específica

Logran su acción sobre células del sistema inmune, por la presencia de antígeno o inmunógeno dado, por lo que hay especificidad selectiva en la acción de estas células para producir una respuesta inmune. La inmunomodulación es selectiva cuando hay estimulación y su resultado significa una inmunorreacción hacia un antígeno o varios, como es el caso de los adyuvantes inmunológicos o las vacunas terapéuticas (9).

4.9.3 Tipos de inmunomoduladores y acción terapéutica

Bacilo Calmette Guering (BCG): Es una vacuna liofilizada de bacilos vivos, no patógenos, procedentes de una cepa de *Mycobacterium bovis* atenuada por primera vez por Calmette-Guerin. Posee acción específica e inespecífica, activa macrófagos, células T y la producción de interleuquina 2 (IL-2). Se aplica en la vacuna terapéutica contra el cáncer de vejiga, ovario, colon, y melanomas.

Levamisol: es el levo-isomero activo del tetramisol. Se emplea como antihelmíntico y como adyuvante en algunos tipos de cáncer, actúa de forma inespecífica, es capaz de restaurar la respuesta inmune humoral y celular. Se aplica fundamentalmente en inmunodeficiencias producidas por helmintos y protozoos.

Dipéptido murámico (MDP): su modo de acción puede ser específico e inespecífico. Estimula la respuesta inmune humoral y celular, con acción antitumoral, es utilizado en tratamientos del cáncer e infecciones bacterianas (9).

Glucanos (hongos) y polisacáridos de algas: los glucanos son estructuras amorfas de la pared celular de los hongos que contienen los principales antígenos de la pared, su acción puede ser inespecífica y específica. Estimula la respuesta inmune humoral y celular, y células del sistema retículo endotelial. Los polisacáridos de algas se han ensayado en aplicaciones para la terapia tumoral en oncogénesis virales y metástasis.

Hormonas tímicas, timosina y timopoyetina: su acción es inespecífica, permiten la diferenciación y maduración de linfocitos T y estimulan la inmunidad celular. Son efectivas en la terapia de inmunodeficiencias de células T.

Proteínas del complemento (globulinas): son capaces de actuar por vía inespecífica y específica. Fundamentalmente activan la respuesta humoral. Se usan en la terapia de hipogammaglobulinemias y anemias.

Citoquinas: interleuquina 1(IL-1), interferón gamma (INF g), interleuquina 2 (IL-2), interleuquina 5 (IL-5), factor de necrosis tumoral alfa (FNTa), interleuquina 18 (IL-18), factor de transferencia, y factor de crecimiento y diferenciación granulocito – macrófago (GM-CSF), Interleuquina 12 (IL-12): éstos actúan de forma inespecífica en sentido general, pero muchas pueden actuar de forma específica. Capaces de regular y activar la respuesta inmune humoral y celular. Son utilizadas en la terapia de inmunodeficiencias, cáncer, hepatitis y en la recuperación hematopoyética (9).

Lectinas, concavalina A y fitohemaglutininas (PHA): su acción es inespecífica con efectos mitógenos en linfocitos, por lo que son utilizados para la activación de estas células en ensayos de proliferación.

Lipopolisacárido bacteriano (LPS): pueden actuar por vía inespecífica y específica, son activadores de linfocitos, macrófagos y TNFa. Se han ensayado en la terapia experimental de inmunodeficiencias.

Lectina (Mistetloe) de origen vegetal: su modo de acción es inespecífico, siendo capaz de activar las células *natural killer* (NK), macrófagos, PMN, FNT, INFg, IL-1 e 1L-6. Se han realizado ensayos para la terapia del cáncer (9).

4.10 CARACTERÍSTICAS DEL INMUNO ESTIMULANTE

El *Propionibacterium granulosum* (PBG) proceden de una cepa ATCC de crecimiento lento, especialmente seleccionada por sus propiedades inmunomoduladoras. Las células son inactivadas por calor sin que se vea afectada su integridad física, por lo que se mantiene la estructura antigénica, de la membrana de la bacteria (9).

El otro componente biológico activo es el lipopolisacárido (LPS), procede de una cepa apatógena de *E. coli*. Se trata de una cepa que presenta un LPS de cadena muy corta. Esta circunstancia permite asegurar una óptima actividad bioestimulante del sistema inmune evitando los efectos indeseables que habitualmente se atribuyen a los LPS de microorganismos gram negativos (9).

4.10.1 Composición del inmuno estimulante a utilizar

Células inactivadas de <i>Propionibacterium granulosum</i>	25 mg
Lipopolisacárido de <i>Escherichia coli</i>	2 mg
Agua destilada p.i. c.s.p.....	100 ml

4.10.2 Mecanismo de acción

Tanto el LPS como el PBG son detectados por las células inmunitarias desde el mismo momento de su entrada en el organismo. Los mecanismos de reconocimiento son todavía bastante desconocidos, pero se sabe que algunas células tienen receptores de membrana específicos para el LPS o la LBP (Lipopolysaccharide binding protein: proteína sérica que se une al LPS) en monocitos, el marcador CD14, en células B (9).

A continuación algunas de las características de los LPS y PBG en el sistema inmunológico:

- Estimula las defensas propias del animal, eficaces contra la mayoría de agentes infecciosos.
- Mejora la respuesta a vacunaciones y a tratamientos antiinfecciosos.
- Metaboliza rápidamente por ser un producto biológico (No hay residuos).
- No crea tolerancia. Mantiene su efecto en administraciones sucesivas.
- Efecto inmediato y duradero (9).

4.10.3 Terapia convencional

La terapia convencional proporciona varios beneficios con respecto a la terapia con antibióticos, algunos de estos son los siguientes:

- Desarrollo restringido de nuevos fármacos.
- Aparición de resistencias.
- Gran variabilidad de serotipos y cepas en los agentes patógenos.
- Dificultades diagnósticas (respuesta subóptima).
- Regulaciones referentes a residuos:

- En los animales.
- En el medio ambiente.
- En los humanos.

4.10.4 Refuerzo del sistema inmune

- Activa macrófagos.
- Induce la proliferación y activación de linfocitos.
- Eleva los niveles del Interferón.
- Estimula y equilibra la secreción de citocinas
- Activa el complemento y el sistema properdina.
- Estimula la proliferación de linfocitos B y su diferenciación en células plasmáticas productoras de anticuerpos.
- Induce la formación de precursores de macrófagos, neutrófilos y linfocitos en médula ósea.
- Regula la actuación coordinada de todos los mecanismos celulares de defensa.
- Acelera la maduración del sistema inmune en animales jóvenes.
- Estimula la producción de IgA en membranas mucosas.

En el caso del *Propionibacterium granulosum*, se cree que el proceso "en cascada" de activación de las células inmunitarias se inicia con la detección de las células PBG por parte de los monocitos/macrófagos. Este hecho induce la secreción del patrón de citocinas propio de estas células, con el efecto ya conocido sobre las poblaciones de fagocitos y de linfocitos (9).

Todo ello fue demostrado en una primera fase evaluando "in vitro" el efecto de LPS y el PBG sobre linfocitos y macrófagos, midiendo el incremento en el nivel de citocinas liberadas y en la expresión de diversos receptores de membrana (prueba de una mayor sensibilidad a estímulos antigénicos) (9).

4.10.5 Activación celular

En ambos casos, la primera consecuencia de la administración de LPS y el PBG es la activación de la primera línea de defensa celular (fagocitos y macrófagos) que impide en gran medida la instauración de agentes infecciosos y en caso que éstos ya se encuentren en el organismo, detienen su expansión y el desarrollo de procesos patológicos.

Esta protección no se limita al punto de entrada de los agentes infecciosos, ya que como se ha descrito anteriormente, las células responsables de la inmunidad inespecífica se encargan de transmitir información a la totalidad del sistema inmune. La inmunomodulación mantiene el nivel de citocinas adecuado para la proliferación de los tipos celulares convenientes según la estrategia defensiva que se requiera en cada caso, de este modo se garantiza el flujo de información entre células y el desarrollo de una respuesta inmune eficaz (9).

Los linfocitos B y T que proliferan en médula ósea y órganos linfoides primarios se dirigen al bazo, ganglios linfáticos y mucosas, multiplicando el potencial de respuesta del organismo. El incremento de peso de los órganos linfoides que se detecta tras el tratamiento con LPS y el PBG ilustra claramente el alcance de esta linfoproliferación (9).

4.10.6 LPS y PBG en la respuesta específica

Como efecto beneficioso a destacar, en algunos casos se detecta un incremento en la producción de anticuerpos frente a diferentes agentes infecciosos. Este efecto se sustenta en la capacidad activadora policlonal del LPS, que capacita a diferentes clones de células B para producir anticuerpos. Si bien la inmunomodulación garantiza un óptimo funcionamiento de los mecanismos de detección y presentación de antígenos y una adecuada proliferación y activación

linfocitaria por liberación de citocinas, se genera el entorno propicio para que la inmunidad específica se desarrolle satisfactoriamente.

La administración de LPS y PBG no interfiere con los programas de vacunación habituales. En todo caso, LPS y PBG es el mejor complemento a la vacunación, ya que prepara al sistema inmune del animal para poder responder de forma óptima a todo estímulo antigénico. Además, su acción inmunomoduladora se inicia en el mismo momento de la administración y se mantiene durante varios días, cubriendo las necesidades defensivas del animal hasta el pleno desarrollo de la inmunidad vacunal (9).

4.10.7 LPS y PBG : activación de macrófagos

Sustancias biológicas activas producidas por macrófagos cuya secreción es estimulada por LPS y PBG.

4.10.7.1 Enzimas hidrolíticas:

- Hidrolasas lisosomales
- Colagenasa
- Elastasa
- Activador del plasminógeno

4.10.7.2 Estimulantes celulares

- Factores estimuladores de colonias (CSF)
- Interferón
- Interleucina -1 (o factor activador de linfocitos: LAF)
- Factor de necrosis tumoral (TNF)
- Factor antagonista de glucocorticoides (GAF)

4.10.7.3 Metabolitos del oxígeno

- Anión superóxido (9).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 MATERIALES

5.1.1 Recursos humanos

- Estudiante investigador
- Asesores
- Personal técnico de la finca
- Personal de laboratorio

5.1.2 Recursos biológicos

- Vacas con mastitis clínica
- Inmunoestimulante
- Antibiótico

5.1.3 Recursos de campo

- Reactivo CMT
- Paletas para CMT
- Jeringas de 10 ml
- Infusiones intramamarias
- Fichas de recopilación de datos
- Fichas de registro
- Vehículo
- Filipina
- Botas de hule
- Computadora
- Impresora
- Hojas de reporte

- Lápiz
- Gasolina

5.1.4 Recursos de laboratorio

- Frascos para la recopilación de muestras
- Cajas de petri
- Medios de cultivo
- Incubadoras
- Microscopio

5.2 METODOLOGÍA

5.2.1 Descripción del área de estudio

La finca que se utilizó para el presente estudio fue la Finca Santo Tomás Perdido, que se encuentra en el municipio de San Lucas Tolimán, Departamento de Sololá, a una distancia de 142 km de la ciudad capital. Corresponde a un área de vida de bosque subtropical cálido, con una altura de 1,300 msnm, consta con una precipitación pluvial anual de 2,000 mm promedio y los meses lluviosos van de mayo a octubre. En lo que se refiere a la temperatura la mínima es de 15°C y las máximas oscilan entre 25°C y 29°C. En la época de verano el clima es húmedo, con poca lluvia, pero la gran parte de humedad relativa se condensa en la niebla durante todo el año. Son suelos de la altiplanicie central que contienen gran cantidad de material volcánico. En lo que se refiere a los relieves van de inclinados a escarpados; el suelo consta de un buen drenaje y éste es de color café oscuro, franco arenoso y friable.

5.2.2 Descripción del experimento

En este estudio se evaluaron 20 vacas con presencia de mastitis clínica, las cuales se dividieron en dos grupos: grupo experimental y grupo testigo, cada uno con 10 vacas.

Al grupo “A” o grupo experimental; se les administró vía intramuscular 10 ml de inmunoestimulante (extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli*), más el tratamiento antibiótico que se usa de acuerdo el protocolo médico de la finca y según antibiograma.

Al grupo “B” o grupo testigo; solo se le administró antibiótico de acuerdo el protocolo médico de la finca y según antibiograma.

En ambos grupos se evaluó la tasa de curación y el tiempo de convalecencia por medio de la prueba de California Mastitis Test (CMT) y la recuperación de la producción que tenían antes del proceso de mastitis.

El análisis económico se evaluó con base en la tasa marginal de retorno.

5.2.3 Análisis estadístico

Variables que se analizaron:

- Tasa de recuperación (porcentaje)
- Días para recuperación

Para la variable tasa de recuperación se utilizó diferencia de proporciones, para los días de recuperación se utilizó una prueba de *T de Student* para dos poblaciones independientes y estadística descriptiva (promedio, moda, variación estándar y coeficiente de variación), y para la variable costo beneficio se utilizó la tasa marginal de retorno.

Se elaboraron tablas y gráficas.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el presente estudio se evaluaron 20 vacas lecheras (*Bos taurus*) las cuales presentaron mastitis clínica, estas fueron divididas en dos grupos: grupo “A” tratado con antibiótico más 10 ml del inmuno estimulante utilizado en el estudio y grupo “B” solo tratamiento antibiótico.

Para el grupo “A” los principales microorganismos aislados fueron *Escherichia coli* (80%) y *Streptococcus spp.* (20%). El promedio en días para la recuperación clínica fue de 8.6 ± 2.11 días, coeficiente de variación de 24.64% y moda de 7. El promedio para la recuperación de la producción fue 6.6 ± 1.17 días, coeficiente de variación de 17.17% y moda de 6 días (cuadro No. 1 y No. 3).

Para el grupo “B”, los principales microorganismos aislados fueron *Escherichia coli* (70%), *Streptococcus spp.* (20%) y *Staphylococcus spp.* (10%). El promedio en días para la recuperación clínica fue de 13.6 ± 4.03 días, coeficiente de variación de 29.65% y moda de 14. El promedio para la recuperación de la producción fue 12.2 ± 2.39 días, coeficiente de variación de 19.62% y moda de 15 días (cuadro No. 2 y No. 4).

Para la variable días de recuperación clínica se encontró una diferencia estadística altamente significativa ($P < 0.0027$) entre los animales tratados con antibiótico más inmuno estimulante y los tratados únicamente con antibiótico (8.6 días versus 13.6 días).

Para la variable días de la recuperación de la producción se encontró una diferencia estadística altamente significativa ($P < 0.00003$) entre los animales tratados con antibiótico más inmuno estimulante y los tratados únicamente con antibiótico (6.6 días versus 12.2 días).

El inmuno estimulante a base de extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli* sí estimulan la respuesta inmunitaria en bovinos disminuyendo así los días de recuperación clínica y reducen los días para la recuperación de la producción; favoreciendo a su vez la reincorporación de los animales mucho antes a la sala de producción.

En el análisis de tasa marginal de retorno se obtuvo un 54.54% a favor del tratamiento con inmuno estimulante, por lo que constituye una alternativa terapéutica con buenas ventajas biológicas y económicas.

VII. CONCLUSIONES

1. En las vacas tratadas con antibiótico más la aplicación del inmuno estimulante utilizado, en la variable tasa de recuperación en días se encontró una diferencia significativa más corta (8.6 versus 13.6 días) ($P<0.0027$).
2. En las vacas tratadas con antibiótico e inmuno estimulante la recuperación de la producción fue significativamente más corta (6.6 versus 12.2 días) ($P<0.00003$).
3. La tasa marginal de retorno fue de 54.54% a favor de las tratadas con inmuno estimulante.
4. El uso de inmuno estimulante junto con tratamiento antibiótico disminuye el tiempo de tratamiento, por lo tanto favorece a la incorporación más rápido de las vacas al sistema de producción.
5. Este tratamiento es una alternativa para la mejora del bienestar animal y un buen retorno económico.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Fomentar el uso del inmuno estimulante (extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli*) junto con tratamiento antibiótico para el tratamiento de mastitis clínica.
2. Realizar estudios de tratamiento con el inmuno estimulante (extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli*) para tratamiento de mastitis sub clínica y otras enfermedades tanto en bovinos como en otras especies animales.
3. Realizar estudios con otro tipo de inmuno estimulantes para el tratamiento de mastitis clínica y sub clínica y otras enfermedades de los bovinos.
4. Para los casos de enfermedades que afecten gravemente el estado general de los animales, se recomienda combinar el tratamiento antibiótico y la aplicación del inmuno estimulante (extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli*).

IX. RESUMEN

Para el presente estudio se evaluaron 20 vacas con mastitis clínica, se dividieron en dos grupos: grupo “A” (Experimental) grupo “B” (testigo). Al grupo “A” se les administró además de tratamiento antibiótico 10 ml del inmuno estimulante (extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli*) como única dosis y al grupo experimental solo se le administró antibiótico.

Para el grupo “A” los gérmenes aislados fueron *Escherichia coli* 80% y *Streptococcus spp.* 20%. Para el grupo “B” los gérmenes aislados fueron *Escherichia coli* 70%, *Streptococcus spp.* 20% y *Staphylococcus sp.* 10%.

Para la variable de recuperación clínica se obtuvo un promedio de 8.6 días para el grupo “A” y para el grupo “B” 13.6 días. Se encontró una diferencia altamente significativa ($P < 0.0027$). Para la variable recuperación de la producción se obtuvo un promedio de 6.6 días para el grupo “A” y para el grupo “B” 12.2 días. Se encontró una diferencia altamente significativa ($P < 0.00003$).

El análisis económico de la tasa marginal de retorno fue de 54.54% a favor del grupo A.

Este tratamiento es una alternativa para la mejora del bienestar animal y un buen retorno económico.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Apley, M. 2005. Food and Drug Administration: Antimicrobial use in cattle (en línea). Iowa, USA. Consultado 28 ene. 2007. disponible en <http://www.fda.gov/cvm/4131.htm>
2. Bood, DC; Radostits, OM. 1994, Medicina Veterinaria. Trad. I Begara Morillas. 7ed. México, DF., Interamericana-McGraw-Hill. p 539-591.
3. Blowey, R; Edmanson, P. 1995. Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche. Trad. M Ramis Vergés. Zaragoza, ES, Acribia. 208 p.
4. Cetrino, V. 2003. Diagnóstico de mastitis (en línea). Bogotá, CL. Consultado 15 ene. 2007. Disponible en <http://lmvtda.com/progrmas/ar16.html#top>
5. El manual merck de veterinaria. 2000. 5ed. Barcelona, ES, Océano. 2558 p.
6. Galicia De León, MV. 2004. Comparación de la incidencia de mastitis clínica y subclínica en ganado de doble propósito bajo el sistema de ordeño mecánico en la finca San Julián. Tesis. Lic. Med. Vet. Guatemala, USAC, FMVZ. 60 p.
7. Kruze, J. 1998. La rutina de ordeño y su rol en los programas de control de mastitis bovina (en línea). Valdivia, CL. Consultado 10 ene. 2007. Disponible en http://www.scielo.php?pid=s0301-732X1998000200001&script=sci_artext
8. Martínez Díaz, JG. 2005. Evaluación de la incidencia de problemas metabólicos, mastitis y diarrea en vacas alimentadas con dietas a base de banano verde de deshecho en finca lechera especializada. Tesis. Lic. Med. Vet. Guatemala, USAC-FMVZ. 60 p.
9. Martínez, C. 2006. Modulación de la respuesta inmune: tendencias actuales (en línea). Santiago de Cuba. CU. Consultado 10 ene. 2007. Disponible en http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol25_4_06/ibi09406.htm
10. Monrroy Velásquez, MA. 2006. El arte de curar bovinos. Guatemala, GT. Editorial Universitaria. 522 p.
11. Ordóñez Espinal, DE. 2005. Evaluación de la incidencia de mastitis clínica y subclínica y su relación con los factores: edad. época del año y manejo de ordeño, en dos lecherías especializadas en el occidente de la república. Tesis. Lic. Med. Vet. Guatemala, USAC, FMVZ. 30 p.

12. Philpot, WN; Nickerson, SC. 1992. Mastitis: El contraataque. Illinois, US, Surge Internatinal-babson BROS. Co. 150p.
13. Rebhun, W; Guard, C; Richards, CM. 1995. Enfermedades del Ganado vacuno lechero. Trad. M Ramis Vergés. Zaragoza, Es, Acribia. 667p.
14. Rimbaud, E. 2004 Nuevas alternativas en el control de mastitis (en línea). Consultado 20 ene. 2007. Disponible en http://www.vet-uy.com/articulos/artic_bov/050/0013/bov013.htm
15. Tizard, I. 1998. Inmunología Veterinaria. Trad. ME Araiza. 5ed. México D.F., Interamericana McGraw-Hill. 567 p.
16. Zurich, L. 2005. Mastitis séptica bovina: Prevención y futuro (en línea). Consultado 10 ene. 2007. Disponible en <http://www.e-campo.com/?event=navigation.display&id=91D0E37C-E269-11D3-A5140006.292E2740/&&CFID=3826763&CFTOKEN=47882325>

XI. ANEXOS

11.1 **Cuadro No. 1.** Germen aislado en vacas con tratamiento con inmuno estimulante y antibiótico. Evaluación del efecto de extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli* en el tratamiento de mastitis clínica en vacas lecheras. Guatemala, octubre de 2007.

Germen aislado en el Grupo A			
Vaca	Agente Aislado	Recuperación Clínica en días	Recuperación de la producción en días
1	<i>E.coli</i>	7	6
2	<i>Streptococcus sp</i>	9	7
3	<i>E.coli</i>	7	7
4	<i>E.coli</i>	11	6
5	<i>Streptococcus sp</i>	6	6
6	<i>E.coli</i>	12	6
7	<i>E.coli</i>	7	8
8	<i>E.coli</i>	7	5
9	<i>E.coli</i>	9	6
10	<i>E.coli</i>	11	9

El porcentaje de *E.coli* fue de 80% y *Streptococcus sp* fue de 20%.

11.2 Cuadro No. 2. Germen aislado en vacas con tratamiento antibiótico. Evaluación del efecto de extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli* en el tratamiento de mastitis clínica en vacas lecheras. Guatemala, octubre de 2007.

Germen aislado en el Grupo B			
Vaca	Agente Aislado	Recuperación clínica en días	Recuperación de la producción en días
1	E.coli	14	13
2	E.coli	10	10
3	E.coli	16	15
4	Staph. Aureus	19	11
5	Streptococcus spp	12	9
6	E.coli	9	9
7	Streptococcus spp	21	15
8	E.coli	14	15
9	E.coli	10	13
10	E.coli	11	12

El porcentaje de gérmenes aislados fue de *E.coli* 70%, *Streptococcus sp.* 20% y de *Staphylococcus aureus* 10%.

11.3 Cuadro No. 3. Resumen de resultados de las variables evaluadas grupo A. Evaluación del efecto de extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli* en el tratamiento de mastitis clínica en vacas lecheras. Guatemala, octubre de 2007.

Recuperación clínica en días			
Promedio	desviación standard	Coeficiente de variacion	Moda
8.6	2.118699811	24.63604431	7
Recuperación de la producción en días			
Promedio	desviación standard	Coeficiente de variacion	Moda
6.6	1.173787791	17.7846635	6

11.4 **Cuadro No. 4.** Resumen de resultados de las variables evaluadas grupo B. Evaluación del efecto de extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli* en el tratamiento de mastitis clínica en vacas lecheras. Guatemala, octubre de 2007.

Recuperación de la producción en días			
Promedio	desviación standard	Coeficiente de variacion	Moda
12.2	2.394437999	19.62654098	15
Recuperación clínica en días			
Promedio	desviación standard	Coeficiente de variacion	Moda
13.6	4.03319559	29.65584993	14

11.5 **Cuadro No. 7.** Variables económicas evaluadas. Efecto de extracto de *Propionibacterium granulosum* y lipopolisácarido de *Escherichia coli* en el tratamiento de mastitis clínica en vacas lecheras especializadas.

	Costo	Ingreso	Beneficio neto
Grupo B	4334.5	1500	2834.5
Grupo A	5334.5	3700	1634.5
	-1000	-2200	1200

La tasa marginal de retorno fue de 54.54% a favor de las vacas tratadas con inmuno estimulante.