UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

DETERMINACION DE MASTITIS SUBCLINICA EN EL HATO LECHERO DEL MUNICIPIO DE DULCE NOMBRE DE CULMI, OLANCHO, HONDURAS.

POR: MELVIN MARIN SOTO NUÑEZ

TESIS PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO REQUISITO A LA OBTENCIÓN DEL TITULO DE INGENIERO AGRÓNOMO



CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C.A.

DICIEMBRE, 2011

DETERMINACION DE MASTITIS SUBCLINICA EN EL HATO LECHERO DEL MUNICIPIO DE DULCE NOMBRE DE CULMI, OLANCHO, HONDURAS.

POR:

MELVIN MARIN SOTO NUÑEZ

MARLEN DINA CASTRO, D.M.V

Asesor Principal.

TESIS PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO REQUISITO PREVIO A LA OPTENCIÓN DEL TITULO DE INGENIERO AGRÓNOMO

CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C.A.

DICIEMBRE, 2011

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

ACTA DE SUSTENTACION DE

PRACTICA PROFESIONAL SUPERVISADA

Reunidos en el Salón de Audiovisuales de la U	_
D.M.V. DINA MARLEN CASTRO, M Sc. H D.M.V.LIZANDRO ZELAYA BERTRAND Trabajos de P.P.S.	,
El estudiante MELVIN MARIN SOTO Agronómica presentó su informe	NÚÑEZ del IV Año de Ingeniería
"DETERMINACION DE MASTITIS SUBC MUNICIPIO DE DULCE NOMBRE DE CU	
El cual a criterio de los examinadores, título de Ingeniero Agrónomo.	este requisito para optar al
Dado en la ciudad de Catacamas, Olancho, a lo once.	os 09 días del mes de Noviembre del dos mil
D.M.V. DINA MARLEN CASTRO	M Sc. HÉCTOR LEONEL ALVARADO

D. M. V. LIZANDRO ZELAYA BERTRAND

DEDICATORIA

A MI DIOS TODO PODEROSO

Por haberme dado las fuerzas para seguir adelante y nunca desfallecer en el camino que gracias a él, hoy culmino satisfactoriamente una de las metas propuesta en esta vida.

A MIS QUERIDOS Y AMADOS PADRES

José Lino Soto y Rita María Núñez por el apoyo incondicional que me han brindado desde que Jehová me regalo la vida los Amo.

A MI HERMANO

Osman David Soto Núñez por ser parte de my bella familia que es el regalo más grande que Dios los he regalado.

A MIS HERMANAS

Elena Soto, Xiomara Soto, Janeth Soto. Deysi Soto, por quererme apreciarme, por ese apoyo que me dan; las quiero mucho.

A MI HIJA

Diana Elizabeth Soto Antúnez por ser un regalo tan bello de parte de DIOS

AGRADECIMIENTOS

A DIOS TODO PODEROSO

Por llenar de bendiciones mi vida y ser mí apoyo incondicional, por regalarme la inteligencia, sabiduría, entendimiento, humildad y sobre todo el temor a El mismo.

A MIS PADRES

José Lino Soto y Rita María Núñez por todo su apoyo, amor y orientación y la inculcación de buenos valores en cada momento de mi vida.

A MIS HERMANOS (AS)

Por apoyarme quererme y apreciarme los quiero mucho.

A MI HIJA

Diana Elizabeth Soto Antúnez por ser el regalo tan bello que Dios me ha dado

A MIS ASESORES DMV. DINA MARLEN CASTRO, MSc, HECTOR LEONEL ALVARADO, DMV LISANDRO ZELAYA.

Por todos sus consejos, apoyo durante mi estadía en la Universidad Nacional de Agricultura y la realización de este trabajo.

A MIS COMPAÑEROS DE LA CLASE ARMAGEDON

En especial al compañero GERMAN ADAN ORELLANA gracias my hermano por tú amistad durante Nuestra carrera.

CONTENIDO

	pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
LISTA DE ANEXOS	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
2.1 General	3
2.2 Específicos	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA	3
3.1 Mastitis	3
3.2 Impacto de la mastitis en la producción	9
3.3 Diagnostico de la mastitis subclínica	10
3.4. Antibiograma	13
IV. METODOLOGIA	18
4.1 Descripción del lugar de la investigación.	18
4.2 Recurso Humano	18
4.3 Materiales y equipo	18
4.4 Manejo de la investigación	18
4.5 Variables Evaluadas	20
4.5.1 Porcentaje de mastitis subclínica	20
4.5.2 Sensibilidad y resistencia de agentes etiológicos a los antibióticos	21
VI CONCLUSIONES	22
VII. RECOMENDACIONES	27
VIII BIBLIOGRAFÍA	29
IX ANEXOS	32.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Ventajas y desventajas de la californ	nia mastitis test11
Cuadro 2. Resultados del diagnóstico de mast	itis subclínica22
Cuadro 3. Sensibilidad y resistencia de Staph	
Cuadro 4. Distribución de las fincas según	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
	25
Cuadro 5. Pérdidas provocadas por la mastitis	s en fincas productoras de leche

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Mapa del municipio de Dulce Nombre de Culmi Olancho con los puntos de
referencia donde se ubican las fincas donde se desarrollo la investigación33
Anexo 2. Agentes causales de mastitis
Anexo 3. Cambios producidos por la mastitis subclínica en la composición de la leche35
Anexo 4. Pasos a seguir para aplicar el California Mastitis Test
Anexo 5. Interpretación de los resultados de CMT
Anexo 6. Relación del CMT con conteo de células somáticas y descenso en la producción.
Anexo 7. Interpretación y registro de resultados de la california mastitis test
Anexo 8. Hoja de registro de aplicación de la prueba de California Mastitis Test40
Anexo 9 Encuesta

SOTO NÚÑEZ, M.M. 2011. Determinación de mastitis subclínica en el hato lechero del municipio de Dulce Nombre de Culmi, Olancho, Honduras. Tesis Ing. Agrónomo. Universidad Nacional de Agricultura. Catacamas, Olancho. 53 Pág.

RESUMEN

El trabajo se realizó en el municipio de Dulce Nombre de Culmi, Olancho, en 15 fincas productoras de leche, establecidas en las comunidades de El Tauretillo, La Campana, Aguaquire, Las Flores y Los Mangos. El objetivo fue diagnosticar la presencia de mastitis subclínica atraves de la prueba de CMT, determinando los agentes causales su resistencia y sensibilidad a los antibioticos. Los resultados obtenidos revelan que el 100% de las fincas y el 38.88% de las vacas muestreadas se encontraron con mastitis subclínica. Los análisis bacteriológicos de la leche muestran que los agentes causantes de la mastitis subclínica fueron la bacteria *Staphilococcus aureus* (60%) y *Escherichia coli* (40%). Staphylococcus aureus resulto ser resistente al antibiótico Pirizu y Lincomicina en 71.43 y 80% de las fincas respectivamente. En el caso de la bacteria *Escherichia coli* el 66.67 de las fincas resultaron con resistencia a Pirizu y Kanamicina, entre tanto, un 80% de las explotaciones presentaron resistencia a Lincomicina. El 80% de las fincas no poseen instalaciones en buenas condiciones y el 100% de ellas no realizan las prácticas de lavado y desinfección de pezones y la prueba de CMT.

I. INTRODUCCIÓN

La mastitis continúa siendo la enfermedad más común y costosa que padece el ganado lechero en el mundo entero; todos los rebaños lo sobrellevan en menor o mayor grado. La mastitis es generalmente el resultado final de la interacción de los microorganismos como agentes causales, la vaca como huésped y el medio ambiente (National Mastitis Council, 1987 y Philpot & Nickerson, 1992, citado por Rodríguez 2000).

En Honduras trabajos realizados por: Rodríguez (2000), Henríquez (2006) y Paz (2007), en el Municipio de Olanchito Departamento de Yoro, revelan que en el 100% de las fincas evaluadas hubo presencia de mastitis subclínica, además reportan valores entre el 42.72 y 56.46% de vacas con la enfermedad. Al evaluar la incidencia de mastitis subclínica según los cuartos de la glándula mamaria se reportan valores entre el 22.07 y 29.45% de positividad.

La Universidad Nacional de Agricultura, con su programa de transferencia de tecnología mediante las escuelas de Campo procura contribuir con la solución a la problemática que enfrenta los productores en especial los dedicados a la explotación de ganado lechero, en ese sentido, este trabajo de investigación tiene como objetivo realizar un diagnóstico sobre la prevalencia de mastitis subclínica en el hato de ganado productor de leche, en el Municipio de Dulce Nombre de Culmi, Olancho, identificando los posibles agentes causales y determinar la sensibilidad de los microorganismos a antibioticos.

II. OBJETIVOS

2.1 General

➤ Realizar el diagnostico de mastitis subclínica y los agentes causales mediante la prueba de CMT, aislamiento y el antibiograma como una herramienta para implementar una estrategia de control en las fincas lecheras del Municipio de Dulce Nombre de Culmi Olancho.

2.2 Específicos

- Medir el nivel de mastitis sub clínica por cuarto mediante la prueba de California Mastitis Test (CMT).
- ➤ Aislar los agentes causales de mastitis de los cuartos positivos al CMT mediante la colecta y cultivo bacteriológico de muestras de leche a nivel de laboratorio.
- Determinar la sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos mediante la prueba de antibiograma.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Mastitis

Es la inflamación de la glándula mamaria que se produce como respuesta al daño causado por diferentes agentes agresores, microorganismos y sus toxinas, productos químicos, traumas, temperaturas extremas, etc. (Scaramelli y González, 2005) y se caracteriza por daños en el epitelio glandular, seguido por una inflamación clínica o subclínica, pudiendo presentarse con cambios patológicos localizados o generalizados, dependiendo de la magnitud del daño (Ávila 2006).

La mastitis pueden presentarse de dos formas como procesos no infecciosos las cuales pueden sustituir hasta en un tercio las infecciones y estas últimas pueden ser contagiosas o ambientales y de acuerdo a su sintomatología se manifiestan en mastitis clínica y subclínica. (Rodríguez 2000)

Mastitis contagiosas

Los patógenos contagiosos de primera importancia incluyen al *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium spp.*, *y Mycoplasma spp.* (Riffon *et al.* 2001; Rossitto *et al.*, 2002; Djabri *et al.*, 2002)

Estos organismos se transmiten de vaca a vaca, donde el reservorio primario que alberga los patógenos es el animal infectado o el cuarto de la ubre (Rossitto *et al.*, 2002; Zadoks *et al.*, 2001), y la exposición de los cuartos mamarios no infectados se restringe al proceso de la ordeña (Bradley y Green, 2001, Zadoks *et al.*, 2001; Zadoks, 2002; Bedolla y Castañeda, 2003, citado por Bedolla 2008).

Los patógenos contagiosos de la mastitis como el *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* que son infecciosos a nivel individual y a nivel de población (Zadoks, 2002), han sido reportados bajo control en los hatos lecheros a través del uso de prácticas de manejo que utilizan la desinfección de los pezones después de la ordeña, terapia de la vaca seca, desecho, mantenimiento del equipo de ordeño, y terapia antibiótica de las infecciones intramamarias (Rossitto *et al.*, 2002; Bedolla y Castañeda, 2003, citado por Bedolla 2008).

Mastitis ambientales

Los patógenos ambientales a diferencia de los contagiosos son transmitidos entre las ordeñas por el ambiente que sirve como la fuente primaria de estos organismos. Los patógenos principales en este grupo son los bacilos entéricos Gram-negativos (*Escherichia coli, Klebsiella spp.*), *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, y *Enterococcus spp.* (Rossitto *et al.*, 2002; Bedolla y Castañeda; 2000)

La mastitis ocasionada por patógenos ambientales es el principal problema que afecta a muchos hatos lecheros bien manejados, que aplican un programa de control de los patógenos contagiosos de la mastitis (Phuektes *et al.*, 2001, citado por Bedolla 2008). Las fuentes de patógenos ambientales incluyen: materiales de cama; estiércol; suciedad y lodo; agua estancada; alimento.

La fuente más importante es la cama porque los pezones están en contacto frecuente y prolongado con ella. Por tanto, la prevención de la contaminación de los pezones es muy importante y la práctica de mantener los materiales de cama secos ayudan a reducir las poblaciones de esos organismos (Philpot y Nickerson, 2000, citado por Bedolla 2008).

La infección está influenciada sobre todo por temperatura, humedad, época de lactación, estado de lactación, parto y manejo (hoard's Dairyman 1997, citado por Rodríguez 2000).

Mastitis clínica

La mastitis clínica es la enfermedad más común y más costosa en la producción de leche en los países industrializados (Osteras, 2006). Es definida como una anormalidad observada por los ganaderos en cualquiera de los dos casos: la leche y/o la ubre (Tollersrud, 2000, citado por Rodriguez 2000).

Se caracteriza por la tumefacción o dolor en la ubre, enrojecimiento, la leche presenta una apariencia anormal y, en algunos casos, hay aumento de la temperatura rectal, letargo, anorexia e incluso la muerte. Además, las bacterias están presentes en la leche, el rendimiento es muy reducido, y su contenido está alterado considerablemente (Heringstad *et al.*, 2000).

En varios estudios realizados dos en California, Michigan y Ohio las incidencias de mastitis que se encontraron fueron de 30, 33 y 37 casos por 100 vacas por año respectivamente. Estas estimaciones incluyen las mastitis reportadas por los dueños y tratadas por los veterinarios (Hillerton y Kliem, 2002, citado por Bedolla 2007).

Las pérdidas causadas por mastitis clínica comprende la baja producción del animal enfermo, desecho de la leche costos de tratamientos entre otros. (Wolter *et al.*, 2004, Citado por Bedolla 2008)

Mastitis subclínica

La mastitis subclínica es sutil y difícil de corregir, la vaca parece saludable, la ubre no muestra ningún signo de inflamación y la leche parece normal, sin que existan cambios organolépticos en la misma. El número de células somáticas en la leche, indicativo de la respuesta inflamatoria, se encuentra elevado, al igual que el número de bacterias, lo que va acompañado de una disminución del nivel de producción de la secreción láctea, así como de la alteración de la composición de dicho producto.

La mastitis subclínica comúnmente es de larga duración, difícil de tratar con los antibióticos, difícil de detectar, reduce drásticamente la producción de leche, afecta adversamente la calidad de leche, y puede servir como un reservorio para infectar a otros animales en el rebaño lechero (Heringstad *et al.*, 2000; Valera *et al.*, 2005, citado por Henríquez 2006).

Etiología

En la actualidad se han reportado más de 100 microorganismos como causantes de infección intramamaria. La mayoría de las infecciones, incluidas las de importancia económica, son ocasionadas por especies de estafilococos, estreptococos y bacterias Gramnegativas. Las últimas son esencialmente coliformes. La mastitis es ocasionada por organismos microscópicos que penetran la ubre a través del canal de los pezones. La penetración puede ocurrir por multiplicación, movimiento mecánico, propulsión durante el ordeño o por una combinación de factores (Pinzón, 1989).

Los microorganismos causantes de la mastitis se clasifican de la siguiente manera: Staphylococcu aureus, Streptococcus agalactidae, Micoplasmas boris, Corynebacterium bovis, como agentes contagiosos. También consideraron Pseudomonas aeruginosas y Actinomyces pyogenes como otros organismos infecciosos. En el anexo 2 se muestran los agentes causales de mastitis (National Mastitis Council 1987, y Philpot, Nickerson 1992, citado por Henríquez 2006)

El mecanismo que utilizan algunas bacterias causantes de mastitis para generar resistencia a los antibióticos es un sistema que bombea fuera de su interior las sustancias toxicas, lo que se conoce como "bombas de flujo multifarmaco". La bacteria dispone de una proteína, llamada QacR, que reconoce los fármacos cuando penetran en su interior y desencadena la producción de más bombas de flujo, de modo que expulsa los antibióticos más rápidamente para sobrevivir (Ayers, et al 2001, citado por Henríquez 2006).

Patogénesis

En la mayor parte de los países, los estudios de la frecuencia de mastitis, independientemente de la causa muestran cifras comparables de una morbilidad de cerca del 40% en vacas lecheras y una tasa de infección de 25%; un estudio en Inglaterra mostro 27% de positividad en términos de recuentos celulares, pero la tasa efectiva de infección de los cuartos por un patógeno significativo fue solo de un 9.6% (Blood, et al 1986)

La mayoría de las mastitis resultan después que las bacterias pasan a través del conducto del pezón y entran al área cisternal, eventualmente entran a los tejidos glandulares donde afectan a las células alveolares. *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus* se adhieren bien al tejido que cubre los espacios de recolección. *Escherichia coli* no se adhiere, pero se multiplica rápidamente en los cuartos con recuentos bajos de células somáticas (National Mastitis Council 1987).

La habilidad de los microorganismos para adherirse a los tejidos en el interior de la ubre puede afectar su capacidad de permanecer dentro de la glándula, especialmente durante la lactancia cuando los pezones experimentan flujos periódicos durante cada ordeña (Philpot y Nickerson 1992).

Las toxinas producidas por las bacterias causan la muerte de las células epiteliales productoras de leche y esas células secretan sustancias a la sangre que aumentan la permeabilidad de los vasos sanguíneos. Esto permite que los leucocitos se muevan desde la sangre hacia los alvéolos donde fagocitan las bacterias. Los factores como líquidos y coagulantes de sangre también afectan los tejidos para la producción de leche (National Mastitis Council, citado por Philiport y Nickerson 1992)

Las células que se mueven hacia adentro del alvéolo como una respuesta a la etapa inicial de la infección se denominan también" células somáticas". La presencia de un incremento del número de células somáticas en la leche es un indicador de inflamación, por lo tanto, el

número de células somáticas se utiliza como un indicador del grado de inflamación que en ese momento es imperceptible; Algunas células somáticas se encuentran presentes en ubres sanas.

En vacas normales pueden existir fluctuaciones estacionales en el número de células, los recuentos de células somáticas bajos no son, por lo tanto, considerados como un indicador de mastitis (Homan *et al.* s.f. Citado por Henríquez 2006)

La respuesta inflamatoria la constituyen la formación de líquidos y glóbulos blancos en el interior del tejido de la ubre. La inflamación puede ser leve y pasar por desapercibida como mastitis subclínica, o presentar señales clínicas obvias, como decoloración y grumos o escamas en la leche, dependiendo de la severidad de la infección estos cambios se acompañan de edema, enrojecimiento, tumefacción, calor y dolor de la ubre, así como también sangre en las secreciones (Blood et al, 1986, Philpot y Nickerson 1992)

Según Philpot y Nickerson 1992, después 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 alveolos, los ductos y cisternas antes de entrar en la leche. La presencia de microorganismos, sus toxinas, células somáticas y líquidos en el área afectada pueden hacer que el resto de las células productoras de la leche, queden en estado de quietud llamado involución.

El cuarto enfermo desarrolla nuevamente la habilidad de segregar es realmente incierto, pero las células productoras de leche pueden repararse así mismas, las células en reposo vuelven activarse y el tejido aumenta su actividad, dando como resultado el retorno a la producción de leche (Philpot y Nickerson 1992, citado por Rodríguez 2000).

3.2 Impacto de la mastitis en la producción

La mayoría de la literatura sobre mastitis hace referencia que esta enfermedad afecta la calidad de la leche y los productos que de ella se elaboran, aumento de los costos de producción, reducción del rendimiento durante la lactancia, alteración de la leche debido al incremento del conteo celular, requiere tiempo extra para el tratamiento, eleva la tasa de reemplazo y descarte entre otras.

La leche pasteurizada que es procesada a partir de la leche cruda con un conteo de células somáticas menores a 250,000 células ml-1, tiene un promedio de vida de almacenamiento más largo que la que es procesada teniendo un conteo superior a 500,000 (Philiport y Nickerson 1992)

Según investigaciones la leche en crudo que tiene un alto porcentaje de células somáticas se elabora un queso con textura y sabor de calidad inferior. Los niveles altos de ácidos grasos libres encontrados en la leche con recuentos celulares de 400,000 células/ml producen en la leche un sabor rancio (The New Zealand Farmer 1978 y National Mastitis Council 1987, citado por Henríquez 2006). Algunos cambios en la composición de la leche son presentados en el anexo 3.

La mayoría de las fincas lecheras de Estados Unidos tienen un nivel de células somáticas entre 200,000 y 500,000/ml. Lo que implica que están perdiendo por lo menos el 8% de la producción de leche. El conteo de células con 400,000 leucocitos/ml determina pérdidas alrededor de 586 litros de leche por vaca adulta por período de lactación (Blood 1986, citado por Henríquez 2006).

Las pérdidas por mastitis son el doble que las pérdidas por infertilidad y problemas de reproducción, un cuarto afectado experimenta un 30% de baja de su productividad y una vaca afectada pierde un 15% de su productividad (Blood, citado por Rodríguez 2000).

El 70-80% de todas las pérdidas son asociadas con la mastitis subclinica, mientras que solo el 20-30% se deben a la mastitis clínica (Philpo y Nickerson 1992, citado por Rodríguez 2000).

Romero (2004), menciona que los costos de mastitis en Estados Unidos son de alrededor de 107 a 180 dólares por vaca y en total las pérdidas anuales de la mastitis han sido estimadas entre 1.5 a 2 billones de dólares americanos (Kerr *et al.*, 2001; Wellenberg *et al.*, 2002; Nash *et al.*, 2003; Biesenkamp-Uhe *et al.*, 2007, citado por Bedolla 2008), u 11% de la producción de leche americana total.

3.3 Diagnostico de la mastitis subclínica

La rutina de examinar la leche antes del ordeño es una práctica que los productores no adoptan en sus fincas, a pesar de tener muy claro el problema al cual se pueden enfrentar si no detectan a tiempo la enfermedad. En el caso del presente ensayo utilizaremos los siguientes métodos de diagnóstico: contador coulter, análisis bacteriológico, antibiograma y California Mastitis Test (CMT) prueba que hoy en día es la que presenta una alternativa.

California mastitis test

La Prueba de California para Mastitis (CMT, por sus siglas en inglés) ha sido empleada durante décadas y sigue siendo la prueba más utilizada a nivel de campo para el diagnóstico de mastitis en el ganado bovino lechero (Bedolla 2007). Es una prueba sencilla que es útil para detectar la mastitis subclínica por valorar groseramente el recuento de células de la leche. No proporciona un resultado numérico, sino más bien una indicación de si el recuento es elevado o bajo, por lo que todo resultado por encima de una reacción vestigial se considera sospechoso (Bedolla 2007).

Los resultados pueden ser interpretados en cinco clases: desde el resultado negativo en el que la leche y el reactivo siguen siendo acuosos, hasta el recuento de células más elevado

en el que la mezcla de la leche y el reactivo casi se solidifica. Esto se determina en relación a la reacción de gelificación (Bedolla 2007). Ver anexos 4-5. La prueba consiste en el agregado de un detergente a la leche, el alquilauril sulfonato de sodio, causando la liberación del ADN de los leucocitos presentes en la ubre y este se convierte en combinación con agentes proteicos de la leche en una gelatina (Bedolla 2007).

A mayor presencia de células se libera una mayor concentración de ADN, por lo tanto mayor será la formación de la gelatina, traduciéndose en nuestra lectura e interpretación del resultado como el grado más elevado de inflamación (Beolla 2007). Desafortunadamente esta prueba es muy subjetiva y tiene que hacerse al lado de la vaca durante el ordeño (lo que interfiere con el manejo del ordeño) (Bedolla 2007). La Prueba de California es un método de diagnóstico que posee una sensibilidad del 97% y una especificidad del 93%. Sus ventajas principales y desventajas las presenta en el siguiente (cuadro 1)

Cuadro 1. Ventajas y desventajas de la california mastitis test.

Ventajas	Desventajas		
Es una técnica muy sensible y se puede	Los resultados pueden ser interpretados de		
utilizar tanto en una muestra de cuartos,	forma variable, entre los individuos que		
como una muestra del tanque enfriador. En	realicen la prueba, por lo que resulta		
una muestra de tanque, los resultados de	necesario uniformizar el criterio de casos		
grado 2 y 3, indican un alto porcentaje de	positivos y su categorización en grados.		
vacas infectadas.			
El material extraño no interfiere con la	Pueden presentarse falsos positivos en		
prueba (pelo u otro material).	leche de animales con menos de diez días		
La prueba es simple y no requiere de	de paridos o en vacas próximas a secarse.		
equipo costoso			
La paleta es fácil de limpiar después de	La mastitis clínica aguda da resultados		
cada uso (Báez, 2002).	negativos, debido a la destrucción de los		
	leucocitos por las toxinas provenientes de		
	los microorganismos presentes (Báez,		

Fuente: Henríquez, 2006

La aplicación de la prueba permite identificar las vacas con mastitis subclinica, conocer las vacas candidatas a padecer de infecciones latentes y cuadros clínicos. En un instrumento útil en el monitoreo del comportamiento del programa de control de mastitis establecido para el hato y predecir perdidas en producción de leche el grado de irritación y número de células somáticas en leche (Yánez 1980, citado por Henrríquez 2006).

3.3 Análisis bacteriológico

La identificación bacteriana preliminar puede hacerse mediante la observación de características de las colonias y morfología celular con tinción de Gram. Sin embargo la caracterización final de un aislamiento bacteriano desconocido para identificarlo a nivel de género y especie habitualmente se lleva a cabo estudiando ciertos sistemas enzimáticos que son únicos para cada especie y sirven como marcadores de identificación.

En el laboratorio estos sistemas se detectan inoculando una pequeña porción de una colonia bacteriana bien aislada en una serie de medios de cultivo(diferenciales), que contienen sustratos específicos e indicadores químicos para detectar cambios de pH o la presencia de subproductos específicos(Madrid & Arias, 2003).

Los cultivos en laboratorio son necesarios para identificar los organismos específicos que se encuentran comprendidos en un caso clínico de mastitis y para distinguir los animales sanos de aquellos que presentan un caso subclínico. La fidelidad de los resultados de laboratorio depende de los cuidados sanitarios que se tengan durante la toma de muestras y su manipulación posterior (Pérez *et al.*, 2005).

Al extraer muestras se deben descartar dos o tres chorros de leche y se deben asegurar que las tetas estén bien limpias y que se han frotado los extremos de las mismas durante algunos segundos con un algodón húmedo con 70% de alcohol, antes y después de recoger las muestras en un recipiente esterilizado se deben congelar hasta entregarlas al laboratorio.

Los procedimientos bacteriológicos son esenciales para la selección de los agentes terapéuticos que tienen especificidad para el germen presente (Pérez *et al.*, 2005).

Las pruebas para la identificación de agentes patógenos causantes de la mastitis son varias, la más utilizada es el aislamiento de aerobios para la identificación de bacterias Gram. Positivas y Gram. Negativas es a través de pruebas específicas como la prueba de catalasa y coagulasa. La prueba de catalasa usa como reactivo el peroxido de hidrogeno (agua oxigenada) para determinar los géneros presentes en el cultivo, y se determina a través de su reacción.

Staphylococcus sp, y Micrococcus sp. presentan reacción positiva en cambio Streptococcus sp, dan respuesta negativa a la prueba. Si esta reacción es positiva se procede a la prueba de coagulasa la cual usa como reactivo plasma sanguíneo y sirve para identificar el Staphylococcus aureus que presenta una reacción positiva (Poujol 1995, citado por Rodríguez 2000).

Según Madrid & Arias, 2003, existen una diversidad de pruebas a las cuales reaccionan las bacterias causantes de la mastitis bovina, como por ejemplo las siguientes: técnica de fermentación de carbohidratos la cual utiliza las pruebas de rojo de metilo(RM) y Voges-Proskauer(VP), dentro de estas mismas están la fermentación acido-mixta, fermentación butilen glicolica y la reacción de Orto-Nitrofenil-Galactosidasa(O.N.P.G.). Otra de las técnicas de tinción de bacterias es la de catabolismo de proteínas la cual utiliza las pruebas de Ornitina, Lisina, Desanimación, Fenil alanina, producción de indol estas tienen acción sobre los aminoácidos, mientras que la licuación de la gelatina, hidrolisis de la urea e hidrolisis del almidón tienen acción sobre las proteínas (Madrid & Arias, 2003)

3.4. Antibiograma

El antibiograma es esencialmente una prueba cualitativa y por ello debe tenerse especial cuidado en la interpretación de los resultados. La prueba es usada para identificar la

sensibilidad de las bacterias a los antibióticos. Hay que tener en consideración que la respuesta real al tratamiento, dependerá no solo de la sensibilidad de la bacteria a la droga seleccionada, sino que también del estado fisiológico del animal, localización de la infección y por tanto del contacto entre la droga y los microorganismos (Ruiz 1980, citado por Rodríguez 2000).

Según Ruiz (1980), antes de inocular debe hacerse una tinción de Gram, para seleccionar los antibióticos que se usaran en la prueba. La transferencia del inoculo siempre se hace por medio de una pipeta Pasteur o con una torunda de algodón estéril de la cual se exprime el exceso de líquido. Deberá incluirse un disco para todo el agente terapéutico o droga que se está utilizando en un tratamiento. Y se colocaran sobre el agar, equidistantes entre sí, empleando no más de ocho discos por placa. Si se tiene discos que contienen la misma droga, pero diferente cas comercial, se recomienda utilizarla juntos (Ruiz 1980, citado por Rodríguez 2000).

En el caso de colonias aisladas de placas de agar, se prefiere colocar varias de ellas en medio líquido para vehiculizarlas (caldo soya-tripticasa, caldo suero o caldo nutritivo), el cual se incuba a 37°C por 2 a 4 horas. La concentración de esta dilución es correlativa con el nefelómetro de Mcfarlad. Al cabo de ese tiempo, se inocula el agar en la forma descrita y se distribuye en material por toda la caja con un asa de 4 mm o una pipeta Pasteur doblada en la punta. Las placas se incuban a una temperatura de 37 °C hasta que se haya tenido un crecimiento satisfactorio.

La mayoría de las bacterias producen un crecimiento visible a las 12 horas pero el tiempo promedio para interpretación debe ser a las 18 horas, y no más tarde, ya que las lecturas pueden dar resultados errados (Ruiz 1980, citado por Rodríguez 2000).

La presencia de una zona definida de inhibición de crecimiento alrededor del disco se considera como de cierto grado de sensibilidad y el microorganismo es registrado como sensible.

Cuando no se observa zona alguna, o solamente se ven trazas de inhibición se informa que el microorganismo es resistente o no sensible, en ocasiones puede haber algún crecimiento dentro de la zona de inhibición lo que puede deberse a las siguientes causas:

- 1. Lectura tardía de la prueba. Los microorganismos inhibidos pero no muertos por la droga, aparecen después de la difusión de esta en el medio. Esta situación es frecuente cuando se usan drogas bacteriostáticas (Sulfonamidas).
- 2. Presencia de microorganismos resistentes en una población de bacterias sensibles. En este caso se debe de interpretar como de resistencia.
- 3. En un cultivo primario, misto, en el cual es posible la presencia de un microorganismo diferente no susceptible a la droga mezclada con microorganismos sensibles.
- 4. Discos viejos, caducos que han perdido potencia.

3.5 Control y prevención de mastitis subclínica

El control de la mastitis requiere conocer la frecuencia de los cuadros clínicos, microorganismos presentes, evaluación de las condiciones ambientales y las practicas de ordeño que se deben aplicar durante todo el proceso de producción de leche, que implica el manejo antes, durante y después del ordeño (Alvarado 2002, citado por Henríquez 2006).

La inmovilización de la vaca es muy importante al igual que el lavado de las manos y brazos del ordeñador utilizando abundante agua clorada y jabón, el lavado de los pezones se debe realizar siempre que se va a ordeñar, ya sea con o sin ternero, desinfección de los pezones y brazos del ordeñador, ordeño y extracción de la leche, el sellado de los pezones de la vaca si el ordeño se realiza sin ternero al pie, registro de la producción de leche y, finalmente, la salida de la vaca de la sala de ordeño (Henríquez 2006).

Al finalizar la labor de ordeño se realizan las siguientes actividades, adecuada conservación de la leche, limpieza y almacenamiento de los utensilios de ordeño, limpieza y desinfección de la sala de ordeño (Alvarado 2002, citado por Henríquez 2006).

Manejo sanitario de la vaca seca

Las vacas deben secarse por los siguientes motivos: Permite la regeneración de los tejidos secretores de la leche, aumenta la producción de calostro para el ternero, evita el desgaste orgánico de la vaca en producción. El procedimiento implica en vaciar en su totalidad la ubre para luego administrar en cada pezón un antibiótico de larga duración adecuado para el periodo seco. La vaca no se ordeñara más ya que, el propio organismo del animal reabsorberá la producción residual de leche.

El alimento se restringe pero se dispondrá de agua en abundancia. Vigilar la posible aparición de inflaciones en la ubre, y tratar la mastitis en caso necesario (Cerqueira, 2003) El periodo de vaca seca no significa el final de un ciclo de lactancia sino más bien el comienzo de la siguiente lactancia y es un periodo de alto riesgo para la mayoría de las enfermedades que ocurren en las vacas recién paridas, haciéndose evidentes los signos clínicos de las mismas.

Si la producción láctea se termina, la leche no secretada es absorbida y las células secretoras de la leche desaparecen rápidamente involución y usualmente se completa cerca de las dos semanas de terminada la lactancia. Inmediatamente antes de partir, la vaca experimenta un rápido incremento de células secretoras.

La duración del periodo de la vaca seca recomendado es de 6-8 semanas, periodos menores de 40 días han demostrado reducir los rendimientos de leche de la lactancia siguiente. En un estudio donde el periodo seco fue de 4 semanas, la producción de leche fue de 6 libras menos por di comparándola con un periodo de 7 semanas.

Los periodos demasiado prolongados generalmente resultan en ganancia de peso excesivo de la vaca y reducen la eficiencia productiva. La ocurrencia de periodos secos tan largos o cortos ocurre frecuentemente cuando las fechas de servicio son desconocidas (Ruegg, 2001)

En la terapia de la vaca seca, los antibióticos se inyectan por lo general directamente en la glándula mamaria después del último ordeño de la lactación. La mayoría de los productos están diseñados para eliminar las infecciones intramamarias existentes causadas por *Sthafilococus aureus y Streptococus agalactiae* y para prevenir el establecimiento de nuevas infecciones por los patógenos primarios al principio del periodo seco.

Se ha intentado emplear la terapia sistémica como vía para mejorar las tasas de curación de los tratamientos intramarios de la mastitis clínica y subclinicas durante la lactación. Para que la terapia sistémica sea efectiva es necesario lograr el paso del fármaco de la sangre a los focos de infección. Para que pueda mantenerse una concentración antibacteriana efectiva en la ubre depende de las propiedades fisicoquímicas del fármaco, la dosis, la biodisponibilidad de la formula inyectada y la sensibilidad del patógeno.

Estudios realizados por Pilipot y Nickerson (1992) han demostrado que la inyección subcutánea de Tilmicisina al secado, empleada en un intento de mejor las tasas de curación de infecciones intramamarias, ha resultado inefectiva frente a S. aureus. Según Soback et al (1990) y Erskine et al (1994) el tratamiento de secado con inyección intramuscular de oxitetetraciclina en combinación con cefapirina intramamaria no mejoro la tasa de curación de las mastitis causada por S. aureus entre tanto la aplicación subcutánea de Nicotinato de Norfloxacina al cesar el ordeño se mostro útil en el control de las infecciones.

IV. METODOLOGIA

4.1 Descripción del lugar de la investigación.

El presente trabajo se realizó en15 Fincas productoras de leche del hato ganadero en el Municipio de Dulce Nombre de Culmí, Olancho ubicado en la zona oriente de Honduras a X=66 34 65 Y=1669701 latitud norte y sur a una altura de 560msnm, zona de vida bosque de coníferas formado por varias especies de pinos, temperatura de 28.2 °C y una precipitación cercana a los 1400mm, anuales respectivamente (Ver Anexo1).

4.2 Recurso Humano

En este trabajo participaron personal técnico docente del Departamento de Producción Animal de la Universidad Nacional de Agricultura, como ser: Marlen Dina Castro, D.M.V, Leonel Alvarado M.Sc. Lisandro Zelaya, D.M.V. Así como a la D.M.H, Propietaria de laboratorios clínicos Catacamas.

4.3 Materiales y equipo

Equipo: Motocicleta, raqueta para CMT, hielera pequeña y equipo de laboratorio. Materiales: Reactivo alkil arilsulfonato, botes de vidrio, tablero, hoja de registro, lápices, etiquetas y materiales para medio de cultivo.

4.4 Manejo de la investigación

El trabajo de campo de esta investigación se inicio con una reunión de los propietarios de fincas productoras de leche beneficiarios de las Escuelas de Campo organizadas por la Universidad Nacional de Agricultura en el municipio de Dulce Nombre de Culmi. El propósito de la reunión fue establecer un acuerdo para desarrollar la investigación en las fincas beneficiarias. Las fincas fueron georreferenciadas con la ayuda del Sistema de Posicionamiento Global (GPS) y utilizando el software ArcView 3.3 (Anexo 1)

El muestro por vaca siguió el mismo procedimiento descrito por Henríquez (2006) y Paz (2007) el cual consiste en identificación de la vaca a muestrear por nombre, código o otros, realizar CMT, en caso positivo (grado 2 y 3) recolecta de muestra para el antibiograma.

El 100% de las fincas de este municipio las vacas se ordeñan con ternero al pie, por lo que este último era el responsable de realizar la práctica del despunte (extraer los primeros chorros de leche) de los pezones, una vez que la vaca y el ternero se encontraban inmovilizados se procedía a colectar aproximadamente 2 cc de leche por cuarto en cada una de las celdas de la paleta, luego se le agregaba 2cc del reactivo de CMT mezclándola mediante movimientos circulares por unos 10 segundos y después se realizo la lectura; en el caso de ser positiva (grado 2 o 3) se procedía a la toma de muestra.

La toma de muestras para el laboratorio consistía en depositar en un mismo bote de vidrio previamente desinfectado submuestras de todas las vacas positivas al CMT, de manera que resultase una muestra por finca. Se utilizó un termo sin hielo para mantener las muestras a temperatura adecuada hasta llegar al laboratorio en el mismo día.

En el laboratorio el trabajo se desarrollo con el apoyo de un microbiólogo, incubando las muestras en los distintos tipos de agar para la identificación de las bacterias presentes. Una vez obtenido el cultivo bacteriológico se procedió a realizar el antibiograma colocando los discos de sensibilidad impregnados con antibióticos; en un periodo de 4 días los organismos patógenos reaccionaron, demostrando la sensibilidad y resistencia a los distintos antibióticos.

Los resultados del antiobiograma fueron interpretados por el médico veterinario asesor,

quien establecía los antibioticos a utilizar en cada caso, al final se entrego a cada productor

un expediente que incluía el agente causal de la mastitis en su finca y los antibioticos que la

controlarían

4.5 Variables Evaluadas

4.5.1 Porcentaje de mastitis subclínica

Este valor es expresado por cuartos y representa la proporción de cuartos positivos

divididos entre el total examinado utilizando la siguiente fórmula:

 $\mathbf{MSC} = \frac{C + CMT}{TCE} (\mathbf{100})$

Donde:

MSC = Mastitis Subclinica (%)

C+CMT = Cuartos Positivos al California Mastitis Test.

TCE = Total de Cuartos Examinados.

Identificación de agentes etiológicos de la mastitis subclínica

Este valor se expreso en términos de porcentaje, por agente etiológico

$$Ag = \frac{NC + Ag}{TCE}(100)$$

Donde:

Ag = Antigeno

NC+Ag = Numero de cuartos positivos a un antígeno

TCE = Total de Cuartos Evaluados

20

4.5.2 Sensibilidad y resistencia de agentes etiológicos a los antibióticos

$$AgSA = \frac{NCSA}{TCP}(100)$$

Donde:

AgSA = Agente etiológico con sensibilidad a los antibióticos

NCSA = Numero de Cuartos Sensibles al Antibiótico

TCP = Total de Cuartos Positivos

Resistencia

$$AgRA = \frac{NCRA}{TCP}(100)$$

Donde:

AgRA = Agente etiológico con resistencia a los antibióticos

NCRA = Numero de Cuartos Resistentes al Antibiótico

TCP = Total de Cuartos Positivos

V. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 Porcentaje de mastitis subclínica

El 100% de las fincas evaluadas resultaron con vacas positivas a mastitis subclínica. La prueba de CMT se aplico a 607 vacas de las cuales 236 (38.9 %) resultaron positivas a dicha prueba (nivel 2 y 3) de presencia de mastitis subclínica (Cuadro 2). La presencia de mastitis subclínica en todas las fincas de esta investigación resulta ser una situación inherente como a nivel mundial ocurre en todas las explotaciones destinadas a la producción de leche, el problemas muchas veces radica en su incapacidad de detectarla rápidamente (Wellenberrg et, al citado por Bedolla 2008)

Cuadro 2. Resultados del diagnóstico de mastitis subclínica en el Municipio de Dulce Nombre de Culmi Olancho.

Variables Evaluadas			
Mastitis Subclínica por Finca	100		
Vacas positivas al CMT	38.9		
Mastitis subclínica por cuartos.			
Prevalencia del agente etiológico Staphilococcus aureus	60		
Prevalencia del agente etiológico <i>Escherichia coli</i>	40		

En los 2,375 cuartos examinados 568 (23.92%) resultaron positivos a la prueba de CMT, valor que resulta ser similar a 22.07, 29.45, y 29.5% reportados por Henríquez (2006) y Paz (2007) y Escobar y Mercado (2008) respectivamente, en explotaciones con condiciones de manejo semejantes y caracterizadas por el bajo nivel tecnológico, entre tanto, son muy superiores al 9.6% reportados por Blood et. al, (1986) y al 7.28% que encontró Flores (2010) en incas altamente tecnificadas.

5.4 Identificación de agentes etiológicos de la mastitis subclínica

Los análisis bacteriológicos de la leche proveniente de las fincas del municipio de Dulce Nombre de Culmi, muestran que los agentes causantes de la mastitis subclínica como puede verse en el (Cuadro 2), fueron la bacteria *Staphilococcus aureus* (60%) y *Escherichia coli* (40%), por tanto, de acuerdo a lo expresado por Hagan y Bruner (1984) la leche puede ser considerada un riesgo para el consumo humano.

La prevalencia de los agentes causantes de mastitis subclínica, en especial *Staphilococcus aureus*, resulta ser menor al 84.62 y 100% reportadas por Henríquez (2006) y Paz (2007) respectivamente. La alta prevalencia de los agentes causantes de mastitis podría ser explicado al considerar el manejo deficiente brindado a las vacas en producción, sumado a las condiciones ambientales favorables para la sobrevivencia de estas bacterias (Ávila 2002).

5.5 Sensibilidad y resistencia de gentes etiológicos por finca.

Los datos referentes a la sensibilidad y resistencia de las bacterias *Staphilococcus aureus* y *Escherichia coli* como causantes de la mastitis subclínica se pueden observar en el (Cuadro3). En el antibiograma realizado se puede observar la variabilidad de las respuestas en cada finca de los agentes etiológicos sometidos a los diferentes antibioticos evaluados.

La resistencia y sensibilidad que estos agentes presentaron a los distintos antibioticos evaluados está íntimamente relacionado con la manera de ser utilizados por los productores, razón por la cual es necesario realizar el antibiograma por finca, determinando así, el agente causal y los antibioticos recomendados para controlar la mastitis.

Cuadro 3. Sensibilidad (s) y resistencia (r) de Staphylococcus aureus y Escherichia coli a distintos antibióticos en fincas productoras de leche, Dulce Nombre Culmi, Olancho.

Staphilococcus aureus												
FINCA	Amicasina	Cipro	floxacina	Gentamicina	Amoxicilina		loxacina	Ceftri	axona	Trimetropin/	sulfa	Fosfomicina
1	R		S	S			S					
2	S		S	S			S					
4	S			S	S					S		R
7	R		S	R	S		S		S	S	S	
8	S		S	S	S		S		S	R		R
9	S		S	S	S		S		S			S
10	S		S	S	S		S		S			S
11	S		S	S	R		S		S	S		R
15	R		S	R	R		S		S	R		R
				Sta	<i>philococc</i>	us a	ureus					
FINCA	Cefaperaz	ona	Pirizu	Novobioxina	Lincomici	na	Kanami	cina	Tetra	ciclina	Amp	icilina
1							S					
2							R					
4	S		S		S					S		
7	S		R		R				S			
8			S	S			R			S		S
9	S		R	S	R							
10	S		R	S	R							
11	S		R		R					S		
15	S		R	R								
	I	1		-	Escherich	ria c	eoli			ı		1
FINCA	Amicasina	Cipro	floxacina	Gentamicina	Amoxicilina	Nor	floxacina	Ceftr	iaxona	Trimetropin/sulfa		Fosfomicina
3	R		S	R	R		S		S	R		R
5	S		S	S	R		S		S S			S
6	R		S	R	R		S	R		S		R
12	S			S	R		S	S		R		R
13	S		S	S	R			S S		R		R
14	S		S	S	R		S		S R			R
	Escherichia coli											
FINCA	Cefapera	zona	Pirizu	Novobioxina	Lincomic	cina	n Kanamicina		Tetraciclina		A	mpicilina
3	R		R	R								
5	S		S		R		S			S		R
6	R		R	R					R			
12	S		R	_	R		R			S		R
13	R		R	R			R			R	S	
14	S		S		R	11 1	R		L	S		S

Al analizar los datos de resistencia y sensibilidad de las bacterias por finca, se puede observar que en el caso de *Estaphylococcus aureus* los valores más sobresalientes resultan

ser el 71.43 y 80% de las fincas presentando resistencia al antibiótico Pirizu y Lincomicina respectivamente (Cuadro 4). En el caso de la bacteria *Escherichia coli* el 66.67 de las fincas resultaron con resistencia a Pirizu y Kanamicina, entre tanto, un 80% de las explotaciones presentan resistencia a Lincomicina.

Cuadro 4. Distribución de las fincas según la sensibilidad y resistencia de las bacterias Staphylococcus aureus y Escherichia coli a distintos antibióticos en el municipio de Dulce Nombre de Culmi, Olancho.

	Staphilococcus aureus		Fincas Esch	nerichia coli	
Antibióticos	Sensibilidad	Resistencia	Sensibilidad	Resistencia	
	(%)	(%)	(%)	(%)	
Amicasina	66.67	33.33	66.67	33.33	
Ciprofloxacina	100	0	100	0	
Gentamicina	75	25	85.71	14.29	
Amoxicilina	66.67	33.33	83.33	16.67	
Norfloxacina	100	0	100	0	
Ceftriaxona	100	0	100	0	
Trimetropin/sulfa	50	50	66.67	33.33	
Fosfocil	42.86	57.14	50	50	
Cefaperazona	100	0	100	0	
Pirizu	28.57	71.43	33.33	66.67	
Novobioxina	75	25	100	0	
Lincomicina	20	80	20	80	
Kanamicina	33.33	66.67	33.33	66.67	
Tetraciclina	100	0	75	25	

La mayor cantidad de fincas mostrando resistencia de las bacteria *Staphilococcus aureus* y *Escherichia coli* a los antibioticos, Pirizu, Lincomicina y kanamicina, podrían estar asociado a que los mismos son los más utilizados por los productores, lo cual sería explicado por la mayor disponibilidad en el municipio y por la trasmisión de productor a productor de experiencias que resultaron positivas en el pasado o en otras fincas de la región; sin embargo, este trabajo de investigación al igual que otros similares (Henríquez

2006) y Paz (2007) demostró que cada finca tiene su propio contexto en lo referente a resistencia de bacterias causantes de mastitis.

5.6 Factores de manejo determinantes de la presencia de mastitis subclínica y la pérdida de valor de los animales.

Los resultados obtenidos atraves de la encuesta relevan que el 80% de las fincas no poseen instalaciones en buenas condiciones y el 100% de las explotaciones no realizan las practicas de lavado y desinfección de pezones y la prueba de CMT según recomienda Alvarado (2002), lo cual es atribuible de acuerdo a los productores a la dificultad de implementar dichas prácticas al utilizar el método de ordeño con ternero al pie, el incremento en los costos y la pérdida de tiempo.

La no aplicación de buenas prácticas de ordeño en las fincas dan como resultado la alta prevalencia de la mastitis subclínica, provocando reducción de ganancias, en especial cuando se pierden cuartos por vaca, reduciendo así la producción de leche por periodo de lactancia y en la vida útil del animal, descarte de animales jóvenes y por la aplicación de medicamentos para control de mastitis (Cuadro 4).

Cuadro 5. Pérdidas provocadas por la mastitis en fincas productoras de leche del Municipio de Dulce Nombre de Culmi, Olancho

Perdidas	Valor Promedio (L)
Valor de un cuarto en toda la vida de producción de la vaca	12,612
Valor de un cuarto por lactación	2,226.02
Costo de medicamentos por caso de mastitis	373.79

VI CONCLUSIONES

El 100% de las fincas evaluadas presentaron mastitis subclínica, la alta incidencia de este resultado está estrechamente relacionado con factores de manejo y condiciones ambientales predominantes en este Municipio donde, el 23.92% de los cuartos examinados resultaron positivos al CMT.

El elevado índice de mastitis subclínica en la región de este municipio, es causado por la bacteria *Staphilococcus aureus* en un 60% y en menor escala la bacteria *Escherichia coli* en un 40% de los casos. Estas bacterias resultaron ser sensibles a los siguientes antibióticos: Gentamicina, Amoxicilina, Cefoperazona, Novobioxina, y mostraron mayor resistencia a Pirizu, Kanamicina, Lincomicina y Fosfocil.

El lavado y desinfección de pezones y manos del personal que realiza el ordeño se constituyen como los factores de manejo de mayor influencia en la incidencia elevada de mastitis en esta zona, ya que en muchas fincas no se aplican ó se hacen de forma deficiente.

VII. RECOMENDACIONES

Los productores de la región de Dulce Nombre de Culmi, Olancho, deberán utilizar los antibioticos recomendados en este estudio para cada finca en el control de la mastitis, respetando la dosificación y el tiempo de retiro de la leche, asegurando así, la calidad de la misma y la de sus subproductos.

Realizar la práctica de CMT como mínimo dos veces por mes e implementar todas las buenas prácticas de ordeño entre ellas, lavado y desinfección de pezones y manos del ordeñador para reducir los índices elevados de mastitis.

En las fincas donde se realizó el estudio se deberá implementar anualmente la realización del antibiograma para asegurar el efectivo control de mastitis.

V BIBLIOGRAFÍA

Alvarado, H.L. 2002. Manual de las buenas prácticas de ordeño. UNA (Universidad Nacional de Agricultura). Catacamas, HN.

Ávila, S. Mastitis, Diagnostico, Tratamiento y Control. Producción de Ganado Lechero. 2006.1-123 p.

Ayers, J; rupp, H. 2001. Mecanismo que utiliza la bacteria *Staphylococus aureus* para crear resistencia a los antibióticos. (En línea). Universidad de Oregón, EUA. Consultado 26 mayo. 2011. Disponible en

http//www.doyma.es/cgibin/wdbcgi.exe/doyma/press.plantilla/ident=17204)

Bedolla, J. 2008. Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera (en línea). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, MX. Consultado 16 marzo. 2010. Disponible en

http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040408/040805.pdf.

Bedolla, J. 2007. Métodos de detección de mastitis bovina (en línea). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, MX . Consultado 20 marzo. 2011. Disponible http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/12-mastitis.pdf..

Blood, DC; henderson, JA. 1986. Medicina veterinaria. 6a. ed. México, d.f. Interamericana. 491 – 545 p.

Burrows, W. 1974. Tratado de microbiología. Trad. R. Espinoza Zarsa. 20 ed. México. Interamericana.388p.

Corbellini, C. s.f. La mastitis y Su Impacto Sobre la Calidad de la Leche (en línea). Instituto nacional de tecnología agropecuaria. Consultado 14 mayo. 2011.

Disponible en http://www.agro.uba.ar/carreras/agronomia/materias/p_lechera/la-mastitis-bovina-y-su-impacto-sobre-calidad-de-leche.pdf.

Henríquez, F. 2006. Diagnostico de mastitis subclinica en la región de Olanchito, Yoro, Honduras. Tesis Ing. Agrónomo. Universidad Nacional de agricultura. Catacamas, Olancho. 46 pág. Consultado 12 de May. 2011

Hernández, V. 2008. Estudio comparativo del diagnóstico de mastitis mediante la prueba de california y el contador de células somáticas (en línea). Consultado 14 Mayo. 2011. Disponible en http://www.portacheck.com/pdfs/Spanish%20article%20200711.pdf.

Hernández, J. 2008. Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. (en línea). México. Consultado 29 abr. 2011. Disponible en http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/18-conteo_celulas.pdf.

Homan, J; michel W. s.f. Guía técnica lechera. (En línea). Universidad de Wisconsin, EUA. Consultado 03 abr. 2011. Disponible en http://www.scienci.oas.org/OEA_GTZ/LIBROS/LA_LECHE/LE_HTML/cap5_leche.htm.

Jubb. 1985. Mastitis en ganado bovino (en línea). México. Consultado 12 de mayo. 2011. Disponible en http://www.bio – zoo.com.mx/artículos/salud-animal/mastitis-en-ganado-bovino.html.

Madrid, L; Arias, M. 2003. Manual de laboratorio de microbiología general. Universidad Nacional Autónoma de Honduras. 92p. Consultado 30 abril. 2010.

National mastitis council. 1987. Inmunización del ganado vacuno como alternativa para el control de la mastitis (en línea). Consultado 03 abril. 2011. Disponible en http://www.medrigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2000/mi001b.pdf

Philpot, WN; nickerson, SC. 1992. Mastitis. Louisiana, EE.UU. 147p.

Poujol, E. R. 1995. Microbiología clínica. Tegucigalpa, HN. 225p.

Rodríguez, Y. 2000. Determinación de mastitis bovina en Catacamas y Santa María del Real, Olancho, Honduras. Tesis Ing. Agrónomo. Universidad Nacional de Agricultura, HN. Consultado. 26 de mar.2011.

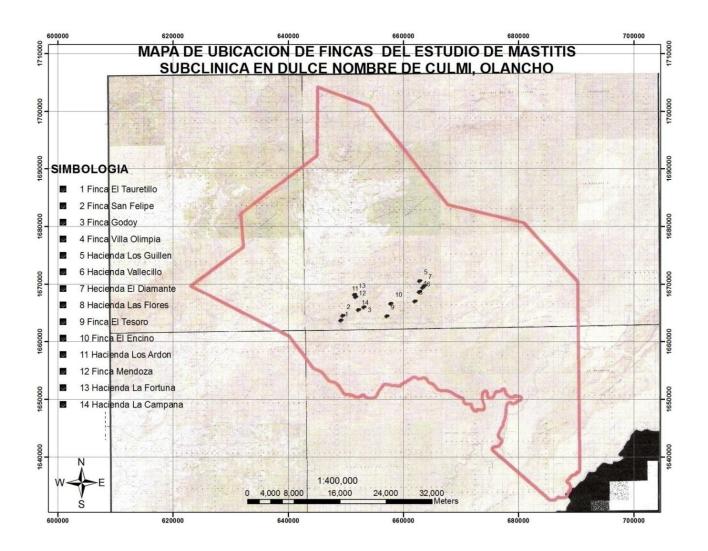
Seguridad alimentaria. s.f. Programa de control de mastitis para vacas lecheras infectadas con Streptococcus(en línea). Michigan, EUA. Consultado 15 mayo. 2011 (Disponible en http://www.food-info.net/es/bact/strep.htm.)

The new zealand farmer. 1978. Manual para el control de mastitis. Trad. A, Ferreira. Montevideo, Urg. Hemisferio Sur. 9p.

Wolter W; Catañeda VH; Klopper B; Zschoeck, M. 1999. La mastitis bovina (en línea). Instituto Estatal de Investigaciones de Hesse. Consultado 14 de abr. 2011. Disponible en http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2002/912/pdf/p020003.pdf.

IX ANEXOS

Anexo 1. Mapa del municipio de Dulce Nombre de Culmi Olancho con los puntos de referencia donde se ubican las fincas donde se desarrollo la investigación.



Anexo 2. Agentes causales de mastitis

Tipo de Mastitis	Agente Causal				
	Staphylococcus aureus				
Mastitis Contagiosa	Streptococcus agalactiae				
	Corynebacterium spp				
	Mycoplasma spp				
Mastitis Ambiental	Escherichia coli,				
	Klebsiella spp				
	Streptococcus dysgalactiae				
	Streptococcus uberis				
	Enterococcus spp				
	Pseudomona spp				
	levaduras				
	Prototheca spp				
	Serratia marcescens				
	Nocardia spp				

Fuente: Revista electrónica de veterinaria, 2008

Anexo 3. Cambios producidos por la mastitis subclínica en la composición de la leche.

Componentes	Leche normal	Leche con altos valores de RCS
Grasa	3.5	3.2
Lactosa	4.9	4.4
Proteína total	3.61	3.56
Caseína total	2.8	2.3
Suero	0.8	1.3
Albúmina	0.02	0.07
Lactoferrina	0.02	0.10
Immunoglobulinas	0.10	0.60
Sodio	0.057	0.105
Cloro	0.091	0.147
Potasio	0.173	0.157
Calcio	0.120	0.04

Fuente: Consejo Nacional de la Mastitis de los Estados Unidos.

Anexo 4. Pasos a seguir para aplicar el California Mastitis Test.

- Desechar la leche del pre ordeño (primeros dos a tres chorros).
- Ordeñar uno o dos chorros de cada cuarto en cada una de las placas de la paleta.
- > Inclinar la paleta de modo que se deseche la mayor parte de la leche, hasta nivelar el volumen de esta.
- ➤ Añadir a la leche un volumen igual de reactivo
- Mezclar el reactivo y examinar en cuanto a la presencia de una reacción de gelificación.
- > Registrar la lectura de la reacción al CMT en la hoja de toma de datos.
- ➤ Antes de continuar con la vaca siguiente se debe enjuagar la placAnexo 5 Interpretación de los resultados de CMT

Anexo 5. Interpretación de los resultados de la CMT



Fuente: Universidad de Michoacán, 2007

Anexo 6. Relación del CMT con conteo de células somáticas y descenso en la producción.

Reaccion (CMT)	Conteo de células somáticas/ml	Formación de gel	Observaciones en la leche	Perdidas en productividad %
0	100.000,00	Nada	Mezcla homogénea y fluida	Se considera normal
T	300.000,00	Poco	Adherencia en el fondo de la placa	8
1	900.000,00	Poco- moderada	Gel levemente espesa	9 a 18
2	2.700.000,00	Moderada	Gel moderadamente espesa	19 a 25
3	8.100.000,00	Mucha	Gel frecuentemente espeso y dendo	mayor a 25

Fuente: Philpot y Nickerson, 1992

Anexo 7. Interpretación y registro de resultados de la california mastitis test.

Negativo: 0	El estado de la solución permanece inalterado. La mezcla sigue en estado líquido. El 25% de las celulas son leucocitos polimorfonucleares
Trazas:	Se forma un precipitado en el piso de la paleta que desaparece pronto. De un a 30% son leucocitos polimorfonucleares.
1 (+):	Hay mayor precipitado pero no se forma gel. De un 30 a 40% son leucocitos polimorfonucleares
2 (++):	El precipitado se torna denso y se concentra en el centro. De un 40 a 70% son leucocitos polimorfonucleares
3 (+++):	Se forma un gel muy denso que se adhiere a la paleta. De un 70 al 80% son leucocitos polimorfonucleares.

Fuente: DVG, 2002.

Anexo 8. Hoja de registro de aplicación de la prueba de California Mastitis Test.

Fecha _____

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

Departamento de Producción Animal

Diagnostico de mastitis bobina en el hato ganadero del Municipio de Dulce Nombre De Culmí Olancho.

No	Identificación de la vaca		Cuartos			Periodo de Lactancia (días)							
	Numero o Nombre	Raza	AD	AI	PD	PI	30	60	90	120	150	180	21
	Nota: AD: anterior derectizquierdo.	cho AI: a	interior	izqui	erdo l	PD: p	oste	rior c	lerec	ho PI:	poster	ior	
	Numero de vacas muestr												
	Porcentaje de vacas posi	tivas —											
	Porcentaje de cuartos po	sitivos_											

Anexo 9 Encuesta

UNIVERSIDAD NASIONAL DE AGRICULTURA

Departamento de Producción Animal

ENCUESTA PARA LA DETERMINACION DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN LA REGIÓN DE DULCE NOMBE DE CULMI OLANCHO.

1. DATOS GENERALES Nombre de la finca
Ubicación ————
Propietario de la finca————————————————————————————————————
Distancia de la finca a la planta
Nombre del encuestador
II. MANEJO DE LAS VACAS DE ORDEÑO
1. Numero de vacas en ordeño.
1. <10 3. De 2130 5. De 4150
2. De 1120 4. De 3140 6. >50
2. Lleva registros de los casos de mastitis al mes.
 Si No Época de mayor número de casos.
 Enero a Abril Mayo a Agosto Septiembre a Diciembre
4. Que productos utiliza para el control de mastitis.
14

2 5
36.
5. Frecuencia de aplicación de estos productos.
1. Una vez al día 2. Una vez cada 3 días 3. De vez en cuando
4.Una vez por semana 5. Una vez cada mes
6. Numero de vacas descartadas por mastitis el año pasado.
 Una vaca Dos vacas Je tres a cinco vacas
7. Se les suministra la leche con mastitis a las terneras.
 Si No Ordeñan por ultimo las vacas que presentan mastitis
 Si No Lleva registros de producción.
1. Si 2. No
Cantidad de litros por vaca por día.
1. 1 a 5 3. 11 a 15 2. 6 a 10 4. > 15
10. El ordeñador usa las uñas cortadas y limpias
1. Si 2. No 11. Lavan la ubre de las vacas antes del ordeño 1. Si
2. No
12. Desinfecta la ubre de las vacas antes del ordeño 1. Si 2. No
Que productos utiliza.

13. Tipo de ordeña
 Ternero al pie manual Ternero al pie mecanicánico Mecánico
14. Meses en lactación.
 De uno a dos meses De tres a cinco meses De seis a ocho meses De nueve a diez meses
15. A Los cuantos partos descarta sus vacas productoras de leche.
16. A perdido cuartos de las vacas en producción por causa de la mastitis
Si No Cuantos a perdido? 1. De 1 a 5 2. De 6 a 10 3. De 11 a 15 4. De 16 a 20 5. Mayor de 21
17. Utiliza el secado de las vacas al finalizar la época de la lactancia
1. Si 2. No
Que productos utiliza
17. Se les permite a los animales meterse a las represas, aguas estancadas o lodos
1. Si 2. No 18. Posee instalaciones
1. Si

2. No
Condición
 Excelente Buena Mala
19. Identifica a sus animales
1. Si 2. No
Formas de identificación
 Arete Fierro Nombre Tatuaje Muescas
20. Es aceptable la condición general de los animales
1. Si 2. No
21. El programa de control de moscas es el efectivo
 Si No Que productos utiliza para su control
22. Hay un veterinario colaborando con programa de salud en el hato
 Si No Utiliza los servicios de laboratorio Si No