



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO



21
Zej

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

"DETERMINACION DE LA CONCENTRACION MINIMA
INHIBITORIA (M. I. C.) DE MICROORGANISMOS
INVOLUCRADOS EN CASOS DE MASTITIS
SUBCLINICA EN BOVINOS"

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES-CUAUTITLAN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

ALFREDO GONZALEZ GONZALEZ



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

MVZ JOSE ANTONIO LICEA VEGA

ASESORES: MVZ JAVIER HERNANDEZ BALDERAS

Q. F. B. SERGIO HERNANDEZ ARESTI

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES-CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FEB-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

"Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria
(M.I.C.) de microorganismos involucrados en casos de
Mastitis Subclínica en Bovinos".

que presenta el pasante: Alfredo González González

con número de cuenta: 8430686-7 para obtener el TITULO de:
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 29 de enero de 1996

PRESIDENTE	MZ. Gilberto Ochoa Uribe
VOCAL	MZ. José Antonio Licea Vega
SECRETARIO	MZ. Heriberto Contreras Angeles
PRIMER SUPLENTE	MZ. Rafael Pérez González
SEGUNDO SUPLENTE	MZ. Silvano Trejo Nuñez

[Firma]
[Firma]
[Firma]
[Firma]
[Firma]

Agradecimientos:

*A mis padres Luis y Guadalupe
Por haber consagrado la mejor y más extensa de sus vidas al bienestar y superación de sus hijos. Por su
abnegable entrega e inextinguible paciencia, esfuerzos y sacrificios.
Por su gran ayuda y el haber sembrado en mí el deseo de superación.*

*A mi esposa Magdalena. Con Amor.
Motivo de todo mi esfuerzo y dedicación.*

*A mis hermanos.
Héctor, Dolores, Roberto, Dilia, José Luis, Javier, Daniel, Guadalupe y Judith.*

*A mis sobrinos.
Como ejemplo a seguir.*

Para el M.V.F. Antonio Licea Vega mi asesor de tesis, con respeto por su valiosa orientación y ayuda.

*A mi hermano Roberto.
Gracias por su grandioso apoyo para la realización de este trabajo.*

*A Laboratorio Merck de México.
Por su cooperación.*

*Para el D.F.B. Sergio Hernández Arellano.
Por su grandiosa participación para este trabajo.*

A Tangamandapio Mich.

ÍNDICE.

RESUMEN	
INTRODUCCIÓN.....	3
OBJETIVO.....	28
HIPOTESIS.....	29
MATERIAL Y MÉTODOS.....	30
RESULTADOS.....	38
DISCUSIÓN.....	42
CONCLUSIONES.....	45
BIBLIOGRAFÍA.....	46

RESUMEN:

En Tizayuca en el Estado de Hidalgo en el establo 179 se llevó a cabo un muestreo a 360 vacas en producción de leche, a todas se les realizó la prueba de California, de las cuales 18 resultaron positivas a dicha prueba. Se tomaron muestras en forma aseptica de cada una de las vacas que dieron positivo. Las muestras fueron remitidas al laboratorio de Microbiología de la F.E.S. Cuautitlán y fueron sembradas y analizadas mediante pruebas bioquímicas para la identificación de la especie.

De las 18 muestras el 44% pertenecieron al Género *Staphylococcus aureus*, el 34% al *Streptococcus agalactiae* y 22% al género *Micrococcus spp.* Todos los microorganismos identificados fueron sometidos a la prueba de la Concentración Mínima Inhibitoria (M.I.C.) en el Laboratorio Merck de México, con la finalidad de determinar la sensibilidad y resistencia a los antimicrobianos más comúnmente utilizados.

INTRODUCCIÓN

La ganadería lechera es una actividad que se caracteriza por una estructura productiva heterogénea. Al lado de un grupo reducido de unidades de producción tecnificada, existe una variada gama de explotaciones lecheras de tipo doméstico y semicomercial. (3).

A través de la estructura actual de su oferta, demandan cantidades considerables de este alimento. En 1988 el beneficio de esta ganadería se nota al conocer la producción de la leche estabulada aportó 2,172 kilos de materia seca con 680 kilos de proteína digestible, datos que muestra la eficiencia, la utilidad alimenticia que posee la leche, sin embargo, en 1989, la producción de leche fue de aproximadamente 5,890 millones de litros de leche, en este mismo año 2,600 millones de litros de leche hicieron falta para cubrir las necesidades de la población nacional. Ciertas políticas de gobierno junto con las condiciones económicas actuales, hacen incierto el futuro para la ganadería lechera en México (2).

Desgraciadamente los errores en política económica de México conducen al colapso en la producción alimentaria especialmente los productos provenientes del campo, la producción leche es una de las afectadas y seguramente será difícil su recuperación, a menos que se establezca un cambio en la política económica dirigida al campo y en especial a la protección de los productos nacionales y del apoyo para incrementar la producción a niveles competitivos a nivel internacional.(2).

"Se calcula que para 1994 la producción de leche será de sólo 6000 millones de litros, y que el faltante será de 3,550 millones de litros, situación que se agravará para el año 2006 con la cifra de 5,633 millones de litros que harán falta. Es muy cierto que la producción de proteína y materia seca contenidas en un kilo de leche, tomando en cuenta la utilización de una hectárea en un año, hacen de la leche un alimento superior a otros." (2).

por el momento, la producción lechera es un negocio rentable con respecto a otros sistemas de explotación animal, los problemas a los que se enfrenta son complejos y variados, al respecto los especialistas en bovinos .

"Existe la opinión, misma que compartimos, de que México dispone de recursos naturales suficientes para desarrollar una ganadería lechera dinámica y autosuficiente. No obstante, la carencia de tecnología, material genético, sanidad, alimentación adecuada, manejo, etc. han determinado que la ganadería lechera tropiece con un variado número de problemas que no le han permitido avanzar desde el punto de vista (eficiencia y problemas de enfermedades). (3).

Uno de los problemas a los que se enfrenta la industria lechera , son los problemas infecciosos, dentro de éstas, una de las más importantes es la mastitis y en particular la de tipo subclínica.

Una de las características fisiológicas de cualquier órgano, tejido o célula, cuando se ve afectado por algún proceso infeccioso disminuye su función para poder utilizar toda su energía en el combate y control de la infección que lo afecta. Esto sucede en el corazón, el hígado, los pulmones, la glándula mamaria no es la excepción, cuando se ve afectada por una infección disminuye invariablemente su función es decir se reduce la producción de leche. Esta es una de las razones que hace menos rentable la explotación de ganado lechero. Con el objeto de estudiar el universo de posibilidades que merman la producción lechera nos hemos dado a la tarea de investigar cuál o cuáles son los agentes patógenos que ocasionan la mastitis subclínica y cuál o cuáles son los antimicrobianos que son más efectivos en contra de esos agentes patógenos y así poder ofrecer a los industriales de la leche una respuesta más orientada y real a sus necesidades de control de infecciones y tratamiento en consecuencia elevar la producción lechera o por lo menos que no se reduzca. (4).

Para los veterinarios especialistas en la mastitis es una enfermedad grave. En el reciente congreso realizado en la ciudad de Torreón Coah. decían:

"La mastitis bovina es una de las enfermedades que más afecta a la industria lechera hasta un 20%, al grado que ocasiona pérdidas económicas calculadas en más de siete millones de nuevos pesos anuales tal cifra comprende la pérdida ocasionada por animales muertos, enfermos, prematuros, reducción en la calidad y cantidad de la leche o la eliminación del lácteo por no resultar apto para el consumo humano, así como gastos del medicamento y veterinario"(4).

El origen de esta enfermedad la ubican dentro de los siguientes factores:

"Factor alimentación.

Este factor en la industria láctea es tal vez uno de los más importantes, ya que una mala alimentación en el ganado repercutirá en los demás factores en forma proporcional. Por lo tanto, cualquiera que sea el tamaño del hato el ganadero deberá poner especial atención, en tres importantes elementos:

1. Maximizar sus potreros o praderas.
2. Una dieta balanceada en cualquier etapa de crianza, desarrollo y producción - secas
3. Utilización de aditivos y suplementos.

Es necesario mencionar la importancia significativa que tiene el manejar correctamente los potreros o praderas, ya que éstos darán el mayor aporte alimenticio, es la forma más barata de mantener al ganado.

Una dieta balanceada cuidando sobre todo el aporte energético en bovinos es esencial, existiendo actualmente aditivos y suplementos entre ellos proteínas, grasas de sobrepeso, enzimas, carbonatos, minerales con aminoácidos, etc. Los que ayudan en gran medida a los animales para incrementar la producción, siendo ésta el conjunto de factores que influyen, ya sea en forma positiva o negativa con el objeto de que la vaca produzca (5).

Como se sabe desde tiempos remotos un animal bien alimentado es un sujeto menos propenso a las infecciones, por el contrario, una vaca mal nutrida puede fácilmente desarrollar cualquier tipo de infección incluyendo la mastitis; y no sólo eso, sino que puede ser la responsable de la infección a toda el hato, por lo tanto, un hato mal nutrido puede ser el caldo de cultivo para la generación de todos los tipos de mastitis.

Factor Genético - Reproductivo.

El mejoramiento de un hato lechero, se puede obtener de diferentes maneras, ya sea mediante la adquisición de ganado, crianza de animales superiores de reemplazo, inseminación artificial o transferencia de embriones que sean genéticamente superiores, junto con la eliminación de aquellos animales que no logran satisfacer las metas de producción deseadas, impuestas por el propietario del ganado. (5).

La selección de animales con altos niveles de producción láctea, tendrá que basarse en una evaluación exacta de la capacidad y su habilidad para transmitir esos genes.

En el factor reproductivo del ganado lechero, se han dado un gran avance, sobre todo en los aspectos de inseminación artificial y transferencia de embriones. En el primero, se ha modificado y sofisticado; los sistemas de evaluación de la producción, así como la selección genética del macho y la hembra, ofreciéndonos una más exacta predicción de lo que adquirimos cuando compramos semen de toros probado o vaquilla para reemplazo. Es así que la inseminación artificial ha revolucionado la crianza de ganado lechero, ya que a través de ésta se ha obtenido un incremento en la producción láctea. (5).

Factor Climatológico.

Es sabido por todos que los aspectos tales como el clima, la temperatura, el grado de humedad relativa, la altitud, la latitud, el grado de radiación solar, influyen en el comportamiento de los animales, y los bovinos no son la excepción, sin embargo no se explica con profundidad cómo estos factores afectan ese comportamiento. Como ejemplo, la cantidad de grasa en leche varía según la estación del año y uno responderá que es gracias a la alimentación, aún así en hatos controlados en granjas experimentales llevando la misma alimentación durante todo el año, los animales sufrieron cambios significativos en su producción láctea así como en su composición. Por lo tanto, esto es sólo, una muestra del gran estrecho que falta por investigar y para no olvidar que es uno más de los factores que de alguna forma afectan al ganado en su producción de leche. (5)

Factor Sanidad.

El ganado lechero está expuesto cada día a una gran presión de producción. Aunado a una mayor eficiencia con esto quiere decir, que las vacas, además de producir más leche cada día y de mayor calidad deben además quedar gestantes lo más rápidamente posible después del parto con el objeto de llegar a obtener una ternera cada año así como no deberán enfermarse en mucho tiempo. (5)

1. Definición:

Mastitis.

La palabra mastitis se deriva de la raíz griega $\mu\alpha\sigma\tau\omicron\sigma$ *mastos* que significa pechos, glándula mamaria, mama e $\iota\tau\iota\sigma$ *itis* que quiere decir inflamación. Se a definido por lo tanto, como una inflamación de la glándula mamaria, caracterizada por cambios físicos, químicos y bacteriológicos en la leche por alteraciones más o menos graves en el tejido glándular. (22).

Para que un microorganismo pueda ocasionar una infección necesita de varios factores, en primer lugar es necesario que se pongan en contacto el agente patógeno y el huésped, y dependiendo de las condiciones de uno y de otro determinará la evolución de la enfermedad. Existen un sinnúmero de agentes patógenos, pero sólo algunos de ellos pueden desarrollarse adecuadamente en la leche e infectar el tejido glandular. Aproximadamente el 70% de las mastitis son ocasionadas por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus dysgalactiae*.

La mayor parte de las transmisiones del *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* ocurren durante la ordeña vía ordeñadores (manos), toallas y cubetas. Los principales reservorios de ambos microorganismos son los cuartos del pezón colonizados así como las lesiones infectadas del pezón. Estos organismos son transmitidos de vaca a vaca, principalmente a través de la ordeña por las manos de los ordeñadores.

La mastitis puede ser clasificada según su duración en forma: clínica, aguda, superaguda, subclínica, crónica y no específica.

2. Manifestaciones Clínicas.

Como podrá observarse la clasificación de la mastitis depende básicamente del tiempo de evolución que tiene la enfermedad, así una mastitis que se inicia en forma brusca afectando uno o varios cuartos se clasificará como aguda.

El grado de afección como en todas las afecciones depende de dos aspectos, la resistencia del huésped y del grado de virulencia del agente patógeno. (21).

"Según la resistencia del tejido mamario y la virulencia de las bacterias invasoras pueden observarse todos los grados de variación en los signos desde el inicio gradual de fibrosis pasando por inflamación aguda sin reacción general a toxemia grave con signos reales manifiestos, como grumos, escamas o secreciones descoloradas. El cuarto puede estar también ligeramente inflamado y sensible." (20) y (21).

Dado que la mastitis es un estado patológico que afecta a la vaca en cuanto se encuentra en estado productivo, las manifestaciones patológicas no sólo se observarán en el tejido mamario

sino también en la leche, por esto los autores referidos nos definen los diferentes grados de mastitis de la forma siguiente:

3. Clasificación.

3.1. Mastitis Aguda.

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

3.2. Mastitis Super Aguda.

Los casos de mastitis super aguda son poco comunes, e incluye 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.

3.3. 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. Algunas personas no alcanzan a preciar la importancia económica de la mastitis subclínica, por que la leche mantiene su apariencia normal. Esta clase de enfermedad es importante por las siguientes razones:

- a). Es de 15 a 40 veces más frecuente que su manifestación clínica.
- b). Usualmente precede a la forma de mastitis clínica.
- c). Es de larga duración.
- d). Es difícil de detectar.
- e). Reduce la producción de leche.
- f). Afecta la calidad de la leche.

Esta forma es también muy importante porque constituye una reserva de microorganismos que transmiten la infección a otros animales en el hato.

3.4. Mastitis Crónica.

Puede comenzar en cuales quiera de las formas clínicas o también como mastitis subclínica y 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.

3.5. Mastitis Inespecífica.

Se conoce también como mastitis aséptica, esta forma ocurre cuando los microorganismos no pueden ser aislados en la muestra de leche (conteo de células somáticas)⁹. (20), (21).

4. Fisiología de la Glándula Mamaria:

Para la interpretación entender mejor la fisiopatología de la mastitis es necesario el conocimiento de la anatomía y fisiología del órgano involucrado.

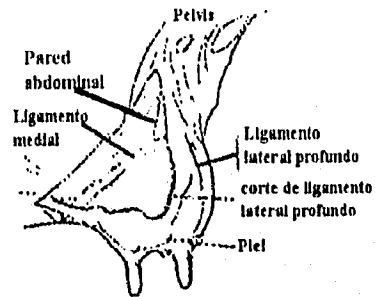
La glándula mamaria de las vacas está formada realmente por cuatro glándulas individuales (cuartos) que constituyen lo que se llama comúnmente como ubre. La ubre está dividida en dos mitades por una canaladura longitudinal llamada canaladura intramamaria. En algunas ubres los cuartos anteriores y posteriores también están separadas por otra canaladura. Los cuartos posteriores forman la porción más grande de la ubre y secretan alrededor del 60% de la leche.

Las mitades izquierda y derecha de la glándula mamaria están separadas internamente por el ligamento suspensorio medio que está formado de dos capas de tejido conectivo. Aunque no existe una membrana específica que separe los cuartos anterior y posterior, los sistemas ductos son completamente independientes uno del otro.

Histológicamente la ubre está constituida por pequeñas áreas de tejido secretor rodeado de capas de tejido conectivo. La unidad del tejido secretor lo constituye el alvéolo.

Cada alvéolo cuya forma es más o menos esférica está formado por una sola capa de células epiteliales que rodean a una especie de cavidad o de lumen. Las células epiteliales descansan en la membrana propia cuya existencia fue posible definirla gracias al desarrollo de técnicas en microscopía electrónica. Los alvéolos contienen también células musculares. Estas células llamadas mioepiteliales están localizadas entre la membrana propia y las células epiteliales. Una característica peculiar de estas células musculares es de que no reciben inervación nerviosa y por lo tanto, no están regidas directamente por el sistema nervioso central. Algunos autores claman haber logrado encontrar cierto tipo de inervación nerviosa en las células. Sin embargo, esto no ha sido verificado por la mayoría de los investigadores. El mecanismo contráctil de las células mioepiteliales está únicamente bajo el control de la oxitocina, hormona hipofisiaria. Esta característica está compartida únicamente por las células musculares del útero que también sufrirá contracciones debido a oxitocina, bajo condiciones especiales (Sin embargo las células musculares del útero sí poseen inervaciones nerviosas y están controladas por el sistema nervioso central).

La principal fuente de sangre a la glándula mamaria es a través de la arteria pudenda externa que da una rama llamada arteria craneal mamaria que irriga a la región craneo dorsal de la ubre y una rama caudal. La arteria caudal mamaria provee de irrigación sanguínea a las tetas y a la porción caudal de la ubre. (18) y (19).



Ligamentos que soportan la ubre

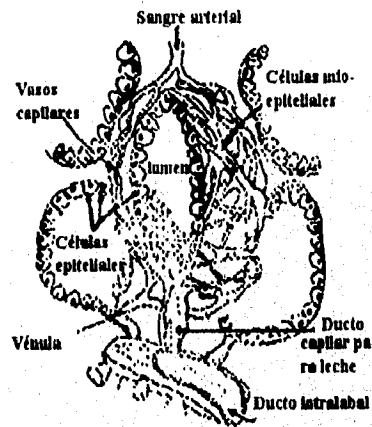


Fig. # 1 Anatomía de la glándula mamaria y corte histológico de su unidad funcional, el alvéolo

5. Etiología

Independientemente de que cualquier microorganismo pueda infectar la glándula mamaria, lo que nos interesa son las bacterias, ya que éstas no sólo son las más frecuentes sino que son las que más daño ocasiona y altera la producción lechera. Los microorganismos para que puedan infectar algún tejido necesitan de un ambiente adecuado, se pueden considerar los siguientes factores predisponente:

- 1) Prácticas de manejo deficientes.

Como ya se había comentado, el principal vector de transmisión de bacterias de una vaca a otra son las manos de los ordeñadores que mecánicamente llevan el inoculo.

2) Traumatismos.

Cuando el hato se encuentra a campo abierto y sobre todo en los lugares donde hay arbustos pequeños, las vacas con frecuencia se golpean la ubre e incluso llegar a tener heridas cortantes lo que al suspender la continuidad de la piel de la ubre pueden fácilmente dar las condiciones para el crecimiento bacteriano. Cuando el hato se encuentra en establos cerrados y en especial cuando alguna de ellas entra en calor, es frecuente que se golpean una a la otra. Esta situación aún es más grave cuando los golpes se presentan previo a la ordeña, y tienen la ubre llena y el canal mamario está más dilatado lo que favorece la entrada de las bacterias. (3).

3. Manejo inadecuado de antibióticos en el tratamiento de infecciones tanto de la ubre como de otros sitios, que altera el microsistema a nivel local.

Como vimos en algunos establos, donde estuvimos practicando la investigación, con frecuencia los terapeutas utilizan en forma inadecuada, los antibióticos, ya que ante una mastitis aguda o subclínica, implementan la aplicación de antibióticos que no corresponden con la sensibilidad de la bacteria causante de la mastitis, lo que altera aún más el microambiente y favorece el crecimiento de la bacteria que no es sensible al antibiótico que se está administrando.

Los agentes infecciosos causantes de mastitis pueden citarse los siguientes:

"*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aureginosa*, *Mycobacterium lacticola*, *Nocardia caviae* *Mycoplasma*, levaduras de los géneros *Cryptococcus*, *candida*." (9).

Sobre la incidencia de el germen que más ocasiona mastitis,

"La investigación de la frecuencia de las diversas infecciones en bovinos da una igualdad en los diferentes países, la característica es *Streptococcus agalactiae* como causante de mastitis bovina ha sido arrebatada a este germen en la última década por *Staphylococcus aureus*, especialmente en regiones donde se a empleado el uso inadecuado de las penicilinas en forma intensa y en aquellos lugares donde se practica el ordeño a mano." (12).

La identificación de los agentes causales, con frecuencia se hacen por procedimientos sofisticados que en los establos mexicanos difícilmente pueden llevarse a cabo.

"La identificación del agente etiológico por medio de cultivos y observaciones al microscopio con tinciones específicas, estudios serológicas y pruebas bioquímicas, las pruebas *in vitro* de sensibilidad de los agentes patógenos a las sustancias quimioterapéuticas y antibiogramas, complementan el estudio microbiológico de la mastitis" (9).

6. Patogénia y Epizootiología:

La crianza de ganado es uno de los recursos que se ha utilizado desde la prehistoria conocida al periodo en el cual el hombre agrupado en sociedad, aún no disponía de la escritura), es decir que el ganado es previo a la escritura. En afán de incrementar la producción lechera selecciono(9), aquellos individuos que inicialmente por selección natural eran más aptas para la producción lechera, hasta en los últimos años ha implementado sistemas complejos y sofisticados de ingeniería genética que permite la selección de razas más idóneas para tal fin..

"Por medio de la crianza artificial, el hombre ha creado ganado que posee glándula mamaria con una gran secreción glándular en exceso de los requerimientos normales de consumo por parte de la cría. A causa de un acondicionamiento anatómico y fisiológico que se lleva a cabo en la ubre para producir grandes volúmenes de leche, las glándulas se ven en consecuencias más susceptibles de ser afectadas lo que desemboca finalmente en mastitis.

Sin embargo, la aparición de la mastitis es más compleja de lo que a primera vista parece y quizá resulte más satisfactorio explicarla en tres pasos. (5).

6. 1. Invasión:

Fase en la cual penetran los microorganismos del exterior del pezón a la leche que se encuentra en el canal del mismo. Esta fase se ve favorecida cuando el esfínter del pezón se encuentra lesionado, facilitando la entrada de microorganismos. Prácticamente todos los casos provienen de la entrada y multiplicación de microorganismos en la glándula mamaria. Los principales vectores de los organismos son factores ambientales, suelo, cama, equipo de ordeño, toallas, manos de ordeñadores y el agua para lavar. (5).

6. 2. Infección:

Esta fase se caracteriza por que los gérmenes se multiplican rápidamente invadiendo el tejido glándular, una vez que las bacterias se encuentran en un ambiente propicio para su desarrollo y multiplicación, se valen de sus toxinas para invadir tejidos adyacentes. (5).

6.3. Inflamación:

La presencia de bacterias y/o toxinas en el tejido glandular, crea un efecto quimiotáctico sobre las células de defensa del huésped, lo que aumenta la afluencia de leucocitos, macrófagos y demás elementos que participan en la inflamación. Este fenómeno externamente se aprecia por la tumefacción, enrojecimiento, y aumento de la temperatura local. a esto es lo que se conoce propiamente como mastitis."

La mastitis es una enfermedad que probablemente viene desde tiempos muy remotos, el hombre en afán de cuidar y proteger su ganado, ha tenido que implementar algunos procedimientos terapéuticos, así en nuestro medio está la aplicación de ungüentos, hojas de plantas, resinas etc.) Con el desarrollo primero de los antimicrobianos como las sulfas en los

albores de este siglo y posteriormente de los antibióticos como las penicilinas desde Fleming (1929) crearon de momento la falsa expectativa de que se podía erradicar de una vez y para siempre la mastitis, sin embargo, la naturaleza a través de la "inteligencia" de las bacterias nos han demostrado que no es tan fácil resolver el problema. Ante el uso indiscriminado, inadecuado de las penicilinas, las bacterias desarrollaron enzimas capaces de inactivarla. (25).

"Con el transcurso de los años han aparecido microorganismos que son resistentes a la penicilina, como por ejemplo, algunas especies de *Staphylococcus* los cuales producen enzimas como la penicilinasasa y la betalactamasa que actúan separando el anillo beta lactámico de la penicilina, formando el ácido penicilánico inactivo que bloquea el mecanismo de acción de la penicilina en contra de dicho germen, debido a estos problemas se incrementaron las investigaciones para desarrollar nuevos antibióticos que actúan sobre gérmenes resistentes entre los cuales se descubrieron la oxacilina, cloxacilina, ampicilina, la nafcilina. y otros."(25).

7. Diagnóstico:

Depende en gran medida de la identificación de anomalías clínicas en la leche, como la presencia de grumos y tolondrones para ello necesitamos realizar unas pruebas como son:

- 1) Pruebas físicas: Paño negro, filtro o cedazo.
- 2) Pruebas químicas, cuantificación de cloruros, cambio de pH, prueba de whiteside.
- 3) pruebas biológicas: Wisconsin, prueba. de California, prueba de la catalasa, Whiteside modificada, prueba de Hotis, prueba. de Camp, Aislamiento bacteriológico.
 - a) Diagnóstico clínico, llevado a cabo por la observación y palpación, cuando el daño está hecho a la ubre es evidente.
 - b) Diagnóstico del laboratorio, general consiste en realizar una serie de pruebas para el aislamiento e identificación del agente causal.(1),(9) y (20).

7.1 Prueba de California:

En esta prueba se usa un detergente no-iónico (Alkil sulfonato de sodio) que desintegra a las células de la leche. Durante este proceso de desintegración, se forma un conglomerado de células que dan una apariencia gelatinosa. Mientras mayor sea el número de células más grande será esta especie de gelatina y se dará una calificación mayor. 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).(19),(20) y (21).

7.2 Prueba de Whiteside:

La mezcla de leche con una solución de NaOH al 4% ocasiona que aquella se relifique formando grumos que son visibles. Los grumos serán más grandes conforme la leche contenga mayor número de células somáticas. para hacer más visible la reacción es conveniente usar una placa de acrílico negro que puede dibujar 4 cuadros de 3cm x 3cm, uno por cada cuarto mamario. (19),(20) y (21).

7.3 Prueba de Wisconsin:

Esta prueba constituye una prueba objetiva y lo suficientemente sensitiva y barata como para considerarse en un programa para el diagnóstico rutinario de la mastitis subclínica.

Procedimiento: (Usando gradilla y reactivo " Diagnostast ")

a) Colocar 3 ml de leche en los tubos especiales WMT, agregar 3 ml de reactivo por abajo de la superficie de la leche y tapar los tubos. Mover la gradilla 10 veces, casi hasta posición horizontal, en 10 segundos más o menos. Después de mezclar dejar reposar todos los tubos durante 15 seg.

como reactivo puede usarse el mismo que se utiliza para la prueba de California diluido 1:1 con agua destilada, sin embargo, actualmente existen reactivos en el mercado en México elaborados para esta prueba que aparentemente son más sensibles .

b) Invertir la gradilla y en posición vertical dejar fluir la mezcla durante 15 segundos exactamente. Regresar la gradilla a la posición normal.

c) Medir exactamente la mezcla sobrante e interpretar.(19),(20) y (21).

7.4 Conteo de Células Somáticas.

Los contadores electrónicos y computarizados de células hacen posible el conteo de células somáticas en todas las vacas de ordeño, pertenecientes a la asociación D.H.I. (Daire Herd Improvement). Este conteo se hace con la mezcla total de la 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 deficiencias en el control de la mastitis. Como con la prueba de la palaeta, estos conteos no deben de usarse para identificar vacas para el tratamiento sin hacer antes un cultivo de la leche de cada cuarto individualmente.(21).

8. Tratamiento:

Una vez que se ha hecho el diagnóstico y se ha descartado la mastitis inespecífica, lo ideal es hacer el diagnóstico específico de cuál o cuáles son los microorganismo causantes de la enfermedad. Aún es más conveniente determinar cuál o cuáles son los antibióticos idóneos para su control. Una vez que se tiene cuales son los antimicrobianos a los cuales la bacteria es más sensible se tendrá que determinar cuál es el antimicrobiano más conveniente, la conveniencia depende por lo menos de los factores siguientes:

- a). Costo del antibiótico.
- b). Facilidad de administración.
- c.) Grado de permanencia a la glándula mamaria es decir, la capacidad que tiene el antimicrobiano de alcanzar niveles terapéuticos en la leche, lo que se determina con la relación entre el suero y la leche.
- d). Grado de toxicidad de antimicrobiano.
- e). Posibilidad de que pueda tener efecto terapéutico y crear reacciones incluso alérgicas en el humano que consuma la leche.

- f) Tiempo de eliminación del antimicrobiano
 g) Disponibilidad del antimicrobiano en la zona de producción.

En la actualidad en el mercado existe una variedad más o menos importante de antimicrobianos, que tienen propiedades farmacológicas distintas, con el objeto de guiar al terapeuta, se necesita conocer algunas propiedades intrínsecas al menos de los más importantes. A continuación se presenta en la siguiente tabla algunas características fundamentales de los antibióticos que encontramos en nuestro medio.

Clasificación de los antimicrobianos de acuerdo a su potencia de distribución a la glándula mamaria después de su aplicación intramamaria y parenteral.

Parenteral	Intramamario
Buena Distribución	Buena distribución
Sulfanilamida	Fluoroquinolonas
Eritromicina	Sulfanilamida
Oleandromicina	Otras sulfonamidas
Tioteina	Dapsona
Spiramicina	Nitrofuranos
Lincomicina	Eritromicina
Clindamicina	Oleandromicina
Penetamato	Tilosina
Cloranfenicol	Spiramicina
Trimetopim	Lincomicina
Tiamfenicol, Florfenicol	Clindamicina
Enrofloxacina, Norfloxacina	Penetamato
Tiamulina	Ampicilina
Distribución limitada	Amoxicilina
Otras sulfonamidas	Netacilina
Penicilina G	Cefalexina
Cloxacilina	Cloranfenicol
Ampicilina	Trimetoprim
Amoxicilina	Novobiocina
Cefalosporinas	Rifamicin
Tetraciclina	Distribución limitada
Novobiocina	Penicilina G
Rifamicina	Cloxacilina
Acido fusidico	Cefoxazol
Baja Distribución	Cefalonium
Estreptomicina	Cefapirina
Neomicina	Cefecetrilo
Kanamicina	Tetraciclina

Spectinometra	Baja distribución.
Gentamicina	Bacitracina
Polimixinas	Ticlocina
Vancomicina	Estreptomycin
	Neomicina
	Kanamicina
Otros	Amisidina
Gentamast	Gentamicina
Serva-sec	Polimixina
Albucidin	
Alboly	
Leconcin -Fuerte	
Piomastin	
Mastex	
Mastibistuc	
Mastijel	
Mastisin	
Mastosec	
Neomastit Esp.	

(4)

B.1 Farmacocinética

Los numerosos estudios de farmacocinética en los últimos años han permitido estudiar mejor y precisar la distribución de los agentes utilizados en las diversas especies animales.

La cinética sanguínea así como la distribución en el organismo de los antiinfecciosos nos han permitido evaluar las concentraciones de los principios activos en los órganos. Por otra parte, se puede conocer los valores usuales de las concentraciones mínimas inhibitorias de los antimicrobianos en contra de gérmenes patógenos.

La comparación entre las concentraciones en principios activos en los órganos y las concentraciones mínimas inhibitorias (M.I.C.) nos permiten responder objetivamente y con una cierta precisión a las cuestiones propuestas sobre la duración de la actividad real de los antimicrobianos.

A continuación se describe cuáles son los principales factores que pueden hacer variar la duración de acción de los antiinfecciosos inoculados por vía I.M. a nivel sanguíneo, así como la distribución en los órganos de la (M.I.C.). (18), (24).

Cinética sanguínea :

La cinética sanguínea puede ser modificada por diversos factores absorción, distribución, biotransformación y excreción.

Absorción :

Esta fase describe a los antibióticos en el animal y sus efectos en la concentración de la leche y en los pezones, ya que la administración se realiza a través de la difusión pasiva. Los antibióticos que se difunden más rápidamente desde la sangre hasta la leche. Algunos antibióticos, tales como polimixina, neomicina, estreptomycin, espiramicina se adhieren al pezón. y los que no se adhieren al pezón tienen corta vida. (18).

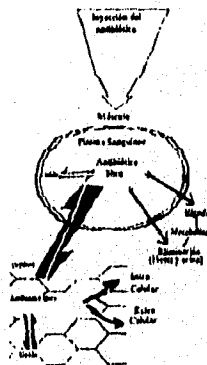


Diagrama esquemático del seguimiento de un antibiótico en el organismo.

Es evidente que la cantidad del medicamento disponible para el organismo constituye el elemento esencial que condiciona la duración de la acción terapéutica. Por lo tanto, es necesario mencionar los factores que pueden modificar la biodisponibilidad.

1.- Volumen de inyección:

La biodisponibilidad disminuye cuando el volumen de inyección aumenta no es deseable inyectar volúmenes superiores a 20 ml. para bovinos adultos, 10 ml. para animales de 100 kg. y 5 ml. para bovinos de 50 kg. independientemente de cual fuese el producto utilizado.

2.- Principio activo :

La absorción de un medicamento es más rápido cuando este es liposoluble de pequeño peso molecular y poco irritante. Un producto irritante puede provocar una inflamación local con una reacción fibrinosa ocasionando un enquistamiento de la preparación inyectada y muy mala biodisponibilidad del principio activo. (25).

3.- Forma galénica :

Las soluciones acuosas se absorben rápidamente y aseguran una buena biodisponibilidad, las soluciones se le pueden adicionar sustancias que permiten una reabsorción retardada.

4.- Solución aceitosa :

Son formas que se absorben lentamente, tal es el caso de las soluciones aceitosas. En particular existen sustancias cuyos principios activos se presentan bajo la forma de sales poco solubles. La naturaleza de estas sales influyen mucho sobre la absorción del medicamento después de la inyección i.m. De las sales hidrolizadas el principio activo es liberado y difunde hacia la circulación sanguínea, esta hidrólisis es más lenta, es más pesada. A modo de ejemplo, para una misma dosis inyectada por vía i.m. la penicilina procaínica tiene un pico de concentración plasmática 10 veces más elevada que la penicilina benzatínica, en contraparte la tasa de eliminación de la penicilina benzatínica es 5 veces menos que la procaínica. Por tanto, la asociación de estas dos sales permite obtener picos séricos elevados en forma rápida así como conservar una penicilina estable y prolongada. (26).

Difusión sanguínea :

La difusión sanguínea del principio activo al llegar a la circulación general se presenta bajo ciertas formas :

Forma libre :

Para cada infeccioso se define un porcentaje de fijación proteica que es constante para una especie animal dado.

Las consecuencias de la fijación proteica son muy importantes desde el punto de vista de la duración, sólo la forma libre es activa. La forma fija es distribuida y no eliminada esta juega un papel de reservorio y prolonga la concentración sanguínea. Es por lo tanto, es necesario conocer el porcentaje de fijación proteica de los antiinfecciosos y los factores que pueden influir. (26).

Factores que influyen en la fijación proteica:

En general de los recién nacidos presentan una afinidad baja de las proteínas hacia los medicamentos. Así la ampicilina y penicilina muestran una disminución de su porcentaje de fijación proteica. En los animales recién nacido, de edad avanzada o desnutridos se pueden encontrar en estado de hipoalbuminemia que origina una menor fijación de los antiinfecciosos.

Estados patológicos.

Las enfermedades provocan una hipoalbuminemia que induce una disminución del porcentaje de unión proteica. Desde el punto de vista farmacocinético cuando el porcentaje de fijación proteica de una sustancia disminuye, se puede llegar a un incremento de difusión en todo los órganos pero también una aceleración de su eliminación (4)

Biotransformación :

La presentación de sustancias exógenas (medicamento) en el organismo desencadena diversos procesos de eliminación y excreción. La forma libre del principio activo presente en la circulación sanguínea es transformado principalmente en el hígado, a través de procesos metabólicos, especialmente por medio de reacciones bioquímicas (enzimáticas). En general los medicamentos que son inactivos y aquellos que son hidrosolubles son más fácilmente eliminados

Eliminación:

La etapa final de la vida de un medicamento en el organismo tiene principalmente dos vías de eliminación:

Renal :

La excreción urinaria comprende los mecanismos fisiológicos de filtración glomerular, de secreción y absorción tubular, estos dos primeros disminuyen la duración de acción de los antiinfecciosos; el último, por el contrario permite un reciclaje de los principios activos e incrementa su biodisponibilidad

Biliar :

Permite la eliminación del compuesto por la bilis en el duodeno lo que permite una nueva reabsorción, a través del ciclo entero-hepático que es importante a considerar para la duración de acción de los antiinfecciosos. Por ejemplo, la oxitetraciclina en particular, la concentración biliar es 5 veces mayor a la concentración sanguínea, cuando ésta llega al duodeno una parte es absorbida y distribuida en los tejidos del organismo otra es eliminada por el intestino.(26).

Concentración en el organismo y principales factores de la distribución:

Es el proceso de la repartición del medicamento en el conjunto de tejidos y órganos, ésta depende de cuatro factores.

- 1.- Fijación proteica del compuesto a nivel plasmático.
- 2.- Propiedades fisicoquímicas del producto.
- 3.- Irrigación de los órganos.
- 4.- Afinidad particular de los tejidos.

Un antiinfeccioso se destruye mejor cuando presenta :

- a) Una unión pobre a la proteína plasmática.
- b) Una fuerte afinidad para las proteínas tisulares.
- c) Una liposolubilidad importante. (23).

Distribución en la glándula mamaria.

El porcentaje de los antiinfecciosos en la leche está en función de su tasa de ionización, de su liposolubilidad, de su porcentaje de unión a las proteínas plasmáticas, etc. El pH de la leche normal es de 6.6 a 6.8 por tanto es inferior al pH de la sangre que es de 7.4. Los antiinfecciosos ácidos (penicilinas, sulfas, etc.) tienen una relación de concentración leche/plasma muy inferior 0.2 a 0.4 Por el contrario los antiinfecciosos básicos tales como los macrólidos, polipéptidos tienen una relación próxima a uno.

En la mastitis el pH de la leche aumenta y se aproxima al pH de la sangre, así la concentración en leche de los antiinfecciosos ácidos aumenta, por el contrario los antibióticos básicos disminuyen sobre todo los macrólidos. No se conoce con certeza las concentraciones de los antiinfecciosos en los órganos pero es necesario de conocer la (M.I.C.) de los gérmenes patógenos.

La comparación entre estas dos concentraciones nos permiten establecer de una manera objetiva la posología y el ritmo de administración de cada uno de los antiinfecciosos en contra de los diferentes tipos de infecciones. (18).

Noción del (M.I.C.).

La noción del (M.I.C.). Es el resultado del estudio de la actividad in vitro de los antiinfecciosos sobre la cepa bacteriana. Esta representa la concentración más pequeña que mantenida de manera continua inhibe la concentración bacteriana este es un valor del laboratorio que permite apreciar el grado de sensibilidad de un germen a la acción de un antiinfeccioso. El grado determinado permite evaluar la duración de acción. Es necesario confrontar las (M.I.C.) y la concentración de los antiinfecciosos en los órganos.

La penicilina y cefalosporinas inhiben la síntesis de la pared celular de la bacteria, pero la muerte de la bacteria ocurre cuando la bacteria se rompe como resultado de su relativa hiperosmolaridad interior.

La actividad antimicrobiana de la gentamicina se reduce de 16 a 32 veces si el pH es ácido o bien por las fuerza iónicas y la osmolaridad encontrada en la pus. Los desechos de tejido pueden proveer del sustrato adecuado a la bacteria, para enmascarar los efectos del trimetoprim y las sulfonamidas. (18).

Via intramamaria :

Penicilina G.

Los preparados, sólo contienen desde 100,000 hasta 1 millón de U.I. las jeringas de uso intramamario contienen de 50 a 500 mg. de alguna penicilina sintética y se desconoce cómo se correlacionan estos niveles con los usos parenterales que recomiendan de 5 a 15 gr.

El Dimetilsulfóxido se ha utilizado de manera empírica como un vehículo para algunos antimicrobianos intramamarios aparentemente con mucho éxito.

Tradicionalmente se ha considerado que el paso de un fármaco de la sangre a la leche refleja razonablemente bien la concentración del fármaco en el tejido mamario, pero no siempre es así.

Algunas veces una distribución no tan sorprendente del fármaco a la leche puede reflejar una mejor concentración en el tejido mamario, por tal razón, muchos estudios adicionales deberán confirmar este detalle de distribución. Una acción bactericida (M.I.C.) con baja toxicidad puede ser considerada como un factor ventajoso para un antibacteriano dado. Este es el caso de las penicilinas (como grupo), las cuales, a pesar de sus volúmenes de distribución aparentemente bajos son eficaces para el tratamiento de la mastitis.(26).

En la mastitis subclínica se requiere un diagnóstico de laboratorio, la identificación bacteriológica del agente y su susceptibilidad a los antimicrobianos. Se ha confirmado que el tratamiento de la mastitis subclínica no debe llevarse a cabo si no existen prueba del laboratorio disponibles para que la relación costo-beneficio sea favorable a un tratamiento determinado, la tasa de curación debe ser mayor al 75 %. Este valor sólo se obtiene cuando el agente etiológico es *Streptococcus agalactiae* o *Streptococcus uberis*.

Mastitis clínica :

Penicilina G es el antimicrobiano de elección por cualquiera de las vías ya sea intramamario o combinada con una vía parenteral.

Si el agente causante de la mastitis subclínica es *Staphylococcus aureus* los rangos de curación 60-75%.

Fallas en la terapia de la mastitis:

Para los microorganismos Gram positivos, las fallas en la terapia puede resumirse de la siguiente manera.

-Concentración inadecuada del fármaco en el sitio de infección durante el tiempo que se requiere, debido a una dosis inadecuada, inadecuado intervalo de dosificación, inadecuada duración del tratamiento o inadecuada vía de administración.

-Inmunodeficiencia local y sobre población.(4).

-*Staphylococcus aureus* son resistentes a los fármacos que interfieren con la síntesis de la pared celular bacteriana, así como a los antimicrobianos que no llegan al comportamiento intracelular.

-Grado de avance de la mastitis.

-Condiciones anatomopatológicas que favorecen la reinfección : abscesos, lesiones o deformidades en el canal de la teta, o enfermedades metabólicas.(18).

Penicilinas:

Staphylococcus sp : Ha desarrollado resistencia contra las penicilinas, mientras que los *Streptococcus sp*; son todavía sensibles. Más del 82% de las cepas son sensibles. A pesar de esto se ha generado cepas resistentes de *Streptococcus agalactiae*. la resistencia a las penicilinas incluye a derivados resistentes a las penicilinas como la Cloxacilina. Desafortunadamente como ya se menciona es más común encontrar mastitis causada por el E.coli. que por *Streptococcus agalactiae*. las penicilinas se distribuyen uniformemente, pero baja concentración en el tejido mamario y encuentra mayores concentraciones en las glándulas afectadas excepto en áreas necróticas. (18).

Entre todas las penicilinas que se encuentran disponibles en el mercado, Cloxacilina es más utilizada para tratar casos de mastitis clínica. La efectividad de la Cloxacilina en las mastitis subclínica es menor que el tratamiento en las mastitis clínica.(18).

Comparativamente, la Ampicilina tiene una difusión más amplia dentro del tejido mamario que la Bencilpenicilina G. por vía parenteral se requiere una dosis de 10 a 20 mg./kg. i.m. o i.v. la infusión intramamaria de 60 a 65 nig/ cuarto de 3 a 5 días, incrementa su concentración y su

eficacia y puede combinarse con la Benzilpenicilina parenteral. se ha estimado que tiene una eficacia combinada del 50% contra *Staphylococcus* y *Streptococcus*; el efecto combinado de la

Cloxacilina con la Ampicilina 200mg y 75 mg. respectivamente, administrados de manera intramamaria, parece ser más aditivo por lo que esta combinación es una elección común en el tratamiento de la mastitis.

Se recomienda un tiempo de retiro de 108 hr. se ha diseñado otras combinaciones de Penicilinas como la infusión intramamaria de Cefapirina Benzatinica (300 mg.), Dehidroestreptomocina (4gr.), y la Benzilpenicilina G. Procaínica (1 000,000 U.I.) con los buenos resultados. En este último caso sería necesario determinar si estas grandes dosis pueden inducir cambios, efectos adversos en el tejido glándular. (23)

Cefalosporinas :

Se han utilizado recientemente para el tratamiento y la prevención de la mastitis bovina; por ejemplo; la Cefoperazona (250 mg./cuerto). da un 80% de efectividad contra los patógenos más comunes y se han observado poca resistencia. son atóxicas, no irritantes y persisten en la glándula mamaria a concentraciones útiles por aproximadamente 48 hr. después de su administración intramamaria, se ha descrito como una ventaja en la terapia de mastitis debido a que solamente se requiere una sola dosis. Por ejemplo, existe en el mercado glicinato de cefalexina con buenos resultados. La combinación de cefoxazol y penicilina también ha sido eficaz. La cefapiridina benzatinica y la cefoperazona a razón de 500 mg./cuarto han demostrado ya su eficacia.

El ceftiofur, la cefalosporina más utilizada en veterinaria tiene variables farmacocinéticas adecuadas para el tratamiento de la mastitis, tanto para las causadas por Gram positivos como por Gram negativos pero aun no se informa de su eficacia clínica de campo. (18).

Tetraciclínas :

Las tetraciclínas alcanzan buenas concentraciones en tejido mamario después de su administración parenteral. La oxitetraciclina en dos pirrolidona a una dosis de 20 mg./kg./día I.M. alcanza concentraciones bactericidas óptimas (M.I.C. = 1mg/ml) por 72 hrs. con un tiempo de retiro aproximadamente de 96 hrs. No se alcanzan concentraciones óptimas (mayores a 10 mg/ml) contra la mayoría de anaerobios posiblemente con el efecto combinado de una Tetraciclina amortiguada en infusión, más el uso paternal de doxicilina que es una tetraciclina altamente liposoluble, se pueden alcanzar concentraciones bactericidas óptimas contra anaerobios. Se debe tener en mente que las tetraciclínas son irritantes para el tejido mamario cuando se aplican directamente, y evidentemente el retiro del ordeño deberá ser muy prolongado. (18).

Macrólidos :

La eritromicina y la tilosina se han utilizado para el tratamiento de la mastitis con un éxito considerablemente debido a su alta difusión al tejido mamario y a la leche. Se les aplicó por vía parenteral. intramamaria y 1 ml. / 20 Kg. de peso vivo. / 12 hr. por ambas vías. Como es común en la quimioterapia de enfermedades bacterianas, su sobre uso genera rápidamente resistencias bacterianas. A pesar que la lincomicina y la espamicina pertenecen a otros grupos, por su comportamiento cinético se incluyen en este grupo. Adicionalmente, se ha visto resistencia cruzada entre la eritromicina y la lincomicina. La lincomicina se concentra en tejido mamario pero puede producir severos efectos colaterales en ganado, por lo que no se recomienda la administración conjunta de dos macrólidos o de lincomicina y macrólidos, debido a que compiten por el mismo sitio de acción y sus efectos serán menores en el lugar de aditivos. La espamicina es comparable a los obtenidos con la cloxacilina para mastitis originada por Gram positivos.

La eritromicina se recomienda generalmente la vía intramamaria y parenteral conjuntamente. La oxitetraciclina-tilosina resultó útil en casos de mastitis inducida por *Pasteurella* sp, resistente a tilosina únicamente. Los valores de (M.I.C.) de la tilosina contra *Streptococcus* beta-haemolytico, *Staphylococcus aureus* y *Corynebacterium pyogenes* son relativamente bajos, 1mg/ml.(18)

Aminoglicósidos.

Debe recordarse que los residuos de la gentamicina y otros aminoglicósidos pueden estar presentes en el leche por largos periodos. Se sugiere un tiempo de retiro de 8 a 10 ordeños después del uso parenteral de gentamicina y de 4 a 13 ordeños después de la administración de gentamicina u otros aminoglicósidos por vía intramamaria. Algunos autores sugieren que se requiere más de 36 días después de su administración intramamaria. En contraste, la kanamicina sólo requiere 48 hrs. después de su administración intramamaria y se dice que, junto con la espiramicina, es eficaz contra cocos Gram positivos (kanamicina 50 mg + espiramicina 400 mg/cuarto). Debe tenerse en mente que la leche puede contener residuos después de la administración intrauterina de estos antibióticos.(18).

Los antimicrobianos de acuerdo a sus características propias determinan su farmacocinética, en la siguiente tabla se puede apreciar algunos elementos farmacocinéticos de los antibióticos más comúnmente utilizados en la clínica.

Distribución de los agentes antimicrobianos desde la sangre hasta la ubre o dentro de la ubre después de la administración intramamaria en rumiantes lactantes.(23).

Droga	Quím. natural	Liposolubilidad	Conc. leche-suero	Distribución parenteral	Intramamaria.
Sulfanilamida	Acido	Moderada	0.97	Bueno	Bueno
Penicilina G	Acido	Moderado	0.2	Limitado	Limitado
Cloxacilina	Acido	Moderado	0.22	Limitado	Limitado
Ampicilina	Acido	Alto	0.26	Limitado	Bueno
Cephaloridina	Acido	Moderado	0.25	Limitado	Bueno
Rifampin	Acido	Alto	1.1	Limitado	Bueno
Trimetoprim	Básico	Alto	-	Bueno	Bueno
Aminoglicosidos	Básicos	bajo	0.5	Pobre	Pobre
Polimixina B	Básico	Bajo	0.3	Pobre	Pobre
Macrolidos	Básico	Alto	4-8	Bueno	Bueno
Lincosamidas	Básico	Alto	4	Bueno	Bueno
Cloranfenicol	Alcohol	Alto	1	Bueno	Bueno
Tetraciclina	Amphotérica	Moderada	0.6-1.4	Limitado	Limitado

Antibióticos para uso sistemático en el ganado.

Antibióticos	Absorción oral	solubilidad en lípidos	leche suero	niveles en orina
PENICILINAS				
Penicilina G	baja	baja	0.25	alta
Diclosacilina	alta	baja	0.25	media
Ampicilina	media	baja-media	0.25	alta
Auxoxicilina	alta	baja-media	-	alta
Carbencilina	baja baja	-	alta	
Cefalosporinas				
Cefaloridina	baja	baja	0.25	alta
Cefalotina	baja	baja	baja	alta
Aminoglicósidos				
Dihidroestreptomina	baja	baja	0.8	alta
Neomicina	baja	baja	0.5	alta
Kanamicina	baja	baja	0.7	alta
Gentamicina	baja	baja	0.4	alta
Espectinomina	baja	baja	0.8	alta
Macrólidos				
Eritromicina	variable	alta	4	alta
Tilosina	alta	alta	4	alta
Lincomicina	media	media	5	baja
Tetraciclinas				
Tetraciclina	alta	media	1	baja
Oxitetraciclina	alta	baja	0.8	alta
Clortetraciclina	alta	media	0.9	alta
Minociclina	alta	muy alta	1.5	baja-media
Doxiciclina	alta	alta	1.5	media
Sulfonamidas				
Sulfadiazina	alta	baja	0.15	alta
Sulfadimejoxina	alta	media	0.25	media
Sulfamerazina	alta	baja-media	0.3	alta
Cloranfenicol	alta	alta	1	media

Dosificación Antibiótica y niveles séricos en el ganado.

Antibióticos	Via adm	T.med.s ucl/hr	T _{max} sérica mg/ml	Dosis	Concentración Sérica			
					Max	Med.	Min	
Penicilina G sod.	IM	1.2	0.25	20,000 UI/kg	6-12	10	2	0.1
Penicilina Gproc.	IM,SC	1.5	2	20,000 UI/kg	24	3	0.5	0.2
Pen. G benza.	IM,SC	-	6	20,000 UI/kg	3-4 días	0.3	0.05	0.05
Ampic. sódica	IM,SC	1.5	0.5	10-20 mg/kg	6-12	14	1-2	0.3
Ampic. trihid	IM	-	2	20 mg/kg	12	6	3	1
Amoxicl. trihid	oral	-	4	6-15 mg/kg	12	5	3	0.5
Amoxicl. trihid	IM	1.5	2	15mg/kg	-	7	5	2
Cefaloridina	IM	2	1	10 mg/kg	12	40	10	2
Cefalotina	IM	-	0.5-1	20mg/kg	6	-	1	0.1
Dihidrostreptomil	IM	2	1	10mg/kg	12	40	10	2
Neomicina	IM	2.5	1	10mg/kg	12	32	6	1
Kanamicina	IM	2	0.5/1	10mg/kg	8	30	12	3
Gentamicina	IM	2	0.5	3mg/kg	8	10	3	0.8
Espectinomichina	IM	1	1	25mg/kg	8	70	16	2
Eritromicina	IM	3-4	2	10mg/kg	24	1	1	0.5
Tilosina	IM	1.5	2	10mg/kg	12	0.8	0.7	0.4
Lincomisina	IM	3	1	10mg/kg	12	8	2	-
Tetraciclina	oral	13	2	10mg/kg	12	-	2	-
Oxitetraciclina	IV	9	-	10mg/kg	12	-	4	2
Oxitetraciclina	IM	11	4	10mg/kg	12-24	4	4-2.5	2.5-1
Doxiciclina	IV	25	-	10mg/kg	24	-	2	-
Minociclina	IV	22	-	10mg/kg	24	-	2	-
Cloranfenicol	IV	3.5	4	40mg/kg	12	10	8	4
Cloranfenicol	oral	-	2.4	50mg/kg	12	-	-	0
Primeproprim	IV,IM	1.5	-	25mg/kg	12	-	-	-
Sulfatoropidicin	oral	1.2	-	30mg/kg	8	-	-	-
Sulfadiazina	oral	1.5	8	150mg/kg	24	100	-	25
Sulfadimexoxina	oral	7	12	150mg/kg	24	102	100	60
Sulfanilamida	oral	6	8	150mg/kg	24	40	-	20
Sulfapiridina	oral	6	12	150mg/kg	12-24	27	-	20
Sulfatiazol	oral	1.5	8	66-150mg/kg	4-8-12	35	30	10
Sulfabromometa	oral	-	24	214 mg/kg	72	100	80	20
Sulf. de liberación	oral	-	36	264 mg/kg	96	110	90	33
Sulfmetoxipiridaz	oral	11	12	55 mg/kg	24	100	80	60
Sulfetoxipiridazin	oral	11	12	100 mg/kg	48	125	-	36
Sulfaguandina	oral	-	-	260-300mg/k	24	-	-	-

9. Prevención y control.

Presentada la diversidad de agentes que pueden provocar cuadros de mastitis ha sido imposible a la fecha, la elaboración de un inmunógeno que sea capaz de prevenirla.

Las medidas que se han implementado hasta ahora son sólo paliativas y en el mejor de los casos se utiliza tratamiento directo sobre el cuarto afectado o la aplicación parenteral de antibióticos de amplio espectro y antiinflamatorios potentes como la dexametasona. Además de ser un procedimiento "a ciegas", ya que se utiliza un antibiótico que se sabe puede ser útil, pero no se hace aislamiento de la bacteria causante y al menos aún de la determinación de las sensibilidad por medio de la concentración mínima inhibitoria (MIC).

La meta final para el lechero es obtener una utilidad en su trabajo e inversión y la manera de lograr esta meta, es la de implementar un simple pero muy completo programa de control que va a reducir a prácticamente un mínimo sus costos en el control de enfermedades como la mastitis y en consecuencia proteger su producción.

La prevención de la difusión cualquier enfermedad infecto-contagiosa, es necesario evitar el paso del agente causal de un individuo enfermo a uno sano. Para el caso concreto de la mastitis, en la bibliografía que he consultado se recomiendan las siguientes medidas de prevención.

En lo concerniente a ordeño mecánico:

- a) Descartar los primeros chorros de cada uno de los cuartos .
- b) Lavar los pezones con agua corriente sin utilizar trapos.
- c) Estimular a los animales de acuerdo a sus requerimientos el lavado de la ubre, alimento etc.
- d) Colocar correctamente las pezoneras, evitando la entrada de aire .
- e) Evitar el sobre ordeño.
- f) Agregar bactericidas mediante un dosificador incorporado al sistema de lava ubres.
- g) Usar jabones con bacteriostáticos para lavar los pezones.
- h) Secar los pezones con toallas desechables cuando el costo de éstas lo permita.
- i) Sumergir los pezones en los selladores tales como los cuaternarios de amonio ó compuestos yodados después de la ordeña.
- j) Administración local de antibióticos a las vacas en el momento de secarlas.
- k) Una vez identificadas las vacas con mastitis ordeñarlas hasta el final. (5), (6), (13) y (22).

Otros aspectos no relacionados con la ordeña

- a) Aseo diario de corrales, eliminación de charcos, excretas etc.
- b) Descorné de animales para disminuir daños a la ubre.
- c) Dar cursos periódicos al personal que maneja la ordeña y concientizar de que el ordeñador es uno de los elementos que más participa en la transmisión de las bacterias que ocasionan mastitis.

d). Analizar los lugares de tránsito de las vacas para así disminuir la posibilidad que se golpeen una con otra, tal es el caso de rampas de acceso a la sala de ordeña, tragaderos, etc.

e). Concientizar al dueño y ordeñadores que los antibióticos sólo van a controlar una fase de la enfermedad, y que lo más importante es la prevención, porque las bacterias siempre encontrarán la forma de resistir al embate de los antibióticos.

f). Cambiar los lugares de ordeña y sitio de descanso del ganado, cuando el terreno lo amerite y remover la tierra para así favorecer la exposición al sol de los lugares de ordeña que entran en reposo.(24).

10. Salud pública.

Uno de los objetivos fundamentales que debe tener el médico veterinario es garantizar productos derivados de la producción animal que sean seguros para el consumo humano. Uno de los productos de origen animal más difundidos en el mundo es la leche, base de la alimentación especialmente para la población infantil, por tanto, se hace más necesario que este líquido tenga la garantía de ser un alimento seguro. Los derivados de la leche son uno de los más difundidos en el mundo entero, el yoghurt, el queso, el requesón, la cajeta, los chongos zamoranos, etc. son la fuente de riqueza de muchas familias en casi todo México.

Una leche contaminada puede ocasionar por una parte la pérdida del producto, y en el peor de los casos al ser consumido por el humano puede ser la causa de trastornos gastrointestinales que pueden ir desde dolor abdominal hasta cuadros de diarrea intensos que pueden llevar a cuadros serios de deshidratación e incluso hasta la muerte en especial en los niños desnutridos. Por lo que debemos tener en mente que no se trata sólo de producir, sino de producir alimentos sanos y seguros para el consumo humano.

En algunas otras personas que consumen leche proveniente de vacas con mastitis puede desarrollar cuadros alérgicos importantes y ser responsables de cuadros asmáticos graves en el consumidor de nuestra leche.

Cuando no se maneja adecuadamente y no se pasteuriza o se hierve puede ser la causa de faringitis o glositis aguda derivada de leche contaminada.

por otra parte, debemos de estar conscientes que una vaca que está sometida a tratamiento antimicrobiano está produciendo leche que tiene concentraciones a veces muy importantes de ese antimicrobiano y que puede tener no sólo efecto farmacológico en el humano sino que puede crear efectos alérgicos incluso hasta llegar a cuadros de anafilaxia importantes.

de la misma forma, el uso de dosis pequeñas de antimicrobianos que pasan al humano puede favorecer la formación de cepas resistentes a esos antimicrobianos y que está gestando el humano. de ahí la importancia de mejor prevenir la mastitis que combatirla con antibióticos, y tener un estricto control en la leche para consumo humano.

Estos elementos contribuirán en forma determinante incluso para la exportación de productos lácteos que provienen de México para exportación hacia los países de tratado de libre comercio con América del Norte. Si tenemos leche de calidad (sin mastitis) podremos exportar la leche y sus derivados, de lo contrario la leche y sus derivados serán consumidos por los mexicanos con las consecuencias que deriva de ello.

La mastitis es importante dentro de la salud pública ya que por medio de la leche se pueden transmitir enfermedades al hombre como la faringitis, y problemas digestivos causados por bacterias, y algunas alergias. (5) y (12).

II. OBJETIVOS

1. Aislar los agentes involucrados en casos de mastitis subclínica en bovinos.
2. Determinar el (M.I.C.) de las bacterias aisladas mediante el uso de una técnica de diluciones a diferentes concentraciones.

III HIPÓTESIS:

a) Ante los casos de mastitis subclínica los *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Escherichia coli*, son los patógenos más frecuentes.

b) Los microorganismos muestran con mayor frecuencia la resistencia a los antibióticos de mayor uso en Medicina Veterinaria.

IV. Material y métodos:

Las muestras para el aislamiento bacteriano fueron tomadas de la cuenca lechera de Tizayuca en el Estado de Hidalgo en el establo No. 179. Se muestrearon 360 vacas en producción láctea, a cada uno de estos animales se les realizó la prueba de California, dando como resultado 18 vacas positivas, a cada una de las vacas positivas a la prueba se les tomó una muestra de leche de cada cuarto o cuartos afectados mediante la siguiente metodología:

- Toma de la muestra estéril para el análisis microbiológico.
- Se limpiaron los cuartos a muestreos, dejándolos perfectamente bien secados.
- Se eliminan los primeros chorros de leche, antes de ser ordeñadas las vacas.
- Se les realizó limpieza a los pezones con alcohol etílico al 70 %.
- En tubos de ensaye con tapón de rosca se tomaron 15 ml. de la leche afectada.

Las muestras así tomadas fueron enviadas al laboratorio L 514 de Microbiología de la F.E.S. Cuautitlán para su aislamiento e identificación.

Cada una de las muestras de leche fueron sembradas en Agar sangre e incubadas a 37 °C durante 24 a 48 hrs. A las 24 hrs se realizó la purificación de las colonias que crecieron y se sembraron en varios medios de cultivo, en agar sangre, agar Mac Conkey para detectar la presencia de enterobacterias. Ninguna de las colonias bacterianas dio crecimiento positivo en Mac Conkey.

Metodología para la identificación de la especie, género *Streptococcus*

Morfología y características de los *Streptococcus*:

Son organismos esféricos, u ovoides que se agrupan en cadenas, Gram positivos, microorganismos facultativos, inmóviles, algunos especies poseen cápsula y no forman esporas y son catalasa negativa.

La prueba de Camp es útil para diferenciar *Streptococcus agalactiae* de otras especies de *Streptococcus*. El medio utilizado consiste en agar sangre al que se le agrega 0.1% de esculina y .01% de citrato férrico.

El mejor método para la identificación de los *Streptococcus* consiste en cultivar colonias puras y aisladas del organismo infectante, extraer el hidrato de carbono del grupo y demostrar una reacción serológica entre el antígeno extraído y el antígeno específico.

Prueba de la bacitracina.

Al efectuar la prueba de bacitracina, deben observarse las instrucciones que siguen:

- 1) Usar discos diferenciales, y no discos de susceptibilidad.
- 2) Usar un inóculo abundante.
- 3) Usar un cultivo puro.
- 4) Usar sólo *Streptococcus* beta-hemolíticos.
- 5) Interpretar toda zona como indicación positiva, independientemente de su tamaño.
- 6) Usar una base de agar de infusión con 5% de sangre.

Para interpretar las pruebas, deben aplicarse los siguientes criterios:

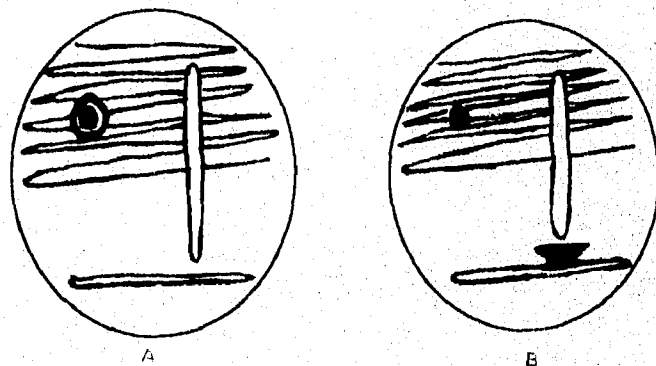
- a) Toda zona de inhibición, cualquiera que sea su diámetro, significa que el cultivo es positivo

b) La ausencia de zonas de inhibición (crecimiento hasta la orilla del mismo disco) significa que el cultivo es resistente.

c) En las publicaciones se establecen requisitos de tamaño para las zonas, y un fabricante, en un boletín técnico indica que se requiere la presencia de una zona de un tamaño determinado para la identificación presuntiva de *Streptococcus* del grupo A. El originado de la prueba (Maxted) no estipuló que las zonas debían ser de determinado tamaño. No hay datos experimentales que confirmen que deban medirse los diámetros de las zonas a fin de diferenciar entre *Streptococcus* beta-hemolíticos no pertenecientes al mismo. Las falsas interpretaciones positivas son potencialmente menos perjudiciales que las falsas interpretaciones negativas.

Los usuarios de los discos diferenciales deben tener que los discos de bacitracina inhiben el crecimiento de algunas cepas de *Streptococcus* beta-hemolíticos no pertenecientes al grupo A. por lo tanto, el informe debe ser como sigue:

a) Identificación presuntiva de *Streptococcus* beta-hemolíticos del grupo A por bacitracina. La figura ilustra pruebas típicas de bacitracina. El esquema de la izquierda muestra una prueba positiva de bacitracina y una prueba Camp negativa: estas reacciones son típicas de los *Streptococcus* beta-hemolíticos del grupo A. En el esquema de la derecha se ve una prueba de bacitracina negativa y una prueba Camp positiva: estas reacciones son características de los *Streptococcus* beta-hemolíticos, cabe observar en particular el intenso crecimiento bacteriano (concluyente) alrededor de los discos de bacitracina. (26).



La prueba de Camp se efectúa una sola estría del cultivo de *Streptococcus* en sentido perpendicular a una estría de una cepa de *Staphylococcus aureus* productora de beta-hemólisis. Las estrias de ambos organismos no deben estar en contacto. Nótese que en el esquema hay un espacio de aproximadamente 1 cm. entre los dos organismos. (26).

Pruebas	<i>Streptococcus</i>
Coagulasa	No se hizo
Gram	+
Movilidad	-
Catalasa	-
Ac de la Glucosa	+
Oxidasa	-
OF	O

Metodología para la identificación de especie y género de *Staphylococcus aureus*

Son organismos inmóviles que no forman esporas, su diámetro varía entre 0.5 y 1.2 micras. Todos aquellos son : Gram positivos, células esféricas agrupadas en racimos, se desarrollan más rápidamente a 37 °C, colonias amarilla dorada. En el individuo se presenta inflamación aguda estos agentes son resistentes ya a la penicilina.

Cuadro : Nos representa resultados de las pruebas primarias, para la identificación del género bacteriano, realizados a los cultivos aislados de las muestras tomadas de cada vaca elegidas para el desarrollo de los experimentos.

Pruebas	<i>Staphylococcus</i>
Gram	+
Coagulasa	+
Movilidad	-
Catalasa	+
Ac. Glucosa	+
Oxidasa	-
O.F.	F

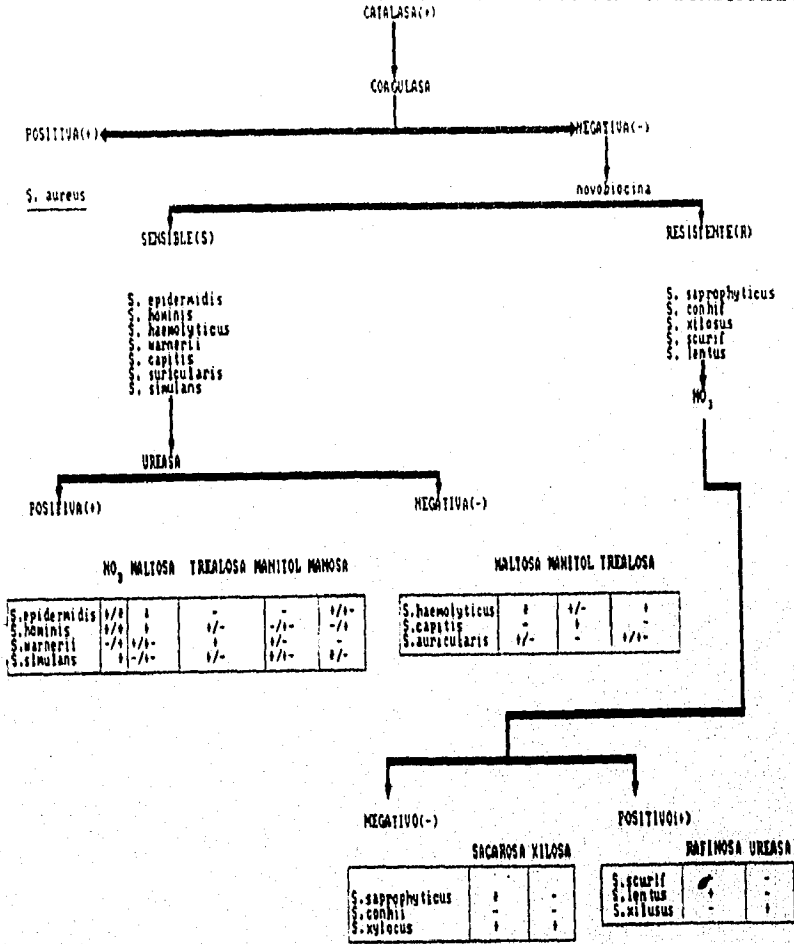
Metodología para la identificación de la especie, género de Micrococcus.

Género de microorganismos de la familia Mycobacteriaceae, orden Actinomycetales, constituido por microorganismos no acidorrecistentes, gram positivos y saprófitos con forma de bastoncillos que producen pigmentos y se parecen a los actinomicetos por su forma de reproducción; se encuentran en el suelo y en el agua, constituyen cúmulos regulares de cuatro a ocho cocos. Sus colonias pueden ser amarillas, rojas o anaranjadas.

Diferenciación de Staphylococcus y Micrococcus

	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Micrococcus spp.</i>
Cuagulasa	+	-
Fosfatasa	+	-
O/F	F	O
Glucosa (ácido)	+	-

DIAGRAMA PARA PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN DE LOS STAPHYLOCOCCUS



3. PRUEBA DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (MIC).

Apartir de la identificación todos los gérmenes fueron sometidos a la prueba de (M.I.C.). Esta prueba fue realizada en los Laboratorios Merck de México Naucalpan Edo de México con apoyo del Q.F.B. Sergio Hernández A.

Las pruebas de sensibilidad E™M sens BP™MIC se basan en el crecimiento bacteriano en presencia de 23 diferentes antibióticos rehidratados. Después de un periodo de incubación de 18 a 24 hrs a 37 °C se evalúan las reacciones. La interpretación automática se efectúa vía SENSIDENT software. La distribución de los antibióticos es la siguiente:

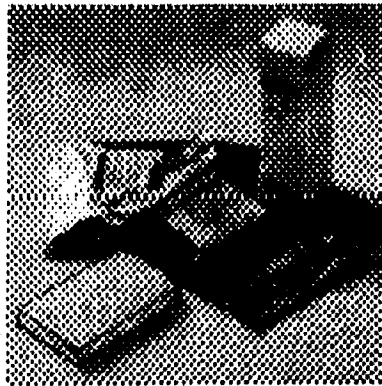


Fig. # placa de microtitulación y caldo Nutritivo Mueller-Hintón.

La evaluación también puede desarrollarse visualmente.

Técnica SenSident:

Es el nuevo sistema para pruebas de identificación y susceptibilidad de microorganismos. Ya que nos refiere la sensibilidad intermedios, resistentes de los antimicrobianos utilizados en casos de mastitis.

Concentración mínima Inhibitoria (M.I.C).

Definida como la menor concentración de antibióticos en que inhibe el desarrollo *in vitro* de las bacterias.

Sensibilidad bacteriana a la droga:

Las drogas antimicrobianas son únicas entre los fármacos, ya que su efecto no está dirigido hacia la modificación de ningún proceso fisiológico del anfitrión sino exclusivamente ataca al invasor. Es importante tener en cuenta las características del huésped que dispone de la droga *in vitro*; no obstante, el propósito de administrar una droga es inhibir el crecimiento o matar a la

bacteria patógena invasora. El primer criterio indispensable en la selección de una droga antimicrobiana es que la bacteria patógena sea sensible a su acción.(4).

Resistencia:

Es un estado de sensibilidad baja o nula con respecto a fármacos que normalmente inhiben el crecimiento de las células o las destruyen.

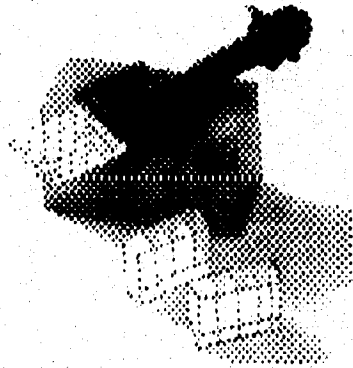
Es por definición, un fenómeno que sólo puede producirse con aquellos agentes utilizados para eliminar:

- una especie viviente perjudicial, como insectos, bacterias y otros.
- células de crecimiento rápido, tales como las tumorales en organismos superiores.(4).

Resistencia intermedia:

Invasores moderadamente sensibles o moderadamente resistentes son aquellos que no se inhiben ante concentraciones menores, pero muestran zonas de inhibición ante concentraciones más elevadas.(4).

Ya identificado el microorganismo se deposita en 5 ml. de solución salina fisiológica una cantidad considerable de microorganismos extraídos del medio de cultivo con una haza estéril hasta obtener una solución turbia, posteriormente se obtiene con la pistola se depositan 250 Microlitros en 20 ml. de caldo nutritivo Mueller-Hintón, se homogeneiza, posteriormente para depositarse en un recipiente donde las pipetas multical de ocho canales, se llenan las pipetas sin obtener burbujas de aire, se destapa la placa del papel aluminio y se va depositando caldo nutritivo con el microorganismo en cada deposito de la placa de microtitulación de 96 depósitos de 100 microlitros liofilizados de los antimicrobianos utilizados para casos de mastitis y en forma homogénea y en cantidades iguales con el uso de la pistola depositaremos en cada orificio 125 microlitros hasta terminar de llenar la placa.



Se realizará el mismo procedimiento para todas las cepas en proceso, el único cambio se quitarán las pipetas de la pistola multicanal para evitar la contaminación de las siguientes cepas en proceso y se pondrán otras ocho pipetas estériles, terminado las cepas en trabajo se mandan a incubar de 24 a 48 hrs. a temperatura de 37 oC en la estufa.

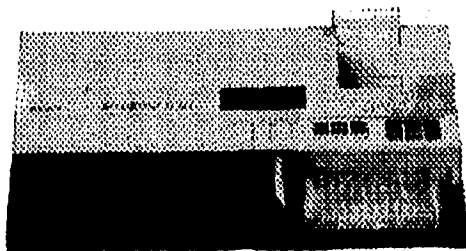


Fig # 4 Lector de Microtitulación.

Posteriormente después de la incubación se realizará la lectura en forma manual o automática con el fotómetro de ocho canales para la lectura rápida y precisa de la placa en sólo, 30 seg. criterios de validación individuales para la identificación y listados de antibióticos.

Los resultados finales son transferidos a la computadora central o pueden imprimirse por paciente diagnóstico específico.

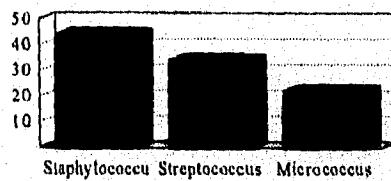
V Resultados

De las 18 muestras se encontraron los siguientes microorganismos. *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Micrococcus* como se muestra a continuación en la grafica.

Los cuales mostraron la sensibilidad a los antiinfecciosos de acuerdo con la técnica de Concentración Mínima Inhibitoria de la forma siguiente. Para los *Streptococcus agalactiae* mezlocilina, piperacilina, cefotoxima, amikacina, gentamicina y tetraciclina. Para los *Staphylococcus aureus* : mezlocilina, ticarcilina, amikacina, gentamicina, y tetraciclina. Para los *Micrococcus* : amikacina, gentamicina y tetraciclina.

Los medicamentos que resultaron ser más efectivos de acuerdo con las bacterias encontradas fueron los siguientes. mezlocilina, piperacilina, cefotoxima, ceftazidina, amikacina, gentamicina y tetraciclina.

Por los anterior se puede decir que el medicamentos ideal de acuerdo con la relación costo beneficio es el siguiente. 1.- gentamicina y 2.- tetraciclina.



En está gráfica representa en base al 100 % de las cepas obtenidas de las cuales hubo un total de 18 cepas de microorganismos. 6 resultaron ser de *Streptococcus agalactiae* (34%), 8 de *Staphylococcus aureus* (44%) y 4 de *Micrococcus* (22%).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Resultados sensibles al 100% obtenidos del (M.I.C.) para *Staphylococcus* de los antimicrobianos. Mezlocilina, Piperacilina, Ticarcilina, Amikacina, Gentamicina, Netilmicina, Tetraciclina, Ciprofloxacina, Ticarcilina Ac.

con un 74 % de la misma sensibilidad de los antimicrobianos de efectividad son:

Ceftazidina, Imipenem.

Antimicrobianos resistentes:

Penicilina G, Ampicilina, Oxacilina, Pen. G Staphy. Ampi/ Sulba, Cefoxitina, Cefuroxima, Erytromicina, Vancomicina, Amoxi Ac.

Resultados sensibles al 100% obtenidos del (M.I.C.) para *Streptococcus* de los antimicrobianos Mezlocilina, Piperacilina, Cefotaxima, Ceftazidina, Imipenem, Amikacina, Gentamicina, Netilmicina, Tetraciclina, Ciprofloxacina, Ticarcilina Ac. y Azteonam con un 83%.

Antimicrobianos resistentes obtenidos del (M.I.C.)

Penicilina G, Ampicilina, Pen. G. Staphy., Ampi/ Sulba, Cefoxitina, Cefuroxima, Erytromicina, Vancomicina, Amoxi Ac.

Resultados sensibles al 100% obtenidos del (M.I.C.) para *Micrococcus* de los antimicrobianos Amikacina, Gentamicina, Tetraciclina, Ciprofloxacina, Ticarcilina Ac. y con un 75% tenemos Mezlocilina, Piperacilina, Ticarcilina, Ampi/Sulba, Cefotaxima, Ceftazidina, Aztreonam, Netilmicina,

Antimicrobianos resistentes obtenidos del (M.I.C.) al 100%.

Penicilina G, Ampicilina, Pen. G. Staphy., Cefuroxima, Erytromicina, Vancomicina, Amoxi. Ac., y con el 75% Oxacilina, Imipenem.

Antibiótico	752	647	837	141	565	317	738	674	063	200	279	111
Penicilina G	8R	8 R	8 R	8 R	8 R	8 R	8 R	8 R	8 R	8 R	8 R	8 R
Ampicilina	16 R	16 R	16 R	16 I	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R
Mezlocilina	16S	16 S	16 R	128 S	16 S	16 S	16 S	16 S	16 S	16 S	16 S	16 S
Piperacilina	16 S	16 S	128R	128S	16 S	16 S	16 S	16 S	16 S	16 S	16 S	16 S
Ticarcilina	8 S	32 I	32 R	64 S	16 S	16 S	16 S	16 S	16 S	8 S	16 I	32 I
oxacilina	4 S	4 R	4 R	4 R	0.5R	4 S	4 R	4 R	0.5S	4 R	4 R	4 R
Pen. G. Staphy.	128R	128 R	128 R	128 R	128 R	128 R	128 R	128 R	128R	128 R	128 R	128R
Ampi/Sulba	6/8I	16/8S	16/8R	16/8I	16/8R	16/8R	16/8R	16/8R	16/8R	16/8R	16/8R	2/1R
Cefotaxima	16 I	16 S	16 R	32S	8 I	32 S	32 I	8 R	16 I	8 I	8 I	4 I
Cefoxitina	16 I	16 S	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R	4 R
Cefuroxima	16 R	16S	16R	16R	16R	16R	16R	16R	16R	16R	16R	2 R
Ceftazidina	2 S	2 S	16 R	16 S	2 R	16 S	16 S	2 S	2 S	2 S	2 S	2 R
Aztreonam	16 S	16 S	16 R	16 S	4 R	16 S	16 S	4 S	8 R	2 I	4 I	8 R
Imipenem	8S	8 R	8 R	8 S	1 S	2 S	2 R	4 S	1 S	2 I	2 R	8 S
Anikacina	16 S	4 S	4 S	4 S	4 S	4 S	4 S	4 S	8 S	4 S	4 S	32 S
Gentamicina	4 S	2 S	8 S	4 S	1 S	2 S	1 S	2 S	1 S	1 S	1 S	8 S
Netilmicina	32 S	4 R	16 S	4 S	4 S	4 S	4 S	4 S	4 S	4 S	4 I	32 S
Tetraciclina	8 S	2 S	8 S	4 S	4 I	1 S	8 S	1 S	2 S	4 S	2 S	2 S
Erythromicina	4 I	4 R	4 R	4 I	4 R	4 R	4 R	4 R	4 R	4 R	4 R	4 R
Vancomicina	16 R	16 R	16 R	16 R	2 I	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R
Ciprofloxacina	0.5 S	0.5 S	0.5 S	0.5 S	0.5 S	0.5 S	0.5 S	0.5 S	0.5 S	0.5 S	0.5 S	0.5 S
Amoxi Ac.	16/2I	16/2 R	16/2R	16/2R	16/2R	16/2R	16/2R	16/2R	16/2R	16/2R	16/2R	16/2R
Ticarcilina Ac.	16/2S	16/2S	16/2R	16/2S	16/2S	16/2S	16/2S	16/2S	16/2S	16/2S	16/2S	128/2S

TABLA 1 Muestra comparativamente los *Staphylococcus aureus* y *Micrococcus* (752, 647, 837 y 200), aislados de diferentes vacas, comparando su concentración mínima inhibitoria (M.I.C.). Y su interpretación clínica.

SENSIBLE. = S

INTERMEDIA = I

RESISTENTE = R.

Antibiótico	641	881	276	634	797	876
Penicilina G	8 R	8 R	8 R	8 R	8 R	8 R
Ampicilina	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R
Mezlocilina	16 S	16 S	16 S	16 S	16 S	16 S
Piperacilina	16 S	16 S	16 S	16 S	16 S	16 S
Ticarcilina	8 I	8 S	16 R	8 R	8 I	32 I
oxacilina	128 S	128 S	128 R	128 S	128 R	128 S
Pen.G.Staphy.	4 R	16 R	16 R	16 R	16 R	16 R
Ampi Suba	2 R	2 R	16 R	16 R	16 R	16 R
Cefotaxima	4 I	16 S	16 I	16 I	16 I	16 I
Cefoxitina	2 R	2 R	16 R	16 R	16 R	16 R
Cefuroxima	2 R	16 R	16 R	16 R	16 R	2 R
Cefazidina	2 S	2 S	16 S	16 S	2 S	16 S
Aztreonam	4 S	16 S	16 S	16 S	4 S	16 R
Imipenem	2 S	8 S	8 S	8 S	1 S	4 S
Amikacina	4 S	4 S	4 S	4 S	4 S	4 S
Gentamicina	2 S	4 S	8 S	4 S	1 S	2 S
Netilmicina	8 S	4 S	16 S	4 S	4 S	4 S
Tetraciclina	1 S	8 S	8 S	4 S	8 S	4 S
Erytromicina	0.5 R	4 R	4 R	4 R	4 R	4 R
Vancomicina	2 R	16 R	16 R	2 R	16 R	16 R
Ciprofloxacina	0.5 S	0.5 S	0.5 S	0.5 S	0.5 S	0.5 S
Amoxi Ac.	16/8 R	16/8 R	16/8 R	16/8 R	16/8 R	16/8 R
TicarcilinaAc.	16/2 S	16/2 S	16/2 S	16/2 S	16/2 S	16/2 S

TABLA 2 Muestra comparativamente los *Streptococcus agalactiae* aislados de diferentes vacas, comparando su Concentración mínima inhibitoria (M.I.C.), y su interpretación

SENSIBILIDAD = S
 INTERMEDIO = I
 RESISTENTES = R

VI. Discusión

Aunque en nuestro medio la realización de la prueba de concentración mínima inhibitoria es sólo una ilusión primer mundista, se debe buscar procedimientos para poder determinar el agente causal de la mastitis, quizá haciendo reconocimiento a través de muestreo por parte de asociaciones ganaderas y así poder recomendar un tratamiento más orientado en el control de la mastitis, pero definitivamente se debe hacer énfasis en la prevención de la transmisión de la misma, se debe buscar la forma de hacer conciencia en el pequeño y gran productor de leche, que la mastitis no es un problema leve, ya que la merma en sus ganancias es muy alto y que un control adecuado de su hato puede incrementar su producción, y parafraseando a Cristo "No sólo de pastura vive la vaca, sino también del control de su mastitis".

Por otra parte se deben seguir buscando procedimientos más sencillos que puedan ser utilizados por el pequeño productor para poder hacer un diagnóstico etiológico, y poder realizar un tratamiento oportuno y adecuado al tipo de bacteria causante. Quizá a través de tiras reactivas, tal como lo hace el diabético, que puede tener una idea aproximada de los niveles de glucosa que tiene en sangre a través de la prueba con una tira reactiva sobre la sangre o la orina, etc.

Las pruebas de California, Wisconsin, Camps, etc. sólo son útiles para saber si la vaca tiene o no mastitis, pero no puede determinar cuál o cuáles son las bacterias que la ocasionan, ni mucho menos cuál es el antibiótico más efectivo para ese tipo de bacteria.

En base a las observaciones hechas se pudo constatar que entre los factores que afectan la producción lechera, en la muestra observada fueron los siguientes:

- a. Existió un número importante de vacas con mastitis que entran junto con las sanas al momento de la ordeña, por lo que existe un riesgo alto de contagio entre ellas.
- b. Una vez que se detectó algunas de las vacas con mastitis, el procedimiento terapéutico utilizado fue la inoculación de antibióticos por ejemplo, se pudo observar la aplicación de gentamicina con "Hidropen" (Penicilina G), que como se verá más adelante, todas las cepas de las tres bacterias aisladas fueron resistentes a la penicilina G y fueron sensibles a la gentamicina. En consecuencia el uso de la penicilina G fue en vano, representando un costo innecesario.
- c. En la muestra observada se pudo constatar a través de MIC que la bacteria más frecuente fue *Staphylococcus aureus* (44%). Como se sabe una cantidad importante de cepas de esta bacteria son altamente resistentes a todas las penicilinas, ya que produce beta lactamasa, por lo que el uso de las penicilinas con frecuencia da resultados terapéuticos malos. El *Staphylococcus*, es uno de los microorganismos que tiende a la formación de abscesos, por tanto, la destrucción tisular que provoca es alto. El médico veterinario debe estar muy al tanto de la presencia de esta bacteria ya que puede ocasionar graves daños al hato.
- d. Es importante que el médico Veterinario tenga conocimientos de la farmacocinética de los antibióticos más utilizados en el manejo de mastitis, ya que hay algunos antibióticos que a pesar de ser altamente efectivos in vitro, los niveles que alcanzan en el tejido mamario es poco, o

inefectivo. Tal es el caso de los aminoglucósidos que a pesar de ser efectivos en pruebas in vitro como el MIC llegan en poca cantidad al tejido mamario.

e. Es indispensable que la información que maneje el médico veterinario sea de fuentes confiables, y no sólo se base en la información que proporcionan los laboratorios, ya que éstos con frecuencia omiten o desconocen información importante, no informan de la cantidad que alcanza el antibiótico en cuestión al tejido mamario, para tratar de correlacionar la (M.I.C.) con los niveles del antibiótico que alcanzan en los tejidos sólo reportan el grado de sensibilidad de determinado tipo de bacteria a el antibiótico que están promocionando.

f. Tomando como base los resultados obtenidos del aislamiento de las bacterias, así como la sensibilidad de las mismas a los antibióticos estudiados, y los conocimientos sobre farmacocinética que se tiene de éstos, en primer lugar se recomendaría el uso de la gentamicina, sin embargo, es un antibiótico caro, en segundo lugar se tendría la tetraciclina, sin embargo éste último tiene el inconveniente de que llega en forma limitada a la glándula mamaria.

g. Si me encontrara con un hato como el que se estudió la forma en que lo manejaría sería de la forma siguiente:

Gentamicina a 3 mg/Km/IM. c/12 hr.

Tetraciclina (Oxitetraciclina). 10ml./100 kg / 24 hr.

h. Es importante considerar que la mayoría de las mastitis son de tipo subclínica, es decir, que el productor no se da cuenta de la presencia de la enfermedad, por lo que es necesario un muestreo permanente cada determinado tiempo, por ejemplo cada mes o cada dos meses.

De acuerdo a la muestra explorada se debe considerar que aproximadamente el 5% del hato en producción tiene mastitis subclínica. (De las 360 vacas muestreadas 18 tenían mastitis subclínica que equivale al 5%). Esto significa que el 5% del ganado no es apto para la producción lechera. Si cada vaca da en promedio 20 litros en dos ordeñas de las 360 vacas tenemos una merma de 360 litro de leche por día a costo actual de 3 pesos por litro, la merma equivale a 1,080 pesos por día. lo que justifica en costo la verificación al menos mensual por parte de personal especializado. La merma en un ato como el estudiado por mes es de aproximadamente 30,000 pesos a precios actuales.

Esta evaluación se debe dar a conocer al productor de leche y tenga presente lo que implica tener un hato con mastitis.

i El uso de antibióticos como la tetraciclina debe tener en cuenta que pueden pasar al humano, la población que más demanda la leche son los niños, cuando se toma leche contaminada con tetraciclina puede ocasionar varios problemas tales como cambios en el color de los dientes, y displasia, así como la inhibición del desarrollo óseo. especialmente cuando la ingieren antes de los seis años, por lo que está contraindicado el uso de este antibiótico en niños, dado los problemas que ocasiona en la dentición.

El *Streptococcus* resultó resistente al glicinato de cefalexina, la cefapiridina benzatínica y la cefalosporina evaluado por medio de (M.I.C.), y resultó sensible a penicilina G, ampicilina, eritromicina, vancomicina y como sensibles a dicha bacteria, amikacina, gentamicina, tetraciclina en base a los resultados obtenidos de la (M.I.C.).

Al considerar lo analizado en los parámetros se puede constatar que estos resultados son un cambio importante en el ingreso económico en el establo. Un programa importante que se ha tomado en cuenta es la forma en que el trabajador hace su rutina de limpieza la cual es deficiente principalmente en el lavado de la ubre, ya que en este establo no se secan las vacas antes del ordeño, si no lo único que hacen es que con la manguera solamente las mojan y hay vacas que llegan con mucho estiércol pegado y al tiempo que pasan al ordeño todavía se les va escurriendo el estiércol al momento en que se les ponen las pezoneras.

En este estudio se encontro en número importante la presencia del género *Micrococcus spp.*, por lo que hay que tenerlo en consideración que también puede ser causa de mastitis subclínica. Los microorganismos resultaron sensibles a Amikacina, Gentamicina y Tetraciclina.

VI. Conclusiones:

Tal como se esperaba, los *Staphylococcus* y *Streptococcus* fueron los patógenos más frecuentes, no así los *Micrococcus*.

Los más altos porcentajes de resistencia son los antibióticos más utilizados en Medicina Veterinaria como la Penicilina G; Ampicilina, etc. Y los menores porcentajes es para la, Anikacina, Gentamicina y Tetraciclina, (lo que nos indica que para un mejor tratamiento contra mastitis la Gentamicina y Tetraciclina son de mejor opción). Y las cefalosporinas como cefoxazol, cefapiridina y la cefoperazona pueden ser opciones si se abusa del uso indiscriminado de estos antibióticos.

El problema es evidente y se deben tomar medidas para evitar que el problema se siga incrementando, racionalizando el uso de los antibióticos.

Las medidas principales que se pueden tomar en cuanto a la mastitis, son mejorar las condiciones en las que se encuentre el ganado y hacer más eficiente la rutina de ordeño y las vacas resultantes con mastitis después de la prueba de California, dejarlas hasta el final de la ordeña para evitar las infecciones de la glándula mamaria y no pensar en como controlar la mastitis por medio del uso exclusivo de los antibióticos, ya que no existe tal control, puesto que éstos sólo son una herramienta secundaria del control de la mastitis.

En casos clínicos el médico deberá de hacer un diagnóstico del agente causal de la enfermedad de acuerdo a los signos que presente el paciente y tomar la decisión del antibiótico que utilizará en el tratamiento, tomando una muestra de leche antes de aplicar éste; en condiciones de esterilidad para aislar el patógeno y hacerle pruebas de la Concentración Mínima Inhibitoria (M.I.C.), lo que le permitirá al médico cambiar el tratamiento si el animal no sale al primero.

Por último la biotecnología actualmente a previsto nuevos recursos para promover el crecimiento, y la eficiencia en la producción de carne, leche y huevos que incluyen enzimas, cultivos de levaduras, de bacterias viables y sus metabolitos y modificadores del pH. en los alimentos, los cuales ofrecen un gran potencial de mejoramiento en los programas de nutrición el uso de antibióticos.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- 1) Alba Obregón Enrique y Fernández del Río Jorge A.
Prevención de la mastitis es la llave para la Calidad de la Leche.
México; Holstein, 1991. 22:12.
- 2) Albares Septien Luis
Panorama actual de la ganadería lechera en México
México Holstein 1993.21:10
- 3) Alliso J.D.R.
Antibiotic Residues in Milk.
British Veterinary Journal; 1989.
- 4) Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos.
XIX Congreso Nacional de Buiatria.
Torreón, Coahuila 24-26 Agosto; 1995.
- 5) Bath L. Donald; Frank N. Dickinson y H. Allen Tucker.
Ganado Lechero.
Editorial Interamericana, 1987 2ª Edición. Pag. 541.
- 6) Basurto Victor K.
Uso de Selladores de Tetras para el Control de la Mastitis
México Holstein; México, 1991.
- 7) Bennington, F.H.
El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico 1ª Edición.
La prensa Médica Mexicana. México; 1976. Pag. 697.
- 8) Bioxón de México, S.A. de C.V.
Medios de Cultivo y Reactivos de Diagnóstico.
Editado por Bioxón de México. México; 1984.
- 9) Bouchot C.G. Incidencia de Mastitis e Identificación de los Principales Gérmenes Causantes en Bovinos; México, 1984. Tesis U.N.A.M. F.E.S. Cuautitlán pag. 37.
- 10) Boyd, R.; Marr J. Medical Microbiology.
First Edition. Little.
Brown an Company. U.S.A. 1980. pag. 753.

- 11) Bradshaw, L.J.
Microbiología de Laboratorio.
El Manual Moderno. México; 1976.pag 235
- 12) Cowan y Steels:
Manual para la identificación de bacterias de importancia médica.
Continental, México, 1979.pag 320
- 13) Bryant M.C.
Antibióticos y su control mediante el Laboratorio.
El Manual Moderno. México; 1976.pag 125.
- 14) Cruz Martín, Payan Martha y Pérez Marcelo.
Puntos básicos para el Control de Mastitis en un Hato Lechero.
México; 1988.
- 15) Flores Farah Ricardo.
Manual de Mastitis Bovina.
Editorial U.N.A.M. 1988.
- 16) Jawetz, E. y Melnick, E.A.;
Manual de Microbiología Médica. 14ª Edición.
Editorial, El Manual Moderno. México; 1994 .
- 17) Kelly W.R. Diagnóstico Clínico Veterinario, 4a Ed., Continental. México, 1983.pag 444.
- 18) Memorias de Noveno Congreso Buiatría
Pruebas Utilizadas para la detección de Matitis Subclínica.
México; 1983.pag.471
- 19) Pérez Marcelo y Víctor Campos.
Manual Sobre Glándula Mamaria. Vols. 2,3,6,7.
Editorial Técnica y productos Agropecuarios Texcoco S.A.
México; 1989.
- 20) Pérez Domínguez Marcelo.
Manual Sobre Ganado Productor De Leche.
Editorial Diana, 4a. Impresión, México; 1991.pag. 320-329, 771.
- 21) Philpot Nelson y Stepen C. Nikerson.
Mastitis: El Contra Ataque.
Publicado por Surge Internacional 1994.pag.150.

- 22) Philpot Nelson y Stepen C. Nikerson.
La Producción de Leche de Calidad y el Control de Mastitis.
Publicado por Surge Internacional 1989.pag. 168-176.
- 23) Prescott J.F. Desmond J. B. Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. Blackwell Scientific Publication. 1989. p. 330.
- 24) Ramírez Ariel.
Aspectos Económicos y Estrategia en el Control de la Mastitis Bovina.
México, Holstein ; 1991.
- 25) Sumano López Hector
Farmacología Clínica en bovinos.
U.N.A.M. México, 1990 pag. 20-22, 326.
- 26) R. Facklam Richard.
Manual de procedimientos Aislamientos e identificación de Streptococcus.
Atlanta, Georgia, E.U.A. 1990.