

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EFFECTO CLÍNICO DE LA TILMICOSINA DURANTE EL
PERIODO DEL SECADO EN VACAS LECHERAS HOLSTEIN
FRIESIAN EN EL ALTIPLANO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

ESTEBAN ORTEGA RODRÍGUEZ

Asesores:

MVZ MC Eduardo Posadas Manzano

Dr. Edgar Alfonseca Silva

Ciudad Universitaria, CDMX

2019



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.

Dedicatorias y Agradecimientos

A mis padres y abuelos por haberme forjado como la persona que soy actualmente, todos mis logros son gracias al apoyo de ellos y a que me motivaron constantemente para alcanzar mis objetivos

A mis hermanos y amigos que han estado conmigo durante toda mi carrera y todas aquellas aventuras que pasamos juntos.

A mis maestros por el tiempo y paciencia que me dedicaron durante este tiempo, así como compartir sus conocimientos, sin su instrucción profesional no habría cumplido mi objetivo

A todo el personal laboral de los establos y amigos que me brindaron su apoyo para llevar a cabo mi estudio experimental satisfactoriamente.

CONTENIDO

| | Página |
|--------------------|--------|
| RESÚMEN | 1 |
| INTRODUCCIÓN | 2 |
| MATERIAL Y MÉTODOS | 14 |
| RESULTADOS | 18 |
| DISCUSIÓN | 20 |
| CONCLUSIÓN | 24 |
| REFERENCIAS | 25 |
| CUADROS E IMÁGENES | 32 |
| ANEXOS | 48 |

RESUMEN

ORTEGA RODRÍGUEZ ESTEBAN. Efecto clínico de la tilmicosina durante el periodo del secado en vacas lecheras Holstein Friesian en el altiplano (Con la asesoría de MVZ, MC Eduardo Posadas Manzano y MVZ, Esp, MC, Dr. Edgar Alfonseca Silva)

La producción de leche con alta calidad es un requisito indispensable para las necesidades del consumidor. Debido a las pérdidas económicas que provoca la mastitis en producciones lecheras intensivas; es importante tener en cuenta medidas preventivas. La terapia de secado es una herramienta eficaz para el control de infecciones presentes y la prevención de nuevas infecciones que disminuyan la producción total de leche. En el presente estudio se utilizaron 91 vacas las cuales fueron divididas en dos grupos. El grupo experimental se conformó de 53 vacas a las cuales se les aplicó Tilmicosina a dosis de 20 mg/kg por vía subcutánea. El grupo control se conformó de 38 vacas a las cuales se les aplicó por vía intramamaria Penicilina G procaínica (1, 000,000 U.I) y Sulfato de Neomicina (250 mg). Las 91 vacas se sometieron a un examen físico de la glándula mamaria y por medio de la Prueba de California (CMT) se evaluó la presencia de mastitis subclínica al inicio del periodo de secado en ambos grupos. Se obtuvieron muestras de leche antes de iniciar la terapia de secado y después del parto y se realizó el cultivo bacteriológico para evaluar la eficacia antibacteriana y evidenciar la cura microbiológica. Los patógenos encontrados en ambos grupos mencionados del estudio, previo a la terapia fueron: *Staphylococcus aureus*, (62.71%), *Staphylococcus spp*, (22.03 %), *Streptococcus uberis* (10.16%) y *E. coli* (5.08%). Después del parto al comenzar la lactación los patógenos encontrados fueron *Staphylococcus aureus* (35.55%), *Staphylococcus spp* (35.55%), *Streptococcus uberis* (13.33%) y *E. coli* (15.55%). Los resultados obtenidos mencionan que la eficacia del tratamiento sistémico de Tilmicosina fue de 57%. Con el tratamiento intramamario Penicilina G procaínica (1, 000,000 U.I) y Sulfato de Neomicina (250 mg) la eficacia clínica fue de un 53%. Se observaron más casos con cura bacteriológica en aislamientos de *Staphylococcus aureus* después del tratamiento de Tilmicosina (18 casos de 22) (P=0.371), mientras que se obtuvieron menos casos con cura bacteriológica en aislamiento con *Staphylococcus aureus* después del tratamiento de Penicilina-Neomicina (8 de 14) (P= 0.013). A partir del modelo estadístico de Regresión Lineal Binaria se infiere que no existe diferencia significativa entre ambos tratamientos (P=0.621). Sin embargo, se observa una significancia estadística con relación a la positividad del resultado, es decir aislamientos negativos o baja en el número de UFC al inicio de la lactancia, cuando la Prueba de California mostró ser grado 1 y 2 (P= 0.039 y 0.003) respectivamente.

INTRODUCCIÓN

La producción de leche de bovino en México durante el 2018 fue de 12 mil 008 millones de litros y se estima que para el 2019 esta producción será de 12 mil 279 millones de litros lo que representa un incremento de 271 millones de litros (2.3%) respecto del año anterior. Sin embargo, México sigue siendo uno de los principales países que importan productos lácteos, que representa el 3.5 % de las importaciones globales (1).

La producción de leche neta por vaca al año se ve afectada por múltiples factores; tales como el control del hato, manejo sanitario y reproductivo, disponibilidad y calidad de los alimentos que se suministra al ganado, selección o mejoramiento genético, el clima, los programas de medicina preventiva y la capacitación del personal (2).

Los programas de control y prevención de mastitis causada por patógenos, tales como protocolos basados en 5 puntos que incluyen: 1. Desinfección del pezón antes del ordeño, 2. Administración generalizada de terapia de secado, 3. Tratamiento adecuado de casos clínicos, 4. Eliminación de vacas infectadas de forma crónica y 5. Mantenimiento regular de la máquina de ordeño, así como los materiales durante la rutina de ordeño; representa una importante medida en los establos de producción.

En México, la vida productiva de las vacas es demasiado corta, es decir de dos a cuatro partos, ya que los desechos anuales por establo fluctúan entre un 25 y 33%, esto atribuido a la tasa de recambio anual por baja productividad.

MASTITIS

Mastitis se define como la inflamación de la glándula mamaria ocasionada por factores físicos, químicos, mecánicos e infecciosos caracterizada por el daño al tejido epitelial. Esta inflamación puede provocar desde cambios en la composición química hasta cambios microscópicos en la leche. Es una enfermedad multicausal en la cual se han identificado innumerables especies de microorganismos, bacterias, hongos y algas (3).

Diversos cambios en la glándula incluyen pérdida de iones, proteínas y enzimas en la leche previo a un incremento en la permeabilidad vascular, disminución en la síntesis de caseína y lactosa e invasión de células fagocíticas en los compartimientos de la leche (4). Por lo tanto, la alteración principal en la composición de la leche consiste en niveles aumentados de sodio, cloro y proteínas séricas y reducidas en calcio, lactosa y caseína, el grado de estos cambios depende de la naturaleza del agente infeccioso y la extensión de la respuesta inflamatoria. El tratamiento y la prevención de esta patología con frecuencia es la aplicación de antibióticos intramamarios, ocasionando un costo para los productores. Las pérdidas mundiales, anuales debido a la mastitis, se han estimado en 35 billones de dólares (5).

IMPORTANCIA ECONOMICA DE LA MASTITIS

La mastitis es un problema económico que afecta tanto a nivel nacional como a nivel mundial; el daño económico provocado por la mastitis, ya sea por una fase clínica o subclínica, puede ser categorizado en diversos aspectos tales como: pérdida en la producción de leche, uso de fármacos, desecho de la leche, servicios veterinarios y pérdida de animales por sacrificio (6).

Por lo tanto, las decisiones de manejo se pueden tomar a diferentes niveles; a nivel del cuarto secándolo de forma particular, a nivel de cuartos por vaca realizando el tratamiento de alguna mastitis clínica o subclínica o a nivel de vaca a partir del sacrificio del animal con mastitis clínica o subclínica y por último a nivel de producción, realizando cambios en el manejo del establo y la higiene del ordeño (6).

El costo por esta patología ha sido calculado por Bar y colaboradores en el 2007 (7) y Pinzón-Sánchez y colaboradores en el 2011 (8) es de entre \$2,074.42 a 16,967.19 por caso de mastitis con base en el costo de atención médica, reducción de la producción de leche después y durante el tratamiento, el descarte de leche durante la enfermedad, el sacrificio prematuro de las vacas y la eliminación de leche requerida.

CLASIFICACION

De acuerdo con su presentación la mastitis se clasifica en clínica y subclínica. La mastitis subclínica se caracteriza por un decremento en producción de leche con respecto a animales aparentemente sanos y esta puede deberse a la presencia de microorganismos patógenos sin presentar signos de inflamación local y sin cambios visibles aparentes en la leche o en la ubre (9). Se presenta con un incremento en el número de células somáticas, así como el decremento en la producción de leche. Esta clase de mastitis rara vez es sujeta a tratamiento con antibióticos, pero representa una pérdida económica importante debido a que afecta la producción y la calidad de la leche pudiendo poner en riesgo la salud del consumidor (9).

En casos de mastitis clínica se presentan signos clínicos tales como inflamación de la glándula mamaria y con frecuencia los animales presentan alteraciones en las constantes fisiológicas, además la leche podrá estar macroscópicamente alterada y observarse espesa, acuosa con sangre, presencia de coágulos entre otros cambios con relación a la normal (10). Ocurre con frecuencia alrededor del parto lo que coincide con el tiempo de mayor estrés de la vaca y los cambios en la ubre por el marcado aumento en la producción de leche en las glándulas mamarias y contribuye directa o indirectamente al desempeño y salud de la vaca a lo largo de la lactancia (10).

Las mastitis causadas por bacterias pueden ser divididas en 2 categorías; los organismos contagiosos incluyendo *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*; y los patógenos ambientales, incluyendo principalmente coliformes y estreptococos. Entre estos patógenos *Streptococcus agalactiae* provoca enfermedades agudas, subagudas, crónicas o ambas, las cuales encaminan a una disminución en la producción de leche. Este patógeno tiene la capacidad de incidir a la glándula mamaria durante el proceso de ordeño y es la principal causa de reinfección durante el periodo seco.

La mastitis se inicia después de una infección de algún patógeno que entra a la glándula mamaria a través del canal del pezón. Esto es seguido por un crecimiento bacteriano, producción de toxinas y después una evolución a ambos estados; clínicos o subclínicos o una resolución de la infección como resultado de una respuesta inmune de la vaca.

Algunas infecciones recurrentes son atribuidas al Biofilm o biopelícula que generan algunos microorganismos, la formación de este se acompaña de cambios fisiológicos y genéticos del microorganismo provocando una pérdida de susceptibilidad a diferentes tipos de antibióticos (11).

El Biofilm es una matriz polimérica compuesta por exopolisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos; producida por diversas colonias de bacterias contenidas en ellas misma. Los microorganismos se vuelven más tolerantes a la fagocitosis y son de 100 a 1000 veces menos susceptibles a los antibióticos convencionales. Esta tolerancia por parte de la bacteria es responsable de la cronicidad de la enfermedad y de cambios inmunopatológicos que ocasionan daños al tejido del huésped por la liberación de enzimas lisosomales y especies reactivas de nitrógeno y oxígeno (12).

La formación de Biofilm puede ser una característica ligada genéticamente la cual representa una ventaja selectiva en la patogénesis de la mastitis.

Este Biofilm comienza con la adhesión inicial y la subsecuente aglomeración en estructuras multicelulares; durante su desarrollo se requieren fuerzas adhesivas para la colonización de superficies y la interacción intercelular. Este tipo de fuerza juega un papel importante en la formación de canales cruciales para el oxígeno, metabolitos y nutrientes los cuales son entregados a las células y le conceden al Biofilm su estructura típica en 3D. Por otro lado, estas fuerzas mencionadas son importantes para el desprendimiento de las células, limitando la expansión del Biofilm y promoviendo la diseminación de la infección.

Este proceso es bastante significativo ya que permite la colonización de la bacteria patógena en otros sitios de infección y consecuentemente la formación de nuevos Biofilm, provocando la diseminación sistémica de la infección.

En Medicina Veterinaria la producción de Biofilm está relacionada con diversas enfermedades incluyendo la mastitis y esto se respalda por un cambio en la susceptibilidad antimicrobiana (13).

Actualmente se sabe que la formación de Biofilm puede ser inducida por el uso de concentraciones sub inhibitorias para diferentes agentes antimicrobianos; por ejemplo, Costa en el 2012 (14), demostró que las concentraciones sub inhibitorias de enrofloxacin, usualmente utilizadas en mastitis clínicas promueven la formación de Biofilm en aislamientos de mastitis por *E. coli* (Cuadro 2.0).

Un decremento en el pH favorece la formación del Biofilm y causa serios problemas desde que la terapia para mastitis está basada en el uso de antibióticos ácidos. Por lo tanto, algunos autores sugieren el uso de elevadores del pH en combinación con la terapia antibiótica con el objetivo de evadir infecciones persistentes (15).

Este hecho es preocupante ya que el 40% de los casos de mastitis surgen de infecciones previas con Biofilm las cuales son recurrentes después de una terapia fallida (16).

FISIOPATOLOGIA DE LA MASTITIS

La infección intramamaria ocurre una vez que la bacteria pasa a través del canal del pezón de un cuarto de la glándula mamaria multiplicándose en el pezón, la cisterna glandular y progresivamente a los tejidos productores de la leche. Estos microorganismos fisuran el canal del pezón de diversas maneras durante el proceso de ordeño, así como entre uno y otro ordeño.

Por ejemplo, durante el ordeño mecánico, los microorganismos son empujados dentro del canal del pezón hasta la cisterna del pezón a través de pequeñas gotas, (Imagen 1).

Durante el ordeño, la superficie de la piel del pezón queda expuesta al contagio de alguna bacteria que pudo haber quedado en la pezonera de alguna vaca previamente ordeñada. Inmediatamente después de remover las pezoneras de alguna glándula, estas bacterias permanecen en la parte distal de la superficie del pezón, así como en algunos residuos de leche y se concentran en la apertura del pezón para entrar por gravedad dejándolas en una posición oportuna para causar una infección.

Los microorganismos también pueden ser introducidos al canal del pezón cuando los animales son tratados con alguna infusión intramamaria.

También como se mencionaba entre un ordeño y otro los microorganismos pueden pasar a través del canal del pezón multiplicándose dentro del lumen del ducto, o a través de un movimiento físico resultado de la presión ejercida al final del pezón cuando la vaca realiza algún movimiento.

Por último, una invasión potencial bacteriana se ve realmente incrementada por aquellas bacterias que habitan o colonizan la piel, el orificio y el ducto del pezón; tales como *Staphylococcus aureus* y estafilococos coagulasa positivos (17). Una vez que los organismos fisuran el ducto del pezón y los espacios de la cisterna de la glándula, la adherencia bacteriana hacia el tejido reviste el interior de la glándula mamaria afectando la habilidad de permanecer dentro de la glándula, especialmente durante la lactación cuando el contenido de la glándula es periódicamente drenado durante cada ordeño.

La interacción de la bacteria con los leucocitos de la leche afecta el establecimiento de la infección. En la leche de glándulas mamarias sanas, los macrófagos son los leucocitos predominantes y sirven como centinelas para la detección de patógenos invasivos. Después de detectar las bacterias, los macrófagos liberan factores quimiotácticos que reclutan neutrófilos polimorfo nucleares (PMN) del área vascular al sitio de infección. Los PMN se extravasan en grandes cantidades e inicialmente se acumulan alrededor del alveolo, con el objetivo de migrar sobre el lumen alveolar, ductal y de la cisterna para contactar, tragar y matar a los patógenos invasivos.

Staphylococcus aureus es considerado el patógeno más importante en la mastitis bovina. El control efectivo de este patógeno depende del tratamiento antibiótico en infecciones intramamarias al secado y tratamiento eficaz de mastitis clínica y subclínica durante la lactación (17).

Este patógeno usualmente provoca infecciones crónicas, la cual es uno de los mecanismos de resistencia antibacteriana y está relacionado con la habilidad del patógeno para incorporarse a células fagocíticas como las células epiteliales del tejido mamario.

Estas células son responsables de la síntesis, empaquetado y expulsión de los componentes de la leche incluyendo caseínas, lípidos, vitaminas y minerales. La función inmune de estas células se debe a que pueden sentir patrones de asociación molecular con el patógeno y activar mecanismos primarios para la prevención de mastitis(18).

Los receptores tipo TOLL (TLR2 and TLR8) que se encuentran en la superficie de las células epiteliales son los encargados de reconocer a *Staphylococcus aureus* y sus remanentes induciendo un proceso inflamatorio a través de la activación de ciertas vías incluyendo la producción de especies reactivas de oxígeno (SRO) (19).

La excesiva acumulación de (SRO) es responsable del estrés oxidativo y la activación de proteínas cinasas (MAPK) con la consecuente producción de citocinas y quimiocinas (20).

Este proceso complejo de oxidación inducido por la acumulación de especies reactivas de oxígeno (SRO) y la activación del MAPK en la glándula mamaria altera el metabolismo de las células, síntesis de proteínas, apoptosis celular y reduce la resistencia de la invasión de patógenos permitiendo la alteración de la polaridad de la célula y determina así la muerte celular (21) (Imagen 2)

La producción excesiva de (SRO) también promueve la infiltración celular, exacerbando el proceso inflamatorio, además el excesivo estrés oxidativo disminuye la viabilidad de las células epiteliales del tejido mamario y altera su función fisiológica incluyendo la producción de caseína (CSN1 y CSN2)(22).

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

La resistencia antimicrobiana se ha convertido en un reto infinito para la selección de los fármacos y por lo tanto la evaluación y recomendación de nuevos antibióticos es importante para prevenir la emergente resistencia hacia ellos.

Mecanismos de Resistencia

El mecanismo más común de resistencia hacia los macrólidos consiste en un sitio de modificación mediado por al menos 36 enzimas RNAr metilasas codificadas en los genes (erm) (23).

Estos genes de resistencia han sido detectados en numeroso estreptococos y estafilococos incluyendo *Streptococcus suis*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus hyicus*, cabe mencionar que estos genes pueden ser transferidos horizontalmente debido a la asociación con elementos genéticos móviles (24).

El segundo mecanismo de resistencia más común es la expulsión activa del antimicrobiano por la bacteria, esto es mediada por genes de bombas de expulsión (*mef* y *msr*) los cuales confieren la resistencia a los macrólidos y la mayoría de los genes *mef* están asociados a elementos conjugados localizados en el cromosoma y los genes *msr* localizados en plásmidos. Otros genes de expulsión son los genes *vca* los cuales han sido encontrados en aislamientos de *S. aureus* ST398 de bovinos (25).

El tercer mecanismo de resistencia es una inactivación enzimática del fármaco mediada por eritromicina esterasas y macrólido 2'fosfotransferasas codificadas en los genes *mph* confiriendo la resistencia bacteriana a los macrólidos.

Scherpenzeel en el 2014 (26) menciona que dada esta importancia de evadir o al menos reducir los tratamientos con antibióticos se han realizado diversos estudios donde se compara que utilizando una terapia selectiva en vacas con un conteo de células somáticas bajo (< 150,000 células/ml para las primíparas y 250,000 células/ml para vacas multíparas) ha mostrado diversas ventajas como reducir el uso de antibióticos.

El reporte de los niveles de resistencia de *Staphylococcus aureus* hacia un antibiótico macrólido son mucho menores que los de la penicilina en un rango de 14% a 17% basado en una prueba fenotípica (27).

TERAPIA DE SECADO

La glándula mamaria es altamente susceptible a las infecciones durante el periodo de parto y la incidencia de mastitis es mayor en los próximos 30 días después del parto. Es muy importante mantener un control en la incidencia de esta enfermedad a partir de prácticas en el manejo del ganado, la rutina de ordeño y el equipo utilizado, así como adoptar en conjunto una adecuada terapia de secado (28).

La terapia de secado consiste en la aplicación de un tratamiento ya sea por una infusión intramamaria de antibiótico en la glándula o un tratamiento antibiótico administrado de forma sistémica al tiempo del secado o al final de la lactación. El objetivo del tratamiento al

momento del secado pretende excluir alguna infección intramamaria existente y evadir nuevas infecciones (29).

Este método busca controlar la mastitis y tiene como objetivo la prevención y eliminación de infecciones intramamarias lo que permite tener una glándula mamaria sana. Autores como : Gruet (30) y Gehring (31), reportan que realizar un protocolo de tratamiento en vacas que finalizan lactancia con fármacos seleccionados como ceftiofur, cloxacilina, penicilina, neomicina, cefapirina benzatínica con administración intramamaria, así como tetraciclinas, sulfonamidas, lincosamidas y macrólidos por vía parenteral es efectivo en un 70-85% contra infecciones intramamarias presentes al momento del secado.

Durante el periodo seco; eliminar y controlar una infección es mejor que durante la lactación ya que el fármaco no es excretado a partir de la leche y la concentración del antibiótico permanece elevada y uniforme en la glándula mamaria. Además, que hay menores pérdidas económicas por desechar la leche que contiene antibiótico (32).

Algunos estudios experimentales sugieren que la terapia de secado es la más efectiva para el control de infecciones intramamarias provocadas por *Streptococcus agalactiae* y en algunas ocasiones contra infecciones por *Staphylococcus aureus* (33). Esto se debe a que en este periodo la glándula mamaria se encuentra menos expuesta a los patógenos contagiosos en comparación a un periodo de ordeño regular; por lo tanto, la terapia de secado controla estos patógenos eficientemente.

Williamson y colaboradores en 1995 (34) realizaron un estudio con el fin de evaluar un tratamiento profiláctico en vacas en el periodo seco con una infección por *Streptococcus uberis* y observó que la incidencia tanto en el periodo seco como en el periodo post parto las infecciones se redujeron significativamente tras adoptar una terapia de secado.

Berry y Hilerton (35) revelaron en su estudio que, en los cuatro cuartos de todas las vacas evaluadas, el tratamiento para la vaca seca muestra una reducción en el número de infecciones intramamarias en el periodo seco tardío y reduce el número de infecciones detectables al momento del parto. Por lo tanto, se determina que una terapia en el periodo

seco es más efectiva comparada con un tratamiento durante la lactancia y más importante aún para evitar residuos en la leche.

Tras adoptar una terapia antibiótica en la vaca seca, la incidencia de nuevas infecciones en la glándula se puede reducir significativamente durante el parto y el periodo post parto; comparándolo con vacas que no hayan recibido alguna terapia antibiótica.

Terapia de Secado Sistémica

La terapia sistémica en el periodo seco tiene diversas ventajas; distribución uniforme del fármaco en el tejido de la glándula mamaria la cual beneficia a una cura rápida en infecciones intramamarias y a la prevención de un posible riesgo de nuevas infecciones al momento de la administración de infusiones intramamarias.

Hay algunos animales cuyo manejo de la glándula mamaria y el pezón es más complicado, por lo tanto, se puede optar por una terapia de secado sistémica. Tal es el caso del búfalo cuyo esfínter es más rígido y en la inserción de la cánula del fármaco intramamario puede traumatizar y abrir el pezón permitiendo un proceso de mastitis (36).

Soback y colaboradores (37) evaluaron la eficacia de tres diferentes programas para la eliminación y prevención de infecciones intramamarias por *Staphylococcus aureus* en el periodo seco. Para esto se utilizaron 3 fármacos: Norfloxacin nicotínica inyectada por vía subcutánea, oxitetraciclina HCl por vía intramuscular y cefapirina benzatínica por infusión intramamaria. Se observó que únicamente el grupo tratado con Norfloxacin nicotínica reduce significativamente las infecciones intramamarias existentes por *Staphylococcus aureus*.

TILMICOSINA EN EL SECADO

La Tilmicosina es un antibiótico macrólido semisintético con actividad contra bacterias Gram positivas y algunas Gram negativas, está aprobado para su uso en medicina veterinaria en el

tratamiento de enfermedades respiratorias en bovino a dosis de 10 mg/kg (38). Además de su afinidad por tejido pulmonar, al alcanzar concentraciones 5-10 veces mayor respecto a plasma (38). La Tilmicosina ha demostrado excelente difusión a glándula mamaria después de la administración de 10 mg/kg, logrando concentraciones terapéuticas contra *Staphylococcus aureus* hasta por 7.5 días (39)

La Tilosina y la Tilmicosina son usados rutinariamente en la terapia de secado en la mayoría de las producciones lecheras debido a que brindan alta biodisponibilidad a partir del sitio de inyección; son solubles en los lípidos, prolongada vida media, baja unión a proteínas y concentración intracelular en fagocitos, por lo tanto, los macrólidos son considerados de interés para la terapia sistémica de secado.

La resistencia de *Staphylococcus aureus* hacia los macrólidos se debe principalmente a tres mecanismos primarios. A través de la modificación del sitio blanco, del tiempo activo del fármaco del antibiótico y de la inactivación del fármaco (40).

Un preparado de Tilmicosina fue descrito por Dumortier en 2006 (41); esta preparación libera la Tilmicosina del polaxámero 407 termorreversible con una cinética de orden cero, produciendo una prolongada vida media de eliminación (39.8 h), con una dosis de 20 mg/kg se logran concentraciones séricas útiles durante 8-10 días y la constante liberación del gel polaxámero 407 formada in situ evita el pico de concentración sérica. Por tanto, no se observan cambios en la frecuencia cardíaca ni signos de intoxicación cardíaca (Soriano, 2003) (42).

Por lo anterior, se sugiere realizar un secado parenteral con la Tilmicosina toda vez que tiene una buena difusión en el tejido mamario desde el plasma.

El preparado de Tilmicosina (Patente UNAM 212148; Instituto Mexicano de la Protección Industrial) a dosis de 20 mg/kg/SC logra concentraciones terapéuticas en glándula mamaria contra *S. aureus* durante 20 días (43) , por lo que es factible postular su uso como terapia de secado mediante la aplicación única de 20 mg/kg/ por vía SC para generar concentraciones homogéneas en las cuatro glándulas mamarias. Las glándulas mamarias con mastitis subclínicas y aun clínicas serían tratadas en forma correcta durante el periodo más crítico del periodo de seco.

JUSTIFICACIÓN

A pesar de las múltiples terapias de secado conocidas actualmente y a la importancia de nuevas apariciones de animales al parto con mastitis infecciosa es importante contar con un antibiótico de aplicación sistémica como la Tilmicosina, que además de disminuir la invasividad, pueda influenciar en la disminución de este tipo de problemas que afectan la producción de leche en México.

HIPÓTESIS

La administración de Tilmicosina de larga acción a dosis única de 20 mg/kg/SC en vacas al inicio del periodo de secado, posee una mayor eficacia bactericida en comparación con el tratamiento de rutina de Penicilina Neomicina por vía intramamaria en un sistema de manejo intensivo.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la eficacia antibacteriana de la Tilmicosina de larga acción como terapia de secado en vacas productoras de leche.

Objetivos específicos

- 1.- Diagnosticar el estado de salud de glándula mamaria de vacas al finalizar la lactación mediante examen clínico general y pruebas microbiológicas de la leche.
- 2.- Implementar un tratamiento con Tilmicosina de larga acción a dosis única de 20 mg/kg por vía subcutánea como terapia de secado de glándula mamaria en vacas productoras de leche.
- 3.- Evaluar la eficacia antibacteriana del tratamiento de secado de glándula mamaria de vacas con Tilmicosina de larga acción mediante pruebas microbiológicas de la leche después del parto.

I. MATERIAL Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio

El estudio se realizó en los establos 192 y 205 del Complejo Agropecuario e Industrial de Tizayuca S.A. (CAITSA) ubicado en el km 40.5 de la carretera federal México-Pachuca en el municipio de Tizayuca, Hidalgo.

Población Animal

Se utilizaron 91 vacas Holstein Friesian de 2° a 5° parto con una dieta baja en energía encaminada a disminuir la producción láctea adecuada para una terapia de secado. Estas vacas estuvieron aparentemente sanas y sin registro de tratamientos con antibióticos 5 días antes del presente estudio. Todas las vacas finalizaron lactación con 305 días en producción en promedio.

El manejo durante el periodo seco fue de acuerdo con el Médico Veterinario Zootecnista, el cual consiste en proporcionar una alimentación de vaca seca, basada en una dieta con 13 a 15 % de proteína cruda; 1.30-1.39 Mcal EN/kg de energía proporcionado 4 veces al día. Los requerimientos en agua fueron proporcionados a libre acceso, durante todo el día.

Los procedimientos con animales se llevaron a cabo de acuerdo con la normatividad sobre el uso de animales en la investigación establecidos por la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). No de Protocolo 607. Los animales fueron seleccionados como donantes de muestras de leche, que fue obtenida siguiendo los lineamientos del Consejo Nacional de Mastitis (44) de forma cuidadosa y evitando algún daño sobre los animales.

A todas las vacas que entraron a periodo seco se les hizo un examen físico general y específico en glándula mamaria, así como la Prueba de California para Mastitis de acuerdo a lo descrito por Michael McFadden en California Mastitis Test and Milk Quality (45).

Las vacas fueron distribuidas de forma completamente aleatorizada en dos grupos: el grupo experimental fue tratado con la Tilmicosina LA a dosis de 20 mg/kg/SC dosis única en el momento de secado, mientras que el grupo control fue tratado con el producto intramamario de rutina en la producción pecuaria (penicilina-neomicina a dosis de 10 ml por cuarto).

Toma y manejo de muestra

Antes del último ordeño del periodo de lactación, se colectaron 20 mL de leche de cada glándula mamaria siguiendo los lineamientos de National Mastitis Council (2004) (46) en tubos estériles de 50 mL que fueron enviados para su análisis microbiológico. El mismo procedimiento se repitió dentro de las 24 horas después del parto para ambos grupos

Cultivo microbiológico

Las muestras de leche fueron remitidas para cultivo bacteriológico al Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM a una temperatura de 4°C. En el laboratorio las muestras de leche fueron incubadas a 37°C por 30 minutos para liberar los microorganismos de la grasa. Cada muestra fue agitada con ayuda del vortex durante 5 min para lograr una mezcla homogénea. Por duplicado 20 µL de muestra fueron sembradas con la técnica de estriado, sobre placas de cada uno de los medios de agar sangre, agar MacConkey y agar manitol sal e incubadas en condiciones aerobias a 37 °C durante 24 a 48 horas. Las colonias de bacterias fueron identificadas inicialmente con base a los resultados a la tinción de Gram y por sus características morfológicas y fisiológicas. Los microorganismos fueron identificados según lo descrito por Carter, G. R., (47).

Una infección intramamaria fue definida como el aislamiento bacteriano de ≥ 3 UFC por cada 20 µL de inóculo. Una infección intramamaria fue considerada curada cuando una bacteria previamente identificada no es cultivada en la muestra tomada 24 horas posteriores al parto.

Prueba de California CMT

Para la detección rutinaria de mastitis los animales se sometieron a la prueba de California antes del muestreo para el cultivo bacteriológico. Se adiciona el surfactante el cual contiene

purpura de bromocresol; el cambio de color indicara la variación del pH de la leche y, por lo tanto, el nivel de inflamación. La interacción del surfactante con la leche positiva a mastitis afectará el núcleo de las células somáticas y la viscosidad de la mezcla aumentará. La evaluación de la reacción de la leche aplicando la prueba de California se establece en el cuadro (3.0)

Durante el procedimiento se tomaron fotografías termogénicas que muestran algunas glándulas en el proceso de involución, otras en donde se observa la glándula ordeñada posterior al secado para ambos grupos de terapia y glándulas después del parto, así como una posible alteración de la temperatura de los cuartos mamarios debido a una inflamación local relacionado a un proceso de mastitis. (Imágenes 3-10)

Tratamiento

En el momento de secado, las vacas del grupo Experimental recibieron 20 mg/kg/SC a dosis única del preparado a base de polímero al 40% de Tilmicosina fosfato diseñado para su acción extendida. Se administró en las porciones laterales del cuello justo en la parte craneal del hombro usando jeringas de 20 mL con agujas hipodérmicas de 25 mm no más de 10 mL por sitio de inyección. Las vacas del grupo Testigo recibieron una suspensión estéril en forma de infusión intramamaria de Penicilina G procaínica (1, 000,000 U.I) y Sulfato de Neomicina (250 mg) por glándula al momento de secado. Previamente la asepsia de cada pezón según Castro, (2018) (48) quien menciona que debe realizarse la limpieza y desinfección de los pezones con un producto germicida eficaz dejándolo actuar de 25 a 30 segundos y luego secar. También se realizó una desinfección cuidadosa de la punta del pezón con alcohol al 70%.

Análisis estadístico

La eficacia del tratamiento se determinó por cada glándula que tenga una respuesta positiva al tratamiento de prueba. Se aplicó un modelo de Regresión Logística Binaria Multivariante para obtener un modelo que permitió pronosticar los resultados del efecto clínico de la tilmicosina. La variable dependiente tuvo una respuesta binaria (1= Positiva; 2= Negativa).

Como variables independientes se utilizaron diferentes variables como son el tratamiento, edad, resultado de la prueba de california, la condición corporal y la época del año como variables categóricas. Cuadro 4.0

En la relación logística para estudiar el efecto de una variable predictora categórica se selecciona una de las categorías de la variable como referencia y se analiza el efecto que produce sobre la variable dependiente, cambiar de esa categoría a las restantes. (49)

La regresión logística propone que el logaritmo de la razón de probabilidad, entendida como el cociente entre la probabilidad de éxito y la de fracaso en un ensayo de Bernoulli, es igual a una función lineal en los parámetros, denominada usualmente predictora lineal. (50)

La ecuación en el modelo comprende de:

$$P(Y=1) = \frac{1}{1 + \exp(-a - \beta_1 X_1 - \beta_2 X_2 - \beta_3 X_3 - \dots - \beta_k X_k)}$$

A partir de los coeficientes de regresión (β) de las variables independientes se obtuvo la O_i , (ratio del riesgo) de cada una de ellas, que corresponde al riesgo de tener el resultado o efecto evaluado para un determinado valor (X) respecto al valor disminuido en una unidad ($x-1$).

Donde a , β_1 , β_2 , β_3 , ..., β_k son los parámetros del modelo, y Exp denota la función exponencial.

Todas las pruebas se analizaron con el paquete estadístico IBM SPSS ver19® y valores de $P < 0.05$ fueron considerados significativos (51).

RESULTADOS

En relación al estudio bacteriológico previo a los tratamientos, las bacterias identificadas fueron: *Staphylococcus aureus*, (62.71%), *Staphylococcus spp*, (22.03 %), *Streptococcus uberis* (10.16%) y *E. coli* (5.08%). En el segundo muestreo 4 días después del parto se encontró: *Staphylococcus aureus* (35.55%), *Staphylococcus spp* (35.55%), *Streptococcus uberis* (13.33%) y *E. coli* (15.55%) (Figura 1).

Los resultados del efecto bacteriológico evaluado en el grupo experimental, la Tilmicosina de larga acción a dosis de 20 mg/kg/SC tuvo una eficacia clínica y bacteriológica del 57% mientras el grupo control donde se administró una infusión intramamaria de Penicilina G procaínica (1, 000,000 U.I) y Sulfato de Neomicina (250 mg) fue de 53%. Se consideró eficacia clínica y bacteriológica aquellos animales donde se presentó la eliminación total del microorganismo o una disminución del número de UFC al momento del parto, a la variable se le otorgó una respuesta binaria, es decir Positiva o Negativa (Figura 2).

El modelo de Regresión Lineal Binaria, propuesto para este análisis que toma en cuenta los factores favorables y desfavorables en el estudio y que nos permitió determinar la eficacia del tratamiento en el secado de la glándula mamaria, no fue significativo $P=0.621$ (Cuadro 1).

Para el segundo muestreo post parto (Día 4), se realizó un muestreo para evaluar la eficacia clínica. Se observa un incremento en el número de muestras donde no hubo desarrollo bacteriano, así como una disminución en el número total de microorganismos recuperados de las muestras con un cambio en los porcentajes de las cepas aisladas, por ejemplo, *Staphylococcus aureus* paso de 62% antes del secado a 35% al inicio de la lactancia (Figura 1). Estos porcentajes son con base al número de muestras con desarrollo bacteriano y que corresponde a 59 aislados antes del tratamiento y 45 aislados al momento del parto.

Bacteriológico por Tratamiento

La Tilmicosina de LA por vía subcutánea muestra un efecto significativo para *Staphylococcus aureus* ya que antes de comenzar la terapia de secado hubo 22 aislamientos y disminuyeron a 7 al momento del parto, lo que significa una disminución del 68.19 % en los aislamientos de este patógeno. Para *Staphylococcus spp* se observa un incremento en el

número de aislados al momento del parto. Para *Streptococcus uberis* y *E. coli* no se observó un cambio significativo (Figura 3A).

El tratamiento de penicilina-neomicina por vía intramamaria en el periodo seco mantiene un número similar de muestras donde no se obtiene desarrollo bacteriano, al final del periodo de lactar comparado con el inicio de la lactación. También disminuye los aislamientos de *Staphylococcus aureus* al inicio de la lactancia. De 14 aislamientos de este patógeno al inicio del secado, comparados con 8 aislamientos encontrados al inicio de la lactación que corresponde a una disminución de este patógeno del 42.8 %. Se observa que se incrementa el número de aislamientos de diferentes especies de *Staphylococcus* coagulasa negativas al inicio de la lactación (Figura 3B).

Cura bacteriológica por Tratamiento.

La cura parcial, es decir la disminución de los microorganismos presentes en la leche, presenta una mayor eficacia con el uso de la Tilmicosina LA comparado con la cura parcial observada para penicilina-neomicina por vía intramamaria ya que permite reducir las UFC de *Staphylococcus aureus* presentes en las muestras de leche, de 15000 a 150 y de 7500 a 400 respectivamente, tal como se observa en el ejemplo de dos animales tratados con los fármacos mencionados (Figura 4).

El uso de Tilmicosina en el periodo seco incrementa el número de muestras sin desarrollo bacteriano al inicio de la lactancia y disminuye la presencia de *Staphylococcus aureus*, en algunos casos se presenta una cura total y en otros baja la cantidad de bacterias que son recuperadas de la leche, para otros géneros y especies bacterianas como *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus spp* y *E. coli* no se observa cambio significativo (Figura 5A y 5B).

Prevalencia

La prevalencia de mastitis subclínica por cuarto a partir de la prueba de California antes del secado nos permite observar que entre el 60% y 68% de los cuartos tuvieron resultado de Trazas o Negativas, entre el 16% y el 22% de los cuartos tuvieron un grado 1 en el resultado. Entre el 2.2% y 9.1% de los cuartos se observaron con grado 2 y solamente entre el 5% y 10% resultaron con grado 3 (Figura 6).

Se relacionó la cura bacteriológica de cada tratamiento de acuerdo al número de partos, el número total de vacas en este estudio fue de 91. Para el tratamiento de tilmicosina se observó que entre el primer y tercer parto es donde se obtiene una mejor eficacia del medicamento. Mientras que para el tratamiento de penicilina-neomicina las vacas entre el segundo y tercer parto es donde actúa mejor este medicamento (Figura 7 A y B).

Efecto de cura bacteriológica sobre *Staphylococcus aureus*.

Se analizó por medio del método de Chi-Cuadrada el efecto de cura bacteriológica dentro de cada tratamiento sobre *Staphylococcus aureus* antes y después del secado; las tablas de contingencia se presentan en la figura (8A) y (8B). Para el tratamiento con Tilmicosina se obtuvieron 18 casos con respuesta positiva es decir con cura bacteriológica de los 22 casos totales y 4 casos que no tuvieron respuesta al tratamiento. $P=0.371$

Para el tratamiento con Penicilina-Neomicina se obtuvieron 8 casos con respuesta positiva es decir con cura bacteriológica de los 14 casos totales y 6 casos que no tuvieron respuesta al tratamiento. $P= 0.486$.

DISCUSION

La situación actual de la ganadería lechera en nuestro país y alrededor del mundo es principalmente afectada por la mastitis infecciosa ya que representa una de las mayores adversidades en la industria con una tasa de prevalencia de alrededor del 40% en las producciones lecheras, en conjunto con el aumento de las tasas de resistencia de distintas cepas bacterianas a diversos antibióticos utilizados en la terapia farmacológica. (52)

La administración de antibióticos de amplio espectro al inicio del periodo seco previene la aparición de nuevas infecciones intramamarias y desde luego incrementa el índice de curación de infección intramamarias ya existentes.

Las razones por las que un tratamiento falla incluyen la pobre penetración del fármaco debido al área de fibrosis en el tejido glandular, inflamación o formación de abscesos, inactivación del antibiótico por los componentes del suero y leche, además por la producción de enzimas y por la capacidad de evadir los mecanismos microbicidas por parte de los patógenos (53).

Un estudio realizado por Pantoja y colaboradores, en el 2009 sobre el estatus del conteo celular somático como factor de riesgo durante el periodo de secado muestra que en el resultado microbiológico los principales patógenos son los organismos Gram positivos como *Staphylococcus aureus* CNS teniendo un porcentaje de 64% mientras que en el presente estudio encontramos un porcentaje similar de este patógeno pues fue del 62.7%. Por el contrario para *Streptococcus uberis* (54). Pantoja reporta un porcentaje de 3% mientras que este estudio tiene un porcentaje de 10.10%.

Diversos investigadores señalan que una adecuada terapia de secado presenta curas del 50 al 98% sobre infecciones intramamarias existentes, dependiendo del tipo de patógeno implicado. (55)

Los factores que determinan una buena terapia de secado como una herramienta invaluable son la reducción en la dilución de antibióticos en la glándula después de la infusión intramamaria; una mejor distribución del fármaco que permita la involución de la glándula y reducción en la pérdida de leche debido a residuos de antibióticos. (56)

Con la finalidad de evitar los obstáculos mencionados y obteniendo una buena distribución del fármaco antimicrobiano, la administración por vía parenteral ha sido probada incluyendo a los macrólidos. La tilmicosina ha demostrado una perfecta difusión hacia el tejido mamario y con la capacidad de difundirse hacia el citoplasma de muchas células. (57)

Estudios realizados por Bonnier, et al (2006) (58) indican que la concentración mínima de la Tilmicosina necesaria para inhibir el 90% de los aislados de *Staphylococcus aureus* es de 1.0 µg/mL. Un estudio precedente al nuestro y utilizando la dosis de Tilmicosina de 20mg/kg vía subcutánea, misma dosis utilizada en nuestra investigación, mencionan que se registraron concentraciones de Tilmicosina en secreciones de glándula mamaria > a 1.0 µg/mL y que esta se mantenía alrededor de 90 días.

En este estudio se observa que el uso Tilmicosina LA para el secado de la glándula mamaria es efectivo para tratar infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* al final del periodo de lactar logrando una cura de 65.2% (n=23). Esta formulación experimental del fármaco con 20 mg/kg, permite lograr y mantener altas concentraciones en el tejido glandular mamario. También es importante considerar que alrededor del 50% de las vacas

utilizadas se encuentran entre 1° y 3° parto que es donde se presenta el pico de producción y tejido glandular en mejores condiciones. Observamos que las vacas de 1° y 3° parto responden mejor a la terapia con Tilmicosina, no así los animales que se encuentran entre el 4° y 5° parto, donde posiblemente se presenta tejido glandular menos eficiente y mayor cantidad de tejido con fibrosis.

A partir del Modelo Estadístico se observa significancia estadística con relación a la positividad del Tratamiento es decir aislamientos negativos o baja en el número de UFC al inicio de la lactancia en la Prueba de California ($P= 0.039$ y 0.003) en el grado Trazas y 1, esto se puede deber a que las células somáticas y factores antimicrobianos tienen la capacidad de controlar las infecciones intramamarias presentes y por lo tanto el tratamiento actúa eficazmente. No así en los grados 2 y 3 donde el tejido glandular se encuentra más lesionado ya sea por fibrosis o abscesos que inhiben la potencia del tratamiento.

El uso de otras terapias de secado parenteral se ha descrito; por Nickerson, Owens (1999) (59) en el cual menciona que se obtuvo una cura bacteriológica contra *Staphylococcus aureus* de 9.1% para la Tilmicosina inyectada. En contraste en este estudio se presentó una cura bacteriológica mayor contra *Staphylococcus aureus* de 57.14%, esto se puede deber a la elevada dosificación que se utilizó (20 mg/kg). Sin embargo, esta cura bacteriológica contra *Staphylococcus aureus* fue menor comparada con la encontrada por Mendoza, *et al*, (2015) (60) la cual fue de 100%, la cual se puede deber a mejores condiciones de higiene y resistencia antimicrobiana del citado lugar. Por otro lado, Dingwell *et al* (2003) (61) donde utiliza una infusión de Tilmicosina por vía intramamaria muestra una cura bacteriológica en general de 67.3%. En contraste con el presente estudio que presentó una cura bacteriológica menor ya que fue de 57%. Sadegh Mohammadsadegh, (2017) (62) a partir de un estudio de una terapia de secado con una infusión de Tilmicosina obtuvo una cura bacteriológica mayor de 80% para *Staphylococcus aureus* y 87% para coagulasa negativos (CNS). No así en el presente estudio se obtuvo una menor cura bacteriológica de 57.14% para *Staphylococcus aureus* y 0% para CNS.

El uso de la penicilina y neomicina por vía intramamaria como terapia de secado presentó una cura bacteriológica de 53%. Sin embargo, Taponen, S., Dredge, K., Henriksson, (2001)

(63) reporta una cura bacteriológica mayor de 78% y clínica de 73.8%, es decir mucho mejor que lo reportado en este estudio. La diferencia se puede deber al sinergismo de los fármacos el cual depende de la concentración de cada uno de ellos y a las características genéticas de las bacterias que le confieren susceptibilidad o resistencia; por otro lado, estos resultados son probable debido al uso indiscriminado de estos productos en la Cuenca Lechera de Tizayuca, ocasionen el desarrollo de mecanismos de resistencia hacia los mismos.

En relación a la prevalencia de mastitis subclínica previo al secado en el presente estudio de infecciones intramamarias de cada cuarto en el secado cuyos valores variaban entre el 5% y el 22% no así Petzer y colaboradores (2009) (64) menciona que la prevalencia de infecciones intramamarias de cada cuarto en el secado fue de 29.78% resultado mayor al presente estudio. Finalmente, Kalmus y colaboradores (2014) reporta que utilizando bencilpenicilina por vía intramamaria y por vía parenteral obtuvieron una cura bacteriológica de 54.1% y 55.7%, respectivamente (65). En contraste con los resultados obtenidos en este estudio, muestran resultados similares, para los tratamientos de Tilmicosina (57%) y Penicilina Neomicina (53%). Cabe destacar que el tratamiento utilizado por Kalmus de bencilpenicilina parenteral se aplicó durante 5 días mientras que en este estudio fue de una sola aplicación previo a iniciar el periodo seco.

Un aspecto importante a considerar en los resultados del presente estudio es que solo se tomó una muestra al inicio de la lactancia. (Newbould, 1974) (66) menciona que una reaparición de *Staphylococcus aureus* puede extenderse hasta los 28 días después del parto por lo que se requieren tomar varias muestras para una correcta evaluación de la cura bacteriológica.

CONCLUSIÓN

Para ambos tratamientos se obtuvo una eficacia similar, para los diversos patógenos que provocan las infecciones intramamarias. Sin embargo, la Tilmicosina muestra un efecto significativo sobre *Staphylococcus aureus*. Cabe resaltar que es necesario confirmar el potencial de la Tilmicosina en futuros estudios en virtud de que las muestras obtenidas fueron insuficientes.

Por todo lo anterior es necesario desarrollar más estudios con la incorporación de otros componentes a la Tilmicosina, que permitan destruir la biocapa bacteriana y que el antibiótico actúe eficazmente sobre los microorganismos involucrados durante el periodo del secado y permitir una mejora en la producción láctea

La penicilina y neomicina intramamaria como terapia de secado, es también una buena opción para el control de infecciones intramamarias presentes al iniciar el periodo seco y para la prevención de nuevas infecciones.

REFERENCIAS

1. Panorama de Leche en Mexico , Boletín de Sagarpa . 2018;
2. Maldonado-García G. Evaluación de agroempresas lecheras con diferente nivel tecnológico en el occidente y norte de Mexico. 2011;1–43.
3. Calvino, Luis. 2007. “Jornada APROCAL – INTA Rafaela, Julio 2007 1.” : 1–11.
4. Malik TA, Mohini M, Mir SH, Ganaie BA, Singh D, Varun TK, et al. Somatic Cells in Relation to Udder Health and Milk Quality-A Review. J Anim Heal Prod. 2018;6(1):18–26.
5. Bedolla, C., y Ponce De León M. Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera - Economic causalities inflicted by the bovine mastitis in the milk industry). Redvet. 2008;9(4):1–26.
6. Hogeveen H. Mastitis is an economic problem. Proc Br Mastit Conf. 2005;1–73.
7. Bar, D., L. W. Tauer, G. Bennett, R. N. Gonzalez, J. A. Hertl, Y. H. Schukken, H. F. Schulte, F. L. Welcome, and Y. T. Gröhn. 2008. The cost of generic clinical mastitis in dairy cows as estimated by using dynamic programming. J Dairy Sci 91(6):2205-2214.
8. Pinzón-Sánchez, C.,V. E. Cabrera and P.L. Ruegg. Decision tree analysis of treatment strategies for mild and moderate cases of clinical mastitis. Accepted J Dairy Sci. 2010.
9. Andresen H. Mastitis: prevención y control. Rev Investig Vet del Perú [Internet]. 2001;12(2):55–64. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v12n2/a10v12n2.pdf>
10. Akers RM, Nickerson SC. Mastitis and its impact on structure and function in the ruminant mammary gland. J Mammary Gland Biol Neoplasia. 2011;16(4):275–89.
11. Bahraminia F, Emadi SR, Emaneini M, Farzaneh N, Rad M, Khoramian B.

- A high prevalence of tylosin resistance among *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis. *Vet Res forum an Int Q J* [Internet]. 2017;8(2):1215. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28785387> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC5524549>
12. Wei Z, Xiao C, Guo C, Zhang X, Wang Y, Wang J, et al. Sodium acetate inhibits *Staphylococcus aureus* internalization into bovine mammary epithelial cells by inhibiting NF- κ B activation. *Microb Pathog*. 2017 Jun 1;107:116–21.
 13. Menzies M, Ingham A. Identification and expression of Toll-like receptors 1-10 in selected bovine and ovine tissues. *Vet Immunol Immunopathol*. 2006;109(1–2):23–30.
 14. Costa JCM, Espescht IF, Pieri FA et al. Increased production of biofilms by *Escherichia coli* in the presence of enrofloxacin. *Vet Microbiol* 2012;160:488–90.
 15. Alva-Murillo N, Medina-Estrada I, Báez-Magaña M, Ochoa-Zarzosa A, López-Meza JE. The activation of the TLR2/p38 pathway by sodium butyrate in bovine mammary epithelial cells is involved in the reduction of *Staphylococcus aureus* internalization. *Mol Immunol*. 2015;68(2):445–55.
 16. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2010;49(11):1603–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>
 17. Gehring R, Smith GW. An overview of factors affecting the disposition of intramammary preparations used to treat bovine mastitis. *J Vet Pharmacol Ther*. 2006;29(4):237–41.
 18. Modric S, Webb AI, Derendorf H. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of tilmicosin in sheep and cattle. *J Vet Pharmacol Ther*. 1998;21(6):444–52.
 19. Nickerson SC, Owens WE, Fox LK, Scheifinger CC, Shryock TR, Spike TE. Comparison of Tilmicosin and Cephapirin as Therapeutics for *Staphylococcus aureus* Mastitis at Dry-off. *J Dairy Sci* [Internet].

- 1999;82(4):696–703. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030299752860>
20. Scorneaux B, Shryock TR. Intracellular Accumulation , Subcellular Distribution , and Efflux of Tilmicosin in Bovine Mammary , Blood , and Lung Cells. *J Dairy Sci* [Internet]. 2001;82(6):1202–12. Available from: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75343-9](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75343-9)
 21. Bose JL, Bayles KW. *Staphylococcus aureus*. In: *Brenner’s Encyclopedia of Genetics* [Internet]. Elsevier; 2013. p. 553–5. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978012374984001473X>
 22. Mcfadden M. California Mastitis Test and Milk Quality. *Michigan Dairy Rev*. 2011;16(2):1–3.
 23. Isobe N. Control mechanisms for producing antimicrobial factors in ruminant mammary gland. *Anim Sci J*. 2017;88(7):937–43.
 24. Zhang GW, Lai SJ, Yoshimura Y, Isobe N. 2014a. Messenger RNA expression and immunolocalization of psoriasin in the goat mammary gland and its milk concentration after an intramammary infusion of lipopolysaccharide. *The Veterinary Journal* 202, 89–93
 25. Carter GR, Cole JR, Jr., eds. *Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology* 5th ed. Academic Press Inc., San Diego. 1991. 620 pp.
 26. Scherpenzeel CG, den Uijl IE, van Schaik G, et al. Evaluation of the use of dry cow antibiotics in low somatic cell count cows. *J Dairy Sci* 2014;97:3606–3614.
 27. Fundamentales A, En AT, En C, Terapia LA. Buenas prácticas para una terapia de secado efectiva. 2018;1–2.
 28. Dingwell, R.T. et al. 2003. “Efficacy of Intramammary Tilmicosin and Risk Factors for Cure of *Staphylococcus Aureus* Infection in the Dry Period.” *Journal of Dairy Science* 86(1): 159–68. <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030203735966>.
 29. Cousins, C.L., T.M. Higs, E.R. Jackson, F.K. Neave and F.H. Dodd (1980). Susceptibility of the bovine udder to bacterial infection in the dry period. *J. dairy Res.* 47: 11-18.); Radostits, O.M., C.C. Gay, K.W. Hinchcliff, and P.D. Constable (2007). *Veterinary Medicine - A Textbook of the Diseases*

of Cattle, Sheep, Pigs, Goats, and Horses. 10th Ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia USA

30. Gruet, P., Maincent, P., Berthelot, X., Kaltsatos, V., 2001. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. *Advanced Drug Delivery Reviews* 50, 245–259.
31. Gehring R, Smith GW. An overview of factors affecting the disposition of intramammary preparations used to treat bovine mastitis. *J Vet Pharmacol Ther.* 2006;29(4):237–41
32. Green MJ, Bradley AJ, Medley GF, Browne WJ. Cow, Farm, and Management Factors During the Dry Period that Determine the Rate of Clinical Mastitis After Calving. *J Dairy Sci* [Internet]. 2007;90(8):3764–76. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030207718337>
33. Sandholm, M., T. Honkaneva, L. Kaartinen and S. Pyorala (1995). Dry cow therapy: The bovine udder and mastitis. *J. Vet. Med.* 39:209-214;
34. Williamson J.H., Woolford M.W., Day A.M. (1995) The prophylactic effect of a dry cow antibiotic against *Streptococcus uberis*. *New Zealand Vet. J.*, 43, 228-234.
35. Berry E.A., Hillerton J.E., The effect of an intramammary teat seal on new intramammary infections, *J. Dairy Sci.* 85 (2002) 2512–2025.
36. Natzke 1971; Natzke et al., 1972; Eberhart and Bachalew, 1972; Philpot, 1979; Dodd, 1983; Bramly and Dodd, 1984
37. Soback S., Ziv G., Winkler M., Saran A. (1990): Systemic dry cow therapy - a preliminary report, *J. Dairy Sci.*, 73, 661 -666.
38. Modric S, Webb AI, Derendorf H. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of tilmicosin in sheep and cattle. *J Vet Pharmacol Ther.* 1998;21(6):444–52.
39. Nickerson SC, Owens WE, Fox LK, Scheifinger CC, Shryock TR, Spike TE. Comparison of Tilmicosin and Cephapirin as Therapeutics for *Staphylococcus aureus* Mastitis at Dry-off. *J Dairy Sci* [Internet]. 1999;82(4):696–703. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030299752860>

40. Scorneaux B, Shryock TR. Intracellular Accumulation , Subcellular Distribution , and Efflux of Tilmicosin in Bovine Mammary , Blood , and Lung Cells. *J Dairy Sci* [Internet]. 2001;82(6):1202–12. Available from: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75343-9](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75343-9)
41. Dumortier, G., Grossiord, J., Agnely, F., Chaumeil, J., 2006. A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics. *Pharm. Res.* 23,2709–2728.
42. Soriano VE, Vera NA, Salado CR, Fernández RP, Blackall PJ. In vitro susceptibility of *Ornithobacterium rhinotracheale* to several antimicrobial drugs. *Avian Dis.* 2003; 47:476–80
43. Bose, J. L., & Bayles, K. W. (2013). *Staphylococcus aureus*. In Brenner's Encyclopedia of Genetics (Vol. 77, pp. 553–555). Elsevier. <https://doi.org/AJVR> Vol 77 No. 9 September 2016
44. NMC. Procedures for collecting milk samples. Available at: www.nmconline.org/sampling.htm. Accessed August 2019
45. NMC. Using bulk tank milk cultures in a dairy practice. Available at: www.nmconline.org/articles/bulktank.htm. Accessed August 2019.
46. NMC. Procedures for collecting milk samples. Available at: www.nmconline.org/sampling.htm. Accessed August 2019
47. Roy J. SAS for Mixed Models, Second Edition . R. C. Littell, G. A. Milliken, W. W. Stroup, R. D. Wolfinger, and O. Schabenberger. *J Biopharm Stat* [Internet]. 2007 Feb 23;17(2):363–5. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2184.1992.tb01437.x>
48. Castro S. Buenas prácticas para una terapia de secado efectiva. *Asociación Pro Calidad de la Leche y sus derivados (APROCAL)* 2018;1–2
49. Hosmer, D. and Lemeshow, S. (2000): *Applied Logistic Regression*. 2 edn, John Wiley & Sons, New York.
50. Ponsot, E., Sinha, Surendra. and Goitía, A. (2009): Sobre la agrupación de niveles del factor explicativo en el modelo logit binario. *Revista Colombiana de Estadística*, 32, 157-187.
51. Manual IBM SPSS Statistics Base 20 © Copyright IBM Corporation 1989, 2011.

52. Ziv, G. 1978. Principal Pharmacokinetics Aspects of Mastitis Therapy. Beecham Lab. Monogr., Beecham Inc., Bristol, TN.
53. Reshi, A.A., I. Husain, S.A. Bhat, M.U. Rehman, R. Razak, S. Bilal, and M. R. Mir 2015. Bovine Mastitis as an evolving disease and its impact on the dairy industry. *Int. J. Curr. Res. Rev.* 7:48-55. Huijps, K., Lam, T.J., Hogeveen, H. 2008 Costs of Mastitis: facts and perception, *J Dairy Res*, 75, 113-20.
54. Malik TA, Mohini M, Mir SH, Ganaie BA, Singh D, Varun TK, et al. Somatic Cells in Relation to Udder Health and Milk Quality-A Review. *J Anim Heal Prod.* 2018;6(1):18–26.
55. Gehring, R., & Smith, G. W. (2006). An overview of factors affecting the disposition of intramammary preparations used to treat bovine mastitis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 29(4), 237–241. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2006.00750.x>
56. Ziv, G. 1978. Principal Pharmacokinetics Aspects of Mastitis Therapy. Beecham Lab. Monogr., Beecham Inc., Bristol, TN.
57. Avci, T., & Elmas, M. (2014). Milk and blood pharmacokinetics of Tylosin and Tilmicosin following parenteral administrations to cows. *Scientific World Journal*, 2014(1m). <https://doi.org/10.1155/2014/869096>
58. -Bonnier M, Doré C, Amédéo J, et al. In vitro activity of tylosin and tilmicosin against cocci isolated from bovine mastitis. *Revue Méd Vét* 2006;157:486–489.
59. Nickerson, S. C., Owens, W. E., Fox, L. K., Scheifinger, C. C., Shryock, T. R., & Spike, T. E. (1999). Comparison of Tilmicosin and Cephapirin as Therapeutics for *Staphylococcus aureus* Mastitis at Dry-off. *Journal of Dairy Science*, 82(4), 696–703. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75286-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75286-0)
60. Mendoza, J., I. Martínez-Cortés, R. López-Ordaz, L. Gutiérrez, and H. Sumano. 2016. Concentrations of tilmicosin in mammary gland secretions of dairy cows following subcutaneous administration of one

or two doses of an experimental preparation of tilmicosin and its efficacy against intramammary infections caused by staphylococcus aureus. Am. J. Vet. Res. 77:922–930. doi:10.2460/ajvr.77.9.922

61. Dingwell, R. T., Leslie, T. E., Duffield, T. F., Schukken, Y. H., Des Coteaux, L., Keefe, G. P., ... Bagg, R. (2003). Efficacy of intramammary tilmicosin and risk factors for cure of Staphylococcus aureus infection in the dry period. Journal of Dairy Sciences, 86, 159–168.
62. Mohammadsadegh M. Impact of intramammary tilmicosin infusion as a dry cow therapy. J Vet Pharmacol Ther. 2018;41(1):22–7
63. Kalmus, P., Simojoki, H., Orro, T., Taponen, S., Mustonen, K., Holopainen, J., & Pyörälä, S. (2014). Efficacy of 5-day parenteral versus intramammary benzylpenicillin for treatment of clinical mastitis caused by gram-positive bacteria susceptible to penicillin in vitro. Journal of Dairy Science, 97(4), 2155–2164. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7338>
64. Petzer IM, Lourens DC, Van Der Schans TJ, Watermeyer JC, Van Reenen R, Rautenbach GH, et al. Intramammary infection rate during the dry period in cows that received blanket dry cow therapy: Efficacy of 6 different dry-cow intra-mammary antimicrobial products. J S Afr Vet Assoc. 2009;80(1):23–30.
65. Kalmus, P., Simojoki, H., Orro, T., Taponen, S., Mustonen, K., Holopainen, J., & Pyörälä, S. (2014). Efficacy of 5-day parenteral versus intramammary benzylpenicillin for treatment of clinical mastitis caused by gram-positive bacteria susceptible to penicillin in vitro. Journal of Dairy Science, 97(4), 2155–2164. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7338>
66. Newbould, F. H. S. 1974. Antibiotic treatment of experimental Staphylococcus aureus infections of the bovine mammary gland. Can.J. Comp. Med. 38:411–416.

CUADROS E IMÁGENES

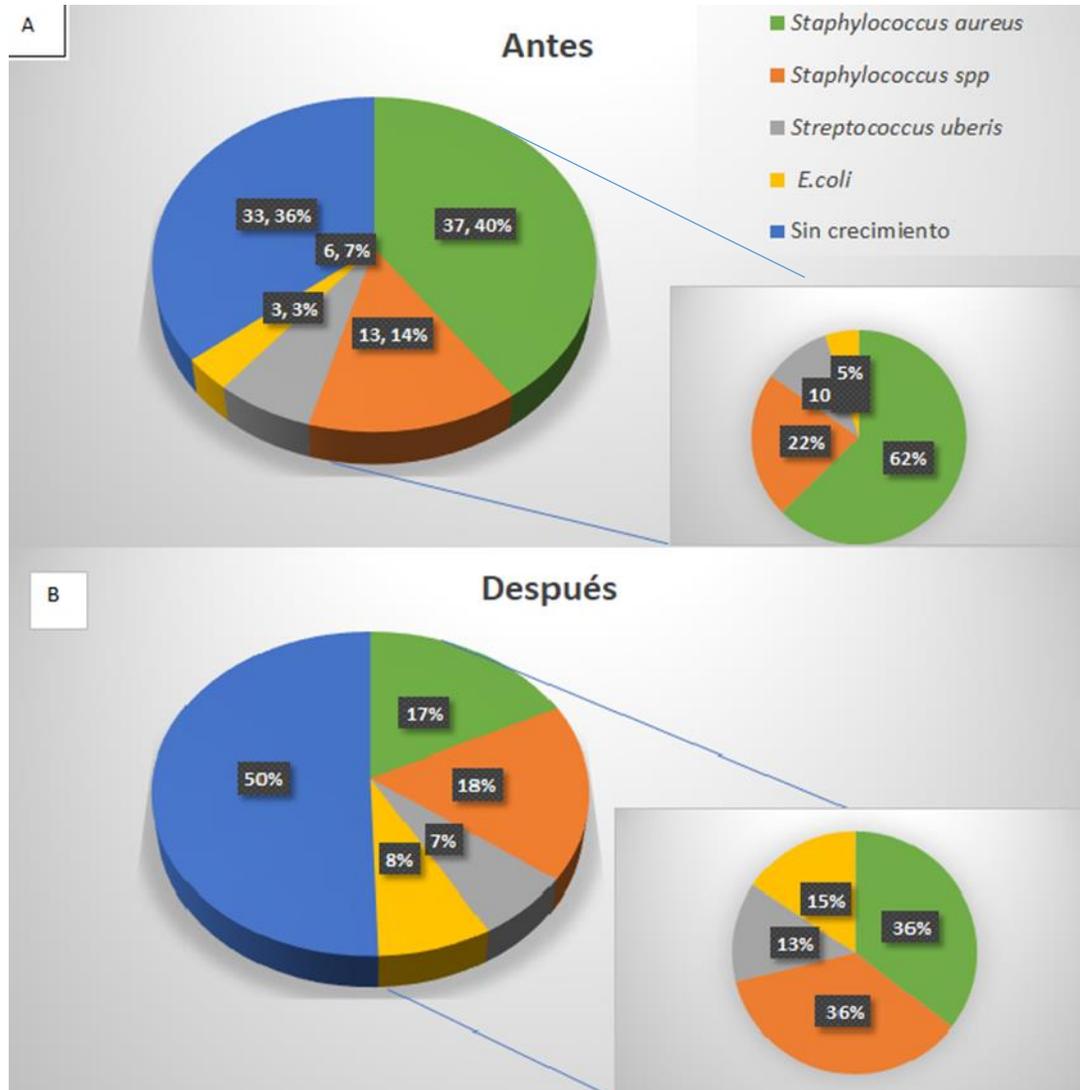


Figura 1. Aislamiento y porcentaje de agentes bacterianos identificados. A- antes de terapia de secado; se obtuvieron 91 muestras y se aislaron 59 agentes bacterianos. B- Al inicio de la lactancia se obtuvieron 91 muestras y se aislaron 45 patógenos. Se muestra el porcentaje por agente etiológico y sin tomar en cuenta el tipo de terapia de secado.

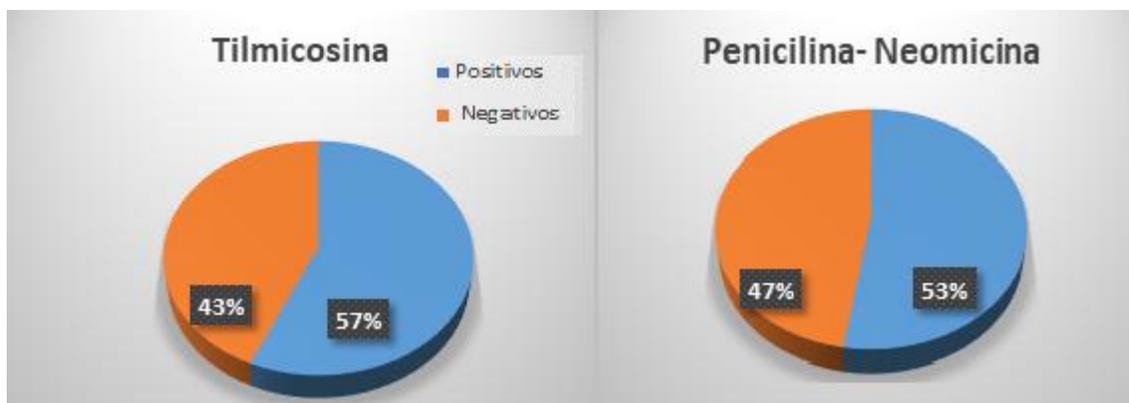


Figura 2.- Resultado Porcentual de cura bacteriológica de los tratamientos utilizados en el periodo de secado de bovinos Holstein productores de leche. Eficacia del tratamiento en el secado: la Tilmicosina es 1.345 veces mejor en comparación con el uso intramamario de Penicilina-Neomicina (**Odds Ratio Exp B=1.345**).

Modelo de Regresión Lineal para la evaluación del tratamiento de tilmicosina.

Variables de la ecuación

| | B | E.T. | Wald | gl | Sig. | Exp(B) | I.C. 95% para EXP(B) | |
|-------------------------------------|---------|-----------|--------|----|------|--------|----------------------|----------|
| | | | | | | | Inferior | Superior |
| Paso 1 ^a tratamiento (1) | .296 | .599 | .244 | 1 | .621 | 1.345 | .415 | 4.354 |
| Partos | | | .179 | 2 | .914 | | | |
| Partos (1) | .216 | .707 | .094 | 1 | .760 | 1.242 | .311 | 4.963 |
| Partos (2) | -.086 | .571 | .023 | 1 | .880 | .918 | .300 | 2.811 |
| condcorp | 1.784 | 1.338 | 1.777 | 1 | .182 | 5.951 | .432 | 81.912 |
| California | | | 10.141 | 4 | .038 | | | |
| | -1.220 | .591 | 4.267 | 1 | .039 | .295 | .093 | .940 |
| California (2) | -2.179 | .726 | 9.012 | 1 | .003 | .113 | .027 | .469 |
| California (3) | -22.019 | 17665.192 | .000 | 1 | .999 | .000 | .000 | . |
| California (4) | -22.871 | 28419.867 | .000 | 1 | .999 | .000 | .000 | . |
| Época | -1.650 | .934 | 3.125 | 1 | .077 | .192 | .031 | 1.196 |
| Constante | -3.417 | 4.595 | .553 | 1 | .457 | .033 | | |

a. Variable(s) introducida(s): No. De Partos, Condición corporal, CMT y Época.

Cuadro 1.- Este modelo muestra la mejor interacción de las variables categóricas para obtener un $\text{Exp } \beta$ de 1.345. Las variables no muestran significancia estadística (IC=95 %).

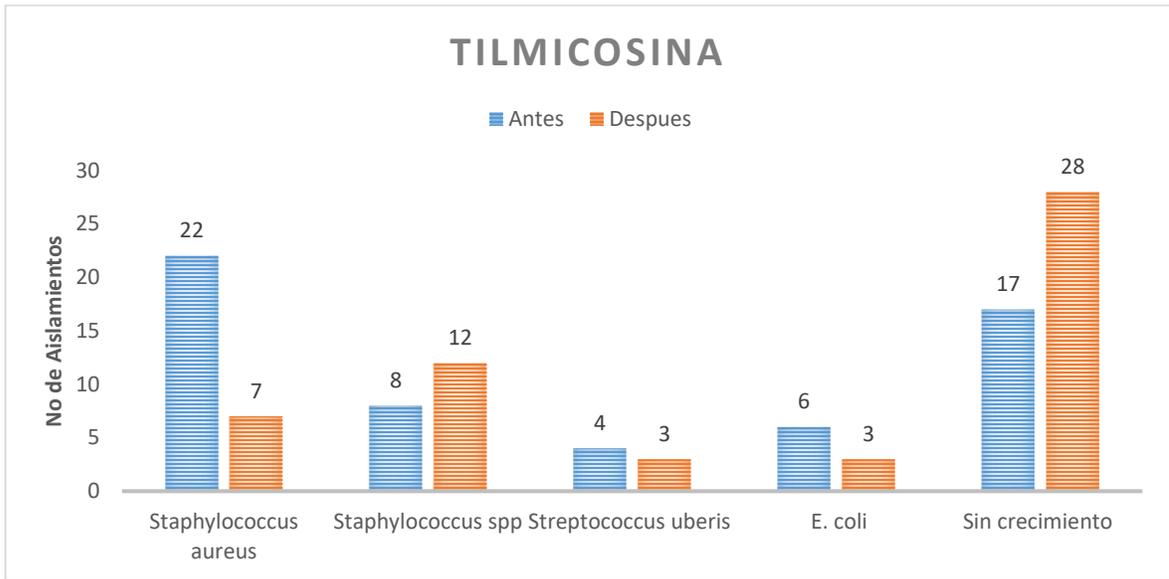


Figura 3A. Análisis microbiológico de leche. Tipo de microorganismos aislados antes de la terapia de secado con Tilmicosina y al inicio de la lactancia.

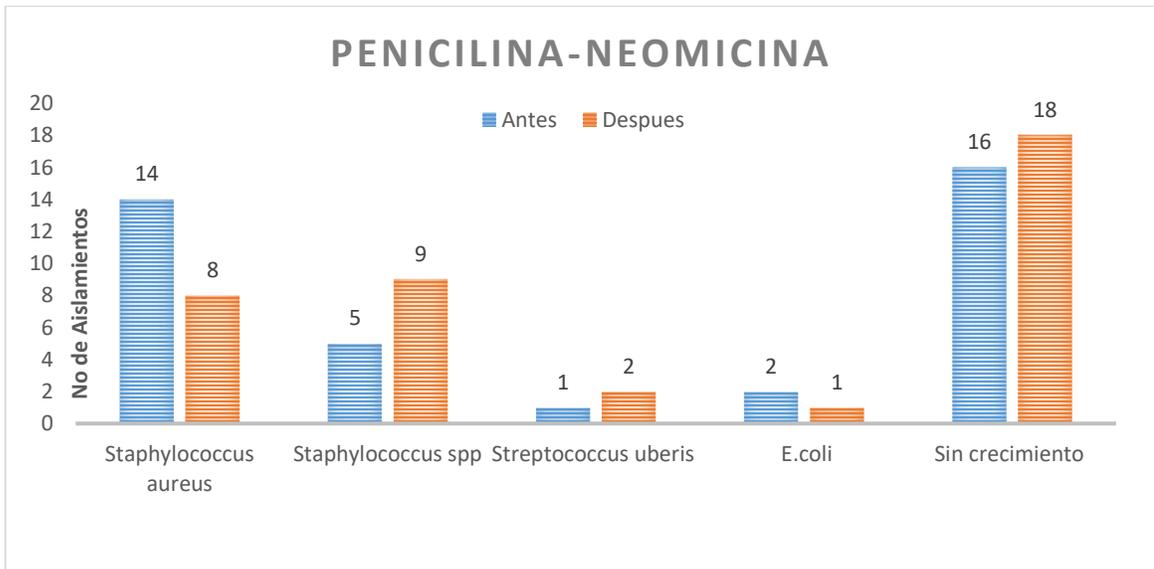


Figura 3B. Análisis microbiológico de leche. Tipo de microorganismos aislados antes de la terapia de secado con penicilina-neomicina y al inicio de la lactancia.

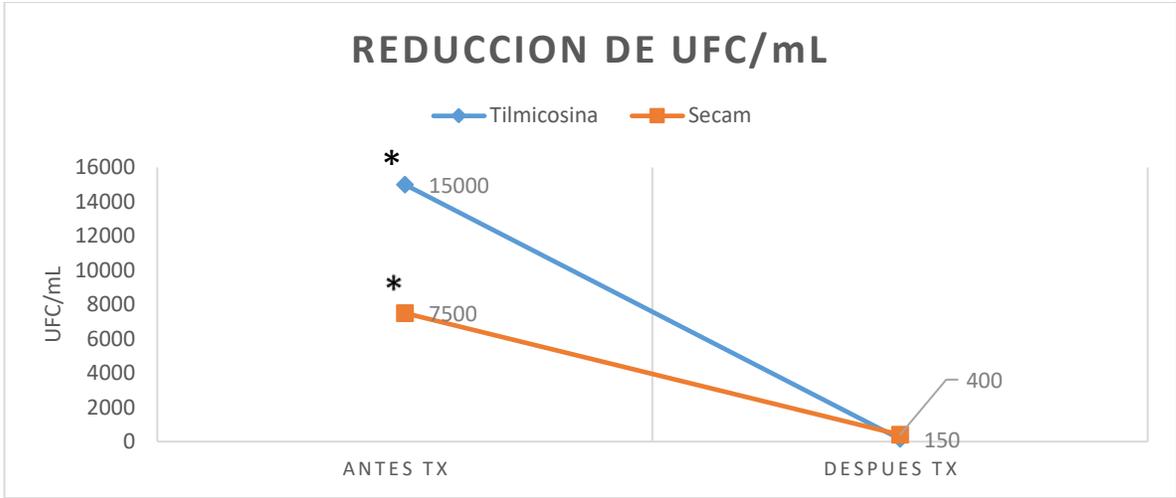


Figura 4. Efecto comparativo con relación a la disminución de UFC. Se observa una diferencia significativa con relación a la disminución de UFC/mL para cada tratamiento donde la Tilmicosina disminuye al 1% las UFC/ml, mientras que la penicilina-neomicina disminuye al 5.3%. * P=<0.05

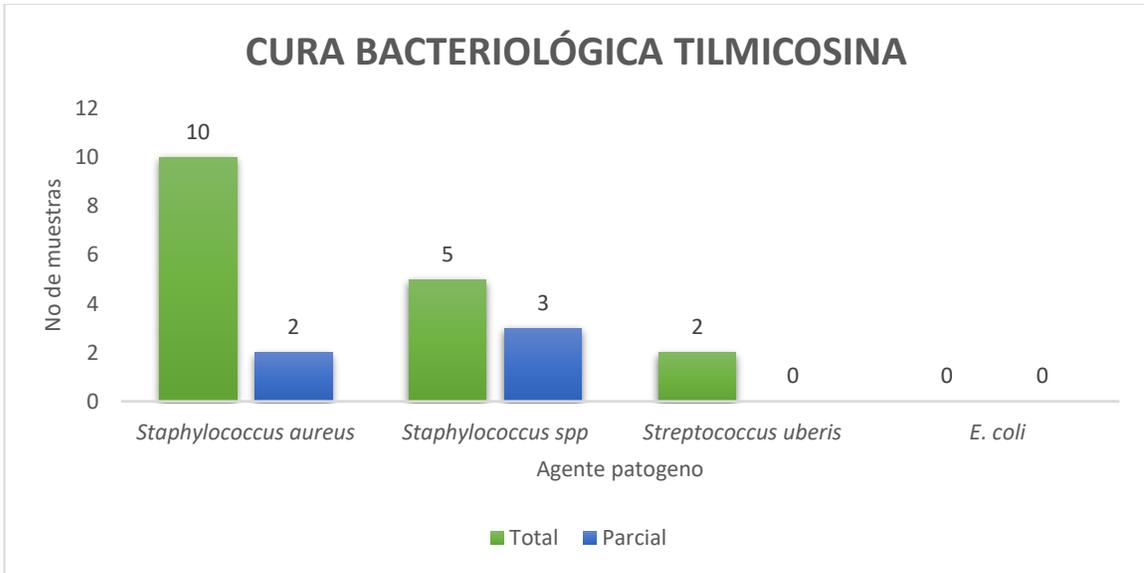


Figura 5A. Cura bacteriológica para el tratamiento con tilmicosina. Cura Total se entiende como la eliminación completa del microorganismo y Cura Parcial es una disminución del número de UFC en la muestra.

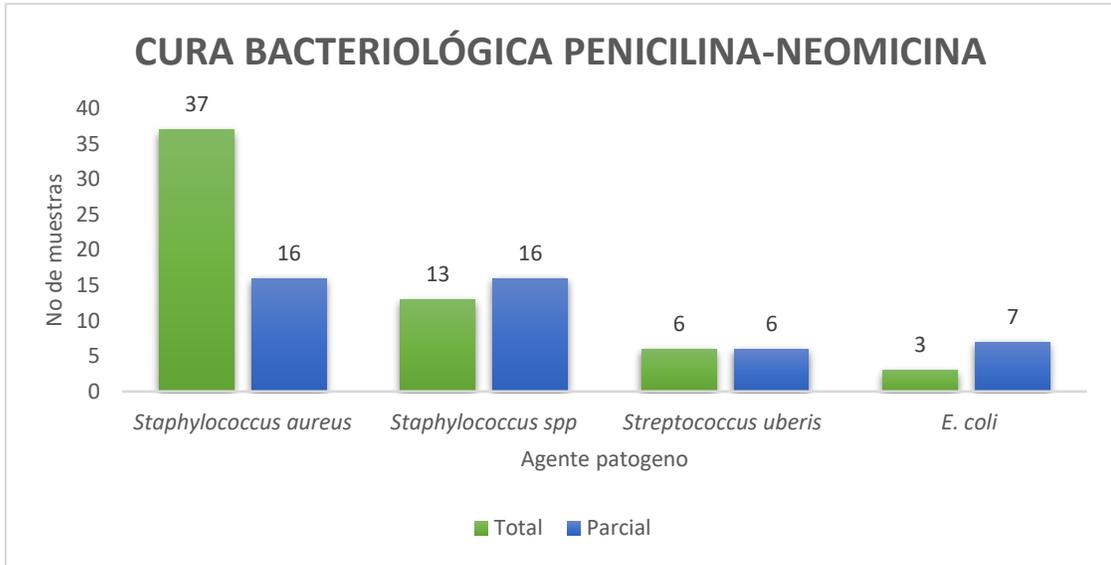


Figura 5B. Cura bacteriológica para el tratamiento con Penicilina-Neomicina. Cura Total se entiende como la eliminación completa del microorganismo y Cura Parcial es una disminución del número de UFC en la muestra.

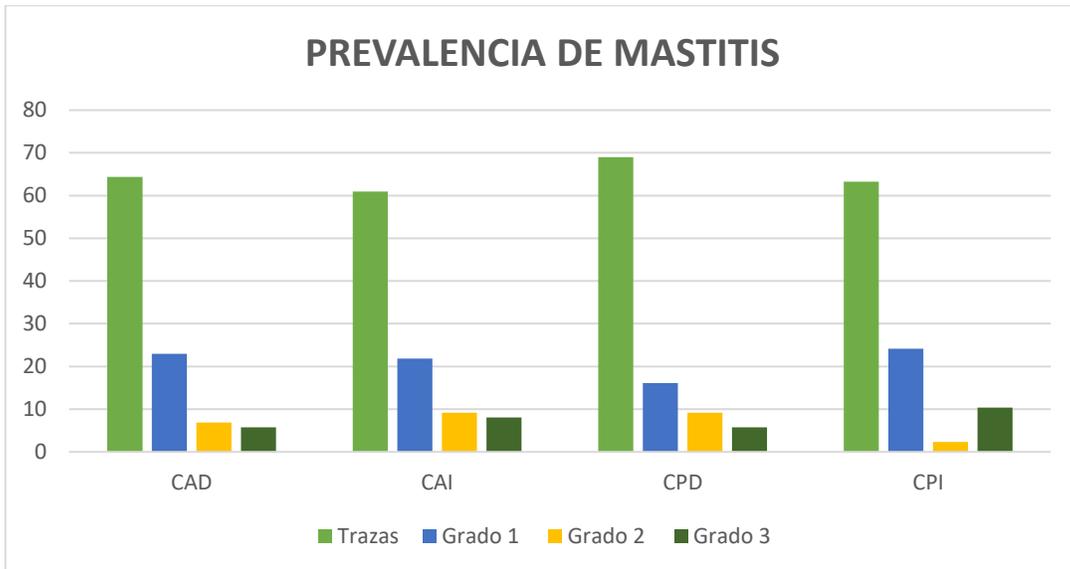


Figura 6. Prevalencia de mastitis subclínica en los diferentes cuartos antes de la terapia de secado.

Figura 7A Cura bacteriológica del tratamiento con tilmicosina. Se observa el número de animales con respuesta positiva o negativa al tratamiento según el número de partos.

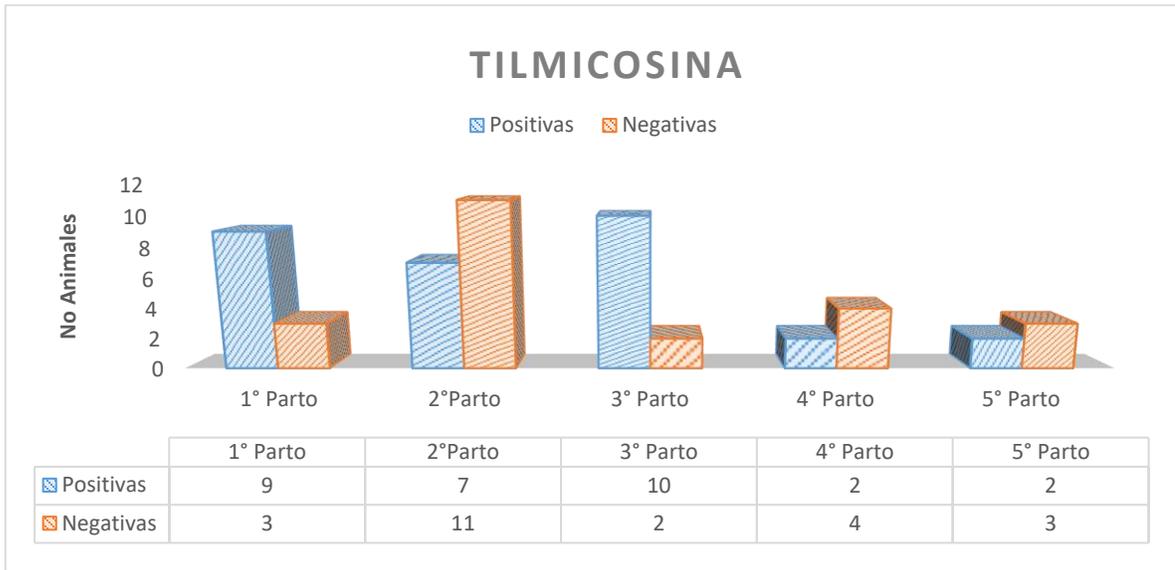


Figura 7B. Cura bacteriológica del tratamiento con penicilina-neomicina. Se observa el número de animales con respuesta positiva o negativa al tratamiento según el número de partos.

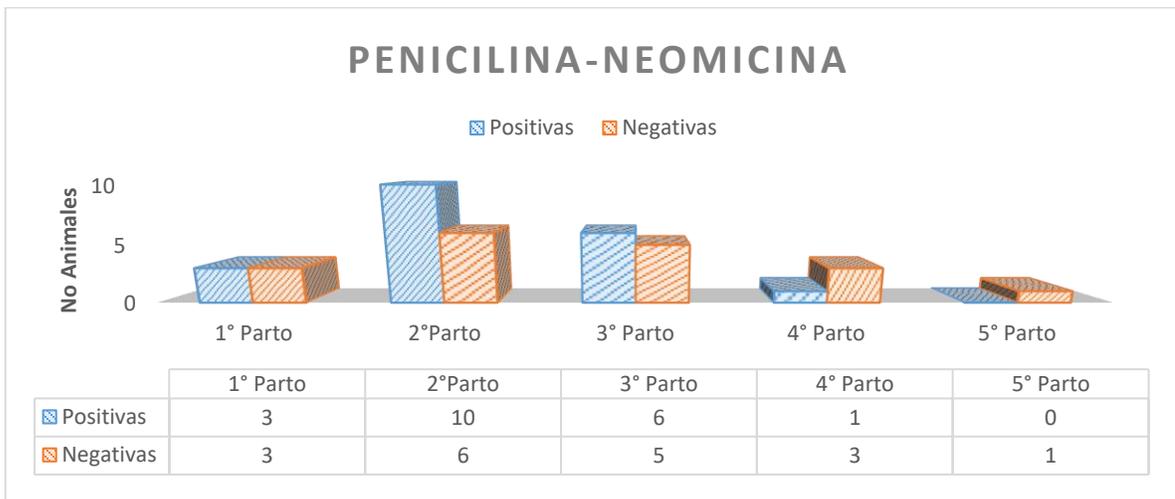


TABLA DE CONTINGENCIA ANTES Y DESPUÉS DE TRATAMIENTO DE TILMICOSINA

| Tratamiento: Tilmicosina | | DESPUÉS DE TRATAMIENTO | | Total | VALOR DE P* |
|--------------------------|----------|------------------------|----------|-------|-------------|
| | | NEGATIVO | POSITIVO | | |
| ANTES DE TRATAMIENTO | NEGATIVO | 28 | 3 | 31 | 0.371 |
| | POSITIVO | 18 | 4 | 22 | |
| Total | | 46 | 7 | 53 | |

*Prueba de chi-cuadrada de razón de verosimilitudes

Figura 8A. Efecto de Tilmicosina sobre *Staphylococcus aureus* en la terapia de secado. Los casos negativos son todas las muestras sin desarrollo o donde se aislaron otros microorganismos diferentes a *Staphylococcus aureus*. Los casos positivos son lo que tienen aislamiento de *Staphylococcus aureus*. Chi-cuadrada de Pearson $P = 0.371$ $gI=1$.

TABLA DE CONTINGENCIA ANTES Y DESPUÉS DE TRATAMIENTO DE PENICILINA-NEOMICINA

| Tratamiento: Penicilina-Neomicina | | DESPUÉS DE TRATAMIENTO | | Total | VALOR DE P* |
|-----------------------------------|----------|------------------------|----------|-------|-------------|
| | | NEGATIVO | POSITIVO | | |
| ANTES DE TRATAMIENTO | NEGATIVO | 22 | 2 | 24 | 0.013 |
| | POSITIVO | 8 | 6 | 14 | |
| Total | | 30 | 8 | 38 | |

*Prueba de chi-cuadrada de razón de verosimilitudes

Figura 8B. Efecto de Penicilina- Neomicina sobre *Staphylococcus aureus* en la terapia de secado. Los casos negativos son todas las muestras sin desarrollo o donde se aislaron otros microorganismos diferentes a *Staphylococcus aureus*. Los casos positivos son lo que tienen aislamiento de *Staphylococcus aureus*. Chi-cuadrada de Pearson * $P = 0.013$ $gI=1$.

Imagen 1

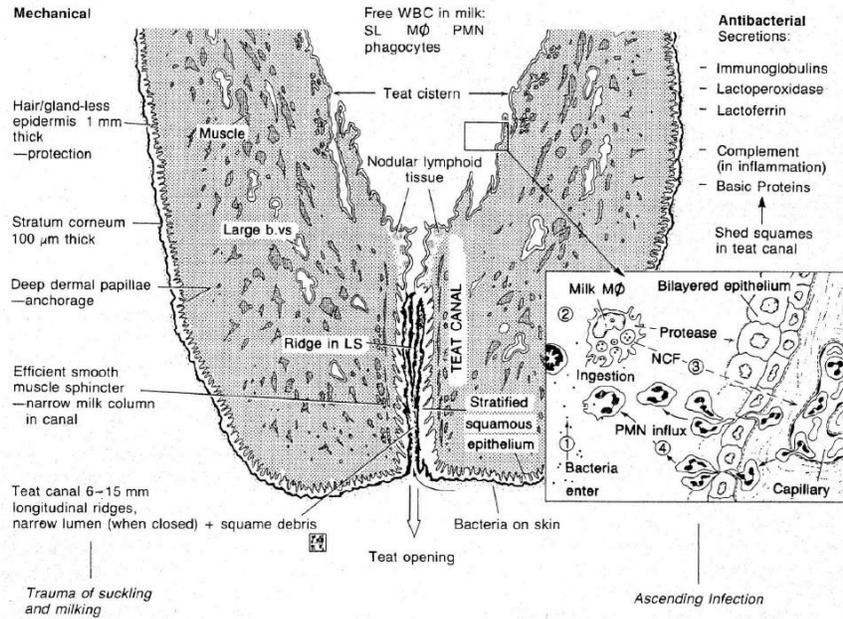


Fig. 1. Diagram (from Hibbitt [25]) of a vertical section of a cow's teat, showing on the left, factors that protect against mechanical trauma during suckling or milking, and on the right defences against ascending infection by bacteria from the skin surface (curved arrow) entering the teat canal. Key: SL, small lymphocytes; MØ, macrophages; PMN, neutrophils; NCF, Neutrophil Chemotactic Factor.

Figura tomada de P. Gruet et al. (2001) 245 –259

Cuadro 2.0

| Patógeno | Tipo de Mastitis | Formación de Biofilm | Referencia |
|-----------------|---------------------|----------------------|---|
| S. aureus | Mastitis Subclínica | + | Darwish y Asfour (2013); Fabres-Klein et al. (2015) |
| CNS | Mastitis Subclínica | + | Darwish y Asfour (2013) |
| E. coli | Mastitis Clínica | + | Costa et al. (2014); Milanov et al. (2015) |
| E. faecalis | Mastitis Clínica | + | Elhadidy and Zahran (2014) |
| S. uberis | Mastitis Clínica | + | Crowley et al. (2011); Kromker et al. (2014) |
| S. dysgalactiae | Mastitis Clínica | + | Olson et al. (2002) |

| | | | |
|----------------------|----------|---|--------------------------|
| <i>S. agalactiae</i> | Mastitis | + | Rosini y Margarit (2015) |
|----------------------|----------|---|--------------------------|

+ Formación de Biofilm

Imagen 2

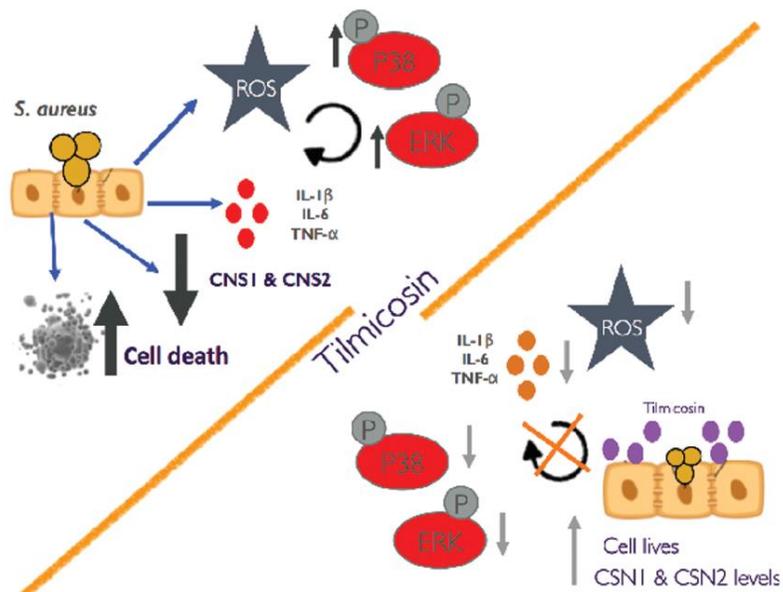


Figura tomada de: Martínez-Corts et al., 2019

Cuadro 3.0

| Puntos / Resultado | Cambios en la Consistencia de la Muestra | Límite de células somáticas 1000/cm ³ | Promedio de células somáticas 1000/cm ³ |
|--------------------|---|--|--|
| 0 | La consistencia de la muestra es homogénea, líquida y sin cambios aparentes (reacción negativa) | < 200 | 100 |
| Trazas | Pequeñas laminas aparecen, las cuales desaparecen mientras se mueve la paleta. (Trazas) | 150-500 | 300 |
| 1 (+) | Pequeños coágulos se forman, la viscosidad de la mezcla aumenta (débilmente positiva) | 400-1500 | 900 |
| 2 (++) | La mezcla es viscosa, un coagulo es visible y | 800-5000 | 2700 |

| | | | |
|---------|--|-------|------|
| | localizo mientras se mueve la paleta (moderada positiva) | | |
| 3 (+++) | Una mezcla pegajosa y viscosa se forma, un coagulo en forma de albumina se forma y se sale de la mezcla cuando se mueve la paleta (fuertemente positiva) | >5000 | 8100 |

Tabla tomada de 1908. THERMOGRAPHY BASED INFLAMMATION MONITORING OF UDDER STATE IN DAIRY COWS: SENSITIVITY AND DIAGNOSTIC PRIORITIES COMPARING WITH ROUTINE CALIFORNIA MASTITIS TEST. INA PAMPARIENE, VICENTAS VEIKUTIS, VAIDAS OBERAUSKAS, ET AL. JVE INTERNATIONAL LTD. JOURNAL OF VIBROENGINEERING. FEB 2016, VOL. 18, ISSUE 1. ISSN 1392-8716

Cuadro 4.0. Categorías para variables regresoras para el modelo de RLO.

| Variable / Categoría | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|-----------------|---------------------------------|---|----------------------------|------------------|
| No. de Partos | | 1 Parto | 2 Partos | 3 a 5 partos | |
| Tratamiento | | Tilmicosina LA | Secam | | |
| Prueba de California | Sin Mastitis | Mastitis Subclínica poco severa | Mastitis Subclínica medianamente severa | Mastitis Subclínica severa | Mastitis Clínica |
| Época del año | | Seca | Lluviosa | | |
| UFC Antes de TX | Sin Crecimiento | 50-500 UFC/ml | 500-2000 UFC/ml | 2000- 5000 UFC/ml | > 5000 UFC/ml |
| UFC Después de TX | Sin Crecimiento | 50-500 UFC/ml | 500-2000 UFC/ml | 2000- 5000 UFC/ml | 5000 UFC/ml |
| Presencia de <i>S. aureus</i> antes de TX | Negativo | Positivo | | | |
| Presencia de <i>S. aureus</i> después de TX | Negativo | Positivo | | | |

Imagen 3. Glándula mamaria previo a la aplicación de la terapia de secado.

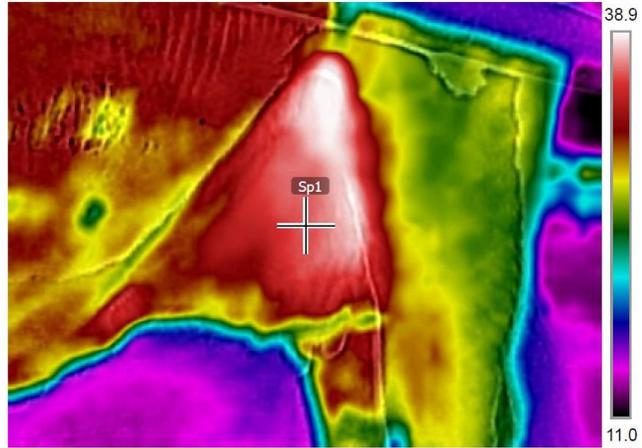


Prev Dry 141

| Measurements | |
|--------------|---------|
| Sp1 | 35.5 °C |

| Parameters | |
|------------|-------|
| Emissivity | 0.95 |
| Ref. temp. | 20 °C |

23/03/2010 08:22:57 a. m.



Glándula mamaria previo a la aplicación de la terapia de secado. Imagen Termogénica

23/03/2010 08:22:57 a. m.



Glándula posterior al último ordeño

Imagen 4. Aumento de glándula mamaria pre parto.

01/04/2010 08:20:01 a. m.



FLIR0146.jpg

FLIR C3

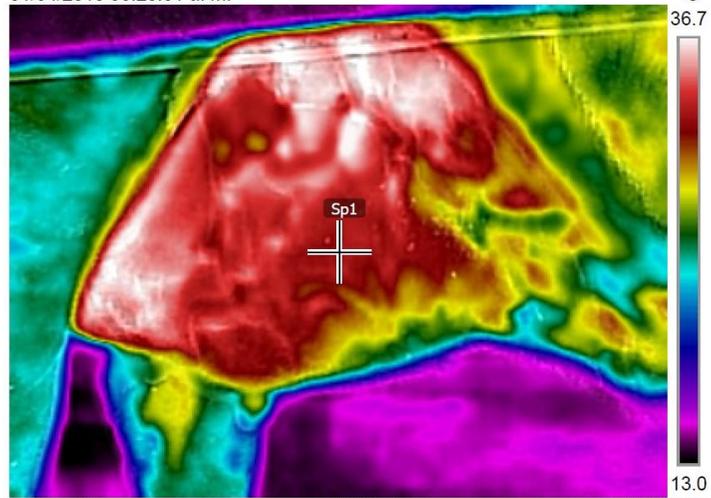
720105982



Aumento GM Pre parto 188

| Measurements | |
|--------------|---------|
| Sp1 | 32.8 °C |
| Parameters | |
| Emissivity | 0.95 |
| Refl. temp. | 20 °C |

01/04/2010 08:20:01 a. m.



FLIR0146.jpg

FLIR C3

720105982

Aumento de glándula mamaria pre parto. Imagen termo génica

Imagen 5. Glándula mamaria post parto

01/04/2010 05:20:12 a. m.



FLIR0109.jpg

FLIR C3

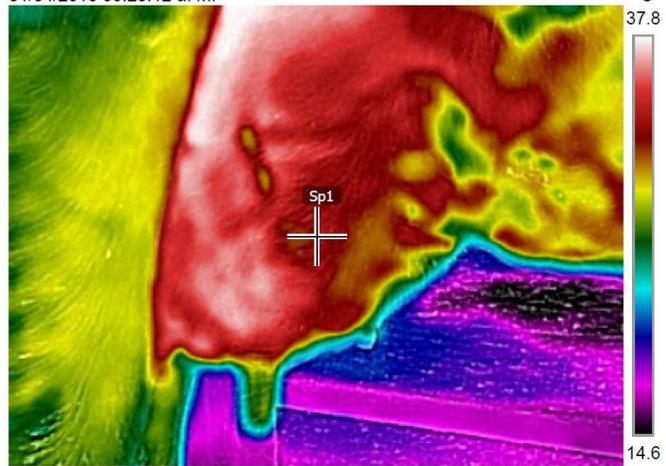
720105982



Post Parto 277

| Measurements | |
|--------------|---------|
| Sp1 | 33.4 °C |
| Parameters | |
| Emissivity | 0.95 |
| Ref. temp. | 20 °C |

01/04/2010 05:20:12 a. m.



FLIR0109.jpg

FLIR C3

720105982

Glándula mamaria Post Parto. Imagen Termogénica

Imagen 6. Glándula mamaria post parto ID 277

01/04/2010 05:19:52 a. m.



FLIR0108.jpg

FLIR C3

720105982



Post Parto 277

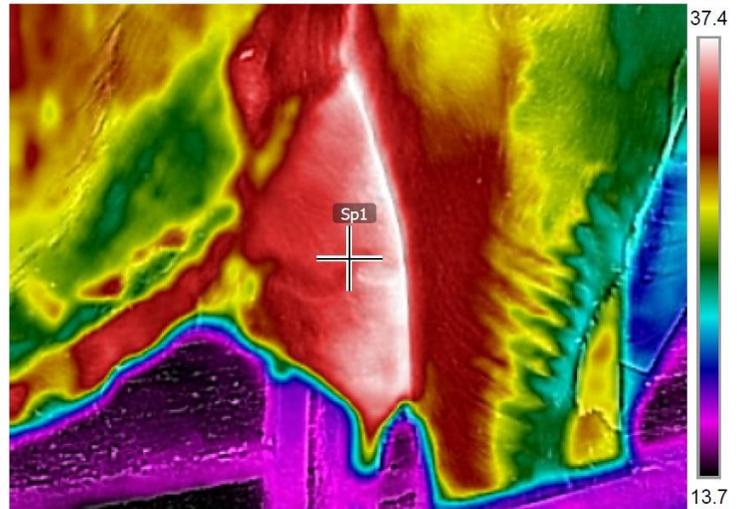
Measurements

| | |
|-----|---------|
| Sp1 | 34.4 °C |
|-----|---------|

Parameters

| | |
|-------------|-------|
| Emissivity | 0.95 |
| Refl. temp. | 20 °C |

01/04/2010 05:19:52 a. m.



FLIR0108.jpg

FLIR C3

720105982

Glándula mamaria Post parto ID 277. Imagen Termogénica

Imagen 7. Glándula mamaria Post parto Id 277

01/04/2010 05:18:14 a. m.



FLIR0107.jpg

FLIR C3

720105982



Post Parto 277

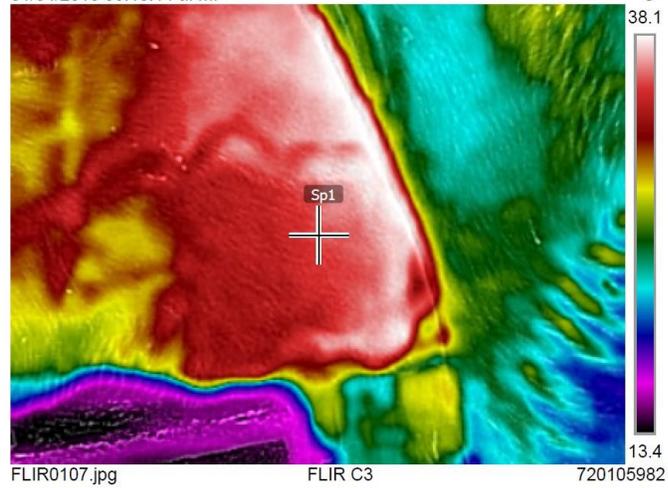
Measurements

| | |
|-----|---------|
| Sp1 | 36.1 °C |
|-----|---------|

Parameters

| | |
|-------------|-------|
| Emissivity | 0.95 |
| Refl. temp. | 20 °C |

01/04/2010 05:18:14 a. m.



Glándula

mamaria Post parto ID 277.Imagen termogénica.

ANEXOS

Modelos Estadísticos Utilizados en la Regresión Lineal Binomial

La siguiente tabla la cual muestra el número de animales con los que se trabajó, es decir el número de muestra.

Resumen del procesamiento de los casos

| Casos no ponderados | | N | Porcentaje |
|------------------------|--------------------------|----|------------|
| Casos seleccionados | Incluidos en el análisis | 91 | 100.0 |
| | Casos perdidos | 0 | .0 |
| | Total | 91 | 100.0 |
| Casos no seleccionados | | 0 | .0 |
| Total | | 91 | 100.0 |

a. Si está activada la ponderación, consulte la tabla de clasificación para ver el número total de casos.

Modelo 1

VARIABLES EN LA ECUACIÓN

| | B | E.T. | Wald | gl | Sig. | Exp(B) | I.C. 95% para EXP(B) | |
|--|-------|------|-------|----|------|--------|-------------------------|----------|
| | | | | | | | Inferior | Superior |
| Paso 1 ^a tratamiento (1) | -.115 | .432 | .071 | 1 | .790 | .891 | .382 | 2.078 |
| Partos | | | 1.266 | 2 | .531 | | | |
| Partos (1) | .531 | .595 | .794 | 1 | .373 | 1.700 | .529 | 5.459 |
| Partos (2) | -.147 | .471 | .098 | 1 | .754 | .863 | .343 | 2.171 |
| Constante | .201 | .367 | .301 | 1 | .584 | 1.223 | | |

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: Partos.

En este modelo se observa la relación entre la variable edad y tratamiento donde se observa el coeficiente de $\text{Exp } \beta$ es de 0.891 con los respectivos intervalos de confianza.

Modelo 2

Variables en la ecuación

| | B | E.T. | Wald | gl | Sig. | Exp(B) | I.C. 95% para EXP(B) | |
|--|--------|-------|-------|----|------|--------|-------------------------|----------|
| | | | | | | | Inferior | Superior |
| Paso 1 ^a tratamiento (1) | -.083 | .437 | .036 | 1 | .849 | .920 | .391 | 2.165 |
| Partos | | | 1.600 | 2 | .449 | | | |
| Partos (1) | .665 | .611 | 1.186 | 1 | .276 | 1.945 | .588 | 6.436 |
| Partos (2) | -.090 | .478 | .035 | 1 | .851 | .914 | .358 | 2.331 |
| condcorp | 1.414 | 1.061 | 1.775 | 1 | .183 | 4.113 | .514 | 32.925 |
| Constante | -4.818 | 3.787 | 1.619 | 1 | .203 | .008 | | |

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: condcorp.

En este segundo modelo se agrega la variable continua de condición corporal y se observa que se eleva el coeficiente de $\text{Exp } \beta$ a 0.920 con los intervalos de confianza y que la variable Partos (1) es significativa.

Modelo 3

Variables en la ecuación

| | B | E.T. | Wald | gl | Sig. | Exp(B) | I.C. 95% para EXP(B) | |
|---------------------|---------|-----------|--------|----|------|--------|-------------------------|----------|
| | | | | | | | Inferior | Superior |
| Paso 1 ^a | | | | | | | | |
| tratamiento (1) | -.214 | .511 | .175 | 1 | .676 | .808 | .297 | 2.200 |
| Partos | | | .305 | 2 | .858 | | | |
| Partos (1) | .128 | .705 | .033 | 1 | .856 | 1.136 | .285 | 4.528 |
| Partos (2) | -.227 | .550 | .170 | 1 | .680 | .797 | .271 | 2.342 |
| condcorp | 1.209 | 1.274 | .900 | 1 | .343 | 3.349 | .276 | 40.702 |
| California | | | 10.459 | 4 | .033 | | | |
| California (1) | -1.353 | .572 | 5.598 | 1 | .018 | .258 | .084 | .793 |
| California (2) | -2.083 | .711 | 8.581 | 1 | .003 | .125 | .031 | .502 |
| California (3) | -22.004 | 17922.391 | .000 | 1 | .999 | .000 | .000 | . |
| California (4) | -22.419 | 28420.600 | .000 | 1 | .999 | .000 | .000 | . |
| Constante | -2.925 | 4.529 | .417 | 1 | .518 | .054 | | |

a. Variable(s) introducida(s) en el paso 1: California.

Se presenta el tercer modelo donde se agrega la variable de Prueba de California y se observa en este modelo la disminución del coeficiente de $\text{Exp } \beta$ a 0.808 con los intervalos de confianza donde las variables; California (1) y California (2) son significativas.

Cuadro Comparativo de Modelos

| Modelo | Gl | Exp(B) | IC Inferior | IC Superior |
|--------|----|--------|-------------|-------------|
| 1 | 1 | 0.891 | .382 | 2.078 |
| 2 | 1 | 0.920 | .391 | 2.165 |
| 3 | 1 | 0.808 | .297 | 2.200 |
| 4 | 1 | 1.345 | .415 | 4.354 |

Pruebas de chi-cuadrado

| tratamiento | | Valor | gl | Sig. asintótica (bilateral) | Sig. exacta (bilateral) | Sig. exacta (unilateral) |
|------------------------------|------------------------------|-------------------------|--------------------|--------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Tilmicosina | Chi-cuadrado de Pearson | .812 ^a | 1 | .368 | | |
| | Corrección por continuidad | .239 | 1 | .625 | | |
| | Razón de verosimilitudes | .799 | 1 | .371 | | |
| | Estadístico exacto de Fisher | | | | .431 | .309 |
| | Asociación lineal por lineal | .797 | 1 | .372 | | |
| | N de casos válidos | 53 | | | | |
| | Secam | Chi-cuadrado de Pearson | 6.341 ^c | 1 | .012 | |
| Corrección por continuidad | | 4.434 | 1 | .035 | | |
| Razón de verosimilitudes | | 6.224 | 1 | .013 | | |
| Estadístico exacto de Fisher | | | | | .034 | .019 |
| Asociación lineal por lineal | | 6.174 | 1 | .013 | | |
| N de casos válidos | | 38 | | | | |

a. 2 casillas (50.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 2.91.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

c. 1 casillas (25.0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 2.95.