



DOI: <http://dx.doi.org/10.23857/dc.v8i1.2603>

Ciencias de la Salud
Artículo de Investigación

*Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y
Tratamiento en Bovinos de Leche Holstein*

*Diagnosis of Subclinical Mastitis Using Three Methods for Control and Treatment
in Holstein Dairy Cattle*

*Diagnóstico de Mastite Subclínica Utilizando Três Métodos de Controle e
Tratamento em Bovinos Leiteiros Holandeses*

Diego Fabián Maldonado-Arias ^I
diego.maldonado@esPOCH.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-3253-2103>

Carlos Ramiro Santos-Calderón ^{II}
carlos.santos@esPOCH.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0001-5148-5018>

Anabell Estefanía Quilapanta-Guamán ^{III}
anabell.quilapanta@esPOCH.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0001-7671-2723>

Luis Alfredo Mena-Miño ^{IV}
luis_a.mena@esPOCH.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-9130-4012>

Correspondencia: diego.maldonado@esPOCH.edu.ec

***Recibido:** 02 de enero 2022 ***Aceptado:** 31 de enero de 2022 * **Publicado:** 22 de febrero de 2022

- I. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Carrera de Zootecnia, Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Pecuarias, Riobamba Ecuador.
- II. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Carrera de Zootecnia, Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Pecuarias, Riobamba Ecuador.
- III. Investigadora independiente, Ecuador.
- IV. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Carrera de Zootecnia, Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Pecuarias, Riobamba Ecuador.

Resumen

El objetivo de este trabajo es diagnosticar la mastitis subclínica mediante tres métodos para el control y tratamiento en vacas Holstein de la Estación Experimental Tunchi – Facultad de Ciencias Pecuarias, para lo cual se evaluó mediante Milk Checker, Draminski y California Mastitis Test (CMT) determinando el mejor método de diagnóstico; se realizó el cultivo bacteriológico de las muestras reactivas a mastitis realizándose un antibiograma para la aplicación del mejor tratamiento antibiótico. Para el desarrollo del trabajo experimental se utilizaron 16 vacas en producción las mismas que fueron diagnosticadas a través de los tres métodos antes mencionados codificando cada cuarto de acuerdo a la posición en la que se encontraba, tomando los datos dos veces al día los cuartos positivos se tomaron muestras para posteriormente enviarlas a laboratorio. Para el análisis estadístico se utilizó una estadística descriptiva a través de frecuencias mediante tres métodos, Milk Checker, Draminski y CMT ya que no corresponde a un tipo de diseño experimental dándonos como resultado una incidencia de mastitis subclínica de acuerdo a CMT de 87,5%, el método más eficaz fue CMT con 92,19% de datos correctos, se obtuvo un 100% de Bacterias Gram + siendo estas sospechosamente en su mayoría *Staphylococcus aureus* con 51,4% y el 48,6% corresponde a Bacilos siendo estas B hemolíticas y no hemolíticas respectivamente, en el antibiograma realizado se tiene una sensibilidad a Tetraciclina, Penicilina y una resistencia a Ciprofloxacina. Se recomienda realizar un control de agua mediante un antibiograma para verificar la presencia o no de antibióticos producto de residuos de otras explotaciones, realizar un antibiograma por lo menos una vez al año para evitar crear resistencia antibiótica.

Palabras claves: Zootecnia; Milk checker; California mastitis test; Tetraciclina; Ciprofloxacina; Penicilina; Bacteria (*Staphylococcus aureus*).

Abstract

The objective of this research work was to diagnose subclinical mastitis in Holstein cows from the Tunshi Experimental Station – Animal Science Faculty using three methods for the control and treatment. The evaluation was carried out using the Milk Checker, Draminski and California Mastitis Test (CMT) and the best method was determined. The bacteriological culture of the samples reactive to mastitis was carried out with an antibiogram in order to apply the best antibiotic treatment. For the development of the experimental work, 16 cows in production were used which were diagnosed using

Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche
Holstein

the three aforementioned methods. Each quarter was coded according to the position in which it occurred and data were collected twice a day. Samples from the quarters that tested positive were taken to later be send to the laboratory. For the statistical analysis, descriptive statistics with frequencies using three methods was used since it was not an experimental design. Results showed an incidence of subclinical mastitis according to CMT of 87.5%. The most effective method was CMT with 92.19% correct data. 100% of Gram + Bacteria were obtained; most of them Staphylococcus aureus which accounted for 51.4% and 48.6% correspond to Bacilli being these β hemolytic and non-hemolytic respectively. The antibiogram reported sensitivity to Tetracycline, Penicillin and resistance to Ciprofloxacin. It is recommended to carry out a water control using an antibiogram to verify the presence of antibiotics resulting from residues from other farms and also to carry out an antibiogram at least once a year to avoid cows to create antibiotic resistance.

Keywords: Milk checker; Draminski; California mastitis test; Tetracycline; Ciprofloxacin; Penicillin; Staphylococcus aureus.

Resumo

O objetivo deste trabalho é diagnosticar a mastite subclínica por meio de três métodos para controle e tratamento em vacas Holandesas da Estação Experimental Tunchi - Faculdade de Ciências Pecuárias, para a qual foi avaliada por meio do Milk Checker, Draminski e California Mastitis Test (CMT) determinar o melhor método diagnóstico; foi realizada a cultura bacteriológica das amostras reativas à mastite, realizando-se um antibiograma para aplicação do melhor tratamento antibiótico. Para o desenvolvimento do trabalho experimental foram utilizadas 16 vacas em produção, as mesmas que foram diagnosticadas pelos três métodos citados, codificando cada quarto de acordo com a posição em que se encontrava, tomando os dados duas vezes ao dia, os quartos positivos foram Amostras foram coletadas e enviadas ao laboratório posteriormente. Para a análise estatística, utilizou-se estatística descritiva por meio de frequências utilizando três métodos, Milk Checker, Draminski e CMT, uma vez que não corresponde a um tipo de delineamento experimental, resultando em uma incidência de mastite subclínica segundo CMT de 87,5%. o método mais eficaz foi o CMT com 92,19% de dados corretos, obtiveram-se 100% de Gram + Bactérias, sendo estes suspeitos a maioria Staphylococcus aureus com 51,4% e 48,6% corresponde a Bacilos, sendo estes B hemolíticos e não hemolíticos respectivamente, no antibiograma realizada há sensibilidade à tetraciclina,

Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche
Holstein

penicilina e resistência à ciprofloxacina. Recomenda-se realizar um controle hídrico através de um antibiograma para verificar a presença ou não de antibióticos resultantes de resíduos de outras fazendas, realizar um antibiograma pelo menos uma vez por ano para evitar criar resistência aos antibióticos.

Palavras-chave: Zootecnia; verificador de leite; teste de mastite da Califórnia; Tetraciclina; ciprofloxacina; Penicilina; Bactérias (*Staphylococcus aureus*).

Introducción

Según (Cervantes et al., 2017,p.2), hoy en día el mercado exige mayor calidad de los alimentos , lo que significa que el sector pecuario, debe producir leche libre de trazas de medicamentos y sin elevada cantidad de células somáticas de manera que no constituya un riesgo para la salud humana por lo que la mastitis es una enfermedad muy estudiada ya que afecta tanto la salud de los animales como la de los humanos, las pérdidas que provoca dicha enfermedad es muy representativa en la economía de cualquier modelo de producción bovina lechera ,es por ello la salud del sistema mamario es fundamental para que la vaca lechera pueda expresar su potencial genético lactacional.

Por otro lado, como afirma (Mendoza et al., 2017, p. 2) la mayor parte de casos de mastitis se da de forma subclínica por lo que los animales afectados no presentan ningún tipo de sintomatología, sin embargo, estas alteraciones se ven reflejados en bajos niveles de producción y la leche presenta malas condiciones sanitarias y organolépticas

(Reyes & Arguello, 2015, p.15) Afirman que, la mastitis subclínica no presenta cambios visibles en la leche o ubre. Apenas se percibe una reducción en el rendimiento de la leche, siendo alterada su composición por la presencia de componentes inflamatorios y bacterias, lo que constituye un riesgo potencial tanto para la salud humana como la salud animal.

La presente investigación consiste en realizar un diagnóstico de mastitis subclínica mediante tres métodos de diagnóstico a nivel de campo la prueba de MILK CHECKER, DRAMINSKI Y CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT) para su posterior control y tratamiento. La identificación de los factores de riesgo facilita el control de la enfermedad, la utilización de un antibiograma se lo realiza para tener en cuenta sus resultados tratamiento.

Los objetivos que se plantearon para el siguiente trabajo de investigación son evaluar tres métodos para el control de mastitis Milk Checker, Draminski y California Mastitis Test (CMT), de la misma

manera determinar el mejor método de diagnóstico para la detección de mastitis subclínica, efectuar el cultivo bacteriológico de las muestras reactivas para mastitis y realizar un antibiograma para la aplicación del mejor tratamiento antibiótico.

Materiales y Métodos

Métodos para sistematización de la información

En la investigación se utilizó estadística descriptiva a través de frecuencia mediante tres métodos que fue Milk Checker, Draminski y CMT en donde se trabajó con medidas de tendencia central y de dispersión.

Métodos

El trabajo de investigación denominado como “Diagnostico de mastitis subclínica mediante tres métodos para el control y tratamiento en vacas Holstein” se desarrolló en la Estación Experimental “Tunshi”, la cual se ubica en el kilómetro doce desde la ciudad de Riobamba, hasta el cantón Licto.

Dicha unidad experimental cuenta con diversas unidades de investigación, las cuales son la unidad de Equinos, Porcinos, Especies menores, y en este caso la Unidad Académica y de Investigación de Bovinos de Leche, donde se efectuó el trabajo investigativo.

De acuerdo con las condiciones meteorológicas que cuenta la Estación Experimental “Tunshi”, tenemos que se halla a una temperatura de 16 a 20 °C, con una precipitación anual de 558,60 mm, con un rango de humedad máxima de 52 a 66.25% y una velocidad de viento de 16 kilómetros por hora.

El tiempo estimado para la realización del trabajo experimental fue de un periodo de 60 días, distribuidos desde el momento que se prepara a los semovientes hasta el ordeño para posterior a ello realizar las diferentes actividades en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología de la FCP.

En cuanto a las unidades experimentales que se utilizaron durante la investigación fueron 16 vacas en producción de la raza Holstein. Mismas que fueron tomadas cada una como una unidad experimental, tomando en consideración las variables, Incidencia de mastitis subclínica en el hato %, Eficacia de los tres métodos de detección %, Identificación de los cuartos de acuerdo al periodo de lactancia %, Identificación de Bacterias Gram + y Gram – causantes de mastitis%, Cultivo de bacterias UFC, Antibiograma del cultivo %, Costo del cultivo y antibiograma \$.

Materiales

Tomando en consideración los materiales y equipos que se utilizaron durante la ejecución del trabajo experimental, tenemos dividido en materiales de campo, de laboratorio y de oficina en donde lo que es principalmente materiales de campo se utilizó CMT en lo que respecta a materiales de laboratorio tenemos agares, cajas Petri, porta y cubre objetos, aza de cultivo de igual manera equipos se trabajó con Draminski, Milk Checker, estufa bacteriológica, cuenta colonias, autoclave, cámara de flujo entre los principales .

Antes de realizar el ordeño se procedió a iniciar el diagnostico con la utilización de los tres métodos como son Draminski, Milk Checker y California Mastitis Test (CMT) las mismas que serán realizadas a las 16 vacas en el mismo momento de ordeño tanto en horas de la madrugada como en horas de la tarde, de esta manera podremos obtener datos para analizar cuál de los tres métodos es el más eficaz. Después de haber obtenido los diferentes datos de incidencia de mastitis se procedió a identificar cuáles son vacas positivas a mastitis y que cuartos están infectados para su posterior toma de muestras. Para la realización el cultivo Bacteriológico se utilizó lo que es Agar Columbia como base agar sangre al 4% utilizando sangre de equino desfibrinada estéril, posterior a ello se preparó agar Mueller Hinton para realizar un antibiograma por el método de Kirby – Bauer utilizando tres antibióticos Penicilina, Ciprofloxacina y Tetraciclina.

Una vez establecido los cultivos se procedió a realizar las tinciones bacteriológicas para identificar tanto bacterias Gram Positivas como Gram Negativas utilizando cristal violeta, Lugol, alcohol cetona y safranina, e Interpretación de resultados.

Resultado y Discusión

En el laboratorio de Microbiología y Biotecnología Animal, ubicado en la Facultad de Ciencias Pecuarias, que pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, se realizó el cultivo bacteriológico de las muestras de vacas positivas a mastitis subclínica y posterior a ello un antibiograma donde se pudo verificar a distintos resultados efectuados durante el trabajo de investigación, los resultados son los siguientes.

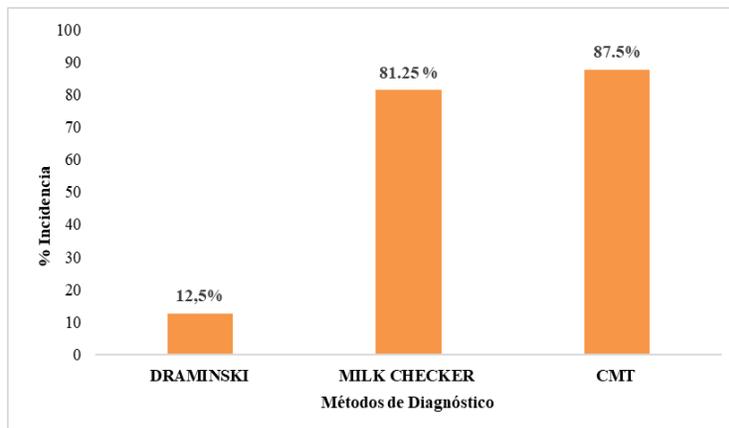
Incidencia de mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH.

De acuerdo como se observa en el gráfico número 1-3 pudimos determinar la incidencia de mastitis

Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche Holstein

en el hato ganadero de las 16 vacas en producción de la Estación Experimental Tunshi; de acuerdo a los tres métodos de diagnóstico de mastitis aplicados se determinó que la mayor incidencia de mastitis se detectó con California Mastitis Test (CMT) con 87.5 %; Milccheiker 81.25% y Draminski 12.5%.

Gráfico 1. Incidencia de mastitis subclínica en el hato de la Estación experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH



Fuente: Quilapanta, A (2021)

Esto posiblemente se deba a que CMT es un método cualitativo que resultó ser más sensible, (Hernández & Beltrán, 2016 :pág.1) mencionan que este método funciona con un reactivo Alquilaril Sulfonato de sodio al 3% que al mezclarse en igual cantidad el reactivo disuelve o rompe las paredes celulares externas y las nucleares de cualquier leucocito, constituidas principalmente de grasa, el ADN se libera desde el núcleo y se gelifica formando una masa fibrosa.

(Padilla, 2007,p.75) Al evaluar dos métodos de diagnóstico de mastitis subclínica en la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH, se pudo determinar que la incidencia dentro del hato fue de 49,49%; así mismo (Velasquez, 2019, pág. 63) según su investigación realizada en los meses de julio, agosto y septiembre del 2018, la incidencia de mastitis dentro del hato fue de 55,56%.

Pudiéndose observar que los valores son menores en relación a los obtenidos en la presente investigación; se puede identificar que existe un incremento de la incidencia conforme pasan los años esto posiblemente se deba a distintos factores como son ; condiciones de estrés del animal ,factores asociados a la vaca como son edad , etapa de lactancia en la que se encontraban así también puede deberse a el golpe de las ubre con los corvejones en el momento del traslado de los animales, la

Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche
Holstein

calidad del agua.

Coincidiendo con (Rodríguez, 2005, p.12) donde manifiesta que el mayor número de casos de mastitis se da durante el período seco y la primera etapa de lactancia haciendo notar que la etapa de lactancia es un factor predisponente en la aparición de la enfermedad.

En cambio (Proaño & Utreras, 2014, p.9) menciona que la presencia de mastitis se da por diferentes factores que interactúan entre, si es así que esta enfermedad puede ser ocasionada por malas prácticas de ordeño, de la misma manera (Molina & Rivadeneira, 2017, p. 30) menciona que la causa de mastitis subclínica está influenciada por factores físicos como heridas ocasionadas por golpes ya que al causar infecciones se incrementa la posibilidad de entrada de bacterias patógenas a la glándula mamaria a través de daños en la piel o el canal del pezón

Además (Alvarez, 2018, p. 19) señala que la utilización de agua de mala calidad, no potable, influye negativamente ya que es utilizado en el sistema de lavado de los implementos y equipo de ordeño.

Por otra parte (Conlago & Bonifaz, 2016, p. 5) determinaron un 70% de incidencia es su investigación realizada en la región Oriental de la provincia del Azuay mediante el método CMT, pudiéndose observar que este valore es menor en relación a los obtenidos en la presente investigación, esto posiblemente se deba a condiciones nutricionales, ambientales estos pueden ser épocas del año, humedad se puede mencionar también factores como la raza.

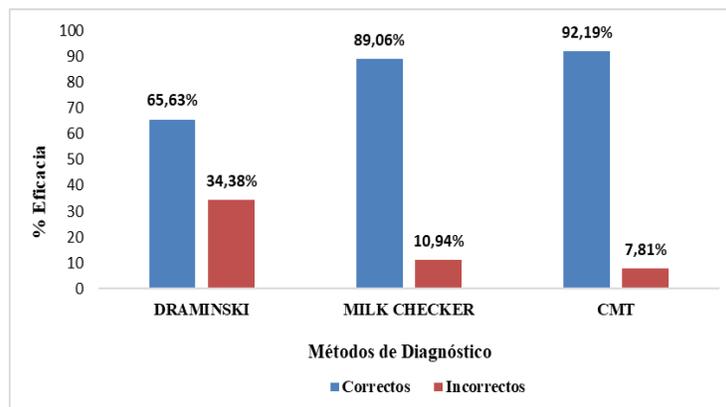
Es así que (Corbellini, 2017, p. 3) en efecto señala que las condiciones climáticas, nutricionales, suelen agravar los casos subclínicos, aumentando la prevalencia de casos clínicos, (Watson, 1984, p. 82) recalca que las plantas que contienen una mayor actividad estrogénica ayudan a desencadenar procesos inflamatorios de la glándula mamaria entre ellos está el trébol, pasto azul, trigo, cebada, etc. Igualmente, otros de los factores que pueden contribuir a dar resistencia o susceptibilidad a los animales es la raza a la cual pertenece el animal tal como manifiesta (Echeverría, 2014, p. 58) coincidiendo con (Santivañes & Biffa, 2013, p. 6) que manifiestan que según algunos estudios las vacas Holstein tienen un mayor riesgo de sufrir mastitis a comparación de la raza Jersey.

Eficacia de los tres métodos de detección, %.

Como se observa en el grafico 2-3 al determinar la eficacia mediante los tres métodos de diagnóstico se observó que con (CMT) se obtuvo 92,18% de muestras correctos con referencia a Milk Checker con 89,05% y Draminski con 65,62% al determinar las pruebas incorrectas con CMT se obtuvo 7,81% en comparación con Milk Checker y Draminski con 19,93% y 34,37 % respectivamente.

Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche Holstein

Gráfico 2. Eficacia de los tres métodos de detección



Fuente: Quilapanta, A (2021).

El que sea CMT el método más eficaz probablemente se deba a que CMT es valorado según la experiencia y existe una gran variabilidad en sus interpretaciones, tal como manifiesta (Medina & Montalvo, 2013, p.12) donde destaca que es una prueba subjetiva ya que las interpretaciones de la reacción de gelificación dependen de la apreciación personal del técnico.

De la misma manera (Blowey & Edmonson, 1995; citado por Gonzales, 2014) señalan que CMT no proporciona un resultado numérico, sino más bien una indicación de si el recuento es elevado o bajo, por lo que todo resultado por encima de una reacción vestigial se considera sospechoso.

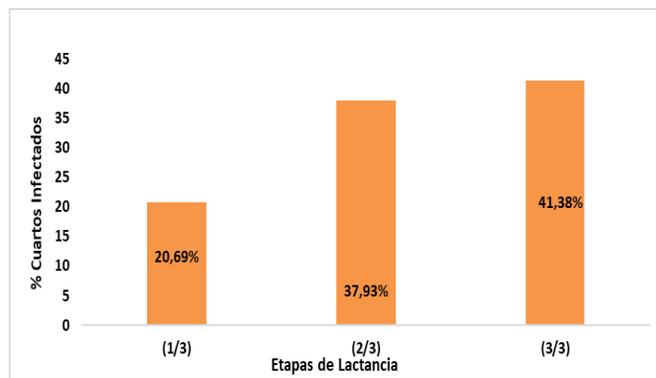
(Sánchez et al , 201,5 p. 48) en su trabajo de investigación señala que al hacer una comparación entre dos métodos de diagnóstico para mastitis subclínica encontró que el método más eficaz es CMT con 96,05% de diagnósticos correctos y un 3,95% de incorrectos coincidiendo con las interpretaciones de la presente investigación, es así que (Radostits, 2016, p. 716) manifiesta que CMT en comparación con Draminski es un equipo que ayuda a identificar mastitis clínica con precisión pero en el caso de las mastitis subclínicas la precisión es solo del 50%, de esta manera se puede corroborar de que CMT es el método más eficaz.

Identificación de los cuartos infectados de acuerdo al periodo de lactancia %.

Al hacer el análisis del gráfico 3-3 sobre la identificación de cuartos infectados de acuerdo al periodo de lactancia se determinó que; en el último tercio de lactancia hay un 41,38% de cuartos infectados seguido del segundo tercio con 37,93% y con un porcentaje menor en comparación con las anteriores, el primer tercio con 20,69%.

Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche
Holstein

Gráfico 3. % de cuartos infectados de acuerdo a la etapa de lactancia del hato de la Estación Experimental Tunshi (ESPOCH)



Fuente: Quilapanta, A (2021)

Posiblemente eso se deba a que en el periodo seco que está dentro de la última fase de lactancia la glándula mamaria se encuentra más susceptible a contraer infecciones ya que durante este periodo se vacía completamente la ubre y se dejan de realizar algunas prácticas de ordeño como el despunte y el sellado pre-ordeño, otro de los factores que pudieron influir pudo haber sido la edad y el número de lactancias.

Tal como menciona (Escobar & Castillo, 2015, p.43) las tasas de infección intramamarias de patógenos ambientales son mucho mayores en el periodo seco que durante la lactación considerando mayor susceptibilidad en las dos semanas posteriores al secado y dos semanas antes del parto. Coincidiendo con (Ruegg, 2017, p. 68) donde indica que el comienzo y el final del periodo de vaca seca son momentos de alto riesgo para el desarrollo de mastitis subclínica.

Ratificando con esta investigación (Avila, 2016, p. 4) plantea que, la elevada incidencia de infección durante el periodo seco puede deberse a que el vaciado y eliminación de bacterias que colonizan el canal del pezón durante el ordeño se termina, el canal del pezón se dilata y se acorta debido a la interrupción del ordeño permitiendo la entrada fácil de bacterias hacia el interior de la ubre.

(Mercado & Escobar, 2016, p. 70) al hacer su investigación sobre la determinación de la mastitis subclínica y su correlación con el periodo de lactancia identifico que efectivamente la mayor parte de cuartos infectados estuvieron en el tercer tercio de lactancia seguidamente del segundo tercio y por último el primero tercio, igualmente (Coronel, 2017, p. 49) en su investigación coinciden que en el tercer tercio de lactancia existe un mayor número de cuartos infectados

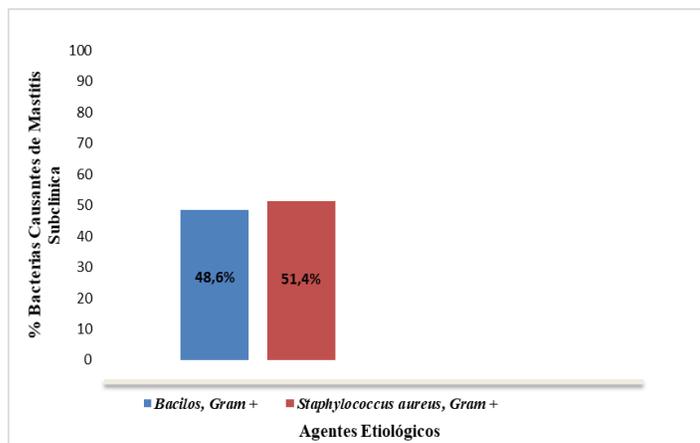
Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche Holstein

(Chasi, 2015, p. 66) Por el contrario encontró en su estudio realizado en Cayambe-Ecuador que los animales en la segunda etapa de lactancia presentaron mayor número de cuartos infectados esto se puede asociar a que la infección se puede presentar en cualquier periodo debido al mal manejo higiénico durante el ordeño y al no tratamiento de la ubre durante el periodo seco.

Identificación de bacterias Gram positivas y Gram negativas causantes de la mastitis subclínica %.

El análisis Bacteriológico para identificar las bacterias tanto Gram Positivas como Gram Negativas, causantes de la mastitis subclínica se realizó en el laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias, reportó que el 100% de las muestras obtenidas en las 14 vacas en producción son Gram Positivas como se puede observar en el grafico 5-3, de la misma manera al identificar el agente etiológico causante de la mastitis, se determinó que el 51,4% sospechosamente son *Staphylococcus aureus* y el 48,6% corresponde a *Bacilos*.

Gráfico 5-3: Identificación de bacterias Gram positivas y Gram negativas causantes de la mastitis subclínica %.



Fuente: Quilapanta, A (2021).

Al que sospechosamente *Staphylococcus aureus* Gram + sea el agente etiológico en su mayoría causante de mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental Tunshi probablemente se deba a que es un género de bacteria que se presentan con mayor frecuencia en la mayoría de explotaciones siendo un agente contagioso muy importante que probablemente este se disemine principalmente en el momento del ordeño, las pezoneras del equipo de ordeño, las manos del ordeñador.

Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche
Holstein

(Yarder, 2017, p. 24) En concreto señala que la mastitis producida por agentes contagiosos cuyo principal o único reservorio que alberga los patógenos es la glándula mamaria bovina, su medio de transmisión es durante el ordeño es decir de vaca a vaca

Es así que (Gamboa & González, 2014, p. 23) manifiestan que en su mayoría las bacterias que causan esta enfermedad son Gram positivas del género *Staphylococcus aureus* con un 75% más que otras bacterias, asimismo (Corbellini, 2017, p. 2) en su investigación mencionan que en promedio se estima que sólo el 1 % de los cuartos mamarios de un hato tienen infecciones por bacterias Gram -, al contrario con una tasa del 35-50 % por bacterias Gram + en un mismo periodo de tiempo .

Coincidiendo con esta investigación (Bedolla & Cedeño, 2016, p.7) ratifican que, aunque varios patógenos pueden causar la mastitis, *Staphylococcus aureus* es el primer agente etiológico en la mayor parte del mundo que es el más prevalente dentro de la glándula mamaria ya que es muy difícil de erradicar y causa pérdidas económicas considerables en la industria de la leche.

En relación con lo expuesto anteriormente (Méndez, 2014, p. 61) al realizar su investigación señala que, las bacterias patógenas encontradas en la leche procedente de la hacienda Tunshi, registraron mayor cantidad de Bacterias Gram Positivas que Gram Negativas, prevaleciendo entre estas el géneros *Staphylococcus* y grupo *Bacilos* coincidiendo estos datos con nuestra investigación tomando en cuenta que es una investigación realizada en el mismo lugar es así que nos podemos dar cuenta que a medida que pasaron los años la presencia de estas bacterias siguen siendo frecuentes esto puede ser porque son bacterias que son difíciles de erradicar .

Cultivo de bacterias, UFC.

En base a lo identificado en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias se determinó que, un 51,4% son β hemolíticas con una coloración amarilla, un 48,6% no hemolítica de color crema con un tamaño de colonia mayor que oscila entre 4 a 6mm y un tamaño menor que esta entre 1 a 2mm ,100% tinción Gram +, lo que da paso a sospechosamente poder identificar una infección por *Staphylococcus aureus* según su morfología y *Bacilos*.

Posiblemente la presencia de hemólisis β en su mayoría dentro del cultivo bacteriano se deba a que la mayor parte son bacterias del género *Staphylococcus aureus* las mismas que dentro de sus característica presentan hemólisis cuando se cultiva en agar sangre, entonces de acuerdo a lo manifestado (Estrella & Cervantes, 2017, p. 3) coinciden con esta investigación al decir que las bacterias del genero *Staphylococcus aureus* se presentan del color amarillo o dorado debido a la

producción de carotenoides y que la mayoría de cepas producen hemólisis β o una hemólisis total alrededor de las colonias sea este cultivado en agar sangre .

(Poveda, 2013, p. 9) En su manual de Prácticas de Microbiología Clínica de Veterinaria manifiesta que al hacer una observación de microbiota concuerda con que al ser colonias amarillas son β hemolíticas que de acuerdo a su morfología estas podrían ser *Staphylococcus aureus*.

Es así que (Sevilla, 2016, p. 2) indica que la hemólisis beta se refiere a un halo de hemólisis completamente claro y la hemólisis gama se refiere a la ausencia de hemólisis, produciéndose esta hemólisis por los organismos hemolíticos que liberan enzimas llamadas hemolisina al medio lo que provocan la destrucción de los glóbulos rojos y por ende aparecerá halos completamente transparentes al contrario de los no hemolíticos que hay ausencia de halos porque no se dio destrucción de glóbulos rojos .

De acuerdo al tamaño de colonias existe una variabilidad tal como señala la revista (Latinoam Patol Clin Med Lab, 2014, p. 9) Ya que en los medios de cultivo tradicionales la mayoría de las especies crecen después de incubarse durante 18-24 horas, formando colonias que están entre 0.5-1.5 mm de diámetro tal es el caso de esta investigación donde efectivamente el diámetro de las colonias fue muy variado teniendo diámetros sumamente pequeños hasta diámetros que alcanzaron los 6mm.

De esta manera (Neira & Merchan, 2019, p. 14) en su investigación realizada en mastitis concuerdan con nuestra investigación ya que el porcentaje de hemólisis- β es el 60% y no hubo hemólisis en un porcentaje mucho más bajo del 30 % al contrario del trabajo realizado por (Younis, 2017, p. 7) donde se encontró hemólisis alfa en el 90 % de los aislamientos y hemolisina beta en el 85,45 % y solo el 9,09 % de las cepas no fueron hemolíticas.

De esta manera se puede afirmar que la variación de este tipo de factores de virulencia podría ayudar a desempeñar un importante papel en la patogénesis de la mastitis, lo cual indica que es necesario para el establecimiento de *Staphylococcus aureus*, en la glándula mamaria.

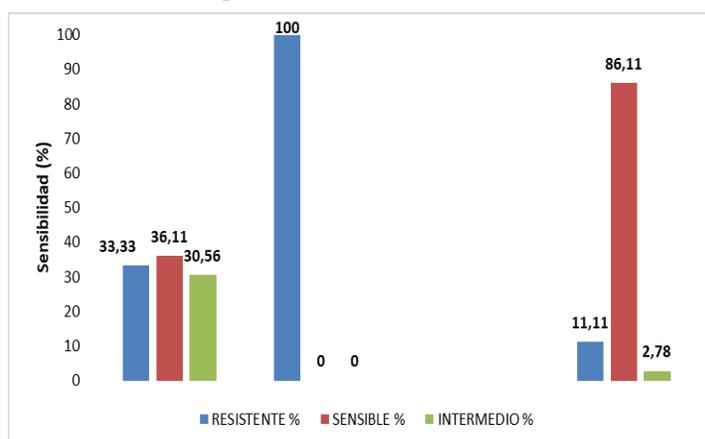
Antibiograma del cultivo, %

Como se observa en el grafico 6-3 del análisis de sensibilidad para bacterias Gram+ aisladas en el presente estudio mediante el método de Kirby - Bauer del hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH, de una manera general se determinó que el 100% de las muestras presentaron resistencia a Ciprofloxacina a comparación del 33,33% con Penicilina y apenas el 11,11% con Tetraciclina, así mismo la sensibilidad fue de 86,11% con Tetraciclina, 36,11% con Penicilina y un

Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche Holstein

valor del 0% con Ciprofloxacina por último con un valor intermedio de 30,56% ,2,78% y 0% para Penicilina ,Tetraciclina y Ciprofloxacina respectivamente.

Gráfico 6-3: Análisis de Sensibilidad (%) para Bacterias Gram + mediante el método de Kirby Bauer, del hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP- ESPOCH



Fuente: Quilapanta, A (2021).

Es así que tal como se detalla en los gráficos la mayor sensibilidad encontramos con tetraciclina seguidamente de penicilina esto posiblemente se deba a que son medicamentos que se han suministrado de una manera adecuada o a su vez no se suministra con frecuencia dentro de la explotación.

Coincidiendo con nuestra investigación (Casellas, 2016, p. 9) menciona que, para que no exista una resistencia antibiótica cuando se suministre el medicamento este debe ser aplicado como esta en el instructivo sin interrumpir el tratamiento, en cuanto a resistencia antibiótica podemos observar que dentro del hato existe una alta resistencia a ciprofloxacina, al contrario hay investigaciones como la de (Valero, 2014, p. 41) donde mencionan que el mayor porcentaje de resistencia se presentó frente a penicilina con un 12,4% seguido por 4,9% a ciprofloxacina esto se puede deber a que el uso de antibióticos en cada explotación ganadera depende del criterio de los técnicos responsables.

A pesar de que (Lämmler & Castañeda 2011, p.1) manifiesta que la penicilina ha sido el tratamiento de elección para la mastitis bovina desde hace muchos años las investigaciones realizadas a nivel mundial reportan esta resistencia como la más común, ya que en su mayoría la presencia de *Staphylococcus aureus* es causante de mastitis, (Pellegrino, 2017, p. 14) señala que este tipo de

Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche
Holstein

microorganismos perduran su infección por más tiempo que el resto y por ende ha tomado mayor resistencia a nivel mundial pudiéndonos dar cuenta que posiblemente esto se deba a que dentro de la Estación Experimental Tunshi el tratamiento para mastitis no siempre es Penicilinas sino en su lugar se busca alternativas.

La resistencia a ciprofloxacina dentro del hato puede estar vinculado a distintos factores a pesar de que es un antibiótico que no se ha usado como factor terapéutico en los últimos años en la estación, probablemente una de las causas pueden ser por la contaminación del agua con restos de antibióticos que provienen de otras explotaciones que atraviesa el proyecto de riego Chambo-Guano según (Porter et al., 2015, p. 1986) menciona que la excreción renal es la vía principal de eliminación en las Quinolonas la misma que puede ser en concentraciones elevadas durante las primeras 24 horas de administración.

Pudiéndonos dar cuenta con esta afirmación que al ser un antibiótico excretado por la orina los restos de antibióticos serían llevados hacia el agua causando contaminación (Martínez, 2018, p. 12) señala que no solo la presencia de altas concentraciones de antibióticos causa resistencia sino también la presencia de estos durante largos periodos de tiempo en concentraciones bajas.

Costo del cultivo y antibiograma.

Resulta conveniente realizar un análisis de laboratorio porque de esta manera se ayudará a determinar que agente antimicrobiano será capaz de inhibir el crecimiento de bacterias u hongos causantes de la infección y los resultados de estas pruebas ayudaran a establecer el tratamiento más efectivo frente a la infección como manifiesta (Morales, 2014 pág. 31)

Según (Noriega, 2019 pág. 12) el momento oportuno de realizar un antibiograma debe ser cuando una muestra biológica relacionada con un proceso infeccioso se aislé perfectamente un microorganismo responsable de dicho proceso. De esta manera en base a los resultados el técnico encargado tendrá la facilidad de crear protocolos terapéuticos eficaces para la incidencia de enfermedades presentes en la explotación tomando en cuenta que un antibiograma se lo puede realizar por lo menos una vez al año dependiendo de la respuesta a los tratamientos terapéuticos que se esté utilizando.

La importancia de los rubros para realizar un análisis de laboratorio es de igual prioridad que cualquier otro dentro de la explotación es así que realizar un análisis de laboratorio resulta beneficiosos para la explotación ya que gracias a ello se evitara el uso de tratamientos inadecuados e indiscriminados de

Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche
Holstein

fármacos disminuyendo así la resistencia a antibióticos.

Al realizar un análisis de costos de laboratorio del valor unitario por muestra se llegó a determinar que es de \$2,34 USD que resulta ser un valor beneficioso y conveniente para la explotación ayudando así a poner en marcha las buenas prácticas ganaderas.

Conclusiones

1. Al evaluar la incidencia de mastitis subclínica dentro del hato de la Estación Experimental Tunshi el mejor método de diagnóstico resultó ser California Mastitis Test (CMT) ya que fue el más sensible a comparación de Milk Checker y Draminski tomando en cuenta que CMT es un método cualitativo por ende sus interpretaciones serán valoradas según la experiencia del productor.
2. Al efectuar el cultivo bacteriológico se sospecha la presencia de dos tipos de agentes etiológicos causantes de mastitis subclínica siendo estos *Bacilos Gram +* y en su mayoría *Staphylococcus aureus* no hemolíticas y β hemolíticas respectivamente.
3. Después de haber realizado un antibiograma se determinó que existe sensibilidad a Tetraciclina seguida de Penicilina siendo estas opciones para tratamientos antibióticos dentro de la Estación a excepción de la Ciprofloxacina que presentó resistencia, debiendo evitar realizar tratamiento farmacológico con este producto.

Referencias

1. **AVILA, Saul.** . *Mastitis, Diagnostico, Tratamiento y Control*. Producción de Ganado Lechero. México : 2016.p.4.
2. **BEDOLLA, Camilo** . *Métodos de detección de la mastitis bovina*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México : 2004,pp.3-8.
3. **BERNAL, Róman**. Evaluación del efecto de la ozonoterapia en perros con problemas de dermatitis bacteriana en la ciudad Cuenca Provincia del Azuay (Trabajo de Titulación) (Licenciatura). Universidad Politécnica Salesiana ,Cuenca - Ecuador . 2014.pp.28-33.
4. **BLOWEY , R; & EDMONSON, P.** *Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche*.

Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche
Holstein

- Zaragoza. : Alba, 1995, p.208.
5. **BOLAÑOS, F.** *Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico .Colombia-Bogotá :* Redvet, 2012, p.11.
 6. **BOSCAN , J ; & VALERIS, R.** *Diagnóstico y Prevención de Enfermedades en la Ganadería Doble Propósito.* Mastitis Bovina, 2010.p.207.
 7. **CERVANTES, Patricio ;et al.** *Actas Iberoamericanas en Conservación Animal.* Aislamiento de patógenos causantes de Mastitis Subclínica en vacas del Trópico húmedo de Veracruz.. México : Anagrama., 2017.pp.2-3.
 8. **CHASI, I. ; & RODRIGUEZ , G.** Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de California Mastitis Test con identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche de la comunidad de Muyurco Cayambe. (Trabajo de Titulación) (Medico Veterinario).Universidad Central del Ecuador, Quito - Ecuador . 2015.p.66
 9. **CORBELLINI, Carlos.** *La mastitis bovina y su impacto sobre la calidad de la leche. (INTA).* España , 2017.pp.2-3.
 10. **ECHEVERRIA, H; & RESTREPO, G.** Determinacion de la prevalencia de mastitis mediante la prueba California Mastitis Test e Identificacion y Antibiograma del agente. (Trabajo de Titulación) (Ingenieria Zootecnica.) Universidad Estatal de Milagro. El Chaco - Napo , 2014.p.58.
 11. **MAGARIÑOS, H.** *Producción Higiénica de la Leche Cruda.* Una Guía para la Pequeña y Mediana Empresa. Chile :Alianza , 2014.p.93.
 12. **MARTÍNEZ, C.** Mastitis y sus causas predisponentes. [En línea] 2014. [Citado el: Noviembre de 3 de 2020.] Disponible en <http://merlassino.blogspot.com/2014/11/martinez-celeste-soledad-mastitis-y-sus.html>.
 13. **MEDINA, C; & MONTALVO, D.** El uso de la prueba de conductividad eléctrica y su relación con la prueba de California para Mastitis. . *Congreso Nacional de control de Mastitis.* Aguas Calientes, México. 2003.p.29.
 14. **MENDOZA, P.** Evaluación de Dos Dosis de Ozono en el Tratamiento de Mastitis Bovina.(Trabajo de Titulación) (Medico Veterinario Zootecnista), *Universidad Central del Ecuador Facultad de Medicina Veterinaria.* Ecuador - Quito , 2015.pp. 32-26
 15. **PADILLA, J.** Evaluación de dos métodos de diagnóstico y tres tratamientos de la mastitis

Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche
Holstein

- subclínica en bovinos de la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH (Trabajo de Titulación) (Ingeniero Zootecnista) . Riobamba- Ecuador , 2007.pp.75-109.
16. **PELLEGRINO, M** . "Mastitis Bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche". *Revista Eletronica de Veterinaria*. EEUU , 2017.p.14.
 17. **PHILPOT, W; & NICKERSON, S**. *Vencendo a Luta Contra a Mastite*. . Brasil , 2002.
 18. **POVEDA, Juan** . *Manual de Microbiología Clínica*. Quito -Ecuador , 2013.p.9.
 19. **RADOSTITS, P**. *Medicina Veterinaria.- Mastitis Bovina*. Madrid - España : Mcgraw-hill. 9ª Edición, 2016, p.716
 20. **REYES, A; & ARGÜELLO, J** . Estudio comparativo entre los métodos diagnósticos para mastitis subclínicas, California Test y DRAMINSKI 4Q en vacas Jersey (Trabajo de Titulación) (Medico Veterinario Zootecnista) Universidad Central de Nicaragua, Diriamba-Carazo. Nicaragua , 2015.p.15.
 21. **RUIZ ,A ; et al**. " Prevalencia de Mastitis Bovina Subclínica y Microorganismos Asociados. Comparación entre Ordeño Manual y Mecánico, en Pernambuco " Brasil. *Revista de Salud Animal*, Vol. 33, 2011, Brasil,p.9.