

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE
HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE MEDICINA
VETERINARIA**



**PREVALENCIA E IDENTIFICACIÓN DE AGENTES
BACTERIANOS CAUSALES DE MASTITIS
SUBCLÍNICA BOVINA EN LA MICROCUENCA
ALLPACHAKA – 3500 msnm. - AYACUCHO – 2008.**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO

PRESETADO POR:

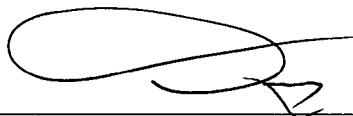
EVER PAQUI TINEO

AYACUCHO – PERÚ

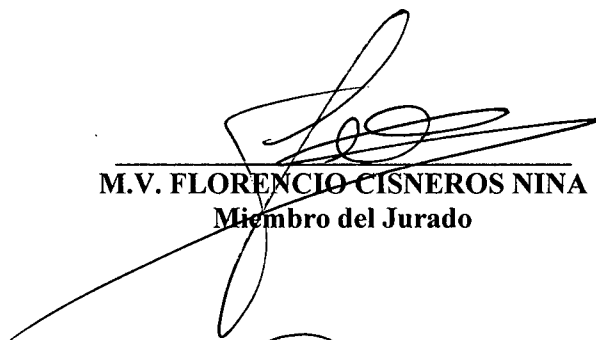
2011

**PREVALENCIA E IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIANOS
CAUSALES DE MASTITIS SUBCLÍNICA BOVINA EN LA MICROCUENCA
ALLPACHAKA – 3500 msnm. – AYACUCHO - 2008**

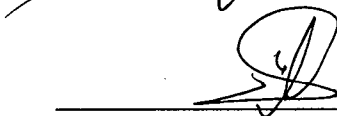
Recomendado : 05 de setiembre de 2011
Aprobado : 16 de setiembre de 2011



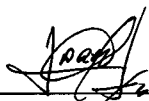
M.V. CARLOS ALBERTO PISCOYA SARMIENTO
Presidente del Jurado



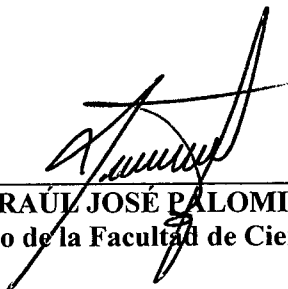
M.V. FLORENCIO CISNEROS NINA
Miembro del Jurado



M.V. GLORIA BETTI ADRIANZEN FACUNDO
Miembro del Jurado



M.V. JULIO ALBERTO RUIZ MAQUEN
Miembro del Jurado



M.Sc. ING. RAÚL JOSÉ PALOMINO MARCATOMA
Decano de la Facultad de Ciencias Agrarias

AGRADECIMIENTOS

A mi Alma Mater la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por haberme formado íntegramente.

A la Facultad de Ciencias Agrarias y en especial a mi Escuela de Formación Profesional de Medicina Veterinaria por haberme cobijado en sus aulas, así mismo a todos los docentes que me inculcaron sus conocimientos para mi formación profesional.

Al Señor por haberme conferido la vida y protegerme en todo momento de mi vida y por mostrarme oportunidades de desarrollo profesional para contribuir en el progreso de la sociedad.

A mis padres Honorato y Toribia, y mis hermanos Karina, Elena, Zulma y Henry por haberme brindado su apoyo y comprensión incondicional e incansable, en cada momento de mi formación.

Al proyecto Pro Leche, por haber financiado en la ejecución de el trabajo de investigación.

A mis asesores, MV. Florencio Cisneros, MV. Manuel Palomino, y Gloria Betti Adrianzen, por haber contribuido en la elaboración y conclusión del presente trabajo de investigación.

A los ingenieros Hugo Taipe R. y Dona Martínez C. y al MV. José Loza D., por haberme abierto las puertas de la institución para poder realizar el presente trabajo de investigación.

A todos mis amigos que en forma directa o indirecta han brindado su apoyo en la elaboración de este trabajo.

*En gratitud a mis padres Honorato y
Toribia y mis hermanos Elena, Zulma y
Henry, por su comprensión y apoyo
incansable.*

ÍNDICE

Resumen	Pág.
Introducción	1
Objetivos	2
Objetivo general	2
Objetivos específicos	2

CAPITULO I: REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

1.1. Anatomía de la glándula mamaria	3
1.2. Fisiología de la lactación y el reflejo de eyección de la leche.	5
1.3. Mecanismo de defensa y protección de la ubre bovina.	7
1.3.1. Barreras del pezón	7
1.3.2. Células de defensa y mediadores de la inflamación	7
1.3.3. Factores de defensa celular y humoral de la leche.	8
1.4 Definición de Mastitis.	8
1.4.1. Causas predisponentes.	9
1.4.2. Etiología.	9
1.4.3. Patogenia.	10
1.4.4. Manifestaciones Clínicas.	11
a). Por patógenos contagiosos.	11
b). Por patógenos ambientales.	12
1.5. Mastitis subclínica.	12
1.6. Antecedentes de prevalencia de mastitis subclínica.	14
1.7. Métodos de Diagnostico de la Mastitis Subclínica	18

a. Prueba de Whiteside	18
b. Prueba de California Mastitis Test (CMT)	19
c. Prueba de Wisconsin para Mastitis	20

CAPITULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Lugar de estudio.	22
2.2 Materiales.	23
2.2.1 Materiales de laboratorio.	23
a). Materiales de vidrio y plástico.	23
b). Materiales de metal.	23
c). Equipos	24
d). Medios de cultivo.	24
e). Reactivos.	25
2.2.2 Materiales de limpieza y vestimenta.	25
2.2.3. Materiales de campo.	26
2.3. Animales.	26
2.4. Muestras.	27
2.5. Metodología de Campo	28
2.5.1. Diagnostico de mastitis subclínica.	28
2.5.2. Envío de muestras	29
2.6. Método Bacteriológico.	29
2.6.1. Aislamiento de Microorganismos.	29
2.6.2. Pruebas Bioquímicas	32

a. Prueba de Catalasa.	32
b. Prueba de Coagulasa.	33
2.7. Análisis Estadístico.	33

CAPITULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1. Prevalencia de Mastitis subclínica bovina en la Microcuenca Allpachaka.	35
3.2 Mastitis subclínica bovina, según condiciones de ordeño	42
3.3. MSC bovina según distribución anatómica de los cuartos mamarios	45
3.4. Prevalencia de Mastitis subclínica bovina según número de partos.	47
3.5. Prevalencia de Mastitis subclínica bovina según meses de lactación	50
3.6. Bacterias identificadas en la mastitis subclínica bovina	54

CAPITULO IV: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones	58
4.2. Recomendaciones	59
Bibliografía	60
Anexo	64

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en la Microcuenca Allpachaka Irrigación Cachi alto, ubicado en los distritos de los Morochucos, Vinchos, Socos y Chiara, en las provincias de Huamanga y Cangallo, Región Ayacucho; entre los meses de Abril a Agosto del 2008 con la finalidad de determinar la prevalencia de mastitis subclínica bovina e identificar los principales agentes bacterianos implicados, así como los factores predisponentes a la infección de la mastitis bovina. Se examinaron 347 vacas en su mayoría de la raza Brown Swiss, de 65 rebaños en las comunidades de; Cusibamba, Satica, Munaypata, Unión Paqchaq, Allpachaka y Manzanayocc para lo cual se empleo la prueba de California, aislamiento bacteriológico y examen clínico. Los datos obtenidos fueron procesados mediante la prueba estadística de Chi – Cuadrado, para determinar la variabilidad de la prevalencia de mastitis subclínica por efecto de los factores en estudio. La prevalencia en la microcuenca Allpachaka fue de 33.14%; la comunidad de Cusibamba presento una prevalencia de 55.13 %, Manzanayocc 36.11 %, Allpachaka 28.57 %, Satica 26.03 %, Munaypata 23.33 % y Unión Paqchaq 20 %. De los 1388 cuartos mamarios evaluados, el 1.87 % se hallaron atrofiados y el 12.18 % mostraron mastitis subclínica, así mismo el 63.48 % se hallaron afectados con un cuarto mamario; 26.96 % en dos, 7.83 % en tres y el 1.74 % en los cuatro cuartos. La prevalencia según la rutina de ordeño fue de 23.81 % para la forma adecuada, 33.48 % para la forma poco adecuada y 34.41 % para la forma inadecuada; mientras que la prevalencia por efecto de la distribución anatómica de los cuartos mamarios fue de 9.73 % para el cuarto anterior derecho, 11.70 % anterior izquierdo, 15.54 % y 12.65 % para el cuarto posterior derecho y posterior izquierdo,

respectivamente, así mismo la prevalencia según el número de partos fue de 12.35 % para el primer parto, 39.97 % segundo parto, 32.26 % tercer parto, 37.74 % cuarto parto y 48.61% , para el quinto y mas partos, ($P>0,05$). La prevalencia según meses de lactación fue de 25.71 %, 27.08 %, 51.51 %, 27.27 % y 44.44 %, para el primero a segundo, tercero a cuarto, quinto a sexto, séptimo a octavo y mas a ocho meses de lactaciones, respectivamente. La prevalencia según el grado de reacción a la prueba de california fue de 28.99 % para reacción traza, 34.32 % 1+, 33.14 % 2+ y 3.55 % 3+. Los agentes bacterianos identificados fueron *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp*, *Streptococcus agalactiae*, *Micrococcus spp*, *Escherichia coli*, *Levaduras*, para una prevalencia de 73.28 %, 13.74 %, 8.40 %, 0.76 %, 1.53 % y 2.29 %, respectivamente.

INTRODUCCIÓN

En la Microcuenca Allpachaka irrigación Cachi Alto, en los últimos años han ido incrementando la producción ganadera lechera, pero atravesando por situaciones críticas de malos manejos de pastos y forrajes así mismo manejos inadecuados de los ganados, y consecuentemente con producción de leche de baja calidad, en este último cobran importancia la sanidad, los microorganismos que pueden llegar a la glándula mamaria, colonizar y producir mastitis, siendo de necesidad urgente, se tomen las medidas que permitan controlar y prevenir las causas, y mejorar la producción.

El ganado vacuno constituye una de las especies de mayor importancia para las familias del sector rural agrario del país.

De los 4 millones de vacunos, un porcentaje considerable es del tipo criollo, los que están distribuidos mayormente en la región de la sierra. En Ayacucho, el 95% de la población vacuna es de tipo criollo y el 5 % esta constituido por vacunos mejorados como las razas Brown Swiss, Holstein, Simental y sus cruces con el criollo y una proporción mínima de otras razas europeas en diferentes grados de cruzamiento, (MINAG, 2003).

La mastitis o inflamación de la glándula mamaria es la enfermedad más costosa y común del ganado lechero en la mayor parte del mundo. A pesar, que el estrés y las lesiones físicas pueden causar inflamación de la glándula mamaria, la infección es la principal causa de su aparición. La forma subclínica es la de mayor prevalencia, la más difícil de corregir y la que produce un mayor impacto económico, debido a las pérdidas que ocasiona, ya que reduce la producción, disminuye la calidad cualitativa

y cuantitativa de la leche y constituye una fuente de infección, persistiendo la enfermedad dentro del rebaño.

Los microorganismos que causan mastitis varían ampliamente entre países, regiones, rebaños y de un momento a otro dentro de un rebaño, además la mastitis puede estar influenciada por el tipo de ordeño y las condiciones en las que el ordeño se practica, lo que hace necesario conocer la propia realidad mastítica en las diversas regiones y establos lecheros para de esta forma implementar programas de control de mastitis de acuerdo a los problemas específicos.

Por las consideraciones mencionadas anteriormente el presente trabajo de investigación se planteo los siguientes objetivos:

Objetivo General.

Determinar el porcentaje de prevalencia de la mastitis subclínica bovina en la Micro Cuenca Allpachaka e identificar los principales agentes bacterianos implicados.

Objetivos específicos

- Determinar la prevalencia de la mastitis subclínica bovina mediante la prueba de California (CMT) en la Micro Cuenca Allpachaka.
- Identificar los agentes bacterianos involucrados en la presentación de mastitis subclínica bovina en la Micro Cuenca Allpachaka.
- Identificar los factores que predisponen a la infección de mastitis subclínica bovina.

CAPITULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 ANATOMÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA

La ubre es un gran cuerpo glandular, el cual sirve para la nutrición del becerro y consta de cuatro cuartos. Cada cuarto representa una unidad. Ello da como resultado que la mastitis puede estar confinada a un cuarto, cada cuarto de la ubre consta del cuerpo glandular y el pezón. La ubre esta formada por un sistema de conductos, compuestos por la cisterna del pezón, la cisterna de la glándula, los canales lácteos y los alvéolos. Funcionalmente se diferencia la parte alveolar (porción glandular) del conjunto del alveolo y de la porción cisternal de la cisterna general, así como de los conductos lácteos. En los alvéolos, con un espesor de 0.1 mm en promedio es donde se produce la leche.

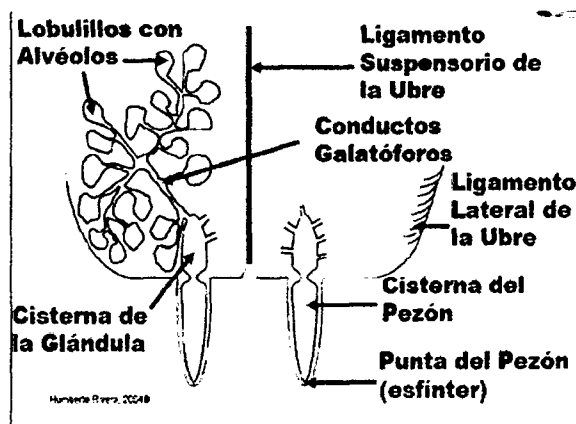


Fig. N° 1 Vista caudal de los dos cuartos posteriores.

La pared de un alveolo consta de la membrana basal, en donde se unen en el alveolo, en forma de canasta, las células mioepiteliales con las células epiteliales alveolares (células glandulares lácteas). Antes de la ordeña se encuentra una gran parte de la leche (60%) en la porción alveolar de la ubre.

Esa leche puede únicamente ser liberada con ayuda de la hormona oxitocina que es producida en el hipotálamo y almacenada en el lóbulo posterior de la hipófisis.

El pezón ayuda en la eyección de la leche. El pezón debe tener de 6 a 8 cm de largo y un diámetro de 2.5 a 3 cm. La musculatura del pezón representa un sistema que enlaza las fibras musculares que corren en diversas direcciones.

En la punta del pezón las fibras musculares se ordenan en forma circular para formar un músculo obturador. El canal del pezón (conducto galactóforo) representa la unión de la cisterna del pezón con el ambiente externo. Este mide de 6 a 10 mm. de largo. La luz del canal del pezón es de aproximadamente 0.4 a 0.8 mm.

Con el envejecimiento de la vaca aumenta la amplitud del conducto galactóforo. Este conducto se encuentra recubierto con epitelio poliestratificado liso. (Wolter, 2002).

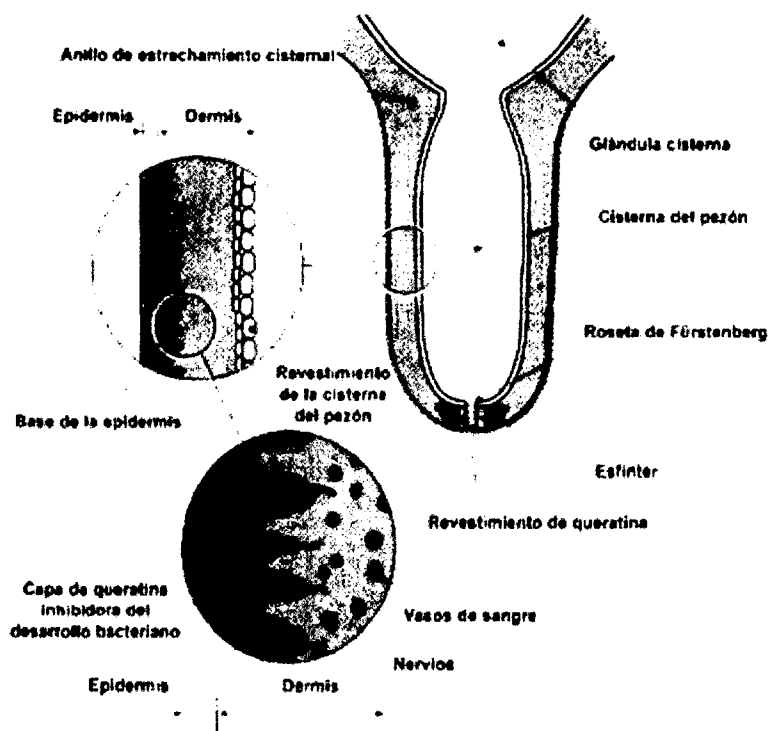


Fig. N°. 2. Estructura muy simplificada del pezón.

1.2. FISIOLÓGÍA DE LA LACTACIÓN Y EL REFLEJO DE EYECCIÓN DE LA LECHE.

La lactación se mantiene a través de la regulación hormonal. La hormona somatotropa (STH) es la hormona galactopoyetica más importante en la vaca. Mediante la inyección de esta hormona puede ser aumentado claramente el rendimiento lácteo de la vaca. Otras hormonas que también son importantes para la secreción de la leche son las hormonas esteroides, estrógenos, progesterona, prolactina, glucoesteroides y la oxitocina.

Con el termino eyección de la leche se entiende la salida activa, es decir, la conducción de la leche alveolar de la porción alveolar a la porción cisternal de la ubre. Esta se inicia mediante la contracción del mioepitelio que rodea al alveolo. La eyección de la leche es un proceso de expulsión, que se puede también denominar “disparo” de la leche. Mediante la eyección de la leche puede ser extraída la leche del alveolo. La eyección de la leche es el resultado de un reflejo involuntario neurohormonal, el cual es conocido como el reflejo de eyección de la leche y que abarca los siguientes procesos:

- 1.- Estimulación de los receptores en la pared del pezón mediante; succión, masaje o estímulo de la ordeña y la transformación del estímulo en un impulso excitatorio.
- 2.- Transmisión de la excitación a las vías aferentes nerviosas y al hipotálamo.
- 3.- Liberación de la hormona oxitocina, la cual se forma en el núcleo paraventricular y supra óptico y por transporte axonal se almacena en la hipófisis posterior y de ahí se libera en la sangre.
- 4.- Transporte de la oxitocina de la sangre al mioepitelio de los alvéolos.
- 5.- Contracción de las células mioepiteliales por efecto de la oxitocina con los receptores oxitocínicos.
- 6.- La leche alveolar con esto es presionada de la parte alveolar a la porción cisternal alcanzando una presión intra mamaria de 1-4 kPa.

El masaje en la punta del pezón desencadena el reflejo de eyección de la leche y es conocido como “preparación”. También se debe hacer notar, que no únicamente la “preparación” actúa en la eyección de la leche sino todas las manipulaciones de la

ubre tienen un efecto estimulante mas o menos intensivo. Por esa razón es importante tomar en cuenta el tiempo completo de duración de la preparación de la ubre para la ordeña, la extracción de los primeros chorros de leche, el lavado de la ubre y la preparación como tiempo de estimulación para poder desencadenar el reflejo de eyección de la leche.

Todos estos operativos para la preparación de la ubre deben ser hechos continuos, sin pausas y deben de durar aproximadamente 30 segundos. La ordeñadora debe colocarse a los 60 segundos y a más tardar a los 90 segundos. (Wolter, 2002).

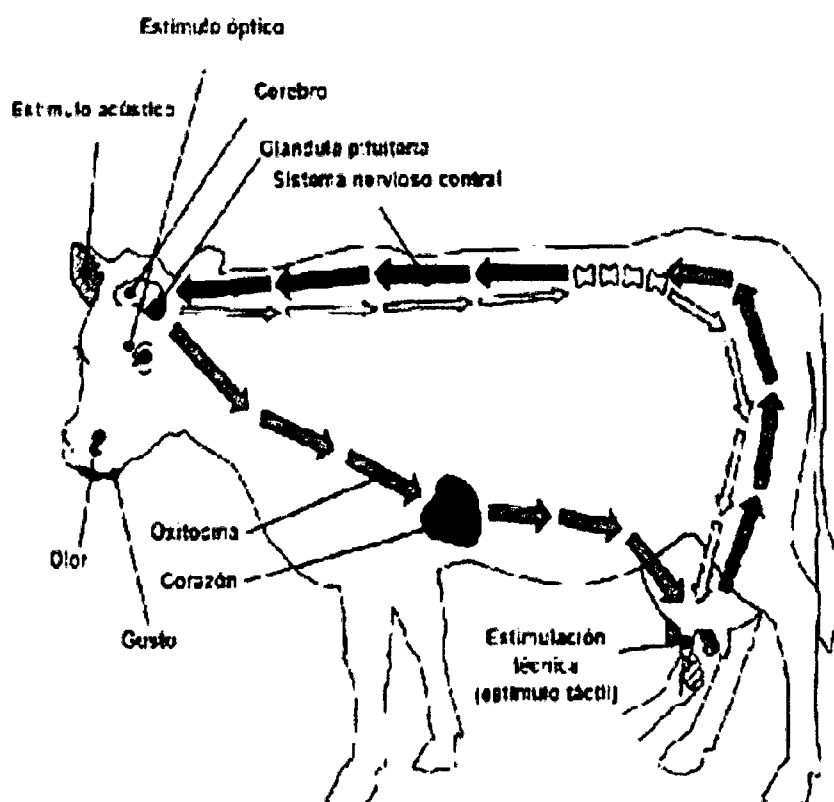


Fig. nº 3. Reflejo neurohormonal de la eyección de la leche.

De esta forma se logra una mejor preparación de la eyección de la leche en una ordeña mecánica y se obtienen mejores resultados.

1.3. MECANISMOS DE DEFENSA Y PROTECCIÓN DE LA UBRE BOVINA.

El sistema de defensa de la ubre se realiza a través de la sangre y los vasos linfáticos del cuerpo. Los factores de defensa son en primer lugar inespecíficos, pero también pueden ser específicos. Además posee un mecanismo de defensa local, el cual puede evitar la entrada de un agente patógeno extraño, del canal del pezón hacia el sistema de conductos de la ubre, de esta forma se le protege de una infección.

1.3.1 Barreras del pezón.

El esfínter del canal del pezón impide la entrada de bacterias. La amplitud del canal del pezón se encuentra en una íntima relación con el funcionamiento del esfínter. El crecimiento del epitelio se dirige hacia el exterior en la desembocadura del canal del pezón, lo cual también sirve para evitar la entrada de bacterias. Mediante el flujo hacia fuera de la leche (por la ordeña o cuando el becerro mama) son expulsados los agentes patógenos del canal del pezón. La roseta de Füssenberg forma una corona en el paso del canal del pezón a la cisterna de este. Los pliegues de la roseta de Füssenberg no solo tienen una función mecánica como mecanismo de cierre sino también sirve como mecanismo de defensa en ese lugar. La queratinización intensiva del epitelio del canal del pezón forma una capa lactosada bactericida que representa una barrera muy efectiva contra agentes extraños. Si bien ese tapón de queratina será lavado casi completamente durante la ordeña y después de 2-3 horas del ordeño se restablece completamente la función de defensa del canal del pezón (Wolter, 2002); (Rebhum, 1995).

Por otro lado los canales del pezón se dilatan y alargan con el incremento de la edad lactacional de las vacas, además poseen ventajas anatómicas que actúan como barrera a la penetración de las bacterias, estas ventajas son más efectivas en la primera lactación y tienden a decrecer con el incremento de la edad lactacional, así como también indica el incremento de la incidencia de infecciones de la ubre con la edad, (Wolter, 2002).

1.3.2. Células de defensa y mediadores de la inflamación.

Los linfocitos, las células plasmáticas y los macrófagos se pueden encontrar en un número escaso en el tejido conjuntivo de la glándula mamaria bovina. En la ubre

sana se observa un paso muy escaso de los granulocitos neutrófilos de la sangre hacia el epitelio alveolar y de ahí a la leche. En caso de que haya una invasión muy fuerte de bacterias se vera aumentado el número de granulocitos de los vasos sanguíneos. Entonces se vera aumentado el número de células somáticas en la leche. Diferentes mediadores químicos desencadenan esas reacciones inflamatorias como consecuencia de la acción de agentes patógenos o algún otro estímulo.

1.3.3. Factores de defensa celular y humoral de la leche.

La leche tiene un efecto antibacteriano, debido al cual inhibe el crecimiento de bacterias y también mata o hace inofensivas a las bacterias. El efecto antibacterial es debido a factores de defensas celulares y humorales. En esto intervienen los leucocitos polimorfonucleares, los linfocitos y los macrófagos (principal tipo celular en la leche). Los factores humorales son las inmunoglobulinas, factores del complemento, el sistema lactoperoxidasa- tiocianato- peroxido-hidrogeno, la lactoferrina y la lizosima. El paso rápido de los leucocitos sanguíneos a la luz alveolar son los mecanismos naturales más importantes de defensa contra la mastitis. En el caso de una glándula mamaria sana se puede observar un contenido menor de 100,000 leucocitos/ml en la leche. El contenido de leucocitos aumenta como una respuesta a los microorganismos invasores. En el caso de la mastitis aguda los conteos pueden llegar hasta millones de células somáticas/ml. El número más importante de los leucocitos durante el curso de una mastitis son los granulocitos polimorfonucleares (PMN). Los PMN reconocen a las bacterias marcadas con anticuerpos y las fagocitan. Pueden pasar unas 12 a 24 horas después de la infección para que el contenido de PMN aumente claramente. (Wolter, 2002).

1.4. DEFINICIÓN DE MASTITIS

La mastitis es una reacción inflamatoria de la glándula mamaria que afecta a cualquier especie animal; aunque de mayor importancia económica es en la vaca lechera, sea cual fuere su causa, puede ser afectada uno o los demás cuartos mamarios. Se caracteriza por alteraciones físicas, químicas y, casi siempre, bacteriológicas de la leche y por modificaciones patológicas del tejido glandular.

Puede presentarse clínicamente en forma hiperaguda, aguda, subaguda, y crónica (Blood y Radostits, 1992).

Se considera que la mastitis es la enfermedad más costosa y común del ganado lechero en la mayor parte del mundo. A pesar, que el estrés y las lesiones físicas pueden causar inflamación de la glándula mamaria, la infección es la principal causa de su aparición. La forma subclínica es la de mayor prevalencia, la mas difícil de corregir y la que produce un mayor impacto económico, debido a las pérdidas que ocasiona, ya que reduce la producción, disminuye la calidad cualitativa y cuantitativa de la leche y constituye una fuente de infección, persistiendo la enfermedad dentro del rebaño (Faría et al, 2005).

1.4.1.-CAUSAS PREDISPONENTES

La mastitis básicamente es un problema de higiene, las lesiones del pezón por traumas, fiebre aftosa, por existencia de heridas, grietas y por la demasiada contaminación de los dormideros de las vacas, entonces estos son los factores predisponentes para que el microorganismo penetre en la glándula mamaria; también tiene mucha importancia el ordeño manual, mecánico y el posterior contagio de los pezones por mano del ordeñador de una vaca a otra, otro factor predisponente a la infección es la conformación de la ubre del cuarto mamario del pezón, esfínter y cúpula del pezón.

1.4.2.- ETIOLOGÍA

Los patógenos involucrados en la infección son clasificados en patógenos contagiosos y ambientales, que dentro de los patógenos contagiosos incluyen a *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus aureus* y *Mycoplasma sp.* Una característica común de los microorganismos contagiosos es la de colonizar y crecer en la piel de la ubre y dentro del canal del pezón. Esta característica contribuye a su naturaleza contagiosa y al hecho de que la incidencia de mastitis por estas bacterias es alta en aquellos establecimientos lecheros reticentes a realizar medidas de control, donde es común observar tasas de prevalencia del 50%.

Los microorganismos ambientales incluyen a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia sp.*, *Proteus sp.*, *Pseudomona sp.* Y otros estafilococos Gram-negativos coagulasa-negativos, estafilococos ambientales, levaduras u hongos, *Prototheca*, *Actinomyces pyogenes* y *Corinebacterium Bovis* (Rebhum, 1995), (Saran y Chaffer, 2000).

1.4.3.-PATOGENIA

La infección estafilocococica de la ubre es ascendente por vía galactógena y, más raramente a través de las heridas del pezón o de la piel de la ubre (Beer, 1981).

La patogenia estafilocococica en los casos agudos y crónicos comienza por el proceso de proliferación de bacterias en los conductos colectores y en menor grado, en los alvéolos.

En la mastitis aguda, los pequeños conductos son bloqueados rápidamente por coágulos de fibrina, lo que origina un aumento del área obstruida. En la mastitis crónica, la inflamación queda restringida a la pared de los conductos. Dicha inflamación mejora en pocos días y es sustituido por proliferación de tejido conectivo alrededor de los conductos, lo que produce bloqueo y atrofia de la zona de drenaje. En la forma gangrenosa se provoca la muerte del tejido por trombosis venosa que produce edema local y congestión de la ubre. Los estafilococos son las únicas bacterias que suelen desencadenar esta reacción en la ubre de la vaca, y la toxemia consecutiva se debe a las toxinas bacterianas y a la destrucción tisular (Blood y Radostits, 1992).

Las condiciones para una invasión con éxito parece ser la formación de una colonia de bacterias cuando se encuentran en el canal del pezón, junto con la penetración mecánica de las mismas por el canal. Después de que los estreptococos han pasado el canal del pezón y llegado al lumen de la mama, tienen que enfrentarse con nuevos mecanismos de defensa, fallos funcionales de defensa favorecen la persistencia de los estreptococos que han penetrado. Al producirse la multiplicación se crean factores lesionantes de la mucosa mamaria. En un principio los estreptococos no atacan directamente a las células ni al tejido, sino que actúan a través de la descomposición de la leche, gracias a sustancias fermentativas y a

metabolitos, así como por medio de sustancias tóxicas de desintegración de los propios estreptococos (lipopolisacárido, mucopeptidos). El paso de los estreptococos desde los conductos galactóforos a los vasos linfáticos adyacentes estimulan inmediatamente la emigración defensiva de leucocitos neutrófilos que fagocitan la mayoría de las bacterias (Beer, 1981).

La infección estreptocócica principalmente del *Streptococcus agalactiae*, tiene lugar a través del conducto del pezón, la multiplicación bacteriana en los conductos galactóforos y en los alvéolos de la glándula mamaria produce una inflamación aguda seguida de un cierto grado de fibrosis. Sucesivos procesos inflamatorios dan lugar a la sustitución del tejido secretor por tejido conjuntivo fibroso, y es posible que con el tiempo se atrofie el cuarto mamario afectado (Biberstein y Chung, 1994).

Los coliformes una vez que han penetrado la ubre, los gérmenes se multiplican intensamente, liberando endotoxina, que produce la mayoría de las ocasiones una inflamación exudativa intensa seguida de necrosis tisular y, tras la reabsorción, incluso de manifestaciones generales, también sospecha que las manifestaciones morbosas se deba a reacciones alérgicas frente a la endotoxina (Beer, 1981).

1.4.4.-MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Según la resistencia del tejido mamario y la virulencia de las bacterias invasoras, pueden observarse diferentes grados de intensidad en los signos, desde el comienzo gradual por fibrosis, pasando por inflamación aguda sin reacción sistémica, hasta toxemia grave con signos sistémicos manifiestos, incluyendo como síntomas clínicos anormalidades de la secreción, tamaño consistencia y temperatura de las glándulas mamarias. La inflamación intensa de uno de los cuartos mamarios con reacción sistémica manifiesta, se clasifica como sobreaguda; la inflamación grave sin reacción sistémica como aguda; la inflamación leve con anormalidades persistentes de la leche se define como subaguda; y los ataques recurrentes de inflamación con poco cambio en la leche se consideran crónicas (Blood y Radostits, 1992).

a) Por patógenos contagiosos

Las manifestaciones clínicas por los estafilococos sobre todo del *Staphylococcus aureus*, causan síntomas sobreagudos apareciendo durante los primeros días después

del parto, presenta reacción sistémica con elevación de la temperatura hasta 42 °C, con inflamación intensa de la glándula mamaria afectada, la forma aguda suele aparecer con frecuencia al comienzo de la lactación, la alteración de la leche es purulenta que posee muchos coágulos gruesos. Siempre se produce fibrosis y pérdida importante de la función (Rebhum, 1995; Radostits, 2002).

Los *Streptococcus agalactiae* causan síntomas agudos, sobreagudos y crónicos; en este último no está muy inflamada la glándula, no hay dolor ni calor y la única anormalidad evidente es la presencia de coágulos en los primeros chorros de la leche acuosa extraída del ordeño. Provoca induración que es palpable con facilidad en la cisterna y en la parte inferior de la ubre; hay una notable disminución de leche en las glándulas afectadas (Beer, 1981; Radostits, 2002).

Otros estreptococos como *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus uberis*, el síndrome suele ser agudo con tumefacción intensa del cuarto mamario afectado y con anormalidad de la leche. En el caso de las manifestaciones clínicas por *Pasteurella* son graves, presentándose fiebre, tumefacción manifiesta y secreción anormal. Hay supresión completa del flujo de leche en los cuartos afectados y no afectados, y fibrosis con atrofia posterior (Blood y Radostits, 1992).

b) Por patógenos ambientales

Las manifestaciones clínicas por microorganismos ambientales se presentan con inflamación aguda o sobreaguda con signos sistémicos, en las vacas lecheras se manifiesta por agalactia y toxemia, anorexia, depresión grave, temblor y fiebre. Los cuartos afectados están calientes e hinchados, la secreción es característica y los cambios de la consistencia de la leche líquida se suceden hasta convertirse en un líquido amarillo seroso delgado que contiene pequeñas escamas como hojuelas, apenas visibles a simple vista (Blood y Radostits, 1992; Rebhum, 1995).

1.5. MASTITIS SUBCLÍNICA

La mastitis subclínica es una forma de la enfermedad en la que no hay inflamación de las glándulas mamarias ni cambios físicos en la leche, sin embargo la presencia de microorganismos en la leche pueden ser observados por medio de un cultivo microbiológico, ocasionando el aumento de contenido celular y cambios

inflamatorios de la leche, pueden ser detectados a través de las pruebas especiales, tales como la prueba de Whiteside, California Mastitis test y otras pruebas similares. Este tipo de mastitis tiene una frecuencia de 20 a 50 veces más que la mastitis clínica (Philpot, N. y Nickerson, C. 1992).

La forma subclínica es la de mayor prevalencia, la mas difícil de corregir y la que produce un mayor impacto económico.

La mastitis subclínica es considerada un proceso multifactorial donde se conjugan factores propios del animal, factores relacionados con el agente causal y factores ambientales y de manejo, donde se incluye el ordeño, el cual juega un papel determinante en la presencia de la enfermedad (Faría et al, 2005).

Por otro lado la complejidad de la mastitis subclínica es el reflejo de la diversidad de agentes causales, variedad y magnitud de la respuesta fisiológica de estos patógenos y variación y eficacia de las medidas de control, razón por la cual el problema se agudece al no existir un método único que pueda controlar las infecciones causadas por los distintos patógenos mastitogénicos.

La mastitis que se desarrolla a causa de los patógenos más comunes, produce un cambio significativo en la composición de la leche incluyendo el aumento en los valores de RCS (recuento de células somáticas). El nivel de la caseína que es la proteína de mayor calidad nutricional para los humanos, en cambio se incrementa el nivel de otras proteínas (suero, albumina, lactoferrina, inmunoglobulinas) que afectan negativamente la calidad de los productos lácteos. La albumina, suero, inmunoglobulina, transferrina, y otras proteínas del suero sanguíneo son secretadas en la leche debido a la permeabilidad vascular en el tejido mamario aumenta debido a la inflamación (Smith, L. y Hogan, S. 1997).

1.6. ANTECEDENTES DE PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA

- TINTAYA (1975), En un estudio de prevalencia de mastitis subclínica en el valle del Mantaro; mediante la prueba de modificada de Whiteside, evaluó 676 vacas en la cual reportó una prevalencia de 25% y como sospechosa 11.8%, según cuartos mamarios halló una prevalencia de 9.7% y como sospechosa de 5.6%; según la localización de los cuartos mamarios obtuvo una prevalencia de 23.5% para los cuartos anteriores y 26.5% para los posteriores; y con respecto a la edad del animal el porcentaje de la infección aumenta determinándose una prevalencia de 31.3% en vacas de 8 a 10 años de edad; así mismo con respecto a los meses de lactación determino que existe un aumento de prevalencia a medida que avanza los meses de lactación, empezando de 20.5% para el primer mes, llegando a un máximo de 37.2% a los 12 a 14 meses de lactación.
- FLORES (1976), En un estudio de prevalencia de la mastitis en la cuenca lechera del sur del país – Arequipa, reporto una prevalencia de mastitis para la prueba de tanque de 26.57%, mientras para la prueba individual de 42.71%, y las que influyen en la presentación de la mastitis son las condiciones de manejo así como el sistema de alimentación, higiene, sanidad y manejo del ordeño.
- CÓRDOVA y ARAUCO (1987), en un estudio realizado de los centros experimentales de Allpachaka y Wayllapampa en diferentes sistemas de crianza siendo al pastoreo y estabulado respectivamente de los centros experimentales; determinaron de un total de 98 vacas evaluadas en el C.E. de Allpachaka una prevalencia de mastitis subclínica positiva de 25.51% y como sospechosas de 32.65%, mientras que en el C.E de Wayllapampa de 22 vacas evaluadas se determino una prevalencia de mastitis subclínica positiva de 54.55% y como sospechosas de 9.09%; afirman también que en ambos hatos evaluados, la prevalencia esta relacionado por los malos hábitos de ordeño y manejo de los animales y así mismo existe una relación directa entre el ascenso de positividad a la mastitis y los parámetros de edad, numero de partos y meses de lactación.

- ARANA (1992), en un estudio realizado del establo de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Mayor de San Marcos, de un total de 156 cuartos mamarios evaluados, encontró una prevalencia de mastitis subclínica de 74.35% y un 12.19% de mastitis clínica, así mismo los cultivos microbiológicos demostraron la presencia de *Streptococcus agalactiae* en un 49.2%, *Staphylococcus aureus* en un 42.5% y el 8.3% asociación de ambas bacterias. La alta prevalencia que encontró en su estudio esta relacionado a los parámetros de edad, número de partos, días de lactación y producción y como factor de contagio considera que la maquina de ordeño se encuentra en malas condiciones de funcionamiento.
- AYALA (1993), determinó que la mastitis tiene una incidencia de 43% en Huanta y Huamanga de acuerdo al número de animales estudiados (58 animales) y 17.5% de acuerdo a los cuartos mamarios afectados; también demostró que las vacas que presentan mayor edad y numero de partos y mayor meses de lactación son los mas propensos a presentar mastitis. Llegó a identificar que la familia enterobacteriaceae, es el germen que presenta mayor incidencia en las infecciones mastíticas, alcanzando a un 48%, seguido de la familia Streptococaceae con 26.5% y micrococaceae con 23.5% y otros con solo 1.5%.
- ABAD (2003), determinó que la prevalencia de mastitis subclínica en el distrito de Huanta fue de 62.5%; siendo Ccanis la comunidad mas afectada, seguida de Quinrampa y finalmente Maynay. encontrada el mayor porcentaje de mastitis subclínica en animales de 4, 5 y 6 partos con un 75, 66.6, y 88.8% respectivamente y como bacteria de mayor influencia el *Staphylococcus aureus* (66.6%), *Streptococcus agalactiae* (11.1%) mas significativos, y considera el factor influyente a esta infección sea el mal manejo de los hatos.
- ARMENTEROS *et al* (2002) evaluó el estado clínico y microbiológico de la ubre en vacas lecheras, pertenecientes a 56 rebaños de la región occidental y central de Cuba, mediante el examen clínico, aislamiento bacteriológico y prueba de califormia. De los 12274 cuartos analizados (3069 animales), encontró que el 18.02% estaban afectados por mastitis crónica y el 3.7% se encontraba atrofiado; 3.02%

mostró mastitis clínica y el 45.1% mastitis subclínica; en tanto el 76.5% fue positivo a la prueba de California. Los microorganismos mas frecuentes aislados fueron: *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis* y *Streptococcus agalactiae*, para una prevalencia de 30.5%, 9.2% y 8.3% respectivamente. Este estudio reveló un elevado porcentaje de cuartos afectados por mastitis y de infecciones por los principales microorganismos productores de la misma, influyó de forma directa, que el 51.8% de los equipos de ordeño no cumplen con los parámetros y el 58.9% de las unidades no cumplen la correcta rutina de ordeño.

- NACCHA (2004), en un estudio realizado para determinar el efecto de la mastitis subclínica en la producción lechera y su tratamiento en la unidad de producción de Allpachaka a 3500 msnm - Ayacucho, en la cual reportó de un total de 76 vacas evaluadas, una prevalencia de mastitis subclínica de 35.53%, y un índice sanitario de 1.35 cuyo grado de infección es moderado a la mastitis subclínica, y los agentes microbiológicos aislados fueron *Staphylococcus aureus* con 48.15%, el *Streptococcus agalactiae* 29.63%, *Escherichia coli* 14.82%, *Corynebacterium bovis* 3.7% y *Pseudomona aeruginosa* con 3.7%.
- HAYTARA (2004), en un estudio de prevalencia e identificación de los agentes bacterianos causantes de la mastitis subclínica bovina en el distrito de Nuñoa – Puno; reportó una prevalencia de 47.5%, y según número de partos fue de 50%, 45.95%, 39.53%, 41.94% y 59.46% para primer parto, segundo, tercero, cuarto y quinto a mas partos respectivamente, y por efecto de los meses de lactación fue 69.57%, 24.14%, 34.38%, 43.48% y 54.84% para el primero, segundo, tercero, cuarto y quinto a mas meses de lactación, respectivamente; así mismo por efecto de cuartos mamarios fue de 39%, 41%, 39.5% y 40.5% para anterior izquierdo, anterior derecho, posterior izquierdo y posterior derecho, respectivamente. Los agentes etiológicos identificados de las vacas con mastitis subclínica fueron *Staphylococcus aureus* 23.21%, *Staphylococcus epidermidis* 7.14%, *Streptococcus sp.* 57.14%, *Escherichia coli* 8.93%, *Corynebacterium sp.* 1.79% y *Pseudomonas sp.* 1.79%.
- HAYTARA (2004), En un estudio de evaluación de la eficacia “IN VITRO” de agentes antimicrobianos para el tratamiento de mastitis bovina en el distrito de

Umachiri – Puno, reporta una prevalencia de 19.2 % para *Staphylococcus aureus*, 17.9% para *Escherichia coli*, 16.2% *Micrococcus sp*, 14.4 % *Streptococcus sp*, 13.7 % *Staphylococcus epidermidis*, 9.6 % *Enterococcus sp*, 6.6 % *Streptococcus pneumoniae* y 2.4 % de *Corynebacterium sp*. Afirma que la mastitis subclínica en vacunos del distrito de Umachiri es multicausal, principalmente a las malas prácticas de higiene en el proceso de ordeño, y a los malos hábitos de la persona encargada del ordeño.

- CCOYA (2005), En un estudio de prevalencia de mastitis subclínica bovina en la cuenca lechera de Huanacamarca – Sora del distrito de Umachiri. Reporto de un total de 200 vacas evaluadas mediante la prueba de Whiteside una prevalencia de 26%, y según número de partos fue de 13.04%, 24%, 21.05%, 45.45% y 15% para primero, segundo, tercero, cuarto y mas de cinco partos; por efecto de cuartos mamarios fue de 13.5%, 6.5%, 12% y 9.5% en el cuarto anterior izquierdo, anterior derecho, posterior izquierdo y posterior derecho, y la prevalencia por meses de lactación se halló de 43.47%, 39.53%, 42.85% y 15.62%, para el primer, segundo, tercero y cuarto a mas meses de lactación; mientras para la prueba de California Mastitis Test la prevalencia general fue de 19%, según número de partos es de 30.43%, 27.9%, 31.42%, 17.14% y 3.12% para primero, segundo, tercero, cuarto y cinco a mas partos; y la prevalencia de mastitis subclínica por efecto de cuartos mamarios fue de 7%, 4%, 7.5% y 7.5%, en el cuarto anterior izquierdo, anterior derecho, posterior izquierdo y posterior derecho, y según los meses de lactación fue de 13.04%, 17.33%, 15.78% y 25% de prevalencia para el primero, segundo, tercero y cuarto a mas meses de lactación.
- FARIA *et al* (2005) determinó que la prevalencia de mastitis subclínica fue mas elevada en animales con ordeño mecánico, siendo los principales agentes causales *Staphylococcus coagulasa* (+) (40%) y *Streptococcus spp* (17%); mientras que en animales ordeñados a mano, la infección fue provocada por *Staphylococcus coagulasa* (-) (40.63%), coagulasa positiva (21.13%), y *Corynebacterium spp* (20.31%). De acuerdo a cultivo bacteriológico, la prevalencia en cuartos ordeñados a mano fue de 58.67% y en ordeños a maquina de 87.34 %. Según CMT la prevalencia de mastitis en los cuartos ordeñados a mano fue de 72% y 57%, para los umbrales

positivo 1+ y 2+, respectivamente, mientras que para los cuartos de ordeño mecánico los porcentajes fueron de 70% y 40%. Para las muestras ordeñadas a maquina el CCS fue de 7.9661137.83 cel/ml y para las ordeñadas a mano fue de 730.527,57 cel./ml.

- DUEÑAS (2007), en un estudio de prevalencia de mastitis subclínica bovina y determinación de sólidos totales de la leche en la irrigación majes sección (B2) Arequipa. Reporto de 52 vacas evaluadas de la raza Holstein una prevalencia de 40.38% de mastitis subclínica, y con respecto al grado de reacción a la prueba de Whiteside, obtuvo 52.73% a 1 grado, 33.21% a 2 grados y 14.97% a 3 grados, así mismo según cuartos mamarios la prevalencia fue mayor en el cuarto posterior izquierdo (33.33%) y en el cuarto anterior izquierdo (30.0%) sin diferencias significativas ($p>0.05$); de acuerdo al número de partos la prevalencia de mastitis subclínica, fue de 23.81%, 9.52%, 19.05%, 14.28%, 23.81%, y 9.53%, para 1, 2, 3, 4, 5, y 6 partos respectivamente, con respecto a los sólidos totales en vacas con mastitis, el porcentaje baja significativamente teniendo una media de 9.68% con respecto a vacas sin mastitis con una media de 10.85%.

1.7. Métodos de Diagnostico de la Mastitis Subclínica.

a. Prueba de Whiteside

La prueba de Whiteside consiste en poner sobre un vidrio de color oscuro 5 gotas de leche de cada pezón, al cual se le agrega 2 gotas de NaOH (hidróxido de sodio) al 4N (solución normal) y se procede a homogenizar con un palillo de mondadientes con movimientos circulares durante 15 a 20 segundos (Wittner, M. y Bohmwald, L. 1986).

El fundamento se basa en la unión de los leucocitos con el álcali del reactivo (NaHO); por lo tanto la reacción dependerá de la cantidad de leucocitos en la leche, incremento que se observa en todo proceso inflamatorio. El número de células es constante en el calostro de la leche y al final de la lactación, también la edad influye sobre el número de células en la leche, pero es necesario considerar que estos incrementos nunca sobre pasan de una manera apreciable los limites normales. Los

incrementos patológicos en el número de células son bastante frecuentes, en comparación con los fisiológicos, ello fundamenta la existencia de microorganismos, los cuales pueden llegar a una inflamación clínica, siendo esta última de mayor cuidado por enmascarar los síntomas clínicos (Schmidt, H. y Van, 1974).

b. Prueba de California Mastitis Test. (CMT)

Esta prueba fue descubierta por Schalm y Noorlander en 1957, quienes definen al test como un procedimiento rápido, sencillo, y accesible y que esta relacionado con la presencia de glóbulos blancos en la leche (Pérez, M. 1984).

Esta prueba se fundamenta en el contenido de leucocitos de la leche, identificando la presencia de ácido desoxirribonucleico de estas células somáticas. De los vasos sanguíneos localizados en el área afectada escapan leucocitos, siendo generalmente ésta una respuesta celular proporcional a la severidad de la infección. Las cuentas de células somáticas mayores a 500,000/ml indican mastitis subclínica (Radostits, 2002).

Philpot, y Nickerson (1992), señalan que la prueba de CMT es valida para detectar infecciones subclínicas que de otra forma pasarían por desapercibidas hasta que la infección llegara a su estado mas avanzado.

El reactivo empleado para la prueba es un detergente aniónico (Alkil- Aril sulfonato de sodio) que en contacto con las células blancas u leucocitos causan la ruptura de su pared celular y la liberación del ADN, durante este proceso de desintegración se forma un conglomerado de células que dan una apariencia gelatinosa, teniendo una correlación directa entre la cantidad de células y la formación de gel, además la prueba posee un colorante (púrpura de bromo-cresol) que indica los cambios de pH ocurridos en la leche a raíz de la inflamación (Saran, A. y Chaffer, M. 2000).

El test conviene realizarlo antes del ordeño no siendo necesario desinfectar pezones, examinándose los 4 cuartos en forma simultánea, luego de haber descartado los primeros chorros de leche; No es recomendable que la prueba de CMT se realice

al final del periodo de lactación ni antes de los tres días después del parto ya que el número de leucocitos aumenta en la leche, dando resultados erróneos (Schalm, 1962).

Cuadro N° 1: Interpretación de la prueba de California para mastitis.

Interpretación	Reacción	Num. Células por ml. De leche
Negativo	Sin evidencia de precipitación	0 – 200000
Traza	Precipitación leve	150 000 – 500 000
1+	Sin Formación de gel	400 000 – 1500 000
2+	Mezcla espesa	800 000 – 5000 000
3+	Formación de pico central	Mas de 5000 000

Fuente: (Pérez, M. 1984).

c. Prueba de Wisconsin para Mastitis

La prueba de Wisconsin es una técnica utilizada para el diagnóstico de la mastitis subclínica; requiere de una gradilla con 12 tubos de plástico fijos con capacidad de 15ml y graduación de 1 a 6 ml; presentan un orificio alrededor colocado lateralmente con un diámetro de 3.15mm, los tapones de hule llevan un orificio central de 1.10 mm, el reactivo utilizado es el mismo que el de la prueba de California para mastitis diluido en proporción de 1:1 usando agua destilada, en esta prueba se mezcla en cada tubo 2 ml de leche con 2 ml de reactivo, posteriormente se agita durante 10 segundos se deja reposar la mezcla por 15 segundos y se procede a realizar la lectura (Blanco, A. 2001).

Cuadro N° 2: Interpretación de la prueba de Wisconsin

Ml en tubo	Células por ml de leche
5	0 – 5 000
10	75 000 – 190 000
15	190 000 – 350 000
20	350 000 – 570 000
25	570 000 – 830 000
30	830 000 – 1200 000
Más de 30	Más de 1500 000

Fuente: (Blanco, A. 2001)

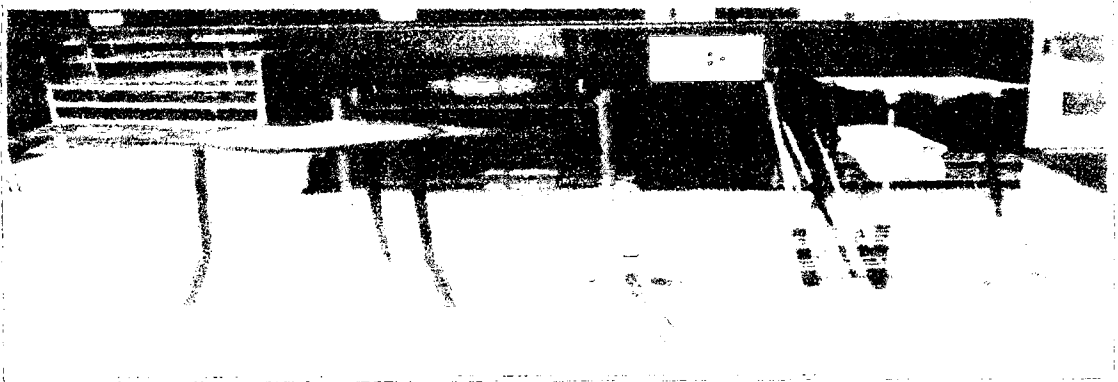


Foto 03 Materiales de Metal.

c. Equipos

- Balanza analítica
- Microscopio
- Estufa
- Autoclave
- Refrigeradora
- Centrifuga

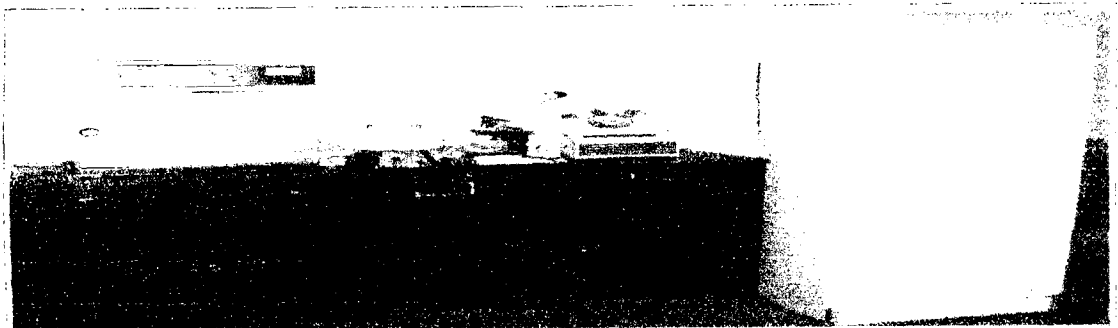


Foto 04 Equipos utilizados para la identificación de bacterias.

d. Medios de Cultivos

- Agar Sangre
- Agar Estreptococos
- Agar Bair Parker
- Agar Manitol Salado
- TSA
- Agar MacConkey
- Agar Sabourond
- Plasma de conejo

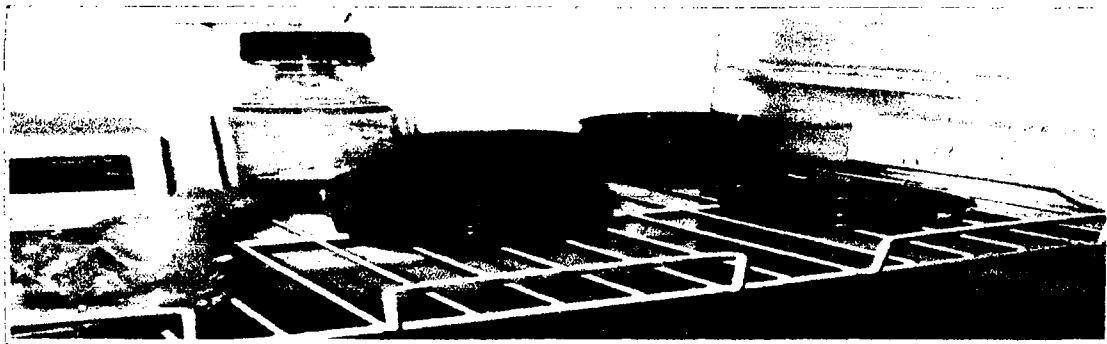


Foto 05 Medios de Cultivos utilizados para el aislamiento de bacterias y hongos.

e. Reactivos

- Peroxido de Hidrogeno
- Cristal violeta
- Lugol
- Azul lactofenol
- Alcohol absoluto
- Acetona
- Aceite de inmersión
- Cinta medidor de pH
- Safranina
- Azul de metileno



Foto 06 Reactivos para la tinción de Gram.

2.2.2. Materiales de limpieza y vestimenta

- Detergente
- Hipoclorito de sodio
- Jabón

- Guardapolvo
- Mascarillas
- Guantes

2.2.3. Materiales de Campo

- CMT (mastitis test California)
- Paleta de CMT
- Viales de vidrio
- Alcohol medicinal
- Algodón
- Papel toalla
- Lápiz marcador
- Cinta maskintape
- Caja de tecknopor
- Jabón

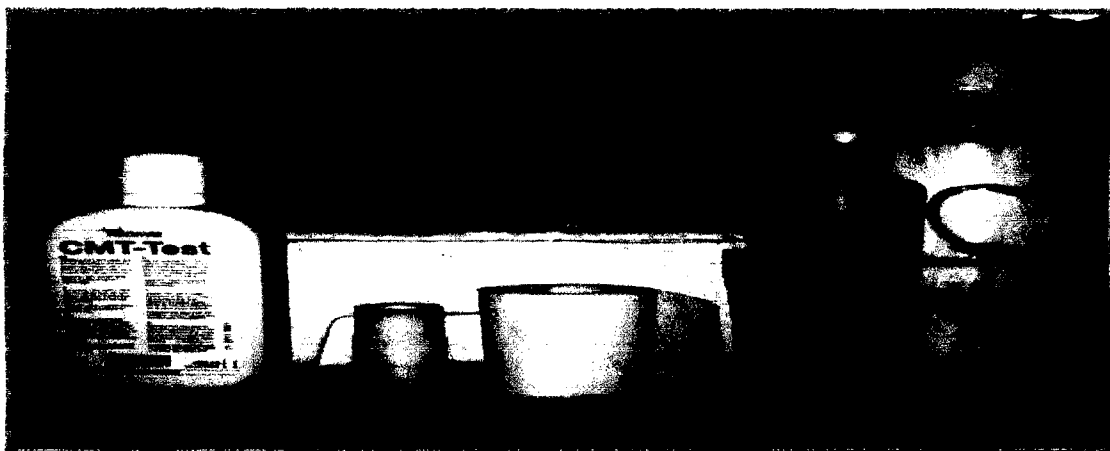


Foto 07 Materiales de Campo.

2.3. ANIMALES.

Para realizar el presente trabajo se han utilizado 347 vacas en producción aparentemente normales, distribuidas en 65 rebaños de las comunidades de: Cusibamba, Satica, Munaypata, Unión Paqchaq, Allpachaka, Manzanayocc, que forman parte de la microcuenca Allpachaka.

Cuadro 2.1. Distribución de los animales estudiados, según comunidades.
Abril – Agosto de 2008

Comunidades	Nº de rebaños	Nº de Animales
Cusibamba	9	78
Satica	15	73
Munaypata	12	60
Unión Paqchaq	8	30
Allpachaka	12	70
Manzanayocc	9	36
Total	65	347

Estas vacas son alimentadas a base de forraje verde de pasto cultivado asociado (Trebol, reygras, dactyles), incluido heno de avena y son en mayoría de la raza Brown swis y cruzados mejorados, edades, meses de lactación y número de partos, todos aparentemente sin ningún síntoma clínico. El ordeño de estos animales es una sola vez por día en un 100% de forma manual, siendo las condiciones sanitarias de los rebaños, manejo e higiene poco aceptables.



Foto 08 Vacas en pastoreo; comunidad de Cusibamba.

2.4. MUESTRAS.

Del total de 1388 cuartos mamarios, 26 se encontraban atrofiados, de los restantes 1362 productivos se logro realizar el análisis de muestras de leche. Se tomaron cuatro muestras de leche por vaca (una por cada cuarto) con las que se realizaron las pruebas de mastitis y los cultivos microbiológicos respectivos.

2.5. METODOLOGIA DE CAMPO

2.5.1. Diagnostico de mastitis subclínica en rebaño por prueba de CMT

El diagnostico de mastitis subclínica se realizó mediante la prueba de California Mastitis test (CMT) a todos los animales en estudio para determinar la cantidad de animales afectados.

Para desarrollar esta prueba se siguió el siguiente procedimiento:

- a) La toma de muestra se llevó acabo en el rebaño en las primeras horas de la mañana, antes que se realice el ordeño, en algunos casos inmediatamente después del estímulo para el ordeño.
- b) Se descartaron los dos primeros chorros de leche de cada cuarto y los terceros se aplicaron en el lugar correspondiente de la paleta.
- c) Se inclinó la paleta para eliminar el exceso de leche de cada compartimiento, logrando así que cada uno tenga el mismo volumen de leche, que debe de ser de más o menos dos mililitros de leche.
- d) Inmediatamente se procedió a aplicar el reactivo de CMT para cada porción de leche, en proporción de uno a uno.
- e) Se realizó movimientos rotatorios suaves para homogenizar la solución.
- f) La lectura se hizo mediante observación directa inmediatamente después del paso anterior, clasificando las muestras de la siguiente manera como se muestra en el cuadro N° 1



Foto 09 Diagnostico de prevalencia de Mastitis Subclínica.

2.5.2 Envío de muestras

Las muestras de leche para cultivos microbiológicos fueron tomadas de aquellas vacas que resultaron positivos al CMT según la técnica siguiente:

- a) Los pezones fueron lavados con agua y jabón hasta quedar sin restos de heces o cualquier otro material contaminante.
- b) Luego se desinfectaron con algodón y alcohol.
- c) Se descartaron los dos primeros chorros de leche y el siguiente fue depositado en un frasco previamente esterilizado. Se utilizaron cuatro frascos por animal, uno por cuarto.
- d) Las muestras de leche fueron inmediatamente conservadas en una caja de tecnopor acondicionada de 3° a 5° C, luego transportadas al Laboratorio de Microbiología e Inmunología de la EFP de Medicina Veterinaria – UNSCH, para el cultivo correspondiente y su respectiva tipificación de las bacterias.

2.6. MÉTODO BACTERIOLOGICO

2.6.1.- Aislamiento de microorganismos.

a. Cultivo de las muestras

Las muestras de leche obtenida de las vacas positivas al CMT se procedió a realizar el cultivo en placas de Agar sangre, Mac Conkey, Sabourond, Agar Bair Parker, Agar TSA, Agar Manitol Salado, Agar Estreptococo, siendo sembrados por la técnica de agotamiento en estrias luego se llevó a la incubadora a 37 °C con un tiempo de 24 – 48 horas.

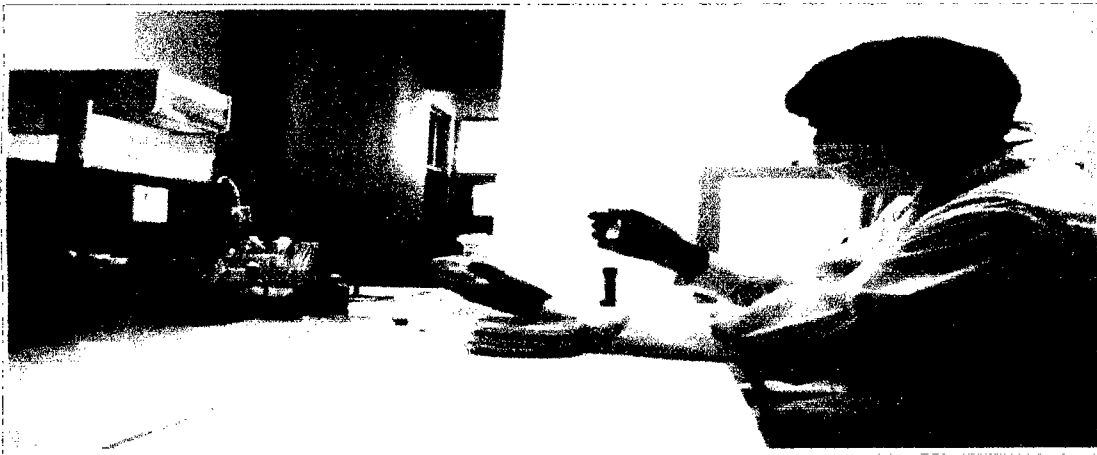


Foto 10 cultivo microbiológico a partir de muestra de leche con mastitis subclínica.

b. Lectura de Cultivo.

Se caracterizo las particularidades de cada colonia al cabo de las 24 horas como la cantidad, tamaño, forma, bordes, superficie, elevación y luego se procedió a realizar la coloración de Gram, para observar en el microscopio y determinar si es Gram (+) ó Gram (-), y las clases de agrupación de las bacterias.

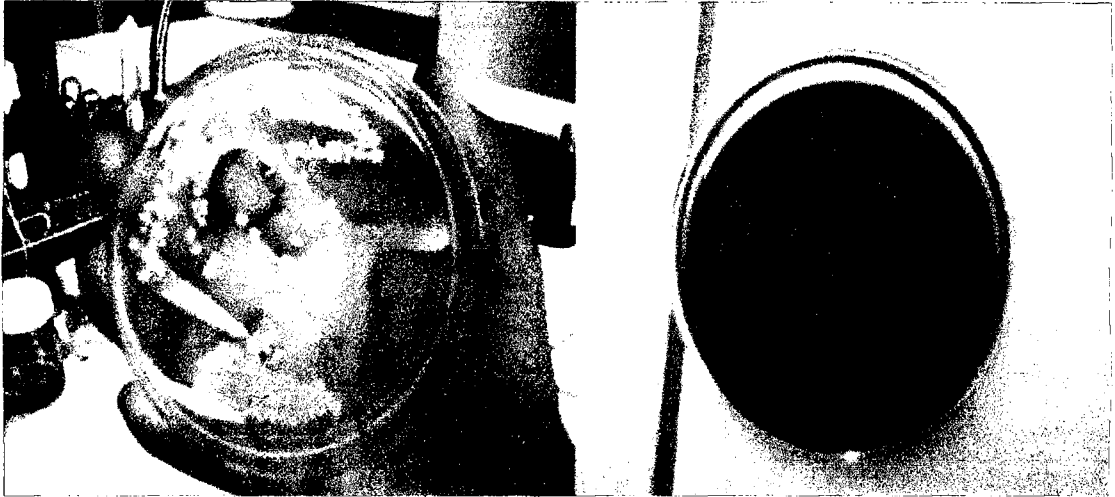


Foto 11 Lectura de cultivo microbiológico donde se aprecia las características culturales de los microorganismos causantes de Mastitis Subclínica bovina.

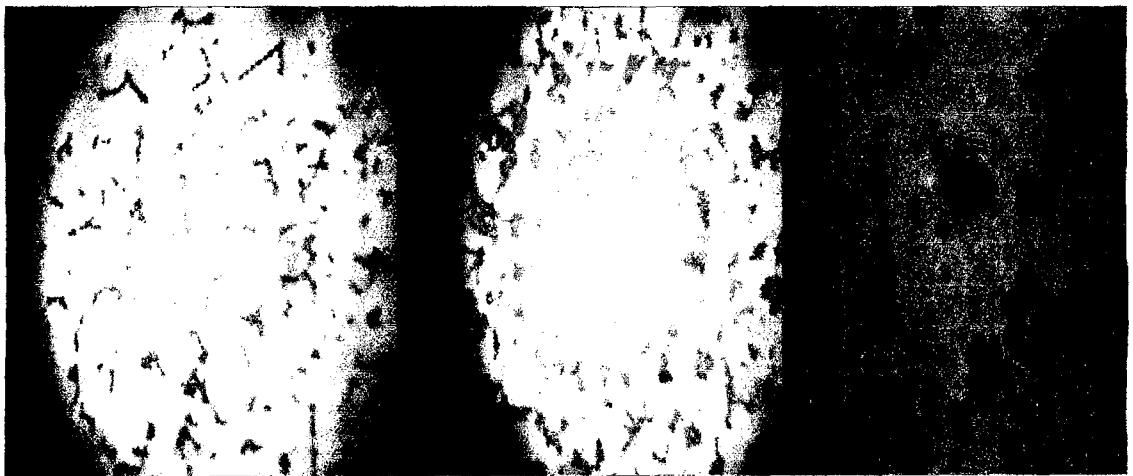


Foto 12 Observación microscópica a 100 X, donde se identifica características de agrupación de *Streptococcus* en el lado izquierdo, *Staphylococcus* en el centro y *Levaduras* al lado derecho.

Para el examen microbiológico se utilizaron los medios de cultivo siguientes:

- **Agar Sangre**

Es un medio enriquecido que posee como principal componente a la sangre. Permite el crecimiento y aislamiento de microorganismos exigentes. También permite evidenciar la acción lítica que tiene las toxinas bacterianas (hemolisina) frente a los glóbulos rojos, con la consecuente liberación de hemoglobina al medio. En este medio desarrollan casi todas las bacterias heterótrofas, y se aprecia la hemólisis alfa o beta. (Agurto, 2004)

- **Agar Bair Parker**

Está indicado para el aislamiento y recuento de *Staphylococcus coagulasa* positivo; pueden desarrollar también los *Bacillus* y micrococos.

Las colonias de *staphylococcus aureus* son circulares, cremoso, convexo, de borde liso y con precipitado negro en toda las colonias y un halo transparente a su alrededor.

Los *Bacillus* forman colonias grandes, irregulares, granulados y la coloración gram son *Bacillus* gram positivos; los micrococos aparecen de coloración marrón, circulares muy pequeñas, sin zonas claras a su alrededor. (Agurto, 2004)

- **Agar Mc Conkey:**

Medio selectivo para el aislamiento de enterobacterias. Las sales biliares y el violeta de cristal inhiben considerablemente la flora Gram positiva, ya que se mezclan con la pared y membrana celular impidiendo su desarrollo. La lactosa, junto con el indicador de pH rojo neutro, sirve para la comprobación de la degradación de dicho azúcar.

El desarrollo de las colonias se leerá entre las 18 y 24 horas posteriores a la siembra, *Salmonella*, *Shigella* y otros, presentan incoloras; *E. coli* colonias grandes, rojas y con un halo turbio; los *Enterobacter* y *Klebsiella* colonias grandes, rosadas y mucosas. Agurto (2004)

- **Agar Trypticase Soya**

Medio selectivo para el aislamiento de *Corynebacterium*, *Candida albicans*, *Listeria* y *Streptococos*. Agurto (1989).

- **Agar Manitol Salado**

La elevada concentración de sal en este medio le da la característica de selectividad para *Staphylococcus*, pues suprime el crecimiento de otras bacterias con la excepción de algunos microorganismos halófilos; la degradación del manitol con la consecuente producción de ácido se comprueba por el viraje del indicador de pH.

- **Agar Sabouraud**

Medio de cultivo recomendable para el cultivo y aislamiento de hongos ambientales, dermatofitos, levaduriformes; este medio es rico en carbohidratos por la necesidad metabólica que requieren estos microorganismos para su crecimiento. En la colonia desarrollan muchas especies de hongos, como los *Apergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Rhodotorula*. Agurto, (1989)

2.6.2.- Pruebas Bioquímicas.

a) Prueba de Catalasa.

La catalasa es una enzima que se encuentra en la mayoría de los microorganismos aerobios facultativos que contienen citocromo.

El peroxido de hidrogeno es un producto final de la degradación aeróbica oxidativa de los hidratos de carbono.

La catalasa actúa sobre el peroxido de hidrogeno descomponiéndolo en agua y oxígeno gas. Si se acumulase el peroxido de hidrogeno en los microorganismos estos morirían, por ello es fundamental la presencia de la catalasa en los microorganismos. Esta prueba se aplica para la diferenciación de:

- *Streptococcus* (-) de *Staphylococcus* (+) y *Micrococcus* (+)
- *Bacillus* (+) de *Clostridium* (-)
- *Listeria monocytogenes* (+) de *Erysipelothris* (-)

Se fundamenta al poner en contacto el microorganismo problema con el peróxido de hidrógeno. Si el microorganismo tiene la enzima catalasa se formará gas O_2 al reducir la catalasa el peróxido de hidrógeno.

Los resultados se interpretan de la siguiente forma:

Catalasa +: formación de burbujas de oxígeno inmediatamente.

Catalasa -: no aparecen burbujas.

Se podrían observar falsos resultados positivos si se utilizan medios de cultivo con agar sangre u otros que lleven hematíes, pues estos medios contienen catalasa. Granados, (1997)

b). Prueba de Coagulasa.

La coagulasa es una enzima producida por algunos microorganismos capaz de coagular el plasma; esta prueba se realiza para diferenciar el *Staphylococcus aureus*, *St. Intermedius*, *St. hyicus* de otros *Staphylococcus coagulasa-* negativos.

Esta prueba se fundamenta en observar la coagulación del plasma por acción de la coagulasa al poner en contacto el microorganismo problema con el plasma.

Los resultados se interpretan de la siguiente forma:

- Prueba positiva, coagulasa positiva +: formación de coágulo.
- Prueba negativa, coagulasa negativa -: no se forma coágulo. (Granados, 1997)

2.7. Análisis estadístico

Se utilizaron fichas y encuestas para cada rebaño con la finalidad de realizar el trabajo en forma ordenada y así efectuar todas las anotaciones que se consideran convenientes, como fueron: sistema de manejo, raza, edad, meses de lactación, número de partos y distribución anatómica de los cuartos mamarios, así como las condiciones higiénicas de los animales y los ordeñadores. Realizándose el análisis estadístico mediante la prueba de Chi cuadrado y estadística descriptiva.

- Prueba de independencia y pruebas de ajuste utilizando Chi cuadrado

Prueba de bondad de ajuste

$$X^2 = \sum \frac{(o_i - e_i)^2}{e_i}$$

Pruebas de independencia

$$X^2 = \sum \frac{(o_{ij} - e_{ij})^2}{e_{ij}}$$

- Estadística descriptiva : Frecuencias relativas porcentuales

$$\text{Prevalencia (\%)} = \frac{\text{Nº de animales que resultaron positivo}}{\text{Total de animales en estudio}} \times 100$$

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA BOVINA EN LA MICROCUENCA ALLPACHAKA.

Como resultado del estudio de 347 vacas en producción en las comunidades de Cusibamba, Satica, Munaypata, Unión Paqchaq, Allpachaka y Manzanayocc, pertenecientes a la microcuenca Allpachaka se encontraron los siguientes resultados, que a continuación se muestra en el cuadro 3.1.

Cuadro 3.1. Prevalencia de mastitis subclínica bovina en las comunidades de la Microcuenca Allpachaka. 2008

Comunidades	Nº Vacas	Negativos		Positivos	
		Nº	%	Nº	%
Cusibamba	78	35	44.87	43	55.13
Satica	73	54	73.97	19	26.03
Munaypata	60	46	76.67	14	23.33
Unión Paqchaq	30	24	80	6	20
Allpachaka	70	50	71.43	20	28.57
Manzanayocc	36	23	63.89	13	36.11
Total	347	232	66.86	115	33.14

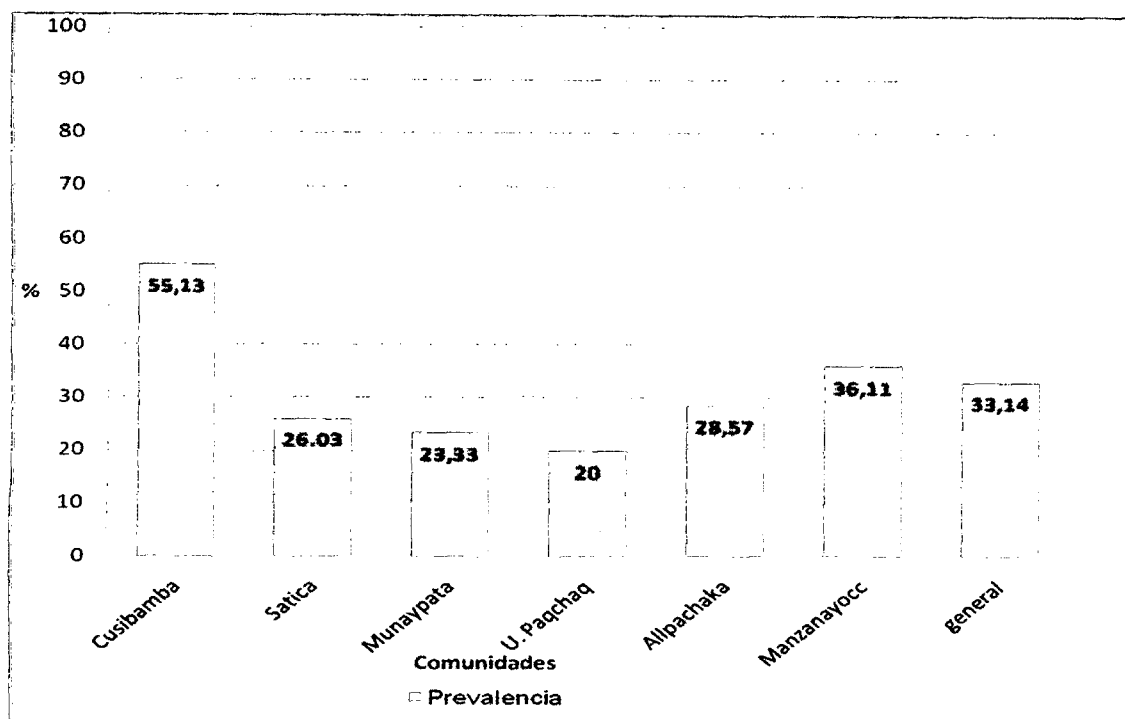


Fig 3.1 Prevalencia de Mastitis subclínica Bovina en las Comunidades de la Microcuenca Allpachaka. 2008

En el cuadro 3.1 se observa los resultados de las 347 vacas evaluadas en la Microcuenca Allpachaka, 232 estuvieron normales (66.85 %); 115 presentaron mastitis subclínica (prevalencia= 33.14%); siendo la comunidad de Cusibamba con mayor número de animales afectados (55.13 %), seguidos de la comunidad de Manzanayocc (36.11 %); Allpachaka (28.57 %), Satica (26.03 %), Munaypata (23.33 %), y Unión Paqchaq (20.0 %); al análisis estadístico se demostró que no existe diferencias significativas entre las comunidades de Satica, Munaypata, Unión Paqchaq, Allpachaka y Manzanayocc; sin embargo, se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) de las comunidades mencionadas anteriormente con la comunidad de Cusibamba, lo que indica que la respuesta observada responde a la existencia de mastitis, que podría ser principalmente de origen infeccioso. La comunidad de Cusibamba mostró un índice mayor de prevalencia de mastitis subclínica a comparación de las otras comunidades estudiadas; la presencia de la mastitis subclínica en las comunidades pudo estar relacionado al inadecuado rutina de ordeño (cuadro 3.4), además de otros factores como la falta de experiencia de los propietarios y pastores en el manejo de ganado vacuno lechero, así como la

insuficiente higiene de los corrales, lugares de ordeño, dormideros y malos hábitos del ordeñador, donde estos factores son influyentes en la presentación de la mastitis bovina.

Al análisis general de prevalencia de la Microcuenca Allpachaka (Gráfico 3.1) se reportó el 33.14% de prevalencia de mastitis subclínica. Al comparar los resultados obtenidos en el presente trabajo con otras investigaciones de prevalencia; en términos generales son algo similares a lo reportado por ÑACCHA (2004), quien indica que la prevalencia en la unidad experimental de Allpachaka es de 35.53 %. Sin embargo los valores de prevalencia mas altos son los reportados por FLORES (1976), para la cuenca lechera del sur de un 42.71 %; ABAD (2003), en las comunidades del distrito de Huanta – Ayacucho, encontró una prevalencia de 62.5 %; HAYTARA (2004) al evaluar 200 vacas de la raza Brown Swiss, en cuatro sectores del distrito de Ñuñoa – Puno, encontró una prevalencia de 47.50 %; DUEÑAS (2007), en una investigación realizada de prevalencia de mastitis subclínica y niveles de sólidos totales en la irrigación Majes, sección B2 – Arequipa, en una población de 52 vacas de la raza Holstein, reporta una prevalencia de 40.38 %; así mismo ARANA (1992) para el establo de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Mayor de San Marcos – Lima, reporta una prevalencia de 74.35%. Estas diferencias se debe a que los animales son criados en diferentes sistemas de crianza, además los datos reportados son de lugares diferentes tanto en altitud, clima, tipo de diagnostico y época, alimentación y condiciones medio ambientales.

Por otro lado el valor encontrado en la investigación es mayor, frente a los resultados de investigaciones reportados por CORDOVA Y ARAUCO (1987), quien para el centro experimental de Allpachaka (crianza extensiva) - Ayacucho encontró una prevalencia de 25.51%; TINTAYA (1975), para el Valle del Mantaro reporta una prevalencia de 25 %; CCOYA (2005), en un estudio de 200 vacas, mediante la prueba de Whiteside y California Mastitis Test (CMT) en la cuenca lechera de Huanacomarca-Sora del distrito de Umachiri provincia de Melgar-Puno, encuentra una prevalencia de 26 % y 19 % respectivamente para cada prueba realizada. Estas diferencias posiblemente se deba a que los criadores de la Microcuenca Allpachaka estén recientemente incursionando en la crianza de ganado vacuno lechero, las

cuales aun no tienen una adecuada orientación o información acerca de las enfermedades como la mastitis subclínica y las medidas preventivas a realizar para su control, como una buena practica de ordeño, además de la falta de cultura ganadera que posee el criador. Mientras que en los lugares donde se reportó menores valores, ya tienen un mejor manejo en rutina de ordeño, así el estudio realizado por CORDOVA Y ARAUCAO (1987), que corresponde a un centro experimental de la Universidad de Huamanga que tiene una relativa eficiencia en el manejo, igualmente lo reportado por CCOYA (2005), son establos lecheros de la provincia de Melgar, con mayor experiencia en el manejo de ganado vacuno lechero y producción de leche, por lo que sus prevalencias son relativamente bajas, además de que los estudios son realizados en diferentes realidades.

Cuadro 3.2. Prevalencia de mastitis subclínica según cuartos mamarios afectados, en la Microcuenca Allpachaka 2008.

Comunidades	N° de Cuartos	Cuartos Negativos		Cuartos Positivos		Cuartos Atrofiados	
		N°	%	N°	%	N°	%
Cusibamba	312	234	75.00	70	22.44	8	2.56
Satica	292	257	88.01	28	9.59	7	2.40
Munaypata	240	216	90.00	22	9.17	2	0.83
Unión Paqchaq	120	109	90.83	9	7.50	2	1.67
Allpachaka	280	254	90.71	22	7.86	4	1.43
Mansanayocc	144	123	85.42	18	12.5	3	2.08
General	1388	1193	85.95	169	12.18	26	1.87

De los resultados mostrados en el cuadro 3.2, se aprecia que del 1388 cuartos mamarios evaluados, 1193 resultaron normales (85.95%), 169 presentaron mastitis subclínica (prevalencia = 12.18 %) y 26 cuartos mamarios se hallaron atrofiados (1.87%). La prevalencia de mastitis subclínica determinada por cuartos mamarios, reflejó diferencias significativas ($p<0.05$) entre la comunidad de Cusibamba con el resto de las comunidades y no habiendo diferencias entre las comunidades de Satica,

Munaypata, U. Paqchaq, Allpachaka y Manzanayocc, mostrándose casi uniforme en la presentación de esta enfermedad, esto puede deberse a la falta de higiene, tanto en el ordeño como en los dormideros de los rebaños. Comparando los resultados de la investigación con el de TINTAYA (1975), para el valle del Mantaro quien reporta una prevalencia de 9.7 %, así como también CORDOVA Y ARAUCO (1987), en una investigación de dos sistemas de producción extensivo e intensivo, reportó para el centro experimental de Allpachaka (tipo extensivo) una prevalencia de 9.44 %, mientras para el centro experimental de Wayllpampa (tipo intensivo) determino una prevalencia de 31.82 %, siendo mayor con respecto al de tipo extensivo como también al resultado de la investigación; por otro lado los resultado de la investigación son inferiores a los encontrados por ARANA (1992), en el establo de la Facultad de Veterinaria de San Marcos – Lima, quien reporta una prevalencia de 74.35 %; ARMENTEROS et al (2002), en rebaños de lechería de Cuba, reporta una prevalencia de 45.1 %; así como también FARIA et al (2005), encontró una prevalencia de mastitis subclínica en el estado Zulia, según resultados de CMT, en cuartos de ordeño manual 72 % y para ordeño mecánico de 70 %, estos resultados altos se deben a que los animales son criados en estabulación permanente, con mayor riesgo de accidentes (pisotones, corneo, etc), siendo mayor el foco de infección, a comparación de los bajos porcentajes de cuartos positivos hallados en la investigación, debiéndose a que el sistema de crianza es de tipo extensivo sin mucha presión de producción, donde el animal se encuentra en un ambiente libre al pastoreo, con poca posibilidad de contaminación de las glándulas mamarias.

El 1.87 % de cuartos atrofiados pueden ser elevados si tenemos en cuenta el impacto económico de este tipo de mastitis sobre los rendimientos productivos y la calidad de la leche destinada para el procesamiento, debido al grado de afección del parénquima mamario, que disminuye considerablemente la producción de leche y constituyen fuentes de infección para la diseminación de los patógenos contagiosos.

La investigación corrobora la existencia de animales afectados con mastitis y una alta prevalencia de *Staphylococcus aureus* (cuadro 3.10), que producen daños irreversibles cuando no se trata o se realiza de forma inadecuada; de este modo se demuestran la necesidad de la practica sistemática de las medidas de control de mastitis.

Cuadro 3.3. Mastitis subclínica bovina según número de cuartos positivos al CMT en la Microcuenca Allpachaka 2008.

Comunidad	N° De Vacas Positivos al CMT	N° De Vacas Por Cuartos Mamarios			
		1/4	2/4	3/4	4/4
Cusibamba	43	23	14	4	2
Satica	19	11	7	1	0
Munaypata	14	8	4	2	0
Unión Paqchaq	6	4	1	1	0
Allpachaka	20	18	2	0	0
Mansanayocc	13	9	3	1	0
Total	115	73	31	9	2
Porcentaje (%)	100	63.48	26.96	7.83	1.74

En el cuadro 3.3, se muestra los resultados obtenidos según el número de cuartos mamarios afectados, donde se observa que el 63.48 % de vacas se encuentran afectadas con un cuarto mamario, el 26.96 % con dos cuartos, el 7.83 % con tres cuartos, y el 1.74 % de vacas con cuatro cuartos mamarios. Los resultados de la investigación se asemejan al reporte de TINTAYA (1975), en el Valle del Mantaro, donde el 59.2 % de vacas fueron positivas a un cuarto, 25.5 % a dos cuartos, 11.2 % a tres cuartos, y 4.1 % con cuatro cuartos positivos; así mismo CORDOVA Y ARAUCO (1987), en el C.E. de Allpachaka determino que el 64.29 % fueron positivas a un cuarto, 21.43 % a dos cuartos, 7.14 % a tres y cuatro cuarto mamarios, Pero en la misma investigación halló lo contrario para el C.E. de Wayllapampa en un sistema de crianza estabulada, obteniendo los siguientes resultados: 16.67 % de vacas positivas a un cuarto mamario, 33.33 % a dos cuartos, 16.67 % a tres cuartos y 33.33 % a cuatro cuartos mamarios, coincidiendo ambos estudios que el alto porcentaje de vacas con un cuarto mamario afectado puedan deberse al mal procedimiento de ordeño, falta de higiene y o traumas en la glándula mamaria. Por otro lado ABAD (2003), en el distrito de Huanta encontró que el 7.04 % de vacas presentaron afección a un cuarto mamario, 11.21 % en dos cuartos, 25.35 % en tres cuartos y 56.40 % resultaron positivas en cuatro cuartos

mamarios, resultados que atribuye a que la proporción de cuartos afectados aumentan según el número de lactaciones del animal, además de los animales con tres y cuatro cuartos mamarios afectados son mas propensos a sufrir proceso de mastitis clínica por estar casi en su totalidad de cuartos afectados y por la cantidad excesiva de gérmenes patógeno existentes.

Los resultados de la investigación muestra un porcentaje mínimo de animales con tres y cuatro cuartos positivos, existiendo en un mayor porcentaje (63.48 %) vacas con un cuarto mamario afectado, este puede deberse a que la existencia de vacas afectadas con mas de un cuarto mamario son las fuentes de contagio hacia otras vacas, por la falta de detección temprana de animales con mastitis subclínica en el rebaño.

3.2. PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA BOVINA, SEGÚN CONDICIONES DE ORDEÑO.

Como resultado del estudio de 65 rebaños en total distribuidas en las comunidades de Cusibamba, Satica, Munaypata, U. Paqchaq, Allpachaka y Manzanayocc, pertenecientes a la microcuenca Allpachaka se encontraron los siguientes resultados, que a continuación se muestra en el cuadro 3.4 y 3.5.

Cuadro 3.4. Resultado del análisis del cumplimiento de la rutina de ordeño en rebaños de la Microcuenca Allpachaka.

Comunidad	N° de Rebaños con parámetros de ordeño Adecuado		N° de Rebaños con parámetros de ordeño Poco adecuado		N° de Rebaños con parámetros de ordeño No adecuado	
	N°	%	N°	%	N°	%
Cusibamba	0	0.00	5	55.56	4	44.44
Satica	1	6.67	8	53.33	6	40.00
Munaypata	1	8.33	9	75	2	16.67
Unión Paqchaq	1	12.50	7	87.5	0	0.00
Allpachaka	1	8.33	8	66.67	3	25.00
Mansanayocc	0	0.00	9	100	0	0.00
General	4	6.15	46	70.77	15	23.08

- Adecuada: 5 a 8 actividades de rutina de ordeño (anexo 02)
- Poco adecuada: 3 a 4 actividades de rutina de ordeño (anexo 02)
- No adecuada: 0 a 2 actividades de rutina de ordeño (anexo 02)

Cuadro 3.5. Prevalencia de mastitis subclínica bovina determinada por CMT, según rutina de ordeño en la Microcuenca Allpachaka.

Rutina de Ordeño	N° de Rebaños	Animales Positivos	Total de Animales	Prevalencia de MSC (%)
Adecuada*	4	5	21	23.81
Poco adecuada	46	78	233	33.48
No Adecuada	15	32	93	34.41

* Solo se cumplió 5 actividades de rutina de ordeño de los 8 descritos (anexo 2).
MSC: Mastitis subclínica

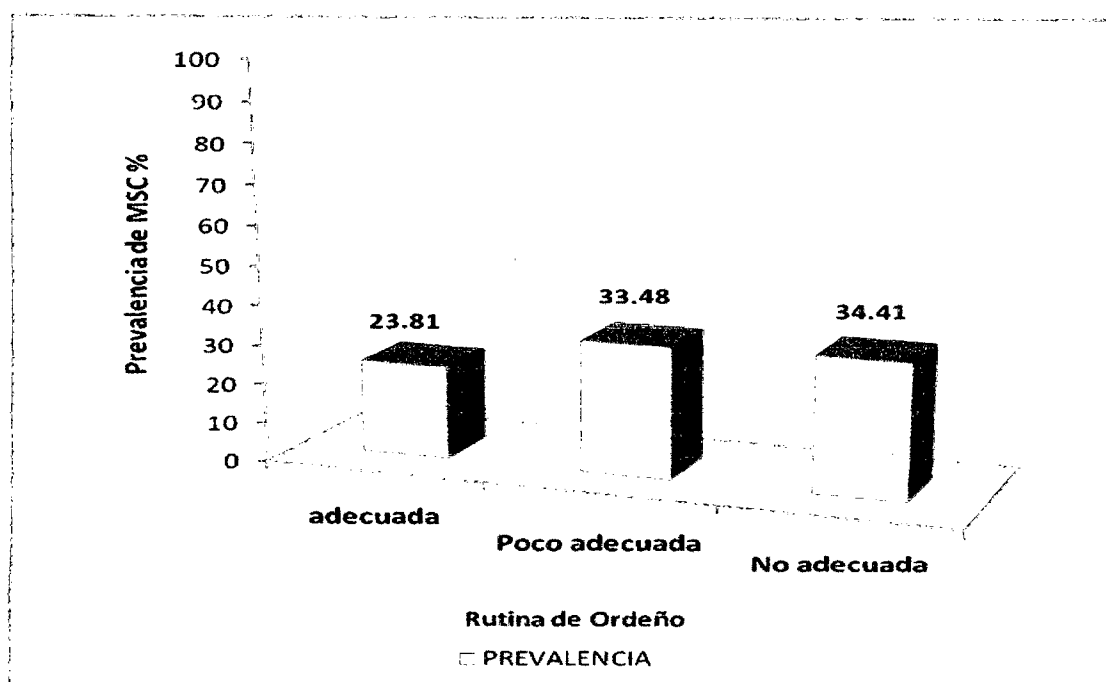


Fig. 3.2 Prevalencia de mastitis subclínica según tipo de ordeño en la Microcuenca Allpachaka.

Los resultados obtenidos indican porcentajes y prevalencia relativamente incrementadas de mastitis subclínica cuando se incumplen las actividades de la rutina de ordeño. Como podemos apreciar en el cuadro 3.4. Hay un número elevado de rebaños que realizan actividades de rutina de ordeño incompleto, las cuales conllevan a la existencia de animales afectados con mastitis subclínica; en el cuadro 3.5, se aprecia una prevalencia de 23.81 % cuando la rutina de ordeños es adecuada, esta presencia se podría deber a factores individuales del animal, atribuyéndose a la conformación de las ubres y pezones, además por no aplicar correctamente las actividades de rutina de ordeño y factores ambientales por lo que en el estudio realizado lo adecuado se considera de 5 a 8 actividades de rutina de ordeño pero en este caso los rebaños estudiados solo cumplen como máximo cinco actividades (anexo n° 02) e ahí la presencia y persistencia de mastitis subclínica; por otro lado cuando la rutina de ordeño es incompleto como lo poco adecuado y no adecuada la prevalencia es de 33.48 % y 34.41 % respectivamente, lo que quiere decir que el factor de la rutina de ordeño tiene un efecto considerable en la presentación de la mastitis subclínica.

FLORES (1975), en la cuenca lechera del sur en su investigación realizada, determino que las condiciones de manejo, sobre todo el mal manejo de ordeño, son las que contribuyen al crecimiento progresivo de la mastitis bovina. Así mismo en otro estudio extranjero realizado por ARMENTEROS et al (2002), al evaluar el estado clínico y microbiológico de la ubre en vacas lecheras de 56 rebaños de la región occidental y central de Cuba, determinó una prevalencia de 90.9 % cuando la rutina de ordeño es inadecuada, mientras el 45.2 % cuando la rutina de ordeño es adecuada mostrando una diferencia significativa.

Todos los autores mencionan que el factor de la mala rutina de ordeño tiene un efecto contribuyente en la presentación de mastitis subclínica, por que ellos encontraron mayor porcentaje de prevalencia cuando hay una inadecuada rutina de ordeño; por lo que se puede mencionar que la mastitis afecta a rebaños y animales que son mal manejados sobre todo en el ordeño. Así mismo podemos ver en la investigación una prevalencia de mastitis relativamente alto cuando no se cumple adecuadamente la rutina de ordeño; sin embargo las medidas higiénicas, especialmente durante el proceso de ordeña, básicamente lavado de ubres y pezones previo a la ordeña y desinfección de pezones post ordeño, junto con la terapia de secado y la eliminación de animales con infecciones crónicas, pueden reducir la prevalencia de mastitis en un 50 % en un año y mas de un 70 % en tres años (Kingwill y Col., 1970; Wilson y Kingwill, 1975), citado por KRUZE, (1998).

3.3. PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA BOVINA SEGÚN DISTRIBUCIÓN ANATÓMICA DE CUARTOS MAMARIOS.

La prevalencia de mastitis subclínica en 1388 cuartos mamarios evaluados en vacas de producción de las diferentes comunidades de la microcuenca Allpachaka se presenta en el cuadro 3.6.

Cuadro 3.6. Prevalencia de Mastitis subclínica bovina según distribución anatómica de cuartos mamarios, en la Microcuenca Allpachaka 2008.

Cuartos Mamarios	Número de Cuartos	Número de Cuartos Positivos	Porcentaje de Positivo (%)
A D	339	33	9.73
A I	342	40	11.70
P D	341	53	15.54
P I	340	43	12.65
Total	1362	169	

En el cuadro 3.6, se observa que los cuartos mamarios posterior derecho e izquierdo son los más afectados con una prevalencia de 15.54 % y 12.65 % respectivamente; los menos afectados son los cuartos mamarios anterior derecho e izquierdo con 9.73 % y 11.70 %, respectivamente; estos valores no muestra diferencias significativa ($p>0.05$) de la mastitis subclínica con respecto a la ubicación de los cuartos mamarios; lo que nos indica que los cuatro cuartos mamarios están predispuestos a adquirir infección a mastitis subclínica a causa de factores predisponentes como el mantenimiento de las vacas en corrales con deficiente limpieza e higiene, el contacto de los pezones con el suelo después del ordeño, deficiente higiene antes, durante y después del ordeño, la costumbre de los ordeñadores de humedecer los pezones con la leche de la misma vaca o de la vaca anterior ordeñada, la falta de habito de lavarse las manos del ordeñador y la

deficiente higiene de los utensilios. Por otro lado los pezones posteriores son un poco mas propensos a contraer infección a consecuencia de su ubicación y volumen de leche que contiene, además están más expuestas a traumas y mayor dificultad para el ordeño manual.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo son inferiores con lo reportado por, HAYTARA (2004). Quien indica para el cuarto mamario anterior derecho 41.0 %, anterior izquierdo 39.0 %, posterior derecho 40.50 % y posterior izquierdo 39.50 %; ABAD (2004), menciona haber encontrado para el cuarto mamario anterior derecho 26.8 %, anterior izquierdo 25.4 %, y posterior derecho 23.9%, posterior izquierdo 23.9 %; por otro lado CCOYA (2005), reporta resultados algo similares de lo encontrado en el presente trabajo, obteniendo una prevalencia de 13.5 % para el cuarto mamario anterior izquierdo, anterior derecho 6.5%, posterior izquierdo 12% y posterior derecho 9.5% para la prueba de Whiteside y para el método de CMT se obtuvo porcentajes mas bajos para los cuartos mamarios anteriores derechos 4.0 %, anterior izquierdo 7.0 %, y para ambos cuartos posteriores derecho e izquierdo 7.5 %, observándose que cualquiera de los cuartos están predispuestos a adquirir la infección a mastitis subclínica, debido probablemente a las deficiencias de limpieza e higiene en el proceso de ordeño y así mismo la técnica aplicada en el ordeño.

Todos los autores coinciden que la mastitis subclínica no tiene preferencia por alguno de los cuartos mamarios, por que no encontraron amplias variaciones entre cuartos de la glándula mamaria. Así mismo se observa en el presente trabajo los cuartos posteriores derecho e izquierdo tienen valores superiores que los cuartos anteriores derecho e izquierdo, pero que estadísticamente no reflejan diferencias, esto posiblemente se deba a la falta suficiente de higiene durante el ordeño, mayor cantidad de producción de leche ó a la mayor tracción mecánica que ejerce el ordeñador.

3.4. PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA BOVINA SEGÚN NÚMERO DE PARTOS.

La prevalencia de mastitis subclínica, por efecto de número de partos en 347 vacas en producción de la microcuenca Allpachaka se muestra en el cuadro 3.7.

Cuadro 3.7. Mastitis subclínica bovina, distribuidas según número de partos, en la Microcuenca Allpachaka 2008.

Nº De partos	Nº Total De Vacas	Nº De Vacas Positivas al CMT	Prevalencia de MSC %
1	81	10	12.35
2	79	30	37.97
3	62	20	32.26
4	53	20	37.74
5 a más	72	35	48.61
Total	347	115	

El número de partos esta estrechamente relacionado con la edad del animal; en el cuadro 3.7 nos muestra que conforme avanza el número de partos aumenta la prevalencia de mastitis subclínica progresivamente hasta llegar al 48.61 % en vacas de 5 a más partos, con una equivalencia aproximado de vacas de 8 a más años de edad, y el menor valor se encuentra en el primer parto con 12.35 % y para el segundo, tercero y cuarto parto aumenta en 37.97 %, 32.26 %, 37.74 % respectivamente de prevalencia, manteniendo similitud en estos números de partos; al realizar la prueba de independencia de CHI cuadrado, se demostró que el número de partos influye positivamente en la mastitis subclínica, es decir a mayor número de partos mayor porcentaje de mastitis, la misma que es significativa ($p > 0.05$), lo que quiere decir que este resultado porcentual puede ser debido al efecto del parto, además este aumento progresivo de la infección puede deberse a que los animales se encuentran mas expuestas a injurias, como también las vacas con mayor número de

partos son vacas adultas y son más propensas a la invasión bacteriana por poseer una inmunidad disminuida por motivos de una mala alimentación por ser de tipo pastoreo sin ninguna suplementación mineral; así mismo el conducto de los pezones se encuentran más dilatadas permitiendo el fácil ingreso a la glándula mamaria de microorganismos productores de mastitis, y por otro lado del mal manejo, la poca sanidad en el ordeño, del medio ambiente, dormideros, etc. REBHUM (1995), menciona que las vacas jóvenes presentan una disminuida susceptibilidad a mastitis por tener un mecanismo de defensa más efectivos como leucocitos más activos que las vacas multíparas; por otro lado WOLTER (2002), menciona que los canales del pezón se dilatan y alargan con el incremento de la edad lactacional de las vacas, además poseen ventajas anatómicas que actúan como barrera a la penetración de las bacterias, estas ventajas son mas efectivas en la primera lactación y tienden a decrecer con el incremento de la edad lactacional, así como también indica el incremento de la incidencia de infecciones de la ubre con la edad.

En otras investigaciones nos dan los siguientes resultados, TINTAYA (1975) en el Valle del Mantaro encontró una prevalencia de mastitis subclínica de 20 %, 27.4 %, 31.4 % para 1 a 2, 3 a 5 y para 6 a 8 ó mas partos respectivamente, notándose que la prevalencia es progresiva a medida que el número de partos aumenta. CORDOVA Y ARAUCO (1987), en un estudio de prevalencia de mastitis subclínica en dos sistemas de producción de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, determinó para vacas al pastoreo en altura (C.E. Allpachaka) una prevalencia de 30 %, 23.88 %, 33.33 % para 1 a 2, 3 a 5 y 6 a 8 ó mas partos respectivamente, mientras para el tipo estabulado (C.E. Wayllapampa), determino una prevalencia de 44.44 %, 58.33 % y 100 % para 1a 2 partos, 3 a 5 partos y 6 a 8 ó mas partos respectivamente; los resultados obtenidos por estos autores se asemejan a los resultados obtenidos en la investigación, con respecto al aumento de la mastitis subclínica a medida que el número de partos aumenta sobre todo la prevalencia es alto en vacas con mayor a cinco partos; la variación del porcentaje de presentación puede ser debido a que los estudios realizados son en diferentes lugares, épocas, sistemas de producción, condiciones sanitarias así como la cantidad de animales evaluados.

Por otro lado los resultados de la investigación son lo contrario frente al reportado por DUEÑAS (2007), en la irrigación Majes sección (B2) de Arequipa determino una prevalencia de 23 % para el primer parto y de 9.52 %, 19.05 %, 14.28 %, 23.81 % y 9.53 % para el segundo, tercero, cuarto, quinto y sexto parto respectivamente, quien indica que entre el número de parto y el porcentaje de mastitis subclínica hay una ligera relación inversa; es decir a mayor número de partos menor porcentaje de mastitis, lo que quiere decir que el resultado porcentual puede ser debido a la casualidad y no a un efecto de parto, además indica que el número de partos influye en mínima cuantía en la presentación de la mastitis y la mayor causa se debe a otros factores como el mal manejo, la poca sanidad de ordeño, del medio ambiente, dormideros, etc.; así mismo HAYTARA (2004). En el distrito de Ñuñoa – Puno, reporta una prevalencia de 50 % para el primer parto, 45.95 % para el segundo, 39.53 %, 41.94 %, y 59.46 % para el tercero, cuarto y quinto respectivamente, donde no existe diferencias significativas, mostrándose algo similar en cada número de parto, en la que sostiene que las vacas están predispuestas a presentar mastitis subclínica en cualquier número de partos; debido a que las vacas están en las mismas condiciones de adquirir la enfermedad. Las diferencias igualmente se atribuyen a distintos lugares de estudio, sistema de producción, raza y medio ambiente diferente.

3.5. PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA BOVINA SEGÚN MESES DE LACTACIÓN

De las 347 vacas evaluadas se consideraron a las vacas que están en producción desde el primer mes de lactación hasta el octavo a más meses de lactación, cuyos resultados obtenidos se muestra en el cuadro 3.8.

Cuadro 3.8. Mastitis subclínica bovina, según meses de lactación en la Microcuenca Allpachaka. 2008.

Meses De Lactación	Total De Vacas	Vacas Positivos	Prevalencia de MSC (%)
1 - 2	105	27	25.71
3 – 4	96	26	27.08
5 – 6	66	34	51.51
7 – 8	44	12	27.27
> 8	36	16	44.44
Total	347	115	

MSC: Mastitis Subclínica

Por otra parte, se debe considerar los efectos de los meses de lactancia en la prevalencia de la forma subclínica de la enfermedad (cuadro 3.8), donde se observa que existe un ligero incremento en el porcentaje de mastitis subclínica conforme avanza los meses de lactación, empezando de 25.71 % para 1 a 2 meses de lactación, 27.08 % para 3 a 4 meses de lactación, 51.51 % para 5 a 6 meses de lactación, 27.27 % para 7 a 8 meses de lactación y 44.44 % para mayor a 8 meses de lactación, notándose un alto porcentaje en los 5 a 6 meses de lactación. Al realizar la prueba estadística de Chi cuadrado ($p < 0.05$), se determino que no existe diferencia significativa entre 1 a 2, 3 a 4, 7 a 8 y > a 8 meses de lactación, pero si una marcada diferencia significativa de estos meses de lactación con la de 5 a 6 meses de lactación con excepción de > 8 meses de lactación que no muestra diferencias significativas. Las diferencias encontradas en estos resultados podríamos atribuir a que las vacas están predispuestas a presentar mastitis subclínica en porcentajes mayores en el

quinto y a mayor de 8 meses de lactación; debido a que los factores predisponentes de la mastitis subclínica podrían ser, las deficientes actividades de higiene antes, durante y post ordeño, las malas condiciones de higiene de los corrales y dormideros, el mal lavado de las manos del ordeñador donde el contagio de una vaca a otra es muy rápida, la carencia de lugares adecuados de ordeño, el mal hábito de no lavar los pezones y /o mal lavados y secados, esto podría estar relacionado directamente con la deficiente capacidad del personal en la prevención de la mastitis subclínica, así mismo las vacas con mas meses de lactación, son las mas afectadas con mastitis, esto por haber estado mas expuestas a los agentes etiológicos. Por otro lado el sistema de manejo usado en la zona, principalmente la alimentación que es de tipo pastoreo deficiente, estaría influenciando a que se presente mayor porcentaje de animales con mastitis subclínica a la etapa de lactación avanzada, debido a que el animal produce leche a la vez en esta etapa se encuentra gestando, necesidades alimenticias que no satisfacen para mantener con las defensas bien activas de las vacas de estas zonas estudiadas, es así donde el animal se encuentra predispuesta para contraer la enfermedad de la mastitis subclínica.

Según WOLTER (2002), menciona que la mayor influencia en la salud de la vaca la tiene la alimentación, además una mala nutrición debida a la deficiencia de energía y proteína tiene un efecto directo sobre la salud de la ubre de la vaca. Si se alimenta una vaca con una deficiencia de energía, así como con un aporte cualitativamente insuficiente de proteína, esto debilita los mecanismos de defensa de la ubre. Entonces esto podría causar que una gran cantidad de agentes patógenos que habitan en el ambiente de la vaca infecten la glándula mamaria; por otro lado las deficiencias de nutrientes como el selenio, vitamina E, caroteno, vitamina A, zinc cobre y cobalto, aumentan la susceptibilidad de la vaca a sufrir mastitis y tiene una estrecha relación con número elevado de células somáticas.

Comparando con otras investigaciones; los resultados obtenidos por TINTAYA (1975) en el valle del Mantaro, es de 20.5 % en los primeros meses de lactación, son casi semejante a lo encontrado en el presente trabajo pero difieren en los meses siguiente de 25 %, 23.7 % y 30.4 % para los mismos periodos; por otro lado HAYTARA (2004) en el distrito de Ñuñoa – Puno reporto valores altos en vacas de

primer mes de lactación 69.57 %, cuarto mes 43.48 % y quinto a mas meses 54.84 %; mientras el segundo y tercero mostraron cifras inferiores de prevalencia, así como también CCOYA (2005) en la cuenca lechera de Huanacomarca – Sora del distrito de Umachiri, encontró en 200 vacas que fueron diagnosticadas a través de la prueba de Whiteside test, reporto para el primer mes de 43.47 %, 39.53 % para el segundo mes, 42.85 % para el tercero, y 10,10 % para el cuarto a mas meses de lactación; mientras para la prueba de diagnostico de California Mastitis test, reporto el mas alto nivel con 25 % a partir de 4 a mas lactaciones, y los valores de 13.04 %, 17.33 %, y 15.78 % que corresponden a la primera, segunda y tercer mes de lactación respectivamente, las diferencias se pueden atribuir a estudios realizados en diferentes regiones, climas, sistemas de producción; pero en general ambos investigadores concuerdan que los factores predisponentes están relacionados a los malos manejos del ordeño, malos hábitos de higiene por parte del personal en el ordeño así mismo de los corrales y la falta de lugares adecuados de ordeño.

Cuadro 3.9. Mastitis subclínica bovina según el grado de reacción de los cuartos mamarios positivos al CMT en la Microcuenca Allpachaka 2008.

Grado de Reacción	Cuartos Positivos al CMT	Porcentaje (%)
Traza	49	28.99
1+	58	34.32
2+	56	33.14
3+	6	3.55
Total	169	100%

En el cuadro 3.9, se muestra los resultados de cuartos mamarios positivos a la prueba de CMT, distribuidas en diferentes grados de reacción, donde se hallo el 28.99 % de cuartos de reacción traza (T), 34.32 % a 1+, 33.14 % a 2+ y solo el 3.55 % de cuartos resulto ser a 3+, los resultados que se muestra entre T, 1+ y 2+, son relativamente semejantes que muestran pocas diferencias entre si, pero sin embargo

se observa un gran margen de diferencia con la reacción a 3+ con respecto a los demás grados de reacción. Este comportamiento de la evaluación de la mastitis es de esperarse, por cuanto la mastitis subclínica de grado traza y 1+, es el inicio de la infección por lo que su incidencia es mayor, condición que si no se detecta y no se controla, pasa a ser mastitis subclínica de grado 2+ y siguiendo la infección hasta el grado de 3+, al parecer estos resultados es a consecuencia del descuido del productor que no realiza los chequeos frecuentes de por lo menos quincenal o mensualmente; por otro lado el grado de reacción guarda una estrecha relación al recuento de células somáticas por ml de leche, observándose de los resultados de la prueba de CMT de grados N, T(indicios), 1+, 2+ y 3+, que equivalen a recuentos celulares promedio de 100000, 300000, 900000, 2700000 y 8100000 respectivamente según BLOOD Y RADOSTITS (1992).

Haciendo una comparación con otras investigaciones así como el de ABAD (2003), en el distrito de Huanta, revela que el 46.5 % reacciona a traza, 30.9 % a 1+, 11.3 % a 2+ y 3+, considera que la reacciones a 3+ están mas propensos a presentar mastitis clínica que posteriormente puede conducir a la atrofia del cuarto mamario afectado, en otro investigación realizado por ARANA (1992), en el establo de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad mayor de San Marcos, comprobó que en los animales de mayor edad reaccionan a la prueba de CMT de 2 a 3 cruces.

El recuento de células somáticas se ha convertido en el índice del nivel de infección, siendo la infección el principal factor que eleva el recuento de células somáticas, además de otros factores que hacen que sea mas elevados en determinadas vacas durante las primeras y las dos ultimas semanas de lactación así como también la edad del animal que hace que la glándula reaccione con niveles altos de leucocitos frente al agente infeccioso; reacciones a 2 y 3+ en el CMT son valores que reflejan la existencia de serios problemas de inflamación de la glándula mamaria y de baja calida de la leche. Por otro lado los recuentos celulares son altos en cuarterones infectadas por *Streptococcus agalactiae*, pero la infección importante y frecuente por *Staphylococcus aureus*, a menudo, se acompaña de recuentos celulares bajos BLOOD Y RADOSTITS (1992); REBHUN (1995); SARAN Y CHAFFER (2000).

Según norma técnica peruana el requisito de niveles máximos de células somáticas por ml de leche, es de 500000, INDECOPI (2007).

De lo obtenido en el trabajo, nos muestra que hay mayor numero de muestras positivas a reacciones de umbrales $< 3+$, lo que nos indicaría subjetivamente que no hay riesgo a contraer mastitis clínica, pero se demuestra que la leche producida no cumple con los requisitos de calidad establecida por las normas técnicas, por otro lado de lo hallado en la investigación se muestra que existe un mayor porcentaje de cuartos mamarios a reacciones de traza, 1+ y 2+ de las muestras al CMT, que según a estos resultados podría estar relacionado a la mastitis subclínica de tipo infeccioso (cuadro 3.10), y identificándose el patógeno mas prevalente *Staphylococcus aureus* que causa recuentos celulares bajos (cuadro 3.10). Esto muestra que se debe dar mayor importancia y dar medidas de control para la corrección inmediata.

3.6. BACTERIAS IDENTIFICADAS EN LA MASTITIS SUBCLÍNICA BOVINA.

Los microorganismos identificados en las 131 muestras de leche, procedentes de las vacas positivas a mastitis subclínica diagnosticada mediante la prueba de California, fueron analizados mediante el método bacteriológico y los resultados se presentan en el cuadro 3.10.

Cuadro 3.10. Agentes microbiológicos identificados de vacas con mastitis subclínica en la Microcuenca Allpachaka 2008.

MICROORGANISMOS	PREVALENCIA (%)							
	Zona 1	Zona 2	Zona 3	Zona 4	Zona 5	Zona 6	Nº Aislamiento General	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	78.95	50.00	94.12	66.67	66.67	69.23	96	73.28
<i>Staphylococcus spp.</i>	5.26	25.00	5.88	33.33	22.22	23.08	18	13.74
<i>Streptococcus agalactiae</i>	12.28	10.00	0.00	0.00	11.11	0.00	11	8.40
<i>Micrococcus spp.</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	7.69	1	0.76
<i>Escherichia coli</i>	0.00	10.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2	1.53
<i>Levadura spp.</i>	3.51	5.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3	2.29
TOTAL							131	

Zona 1: Cusibamba, Zona 2: Satica, Zona 3: Munaypata, Zona 4: U. Paqchaq,
Zona 5: Allpachaka, Zona 6: Manzanayocc.

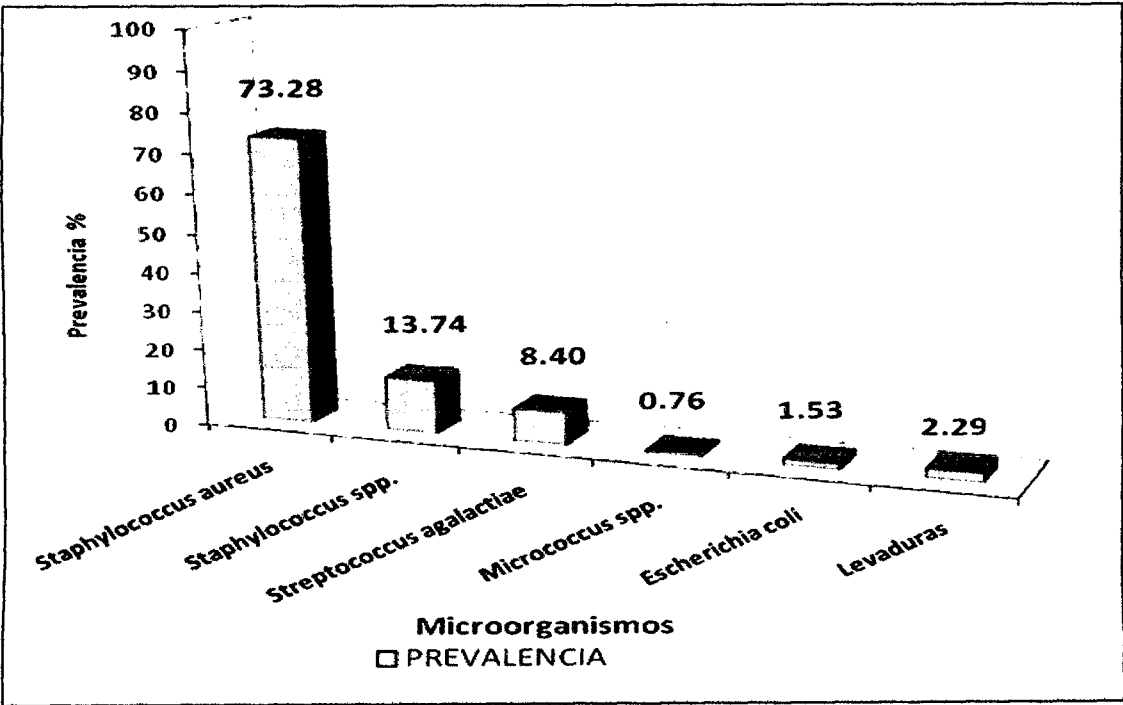


Fig. 3.3 Agentes microbiológicos identificados de vacas con mastitis subclínica en la Microcuenca Allpachaka 2008.

Los resultados que se muestran en el cuadro 3.10, de los agentes microbiológicos, evidenciaron que en las vacas de las comunidades estudiadas de la Microcuenca Allpachaka, son atribuibles a la especie de *Staphylococcus aureus* siendo el principal responsable de las infecciones subclínicas, con un porcentaje de aislamiento general del 73.28 %, seguido por *Staphylococcus spp.* (Coagulasa negativa) 13.74 %, *Streptococcus agalactiae* 8.40 %, *Micrococcus spp.* 0.76 %, *Escherichia coli* 1.53 %, y *Levaduras spp* 2.29 %. Los microorganismos encontrados en la leche son precisamente, aquellos que se reportan como productores de mastitis, BLOOD Y RADOSTITS (1992), REBHUM (1995), SARAN CHAFFER (2000), la proporción relativa con la que se presentan estos microorganismos coinciden con otros estudios similares de la región, como lo reportado por ÑACCHA (2004), en la Unidad de producción de Allpachaka de la bacteria mas prevalente de *Staphylococcus aureus* con una prevalencia de 48.16 % seguido del *Streptococcus agalactiae* 29.63 %, *Escherichia coli* 14.82 %, *Corynebacterium bovis* y *Pseudomona aeruginosa* 3.70 %, y hongos como el *Penicillium*, *Aspergillus* y *Candida* de 25 %, 25 % y 50 % respectivamente; así mismo ABAD (2003), en el distrito de Huanta, identifico bacterias gram (+) y gram (-), siendo el *Staphylococcus aureus* el agente mas prevalente (66.6%), seguido de *Staphylococcus spp.* (2.8%), *Streptococcus agalactiae* (11.1%), *Corynebacterium spp.* (1.4%), *Diplococcus spp* (1.4), *Eschericia coli* (13.9%), *Klebsiella spp.* (1.4%) y *Proteus spp* (1.4%), mientras AYALA (1993), en Huanta y Huamanga reporta lo contrario, determinando una prevalencia de 48% para la familia enterobacteriaceae, 26.5% para la familia Streptococaceae, 23.5% la familia Micrococaceae y otros solo el 1.5%, las que atribuye a los diferentes factores de manejo y relacionado también a vacas que presentan mayor numero de edad y partos. Al comparar con otra región del país, HAYTARA (2004), en el distrito de Nuñoa- Puno, reporta resultados diferentes a lo reportado en el presente trabajo, hallando al *Streptococcus sp* con mayor prevalencia de 57.14%, seguidos del *Staphylococcus aureus* 23.21%, *Staphylococcus epidermidis* 7.14%, *Escherichia coli* 8.93%, *Corynebacterium sp* 1.79%, *Pseudomona sp.* 1.79%, resultado que atribuye al mal manejo; deficiente higiene en el proceso de ordeño, esto se asume al mayor porcentaje de bacterias como agentes patógenos (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*) y ambientales (*Streptococcus sp*, *Escherichia coli*), así

mismo HAYTARA (2004), en un estudio de evaluación de la eficacia “IN VITRO” de agentes antimicrobianos para el tratamiento de mastitis bovina en el distrito de Umachiri – Puno, reporta el 19.2% es positiva a *Staphylococcus aureus*, 17.9% a *Escherichia coli*, 16.2% *Micrococcus sp*, 14.4% *Streptococcus sp*, 13.7% *Staphylococcus epidermidis*, 9.6% *Enterococcus sp*, 6.6% *Streptococcus pneumoniae* y 2.4% para *Corynebacterium sp*. Afirma que la mastitis subclínica en vacunos del distrito de Umachiri es multicausal, principalmente a las malas prácticas de higiene en el proceso de ordeño y malos hábitos de la persona encargada del ordeño.

En otros estudios extranjeros realizados por FARIA et al, 2005 y ARMENTEROS et al, 2002 sin discriminar el sistema de crianza, se ha señalado al genero *Staphylococcus* como el agente mas común en la producción de mastitis bovina, sobre todo del *Staphylococcus aureus*, seguido del *Streptococcus agalactiae*, coincidiendo con los resultados del presente estudio.

REBHUM (1995) y WOLTER (2002), manifiestan que el *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*, son patógenos principalmente asociados a la ubre de tipo contagioso, estos pueden a largo plazo únicamente sobrevivir en la ubre. Por ello es la glándula mamaria el reservorio principal para los agentes contagiosos que salen al exterior en la leche y la forma de contagio se efectúa principalmente en el ordeño, de un cuarto a otro, de una vaca a otra y son transmitidos principalmente mediante la mano del ordeñador, a través de los aerosoles de la leche, mediante toallas para secar ubre y por el equipo de ordeño.

De todo lo observado en el presente trabajo se afirma que los factores predisponentes en la microcuenca Allpachaka son principalmente ambientales, económicos y culturales. Dentro de los ambientales podemos mencionar las estaciones del año con cambios climáticos muy marcados en las zonas de estudio además de las precipitaciones, con lo que favorece el crecimiento de la población microbiana en los rebaños y dormideros de los animales; entre los factores económicos cabe resaltar la alimentación inadecuada de los animales por falta de áreas con pasto cultivable y/o escaso área cultivable, y la falta de control sanitario; en los factores culturales se encuentra la falta de conocimiento de la enfermedad y sus consecuencias para el animal tanto para el humano, las actividades deficientes en la rutina de ordeño y la falta de higiene general.

CAPITULO IV

4.1. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de Mastitis subclínica bovina en la microcuenca Allpachaka es de 33.15% siendo la comunidad de Cusibamba la mas afectada, seguida de Manzanayocc, Allpachaka, Satica, Munaypata y Unión Paqchaq.
2. Dentro de los factores predisponentes a la mastitis subclínica se hallo el mal manejo de los rebaños, falta de higiene, resaltando el incumplimiento de las actividades de la rutina de ordeño, como también el número de partos, distribución anatómica de los cuartos mamarios y las fases de lactación de las vacas estudiadas.
3. Los principales microorganismos causantes de la mastitis subclínica bovina fueron *Staphylococcus aureus* (74.83%), *Staphylococcus spp* (12.21%) (coagulasa negativa), *Streptococcus agalactiae* (8.4%), *Escheria Coli*(1.52%), *Micrococcus spp* (0.76%), y *Levaduras* (2.3%).

4.2. RECOMENDACIONES

1. Las instituciones públicas como el Ministerio de Agricultura y otras instituciones privadas involucradas con esta actividad deberían de capacitar a los productores ganaderos sobre la importancia de la higiene en el proceso de ordeño, además de las pérdidas económicas que ocasiona la mastitis subclínica, para de esta forma se pueda lograr una producción de leche de buena calidad en la microcuenca lechera de Allpachaka; así mismo instaurar un programa de prevención y control de la mastitis bovina.
2. Los proyectos que intervienen en la microcuenca lechera de Allpachaka tales como Pro Leche, SOLID PERÚ, CTB y otras entidades, deberían ampliar la cobertura de capacitaciones a los criadores de ganado vacuno lechero.
3. Los criadores de ganado lechero de la microcuenca Allpachaka deben de realizar frecuentemente el diagnóstico de mastitis subclínica mediante el uso de CMT, por ser práctico, rápido y de bajo costo.
4. Realizar otros estudios sobre variantes de *Staphylococcus aureus*.

BIBLIOGRAFÍA

1. ABAD, C. 2003. Evaluación de la Prevalencia e Identificación de Microorganismos Productores de Mastitis Subclínica Bovina en el Distrito de Huanta a 2628 msnm. Ayacucho. Tesis Bach. E.F.P. Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias. UNSCH.
2. AGURTO, T. 1989, Manual de Técnicas en Microbiología, Edit. La Pluma Fuente S.A. Lima-Perú, 256 Pgs.
3. AGURTO, T. 2004. Microbiología Básica, Edit. Imprenta Unión universidad Ricardo Palma, Lima-Perú, 158 Pgs.
4. ARANA, M. 1992. Prevalencia de Mastitis Subclínica en el Establo de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Tesis. Fac. Med. Vet. Univ. San Marcos. Lima.
5. ARMENTEROS, M.; JANACHY, J.L.; LINARES, E. 2002. Caracterización de la situación de la mastitis bovina en rebaños de lechería especializada en Cuba. Rev. Salud Anim v. 24 n. 2.
6. AYALA, C. 1993. Mastitis Bovina Bacteriológico y Sensibilidad a los Quimioterapicos en Huanta Huamanga – Ayacucho. Tesis Bach. E.F.P. Biología, Facultad de Ciencias Biológicas. UNSCH
7. BEER, J. 1981, Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos, Edit. Acribia, Zaragoza (España), 344 Pgs.
8. BIBERSTEIN, E y CHUNG, 1994, Tratado de Microbiología Veterinaria, Edit. Acribia, Zaragoza, 673 Pgs.

9. BLANCO, O. M. 2001. "Diagnostico de la Mastitis Subclinica bovina". III Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de la Leche 21 al 23 de junio del 2001, México.
10. BLOOD Y RADOSTITS, 1992, Medicina Veterinaria, 7ma edición, Edit. Interamericana, México, 834 Pgs.
11. CCOYA, E. 2005, Prevalencia de Mastitis Subclínica Bovina en le Cuenca Lechera de Huanacamarca – Sora del distrito de Umachiri – Puno. Tesis Bach. Fac. Med. Vet. Y Zootec. Univ. Del Altiplano. Puno
12. CÓRDOVA, A. Y ARAUCO, F. 1987. Mastitis Subclínica en Vacas Estabuladas y al Pastoreo en Altura – Rev. Prog. Pastos y Ganadería. Fac. Ciencias Agrarias UNSCH. Ayacucho. 97 – 104.
13. DUEÑAS, B. 2007, Prevalencia de Mastitis Subclínica Bovina y Determinación de Sólidos Totales de la Leche en la Irrigación Majes Sección (B2) Arequipa. Tesis Bach. Fac. Med. Vet. Y Zootec. Univ. Del Altiplano. Puno
14. FARÍA, J.; VALERO-LEAL, K.; D'POOL, G.; GARCÍA, A.; ALLARA, M. y Morales, D. 2005. Agentes bacterianos y conteo de células somáticas en leche de cuartos de bovinos mestizos doble propósito ordeñados en forma manual o mecánica en cuatro fincas lecheras del estado Zulia, Venezuela. RC v.15 n.1.
15. FLORES, C. 1976. Prevalencia de la Mastitis en la Cuenca Lechera del Sur del País. Tesis. Prog. Acad. Med. Vet. Univ. San Marcos. Lima.
16. GRANADOS, R, 1998, Microbiología, Edit. Paraninfo, Madrid, 365 Pgs.

17. HAYTARA, J. 2004, Prevalencia e Identificación de los Agentes Bacterianos Causantes de la Mastitis Subclínica Bovina en el Distrito de Nuñoa – Puno. Tesis Bach. Fac. Med. Vet. Y Zotec. Univ. Del Altiplano. Puno
18. HAYTARA, J C. 2004, Evaluación de la Eficiencia “IN VITRO” de Agentes Antimicrobianos para el Tratamiento de Mastitis Bovina en el distrito de Umachiri – Puno. Tesis Bach. Fac. Med. Vet. Y Zotec. Univ. Del Altiplano.
19. INDECOPI. 2007, Norma Técnica Peruana - Leche y Productos Lácteos. NTP 202.200, Lima- Perú.
20. KRUIZE, J. 1998. La Rutina de Ordeño y su rol en los Programas de Control de Mastitis Bovina. Arch. Med. Vet. V. 30 n. 2.
21. MINAG. OIA. 2003. Ministerio de Agricultura. Oficina de Información Agraria, Dirección Regional Ayacucho.
22. ÑACCHA, J.J. 2004. Efecto de la Mastitis Subclínica en la Producción Lechera y su Tratamiento en la Unidad de Producción de Alpachaca a 3500 msnm. Ayacucho. Tesis. Posgrado. Ciencias Agropecuarias. Universidad nacional de San Cristóbal de Huamanga.
23. PHILPOT, W.N y NICKERSON, S.C. 1992, Mastitis el Contra Ataque. Escuela Nacional de Agricultura, E.U.A.
24. PÉREZ, D.M. 1984, Manual sobre ganado productor de leche, 1ra Edición. Editorial Diana México.
25. RADOSTITS, M. 2002, Medicina Veterinaria Vol.I, 9na edición, Edit. Interamericana, Madrid, 1206 Pgs.
26. REBHUM, W. 1995. Enfermedades del Ganado Vacuno Lechero, Edit. Acribia, Zaragoza, 666 Pgs.

27. SARAN, A. y CHAFFER, M. 2000, Mastitis y Calidad de Leche, Edit. Intermedica, Buenos Aires, 9 – 61 pgs.
28. SCHMIDT, G.H. y VAN, D.L. 1974, Bases Científicas de la Producción Lechera. Edit. Acribia, Zaragoza España.
29. SCHALM, O. W. 1962, Experiments and Observations Leading to Development of the California Mastitis Test. J. Am. Vet. Med. Ass.
30. SENAMHI, 2008. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. Boletín informativo.
31. SMITH, L, HOGAN, S 1997. Procedimiento de supervisión ambiental sobre la salud de la ubre (*Streptococcus*), Universidad de Guelph, Ontario, Canadá.
32. TINTAYA, B. 1976. Prevalencia de Mastitis Subclínica en el Valle del Mantaro. Tesis. Prog. Acad. Med. Vet. Univ. San Marcos Lima.
33. TOSSI, J. 1960, Zonas de Vida Natural del Perú. Edit. IICA - OEA. Lima.
34. WIESNER. E 1969, Enfermedades del Ganado Bovino, Edit. Acríbia, Zaragoza, 426 Pgs.
35. WITTNER, M. y BOHMWALD, L. 1986, Manual de Patología Clínica Veterinaria. Universidad Austral de Chile. Fac. de Ciencias Veterinarias. Impreso en los Talleres de la Universidad.
36. WOLTER, W; CASTAÑEDA, V. H; KLOPPERT, B y ZSCHOECK, M. 2002, La Mastitis Bovina. Instituto Estatal de Investigaciones de Hesse. Universidad de Guadalajara.

ANEXO

Anexo 01

FICHA DE DIAGNOSTICO DE MASTITIS SUBCLINICA – CMT EN LA MICROCUENCA ALLPACHAKA

Nombre del productor:

Comunidad:.....

Fecha de diagnostico:.....

Fecha de toma de muestra:.....

[illegible]

Anexo 02

FICHA DE EVALUACION DE LA RUTINA DE ORDEÑO EN LA
MICROCUENCA ALLPACHAKA

Comunidad:.....

Nombre del Productor:.....

Fecha de evaluación:.....

ACTIIVIDADES DE ORDEÑO	Cumple	No cumple
1. Zona de ordeño limpio y seco		
2. Zona de ordeño sin presencia de animales extraños		
3. Despunte de 3 a 4 chorros		
4. Lavado de ubres (solo pezones)		
5. Uso de papel toalla para secar pezones		
6. Ordeño a puño completo y con las dos manos (tiempo máximo 7 minutos)		
7. Sellado de pezones post ordeño		
8. Lavado de manos del ordeñador antes de iniciar el ordeño y entre vaca y vaca		
Total		

FICHA DE CRECIMIENTO E IDENTIFICACION BACTERIANO

Comunidad:.....

Nombre del productor:.....

Fecha:.....

N°	NOMBRE DEL ANIMAL	MEDIOS DE CULTIVOS	CRECIMIENTO DE BACTERIAS EN CUARTOS MAMARIOS				CARACTERISTICAS CULTURALES	IDENTIFICACION DE MICROORGANISMOS
			A.I	A.D	P.I	P.D		
		TSA						
		MACCONKEY						
		A. STREPTOCOCO						
		A. SANGRE						
		BAIR PARKER						
		SABOUROND						

Anexo 04. Prueba de significancia de la mastitis subclínica por numero de animales, entre comunidades con referencia al cuadro 3.1

COMUNIDADES	OBSERVADOS	ESPERADOS	TOTAL DE VACAS ESTUDIADAS
CUSIBAMBA	43	25.9	78
SATICA	19	24.2	73
MUNAYPATA	14	19.9	60
U. PAQCHAQ	6	9.9	30
ALLPACHAKA	20	23.2	70
MANZANAYOCC	13	11.9	36
TOTAL VACAS	115		347

Hp: No existe diferencias de la prevalencia a la mastitis entre las comunidades de estudio
Ha: Si existe diferencias en el nivel de prevalencia entre las comunidades de estudio

$p > 0.05$
 $\chi^2_c = 16.33$ $\chi^2_{\text{Tabulado}} = 11.07$ Grados de libertad = 5

SATICA vs U. PAQCHAQ
 $\chi^2_c = 0.084 < \chi^2_T: (1; 0.05) = 3.84$
SATICA vs MUNAYPATA
 $\chi^2_c = 0.096 < \chi^2_T: (1; 0.05) = 3.84$

Anexo 05 Prueba de significancia de la mastitis subclínica por cuartos mamarios entre comunidades con respecto al cuadro 3.2.

COMUNIDADES	OBSERVADOS	ESPERADOS	TOTAL DE CUARTOS MAMARIOS ESTUDIADOS
CUSIBAMBA	70	38.0	312
SATICA	28	35.6	292
MUNAYPATA	22	29.2	240
U. PAQCHAQ	9	14.6	120
ALLPACHAKA	22	34.1	280
MANZANAYOCC	18	17.5	144
TOTAL DE CUARTOS MAMARIOS POSITIVOS AL CMT	169		1388

$$X^2_c = 36.82 > X^2_T : (5; 0.05) = 11.07$$

Hp: No existe diferencias de la prevalencia a la mastitis entre las comunidades de estudio
 Ha: **Si existe diferencias en el nivel de prevalencia entre las comunidades de estudio**

Anexo 06 Prueba de significancia según distribución anatómica de cuartos mamarios con respecto al cuadro 3.6.

Cuartos mamarios	observados	esperados	total de cuartos
AD	33	42.06	339
AI	40	42.44	342
PD	53	42.31	341
PI	43	42.19	340
Total de cuartos mamarios positivos	169	169	1362

$$X^2_c = 4.80 < X^2_T : (3; 0.05) = 7.81$$

Anexo 07 Prueba de Chi cuadrado de Independencia según número de partos con respecto al cuadro 3.7.

Lactación	Negativos		Positivos		Total
	Observados	Esperados	Observados	Esperados	
1RA	71	54.16	10	26.84	81
2DA	48	52.15	30	25.85	78
3RA	42	41.45	20	20.55	62
4TA	33	35.44	20	17.56	53
5TA	10	14.04	11	6.96	21
>5TA	28	34.76	24	17.24	52
TOTAL	232	232	115	115	347

$$X^2_c = 26.56 > X^2_T: (5; 0.05) = 11.07$$

Hp : La mastitis subclínica es independiente del número de lactaciones

Ha : La mastitis subclínica es dependiente del número de lactaciones

Anexo 08 Prueba de CHI² de ajuste entre los meses de lactación con respecto al cuadro 3.8.

Meses de lactación	Positivos observados	Positivos esperados	TOTAL
1 a 2	27	34.80	105
3 a 4	26	31.82	96
5 a 6	34	21.87	66
7 a 8	12	14.58	44
> 8	16	11.93	36
TOTAL	115	115.00	347

Hp: No existe diferencias de prevalencia a la mastitis entre meses de lactación

Ha: Si existe diferencias en el nivel de prevalencia entre meses de lactación

1 a 2 vs 3 a 4

$$X^2_c = 0.036 < X^2_T: (1; 0.05) = 3.84 \text{ Sin diferencias significativas}$$

1 a 2 vs 5 a 6

$$X^2_c = 7.56 > X^2_T: (1; 0.05) = 3.84 \text{ Hay diferencias significativas}$$

1 a 2 vs 7 a 8

$$X^2_c = 0.029 < X^2_T: (1; 0.05) = 3.84 \text{ Sin diferencias significativas}$$

1 a 2 vs > 8

$$X^2_c = 3.08 < X^2_T: (1; 0.05) = 3.84 \text{ Sin diferencias significativas}$$

3 a 4 vs 5 a 6

$$X^2_c = 6.30 > X^2_T: (1; 0.05) = 3.84 \text{ Hay diferencias significativas}$$

3 a 4 vs 7 a 8

$$X^2_c = 0.0004 < X^2_T: (1; 0.05) = 3.84 \text{ Sin diferencias significativas}$$

3 a 4 vs > 8

$$X^2_c = 2.48 < X^2_T: (1; 0.05) = 3.84 \text{ Sin diferencias significativas}$$

5 a 6 vs 7 a 8

$$X^2_c = 3.91 > X^2_T: (1; 0.05) = 3.84 \text{ Hay diferencias significativas}$$

5 a 6 vs > 8

$$X^2_c = 1.10 < X^2_T: (1; 0.05) = 3.84 \text{ Sin diferencias significativas.}$$