



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TITULO DEL TRABAJO
**MASTITIS BOVINA CAUSADA POR *STHAPYLOCOCCUS*
*AUREUS***

SERVICIO PROFESIONAL QUE PRESENTA
MIGUEL ANGEL AXOMULCO NAVA

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Asesor:
MC. José Luis Carlos Bedolla Cedeño

Morelia, Michoacán. Octubre de 2005.



UNIVERSIDAD MICHOCANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TITULO DEL TRABAJO
**MASTITIS BOVINA CAUSADA POR *STAPHYLOCOCCUS*
*AUREUS***

SERVICIO PROFESIONAL QUE PRESENTA
MIGUEL ANGEL AXOMULCO NAVA

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Morelia, Michoacán. Octubre de 2005

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

Documento No.1614/2005

Se dictamina APROBAR la impresión
definitiva del documento

Morelia, Mich., a 18 de noviembre de 2005

C. MVZ. Alberto Arres Rangel
Director de la FMVZ-UMSNH
P r e s e n t e .

Por este conducto hacemos de su conocimiento que la tesina titulada **MASTITIS BOVINA CAUSADA POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS**, del P.MVZ Miguel Angel Axomulco Nava, dirigida por ME. José Luis Carlos Bedolla Cedeño, fue *revisada y aprobada* por esta mesa sinodal, conforme a las normas de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

ATENTAMENTE.

Dr. José Arcadio Menocal
Presidente

MC. Hugo Álvarez Hernández
Vocal

ME. José Luis Carlos Bedolla Cedeño
Vocal

El presente trabajo forma parte del proyecto 14.10 " Identificación y tipificación molecular de *Staphylococcus aureus* aislado de vacas con mastitis del municipio de Tarimbaro, Michoacán" el cual es financiado por la coordinación de la investigación científica de la Universidad Michoacana dentro del programa Marzo 2005 a Febrero del 2006.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

Prof. Agustin Axomulco Pliego.

Profa. Maria de la Luz Nava Salgado.

Con todo mi amor y cariño para las personas que me ayudaron a terminar mis estudios, que son mis padres por que sin su dedicación y paciencia no hubiera tenido la oportunidad de estudiar una carrera sacrificando todo por darme estudio que es la mejor herencia que unos padres pueden dejar a un hijo.

A MIS HERMANOS.

Agustin Axomulco Nava.

Francisco Javier Axomulco Nava.

Zulema Abigail Axomulco Nava

Por todos sus alientos y comprensión

AGRADECIMIENTOS.

A la coordinación de la investigación científica de la Universidad Michoacana por el apoyo otorgado al proyecto 14.10, del cual forma parte este trabajo

A mis familiares por sus palabras de aliento y apoyo económico para que terminara mis estudios.

En especial a mi abuelita Francisca Salgado Terán que siempre me apoyo económicamente y moralmente en las buenas y en las malas.

A MI ASESOR.

INDICE

INTRODUCCION	1
MASTITIS	3
Mastitis clínica.....	4
Mastitis subclínica.....	5
PATOGENOS CAUSANTES DE LA MASTITIS	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	8
Características del <i>Staphylococcus aureus</i>	10
Localización del <i>Staphylococcus aureus</i>	10
Poder patógeno.....	11
Patogénesis.....	12
Medio de transmisión.....	16
METODOS DE AISLAMIENTO DEL STAPHYLOCOCCUS AUREUS	17
Preparación de las muestras.....	19
Inoculación de los medios.....	19
Preincubación de las muestras de leche.....	20
Incubación.....	20
IDENTIFICACION DEL STAPHYLOCOCCUS AUREUS PATOGENO CAUSANTE DE LA MASTITIS BOVINA	21
Identificación preliminar.....	21
La prueba del factor aglutinación.....	22
Prueba de coagulasa en tubo de ensayo.....	22
Pruebas comerciales.....	24
La prueba de la penicilinasas.....	24
PROCEDIMIENTOS PARA LA IDENTIFICACION DEL STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN EL LABORATORIO	25

Prueba de sangre.....	26
Tinción de Gram y prueba de catalasa.....	26
Patrones de hemólisis.....	27
DECISIONES DE TERAPIA.....	28
CONTROL.....	28
Terapia y/o profilaxis del periodo seco.....	28
Terapia para el secado de las vacas (profilaxis).....	30
Terapia de la mastitis.....	30
Terapia local o intramamaria.....	31
TRATAMIENTO.....	36
Tratamiento de la mastitis subclínica.....	38
Tratamiento de la mastitis aguda.....	38
Tiempos de tratamiento.....	39
VACUNACIÓN.....	39
CONCLUSIONES.....	41
BIBLIOGRAFÍA.....	43

INTRODUCCIÓN

Mastitis, la inflamación de la glándula mamaria, es la enfermedad económicamente más importante del ganado lechero. Los agentes infecciosos son considerados la causa principal y la enfermedad ocurre cuando los microorganismos invaden la ubre, se multiplican y liberan factores que causan daño sistémico y local. Los costos económicos reflejan reducción en el rendimiento y calidad de la leche, eliminación temprana, muerte de las vacas y gastos en veterinarios (Tollersrud *et al.*, 2000).

Los factores que predisponen a la infección dentro de la glándula mamaria, son procedimientos de ordeño precarios, máquinas de ordeño defectuosas, lesiones y úlceras en las tetas y exposición a los agentes ambientales y contagiosos (Merck, 2000).

Los agentes contagiosos como el *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y el *Streptococcus agalactiae*, son organismos que se transmiten de vaca a vaca, donde el reservorio primario que alberga los patógenos, es el animal o el cuarto de la ubre y la exposición de los cuartos mamarios no infectados se restringe al proceso de la ordeña (Rossitto *et al.*, 2002; Zadoks *et al.*, 2002).

Mundialmente se reconoce que desde hace más de cien años, el *S. aureus* ha sido causa de enfermedad en el hombre y los animales. En las vacas lecheras ha sido una problemática frecuente de infecciones intramamarias subclínicas; asimismo, se sabe que después de la segunda guerra mundial paso a reemplazar al *Streptococcus agalactiae* como el patógeno predominante de la mastitis en muchos países (Tollersrud *et al.*, 2000).

Actualmente, se sabe que el *Staphylococcus aureus* es uno de los patógenos más difíciles de controlar porque puede diseminarse rápidamente entre el hato y puede responder pobremente a una terapia antibiótica convencional. De ahí el interés y la importancia de haber realizado este trabajo.

La metodología empleada consistió en una revisión de literatura. Para ello, se llevó a cabo una búsqueda, acopio, selección, análisis y síntesis de información actualizada, consultando artículos científicos, de divulgación, libros y tesis respecto al tema. Los artículos científicos, se obtuvieron directamente de los investigadores, a través del correo electrónico y postal, otros se obtuvieron accediendo directamente a bases de datos y revistas científicas electrónicas. Los libros y tesis se obtuvieron de la biblioteca de la Facultad.

El objetivo del presente trabajo fue hacer una revisión de literatura sobre la mastitis bovina causada por *Staphylococcus aureus*. Por lo que pretende constituirse en un medio de consulta, para los estudiantes, pasantes y personas interesadas en el tema.

Mastitis

La Mastitis es una enfermedad altamente prevaleciente en el ganado lechero, y es una de las enfermedades más importantes que afecta mundialmente la industria lechera, pues ocasiona pérdidas económicas muy fuertes a todos los productores de leche en el mundo (Wellenberg *et al.*, 2002) debido a la disminución en el rendimiento de leche y un aumento en el número de tratamientos clínicos y desecho temprano de vacas. Por lo que se ha reconocido, durante algún tiempo, como la enfermedad más costosa en los hatos lecheros (Correa y Marin, 2002; Boulanger *et al.*, 2003).

Es una enfermedad compleja que puede definirse simplemente como una inflamación de la glándula mamaria (Kerr *et al.*, 2001; Zadoks, 2002; Boulanger *et al.*, 2003; Field, 2003; Bedolla, 2003). Inflamación que es causada más comúnmente por infección intramamaria con un patógeno, pero también puede ser causada por una lesión (herida) y, menos frecuente, por alergia y neoplasias (Menzies y Ramanoon, 2001).

La mastitis bovina normalmente se da como resultado de la infección intramamaria por bacterias que pueden producir la enfermedad de manera clínica o subclínica (Field *et al.*, 2003). Es decir, puede ser acompañada de signos clínicos o no. Una inflamación intramamaria esta asociada con un aumento en el conteo de células somáticas en la leche. Sin embargo, la magnitud del aumento en el conteo de células somáticas (CCS) varía de acuerdo a la bacteria involucrada en la infección intramamaria (Djabri, *et al.* 2002).

Mastitis clínica

La mastitis clínica es definida como una anormalidad observada por los ganaderos en cualquiera de los dos casos: la leche y/o la ubre (Tollersrud *et al.*, 2000). Es un problema que subsiste en muchos hatos lecheros (De Mol, 2000).

Se caracteriza por la tumefacción y dolor en la ubre, enrojecimiento, la leche presenta una apariencia anormal y, en algunos casos, hay aumento de la temperatura rectal, letargo, anorexia e incluso la muerte. Además, las bacterias están presentes en la leche, el rendimiento es muy reducido, y su contenido está alterado considerablemente (Barkema *et al.*, 1999).

En algunos casos la inflamación de los cuartos mamarios es acompañada de signos clínicos (signos pronunciados de inflamación mamaria y de enfermedad sistémica), por lo que es diagnosticada entonces como mastitis clínica (Djabri *et al.*, 2002). La cual puede presentarse de manera aguda y crónica.

En su forma aguda, la mastitis clínica se caracteriza por su condición de aparición súbita, la leche es de apariencia anormal, hay enrojecimiento, tumefacción, y dolor en la ubre, con o sin signos aparentes.

En la forma crónica, se presenta una infección de la ubre de larga duración con leche de apariencia anormal y/o cambios al realizar la palpación del tejido de la ubre (Schrack *et al.*, 2001).

Durante la lactación, este tipo de mastitis, resulta en obvias pérdidas como son disminución en la producción de leche y alteraciones en la composición de la misma (Barker *et al.*, 1998).

La mastitis clínica debida a *Escherichia coli*, estreptococos ambientales, y *Staphylococcus aureus* continua siendo un problema importante. Y puede ser una condición aguda y dolorosa que afecta el comportamiento animal (Zadoks *et al.*, 2002).

Los costos estimados por mastitis clínica varían dependiendo del país y presupuesto e incluyen los costos del tratamiento y veterinario, la reducida producción de leche durante la parte restante de la lactación, las pérdidas de leche que ha sido desechada debido a contaminación con antibióticos, eliminación temprana, labor extra, disminución de la calidad de la leche e incremento de los riesgos de la enfermedad en el futuro (Zadoks *et al.*, 2002).

Mastitis subclínica

La mastitis subclínica es definida como la presencia de un microorganismo en combinación con un conteo elevado de células somáticas de la leche (Tollersrud *et al.*, 2000). El conteo elevado de células somáticas en la leche indica mastitis subclínica (Hultgren *et al.*, 2002).

Este tipo de mastitis no presenta cambios visibles en la leche o ubre. Se caracteriza por el reducido rendimiento de leche (Barkema *et al.*, 1999), composición alterada de la leche y la presencia de componentes inflamatorios y bacterias en la leche (Heringstad *et al.*, 2000).

Cuando los signos no son visibles, la presencia de patógenos y las modificaciones citológicas de la leche traen como resultado una mastitis subclínica (Djabri *et al.*, 2002), por lo que las técnicas de laboratorio como la medición del conteo de células somáticas y el cultivo bacteriológico, son necesarios para detectar inflamación e infección (Barker *et al.*, 1998).

La mastitis, particularmente subclínica y crónica, es la más persistente y más amplia del grupo de enfermedades de importancia por la higiene de la leche en el ganado lechero (Ariznabarreta *et al.*, 2002).

La mastitis subclínica ocurre frecuentemente, y puede conducir a grandes pérdidas económicas debido al reducido rendimiento de leche, y multas a causa de los elevados conteos de células somáticas presentes en los tanques de leche.

En la práctica, los casos de mastitis subclínica con frecuencia no son detectados rápidamente, o pueden incluso no ser reconocidas por el ordeñador. Actualmente las pérdidas ocasionadas por ambos tipos de mastitis clínica y subclínica pueden ascender al 20 % de la producción potencial. (Wellenberg *et al.*, 2002).

PATÓGENOS CAUSANTES DE LA MASTITIS BOVINA

Clásicamente, los patógenos de la mastitis han sido divididos en organismos contagiosos y ambientales; en base a su asociación epidemiológica con la enfermedad y a su proclividad de causar la infección oportunista, persistente o transecente, respectivamente (Bradley y Green, 2001; Riffon *et al.*, 2001; Rossitto *et al.*, 2002; Bedolla y Castañeda, 2003).

Los patógenos contagiosos de primera importancia incluyen al *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium spp.*, y *Mycoplasma spp.* (Riffon *et al.*, 2001; Rossitto *et al.*, 2002; Djabri *et al.*, 2002). Estos organismos se transmiten de vaca a vaca, donde el reservorio primario que alberga los patógenos es el animal infectado o el cuarto de la ubre (Rossitto *et al.*, 2002; Zadoks *et al.*, 2002), y la exposición de los cuartos mamarios no infectados se restringe al proceso de la ordeña (Bradley y Green, 2001, Zadoks *et al.*, 2002; Bedolla y Castañeda, 2003).

Los patógenos contagiosos de la mastitis como el *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* que son infecciosos a nivel individual y a nivel de población (Zadoks *et al.*, 2002).

Han sido reportados bajo control en los hatos lecheros a través del uso de prácticas de manejo que utilizan la desinfección de las tetas después de la ordeña, terapia de la vaca seca, desecho, mantenimiento del equipo de ordeño, y terapia antibiótica de las infecciones intramamarias (Rossitto *et al.*, 2002; Bedolla y Castañeda, 2003).

La mastitis ocasionada por patógenos ambientales es el principal problema que afecta a muchos hatos lecheros bien manejados, que aplican un programa de control de los patógenos contagiosos de la mastitis (Calvinho *et al.*, 1998; Phuektes *et al.*, 2001).

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

El reservorio primario de estos patógenos es el ambiente de la vaca lechera, y la exposición de los cuartos no infectados a los patógenos ambientales puede ocurrir en cualquier momento durante la vida de una vaca (Zadoks *et al.*, 2002).

Debido a que en la actualidad estos patógenos no han sido bien controlados por los métodos mencionados, ahora están surgiendo como la causa más frecuente de mastitis en muchos hatos, particularmente bien manejados, hatos con bajo conteo de células somáticas (<200,000 SCC/ml) (Rossitto *et al.*, 2002; Bedolla y Castañeda, 2003).

Staphylococcus aureus

En la actualidad, los principales problemas de mastitis son causados por *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Este agente patógeno es una de las bacterias más comunes de la mastitis subclínica. Mientras que en los años sesentas la mastitis por estafilococos tenía una escasa importancia, actualmente se ha aislado *S. aureus* en un 20% de las muestras bacteriológicamente positivas de cuartos afectados por la mastitis.

El *S. aureus* coagulasa positivo es un microorganismo importante de la glándula mamaria y una causa frecuente de la mastitis contagiosa bovina, aunque también provoca mastitis en ovejas y cabras (Torgerson, 1992)

Este patógeno es de manera consistente una de las cuatro causas principales de infecciones, junto con *Escherichia coli*, *Enterococcus fecalis* y *Pseudomona aeruginosa* (Stuart, 2000).

La prevalencia de infección por *S. aureus* en las vacas varían ampliamente, del 7 al 40 %, y en algunos rebaños son incluso superior (Radostits *et al.*, 1999).

La mastitis bovina causada por *S. aureus* es una de las infecciones más importantes que afecta tanto a la calidad como la cantidad de la producción de leche (Leitner *et al.*, 2003). En pocas palabras, es el patógeno más significativo que causa infecciones intramamarias en el ganado lechero en todo el mundo (Zadoks *et al.*, 2002; Boerlin *et al.*, 2003).

Vive dentro o fuera de la ubre, en la piel del pezón y puede causar tanto mastitis clínica como subclínica. Generalmente se desempeña de la misma forma que el *Streptococcus agalactiae*. El *Staphylococcus aureus* es el responsable del 30 al 40 % de todas las infecciones. Tiende a producir cicatrices que resultan en casos de infección encerradas en la ubre que son difíciles de alcanzar por los antibióticos. Tales sacos pueden romperse y abrirse a otras partes de la glándula mas tarde (Bergonier, 2003).

Es la causa más importante de mastitis en la mayoría de los hatos lecheros debido a que:

1. Causa mastitis aguda o crónica.
2. Las infecciones responden mal al tratamiento.
3. Es fácilmente transmitido durante el ordeño (Cucarella *et al.*, 2002).

El *Staphylococcus aureus* se reconoce mundialmente como una causa frecuente de infecciones intramamarias subclínicas en las vacas lecheras. Su deposito principal aparece en el cuarto infectado y el contacto con las vacas, normalmente, ocurre durante la ordeña. La interacción de este patógeno con las células de la glándula mamaria bovina es considerada esencial en el rol que desempeña en la patogénesis de la mastitis (Calvinho *et al.*, 1998).

Recientemente se ha demostrado que el *S. aureus* induce la apoptosis (muerte celular programada, que incluye necrosis coagulativa y retracción), en las células epiteliales de la glándula mamaria bovina, indicando que este proceso pudiera estar en la persistencia o patogénesis de este patógeno (Bjorland *et al.*, 2001).

Características del *Staphylococcus aureus*

El *S. aureus* se caracteriza por producir coagulasa, ADNasa termoestable, proteína A, así como, en función de la estirpe, una combinación de otras toxinas y enzimas extracelulares. El *S. aureus* es generalmente pigmentado (Vadillo *et al.*, 2002). Puede provocar una mastitis gangrenosa, esto sucede después de la producción de grandes cantidades de toxina (Blowey y Edmondson, 1995).

Los *S. aureus* tienen diversos antígenos en la superficie celular y algunas cepas tienen cápsula débilmente antifagocitaria. Esta cápsula se pierde cuando se efectúa un subcultivo de la cepa y su importancia en la patogénesis se desconoce. (Bjorland *et al.*, 2001).

Localización del *Staphylococcus aureus*

Su hábitat natural del *S. aureus* es en la piel y en las membranas mucosas de los mamíferos (Vadillo *et al.*, 2002). Es capaz de vivir en el interior de las células como los macrófagos, los PMN2 (leucocitos pilimorfonucleares, un tipo de leucocitos) y las células epiteliales.

Es un organismo bastante resistente capaz de vivir fuera de la glándula mamaria en sitios como en los paños para secar la ubre, en las manos del ordeñador y en la piel de los pezones (Blowey y Edmondson, 1995).

Ha sido aislado de toda la superficie de la vaca e incluso de la cabeza, cuerpo, patas, ubre e incluso de la nariz de los animales sanos. Sin embargo, es el más aislado comúnmente de la ubre y de las tetas de las vacas lactantes (Sears and McCarthy, 2003).

Aunque diversos patógenos bacterianos pueden causar la enfermedad, el *S. aureus* ha resultado ser uno de los más prevalecientes, y una vez que esta establecido en la glándula mamaria de las vacas lecheras, es muy difícil de erradicar (Sordelli *et al.*, 2000).

Este patógeno fue recuperado en más del 50% de los casos de mastitis bovina en donde un diagnóstico bacteriano pudo ser determinado, y fue demostrado que se encuentra distribuido igualmente entre los tipos de enfermedad subclínica, aguda y crónica (Tollersrud *et al.*, 2000)

Poder patógeno

Son múltiples los factores que se han asociado con la virulencia de las cepas de *S. aureus*, la especie patógena por excelencia. Estos factores pueden dividirse en dos grandes grupos; toxinas y enzimas extracelulares, y componentes superficiales (Vadillo *et al.*, 2002).

Su virulencia en la mastitis depende de la producción de varias exotoxinas, proteínas de la superficie (Takeuchi *et al*, 2001) y un polisacárido extracelular que contiene en sus capas exteriores.

Las capsulas estafilococicas esta demostrado que tienen actividad antifagocítica in vitro y ha sido demostrado que aumentan la virulencia del *S. aureus* en modelos de infección animal (Tollersrud *et al.*, 2000).

En recientes experimentos que evalúan la invasión y supervivencia intracelular del *S. aureus* en las células del tejido endotelial, epitelial y osteoblasto; se ha indicado que la supervivencia intracelular pudiera controlar a la persistencia del patógeno, induciendo endocarditis, mastitis bovina y osteomielitis (Gresham *et al*, 2000).

Patogénesis

El *S. aureus* tiene varios factores de virulencia relacionados con su patogenicidad y persistencia en el tejido mamario (Almeida *et al.*, 1997).

La pérdida de producción láctea debido a la mastitis es el resultado último de la inflamación de la glándula mamaria y el daño epitelial de las células secretoras (Middleton *et al.*, 2002).

Los *Staphylococcus* patógenos pueden producir una amplia gama de toxinas y enzimas extracelulares, que pueden contribuir a la patogénesis de la mastitis bovina (Rainard *et al.*, 2003; Vadillo *et al.*, 2002).

Las cepas de *S. aureus* causantes de infecciones intramamarias producen varios productos de secreción extracelulares y asociadas a la superficie celular (Kerr *et al.*, 2001).

A pesar de los mecanismos de defensa adecuados y la terapéutica antimicrobiana. Este microorganismo tiene la capacidad de colonizar el epitelio y el canal del pezón. Se puede adherir y unir a las células epiteliales de la glándula mamaria.

La adherencia del *Staphylococcus aureus* al epitelio de la glándula mamaria es considerada en primer paso como crítico en la patogénesis de la mastitis.

Se une específicamente a las proteínas de la matriz extracelular, la fibronectina y el colágeno, que pueden ayudar a las células epiteliales a introducir al microorganismo protegiéndolo frente a los factores bactericidas exógenos y endógenos (Almeida *et al.*, 1997).

El brote de las cepas llamadas Novel se extiende fácilmente de vaca en vaca a diferencia de otras cepas de *S. aureus* aisladas en los hatos (Middleton *et al.*, 2002).

Invade las células epiteliales mamarias y las endoteliales o fibroblastos. La adhesión del *S. aureus* a las células epiteliales puede conllevar interacciones fisicoquímicas no específicas o interacciones específicas. Observaciones anteriores y recientes indican que este microorganismo escapa del fagósoma hacia el citoplasma e induce apoptosis; la adhesión in Vitro depende de las cepas de *S. aureus*, fase de crecimiento de la bacteria, el crecimiento medio y el orden de las células epiteliales. (Kerr *et al.*, 2001).

Algunas cepas son capaces de invadir las células epiteliales mamarias bovinas en cultivo, y el proceso de invasión requiere el ácido nucleico eucariota y la síntesis de proteínas así como la síntesis bacteriana.

Las cepas de *S. aureus* producen toxinas algunas de las cuales pueden causar disfunción fagocitaria. La toxina beta, o una combinación de toxinas alfa y beta, son producidas por la mayoría de las cepas patógenas que se aíslan en los bóvidos, pero su importancia patogénica es dudosa (Almeida *et al.*, 1997).

La toxina beta lesiona las células epiteliales secretoras mamarias bovinas, aumentan los efectos de la toxina alfa, incrementa la adherencia de *S. aureus* a las células epiteliales mamarias, y aumenta la proliferación del microorganismo

Casi todas las cepas producen coagulasa que convierte el fibrinógeno en fibrina; lo cual parece que facilita la invasión de los tejidos.

La leucocidina producida por *S. aureus* puede inactivar a los neutrófilos. La tipificación del gen de la coagulasa se utiliza para subdividir la cepas de este microorganismo que causan la mastitis bovina (Aarestrup, 1995).

En la forma gangrenosa, la muerte del tejido se precipita por la trombosis de las venas, causando edema local y congestión de la ubre. Los estafilococos son las únicas bacterias que producen normalmente esta reacción en la ubre de la vaca, y la toxemia resultante se debe a las toxinas bacterianas y a la destrucción tisular.

En la mastitis aguda, los conductos pequeños se bloquean rápidamente por coágulos de fibrina, causando un problema más grave del área obstruida (Daley, 1991). En la forma crónica hay menos focos de inflamación y la reacción es más leve; la inflamación esta limitada al epitelio de los conductos (Daley. 1991).

La mayoría de las cepas de *S. aureus* causantes de la mastitis están rodeadas por una capa de limo que ayuda en la adherencia y colonización del organismo en el epitelio de la glándula mamaria.

El *S. aureus* es el responsable de una amplia gama de infecciones agudas y crónicas. El primer paso de las infecciones por *S. aureus* es la adherencia a las superficies y colonización de tejidos del organismo infectados. Para este propósito el *S. aureus* presenta una familia de adherencias llamadas MSCRMMs (Componentes de la superficie microbianos que reconocen las moléculas de la matriz adhesivas).

Estas interacciones permiten al *S. aureus* adherirse a una variedad de líneas celulares y promover la invasión y muerte por apoptosis de células epiteliales infectadas. Otro paso en la colonización de este patógeno es la formación de una biopelícula.

La formación de esta biopelícula (son comunidades bacterianas adheridas a la superficie de las bacterias) es una inquietud importante en las infecciones porque protege a los microorganismos de los leucocitos y antibióticos, llevando a la infección crónica y septicemia (Cucarella *et al*, 2002).

Fenómenos similares ocurren con otras bacterias patógenas *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *klebsiella pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli* y *Haemophilus influenzae* (Cucarella et al, 2002).

Medios de transmisión

La máquina de ordeña, las toallas o las manos del ordeñador transmiten la bacteria de un cuarto infectado a uno sano. De la punta del pezón pasa el patógeno, a través del conducto galactóforo a la ubre. Mediante algunos de los factores de patogenicidad de la bacteria, son eliminados, por lo menos parcialmente, los mecanismos de defensa de la ubre, por ello este patógeno tiene una presencia y eliminación de la leche por muy largo tiempo. Algunos de los cúmulos de las bacterias son rodeados por células inmunes en las células alveolares, si bien no se presenta una eliminación muy efectiva de las bacterias.

Mediante la eliminación del tejido, especialmente la del epitelio alveolar, se presenta una proliferación más o menos fuerte del tejido de la ubre, de esta forma se hacen nódulos y nodulitos, los cuales contienen bacterias vivas de *S. aureus*, estas pueden posteriormente salir de esas células y el cuarto afectado empiezan nuevamente a eliminar bacterias, por lo que representa un peligro para los cuartos sanos no afectados (Wolter et al., 2000).

El *Staphylococcus aureus* es único en el ambiente de las vacas lecheras. La glándula mamaria infectada de las vacas en lactación es el reservorio y la fuente principal de este microorganismo. La prevalencia de infección intramamaria en las novillas primíparas en el parto, oscila entre el 2 y el 50 % y puede presentar un reservorio de infección importante en los rebaños con una prevalencia de infección baja.

La infección de cada glándula mamaria se produce a través del conducto del pezón, originado, bien a partir de una ubre infectada o a través del medio (Radostitis *et al.*, 2002).

El contagio se efectúa principalmente en la ordeña, de un cuarto a otro, de una vaca a otra y son transmitidos de la siguiente forma: mediante la mano del ordeñador, a través de aerosoles de la leche, mediante las toallas para secar la ubre y mediante el equipo de ordeña (Wolter *et al.*, 2000).

Las infecciones por *S. aureus*, un patógeno cuagulasa positivo, difiere de otros estafilococos porque este es un patógeno contagioso que se disemina de vaca a vaca. Es el más común de los patógenos contagiosos en los hatos lecheros y contribuye en las pérdidas de leche, disminución de la calidad de la leche, y en las infecciones crónicas (Sears and McCarthy, 2003).

Métodos de aislamiento del *staphylococcus aureus*

Los siguientes procedimientos describen el aislamiento y la identificación del *S. aureus*, agente patógeno de la mastitis contagiosa.

Para la investigación de las muestras de los cuartos de la ubre tomados asépticamente, se usan comúnmente medios no selectivos. .

El agar sangre es el medio de cultivo más adecuado para aislar los agentes causales de mastitis. La diferenciación del *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus* y otros microorganismos. Se puede hacer bien en este medio. Si al medio se le

agrega el 0.1% de esculina se hace una mejor diferenciación entre los *Streptococcus*.

Por ejemplo: g/l

Agar base Sangre- Tryptosa-oxid 10.0

Polvo Lab-lemco 3.0

Cloruro de Sodio 5.0

Agar No. 3 12.0

pH 7.2 + 0.1

Pueden ser utilizados otros medios de cultivo adecuados. A 100 ml del medio básico estéril y enfriado a 45 a 48° C, se le agregan de 5 a 10 ml de sangre de borrego con citrato. De ese medio se agregan de 8 a 10 ml en una caja de Petri con una altura de 9 a 10 mm esta es importante en la diferenciación de los estreptococos.

Para la producción del agar sangre, se puede utilizar sangre de bovino (de preferencia de ternero) o sangre de borrego. La antihemolisina de estafilococos, la cual esta presente en la sangre de determinados animales, puede inhibir la presencia de las hemolisinas α y β de *S. aureus*.

Por ello debe de ser probada cada sangre nueva, mediante una cepa de referencia de *Staphylococcus aureus*, el cual forme una zona amplia de 4-6 mm de hemólisis incompleta (β). Cepa ATCC no. 24178. Así como con la cepa de referencia y se debe de obtener una zona limitada de hemólisis completa (α) cepa ATCC No. 8096. La sangre de conejo, caballo o humano no es adecuada para la preparación del agar sangre (Wolter *et al.*, 2000).

Preparación de las muestras.

Después de enfriar las muestras, las bacterias se concentran en la capa de grasa. Por ello todos los tubos deben ser cuidadosamente agitados y calentados a una temperatura de 16 a 18° C (Wolter *et al.*, 2000).

Inoculación de los medios

En el diagnóstico microbiológico de la mastitis, no se puede hacer un inóculo cuantitativo. Debido al tamaño del inóculo y a la superficie sembrada existen las respectivas variaciones de la cantidad de cepas encontradas. Por ello se recomienda, utilizar un inóculo de 0.05 ml, el cual deberá ser inoculado en cuando menos media caja de Petri (se puede usar una asa con diámetro de 6 mm. Una espátula de vidrio o un palillo de vidrio también pueden ser utilizados). Para la investigación de todas las vacas de un hato, también se puede utilizar un inóculo de 0.01 ml en un cuarto de una caja de Petri.

Por lo tanto, todas las muestras de leche infectadas y no infectadas contendrán una cantidad baja de microbios. También algunos cuartos infectados pueden en algunos casos contener menos de 20 microorganismos patógenos/ml .

Entonces son necesarias más investigaciones de diferentes muestras del mismo cuarto, ya que nos da más y mejor información, que varias inoculaciones de una sola muestra (Wolter *et al.*, 2000).

Preincubación de las muestras de leche.

En casos de las llamadas mastitis clínicas o subclínicas antisépticas (trastornos de la secreción) ocasionalmente puede ser encontrado el agente patógeno, cuando se realiza un preenriquecimiento de la muestra a 37° C con una duración de 6 a 18 horas antes de ser sembrado en el agar sangre. Este tipo de preenriquecimiento puede ser realizado únicamente cuando la muestra ha sido tomada en forma antiséptica. En el caso de la interpretación de las placas de agar sangre debe tenerse mucha precaución y se hará una toma de muestras de los cuatro cuartos y todos serán enriquecidos. Únicamente en caso de que se presenten microorganismos patógenos en un cuarto sospechoso puede ser diagnosticado con seguridad. Una confirmación del diagnóstico, deberá realizarse mediante la punción de la teta o mediante la investigación de muestras frescas de leche (Wolter *et al.*, 2000).

Incubación

Las temperaturas de incubación varían de 35 a 37° C. La lectura de los medios se realiza a las 24 y 48 horas después de haber sido inoculados los medios o se realiza una sola lectura a las 36 horas (Wolter *et al.*, 2000).

Identificación del *Staphylococcus aureus* patógeno causante de la mastitis bovina

Esta bacteria produce en agar sangre colonias blanco-grisáceas y ocasionalmente doradas, con un diámetro de 3 a 5 mm. Regularmente se observan zonas típicas de hemólisis. La alfa-hemolisina produce una zona clara

con una hemólisis completa, mientras que la beta-hemolisina causa una zona clara delimitada con una hemólisis incompleta.

Algunas cepas de *S. aureus* no son hemolíticas o producen una zona muy estrecha de hemólisis completa, limitada. Los estafilococos formadores de las hemolisinas tienen por lo regular el factor aglutinante y son coagulasa positivos. Las colonias de estafilococos las cuales tienen una zona muy pequeña de hemólisis (1mm o menos), o que tienen una hemólisis parcial, son por lo regular coagulasa negativos. También esas cepas pueden causar infecciones de la ubre con un número elevado de células somáticas en leche (Wolter *et al.*, 2004).

Los estafilococos son bacterias cocoides Grampositivas y se agrupan en forma de racimos de uva.

Identificación preliminar

Si se encuentra presente una zona clara de β -hemólisis en el agar sangre no se necesita hacer la prueba de coagulasa o la del factor de aglutinación. En los demás casos se debe hacer, ya sea la identificación del factor de aglutinación, de la coagulasa o se puede hacer una prueba con un kit comercial que nos ayude a la clasificación de los estafilococos, especialmente de los coagulasa negativos (Wolter *et al.*, 2004).

La prueba del factor de aglutinación

A una asa de bacterias que se han tomado de una caja con medio de agar sangre, se le agrega una gota de solución salina fisiológica y esto se mezcla en un portaobjetos con unas gotas de plasma citratado bovino, de cerdo o conejo.

La aglutinación significa un resultado positivo. Paralelamente se realiza una prueba control utilizando NaCl fisiológico (Wolter *et al.*, 2004).

Prueba de coagulasa en tubo de ensayo

La prueba de coagulasa puede realizarse para diferenciar *Staphylococcus aureus* de otros estafilococos aislados.

La prueba de coagulasa permite la confirmación de *S. aureus*. Una colonia a partir de una placa de agar sangre puede ser colocada dentro de un tubo conteniendo plasma de conejo e incubarse durante 2 a 12 horas. Si el plasma se solidifica, la prueba es positiva y la colonia puede ser confirmada como *S. aureus*. Todos los estafilococos coagulasa-negativos también son clasificados como especies de estafilococos (Sears and McCarthy, 2003).

Se toma una colonia sencilla de un cultivo de 24 horas de incubación, o se puede tomar 0.02 ml de un cultivo en caldo, esto se mezcla con 1.0 y 3.0 ml de plasma citratado de conejo, de cerdo o de humano (este plasma previamente se diluirá en solución salina fisiológica 1:5). Además se deben tener dos controles, uno positivo y otro negativo.

La incubación se hace en baño María a 37° C. La coagulación del plasma se observa a las 3 y 24 horas de incubación (Wolter *et al.*, 2004).

La prueba de tubo para la coagulasa libre generalmente es considerada más definitiva que la prueba para coagulasa o “clumping factor”. Aunque los manuales de clínica humana recomiendan la prueba slide como una prueba rápida para los *S. aureus*, la prueba de tubo de coagulasa es ampliamente recomendada para evitar resultados erróneos en aislamientos bovinos.

En raras ocasiones, los aislamientos que han sido confirmados como *S. aureus* por sistemas de identificación rápida o convencional display una reacción negativa en el tubo de coagulasa. Las cepas atípicas deben ser clasificadas como *S. aureus* si los patrones hemolíticos característicos y la pigmentación con la tinción de Gram confirma un *Staphylococcus spp.*

El uso de la reacción de coagulasa puede no ser adecuada para diferenciar los *Staphylococcus aureus* de las especies *Staphylococcus intermedius* coagulasa positivos o de las especies *Staphylococcus hyicus* coagulasa variable. Sin embargo, los *S. intermedius* son raramente aislados de los bovinos, y ambas colonias de *S. intermedius* y *S. hyicus* son blancas (no pigmentadas) comparadas con las colonias pigmentadas de los *Staphylococcus aureus*.

El *Staphylococcus hyicus* es aislado con poca frecuencia pero no producen hemólisis. El criterio diagnóstico de la producción de hemólisis y reacciones de coagulasa han sido adecuadas para identificar *Staphylococcus aureus* en los programas de prevención y control (NMC *et al.*, 1999).

Pruebas Comerciales

Existen algunas pruebas comerciales para aglutinación y hemoaglutinación en el mercado, los cuales posibilitan la diferenciación de *Staphylococcus aureus* de los estafilococos coagulasa negativos. La mayoría de estas pruebas enlazan el fibrinógeno y la proteína A unida con inmunoglobulina G a partículas de látex con eritrocitos. Ejemplos de las pruebas para la aglutinación en látex son: Staph. AureuxR, Bacto Staph. LatexR, StaphylasaR, StaphylexR y Pastorex Staph. PlusR (wolter *et al.*, 2004).

La prueba de la penicilinas

La capacidad de los estafilococos para producir penicilinas (β -lactamas) es una propiedad que tiene gran importancia terapéuticamente. Entonces, cuando de muestras de leche se aísla *Staphylococcus aureus* o alguna otra cepa de estafilococos, para realizar un proceso terapéutico es necesario determinar para cada cepa, si esta es penicilinas positiva o negativa.

Procedimiento: En una caja de Petri con agar-almidón, se colocan las colonias de estafilococos con un asa, de tal forma que se pueda formar una gran colonia (Macrocolonia). Hasta 21 cepas de estafilococos se pueden probar de esta forma en cada caja de petri. Después de la incubación (mínimo 7 horas a 37° C) se agregan 2 ml de una solución de penicilina G potasica con yodo e hidróxido de yodo, en la caja con agar y con una agitación suave se reparte en toda la superficie, el medio de cultivo se colorea de rojo oscuro.

Después de 15-30 minutos en las colonias productoras de penicilinasa se forma esa área de decoloración y alrededor de la macrocolonia se observa claramente este fenómeno. En las colonias negativas a penicilinasa no se forma esa área de decoloración. En las cepas que producen la penicilinasa, se difunde la enzima en los alrededores de la colonia. Cuando entonces a ese medio se le agrega una solución de yodo-hidróxido de yodo y penicilina G, entonces se forma en esa área por efecto de la penicilinasa en la penicilina G, el ácido penicilínico (Wolter *et al.*, 2004).

Entonces debido al ácido formado aparece una decoloración del complejo yodo-almidón alrededor de la zona de la macrocolonia.

La mastitis por *Staphylococcus aureus* son de complicada curación debido a la formación de tejido cicatricial en la glándula mamaria, aunque el microorganismo se refugia en pequeños abscesos y además pueden acantonarse en los glóbulos blancos (Britten, 2002).

Procedimientos para la identificación del *staphylococcus aureus* en el laboratorio

Los *Staphylococcus aureus* producen grandes colonias pigmentadas, en agar sangre (2 a 5 mm, en 24 horas; y de 3 a 8 mm en 48 horas). La pigmentación es crema, blancos grisáceos o amarillo-doradas.

La hemólisis a las 24 horas esta caracterizada por distintas zonas de hemólisis incompleta, que pueden ser acompañadas por una zona clara de hemólisis completa, extendiéndose 2 mm o más de la colonia. Otras cepas

pueden producir una zona definida de hemólisis completa. Menos del 5 % de los aislamientos no expresan hemólisis.

El alfa-hemolisina produce hemólisis clara o completa, y la beta-hemolisina produce hemólisis parcial o incompleta (Vadillo *et al.*, 2002).

Prueba de sangre

La sangre utilizada en los medios de preparación es crítica. Todo el agar sangre fresco debe ser probado con un stock de cepas de *Staphylococcus aureus* para asegurar las características de crecimiento. Un nuevo donador debe ser utilizado para la preparación de los medios o los eritrocitos deben ser lavados cuando menos del 95% de los aislamientos son hemolíticos en agar sangre.

Los *staphylococcus aureus* crecen en los medios de cultivo ordinarios, como el agar nutritivo si bien para la siembra de muestras clínicas se utiliza habitualmente el agar sangre, medio en el que puede apreciarse la capacidad hemolítica y el tipo de hemólisis producido por las bacterias (Vadillo *et al.*, 2002).

Tinción de Gram y Prueba de catalasa

Los *Staphylococcus aureus* son cocos Gram-positivos en pares o en cadenas irregulares. Catalasa positiva (Brooks *et al.*, 2002). Los *S. aureus* producen catalasa, que convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. La prueba de la catalasa puede diferenciar los *Staphylococcus* que son positivos, de los negativos.

Los estafilococos pueden ser identificados como catalasa positivos y aparecer como colonias opacas, blancas o amarillas.

La prueba de catalasa ayuda a diferenciar entre estafilococos y estreptococos en agar sangre. Los estafilococos producen una reacción catalasa positiva (burbujas) cuando se exponen a peróxido de hidrógeno (una colonia colocada en peróxido sobre un portaobjetos) (Brooks *et al.*, 2002).

Patrones de hemólisis

Los patrones de hemólisis de los estafilococos pueden variar de ninguna a completa. Los *Staphylococcus aureus* normalmente producen zonas de hemólisis parcial (β) y completa (α); Sin embargo la producción de hemolisina varía.

Los patrones hemolíticos alrededor de las colonias son importantes para distinguir *Staphylococcus aureus* de otros estafilococos. Los *Staphylococcus aureus* pueden producir una zona doble de hemólisis (α - β) incompleta y completa o una hemólisis (β) incompleta.

Si se observa una doble zona (α - β) o incompleta (β) de hemólisis, una prueba de coagulasa puede ser realizada para verificar la presencia de *Staphylococcus aureus*.

Aunque el *Staphylococcus intermedius* y *Staphylococcus hyicus* pueden producir reacciones coagulasa-positivos para la mastitis, los estafilococos coagulasa-positivos deben ser clasificados como *Staphylococcus aureus*. (Sears y McCarthy, 2003).

DECISIONES DE TERAPIA

Cuando los estafilococos son aislados, es importante diferenciar entre *Staphylococcus aureus* y otras especies de estafilococos. La terapia antibiótica puede ser utilizada para reducir los signos clínicos y es razonablemente efectiva en vaquillas o en nuevos casos; sin embargo, las infecciones crónicas no responden a la terapia antibiótica (Sears y McCarthy, 2003).

Los estafilococos son los patógenos predominantes que causan mastitis en las vaquillas, y los *Staphylococcus aureus* pueden representar un porcentaje substancial de estas infecciones. Porque el *S. aureus* es el patógeno principal de la mastitis para la industria lechera, y porque este es muy difícil de curar una vez establecido en las vacas lactantes, su presencia en las vaquillas es de grandes consecuencias.

La mastitis por *Staphylococcus aureus* en las vaquillas lecheras puede persistir a través del periodo preparto y durante la primera lactación. El daño producido en el desarrollo del tejido mamario puede reducir la producción de leche y causar a las vaquillas su máxima producción potencial de leche (Owens *et al.*, 2001).

CONTROL

Terapia y/o profilaxis del periodo seco

Todas las vacas en producción deben de tener un periodo seco de 6-8 semanas antes del parto. La curación y regeneración del tejido de la glándula

mamaria necesita de cuando menos 6 semanas. Es inapropiado un periodo menor de 6 semanas para la salud de la ubre y para la producción de la leche en la siguiente lactación. Un periodo mayor de 8 semanas de periodo seco no tiene ningún beneficio para el rendimiento lechero de la vaca y tampoco para la salud de la ubre.

Cada establo deberá poner a todas las vacas del hato en un periodo seco, bajo la protección de un antibiótico. Durante el periodo seco, puede realizarse un tratamiento efectivo contra la mastitis subclínica y lograr una curación completa.

Las ventajas de la terapia para secar vacas son:

- 1.- Las tasas de curación son, especialmente para *S. aureus* en general mucho mayores que la terapia en la lactación.
- 2.- Se pueden usar dosis más elevadas de antibióticos.
- 3.- Los medicamentos pueden actuar efectivamente por más tiempo en la ubre.
- 4.- Los niveles de infecciones en el periodo seco pueden ser disminuidos.
- 5.- Con una administración especializada y oportuna del medicamento no hay peligro de residuos en la leche que se expende.

La mejor manera de secar una vaca es:

- 1.- Realizar un control de la ubre de la vaca 14 días antes del secado. Se hará una palpación cuidadosa de la ubre, adicionalmente se hará la prueba de California. Si la muestra es positiva, se deberá llevar al laboratorio para una investigación bacteriológica.
- 2.- Las vacas con problemas de mastitis deberán ser sometidas a un tratamiento de medicamentos de acción corta, correspondiente a los hallazgos bacteriológicos, antes de ser secada.
- 3.- Un secado repentino, es decir de un ordeño al otro es el método de elección.

4.- Las vacas secas deben de ser agrupadas en un corral muy limpio y con ambiente seco (Wolter *et al.*, 2004).

Terapia para el secado de las vacas (profilaxis)

A los animales del establo se les debe aplicar un adecuado medicamento de largo efecto para el secado, se deberá utilizar un mínimo de 500 mg de oxacilina o cloxacilina y se refuerza con la adición de un mínimo de 500 mg de neomicina o 100 mg de frameticina (formula de efecto prolongado).

Las bases para el combate actual de los patógenos de la mastitis son; medidas higiénicas durante el periodo de ordeño o a la mitad del ordeño y una utilización consecuente de los selladores de los pezones (Wolter *et al.*, 2004).

Terapia de la Mastitis

En el caso de la terapia de la mastitis, se utilizan en primera línea los antibióticos, la vía de aplicación puede ser parenteral o local (aplicación intracisternal). Adicionalmente se tomaran medidas de protección con el propósito de lograr reducir la inflamación. Una medida profiláctica de tratamiento, se puede realizar mediante la aplicación del secado de las vacas.

El éxito de un tratamiento antibacteriano contra la mastitis, esta determinado por una elección adecuada del antibiótico, teniendo en cuenta la resistencia de la bacteria y las regulaciones farmacocinéticas. Debe alcanzarse una concentración efectiva antibacterial en el tejido, de acuerdo con el patógeno que se trate y durante un periodo adecuado de tiempo.

Básicamente para la terapia antibacterial de mastitis se recomiendan: β lactamatos, Aminoglucósidos, lincosamidas, macrolidos, tetraciclina, polipéptidos, trimetropim-sulfonamidas combinadas, polipéptidos y flouquinolona.

Condiciones para la administración de sustancias antimicrobianas efectivas vía parenteral.

El objetivo en el uso parenteral de un medicamento debe ser; alcanzar el tejido de la ubre y obtener una concentración efectiva sobre un periodo de tiempo lo suficientemente largo. Un cálculo de la concentración efectiva de un antibiótico, se puede hacer conociendo el valor de la concentración mínima inhibitoria (MCI). De una gran importancia es el conocimiento de las propiedades farmacocinéticas del antibiótico utilizado, para poder decidir si desde el punto de vista farmacodinámico, se aplica una cantidad suficiente de antibiótico para que después de una administración sistémica, pueda llegar al tejido de la ubre.

Las bases débiles regularmente alcanzan bien el tejido de la ubre, mientras que los ácidos débiles prácticamente en un estado no febril (mastitis subclínica) no difunden al tejido de la glándula mamaria. En este caso es determinante además de la lipofilia, el grado de ionización del material utilizado, el cual depende por una parte del valor pK del material y por otra del valor de pH de la sangre (7.4) (Wolter *et al* , 2004).

Terapia local o intramamaria

Adicionalmente a las reglas generales validas para la terapia con antibióticos, se requieren algunas adicionales para el uso de antibióticos o medicamentos vía intracisternal. Entonces el antibiótico utilizable no deberá irritar

el tejido, que se difunda bien en el tejido y que tenga un tiempo de eliminación lo mas corto posible. Las soluciones acuosas se reparten bien en el tejido glandular, mientras que las formulas oleosas (suspensiones) liberan muy lentamente los principios activos del fármaco.

Para las formulaciones oleosas se ha descrito una repartición desigual en el tejido glandular.

Las llamadas formulas secadoras, las cuales tienen efecto principalmente en bacterias grampositivas, deben de liberar muy lentamente el material activo. Una afinidad al tejido y la secreción lo suficientemente alta, significa un correspondiente efecto durable. El efecto antibacterial debe ser sostenido a lo largo de varias semanas.

La administración de medicamentos en la ubre por el canal lácteo mediante jeringas intramamarias significa una carga muy fuerte para el canal. Entonces esta barrera natural contra bacterias patógenas se lesiona. Hay un agrandamiento del canal lácteo.

La capa interna que esta formada por un revestimiento de queratina la cual se irrita y requiere de 4 semanas para su recuperación. Entonces puede ser penetrado el canal por cepas patógenas. Por lo tanto, es necesario tener mucho cuidado que las jeringas intramamarias penetren limpia y cuidadosamente y sin tener algún tipo de contaminación, ya que la mayoría de las infecciones de la ubre se originan en el canal lácteo (Wolter *et al.*, 2004).

La punta plástica del inyector solo debe penetrar de 2 a 3 mm. Cuando se utilizan medicamentos en frascos de reserva, estos deben ser aplicados lo más pronto posible, Ya que si estos frascos incompletos se vuelven a almacenar con el resto del antibiótico no utilizado, es muy posible que se contaminen con alguna levadura y esto causar infecciones severas en la ubre (Wolter *et al.*, 2004).

Los objetivos del tratamiento de la mastitis a nivel del hato en el marco de un programa de saneamiento son:

- Disminución del número de células somáticas en la leche de consumo.
 - Mejorar la salud de las ubres del hato.
 - Disminuir la tasa de infecciones en los cuartos.
 - Disminuir la presión por cepas patógenas en el establo.
 - Aumentar la cantidad de leche para consumo.
 - Eliminación de los agentes patógenos contagiosos.
 - A nivel de la vaca las metas del tratamiento de mastitis son:
 - Sanar bacteriológicamente.
 - Sanar clínicamente.
 - Conservar el cuarto de la ubre.
 - Que la leche de la vaca sea consumible.
 - Proteger al animal.
- (Wolter *et al.*, 2004).

Para reducir la fuente de *Staphylococcus aureus* es necesario la elaboración de un programa de identificación rápida de ubres infectadas. Desecho y separación es una parte importante del control de la mastitis.

- Lavado higiénico y secado de las ubres antes del ordeño.
- Mantenimiento de las maquinas de ordeño.

- Introducir los pezones en una solución desinfectante después de cada ordeño.
- La utilización de yodo al 1% o clor hexidina al 0.5%, ambas en glicerina al 5 o 10%.
- Tratar a todas las vacas secas.
- Ordeñar las vacas afectadas al final y desechar las que tengan mastitis crónica. (Torgerson, 1992).

Ha sido demostrado que la desinfección post ordeño del pezón reduce el índice de mastitis así como infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* (Bjorlan *et al.*, 2001).

Para evitar la infección es importante que después de cada ordeña se realice un lavado de la ubre a cada vaca (Que contenga un emoliente) (Blowey y Edmondson, 1995).

La desinfección del pezón a sido considerado como un componente clave en el control de mastitis bovina (Bjorland *et al.*, 2001).

Los problemas de la ubre asociados con infecciones por *Staphylococcus aureus* en vacas lecheras, resultan difíciles de controlar, teniendo el uso de antibióticos un efecto limitado (Persson *et al.*, 2003).

La higiene rigurosa en la sala de ordeña para evitar que las vacas queden infectadas por *Staphylococcus aureus* deben ser rigurosa. El ordeño de vacas afectadas debe ser al último así se disminuye la infección de vaca a vaca (Blowey y Edmondson, 1995).

La desinfección después de la ordeña es esencial cuando se presenta *Staphylococcus aureus* en un rebaño; será imposible la transmisión de infección de vaca en vaca pero se debe destruir en los pezones antes de que vuelva a penetrar en el conducto del pezón (Blowey y Edmondson, 1995).

Los experimentos han demostrado que una vaca que elimina *Staphylococcus aureus* en su leche puede infectar los pezones de las 6-8 vacas siguientes que tienen ordeñadas (Blowey y Edmondson, 1995).

Es por eso que en caso de ordeña mecánica se deben desinfectar cada pezonera para evitar el contagio de *Staphylococcus aureus* de vaca en vaca (Blowey y Edmondson, 1995).

Es por ello que un cultivo bacteriológico rutinario a todas las novillas recién paridas es la mayor técnica para la detención temprana de mastitis por *Staphylococcus aureus* (Britten, 2002).

La reducción de *Staphylococcus aureus* a menos de 1 % de los cuartos en un hato puede ser posible a través de un régimen de identificación, segregación, higiene estricta a la hora de la ordeña, tratamiento eficaz, y eliminación (NMC et al., 1999).

La desinfección de las tetas después de la ordeña con un germicida y tratamiento de todas las vacas con un producto comercial eficaz para vacas secas después de la última ordeña de la lactación son los factores primarios de manejo para controlar los patógenos contagiosos (NMC et al., 1999).

La pobre salud de la piel de la teta puede comprometer la efectividad de desinfección de la teta (NMC *et al.*, 1999).

La identificación y segregación de *Staphylococcus aureus* de las vacas infectadas y después de la última ordeña puede reducir la exposición de las vacas sanas (NMC *et al.*, 1999).

La respuesta de las infecciones clínicas al tratamiento durante la lactación puede ser variable, y las infecciones crónicas típicamente no responden a la terapia antibiótica durante la lactación (NMC *et al.*, 1999).

La eliminación de las vacas infectadas es una medida importante en la reducción de la prevalencia de las infecciones por *Staphylococcus aureus* (NMC *et al.*, 1999).

Tratamiento

Tratamiento de las vacas infectadas con *Staphylococcus aureus*

Las tasas de curación medicamentosa con éxito contra el *Staphylococcus aureus* son de un 50%. Tratamiento durante la lactación: Un tratamiento de la vaca infectada es únicamente importante cuando se realiza poco tiempo después de que ha sido infectado el animal durante la lactación.

Tratamiento en la lactación de vacas infectadas con *staphylococcus aureus* sensible a Penicilina. 3 veces en periodos de 24 horas con 3 millones UI de penicilina G vía intramamaria (tratamiento del / los cuartos infectados) y 3 veces en periodos de 24 horas penicilina procainica (10 mill/5mill UI vía intramuscular) (Sordelli *et al*, 2000).

Tratamiento en la lactación de *Staphylococcus aureus* positivo a penicilinasa. 3 veces en periodos de 24 horas cuando menos 500 mg de Oxacilina o cloxacilina vía intramamaria (tratamiento del /los cuartos infectados) y además vía parenteral mínimo 2 veces en periodos de 24 horas: macrolidos (espiramicina, eritromicina, tilosina base) de 3-5 g por vaca (Sordelli *et al*, 2000).

La mastitis causada por el *Staphylococcus aureus* tiende a comenzar con un episodio clínico agudo el cual se convierte en crónica, y el porcentaje de curación después de una terapia de antibióticos es pobre (Sordelli *et al*, 2000).

Se han empleado las siguientes dosis de infusión intramamaria, administradas diariamente cada 24 horas, intervalos de tres tratamientos (Owens, 1991).

Salvo que se aconseje lo contrario para el tratamiento de casos clínicos de mastitis *Staphylococcus aureus*, con tasas de curación clínica esperadas entre el 30 y el 60% en las vacas en lactación.

Tetraciclinas (400mg).

- Combinación de penicilina y estreptomicina (100000 U-250mg).
- Novobiocina (250mg por infusión en tres administraciones).
- Cloxaciclina sodica (0.2-0.6g en una base de liberación lenta por infusión en tres administraciones cada 12 o 48 horas).

- Combinación de penicilina y tilosina (100000U-240mg).
- Cefalosporinas. La mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus* son resistentes a la cefoxitina y la ceftriaxona, pero sensibles a la cefalotina.

Un tratamiento más caro pero más eficaz, aunque con una tasa de curación de solo el 50% es la infusión intramamaria de amoxicilina y la inyección intramuscular de bencilpenicilina procaína, simultáneamente. (Radostits *et al.*, 2002).

Tratamiento de la mastitis subclínica

- La terapia es redituable solo con medidas adicionales
- Realizar estudios citóbacteriológicos en todo el establo.
- Realizar una terapia a cada animal relacionada con los estudios clínicos.
- Aplicación de fármacos (medicación) única.
- Aplicar dosis altas por varios días.
- Realizar una valoración de la terapia al término de esta.

Tratamiento de la mastitis aguda

El tipo y proporción del tratamiento depende de una serie de factores:

- Inicio de la infección.
- Con o sin síntomas (fiebre, apetito disminuido).
- Cambios en la composición de la leche.
- síntomas inflamatorios (Inflamación, enrojecimiento, dolor).

- Primera infección o cronicidad.
 - Espectro de los agentes patógenos en el hato.
- (Radostits *et al.*, 2002).

Tiempos de tratamientos

- Durante la lactación.
- Tratamiento para secar a las vacas y secado bajo protección de antibióticos.
- Profilaxis es decir terapia para el secado.

Vacunación

Las vacunas contra *Staphylococcus aureus* no pueden controlar esta enfermedad, pero pueden disminuir la severidad de nuevos casos y aumentar la curación espontánea en los hatos donde la mastitis gangrenosa ha sido experimentada (NMC, 1999).

Sin embargo, las vacunas comerciales disponibles hasta la fecha han demostrado una eficacia limitada en condiciones de campo principalmente; debido a la poca información referente a los antígenos relevantes que pueden inducir una inmunización de amplio espectro (Leither *et al.*, 2003).

Hace varias décadas se elaboró un toxoide a base de *Staphylococcus aureus* para inmunizar las vacas contra mastitis causadas por este germen, pero lamentablemente tuvo poco éxito (Andresen, 2001).

Hasta hace poco, la única vacuna que en los últimos años se descubrió que *Staphylococcus aureus*, al infectar la ubre, formaba una pseudo-cápsula microcápsula a base de exopolisacáridos que interfería con la fagocitosis (Andresen, 2001).

Esta pseudo-cápsula no se forma en los cultivos in vitro. Se han desarrollado métodos para elevar la respuesta inmunogénica de los exopolisacáridos, que de por sí es muy débil y protege al germen de los mecanismos de defensa de la ubre (Andresen, 2001).

Esta es la base para las nuevas vacunas contra mastitis por *Staphylococcus aureus*, que resultan en la opsonización y fagocitosis de las bacterias. Sin embargo, aún está por resolverse la identificación de todos los serotipos capsulares causantes de la mastitis para la elaboración de vacunas más efectivas. Casi un 60% de los antígenos capsulares aún no han sido tipificados (Andresen, 2001).

En estas vacunas, como en muchas otras, hay que destacar el rol de los adyuvantes liposomales, formados a base de colesterol y fosfolípidos, que favorecen la fagocitosis (Andresen, 2001).

Conclusiones

Se concluye que la mastitis causada por *Staphylococcus aureus*, es un problema persistente que impacta la producción animal, la salud pública y la economía de la industria lechera en todo el mundo.

El *Staphylococcus aureus* es el agente infeccioso económicamente más importante causante de la mastitis bovina contagiosa, ya que dispone de diferentes factores de patogenicidad los cuales condicionan el efecto de una cepa bacteriana para causar enfermedades.

Debido a su conocida capacidad de supervivencia en el medio ambiente juega un papel importante en la transmisión de infecciones a otras vacas del hato lechero, y a que las pezoneras de la maquina de ordeña, las toallas de papel y las manos del ordeñador son causantes de infección fácilmente de este agente patógeno de vaca a vaca.

Además este patógeno es causante de zoonosis. Puede ocasionar intoxicaciones alimenticias es por eso que por medida de protección no debe encontrarse en la leche que el ganadero vende.

Es importante que se tomen las medidas adecuadas de control, manejo e higiene para mejorar la salud del hato, la producción y la calidad de la leche.

Otra opción para el control de esta enfermedad se esta trabajando, es sobre la elaboración de vacunas que sean verdaderamente eficaces contra *S. aureus* pero no se han obtenido buenos resultados, ya que las vacunas elaboradas no han podido controlar la enfermedad.

Sin embargo se han investigado varios antígenos para producir una buena respuesta de anticuerpos y reducir el número de nuevas infecciones.

La mayoría de estas vacunas se dirigen a reducir las nuevas infecciones intra mamarias, muchos *S. aureus* virulentos producen una pseudocápsula que rodea la bacteria y que la hace inaccesible a los neutrófilos e inhibe la fagocitosis. Esta seria la base para la elaboración de nuevas vacunas para obtener una mejor respuesta del organismo.

Bibliografía Citada

Andresen Hans S.1 Rev Inv Vet Perú 2001. Mastitis Prevención y Control 12(2): 55-64

Almeida RAKR, Matthews E, Cifrian AJ, Guidry and S P, Oliver (1997) a. staphylococcus aureus invasion of bovine mammary epithelial cells. J Dairy sei J. Vet.Med., B.44, 139.

Ariznabarreta, A., Gonzalo, C. San Primitivo F. 2002. Mycrobiological Quality and Somatic cell Count of Ewe Milk with Special Referente to Staphylococci. J. Dairy Sience. 85:1370-1375.

Barkema, H. W., Schukken, Y. H., Lam, T. J. G. M., Beiboer, M. L., Benedictus, G., Brand, A. 1999. Management Practices Associated with the Incidence Rate of Clinical Mastitis. J Dairy Sci. 82:1643–1654.

Barker, A. R., Schrick, F.N., Lewis, M. J., Dowlen, H. H., Oliver, S. P. 1998. Influence of Clinical Mastitis During Early Lactation on Reproductive Performance of Jersey Cows. J Dairy Sci. 81:1285–1290.

Bedolla, C. C., y Castañeda, V. H. 2003. Agentes patógenos causantes de la mastitis bovina. Cuatro Vientos. No. 38. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. pp. 27-29.

Bergonier, D. 2003. Mastitis of dairy small ruminants. Vet. Res. 34(5) 689 – 716.

Bjorland, J., Sunde, M. and Steiner, W. 2001. Plasmid-Borne smr Gene Causes Resistance to Quaternary Ammonium Compounds in Bovine Staphylococcus aureus. Journal of Clinical Microbiology. 39:3999-4004.

Blowey, R. y Edmonson, P. Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche. Acribia. Zaragoza. 1995. 208.

Boerlin, P., Kuhnert, P., Hussy, D., Schaellibaum, P. 2003. Methods for identification for *Staphylococcus aureus* isoates in case of bovine mastitis.

Boulanger. D., Bureau, F., Mélotte. D., Mainil, J., Lekeux, P.2003. Increased Nuclear Factor κ B Activity in Milk Cells of Mastitis-Affected Cows. J. Dairy Sci. 86:1259-1267.

Bradley, J. y Green, J. 2001. Adaptation of *Escherichia coli* to the Bovine Mammary Gland Journal of Clinical Microbiology. 39:1845-1849.

Brooks, G., Butel, J. Morse, S. 2002. Microbiología Médica. 17a ed. El Manual Moderno. 114-118.

Calvinho, L. F., Almeida, R. A. and Oliver, S P. 1998. Potential virulence factors of *Streptococcus dysgalactiae* associated with bovine mastitis Veterinary Microbiology. 61:93-110

Correa, M.G.P., Marin, J.M. 2002. O-serogroups, eae gene and EAF plasmid in *Escherichia coli* isolates from cases of bovine mastitis in Brazil. Veterinary Microbiology. 85:125-132.

Cucarella, C., Tormo, M.A., Knecht, E., Amorena, B., Lasa, I., Foster, T.J. and Penadés, J.R. 2002. Expression of the Biofilm-Associated Protein Interferes with Host Protein Receptors of *Staphylococcus aureus* and Alters the Infective Process. Infection and Immunity. 70:3180 – 3186.

De Mol, R. M. 2000. Chapter 1 “A framework for automated dairy cow status monitoring”. Automated detection of oestrus and mastitis in dairy cows. PhD thesis. Wageningen University, Netherlands: 1-11

Djabri B, Barielle N, Beaudeau F, Seegers H. 2002. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta analysis. Vet. Res. 33:335-357.

Field TR, Ward PN, Pedersen LH, and James A. Leigh JA. 2003. The Hyaluronic Acid Capsule of *Streptococcus uberis* Is Not Required for the Development of Infection and Clinical Mastitis. Infection and Immunity. 71(1):132-139.

Gresham, H. D., Lowrance, J.H., Caver, T.E., Wilson, B.S., Cheung, A.L. and Lindberg, F.P. 2000. Survival of *Staphylococcus aureus* Inside Neutrophils Contributes to Infection. The Journal of Immunology. 164:3713 -3722.

Heringstad, B., Klemetsdal, G., Ruane, J., 2000. Selection for mastitis resistance in dairy cattle: a review with focus on the situation in the Nordic countries. Livestock Production Science. 64:95-106.

Hockett, M. E., Hopkins, F.M., Lewis, M.J., Saxton, A.M., Dowlen, H.H., Oliver, S.P., Schrick, F.N. 2000. Endocrine profiles of dairy cows following experimentally induced clinical mastitis during early lactation. Animal Reproduction Science. 58:241-251.

Hultgren, J. 2002. Foot leg and udder health in relation to housing changes in Swedish dairy herds. Preventive Veterinary Medicine. 53:167-189.

Kerr, D. E., Plaut, K., Bramley, A. J., Williamson, C. M., Lax, A. J., Moore, K. 2001. Lysostaphin expresion in mammary glands confers protection against staphylococcal infection in transgenic mice. Nature Biotechnology. 19:66-70.

Leither, G., Lubas Heusky, E., Trainin, Z. 2003 *Staphylococcus aureus* vaccine against mastitis in dairy cows, composition and evaluation of its immunogenicity in a mouse model. Vet. Immunol immunopathol. 93(3-4):159-67.

Menzies, P.I., Ramanoon, S. Z. 2001. Mastitis of sheep and goats. Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice. 17(2):333-358.

Merck & CO. 2000. *El Manual Merck de Veterinaria*. 5ª ed. Editorial Océano. Barcelona. Pp. 457-459

Middleton, J. R., Fox, L. K., Gay J. M., Tyler, J. W. and Besser, T. E. 2002. Influence of *Staphylococcus aureus* Strain-type on Mammary Quarter Milk Somatic Cell Count and N-acetyl- β -D-glucosaminidase Activity in Cattle from Eight Dairies. *Journal Dairy Science*. 85:1133 –1140.

National Mastitis Council, NMC. 1999. *Laboratory Handbook on Bovine Mastitis*. Revised Edition. NMC. Madison. 222.

Persson, WK. 2003. *J Vet. Med. B. Infect Dis Vet public Health*. Intramammary infusion of beta 1-3 glucan for prevention and treatment of *S. aureus* mastitis. 50(3); 121-7.

Phuektes, P., Mansell, P.D., Dyson, R. S., Hooper, N. D., Dick, J. S. and Browning G. F. 2001. Molecular Epidemiology of *Streptococcus uberis* Isolates from Dairy Cows with Mastitis. *Journal of clinical Microbiology*. 39: 1460-1466.

Radostits, O.M., Gay Clive C., Blood., D.C. and Hinchcliff., K. W. 2002. *Medicina Veterinaria; tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. (9º Ed.) (Vol. 1). Ed. McGraw – Hill Interamericana. Madrid, España, pp 711 -718.

Radostits, Otto, m., Clive, Gax, Dugas, C. Brood, Kenneth, w. 1999. *Medicina veterinaria mastitis bovina*. Mc Graw Hill Interamericana. 712- 715.

Rainard, P. Corrales, C., Bere, M., Cochard, Th., Poutrel, B. 2003. Leucotoxins las actividades de *Staphylococcus aureus* tenciones aisladas en vacas ovejas y cabras con mastitis: importancia del LukM/LukF-pv- Leucotoxins. *Diagnóstico de laboratorio e inmunología clínica*. 10 (2); 272-277.

Riffon, R., Sayasith, K., Khalil, H., Dubreuil, P., Drolet, M. y Lagace Roberson, J. R. *et al*. 2001. *J.Dairy Sci*. 77, 3354.

Rossitto P. V, Ruiz L, Kikuchi Y, Glenn K, Ruiz K, Watts J. L. and Cullor J. S. 2002. Antibiotic susceptibility patterns for environmental streptococcus isolated from bovine mastitis in central California dairies. *J. Dairy Science*. 85:132-138.

Schrack, F. N., Hockett, M. E., Saxton, A. M., Lewis, M. J., Dowlen, H. H., Oliver, S. P. 2001. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J. Dairy Sci*. 84:1407-1412.

Sordelli, D. O., Buzzola, F. R., Gomez, M. I., Steele-Moore, L., Berg, D., Gentilini, E. Catalano, M., Reitz, A. J., Tollersrud, T., Denamiel, G., Jeric, P. and Lee, J. C. 2000. Capsule Expression by Bovine Isolates of *Staphylococcus aureus* from Argentina: Genetic and Epidemiologic Analyses. *Journal of Clinical Microbiology*. 38: 846-850.

Takeuchi S, Maeda T, Hashimoto N, Imaizumi K, Kaidoh T, Hayakawa Y. Variation of the agr locus in *Staphylococcus aureus* isolates from cows with mastitis. *Veterinary microbiology* 2001; 79:267-274.

Tollersrud, T., Kenny, K., Reitz, A, J. Jr. And Lee, J.c. 2000. Genetic and Serologic Evaluation of Capsule Production by Bovine Mammary Isolates of *Staphylococcus aureus* and Other *Staphylococcus* spp. From Europe and the United States. *Journal of clinical microbiology*.

Vadillo, S., Piriz, S., Mateus, E. 2002. Manual de microbiología veterinaria. Mc Graw Hill. Madrid. 431-439.

Wellenberg, G. J., van der Poel, W.H.M and Van Oirschot, J. T. 2002. Viral infections and bovine mastitis: a review. *Veterinary Microbiology*, Article 2361, pp. 2-21.

Wolter, W., Castañeda, H., Kloppert, B., Zschöck, M. 2000. La Mastitis Bovina. IEIH-U. De G. México. : 68.

Wolter, W. Castañeda, H. Kloppert, B. Zschöck, M. 2004. Mastitis Bovina, Prevención, Diagnóstico y Tratamiento. Editorial Universitaria, 1ª Edición, Guadalajara, Jalisco. Pp. 132-138.

Zadoks, R.N, B.E. Gillespie, H.W. Barkeman, O.C. Sampimon, S. P. Oliver. And y H. Schukken. 2002. Clinical, epidemiological and molecular characteristics of *Streptococcus uberis* infections in dairy herds. 130:335-349.