

Asociación entre patógenos y recuento electrónico de células somáticas en cuartos con mastitis subclínica en fincas lecheras del estado Lara, Venezuela.

Association between pathogens and electronic somatic cell count in quarters with subclinical mastitis in Lara state dairy farms, Venezuela.

¹Rodríguez-Guillén L., ²Torres A., ¹González Z., ³Perazzo Y.

¹Área de Microbiología, Higiene e Inspección de Alimentos de origen animal. Departamento de Salud Pública. Decanato de Ciencias Veterinarias. UCLA.

²Área de Producción. Departamento de Producción Animal y Tecnología. Decanato de Ciencias Veterinarias, UCLA.

³Área de Microbiología e Inmunología Animal. Departamento de Salud Pública. Decanato de Ciencias Veterinarias, UCLA. Núcleo "Héctor Ochoa Zuleta", DCV, Edif. B. Lab. Área de Bromatología y Microbiología. Tarabana, 3023, Telf 0251-259.2441. E-mail: lualkarodriguez@ucla.edu.ve

RESUMEN

Mediante la Prueba de California para Mastitis (CMT por sus siglas en inglés California mastitis test) se evaluaron 3.008 cuartos pertenecientes a 752 vacas metizas de las razas Carora y Holstein en producción, ubicadas en 4 fincas lecheras de los Municipios Jiménez y Torres del Estado Lara. Se tomaron 444 muestras de leche por duplicado, de aquellos cuartos que resultaron positivos 2 y 3 al CMT, para aislar patógenos mastitogénicos asociados a infección intramamaria, evaluar la resistencia a antimicrobianos y determinar el recuento electrónico de células somáticas (RECS). En 48,8% de las muestras de leche se logró el aislamiento de algún patógeno, de los cuales *Corynebacterium* spp. fue aislado en 20,6% de ellas siendo el principal patógeno involucrado, seguido por *Corynebacterium bovis* en 8,8% y *Staphylococcus* coagulasa negativa en 6,5%. El total de las infecciones causadas por el género *Streptococcus* fueron de baja frecuencia (*S. uberis* 4,5%, *S. dysgalactiae* 1,8% y *S. agalactiae* 1,8%) las cuales resultaron resistentes a neomicina, gentamicina, tetraciclina y cefalosporinas. mientras que *Staphylococcus aureus*, aislado en el 1,4% de las muestras, resultó resistente a ampicilina, penicilina, novobiocina y amoxicilina. El promedio del RECS de las 4 fincas resultó en 1.293×10^3 células/ml ($\pm 1.041,92$). Aun cuando el análisis estadístico no demostró diferencias significativas de los RECS entre las fincas, se pudo determinar que características epidemiológicas (patógenos contagiosos y ambientales) y tipo de respuesta celular de los patógenos que originan las infecciones intramamarias (patógenos mayores y menores) ejerce efecto significativo sobre los RECS ($p < 0,001$).

Palabras clave: Mastitis subclínica, Bovino, RECS, infección intramamaria.

ABSTRACT

A total of 3,008 quarters from 752 dairy cows were tested using the California mastitis test (CMT), in four dairy farms from Jimenez and Torres counties at Lara state. Duplicate milk samples (444) were obtained from all quarters with CMT positive 2 and 3 to diagnose of intramammary infections (IMI), to evaluate antimicrobial resistance, and to determine electronic somatic cell count (SCC). Mastitis pathogens were isolated from 48.8% quarter milk samples, with *Corynebacterium* spp. as the most commonly isolated pathogen (20.6%), followed by *Corynebacterium bovis* (8.8%), and coagulase negative *Staphylococcus* (CNS, 6.5%). *Streptococci* showed a low frequency in milk samples (*S.uberis* 4,5%, *S. dysgalactiae* 1,8% , and *S. agalactiae* 1,8%) and were resistant to neomycin, gentamicin, tetracycline and cephalosporin. *Staphylococcus aureus* was isolated from 1.4% of the samples, showing resistant to ampicillin, penicillin, novobiocin and amoxicillin. The overall mean of SCC was $1,293 \times 10^3$ cells/ml ($\pm 1,041.92$). Even though there was no differences between farm's SCC, epidemiology of pathogens (i.e. contagious and environmental) and type of pathogens (i.e. minor or major) had a significant effect on SCC ($P < 0.001$).

Key words: subclinical mastitis, bovine, SCC, intramammary infection.

INTRODUCCIÓN

La mastitis se define como la inflamación de la glándula mamaria en respuesta a traumas o más comúnmente a la invasión de la ubre por microorganismos que, generalmente, ganan acceso a través del esfínter del pezón [1]. El recuento de células somáticas (RCS) es una herramienta que hace referencia al número de células epiteliales de descamación del interior de la ubre, consecuencia de la renovación periódica del tejido (2%) y por leucocitos o glóbulos blancos (98%) que proceden de la sangre y linfa. El recuento celular aumenta como consecuencia del proceso de migración leucocitaria hacia los epitelios, o en casos de infección por el aumento de la respuesta inmune celular inespecífica, en proporción directa con la severidad del cuadro infeccioso, de tal manera que su cuantificación constituye uno de los parámetros de mayor interés para determinar el estado sanitario de la ubre y la calidad de la leche [2]. Los cambios patológicos y fisiológicos que ocurren en la glándula mamaria durante las infecciones intramamarias (IIM), junto con la identificación de organismos patógenos involucrados, constituyen los criterios básicos para el diagnóstico de mastitis según recomendaciones de la Federación Lechera Internacional (IDF, por sus siglas en inglés) [3]. Bien sea acompañada por signos clínicos o no, la IIM está asociada con incrementos en el RCS en la leche. Cerca de 150 agentes etiológicos han sido asociados con cuadros de mastitis [4], basados en la epidemiología de la infección se pueden dividir en 2 grupos patógenos contagiosos y patógenos ambientales [5] y según la respuesta celular que se produce se pueden clasificar en patógenos mayores y menores [6,7]. Así encontramos, entre patógenos contagiosos mayores *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Mycoplasma* spp. mientras *Corynebacterium bovis* es considerado patógeno contagioso menor [7]. Dentro de los patógenos ambientales se encuentran los bacilos Gram negativos como *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Pseudomonas* spp., y *Proteus* spp., además de algunas bacterias Gram positivas como *Str. uberis*, *Str. dysgalactiae* y *Enterococcus* spp. [7,8]. Sin embargo en los últimos años se han podido observar cambios en la frecuencia de aparición de algunas especies, por ejemplo la introducción de medidas de control como la terapia de vacas secas, ha influido notablemente en la disminución de la prevalencia de *Streptococcus agalactiae* en tanto que la prevalencia de estreptococos ambientales e incluso *Staphylococcus coagulasa negativa* (SCN) han sufrido considerables aumentos [9,10,11]. *Corynebacterium bovis*, que en el pasado eran consideradas bacterias no patógenas para la glándula mamaria, son aisladas ahora con mayor frecuencia incluso en casos de mastitis clínicas

[12,13,14]. Mientras que *Escherichia coli*, agente asociado principalmente con casos severos de mastitis aguda son más frecuentes ahora en muestras de mastitis subclínica [15].

Aún cuando RCS sobre las 200.000 células/ml indica presencia de mastitis subclínicas, recuentos por debajo de 400.000 células/ml son típicos de fincas que poseen buenas prácticas de manejo, pero que no hacen un particular énfasis en el control de la mastitis. Las fincas que poseen un programa de control efectivo de la mastitis poseen en forma frecuente recuentos por debajo de las 100.000 células/ml [16], aunque algunas investigaciones consideran que hay indicio de enfermedad cuando el conteo supera las 250.000 cel/ml otros aseguran que en condiciones prácticas, leche con menos de 300.000 cel/ml es leche normal de cuartos sanos. En caso de ausencia de infección mamaria los valores pueden oscilar entre 200 y 300.000 cel/ml, mientras que recuentos superiores a 800.000 cel/ml suelen estar asociados a infecciones persistentes [17].

El presente estudio se propuso identificar el efecto que ejercen los patógenos mastitogénicos al asociar su presencia en muestras de leche provenientes de cuartos con mastitis subclínica grado 2 y 3 al CMT sobre el recuento electrónico de células somáticas (RECS) en 4 fincas lecheras del Estado Lara, entre los meses de Julio 2008 a Enero 2009, de acuerdo a la epidemiología de los patógenos y respuesta celular inducida por los mismos en la glándula mamaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

La población de este estudio estuvo representada por un total de 10 fincas comerciales con 2.410 vacas mestizas de las razas Carora (*Bos taurus*) y Holstein (*Bos taurus*) en producción ubicadas entre los municipios Jiménez y Morán del Estado Lara. Se seleccionaron a través de un muestreo aleatorio simple 4 fincas lecheras, con un total de 752 animales en producción. Todas las fincas realizaban ordeño mecánico. El CMT, con resultados positivos grados 2 y 3 fue utilizado como criterio de inclusión, para muestrear por duplicado estos cuartos de vacas sin manifestaciones clínicas aparentes de enfermedad en diferentes estadios de la lactancia durante el ordeño de la tarde.

Cultivos microbiológicos: Las muestras de leche fueron examinadas microbiológicamente como lo recomienda Oliver y col. [18] según las normas recomendadas por la Federación Internacional de Leche (F.I.L., 1982) y el Consejo Nacional de Mastitis [19]. Los resultados obtenidos en los medios de cultivos fueron interpretados según los criterios propuestos por Scaramelli y col. [20]. Basados en los

resultados obtenidos en muestras pareadas, un cuarto fue considerado positivo si el mismo patógeno se aislaba en ambas muestras obtenidas del mismo cuarto [18].

Sensibilidad bacteriana: Para evaluar la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos se empleó la técnica de Kirby-Bauer estandarizada según el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 1998). Cada especie bioquímicamente diferenciada fue ajustada a una turbidez equivalente a 0,5 según la escala de McFarland (correspondiente $1,5 \times 10^8$ ufc/mL), inoculada y sus resultados interpretados clasificándolos en sensible (S), intermedio (I) y resistente (R).

Recuento electrónico de células somáticas: La concentración de células somáticas en la leche fue estimada por medio del Fossomatic Minor®, equipo que utiliza un método fluoróptico electrónico. El material nuclear (ADN) de cada célula se tiñe usando bromuro de etidio, el cual forma un complejo fluorescente que al ser excitado por medio de un haz de luz produce un pulso eléctrico que se amplifica y se registra [21]. Debido a que el colorante solo reacciona con el material nuclear, las impurezas, partículas de sucio y glóbulos de grasa no interfieren con el recuento. Entre cada muestra, el equipo realiza labores automáticas de limpieza para evitar efecto de arrastre de una muestra a la siguiente.

Análisis estadístico: Se realizó estadística descriptiva de los resultados de acuerdo al grupo de patógenos aislados, clasificados de acuerdo a su epidemiología y al grado de inflamación que producen, en las muestras de cuarto mediante la distribución de frecuencia. Debido a la distribución sesgada y la heterogeneidad de las varianzas que caracteriza la distribución típica del RECS [22], se empleó la transformación logarítmica para obtener el puntaje del RECS ($SRECS = \log_{base 2} [RECS/100.000] + 3$) [23] para realizar el análisis estadístico. El SRECS fue modelado utilizando el procedimiento de mediciones repetidas (PROC MIXED) en SAS® 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), considerando la presencia de correlación entre las muestras obtenidas de la misma vaca y de la misma finca de acuerdo al siguiente modelo lineal con dos etapas [24]: Modelo de regresión lineal: $Y_i = Z_i \hat{\alpha}_i + \hat{a}_i$. Donde: Y_i son todas las mediciones del RCS observado en cada cuarto del sujeto i , Z_i es la matriz $n_i \times q$ de las covariables conocidas, $\hat{\alpha}_i$ es el vector de coeficientes específicos para cada sujeto y \hat{a}_i son los errores generalmente distribuidos con $N(0, \sigma^2)$. Modelo de los parámetros: $\hat{\alpha}_i = K_i \hat{a} + b_i$. Donde: K_i es la matriz $q \times p$ de las covariables conocidas, \hat{a} es el vector $p \times 1$ de los parámetros de regresión desconocidos y b_i son independientes $N(0, D)$.

Para ajustar la no-independencia de las

observaciones dentro de vacas, cuatro estructuras de correlación fueron probadas (simetría compuesta, componente de varianza, autoregresiva de primer orden y sin estructura). El efecto de la finca fue incluido en los modelos como efecto fijo. Una vez obtenido el modelo estadístico el SRECS fue transformado de nuevo a RECS para su interpretación mediante la siguiente fórmula: $RECS = 2^{(SRECS-3)} \times 100.000$.

RESULTADOS

Un total de 752 vacas (3.008 cuartos) en producción fueron evaluadas, de las cuales un 14,8% (444 cuartos) cumplieron con el criterio de inclusión positivos al CMT grados 2 y 3 (Tabla I), y por tanto fueron sometidos a análisis de cultivo bacteriológico, prueba de sensibilidad antimicrobiana y RECS.

En 48,2% de las muestras de leche analizadas no se observó ningún crecimiento bacteriano, mientras que los patógenos aislados con mayor frecuencia fueron los patógenos menores (35,59%) *Corynebacterium* spp (20,6%), *C. bovis* (8,8%) y SCN (6,5%). El total de las infecciones causadas por el género *Streptococcus*, diferentes al *S. agalactiae*, fueron de baja frecuencia (6,08%) y *S. agalactiae* 1,8% mientras que sólo en 1,4% de las muestras se pudo aislar el *S. aureus* (Tabla II). Resulta interesante observar en este estudio cómo se produjeron cambios en el aislamiento de patógenos en cada visita, *S. aureus* se aisló en las 4 fincas durante la primera visita solamente, contrario a lo que se observó con *Corynebacterium* spp. el cual se logró aislar en las 4 fincas solamente durante la segunda visita, mientras que la frecuencia de *C. bovis* disminuyó en la segunda visita con respecto de la primera. Esto podría resultar de las modificaciones realizadas en el programa de control y prevención sin embargo, algunos autores sugieren además un efecto protector de los cuartos infectados con *Corynebacterium bovis* sobre infecciones subsecuentes producidas por patógenos mayores [25,26].

Las pruebas de sensibilidad *in vitro* realizadas demostraron que de las 50 cepas analizadas, 76% (38) mostraron resistencia cuando fueron enfrentadas a un grupo de antibióticos. Sólo el 18,4% (7/38) fueron resistentes a un (1) único antibiótico (tetraciclina), 50% (19/38) lo hicieron frente a un grupo de 2 antibióticos (11 contra neomicina y gentamicina; 6 contra cefalosporinas y oxitetraciclinas; 2 contra tetraciclina y ampicilina) y el 31,6% (12/38) restante demostraron resistencia a un grupo de 3 ó más tipos de antibióticos (Gráfico I). Las cepas pertenecientes al género *Streptococcus* analizadas mostraron resistencia a algún tipo de antibiótico en 76,32% (29/38), frente al antibiótico tetraciclina se observó una

Procedencia	1ª. Visita		2ª. Visita	
	Animales	Cuartos	Animales	Cuartos
Finca 1	58/260 (22,31%)	82	50/260 (19,23%)	92
Finca 2	19/72 (26,38%)	30	25/72 (34,72%)	44
Finca 3	30/190 (15,78%)	43	35/190 (18,42%)	54
Finca 4	37/230 (16,08%)	55	22/230 (9,56%)	44
Total	144/752 (19,15%)	210	132/752 (17,55%)	234

Tabla I: Número de animales y cuartos¹ con muestras de leche positivas grado 2 y 3 a la Prueba de California para Mastitis en cuatro fincas lecheras del Estado Lara². ¹Se tomaron muestras por duplicado de cada cuarto. ²Porcentaje de animales de cada finca con cuartos positivos en paréntesis.

resistencia de 24, 14% (7/29), un 51,72% (15/29) resultaron resistentes frente a dos antibióticos siendo 9 de ellas resistentes a Neomicina y Gentamicina, mientras que las restantes 6 mostraron resistencia a Cefalotina y Oxitetraciclina, y finalmente otro 24,14% (7/29) mostraron resistencia frente a un grupo de 3 ó más antibióticos, los cuales incluyeron Penicilina, Gentamicina, Novobiocina y Cefoperazone. De las 6 cepas de *S. aureus* que se aislaron, el 67% (4/6) demostró resistencia a los antibióticos ampicilina y penicilina mientras que el 33% (2/6) lo hizo además a los antibióticos novobiocina y amoxicilina.

Al realizar el análisis estadístico descriptivo del RECS se observó que el promedio entre las 4 fincas resultó en 1.293×10^3 células/ml, con una mediana de 1.065×10^3 células/ml (mínimo 4×10^3 células/ml y máximo de 5.738×10^3 células/ml), siendo el valor de la desviación estándar de 1.042×10^3 células/ml. Al clasificar las IIM considerando la epidemiología de los patógenos, en contagiosos y ambientales, se observó un efecto altamente significativo de las IIM sobre SRECS en el modelo estadístico ($P < 0,001$), siendo el promedio ajustado del SRECS de $5,89 \times 10^3$ cel/ml entre las 4 fincas de origen (Resultados del modelo final no mostrados). No se observó diferencia significativa al comparar los RECS de las 4 fincas ($P=0,0549$), sin embargo, al incluir en el modelo la interacción IIM-finca la misma fue significativa ($P=0,0062$), por lo que el efecto del tipo de patógeno sobre el SRECS dependerá de la finca de origen (Tabla III). Cuando se clasificaron los patógenos que originan las IIM, según la respuesta celular inducida, en mayores y menores para cada una de las fincas en estudio, se

pudo observar de manera general que si existían diferencias significativas en el SRECS entre las fincas como variables fijas ($P=0,0472$), altamente significativas entre los diferentes tipos de respuesta celular que originan los patógenos causantes de IIM ($P < 0,0001$) y entre las interacciones IIM-finca ($P=0,0015$), dependiendo el efecto del tipo de patógeno sobre el SRECS de la finca de origen (Tabla IV).

DISCUSIÓN

El presente estudio determinó el marcado predominio de patógenos contagiosos, demostrando que la mastitis de tipo contagiosa es un problema persistente en estas unidades de producción, en las cuales probablemente se ha propagado fácilmente debido a malas prácticas en la implementación de programas de prevención y control. Se observó una mayor distribución para patógenos contagiosos menores como *C. bovis* y patógenos oportunistas como SCN, similar a lo reportado en Finlandia por Haltia y col. [27], quienes aislaron *C. bovis* en el 14,6% y SCN en el 4,9% de sus muestras. De la misma forma Tenhagen [28], en Alemania reportó SCN en 9,1% y *C. bovis* en 7,3%, mientras que en Colombia el equipo de Calderón y col. [29], aun cuando demostraron mayor prevalencia para patógenos mayores también observaron SCN en 11,75% de sus cultivos bacterianos y *C. bovis* en 8,44% de ellos. El grupo de Trujillo [30], determinaron en Colombia que *S. dysgalactiae* fue la bacteria más común (29.5%), seguido por SCN (23%) y *S. aureus* (10.3%). En Venezuela, son pocos los reportes sobre características microbiológicas de la mastitis,

Patógenos	Finca 1 (n=174)	Finca 2 (n=74)	Finca 3 (n=97)	Finca 4 (n=99)	Total (n=444)
Sin crecimiento	85 (48,85)	45 (60,81%)	48 (49,48%)	36 (36,36%)	214 (48,20)
Patógenos menores ¹	58 (33,33)	24 (32,43)	32 (32,99)	44 (44,44)	158 (35,59)
<i>Staphylococcus aureus</i>	2 (1,15)	2 (2,70)	1 (1,03)	1 (1,01)	6 (1,35)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2 (1,15)	0	0	6 (6,06)	8 (1,80)
<i>Streptococcus spp.</i> ²	9 (5,17)	0	8 (8,25)	10 (10,10)	27 (6,08)
<i>Enterococcus spp.</i>	1 (0,57)	0	3 (3,09)	0	4 (0,90)
Coliformos ³	1 (0,57)	3 (4,05)	1 (1,03)	0	5 (1,13)
Levadras	2 (1,15)	0	3 (3,09)	4 (4,04)	9 (2,03)
Cortaniridas	20 (11,49)	2 (2,70)	2 (2,06)	1 (1,01)	25 (5,63)
Total aislamientos	75 (43,10)	29 (39,19)	48 (49,48)	65 (65,65)	217 (48,87)

Tabla II: Número y porcentaje de patógenos (en paréntesis) aislados en muestras de leche de cuartos positivos grado 2 y 3 la Prueba de California para Mastitis en cuatro fincas lecheras del Estado Lara. ¹*Staphylococcus coagulasa negativa, Corynebacterium spp. y Corynebacterium bovis.* ²*Streptococcus uberis y S. dysgalactiae.* ³*Escherichia coli y Klebsiella spp.*

algunos de los cuales arrojan diferentes resultados. Por ejemplo Aranguren [31] en el estado Lara, observó en su estudio una frecuencia de 20% para *S. agalactiae* y 10% de SCN en muestras de leche provenientes de bovinos con mastitis subclínica en el Municipio Jiménez. En el Zulia, Farías y col. [32] reportaron 40% para *Staphylococcus coagulasa positiva* (SCP) y 28% para SCN, en muestras provenientes de ordeño mecánico además del 40% de SCN y 20% de *Corynebacterium spp.* en muestras provenientes de ordeño manual, mientras que el grupo de Valero-Leal [33] pudo identificar *S. agalactiae* (26%), SCN (23%), *Streptococcus spp.* (20%) y *S. aureus* (17%).

El alto porcentaje de infecciones por SCN, ha sido reportado como un problema en Chile. Los SCN han sido considerados tradicionalmente como flora normal de la piel que pueden causar mastitis como bacterias oportunistas [34]; sin embargo, diferentes investigadores sostienen que su rol como agentes etiológicos de mastitis bovina no está completamente claro, ya que, así como incrementan el RCS en la glándula mamaria, alterando la calidad de la leche también contribuyen a mantener elevada la barrera leucocitaria previniendo la colonización de otros

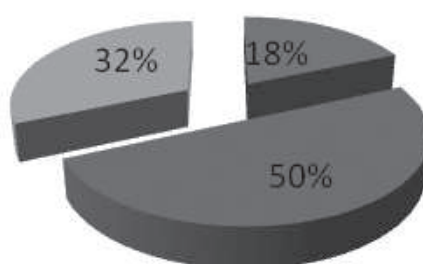
patógenos mamarios [35,36].

Dentro de los antimicrobianos más utilizados en la mastitis clínica en Venezuela están los probados en este estudio; sin embargo, el inapropiado uso de estos fármacos a través de los años ha inducido la aparición de microorganismos patógenos multiresistentes. Al igual que en estudios realizados en Chile por San Martín [34], existen indicadores que muestran alarmantes niveles de resistencia de SCN y SCP a betalactámicos; de igual modo para los demás grupos de antimicrobianos. El patrón de sensibilidad exhibido por los patógenos comúnmente aislados en esta investigación fue variable, para el caso de *Streptococcus spp.* se determinaron elevados porcentajes de resistencia a los antibióticos utilizados, esto obliga a tener como estrategia una mejor asepsia durante el ordeño.

El promedio del RECS observado en el presente estudio (1.293×10^3 células/ml), concuerda con trabajos anteriores en nuestro país, donde se reportan promedios elevados de recuentos en muestras provenientes de ordeño mecánico las que podían llegar hasta las 7.966×10^3 células/ml [32]. De la misma forma en Colombia [30], se reportaron promedios de

Figura I: Porcentaje de Resistencia de las cepas analizadas por pruebas de sensibilidad provenientes de leche de cuartos positivos grado 2 y 3 al CMT en cuatro fincas lecheras del Estado Lara.

- Grupo de 1 antibiótico(tetraciclina)
- Grupo de 2 antibióticos:(Neo+Gent), (Cef+Oxit), (Tetrac+Amp)
- Grupo de 3 o más antibióticos



células somáticas de 1.105×10^3 células/ml, los cuales resultaron mayores que los obtenidos en otros países de América Latina como Brasil, Chile, y Perú cuyos promedios de recuentos están entre 145 a 796×10^3 células/ml [34].

Los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran además, diferencias en el comportamiento epidemiológico y el tipo de respuesta celular que los patógenos inducen durante las IIM en cada una de las fincas estudiadas. Estos resultados sugieren que en cada finca pueden presentarse factores específicos que afectan el RECS y el comportamiento de las IIM, lo cual concuerda con trabajos anteriores, donde se ha analizado el correcto sellado de los pezones al finalizar el ordeño, aplicación de antibióticos al momento del secado, la higiene durante el ordeño y la regularidad en la aplicación del CMT. En general, ha sido bien estudiado el comportamiento de los recuentos dependiendo del tipo de patógeno responsable de la IIM [37]. En cuanto al tipo de ordeño, también se ha estudiado el efecto sobre RECS lo cual podría obedecer a diversos factores, entre ellos a un diseño de las máquinas que no les permita adaptarse a las características del pezón y la ubre, y al bajo volumen de producción de leche que caracteriza a la ganadería mestiza en algunas zonas del país [32].

En todas las unidades de producción objeto de este estudio se pudo observar el incumplimiento de las

normas higiénicas en la rutina de ordeño, tales como fallas mecánicas o mala utilización de equipo de ordeño, ausencia de presellado, lavado de las ubres en la sala de ordeño, falta de aislamiento de animales sintomáticos, lo cual podría incidir en el problema de mastitis bovina en la zona. Aun cuando ha sido bien estudiado el efecto que sobre los RCS ejercen la edad, el número de partos y los días en lactancia [26], éstos no fueron tomados en consideración por inconsistencias en los registros de las fincas. En conclusión se demostró que considerando la epidemiología de los patógenos, y de igual manera según el grado de respuesta celular que inducen, se observó un efecto altamente significativo de las IIM sobre el SRECS dependiendo de la finca de origen. Los patógenos menores fueron aislados con mayor frecuencia. Las cepas del género *Streptococcus* resultaron resistentes a neomicina, gentamicina, tetraciclina y cefalosporinas, mientras *S. aureus* resulto altamente resistente a ampicilina, penicilina, novobiocina y amoxicilina.

AGRADECIMIENTO

Este estudio se llevó a cabo con financiamiento del CDCHT-UCLA. Al laboratorio de Bromatología y Microbiología de Alimentos del DCV por el RECS. Al profesor Franklin Mujica (QEPD) por sus valiosas

Finca	SRECS S ³	RECS S	SRECS C ⁴	RECS C	SRECS A ⁵	RECS A
1	5,3 ^{a,b}	492	5,8 ^{a,d}	696	6,3 ^{c,d}	984
2	4,8 ^{a,b}	348	6,9 ^{a,d}	1.492	6,7 ^{c,d}	1.299
3	5,4 ^{a,c}	527	7,4 ^{b,e}	2.111	7,4 ^{d,e}	2.111
4	5,9 ^{a,b}	746	6,3 ^{a,d}	984	6,7 ^{c,d}	1.299

Tabla III: Estimado del efecto del tipo de patógenos, clasificados según su epidemiología, en el SRCES¹ y recuento electrónico de células somáticas (RECS) por finca según los resultados del modelo final² (x10³ cel/ml) ¹Puntaje del RECS. ²RECS determinado en muestras duplicadas de leche de cuartos grado 2 y 3 al CMT.³Cuartos sin crecimiento bacteriano.⁴Patógenos contagiosos (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Corynebacterium bovis*).⁵Patógenos ambientales (*Staphylococcus coagulasa negativa*, *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp. diferentes al *S. agalactiae*, *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. y Levaduras). ⁶Letras diferentes indican diferencias significativas entre fincas para la misma variable ($p < 0,05$).

observaciones.

BIBLIOGRAFIA

[1]National Mastitis Council. Current Concepts of Bovine Mastitis. 4th Edition. Mastitis control in dairy herds. 1996. NMC, Madison WI. p 229-277.

[2]Cerón-Muñoz MF.; Agudelo EJ.; Maldonado-Estrada, JG. Relación entre el recuento de células somáticas individual o en tanque de leche y la prueba de CMT en dos hatos lecheros del departamento de Antioquia (Colombia). 2007. Rev Colom Cienc Pecu. 20:472-483.

[3]Pyorala, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. 2003. Vet Res. 34:565 -578.

[4]Watts, LJ. Etiological agents of bovine mastitis. 1988. Vet Microbiol. 16: 41-66.

[5] Sommerhäuser, J., Kloppert, B., Wolter, W., Zschöck, M., Sobiraj, A., Failing, K.

The epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections from subclinic mastitis in dairy cows during a control programme. 2003. Vet Microbiol 96: 91-102.

[6] Ariznabarreta, A., Gonzalo, C., San Primitivo, F. Microbiological quality and somatic cell count of ewe milk with special reference to staphylococci. 2002. J Dairy Sci. 85: 1370-75.

[7] Ferguson, JD.; Azzaro, G.; Gambina, M.; Licitra, G. Prevalence of mastitis pathogens in Ragusa, Sicily

from 2000 to 2006. 2007. J Dairy Sci 90 (12):5798 - 813.

[8] Park, Y., Koo, H., Kim, S., Hwang, S., Jung, W., Kim, J., Shin, S., Kim, R., Park, Y.H. The analysis of milk components and pathogenic bacteria isolated from bovine raw in Korea . 2007. J Dairy Sci 90: 5405-14.

[9]Bradley, A. Bovine Mastitis: an evolving disease. 2002. Vet J. 64: 116-128.

[10]Macovec JA y PL Ruegg. Result of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2001. 2003. J Dairy Sci 86: 3466-72.

[11]Pitkälä A, Haven M, Pyörälä S, Myllys V, Honkanen- Buzalsky T. Bovine mastitis in Finland 2001- Prevalence distribution of bacteria and microbial resistance. 2004. J Dairy Sci 87: 2433-41.

[12]D'jabri, B.; Bareille, N.; Beaudou, F.; Seegers, H. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. 2002. Vet Res. 33: 335-357

[13]Malinowski, E.; Klossowska, A.; Kaczmarowski, M.; Kotowski, K.; Nadolny, M.; Kuzma, K. Health status of mammary glands and etiological agents of mastitis in herds with a high somatic cell count. 2003. Medycyna Vet. 59: 128-32.

[14]Myllys, V.; Asplund, K.; Brofeldt, E.; Hirvelä-Koski, V.; Honkanen-Buzalski, T.; Junntila, J y col. Bovine mastitis in Finland in 1998 and 1995- changes in prevalence and antimicrobial resistance. 1998. Acta

Finca	SRECS S ³	RECS S	SRECS m ⁴	RECS m	SRECS M ⁵	RECS M
1	5,3 ^{a,b}	492	6,1 ^{a,d}	857	6,9 ^{c,d}	1.492
2	4,8 ^{a,c}	348	6,7 ^{b,d}	1.299	7,1 ^{c,d}	1.714
3	5,4 ^{a,c}	527	7,3 ^{b,e}	1.969	7,6 ^{d,e}	2.425
4	5,9 ^{a,b}	746	6,2 ^{a,d}	918	7,2 ^{c,d}	1.837

Tabla IV: Estimado del efecto del tipo de patógenos, clasificados según la respuesta celular inducida, en el SRCES¹ y recuento electrónico de células somáticas (RECS) por finca según los resultados del modelo final² ($\times 10^3$ cel/ml).¹Puntaje del RECS. ² Determinado en muestras de leche de cuartos grado 2 y 3 al CMT. ³Cuartos sin crecimiento bacteriano. ⁴Patógenos menores (*Staphylococcus coagulasa negativa*, *Corynebacterium* spp. y *C. bovis*). ⁵Patógenos mayores (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., Levaduras). ⁶Letras diferentes indican diferencias significativas entre fincas para la misma variable ($p < 0,05$).

Vet Scand. 39:119-26.

[15]Malinowski, E.; Lassa, H.; Klossowska, A.; Markiewicz, H.; Kaczmarowski, M.; Smulski, S. Relationship between mastitis agents and somatic cell count in foremilk samples. 2006. Bull Vet Inst Pulawy 50:349-352.

[16]García, AD. Células somáticas y alto recuento bacteriano. Como controlarlo? 2004. J Dairy Sci. 4031-35.

[17]Ramírez, N., Gaviria, G., Arroyave, O., Sierra, B., Benjumea, J. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia. Colombia. 2001. Rev Col Cienc Pec Vol. 14: 1.

[18] Oliver, P. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. National Mastitis Council. 2004. Fourth edition. US

[19] Hogan, JS.; Galton, RJ.; Harmon, SC.; Nickerson, SP.; Oliver, SP.; Pankey, JW. Protocols for evaluating efficacy post-milking teat dips. 1990. J Dairy Sci 73: 2580-85

[20] Scaramelli A., Ferraro, L.; Troya, H. Recuento electrónico de células somáticas aplicado a la detección de mastitis subclínica bovina en fincas lecheras de los estados Aragua y Carabobo, Venezuela. 1999. Rev Cient FCV-LUZ. IX (6):508-518.

[21]Martínez, JC.; Gonzalo, C.; Carriedo, JA.; San Primitivo, F. Effect of freezing on somatic cell count-

ing in ewe milk. 2003. J Dairy Sci 86: 2583- 2587.

[22]Ali AKA. and GE Shook. An optimum transformation for somatic cell concentration in milk. 1980. J Dairy Sci 63, 487 -90.

[23] www.aipl.gov/scspl/xm-scs.htm

[24] <http://www.stat.missouri.edu/~spinkac/stat8320/LinearMixedModels.pdf>

[25]Pyörälä, S. y S.Taponen. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis - Not so different from *Staphylococcus aureus*? 2009. Vet Microb. 134: 29-36.

[26] Lam TJ, Schukken YH, van Vliet JH, Grommers FJ, Tielen MJ, Brand A. Effect of natural infection with minor pathogens on susceptibility to natural infection with major pathogens in the bovine mammary gland. Am J Vet Res 1997;58(1):17-22.

[27]Haltia, L.; Honkanen-Buzalski, T.; Spiridonova, I.; Olkonen, A.; Mylly, V. A study of bovine mastitis, milking procedures and management practices on 25 Estonian dairy herds. 2006. Acta Vet Scand. 48:22-27.

[28]Tenhagen, BA.; Köster, G.; Wallman, J.; Heuwieser, W. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. 2006. J Dairy Sci. 89: 2542- 51.

[29]Calderón, A. y VC Rodríguez. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). 2008. Rev Colom Cienc

Pecu. 21: 582-89.

[30] Trujillo, C., Gallego, A., Ramírez, N. y L. Palacios. Prevalencia de mastitis en siete hatos lecheros del oriente antioqueño. 2011. Rev Col Cienc Pecuaria. Vol 24 No. 1.

[31] Aranguren, A.; Ortega, A.; Mendoza, C.; N. Delgado. Efecto de la mastitis clínica y subclínica sobre la concentración plasmática de metabolitos, proteínas y albumina en hembras bovinas. 2009. Zootecnia Tropical 27 (1): 57-63.

[32] Farias, JF.; Valero-Leal, K.; D'Pool, G.; García, A.; Cagnasso, M.; Morales, D. 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. 2005. Rev Científica FCV-LUZ 15(2): 109- 118.

[33] Valero- Leal, K., Valbuena, E., Chacón, F., Olivares, Y., Castro, G., y W. Briñez. Patógenos contagiosos y ambientales aislados de cuartos mamarios con mastitis subclínica de alto riesgo en 3 fincas del estado Zulia. 2010. Rev Científica, FCV- LUZ, Vol XX , No. 5. pp 498-505.

[34] San Martín, B.; Kruze, J.; Morales, MA.; Agüero, H.; León, B.; Espinoza, S. Resistencia bacteriana en cepas patógenas aisladas de mastitis en vacas lecheras de la V región metropolitana y Xa región, Chile. 2002. Arch med vet. 34(2): 221- 34.

[35] Devriese, LA. , H. Laevens, F. Haesebrouck, J. Hommez. A simple identification scheme for coagulase negative staphylococci from bovine mastitis. 1994. Res. Vet. Sci. 57: 240-44.

[36] Matthews, K. R., R. J. Harmon, B. E. Langlois. Effect of naturally occurring coagulase-negative staphylococci infections on new infections by mastitis pathogens in the bovine. . 1991. J. Dairy Sci. 74: 1855-1859.

[37] Nickerson, S. C., and R. L. Boddie. Effect of naturally occurring coagulase-negative staphylococcal infections on experimental challenge with major mastitis pathogens. 1994. J. Dairy Sci. 77: 2526-36.