

AGENTES BACTERIANOS Y CONTAJE 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

Bacterial Agents and Somatic Cell Counts in Milk From Dual Purpose Bovines Milked by Hand or by Mechanical Procedures in Four Dairy Farms From Zulia State, Venezuela

José F. Faría Reyes¹, Kutchynskaya Valero-Lea², Gerardo D'Pool³, Aleida García Urdaneta⁴,
María Allara Cagnasso¹ y Dora Morales⁵

¹Unidad de Investigación Ciencia y Tecnología de Alimentos, ²Cátedra de Bacteriología, ³Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Facultad de Ciencias Veterinarias. ⁴Departamento de Estadística. Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia. Apartado 15252. Maracaibo 4005-A, Venezuela. E-mail: kutchy@cantv.net. ⁵Cátedra de Microbiología. Facultad de Medicina.

RESUMEN

Se identificaron agentes bacterianos y se determinó conteo de células somáticas (CSS) en leche de 160 cuartos de 40 bovinos mestizos doble propósito, 20 ordeñados en forma manual (AOM) y 20 en forma mecánica (AOME), de 4 fincas del estado Zulia, Venezuela. Las bacterias se identificaron por métodos bioquímicos convencionales y el CCS se determinó por el método rápido SomaLite. Se encontró que 68,83% de los cuartos presentaron al menos un patógeno mastitogénico: 54,66% en los AOM y 82,27% en los AOME. Se identificaron 139 cepas, 39% aisladas de AOM y 61% de AOME. Los principales géneros en AOM fueron *Staphylococcus spp.* (65%) y *Corynebacterium spp.* (24%), mientras que para AOME fueron *Staphylococcus spp.* (67%) y *Streptococcus spp.* (20%). Las principales especies aisladas de AOM fueron *C. bovis*, *St. intermedius*, *St. caseolyticus* y *St. simulans* y para AOME fueron *St. intermedius*, *S. agalactiae*, *St. aureus* y *St. hominis*. El CCS de AOME (6,54 Log₁₀ CCS) fue más elevado que para AOM (5,77 Log₁₀ CCS), esta tendencia se mantuvo para todos los géneros bacterianos. El CCS más elevado de acuerdo a género correspondió a *Streptococcus spp.* y *Bacillus spp.* Para AOM se encontraron los más elevados CCS para las muestras infectadas con *B. polymyxa*, *S. bovis*, *St. capitis*, *St. piscifermentas* y *St. aureus*. Para AOME correspondieron a *B. macerans*, *B. polymyxa*, *S. agalactiae*, *St. simulans* y *St. aureus*. Se concluye que en la leche obtenida de animales ordeñados

mecánicamente predomina la presencia de patógenos mayores que provocan inflamación de la glándula mamaria reflejada en un elevado conteo de células somáticas.

Palabras clave: Mastitis subclínica, agentes bacterianos, células somáticas, sistema de ordeño.

ABSTRACT

Identification of bacterial agents and somatic cell counts (SCC) were made from the milk of 160 quarters of dual purpose bovines, 20 by hand milking (HM) and 20 by mechanical milking (MM), belonging to 4 farms in Zulia State, Venezuela. The bacterial identification was made by standard biochemical methods and the SCC was made by the SomaLite fast method. It was found that 68.83% of all quarters had at least one mastitogenic pathogen, 54.66% (HM) and 82.27% (MM). One hundred thirty nine strains were identified, 39% isolated from HM and 61% from MM. The principal genus from HM were *Staphylococcus spp.* (65%) and *Corynebacterium spp.* (24%), while for MM they were *Staphylococcus spp.* (67%) and *Streptococcus spp.* (20%). The principal strains from HM were *C. bovis*, *St. intermedius*, *St. caseolyticus* and *St. simulans* and from MM were *St. intermedius*, *S. agalactiae*, *St. aureus* and *St. hominis*. The MM SCC (6.54 Log₁₀ CCS) was higher than HM (5.77 Log₁₀ CCS). This was the tendency for all the bacterial genus. The higher SCC according to the genus was correlated with *Streptococcus spp.* and *Bacillus spp.* HM was founded to be the highest in SCC for the samples infected with *B. polymyxa*, *S. bovis*, *St. capitis*, *St. piscifermentas* and *St. aureus*. To MM

B. macerans, *B. polymixa*, *S. agalactiae*, *St. simulans* and *St. aureus* corresponded. It is concluded that the presence of major bacterial pathogens that cause inflammation reflected in an elevated SCC predominated in milk from mechanical milking.

Key words: Subclinical mastitis, bacterial agents, somatic cell, milking systems.

INTRODUCCIÓN

La mastitis o inflamación de la glándula mamaria es la enfermedad más costosa y común del ganado lechero en la mayor parte del mundo. A pesar, que el estrés y las lesiones físicas pueden causar inflamación de la glándula mamaria, la infección es la principal causa de su aparición. La forma subclínica es la de mayor prevalencia, la más difícil de corregir y la que produce un mayor impacto económico, debido a las pérdidas que ocasiona, ya que reduce la producción, disminuye la calidad cualitativa y cuantitativa de la leche y constituye una fuente de infección, persistiendo la enfermedad dentro del rebaño [12].

La complejidad de la mastitis subclínica es el reflejo de la diversidad de agentes causales, variedad y magnitud de la respuesta fisiológica de estos patógenos y variación y eficacia de las medidas de control, razón por la cual el problema se agudiza al no existir un método único que pueda controlar las infecciones causadas por los distintos patógenos mastitogénicos [18, 19].

Uno de los eventos que se produce durante la infección intramamaria es la atracción de leucocitos, desde el sistema circulatorio hacia el cuarto infectado, por acción de productos liberados tanto por las bacterias como por el pequeño número de células somáticas (< 200.000 cel/mL) que se encuentran normalmente en la leche, causando como consecuencia un incremento en leche de la concentración de células somáticas [19, 36].

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

Estudios previos, han confirmado que el análisis bacteriológico y conteo de células somáticas en leche son métodos confiables para detectar mastitis subclínica [30, 32]. Los objetivos del presente estudio fueron aislar e identificar los agentes bacterianos y determinar el conteo de células somáticas en muestras de leche de cuartos de bovinos mestizos doble propósito de 4 fincas lecheras del estado Zulia, Venezuela ordeñados en forma manual o mecánica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Se recolectaron en forma aséptica, muestras de leche de 40 bovinos mestizos doble propósito, que se encontraban entre el cuarto y sexto mes de lactación, pertenecientes a cuatro fincas ubicadas en el estado Zulia, Venezuela. De las 4 fincas, 2 utilizaban rutinariamente ordeño manual y 2 mecánico. Cada finca fue visitada en una ocasión, durante el ordeño vespertino. Diez animales de cada finca fueron seleccionados en forma aleatoria. Los animales con signos de mastitis clínica fueron excluidos del estudio.

Muestras

Del total de 160 cuartos, 2 se encontraban atrofiados, de los restantes 158 productivos, se logró realizar el análisis de 154 muestras de leche. Previo al ordeño, los pezones fueron desinfectados con gasa impregnada con alcohol iodado. Luego que el primer chorro de leche era descartado, se recolectó en un recipiente estéril con tapa de rosca 60 mL de leche de cada cuarto por separado, siguiendo las recomendaciones de la Federación Internacional de Lecherías [22]. Las muestras fueron mantenidas a 4°C durante el transporte de las mismas al laboratorio, el cual se realizó en un período de tiempo inferior a 2 horas.

Análisis bacteriológico

Previamente a la siembra, las muestras fueron dejadas a temperatura ambiente hasta que alcanzaran los 18-20°C, posteriormente una alícuota de 0,01 mL de muestra fue tomada con asa calibrada estéril y sembrada por superficie en placas de agar sangre y agar Mac Conkey. Las placas fueron incubadas en condiciones de aerobiosis a 37°C y examinadas después de 24 y 48 horas. Los resultados obtenidos en los medios de cultivo, se interpretaron y registraron de acuerdo a los criterios propuestos por Scaramelli y col. [31]: a) Cultivo positivo: crecimiento de cinco o más colonias del mismo tipo o crecimiento de dos tipos de colonias con un conteo mínimo de ocho colonias por tipo; b) Cultivo negativo: ausencia de crecimiento o crecimiento de menos de cinco colonias del mismo tipo; c) Muestra contaminada: crecimiento de tres o más tipos de colonias diferentes, estas muestras fueron eliminadas del estudio. La identificación de las diferentes especies bacterianas se realizó siguiendo esquemas y métodos previamente descritos [22, 24].

Los cuartos fueron clasificados con infección intramamaria (IIM), si se detectaba en la muestra de leche al menos, un patógeno mayor o menor. La causa bacteriológica de infección intramamaria fue categorizada por patógenos mayores cuando se aislaron: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus bovis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Bacillus* spp, y por patógenos menores cuando se aislaba *Staphylococcus coagulasa negativa* y *Corynebacterium bovis* [18, 30].

Contaje de células somáticas (CCS)

El CCS para cada muestra fue determinado con el método rápido SomaLite, los resultados fueron leídos en el LuminatorT o LUM-T (Charm Sciences INC®, USA). El SomaLite es una prueba rápida diseñada para el tamizaje de células somáticas en leche cruda con resultados que tienen buena correlación con otros métodos como el recuento microscópico directo y el conteo electrónico de células somáticas [4]. En este método, las células microbianas y libres de Adenosintrifosfato (ATP) son filtradas y descartadas, mientras que las células somáticas son capturadas en el filtro, posteriormente el ATP de las células somáticas es cuantificado por la medida de la luminiscencia. El equipo LuminatorT es calibrado para medir luminiscencia en unidades de células somáticas por mL.

El valor del CCS obtenido en la leche de cada cuarto fue atribuido al patógeno que se aislaba en el mismo.

Análisis estadístico

Los resultados del CCS fueron transformados a Log_{10} . Se determinó el porcentaje de aislamiento y la media del Log_{10} del CCS para géneros, especies bacterianas, grupos de patógenos mayores y menores y cultivo negativo, muestras con *Staphylococcus coagulasa* positiva (SCP) y muestras con *Staphylococcus coagulasa* negativa (SCN). La Prueba *t* de Student fue aplicada para determinar diferencias entre grupos y entre ordeños. Todos los análisis estadísticos fueron realizados por el paquete estadístico SAS [35].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del total (154) de cuartos analizados, 106 (68,83%) presentaron infección intramamaria (IIM), al encontrarse al menos un patógeno mastitogénico. La IIM reportada para el estado Zulia en diversas investigaciones es inferior a la encontrada en este estudio, al oscilar entre un 40 a 60% [2, 3]. Para los animales ordeñados en forma manual el 54,66% de las muestras resultaron positivas al cultivo, mientras que para los de ordeño mecánico fue 82,27%.

Los cultivos puros donde se aisló una sola especie bacteriana fueron obtenidos en 70 cuartos (45,45%). Las infecciones mixtas (2 especies de bacterias diferentes) fueron encontradas en 36 cuartos (23,37%), 22 de estos cuartos infectados con patógenos mayores y menores, 8 con dos patógenos mayores y 6 con dos patógenos menores. En total 41 cultivos (26,62%) fueron negativos y 7 muestras (4,54%) resultaron contaminadas con más de 3 especies bacterianas.

Se aislaron 139 patógenos en las 154 muestras de leche analizadas. En la TABLA I se muestran los géneros bacterianos identificados y la frecuencia de aislamiento. De las muestras de leche de animales ordeñados en forma mecánica se obtuvo el 61% de los aislamientos, mientras que de las muestras de animales ordeñados manualmente se aisló el 39% de las cepas. El ordeño mecánico ofrece múltiples oportunidades para que las bacterias se transmitan entre vacas y cuartos. Entre los principales factores causantes de este fenómeno se encuentran variaciones en la presión de vacío, desgaste de las pezoneras, el sobre-ordeño. Aunado a esto, si la ubre no es preparada adecuadamente antes del ordeño, se incrementa la contaminación y transmisión de bacterias, así como también la presencia de animales con infección crónica contribuyen de manera importante en la implantación de la mastitis subclínica en esos rebaños [5, 8].

El género *Staphylococcus* fue el principal responsable de las infecciones subclínicas en los animales sujetos a ambos sistemas de ordeño, con un porcentaje de aislamiento global del 67%. Investigaciones previas [1, 6, 7, 38], han reportado a los miembros del género *Staphylococcus* como los principales agentes causales de IIM. Para las muestras de ordeño manual el segundo género más aislado fue *Corynebacterium spp.* (24%), seguido por *Bacillus spp.* (7%), *Streptococcus spp.* (2%) y Enterobacterias (2%), mientras que para el ordeño mecánico el segundo género más aislado fue *Streptococcus spp.* (20%), seguido por *Corynebacterium spp.* (6%), *Bacillus spp.* (6%), y Enterobacterias (1%).

Es de resaltar que 72% de los aislamientos del género *Corynebacterium* se obtuvieron a partir de los animales orde-

TABLE I
GÉNEROS BACTERIANOS Y CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) EN LECHE DE CUARTOS DE ANIMALES MESTIZOS ORDEÑADOS EN FORMA MANUAL O MECÁNICA

Género Bacteriano	Ordeño Manual			Ordeño Mecánico		
	N(%)	Log_{10} CCS	CCS (Cel/mL)	N(%)	Log_{10} CCS	CCS (Cel/mL)
<i>Staphylococcus spp.</i>	35	5,68	479.624	60	6,78	6.026.819
<i>Streptococcus spp.</i>	1	6,33	2.176.336	17	7,08	12.151.586
<i>Corynebacterium spp.</i>	13	5,54	348.962	5	6,72	5.331.474
<i>Bacillus spp.</i>	4	6,36	2.326.540	5	6,99	9.882.463
Enterobacterias	1	4,96	91.881	1	5,14	139.554
Total	54(39)	5,77 ^a		85(61)	6,54 ^b	

N= número de aislamientos. a,b Diferencias significativas (P<0,01).

ñados manualmente, donde la prevalencia de infección fue mucho menor. Algunos investigadores [21, 26], han sugerido que los cuartos infectados con *C. bovis*, especie a la cual correspondieron todas las cepas de *Corynebacterium* aisladas en este estudio, tienen un efecto protector contra infecciones subsecuentes provocadas por patógenos mayores, con relación a los cuartos no infectados, sugiriéndose que los posibles mecanismos a través de los cuales los patógenos menores protegen contra infecciones a patógenos mayores son el crecimiento competitivo, antagonismo, inducción de leucocitosis e incremento de la inmunidad del hospedero.

Los resultados del conteo de células somáticas (CSS) para el total de las muestras y para los diferentes géneros bacterianos se presentan en la TABLA I. El valor medio obtenido para los cuartos de ordeño mecánico (6,54 Log₁₀ CCS) fue más elevado que el correspondiente a los de ordeño manual (5,77 Log₁₀ CCS), siendo la diferencia entre los valores estadísticamente significativa (P<0,01). Estos resultados pueden ser consecuencia de las deficientes condiciones higiénicas en el ordeño mecánico y probablemente a la presencia de animales crónicamente infectados en las fincas que tienen este sistema de ordeño.

Para ambos ordeños se observó que los valores más elevados para el CCS fueron alcanzados por las muestras en las cuales se aisló *Streptococcus* spp. y *Bacillus* spp., lo que podría reflejar que estos géneros bacterianos son causantes de procesos inflamatorios más severos.

En referencia, al aislamiento de miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, su prevalencia fue baja en el presente estudio; el aislamiento obtenido en la muestra de ordeño manual correspondió a *Escherichia coli*, mientras que la cepa aislada de la muestra de ordeño mecánico fue identificada como *Klebsiella planticola*. Los valores del CCS obtenidos para estos coliformes fueron los más bajos al compararlos con los restantes géneros bacterianos, como puede observarse en la TABLA I.

En la TABLA II se presentan los resultados para la totalidad de las muestras donde se aisló SCN y SCP. Del total de cepas de *Staphylococcus* aisladas, 49% correspondieron a *Staphylococcus* coagulasa positivas (SCP) y 51% a *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN). El valor promedio del CCS para las muestras con SCP (6,29 Log₁₀ CCS) fue superior a las

infectadas con SCN (6,17 Log₁₀ CCS), siendo la diferencia estadísticamente significativa (P<0,05). Estos resultados se corresponden con lo esperado, por cuanto a los SCN se les ha clasificado como patógenos menores de la glándula mamaria por causar solo una ligera inflamación, con un modesto incremento en el CCS [11, 27, 33]. Con respecto al sistema de ordeño se observó para ambos grupos un mayor CCS en las muestras provenientes de los animales sujetos a ordeño mecánico.

Para los SCP se encontró para ambos ordeños que los principales aislamientos fueron *St. intermedius*, seguido por *St. aureus* y por último *St. hyicus* (TABLA III). Una investigación previa realizada en el estado Zulia demostró la presencia de *St. intermedius* como principal agente causal de mastitis subclínica [20]. El CCS fue superior para las muestras infectadas con *St. aureus*, encontrándose esta tendencia para ambos ordeños.

Algunos estudios han demostrado la existencia de diferencias en la epidemiología y patogenicidad de *St. intermedius* y *St. aureus*. El *St. intermedius* ha sido clasificado como patógeno oportunista, productor principalmente de mastitis subclínica, y ocasionalmente causante de cuadros clínicos poco severos, y ha sido aislado principalmente como agente en vacas primerizas [25, 37]. Por su parte, *St. aureus* ha sido catalogado como patógeno contagioso, capaz de transmitir la infección entre vacas y cuartos a través de la máquina de ordeño, manos contaminadas de ordeñadores y materiales usados durante el ordeño [28,29], su patogenicidad es atribuida a los daños que ocasiona en el tejido mamario, donde forma cicatrices que impiden el acceso a la droga empleada en el tratamiento de la mastitis, aunado a esto, con frecuencia resulta resistente a los antibióticos [12, 14, 34]. La mayor incidencia de *St. intermedius* podría representar que los casos de mastitis en algunas fincas lecheras del estado Zulia pueden ser más fácilmente controlables con la aplicación de técnicas de higiene sencillas, que pierden parte de su eficacia cuando el principal agente causal es el *St. aureus*.

Un total de 47 cepas de SCN fueron aisladas de las muestras analizadas, 22 (47%) de las muestras de ordeño manual y 25 (53%) del ordeño mecánico (TABLA IV). La importancia de los SCN como causa de IIM bovina se ha incrementado en los últimos años, y han sido aislados de muestras de leche recolectadas de vacas con mastitis clínica y subclínica en diversos países [1, 9, 16, 23, 37, 39]. Además se ha seña-

TABLA II
CONTAJE DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN LECHE DE CUARTOS DE ANIMALES MESTIZOS CON PRESENCIA DE *Staphylococcus* COAGULASA POSITIVA (SCP) Y *Staphylococcus* COAGULASA NEGATIVA (SCN)

Género Bacteriano	Ordeño Manual			Ordeño Mecánico		
	N	Log ₁₀ CCS	CCS (cel/mL)	N	Log ₁₀ CCS	CCS (cel/mL)
SCP	13	5,77 ^a	596.942	32	6,81 ^b	6.554.612
SCN	22	5,61 ^c	410.300	25	6,74 ^d	5.550.277

N= número de aislamientos. a,b,c,d Medias con superíndice diferente en la misma fila o columna difieren significativamente (P<0,01).

TABLA III
ESPECIES DE *Staphylococcus* COAGULASA POSITIVA Y CONTAJE DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) EN LECHE DE CUARTOS DE ANIMALES MESTIZOS ORDEÑADOS EN FORMA MANUAL O MECÁNICA

Especies Bacterianas	Ordeño Manual			Ordeño Mecánico		
	N	Log ₁₀ CCS	CCS (cel/mL)	N	Log ₁₀ CCS	CCS (cel/mL)
<i>St. intermedius</i>	8	5,74	556.922	18	6,81	6.541.220
<i>St. aureus</i>	4	5,90	811.022	15	6,82	6.656.298
<i>St. hyicus</i>	1	4,78	60.790	1	6,42	2.631.081

N= número de aislamientos.

lado que los programas de control de mastitis contra los patógenos mayores son menos efectivos contra los SCN, como resultado de esto, los SCN desempeñan un papel más importante como causa de infección intramamaria en las fincas donde se implementa de manera efectiva los programas de control contra patógenos mayores contagiosos [33].

Las especies de SCN más aisladas en las muestras de ordeño manual fueron *St. caseolyticus* (32%) y *St. simulans* (27%), mientras que para las muestras de ordeño mecánico lo fue *St. hominis* (40%). De las 7 especies de SCN identificadas en las muestras del ordeño manual, se encontró que *St. capitis* y *St. piscifermentans* fueron las que correspondieron a los contajes de células somáticas más elevados (6,20 Log₁₀ CCS), mientras que de las 5 especies identificadas en las muestras de ordeño mecánico, el valor más elevado correspondió al *St. simulans* (6,82 Log₁₀ CCS).

En la TABLA V se muestran los resultados de la identificación de las cepas del género *Streptococcus*. La única cepa aislada de las muestras de animales ordeñados a mano se identificó como *S. bovis*, mientras que para las muestras de leche del ordeño mecánico se encontró que las 17 cepas aisladas correspondieron a *S. agalactiae*. El valor del CCS para la muestra infectada con *S. bovis* fue de 6,33 Log₁₀ CCS y para las infectadas con *S. agalactiae* fue de 7,08 Log₁₀ CCS. Estos resultados coinciden con diversas investigaciones [10, 13, 18], donde se ha evidenciado una fuerte respuesta celular asociada a la presencia de *Streptococcus spp.*

Los resultados obtenidos para el género *Bacillus* se muestran en la TABLA VI. De las 4 cepas aisladas en las muestras de ordeño manual se encontró que 3 eran *B. circulans* y 1 *B. polymyxa*, mientras que las cepas aisladas de las muestras de ordeño mecánico correspondieron 2 a *B. polymyxa*, 1 *B. macerans*, 1 *B. cereus* y 1 *B. sphaericus*. Para el CCS se observó que las muestras de leche infectadas con *B. macerans* y *B. polymyxa* alcanzaron los valores más elevados de todas las determinaciones realizadas en el presente estudio. Algunas investigaciones han reportado la importancia de los *Bacillus* como agentes causales de mastitis bovina [12, 15, 17].

Los resultados obtenidos para las muestras que fueron negativas al cultivo, así como, aquellas que se clasificaron como infectadas con patógenos mayores y menores, se presentan en la TABLA VII. La totalidad de las muestras de leche bacteriológicamente negativas presentaron una media para el Log₁₀ del CCS de 6,66 (4.675.590 cel/mL), lo que difiere de lo reportado en otros estudios [25, 31, 32, 38, 39], donde se alcanzó para muestras negativas al cultivo, valores que oscilaron entre 2,64 y 5,53 Log₁₀CCS. Los niveles de células somáticas en la leche de cuartos no infectados se encuentran generalmente entre las 200.000 cel/mL (5,30 Log₁₀), una elevación anormal es indicativo de un proceso inflamatorio en la ubre [18]. El alto CCS en estos cuartos pudo deberse a diferentes causas, entre ellas, presencia de un agente infeccioso que requiere condiciones de aislamiento diferentes a las proporcionadas en este estudio, que las células somáticas conformadas principalmente por neutrófilos hallan fagocitado al agente causal, o la presencia de infecciones subclínicas que han sido curadas y dejan como secuela un elevado CCS [21].

Con relación al tipo de ordeño se encontró que de las 41 muestras negativas al cultivo, 31 (76%) se obtuvieron de los cuartos ordeñados manualmente, mientras que solo 10 (24%) de los ordeñados a máquina. Al comparar los valores promedios para el Log₁₀ del CCS encontrados en las muestras sin crecimiento bacteriano, se detectó un resultado más elevado en los cuartos ordeñados a máquina (6,65 Log₁₀ CCS), con respecto al manual (5,27 Log₁₀ CCS), siendo las diferencias estadísticamente significativas (P<0,01).

La media global del CCS para los patógenos mayores fue de 6,44 Log₁₀, mientras que para los patógenos menores fue de 5,74 Log₁₀, siendo la diferencia entre estos grupos estadísticamente significativa (P<0,01). Estos resultados coinciden con trabajos previos, donde se ha observado que los patógenos mayores producen una respuesta celular mayor en comparación con los patógenos menores [32, 37, 39]. En cuanto al sistema de ordeño se observó, que tanto para patógenos mayores como menores, los más elevados CCS se encontraron en las muestras de ordeño mecánico.

TABLA IV
ESPECIES DE *Staphylococcus* COAGULASA NEGATIVA Y CONTAJE DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) EN LECHE DE CUARTOS DE ANIMALES MESTIZOS ORDEÑADOS EN FORMA MANUAL O MECÁNICA

Especies Bacterianas	Ordeño Manual			Ordeño Mecánico		
	N	Log ₁₀ CCS	CCS (Cel/mL)	N	Log ₁₀ CCS	CCS (cel/mL)
<i>St. hominis</i>	3	5,82	671.227	11	6,57	3.796.461
<i>St. simulans</i>	6	5,37	239.306	3	6,96	9.121.372
<i>St. caseolyticus</i>	7	5,27	188.021	2	6,77	5.964.708
<i>St. auricularis</i>	2	5,15	142.527	3	6,21	1.644.754
<i>St. chromogenes</i>	1	5,81	648.136	0	–	–
<i>St. capitis</i>	1	6,20	1.615.227	0	–	–
<i>St. piscifermentans</i>	1	6,20	1.615.227	0	–	–
<i>St. saccharolyticus</i>	0	–	–	1	5,35	225.318
SCN sin identificar	1	4,73	54,081	6	6,95	9.056.537

N= número de aislamientos.

TABLA V
ESPECIES DE *Streptococcus* Y CONTAJE DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) EN LECHE DE CUARTOS DE ANIMALES MESTIZOS ORDEÑADOS EN FORMA MANUAL O MECÁNICA

Especies Bacterianas	Ordeño Manual			Ordeño Mecánico		
	N	Log ₁₀ CCS	CCS (cel/mL)	N	Log ₁₀ CCS	CCS (cel/mL)
<i>S. agalactiae</i>	0	–	–	17	7,08	12.151.586
<i>S. bovis</i>	1	6,33	2.176.336	0	–	–

N= número de aislamientos.

TABLA VI
ESPECIES DE *Bacillus* Y CONTAJE DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) EN LECHE DE CUARTOS DE ANIMALES MESTIZOS ORDEÑADOS EN FORMA MANUAL O MECÁNICA

Especies Bacterianas	Ordeño Manual			Ordeño Mecánico		
	N	Log ₁₀ CCS	CCS (cel/mL)	N	Log ₁₀ CCS	CCS (cel/mL)
<i>B. circulans</i>	3	5,54	349.936	–	–	–
<i>B. polymyxa</i>	1	6,91	8.256.354	2	7,02	10.675.772
<i>B. macerans</i>	–	–	–	1	7,38	24.192.027
<i>B. cereus</i>	–	–	–	1	6,21	1.636.772
<i>B. sphaericus</i>	–	–	–	1	6,34	2.231.972

N= número de aislamientos.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En la población estudiada se observó que los animales ordeñados en forma mecánica se encontraron infectados principalmente con patógenos mayores, conformados por *St. intermedius*, *S. agalactiae* y *St. aureus*, en contraste los animales ordeñados a mano presentaron fundamentalmente patógenos

menores, entre ellos *Staphylococcus* coagulasa negativa y *Corynebacterium bovis*.

El conteo de células somáticas fue más elevado en leche de animales ordeñados a máquina, presentando para ambos ordeños los géneros *Streptococcus spp.* y *Bacillus spp.* los conteos más elevados.

TABLA VII
CONTAJE DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) EN LECHE DE CUARTOS DE ANIMALES MESTIZOS CON PRESENCIA DE PATÓGENOS MAYORES, PATÓGENOS MENORES Y NEGATIVAS AL CULTIVO BACTERIOLÓGICO

Clase Bacteriológica	Ordeño Manual			Ordeño Mecánico		
	N	Log ₁₀ CCS	CCS (cel/mL)	N	Log ₁₀ CCS	CCS (cel/mL)
Cultivo negativo	31	5,63 ^a	433.659	10	6,95 ^b	8.917.521
Patógenos mayores ¹	19	6,00 ^c	1.017.612	55	6,92 ^d	8.486.844
Patógenos menores ²	35	5,58 ^e	387.517	30	6,74 ^f	5.513.810

¹ Incluye: SCP, *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp. y Coliformes. ² Incluye: SCN y *Corynebacterium* spp.
a,b,c,d,e, f Medias con superíndice diferente en la misma fila o columna difieren significativamente (P<0,01).

La máquina de ordeño está favoreciendo la invasión de bacterias a los cuartos, provocando procesos infecciosos con una consecuente inflamación de la glándula mamaria, reflejada en un elevado conteo de células somáticas. Por lo que se sugiere realizar estudios que permitan determinar si esta situación está generalizada en las fincas lecheras del estado Zulia que utilizan este sistema de ordeño.

El 46,34% de las muestras que resultaron negativas al cultivo presentaron un elevado conteo de células somáticas, lo que podría ser indicativo de la presencia de microorganismos no convencionales, creando la necesidad de implementar metodologías diagnósticas adicionales, o bien realizar muestreos repetidos que permitan el aislamiento de los microorganismos causantes del proceso infeccioso, y por tanto de la elevada concentración de células somáticas.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) por el financiamiento de la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AARESTROP, F.; WEGENER, H.; ROSDAHL, V.; JENSEN, N. Staphylococcal and other bacterial species associated with intramammary infections in Danish dairy herds. **Acta. Vet. Scand.** 36 (4): 475-87. 1995.
- [2] ALONSO, F. R. Programas de control de mastitis subclínica bovina en la Cuenca del Lago de Maracaibo. **Rev. Vet. Venezolana.** XLVII (272-273): 11-93. 1981.
- [3] ALONSO, F.R. Prevalencia de mastitis subclínica bovina en la Cuenca del Lago de Maracaibo I. Porcentaje de Prevalencia y caracteres de la infección. **1^a Jornadas Nacionales sobre Ganadería de doble propósito.** Máchiques-Perijá. Zulia. Enero 12-16. 23 pp. 1977.
- [4] ANGSTADT, T.; SYRAWSE, N.; SALTER, R. S. Field applied somatic cell determination (SomaLite) in comparison to Foss (ESCC). **Proc. 36th Ann. Mtg. Natl. Mastitis Council.** Albuquerque, NM. February 13-16: 36 pp. 1997.
- [5] BAKER, J. La mastitis en la vaca lechera. **Venezuela bovina.** Año 3 (12): 12-15. 1989.
- [6] BARBALHO, T.; MOTA, R. Isolamento de agents bacterianos envolvidos em mastite subclinica bovina no Estado de Pernambuco. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.** 1: 31-36. 2001.
- [7] BATRA, T.; McALLISTER, A. Incidence of subclinical and clinical mastitis in pureline and crossline dairy cattle. **Can. J Anim. Sci.** 63: 773-780. 1983.
- [8] BRAMLEY, A.; DODD, F.; MEIN, G.; BRAMLEY, J.. Milking and lactation. In: **Insight Books.** Huntington, V.T eds. 355-368 pp. 1992.
- [9] DANIEL, R.; BARNUM, D.; LESLIE, K. Observations on intramammary infections in first calf heifers in early lactation. **Can. Vet. J.** 27: 112-115, 1986.
- [10] DELLA, A.; ARAUJO, W.; COSTA, E.; GARCIA, M.; TÁVORA, J.; BENATTI, L. Características físico-químicas e microbiológicas do leite de vacas sem alteracoes ao exame físico da glandula mamária e com alta contagem de células somáticas. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.** 1: 42-47. 2001.
- [11] DOHOO, I.; MEEK, A. Somatic cell counts in bovine milk. **Can. Vet. J.** 23: 119-125. 1982.
- [12] D'POOL, G. Avances en la tecnología, tratamiento, prevención y control de la mastitis bovina. En: **Avances en ganadería doble propósito.** Soto Beloso. E.; Ramírez Iglesias. L. Eds Fundación GIRARZ.193-198 pp. 2002.
- [13] ERSINE, R.; EBERHART, R.; HUTCHINSON, L.; SPENCER, S. Herd management and prevalence of mastitis in dairy herds with high and low somatic cell counts. **JAVMA.** 190 (11): 1411-1416. 1987.
- [14] FARIA, J.; GARCIA, A.; MARQUEZ, A.; MANZANILLA, B.; MORALES, D.; GARCIA, A. Resistencia a los antimicrobianos de *Staphylococcus* aislados de leche cruda. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** IX (4): 343-348.1999.
- [15] FARIA, J.; ALLARA-CAGNASSO, M.; IZQUIERDO, P.; D'POOL, G.; GARCÍA, A.; VALERO-LEAL, K. Resisten-

- cia a los antimicrobianos de especies de *Bacillus* aislados de leche cruda. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** XI (6): 479-484. 2001.
- [16] GENTILLINI, E.; DENAMIEL, G.; BETANCOR, A.; REBUELTO, M.; RODRÍGUEZ, M.; DE TORRES, R. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. **J. Dairy Sci.** 85: 1913-1917. 2002.
- [17] GONZÁLEZ, R. Prototheca, yeast and *Bacillus* as a cause of mastitis. **Proc. 35th Ann. Mtg. Natl. Mastitis Council.** Nashville, Tennessee. February 13-16: 82-90. 1996.
- [18] HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic counts. **J. Dairy Sci.** 77: 2103-2112. 1994.
- [19] HARMON, R. Controlando la mastitis causada por patógenos contagiosos. **Reunión Regional Consejo Nacional de Mastitis.** Queretaro. México. Julio 26: 11-18. 1996.
- [20] HOET, A.; D'POOL, G.; FULCADO, W.; POLO, R.; GRATEROL, C.; BRITO, M. Aislamiento de estafilococos coagulasa positivos, distintos a *Staphylococcus aureus*, de cuartos con mastitis subclínica en la Villa del Rosario, Estado Zulia, Venezuela. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** IX (2): 149-153. 1999.
- [21] HOGAN, J.; SMITH, K.; TODHUNTER, D.; SCHOENBERGER, P. Rate of environmental mastitis in quarters infected with *Corynebacterium bovis* and *Staphylococcus* species. **J. Dairy Sci.** 71: 2520-2525. 1988.
- [22] International Dairy Federation. Laboratory methods for use in mastitis work. **Document 132.** Brussels, Belgium. 1-26 pp. 1981.
- [23] JARP, J. Classification of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine clinical and subclinical mastitis. **Vet. Microbiol.** 27: 151-158. 1991.
- [24] KLOSS, W.; BANNERMAN, T. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: **Manual of Clinical Microbiology.** 7th AMS. Murray P, Baron E, Pfaller M, Tenover F, Tenover F, Eds Washington DC. 264-282 pp. 1999.
- [25] LAFFRANCHI, A.; MÜLLER, E.; DE FREITAS, J.C.; GARCIA, L.; ALVES, J.; SALVADOR, R. Etiologia das infecciones intramamárias em vacas primíparas ao longo dos primeiros quatro meses de lactacao. **Cienc. Rural.** 31 (6): 1-10. 2001.
- [26] LAM, T.; SCHUKKEN, Y.; VAN VLIET, J.; GROMMERS, F.; TIELEN, M.; 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.** 58: 17-22. 1997.
- [27] QUIÑONES, J.; MARTIN, V.; CHIARETTA, A.; BAGNIS, G.; DeHAES, J. Evaluación de los estados de salud de la glándula mamaria. **I Congreso Internacional Virtual. Ciencia, Biodiversidad y Tecnología Agropecuaria.** Cuautitlán Izcalli, México, Abril 2-6: 56-58. 2001.
- [28] ROBERSON, J.; FOX, L.; HANCOCK, D.; GAY, J.; BESSER, T. Prevalence of coagulase-positive staphylococci, other than *Staphylococcus aureus*, in bovine mastitis. **Am. J. Vet. Res.** 57 (1): 54-8. 1996.
- [29] ROBERSON, J. The epidemiology of *Staphylococcus aureus* on dairy farms. **Proc. 38th Ann. Mtg. Natl. Mastitis Council.** Arlington, VA. February 23-26: 38-45. 1999.
- [30] SARGEANT, J.; LESLIE, K.; SHIRLEY, J. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California Mastitis Test for identifying intramammary infection in early lactation. **J. Dairy Sci.** 84: 2018-2024. 2001.
- [31] 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. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** IX (6): 508-518. 1999.
- [32] SCHEPERS, A.; LAM, T.; SCHUKKEN, Y.; WILMINK, J.; HANEKAMP, W. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. **J. Dairy Sci.** 80: 1833-1840. 1997.
- [33] SMITH, K. L.; HOGAN, J. S. Milk quality - a worldwide perspective. **Proc. 37th Ann. Mtg. Natl. Mastitis Council.** St. Louis, Missouri. February 16-19: 83-89. 1998.
- [34] SMITH, K. L.; HOGAN, J. S. The word of mastitis. **Proc. 2nd International Symposium on Mastitis and milk Quality.** Vancouver, BC. September 13-15: 78-84. 2001.
- [35] STATISTIC ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE "User's guide" 6th. ed. University North of Carolina USA. 185pp. 1988.
- [36] SURIYASATHAPORN, W.; SCHUKKEN, Y.; NIELEN, M.; BRANDS, A. Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd. **J. Dairy Sci.** 83: 1248-1255. 2000.
- [37] TIMMS, L.; SCHULTZ, L. Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections. **J. Dairy Sci.** 70: 2648-2657. 1987.
- [38] VERMA, R. Studies on clinical and subclinical bovine mastitis. **Indian J Comparative Microbiology, Immunology and Infectious Diseases.** 9(1): 28-33. 1988.
- [39] WAAGE, S.; MORK, A.; ROROS, D.; AASLAND, D.; HUNSHAMAR, A.; ODEGAARDS, A. Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers. **J. Dairy Sci.** 82: 712-719. 1999.