

BACTERIAS PATÓGENAS POTENCIALES AL INICIO DEL PERÍODO SECO DE VACAS DOBLE PROPÓSITO CON MASTITIS SUBCLÍNICAS.

Potential Pathogen Bacteria During the Dry Period in Dual Purpose Cows With Subclinical Mastitis.

Julio Boscán Ocando¹, Regino Villarroel Neri², Ana Oviedo Bustos³, Alfredo Sánchez Villalobos², Disney Pino Ramírez², Dionel García Bracho², Lisette Hernández González⁴ y Mario Pérez Barrientos²

¹ Unidad de Investigaciones en Reproducción Animal. ² Unidad de Investigaciones Clínicas. ³ Servicio Autónomo de Sanidad Agropecuaria. ⁴ Fundación para el Desarrollo Económico y Social del estado Táchira. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. E-mail: julioboscan@cantv.net

RESUMEN

Los aportes científicos en el campo de la producción láctea alcanzan más de 100 años de arduo estudio, con el fin de producir la mayor cantidad de leche por vaca/año acompañado de una excelente salubridad de la glándula mamaria. Esta salud de la ubre se ha visto afectada por la inflamación del parénquima denominada mastitis causada generalmente por bacterias como los *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., enterobacterias, entre otras. El objetivo de este trabajo fue determinar las bacterias existentes en glándulas mamarias con mastitis subclínica al inicio del período seco. Para ello se seleccionaron al azar 39 vacas mestizas doble propósito multíparas al final de la lactancia procedentes de un mismo sistema de producción, con siete meses de gestación, negativas en la prueba de fondo negro y con resultados de CMT \geq +2. Se tomaron muestras de leche para estudio bacteriológico. Se observó crecimiento bacteriano a partir de la leche de 96 cuartos mamarios (61,53%) y en la leche de 49 cuartos no hubo crecimiento (31,41%). Las bacterias más aisladas fueron el *Corynebacterium bovis* (46,73%), *Staphylococcus epidermidis* (20,56%), *Staphylococcus aureus* (12,15%) y *Arcanobacterium pyogenes* (7,48%). De acuerdo al tipo de crecimiento, se obtuvo un 88,54% de crecimiento puro y un 11,46% de crecimiento mixto y de acuerdo al potencial de patogenicidad se obtuvo un 73,82% de patógenos menores y un 18,69% de patógenos mayores. En conclusión, se identificaron las bacterias presentes en la glándula mamaria con mastitis subclínica al inicio del período seco, su distribución en cuanto a género, especie, tipo de creci-

miento y potencial de patogenicidad. Asimismo, estas bacterias pueden generar mastitis clínica en el período productivo con la consecuente baja en la calidad y cantidad de leche producida.

Palabras clave: Vacas, período seco, doble propósito, mastitis subclínica, bacterias.

ABSTRACT

Scientific research in milk production has been evolving over more than 100 years to attain the highest amount of milk/cow/year along with an excellent health status of the mammary gland. This health status of the mammary gland is affected by parenchymal inflammation, i.e. mastitis, caused in general by bacteria, such as *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp. and enterobacteria. The objective of this trial was to determine the bacteria present in mammary glands with subclinical mastitis at the beginning of the dry period. Thirty nine (39) multiparous crossbred dual purpose cows at the end of the lactating period were randomly selected; they had a seven-month gestation, and they were negative at the black bottom cup test; they have a \geq +2 score at the CMT as well. Milk samples were taken for bacteriological study. Bacterial growth was observed in milk sample from 96 udder quarters (61.53%) and in milk sample from 49 quarters there was no growth (31.41%). The most frequently isolated bacteria were *Corynebacterium bovis* (46.73%), *Staphylococcus epidermidis* (20.56%), *Staphylococcus aureus* (12.15%) and *Arcanobacterium pyogenes* (7.48%). As for growth type, 88.54% of cultures were pure cultures and 11.46% were mixed cultures. As for pathogenicity potential, 73.82% of the isolates were mi-

nor pathogens and 18.69% were major pathogens. In conclusion, bacteria in mammary glands with subclinical mastitis at the dry period, their distribution as for genus and species, growth type and pathogenicity potential were identified. On other hand, these bacteria can generate clinical mastitis in the lactating period with the resulting decrease in the quality and quantity of yielded milk.

Key word: Cows, dry period, dual purpose, subclinical mastitis, bacteria.

INTRODUCCIÓN

La glándula mamaria de la hembra bovina ha sido genéticamente modificada a lo largo del tiempo por el humano con el único fin de lograr grandes lactancias en términos de kg de leche, de tal manera que en ganaderías de leche modernas, las vacas (*Bos taurus-indicus*) poseen demandas nutritivas mucho más altas comparadas con las de sus ancestros, que no fueron seleccionadas para producir grandes volúmenes de leche y por lo tanto, generaban leche sólo para sus terneros (2 – 10 lts/día), en contraste con la realidad actual donde no es difícil encontrar vacas que produzcan 60 lts/día, traduciéndose en mucha leche desde el punto de vista evolutivo [22].

Asimismo, los esfuerzos genéticos para obtener estos avances en la producción láctea por vaca han hecho susceptible a la glándula mamaria, para adquirir infecciones intramamarias (IIM) durante la lactancia y después de ésta. Estas IIM son provocadas especialmente por bacterias, las cuales tienen la habilidad de invadir el epitelio mamario y producir inflamación de la glándula mamaria conocida como mastitis [2, 12, 13, 18, 20, 23]. El riesgo de adquirir mastitis puede incrementarse por factores físicos, químicos o traumáticos provocando de esta manera un proceso inflamatorio estéril, es por esto que esta enfermedad es considerada multifactorial, que incluye al bovino como hospedador, al microorganismo como agente causal y al ambiente, que afecta tanto al bovino como al microorganismo [18, 20]. La mastitis bovina, actualmente sigue ubicándose como la enfermedad que más daño económico genera a las explotaciones ganaderas del mundo [1, 6, 12, 14, 15, 20, 23]. Pérdidas en disminución en la producción de leche, cambios en la composición de la leche, descarte de leche y pérdida del potencial genético son las consecuencias más impactantes por las cuales los ganaderos pierden grandes sumas de dinero anualmente [6, 12-15, 18, 20, 23].

Los grandes esfuerzos científicos van dirigidos, más que al tratamiento de la mastitis a la prevención de ella, basado en el control de la mastitis de tipo subclínica, la cual puede representar del 70 al 80% de las pérdidas totales en las fincas [1, 13, 18, 19]. La mastitis subclínica se caracteriza por no generar cambios aparentes en la leche y carecer de signos apreciables de inflamación de la glándula mamaria, pero cursa con disminución de la producción láctea al igual que la mastitis clí-

nica [13, 15, 18, 23]. Las bacterias asociadas con IIM subclínica han sido estudiadas por muchos años, ejemplo de ello se tienen a los *Staphylococcus coagulans* negativo (SCN), *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* y *Staphylococcus aureus* [19, 26]. Estos microorganismos aprovechan situaciones favorables para penetrar a través de la roseta de Fürstenberg del pezón, atravesando el ducto del mismo, multiplicándose y colonizando la glándula mamaria y producir mastitis [12, 20, 23].

Un momento importante de la vaca a tomar en cuenta cuando se habla de mastitis subclínica es el período seco (PS) o etapa no lactante, ya que es una fase de reposo entre lactancias que permite la regeneración del tejido mamario para favorecer el reinicio de la lactancia a su más alto nivel [14, 19, 21]. La identificación del PS como un punto crítico de control para la próxima lactancia significa, que las vacas estarán libres de nuevas IIM y preparadas para una lactancia exitosa [19]. El inicio y el final del PS son susceptibles a adquirir nuevas IIM, los cuales están relacionadas a disminución láctea en la próxima lactancia e incluso terminar en episodios clínicos de mastitis después del parto [14, 19, 21]. Por ello es importante realizar prácticas de prevención de la mastitis al inicio del PS mediante el sellado de los pezones con soluciones de yodo al 0,5-1%, eliminación de casos crónicos del rebaño, antibioterapia intramamaria para vaca seca y privación estratégica de alimento y agua [15, 19, 21, 23].

Se han categorizado las bacterias patógenas que causan inflamación de la glándula mamaria en dos importantes grupos: patógenos mayores y menores, donde los primeros causan mastitis clínica o una respuesta inflamatoria fuerte e hipogalactia, mientras que los segundos provocan una infección subclínica [27]. Trabajos previos sobre la relación entre la aparición de IIM en el PS y la mastitis clínica en la próxima lactancia, encontraron al inicio de este período al grupo de SCN (6,7%), *Corynebacterium* spp. (35,7%), SCP (1,6%), *Escherichia coli* (1,6%) y *Streptococcus dysgalactiae* (0,5%) [14]. Recientemente, se ha encontrado en el PS *Staphylococcus aureus* (5%), *Escherichia coli* (2,7%), *Pseudomonas aeruginosa* (1,6%), *Streptococcus pyogenes* (1,4%) y *Streptococcus agalactiae* (0,8%), entre otros [18]. Para el mismo año, otros investigadores aislaron en vacas primíparas y de segundo parto SCN (10,7 y 7,6%, respectivamente), *Corynebacterium bovis* (8,1 y 12,3%, respectivamente), *Staphylococcus aureus* (6,3 y 8,2%, respectivamente) como los más frecuentes [5].

Es así, como surge la necesidad de conocer la salud de la glándula mamaria en vacas doble propósito en Venezuela e identificar las bacterias existentes en la misma de vacas con mastitis subclínica al inicio del PS y dar respuesta preventiva a este grupo del rebaño, que ocasiona grandes pérdidas económicas a las explotaciones lecheras. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar las bacterias patógenas existentes en glándulas mamarias con mastitis subclínicas al inicio del período seco.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del Experimento

El experimento se desarrolló entre los meses de octubre y diciembre del 2006 en una finca comercial, ubicada en el municipio Rosario de Perijá del estado Zulia, Venezuela, ubicada en una zona agroecológica catalogada como de bosque seco tropical [6].

Unidades Experimentales

Se utilizaron 39 vacas mestizas doble propósito múltiples que conforman el rebaño de ordeño, seleccionadas al azar y tomando en cuenta aquellas vacas que se encontraban en el final de la lactancia, donde el ordeño se realizaba manualmente con apoyo del becerro, presentaban siete meses de gestación y una condición corporal entre 2,75 y 3,0 en una escala del 1 al 5 [9], para garantizar un estado nutricional postparto acorde. Asimismo, las vacas debían cumplir las siguientes premisas para ingresar al experimento: negativo a la prueba de fondo negro en la leche, positivos al CMT (California Mastitis Test) $\geq +2$, crecimiento bacteriano en el cultivo de la muestra de leche, ausencia de signos visibles de inflamación de la glándula mamaria y ausencia de signos clínicos sistémicos. Estas vacas fueron manejadas bajo las mismas condiciones como un solo rebaño. Las mismas fueron alimentadas a pastoreo en potreros de pasto Guinea (*Panicum maximum*), agua y sales minerales *ad libitum*.

Colección de la muestra de leche

De todos los 156 cuartos muestreados se logró realizar el análisis de leche a 155 cuartos debido a que un cuarto estaba atrofiado. Posterior al ordeño, los pezones fueron limpiados con jabón y agua y secados con papel absorbente en forma individual, luego se les aplicó una solución de alcohol yodado, dejándolo escurrir por completo durante 30 segundos para proceder a limpiar rigurosamente con gasa estéril impregnada con alcohol isopropílico al 70%, solamente la punta del pezón para eliminar los residuos del yodo. Seguidamente, de manera aséptica se descartaron los dos primeros chorros de leche para coleccionar de 15 a 20 mL de leche de cada cuarto por separado, en tubos de vidrio con tapa de baquelita y posteriormente identificarlos [8].

Una vez que las muestras de leche estaban colectadas en los tubos de vidrio, se organizaron en gradillas para mantenerlas almacenadas y refrigeradas en una cava de anime con hielo (4°C) para transportarlas en un tiempo inferior a dos horas al laboratorio de investigación de la cátedra de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad del Zulia [8].

Procedimiento de laboratorio [16]

Inoculación primaria de las muestras: 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 (BBL, Becton Dickinson) y agar Mac Conkey (BBL, Becton Dickinson). Las placas fueron incubadas en una estufa de cultivo (Marca: Fanem®, Modelo: 002CB, Sao Paulo-Brasil) a 37°C durante 48 horas, para el aislamiento de bacterias aeróbicas.

Aislamiento de bacterias: El protocolo de aislamiento para bacterias patógenas mamarias se realizó bajo las recomendaciones del Nacional Mastitis Council (NMC). Posterior a la incubación de las placas de agar sangre y Mac Conkey a 37°C durante 48 horas, se examinaron macroscópicamente las colonias para obtener los datos de color, luminosidad, textura y reacción hemolítica. Se realizó la tinción Gram (Merck) y se procedió a observar las tinciones en microscopio de luz acromático, semiplano y plano (Revelation III-LW Scientific, Inc., EUA) para determinar la forma y agrupación de las bacterias. Posteriormente se realizaron pruebas bioquímicas para la identificación de acuerdo a la metodología recomendada por la NMC.

Análisis estadístico

El diseño experimental correspondió a un análisis descriptivo, considerando como variable descriptiva de estudio el crecimiento o aislamiento bacteriano. De igual forma se analizó la proporción de bacterias aisladas, de acuerdo a la tinción de Gram (Gram positivas o Gram negativas), además de recopilar su distribución de acuerdo a su patogenicidad. Se procedió a realizar la caracterización de las bacterias existentes en los cuartos mamaros de todas las vacas del experimento y a la identificación y clasificación de cada uno de los gérmenes encontrados.

Todos los datos recopilados durante el ensayo fueron colectados y codificados electrónicamente, luego detallados como proporciones de ocurrencia y analizados mediante el programa informático Microsoft Office Excel 2003 (Microsoft Corporation, EUA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento bacteriano por vaca

Se aislaron bacterias en 35 vacas con mastitis subclínicas, correspondiéndose con un 89,74% de crecimiento bacteriano. Asimismo, no se lograron aislamientos bacterianos en 4 glándulas mamaras, representando un 10,26%. La ocurrencia de aislamiento bacteriano por vaca está representada en la FIG. 1.

Aislamiento bacteriano por cuarto mamario

Se aislaron bacterias en 96 cuartos de un total de 156, correspondiéndose con un 61,53% de crecimiento bacteriano. Asimismo, se presentaron 49 cuartos sin crecimiento (31,41%); 10 cuartos contaminados (6,41%), es decir, se presentaron en la muestra de leche de estos cuartos más de dos crecimientos bacterianos y un cuarto atrofiado (0,64%). La ocurrencia de la distribución de los cuartos del estudio está representada en la FIG. 2.

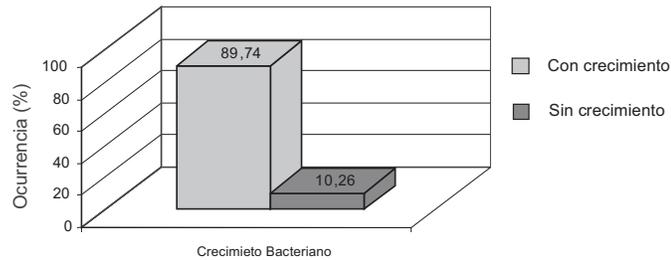


FIGURA 1. OCURRENCIA DE CRECIMIENTO BACTERIANO EN LAS VACAS EN ESTUDIO/BACTERIAL GROWTH FROM SAMPLED COWS.

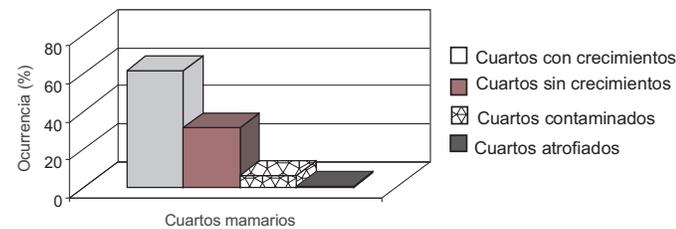


FIGURA 2. OCURRENCIA DE LA DISTRIBUCIÓN DE LOS CUARTOS DE LAS VACAS EN ESTUDIO/QUARTER DISTRIBUTION IN SAMPLED COWS.

Las bacterias aisladas con mayor frecuencia fueron el *Corynebacterium bovis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* y *Arcanobacterium pyogenes*. El total de especies de bacterias aisladas del muestreo están representadas en la TABLA I.

Se obtuvieron 107 aislamientos bacterianos de los 96 cuartos, de los cuales 11 cuartos presentaron dos especies bacterianas. En tal sentido, las bacterias aisladas con más frecuencia fueron, el *Staphylococcus aureus* en un 12,15%, el *Staphylococcus epidermidis* en un 20,56%, el *Arcanobacterium pyogenes* en un 7,48% y *Corynebacterium bovis* en un 46,73%. Desde el punto de vista de la morfología y tinción de Gram, de los 107 aislamientos logrados en el laboratorio, el 100% se colorearon Gram positivo; 45,79% correspondieron a formas cocoides y 54,21% resultaron formas bacilares/cocobacilares. Cabe destacar que no se observaron cocos y bacilos Gram negativos durante los aislamientos de muestras de leche.

Los crecimientos bacterianos obtenidos durante el estudio se organizaron en dos grupos: Crecimientos puros y crecimientos dobles (TABLA II). El primer grupo se definió como aquel donde se desarrolló un solo tipo de bacteria en el agar sangre, mientras que el segundo grupo fue definido como aquel donde se desarrollaron dos bacterias en el agar sangre. De esta manera se encontró que, de todos los cuartos que presentaron crecimientos bacterianos, 85 (88,54%) correspondieron a crecimientos puros, mientras que 11 (11,46%) correspondieron a crecimientos dobles.

**TABLA I
TOTAL DE ESPECIE BACTERIANAS AISLADAS EN LOS CUARTOS DE LAS VACAS EN ESTUDIO/
TOTAL OF ISOLATED BACTERIAL SPECIES IN QUARTERS FROM SAMPLED COWS.**

Especies de bacterias aisladas	Aislamiento (#)	Ocurrencia (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	12,15
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	22	20,56
<i>Staphylococcus intermedius</i>	3	2,80
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3	2,80
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	3	2,80
<i>Staphylococcus hyicus</i>	1	0,93
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2	1,87
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	2	1,87
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	8	7,48
<i>Corynebacterium bovis</i>	50	46,73
Total	107	100

En el presente estudio, 10 especies bacterianas fueron aisladas de las muestras de leche de 96 cuartos al final de la lactancia. Estas bacterias se han aislado en vacas en estudios anteriores [1, 2, 4, 5, 7, 8, 10, 13, 14, 18, 19, 21, 25, 26]. Caso contrario sucedió con 49 cuartos (31,41%), en los cuales, no pudo ser posible el aislamiento bacteriano, reportado también por otros autores [1, 7, 10, 13, 18].

Dentro de las bacterias aisladas, el *Corynebacterium bovis* fue la bacteria con mayor frecuencia de aislamiento (46,73%), concordando con otros autores, donde aislaron con predominancia este género de bacteria con una frecuencia mayor desde 34 a 42% [4, 14, 21]. En contraste con estos resultados, Wilson y col. [28], encontraron un porcentaje bastante bajo de este género bacteriano con un 0,1%. Analizando datos de ordeño manual y mecánico, Faría y col. [10], encontraron 20,31 y 7%, respectivamente de *Corynebacterium* spp. Sin embargo, se ha demostrado que esta bacteria es de alta prevalencia (30-70%) durante el período seco provocando mastitis subclínica frecuentemente.

El grupo de los SCN se desarrolló en un 27,10% de los cuartos en estudio, siendo el *S. epidermidis* con la ocurrencia más elevada (20,56%). Resultados semejantes a los del presente estudio se obtuvieron con un 28,7% de SCN [4]. De las 17 especies de *Staphylococcus* que se lograron identificar durante el período de transición en el estudio, solo se reportó crecimiento del *Staphylococcus chromogenes* en un 33% [1]. Resultados menos considerables fueron reportados, donde se aislaron menos del 8% de SCN [13, 14].

En tal sentido, cabe destacar que el *S. epidermidis* tuvo una presencia considerable en el presente estudio y su habilidad de invadir el tejido mamario lo hace un patógeno de reconocida virulencia para producir mastitis clínica [1, 2].

TABLA II
DISTRIBUCIÓN DE CUARTOS AFECTADOS
POR MASTITIS SUBCLÍNICAS, SEGÚN AGENTES
BACTERIANOS AISLADOS SEGÚN TIPO DE
CRECIMIENTO EN LAS VACAS EN ESTUDIO/ DISTRIBUTION
OF QUARTERS WITH SUBCLINICAL MASTITIS, PER ISOLATED
BACTERIAL AGENT AND PER GROWTH TYPE.

Especies de bacterias aisladas (Crecimiento puro)	Cuartos (#)	Ocurrencia (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	9,38
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	18	18,75
<i>Staphylococcus intermedius</i>	3	3,13
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	2,08
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2	2,08
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2	2,08
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1	1,04
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	5	5,21
<i>Corynebacterium bovis</i>	43	44,80
Especies de bacterias asociados (Crecimiento mixto)		
<i>Staphylococcus hyicus</i> - <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	1,04
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> - <i>Arcanobacterium pyogenes</i>	1	1,04
<i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Arcanobacterium pyogenes</i>	1	1,04
<i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Corynebacterium bovis</i>	2	2,08
<i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1,04
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> - <i>Corynebacterium bovis</i>	1	1,04
<i>Staphylococcus epidermidis</i> - <i>Corynebacterium bovis</i>	3	3,13
<i>Arcanobacterium pyogenes</i> - <i>Corynebacterium bovis</i>	1	1,04
Total	96	100

El *Staphylococcus aureus* se aisló en un 12,15%. Otros hallazgos denotan prevalencias de 25 a 54% [5] y 62,8% de *Staphylococcus aureus* [13]. Esta bacteria es catalogada como un patógeno contagioso por ser causal, tanto de mastitis clínica como de subclínica, capaz de transmitirse entre vacas y cuartos en ambientes de poca higiene durante el ordeño [2, 10, 11, 25].

En general, el género *Staphylococcus* fue el segundo responsable en las infecciones subclínicas con un porcentaje de aislamiento global de 42,04%. Otros autores han reportado a este género como el principal agente causal de IIM [1, 11].

Los hallazgos microbiológicos obtenidos sugieren que, las bacterias aisladas de los cultivos de cuartos de las vacas en estudio son las causantes de producir mastitis subclínica, que posteriormente se transformaría en fase clínica muy cerca del parto o después de éste [2, 11]. Sin embargo, existen evidencias que no necesariamente las bacterias que invaden la glándula mamaria desarrollan persistencia de la mastitis [2]. Estas bacterias, a pesar de no producir cambios organolépticos en la leche o manifestaciones inflamatorias en la ubre en una primera instancia, el desinterés desde el punto de vista de la bioseguridad a las vacas durante el período seco, permitiría la aparición de IIM y mastitis clínica en el rebaño lechero en la etapa de transición [12].

Varios investigadores [8, 10, 11] han categorizado las bacterias que afectan a la ubre en dos grupos, basado en el potencial de patogenicidad: grupo de bacterias denominadas patógenos mayores como los SCP (*Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus intermedius*), *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* y *Escherichia coli*; y grupo de bacterias denominadas patógenos menores como los SCN y *Corynebacterium* spp. En base a lo anteriormente citado, tal como se observa en la FIG. 3, se puede deducir que fueron aisladas bacterias de los dos grupos mencionados; dentro del grupo de los patógenos menores (73,82%), se aislaron *Staphylococcus epidermidis* (20,56%), *Staphylococcus saprophyticus* (2,80%), *Staphylococcus haemolyticus* (2,80%), *Staphylococcus hyicus* (0,93%) y *Corynebacterium pyogenes* (46,73%); dentro del grupo de los patógenos mayores (18,69%), se aislaron *Staphylococcus aureus* (12,15%), *Staphylococcus intermedius* (2,80%), *Streptococcus agalactiae* (1,87%) y *Streptococcus dysgalactiae* (1,87%). Tenhagen y col. [25], encontraron similares resultados de patógenos menores y mayores (62,2 y 21,8%, respectivamente); no así, Calvinho y Tirantes [5] quienes encontraron elevada prevalencia de los patógenos mayores sobre los menores, presentando los primeros, más de 65% en muestras obtenidas a partir de mastitis subclínicas [5].

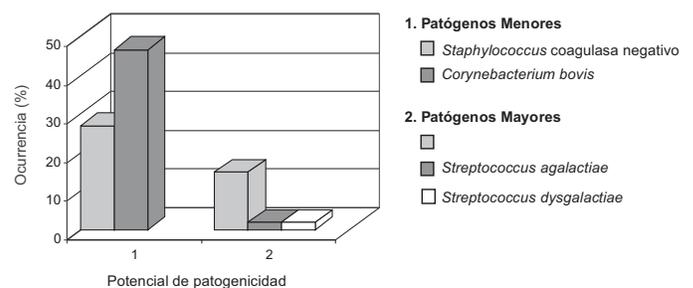


FIGURA 3. OCURRENCIA DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS DISTRIBUIDOS EN CATEGORÍAS BASADO EN SU POTENCIAL DE PATOGENICIDAD EN CUARTOS CON MASTITIS SUBCLÍNICAS/BACTERIAL ISOLATES DISTRIBUTED IN CATEGORIES ACCORDING TO THEIR PATHOGENICITY POTENTIAL IN QUARTERS WITH SUBCLINICAL MASTITIS.

Sobre los aislamientos puros (88,54%) y dobles (11,46%) reportados en este estudio se correlacionan en gran parte con los datos encontrados por otros autores [10], consiguiendo en cuartos una predominancia de los aislamientos puros (45,45%) con respecto a los aislamientos dobles (23,37%). Silva y col. [24], relacionando en laboratorio a los cultivos puros y dobles con su implicación en desarrollar mastitis clínica, dedujeron que las IIM dobles durante una mastitis subclínica tienen mayor posibilidad de producir un evento clínico. En general, se encontraron ocurrencias elevadas en los aislamientos puros (FIG. 4), siendo el *Corynebacterium bovis* (44,80%) la bacteria que se aisló con mayor frecuencia de manera pura, seguido del *S. epidermidis* (18,75%) y *Staphylococcus aureus* (9,38%); las demás bacterias estuvieron por debajo del 4% (TABLA II). Estos datos confirman los resultados obtenidos por otros autores [3, 17] al mencionar que el *Corynebacterium* spp. es uno de los principales microorganismos bacterianos que afectan la glándula mamaria bovina, iniciando el efecto nocivo de manera subclínica y esperando condiciones favorables para su multiplicación como la deficiencia en la higiene del ordeño y ausencia del sellado de pezones post-ordeño; bajo este ambiente, la virulencia aumenta y la proliferación de la bacteria es iniciada dejando su papel de oportunista para convertirse en patógeno [4, 8, 17, 23]. Hallazgos *in vitro* determinaron que la actividad fagocitaria es mayor en cultivos puros que en mixtos, deduciendo que la fagocitosis disminuye en glándulas mamarias que presentan dos bacterias patógenas, debido a que los neutrófilos presentan preferencia fagocitaria por una de las bacterias [24].

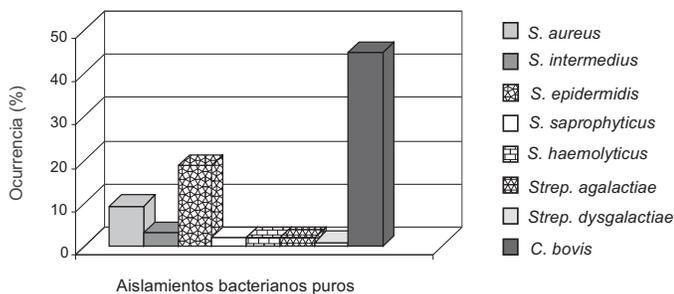


FIGURA 4. OCURRENCIA DE AISLAMIENTOS BACTERIANOS PUROS EN CUARTOS DE LAS VACAS EN ESTUDIO/PURE BACTERIAL ISOLATES IN QUARTERS FROM SAMPLED COWS.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los hallazgos de este estudio proporcionan bases sobre las bacterias que residen en los cuartos de las vacas para conocer el estado de salud de la glándula mamaria al inicio del período seco. Conociendo de antemano los momentos más susceptibles en el período seco para presentar IIM, como son el inicio (cesación de la lactancia) y el final (inicio de la lacto-

génesis) del mismo, se puede enfatizar que existen escenarios de manejo y aspectos de bioseguridad que previenen la aparición de estas infecciones logrando favorecer la higiene del tejido mamario durante el período seco y un desempeño productivo y reproductivo exitoso de la vaca. Los resultados de este estudio garantizan investigaciones adicionales para determinar los efectos de la aparición de IIM preparto sobre la mastitis clínica al parto y luego de éste en las vacas del trópico y de esta manera profundizar en la pertinencia microbiológica, clínica y reproductiva.

AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) de la Universidad del Zulia, por el financiamiento económico otorgado al Proyecto N° CC-0105-05.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AARESTRUP, F.M.; JENSEN, N.E. Prevalence and Duration of Intramammary Infection in Danish Heifers During the Peripartum Period. **J. Dairy Sci.** 80: 307-312. 1997.
- [2] ANAYA-LÓPEZ, J.L.; CONTRERAS-GUZMÁ, O.E.; CÁRA-BEZ-TREJO, A.; BAIZABAL-AGUIRRE, V.M.; LÓPEZ-MEZA, J.E.; VALDEZ-ALARCÓN, J.J.; OCHOA Z., A. Invasive potencial of bacterial isolates associated with subclinical bovine mastitis. **Res. in Vet. Sci.** 81: 358-361. 2006.
- [3] AZOCAR S., J.E. Prevalencia, incidencia y etiología de mastitis en un centro de acopio lechero, comuna de María Pinto, región metropolitana. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuaria de la Universidad de Chile. Trabajo de Tesis. 59 pp. 2001.
- [4] BRADLEY, A.J.; NEWTON, H.; GREEN, M. J. Use and interpretation of bacteriology in the diagnosis of bovine intramammary infection. In: **Mastitis in dairy production-Current Knowledge and future solutions.** H. Hogeveen (Ed). Wageningen Academic Publishers. The Netherlands. 1023 pp. 2005.
- [5] CALVINHO, L.F.; TIRANTE, L. Prevalencia de microorganismos patógenos de mastitis bovina y evolución del estado de salud de la glándula mamaria en Argentina en los últimos 25 años.. Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Provincia de Córdoba, República de Argentina. **Rev FAVE, Sección Ciencias Veterinarias.** 8: 1-8. 2005.
- [6] COMISIÓN DEL PLAN PARA EL APROVECHAMIENTO DE LOS RECURSOS HIDRÁULICOS (COPLANARH). Atlas. Inventario Nacional de Tierra. Región Lago de Maracaibo. Caracas-Venezuela. 493 pp. 1975.
- [7] DAVID, J.; WILSON, R.; GONZÁLEZ N.; DAS, H. H. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania:

- Prevalence and effects on somatic cell count and milk production. **J. Dairy Sci.** 80: 2592-2598. 1997.
- [8] ECHEVARRIA, L.; ROUSSEL, P.; COCHARD, T.; BRUN, T.; POUTREL, B.; HEUCHEL, V. Maîtrise des infections mammaires dans les élevages agrobiologiques. Mastitis control in organic herds. In: **Mastitis Newsletter** 26. International Dairy Federation/ Federation Internationale de Laiterie. Brussels, Belgium. ISSN 0250-5118. 9-10 pp. 2005.
- [9] EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. **J. Dairy Sci.** 72:68-78. 1989.
- [10] FARÍA R., J.F.; GARCÍA U., A.; D'POOL, G.; VALERO L., K.; ALLARA C., M.; ANGELOSANTE, G. (a). Detección de mastitis subclínica en bovinos mestizos Doble Propósito ordeñados en forma manual o mecánica. Comparación de tres pruebas diagnósticas. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XV(2): 109-118, 2005.
- [11] FARÍA R., J.F.; GARCÍA U., A.; D'POOL, G.; VALERO L., K.; ALLARA C., M.; MORALES, D. (b). 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. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XV (1): 64-71, 2005.
- [12] GARCÍA G., A.N. Manejo del período seco y su influencia en la producción y reproducción. En: **Manual de Ganadería Doble Propósito.** C. González Stagnaro, E. Soto Belloso (Eds.). Ediciones Astro Data, S.A. Maracaibo-Venezuela. IV (11). 271-275 pp. 2005.
- [13] GIANNECHINI, R.; CONCHA, C.; RIVERO, R.; DE-LUCCI, I.; MORENO L., J. Occurrence of clinical and sub-clinical mastitis in dairy herds in the West Littoral Región in Uruguay. **Acta Vet. Escand.** 43: 221-230. 2002.
- [14] GREEN, M.J.; GREEN, L.E.; MEDLEY, G.F.; SCHUKKEN, Y.H.; BRADLEY, A.J. Influence of dry period bacterial intramammary infection on clinical mastitis in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 85: 2589-2599. 2002.
- [15] HARMON, R. J. Controlling contagious mastitis. 1996. Lexington, Kentucky. National Mastitis Council Regional Meeting-Proceeding, Queretero, Mexico. 11 pp. On line: www.nmconline.org/articles/contagious.htm. 3 de octubre de 2007.
- [16] HARMON, R.J.; EBERHART, R.J.; JASPER, D.E.; LANGLOIS, B.E.; WILSON, R.A. Procedures for Collecting Milk samples. In: **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection.** 3rd Ed. National Mastitis Council. Arlington, VA. 34 pp. 1990.
- [17] HUXLEY, J.N.; GREEN, M. J.; BRADLEY, A. J. *Corynebacterium bovis* – friend or foe? **Proceedings of the British Mastitis Conference**, Garstang. 8ht October 2003. Institute for Animal Health. 23-34 pp. 2003.
- [18] KIVARIA, F.M.; NOORDHUIZEN. J.P.T.M.; KAPAGA, A.M. Prevalence and antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from milk samples of mallholder dairy cows in Tanzania. In: **Epidemiological studies on bovine mastitis in smallholder dairy herds in the Dar es Salaam region, Tanzania.** F. M. Kivaria (Ed.). 3. 25-36 pp. 2006.
- [19] LEBLANC, S.J.; LISSEMORE, K.D.; KELTON, D.F.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K.E. Major advances in disease prevention in dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 89: 1267-1279. 2006.
- [20] OVIEDO-BOYSO, J.; VALDEZ-ALARCÓN, J.J.; CAJERO-JUÁREZ, M.; OCHOA-ZARZOSA, A.; LÓPEZ-MEZA, J.E.; BRAVO-PATIÑO, A.; BAIZABAL-AGUIRRE, V.M. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. **J. of Infect.** 54: 399-409. 2007.
- [21] PITKÄLÄ, A.; HAVERI, M.; PYÖRÄLÄ, S.; MYLLYS, V.; HONKANEN-BUZALSKI, T. Bovine mastitis in Finland 2001—Prevalence, distribution of bacteria and antimicrobial resistance. **J. Dairy Sci.** 87: 2433-2441. 2004.
- [22] ROSENGREN, J. La vaca de leche. Control del ordeño. Buenas prácticas. 2006. De Laval International AB. En línea: http://www.delaval.es/Dairy_Knowledge/Efficient-Milking/La_vaca_lechera.htm. 15 de septiembre de 2007.
- [23] SCHROEDER, J.W. Mastitis control programs: Bovine mastitis and milking management, 1997. North Dakota State University and U.S. Department of Agriculture cooperating. AS-1129. On Line: www.ag.ndsu.edu/pubs/ansci/dairy/as1129.pdf. 18 de septiembre de 2007.
- [24] SILVA, I. D.; JAIN, N.C.; FARVER, T.B.; ZINKL, J.G. Phagocytic and postphagocytic activities of bovine neutrophils for pure and mixed bacterial cultures. **J. Dairy Sci.** 71:2513–2519. 1988.
- [25] TENHAGEN, B.A.; KÖSTER, G.; WALLMANN, J.; HEUWIESER, W. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. **J. Dairy Sci.** 89: 2542-2551. 2006.
- [26] WAAGE, S.; MØRK, T.; RØROS, A.; AASLAND, D.; HUNSHAMAR, A.; ØDEGAARD, S. A. Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers. **J. Dairy Sci.** 82: 712-719. 1999.
- [27] WHITE, L.J.; LAM, T.J.G.M.; SCHUKKEN, Y.H.; GREEN, L.E.; MEDLEY, G.F.; CHAPPELL, M.J. The transmission and control of mastitis in dairy cows: A theoretical approach. **Prev. Vet. Med.** 74: 67-83. 2006.
- [28] WILSON, D.J.; GONZALEZ, R.N.; DAS, H.H. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: Prevalence and effects on somatic cell count and milk production. **J. Dairy Sci.** 80: 2592-2598. 1997.