

PREVALENCIA DE MASTITIS SUBCLÍNICA, MICROORGANISMOS ASOCIADOS Y FACTORES DE RIESGO IDENTIFICADOS EN HATOS DE LA PROVINCIA DE PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER

J. A. Mendoza^{1*}, Y. A. Vera¹, L. C. Peña^{1,2}

Artículo recibido: 15 de septiembre de 2016 • Aprobado: 26 de mayo de 2017

RESUMEN

Se determinó la prevalencia de mastitis, los microorganismos asociados y los factores de riesgo relacionados en explotaciones lecheras de municipios pertenecientes a la provincia de Pamplona (Norte de Santander, Colombia). Se realizó la prueba de California Mastitis Test (CMT) a 1.208 cuartos provenientes de 302 animales ubicados en 108 predios. De los cuartos positivos (de trazas a 3+), se obtuvo una muestra de leche y se realizó aislamiento microbiológico. Mediante un cuestionario se analizaron 64 variables relacionadas con las condiciones y sistema de ordeño en los predios y su correlación con la presencia de la enfermedad utilizando tablas de contingencia y la prueba chi cuadrado (χ^2). Se determinó una prevalencia individual de 54,6% (165/302) (95% CI 48,8-60,3) animales positivos al CMT. En 67,6% (73/108) (95% CI 58,3-75,7) de los predios se presentó al menos un animal positivo, mientras que un total de 21,6% (260/1.208) (95% CI 19,3-23,9) de los cuartos presentaron reactividad al CMT. De las muestras en las cuales se pudo realizar aislamiento y caracterización microbiológica, en 74,4% se aisló *Staphylococcus aureus*, 12,3% *Streptococcus agalactiae* y 13,3% coliformes. Un total de 17 características se asociaron a la presencia de mastitis, mientras la totalidad de estos factores se relacionaron con la ausencia de buenas prácticas de ordeño. La presencia, principalmente de microorganismos asociados a mastitis contagiosas, evidencian la necesidad de capacitación y asesoramiento para implementar buenas prácticas de ordeño y mejorar la competitividad del sector en la región, lo que redundará en un aumento en la producción.

Palabras clave: mastitis bovina, *Staphylococcus aureus*, ordeño manual.

PREVALENCE OF SUBCLINICAL MASTITIS, ASSOCIATED MICROORGANISMS AND IDENTIFIED RISK FACTORS IN DAIRY HERDS IN THE PROVINCE OF PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER

ABSTRACT

Mastitis prevalence, associated microorganisms and related risk factors were determined in dairy operations from municipalities belonging to the province of Pamplona (Norte de

¹ Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Pamplona. Km 1 vía Bucaramanga; Pamplona, Norte de Santander (Colombia).

² Comparative Medicine and Integrative Biology Program, Department of Microbiology and Molecular Genetics, Michigan State University; East Lansing, Michigan. (EUA).

Autor para correspondencia: *almendoza@unipamplona.edu.co

Santander, Colombia). California Mastitis Test (CMT) was performed in 1.208 quarters from 302 animals located in 108 rural properties. Milk samples from positive quarters (trace up to 3+) were obtained and submitted for microbiological isolation. Analysis of a 64 variables survey related to the milking practices in the rural properties under study and its link with the presence of the disease was performed using contingency charts and chi-square test (χ^2). Determined prevalence per individual was 54,6% (165/302) (95% CI 48.8 to 60.3) CMT positive animals. In 67,6% (73/108) (95% CI 58.3 to 75.7) of the rural properties the presence of at least one animal testing positive was detected, whereas a total of 21,6% quarters (260/1208) (95% CI 19.3 to 23.9) showed CMT reactivity. From the samples subjected to isolation and microbiological characterization, a total of 74.4% were compatible with *Staphylococcus aureus*, 12.3% with *Streptococcus agalactiae* and 13.3% with coliforms. A total of 17 characteristics were associated with the presence of mastitis, all of which were related to poor milking practices. The presence of contagious mastitis associated microorganisms, shows the need for training and orientation to implement proper milking practices and enhance the competitiveness of this sector in the region, which will result in an increase in production.

Keywords: Bovine mastitis, *Staphylococcus aureus*, hand milking.

INTRODUCCIÓN

La mastitis bovina es la inflamación de la glándula mamaria cuyo origen puede ser infeccioso, traumático o tóxico. Esta es una enfermedad de alta incidencia a nivel mundial siendo una de las patologías más relevantes y que generan mayores costos en la industria láctea, no solo por las pérdidas que ocasiona, sino por las dificultades para su control. Los agentes etiológicos causantes de la enfermedad pueden variar de lugar a lugar dependiendo del clima, la raza y el sistema de explotación utilizado (Deb *et al.* 2013).

En la mayoría de casos la enfermedad cursa de manera subclínica y los animales afectados no presentan ningún tipo de sintomatología, pasando desapercibidos. Sin embargo, su efecto se ve reflejado en los bajos niveles de producción y en leches que presentan malas condiciones, tanto sanitarias como organolépticas, incluso pueden presentar limitaciones para su uso en la obtención de productos derivados como el queso (Åkerstedt *et al.* 2012).

De acuerdo con estudios realizados en el Altiplano Cundiboyacense, de 34,4% de animales sospechosos de padecer mastitis, el 31,3% correspondió a casos de mastitis subclínica, mientras que solo el 2,2% correspondió a mastitis clínica (Calderón y Rodríguez 2008). La determinación de los casos sospechosos de mastitis se puede realizar a nivel de campo utilizando para ello pruebas tales como el California Mastitis Test (CMT), el cual determina, de manera indirecta, un aumento en el número de células somáticas como respuesta al proceso inflamatorio inmanente a la mastitis, esta prueba ha mostrado una buena confiabilidad especialmente cuando se utiliza de manera simultánea con el cultivo microbiológico para determinar el agente etiológico (Sargeant *et al.* 2001; Dingwell *et al.* 2003a). El CMT ha sido utilizado en diversos estudios llevados a cabo en múltiples zonas lecheras del país (Ramírez *et al.* 2001; Cerón-Muñoz *et al.* 2007; Calderón y Rodríguez 2008; Trujillo *et al.* 2011; Andrade-Becerra *et al.* 2014; Ramírez *et al.* 2014).

La invasión del sistema de conductos y el tejido glandular mamario por parte de microorganismos de diverso origen, conduce al desarrollo de una infección intramamaria (IIM), condición con dos modalidades: contagiosa y medioambiental; la primera es causada principalmente por microorganismos tales como *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus agalactiae*, los cuales residen en la piel de la glándula mamaria y cuya transmisión tiene lugar en el momento del ordeño (Calderón y Rodríguez 2008); la segunda modalidad de IIM involucra microorganismos que generalmente se encuentran en el medioambiente tales como *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Pseudomonas* spp. y *Proteus* spp., y algunas bacterias Gram positivas como *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae* (Smith y Hogan 1993). La frecuencia de la infección por estos patógenos es variable y depende del nivel de prevención, los métodos de ordeño y las condiciones de manejo de los animales (Bradley 2002). Las principales especies aisladas en casos de mastitis bovina en nuestro medio han sido tradicionalmente *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*, las cuales representan una prevalencia entre 35 y 45% y de 14 a 33%, respectivamente (Rodríguez *et al.* 2002; Rodríguez 2006). Otros estudios han determinado igualmente la presencia de microorganismos tales como *Staphylococcus coagulasa* negativos (SCN) y *Corynebacterium* spp. (Ramírez *et al.* 2014).

Como se dijo, muchos de estos microorganismos pueden vivir en la piel de la glándula mamaria y su transmisión puede ocurrir en el momento del ordeño por prácticas que constituyen factores de riesgo para la presentación de la enfermedad, como el uso compartido de toallas para

lavar y secar las ubres, mediante las manos contaminadas de los ordeñadores o por el uso de pezoneras no desinfectadas entre vacas en los ordeños mecánicos (Calderón y Rodríguez 2008). En general los estudios referentes a factores de riesgo en nuestro medio se relacionan con deficiencias en la rutina de ordeño (Ramírez *et al.* 2014).

La Provincia de Pamplona en Norte de Santander tiene una población bovina de 67.125 animales, de las cuales 12.346 corresponden a vacas en ordeño con una producción promedio de 3,9 litros de leche por vaca día (ICA 2016). Al comparar estos datos con el promedio nacional, muestran un índice de producción muy bajo. Las causas de la baja productividad aún no han sido estudiadas, si bien se sospecha que podrían estar relacionadas, entre otras, con un rezago tecnológico. Adicionalmente, el desconocimiento de buenas prácticas de ordeño podría ser otro factor relacionado con la baja productividad; al respecto, no hay estudios previos publicados para la zona.

Con el objeto de mejorar los índices productivos, el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR 2013) impulsó modelos de gestión asociativos en varios municipios pertenecientes a la provincia (Chitagá, Toledo, Silos, Labateca y Mutiscua) tendientes al fortalecimiento del proceso productivo de la leche y la comercialización de productos lácteos; a tal fin apoyó una serie de cooperativas cuya meta era elevar la producción a partir de una unidad productiva familiar, buscando en muchos casos la transformación del producto para dar un valor agregado y utilizando el esquema de cadenas productivas de los productos lácteos.

Los objetivos del presente trabajo fueron determinar la prevalencia y causas infecciosas bacterianas que ocasionan

mastitis subclínica en la provincia de Pamplona, así como identificar posibles factores relacionados con malas prácticas de ordeño en las explotaciones estudiadas a fin de generar un conocimiento base hasta ahora desconocido para la zona.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo y población de estudio

Se realizó un estudio descriptivo, no probabilístico, de conveniencia y corte transversal en 108 predios lecheros de la provincia de Pamplona. Todos los predios se ubicaron entre los 2.000 y 3.000 msnm y pertenecían al Proyecto Apoyo a Alianzas Productivas del MADR (2013). La raza predominante en las explotaciones fue la Normando y sus cruces; los criterios de inclusión fueron bovinos hembras en edad reproductiva y en periodo de lactancia. El total de las fincas utilizaba ordeño manual. Se muestrearon un total de 1.208 cuartos provenientes de 302 animales (Toledo 117; Labateca 51; Silos 62; Mutiscua 17; Chitagá 55).

Prueba de CMT

Inicialmente, para determinar los animales sospechosos de presentar mastitis subclínicas, previa eliminación de los primeros chorros, se tomaron 2 ml de leche de cada cuarto de la ubre y se realizó la prueba de California Mastitis Test (alkil-aril sulfonato de sodio) (LAURITEST®) de acuerdo con las indicaciones de la prueba. Brevemente, usando la paleta para CMT se tomaron 2 ml de leche y se mezclaron con 2 ml de reactivo, la mezcla se distribuyó homogéneamente con movimientos circulares por 20 segundos, la formación de diferentes niveles de coágulo arrojó un resultado cualitativo para cada uno de los cuartos,

los cuales fueron clasificados siguiendo los criterios sugeridos por Rodríguez (1988) y Mellenberger y Roth (2000).

Análisis microbiológico

De todos los cuartos positivos (considerados desde trazas hasta 3+), se tomaron muestras de leche de 5 ml cada una, en un tubo estéril de tapa rosca, previa limpieza y desinfección del pezón, mediante el uso de torundas individuales de algodón empapado con alcohol etílico al 70%, de acuerdo con las recomendaciones del National Mastitis Council (Hogan *et al.* 1999); las muestras fueron mantenidas en refrigeración constante previamente a su procesamiento, el cual se realizó en el Laboratorio de Investigaciones en Ciencias Biomédicas de la Universidad de Pamplona. Inicialmente, de cada muestra se sembraron alícuotas de 0,1 mL en placas de Petri con Agar Base Sangre más 5% de sangre de equino, MacConkey, Baird Parker y Agar Salado Manitol.

Las muestras se incubaron bajo condiciones de aerobiosis a 37°C por 24 a 48 horas y aquellas cajas en las que no hubo crecimiento se incubaron 24 horas adicionales. Los microorganismos aislados se analizaron de acuerdo con la morfología de las colonias y la tinción de Gram. Inicialmente se clasificaron como cocos o bacilos Gram positivos o Gram negativos; los cocos Gram positivos se sometieron a la prueba de la catalasa con el objeto de diferenciar *Staphylococcus* spp. de *Streptococcus* spp. Las cajas de Petri con características compatibles con *Staphylococcus* se inocularon en Agar Salado Manitol, se les realizó la prueba de coagulasa en tubo, usando para tal efecto plasma de conejo, y se revisaron a las 4, 18 y 24 horas: la formación de coágulos clasificó al microorganismo como *Staphylococcus aureus* y su

ausencia como *Staphylococcus coagulasa* negativa (SCN) (Winn *et al.* 2008). Los cocos Gram positivos, catalasa negativos se clasificaron como *Streptococcus* y a estos se les realizó la prueba de CAMP, así como la de resistencia al NaCl y a la hidrólisis de la esculina. Algunos aislamientos de difícil clasificación se sembraron utilizando el sistema Cristal BBL para Gram positivos. Los bacilos Gram negativos se sometieron a biotipificación utilizando las pruebas TSI, LIA, SIM, RMVP, urea y citrato. El aislamiento de uno o dos microorganismos a partir de muestras reactivas al CMT (de trazas a ++++) fue considerado como un caso positivo de mastitis subclínica; igualmente, la presencia de al menos un caso, determinó a un predio como positivo.

Recolección de datos

Con el objeto de caracterizar los sistemas de ordeño, y su relación con la presencia de mastitis subclínica, se desarrolló un cuestionario (disponible previa solicitud por escrito a los autores) que se diligenció por observación directa en cada uno de los predios estudiados a fin de determinar los factores relacionados con malas prácticas de ordeño que puedan determinar la presentación de mastitis subclínicas en las explotaciones. El cuestionario fue diligenciado por estudiantes de Medicina Veterinaria, previamente capacitados en actividades relacionadas con Buenas Prácticas de Ordeño (BPO). En total se analizaron 64 variables que juegan un papel importante en la incidencia de mastitis en hatos lecheros; la información recolectada se relaciona, entre otros aspectos, con utensilios usados en el ordeño, número de animales en ordeño, número de personas que participan en el ordeño, tipo de ordeño. Con respecto a los animales se recolectaron datos relacionados con raza, edad, número de partos,

condición corporal, cuartos perdidos. En la clasificación sobre la higiene del ordeño se tuvieron en cuenta aspectos tales como el lavado de manos antes y durante el ordeño; lavado y estado de limpieza de cantinas, baldes, manilas y demás aparejos empleados durante el ordeño; estado de limpieza de la ropa del personal que participa en el ordeño y uso de vestimenta adecuada para la labor; disponibilidad de agua en el sitio de trabajo; capacidad del establo de acuerdo al número de animales en ordeño; estado de aseo del establo al inicio y durante el ordeño; lavado y secado de ubres y/o pezones; uso de sellantes y condiciones higiénicas del sitio de permanencia de los animales.

Una vez obtenidos y tabulados los datos utilizando el programa Excel®, se desarrolló un análisis estadístico mediante tablas de contingencia y una prueba chi cuadrado (χ^2) para determinar el grado de asociación entre las variables estudiadas y la presencia de mastitis subclínica en los predios, mediante el software estadístico SPSS® versión 14.0.

RESULTADOS

Se hicieron visitas a 108 fincas en los municipios de Toledo, Labateca, Silos, Mutiscua y Chitagá. El total de animales muestreados fue de 302, lo que equivale a un total de 1.208 cuartos analizados. En la Tabla 1 se presenta la distribución de los predios visitados en los diferentes municipios y los resultados encontrados a la prueba de CMT. De los predios visitados, 73 presentaron al menos un animal con un cuarto afectado, lo que equivale a una prevalencia de 67,6% (73/108) (95% CI 58,3-75,7). En estos se determinó la presencia de 260 cuartos afectados lo que indica una prevalencia por cuartos de

21,5% (260/1.208) (95% CI 19,3-23,9); los cuartos afectados correspondieron a 165 animales lo que lleva a una prevalencia individual de 54,6% (165/302) (95% CI 48,8-60,3).

Los análisis microbiológicos permitieron determinar 301 aislamientos, identificándose 261 cepas correspondientes a un 86,7% como Gram positivas, y 40 cepas correspondientes a 13,3% como Gram negativas. Las cepas Gram positivas, fueron cultivadas en medios selectivos y diferenciales encontrándose que el 85,8% correspondiente a 224 cepas, fueron catalasa positivos y crecieron en los medios Bair Parker y Agar Salado Manitol, clasificándose presuntivamente como *Staphylococcus* spp. De los anteriores aislamientos, 37 bacterias de difícil clasificación fenotípica y aquellas coagulasa negativas, fueron sometidas a una caracterización utilizando el sistema BBL cristal para Gram positivas. Este sistema permitió identificar 19 cepas como *Staphylococcus aureus*, 10 como *Staphylococcus haemolyticus*, 6 como *Staphylococcus simulans* y 2 cepas como *Staphylococcus saprophyticus*. Adicionalmente, se encontró que 37 cepas

correspondientes al 14,2 % mostraron actividad beta hemolítica en agar sangre, presentando actividad negativa para la prueba de la catalasa, y morfología de cocos en cadena, por lo que se aislaron en agar selectivo para *Streptococcus*, posteriormente a estos aislados se les realizó la prueba de CAMP, clasificándose estas cepas como *Streptococcus agalactiae*.

Con el fin de identificar los 40 aislamientos identificadas como Gram negativas, se aislaron las cepas en agar MacConkey, EMB y SIM (Sulfuro Indol Motilidad), debido a la diversidad de resultados encontrados en la biotipificación se determinó identificar estas cepas de manera genérica como del grupo de *coliformes*. La distribución total de los aislamientos se presenta en la Tabla 2.

En cuanto al cuestionario y su análisis (Tabla 3) se encontraron un total de 17 características estadísticamente asociadas con la presencia de mastitis por la prueba de chi cuadrado (χ^2); la totalidad de estos factores adversos se encuentran relacionados con la no aplicación de las medidas de buenas prácticas de ordeño (BPO).

TABLA 1. Resultados de la prueba CMT en los predios visitados de la provincia de Pamplona (N. de S.). Total de predios y cuartos analizados.

| Municipio | N° de predios | N° de animales | Resultados de CMT en cuartos (%) | | | | Cuartos positivos (%) |
|--------------|---------------|----------------|----------------------------------|--------------------|-------------------|-----------------|-----------------------|
| | | | Trazas | + | ++ | +++ | |
| Toledo | 39 | 117 | 10 (17,2) | 31 (53,4) | 16 (27,6) | 1 (1,7) | 58/468 (12,4) |
| Labateca | 19 | 51 | 8 (13,1) | 34 (55,7) | 17 (27,9) | 2 (3,3) | 61/204 (29,4) |
| Silos | 14 | 62 | 9 (15,5) | 21 (36,2) | 28 (48,3) | 0 | 58/248 (23,4) |
| Mutiscua | 4 | 17 | 5 (27,8) | 4 (22,2) | 6 (33,3) | 3 (16,7) | 18/68 (26,5) |
| Chitagá | 32 | 55 | 20 (30,8) | 29 (44,6) | 16 (24,6) | 0 | 65/220 (29,5) |
| TOTAL | 108 | 302 | 52 (20%) | 119 (45,8%) | 83 (31,9%) | 6 (2,3%) | 260 (100%) |

TABLA 2. Microorganismos aislados a partir de muestras positivas de leche al CMT.

| Microorganismo | Numero de aislamientos | % |
|-------------------------------------|------------------------|------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 206 | 68,4 |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i> | 10 | 3,3 |
| <i>Staphylococcus simulans</i> | 6 | 2,0 |
| <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | 2 | 0,6 |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | 37 | 12,3 |
| Coliformes | 40 | 13,3 |
| Total | 301 | 100 |

TABLA 3. Factores asociados con la presencia de mastitis en predios pertenecientes a las Alianzas Productivas en los municipios de Toledo, Labateca, Mutiscua, Silos y Chitagá (provincia de Pamplona, N. de S.).

| Variable | P < 0,05 |
|--|----------|
| 1. No se tiene corral de espera para el ordeño en potrero | 0,001 |
| 2. No existe un sistema de inmovilización bajo techo | 0,003 |
| 3. No se lavan los pezones | 0,004 |
| 4. La persona que maneja ordeña | 0,01 |
| 5. No se retiran las leches con calostros | 0,016 |
| 6. No hay áreas de ordeño con capacidad para atender a todos los animales | 0,016 |
| 7. No se cuenta con sistemas de almacenamiento de agua potable | 0,016 |
| 8. No se cuenta con sistemas sanitarios lejos del área de ordeño | 0,021 |
| 9. No se lavan y secan las ubres antes de iniciar el ordeño | 0,022 |
| 10. El ordeño en potrero no se realiza bajo cobertizo | 0,029 |
| 11. No existencia de un sistema de distribución de agua adecuado a todas las áreas | 0,03 |
| 12. No se rota el área de ordeño en potrero | 0,032 |
| 13. No se remueve con frecuencia el estiércol del establo y lugar de ordeño | 0,043 |
| 14. No se ordeña totalmente el animal | 0,045 |
| 15. No hay existencia de bretes o sistemas de inmovilización para facilitar el manejo | 0,046 |
| 16. No se tienen elementos de protección personal para el ordeño | 0,047 |
| 17. Los operarios no se lavan las manos antes de iniciar ordeño y al cambiar el animal | 0,049 |

DISCUSIÓN

La prevalencia por cuartos encontrada mediante la prueba CMT en la región estudiada (21,6%) es un poco menor a las reportadas en otras regiones del país donde existe una lechería especializada, tal como el altiplano cundiboyacense, en donde el 34,4% de los cuartos analizados tuvieron algún tipo de reactividad a la prueba; de estos, el 31,3% correspondió a los casos de mastitis subclínica (desde trazas hasta CMT +3), el 2,2% a mastitis clínica y el 0,9% a cuartos perdidos o no funcionales para la producción de leche (Calderón y Rodríguez 2008). Estos últimos datos son muy similares a los citados por Ramírez *et al.* (2001) quienes reportaron una prevalencia del 33,9% de mastitis subclínica en vacas de lecherías especializadas en San Pedro de los Milagros (Antioquia). Estas diferencias entre regiones pueden ser explicadas por la presencia de diferentes factores de manejo tales como la utilización de ordeño mecánico en las explotaciones especializadas y la implementación de estrategias específicas en el manejo de periodo seco (Green *et al.* 2007), los diferentes estados de lactación o incluso algunas diferencias en los regímenes de alimentación o tasas de reemplazo de animales (McDougall 1999). Es importante destacar que los sistemas de producción de la zona estudiada, corresponden a economías familiares que están formadas por explotaciones con un bajo número de animales el cual oscila entre 3 y 50 animales máximo (datos no mostrados) y con un sistema de ordeño manual en todas las explotaciones estudiadas y niveles de tecnificación muy bajos; en la mayoría de los predios no se implementan BPO y ni siquiera conocen su significado.

En el presente estudio las prevalencias en cuartos encontradas al aplicar el CMT

contrastan con la prevalencia en animales la cual fue de 54,6%; esta situación está en concordancia con lo encontrado en otros estudios. Así, Trujillo *et al.* (2011), en un estudio realizado en la zona lechera del oriente antioqueño, encontraron una prevalencia al CMT de 19,9%, mientras que la prevalencia en animales fue de un 42%, lo que indica que la mayoría de animales tuvieron solo un cuarto afectado, tal como ocurrió en los hatos analizados en la provincia de Pamplona. Este mismo estudio indicó que las pérdidas económicas, siguen siendo importantes a pesar del bajo número de cuartos afectados. De otra parte, el alto número de vacas afectadas constituye un reservorio importante de patógenos causantes de mastitis que se diseminan a otras vacas de las explotaciones (Trujillo *et al.* 2011), lo que caracteriza a las mastitis contagiosas, las cuales parecen ser las más predominantes en la provincia de Pamplona como lo indica este estudio.

Tomando en cuenta la sensibilidad y especificidad del CMT como prueba diagnóstica, la cual ha sido calculada con un 97% de especificidad y una sensibilidad del 82% (Ramírez *et al.* 2010 citado en Ramírez *et al.* 2011), y la alta correlación que se ha encontrado entre el CMT y el conteo del número de células somáticas (Sargeant 2001), se puede evidenciar que el porcentaje más alto de cuartos afectados por mastitis se clasifica entre grados uno y dos del California Mastitis Test, con un total de 119 (45,8%) y 83 (31,9%), lo cual debe entenderse como la presencia de recuento de células somáticas entre 400.000 y 500.0000, equivalente a una infección subclínica hasta estados iniciales o intermedios de una infección clínica (Cerón-Muñoz *et al.* 2007). Adicionalmente, el CMT sigue siendo un método económico y rápido con una aceptable sensibilidad y especificidad,

siempre y cuando se tengan en cuenta sus limitaciones como son la utilización de leches calostrales o la toma de muestras al principio o al final de la lactancia (Sargeant *et al.* 2001; Dingwell *et al.* 2003b).

En cuanto a los agentes relacionados con la presencia de mastitis en explotaciones lecheras de municipios pertenecientes a la provincia de Pamplona (Tabla 2), se pudo determinar que en 86,7% de los cultivos bacteriológicos de muestras de leche procedentes de cuartos mamarios positivos al CMT se aislaron microorganismos tales como *Staphylococcus aureus*, otros *Staphylococcus* (*Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus saprophyticus*) y *Streptococcus agalactiae*. Estos agentes se consideran microorganismos contagiosos y están relacionados directamente con malas prácticas de ordeño. Estos hallazgos coinciden con los encontrados por Calderón y Rodríguez (2008) quienes determinaron que del 49% de los cultivos bacteriológicos de muestras de leche procedentes de cuartos mamarios positivos al CMT se aislaron microorganismos contagiosos incluyendo *Staphylococcus aureus*, otros *Staphylococcus* coagulasa positivos (SCP) (*Staphylococcus intermedius* y *Staphylococcus hyicus*), *Streptococcus agalactiae* y *Corynebacterium bovis*. De otra parte, se ha reportado a los microorganismos contagiosos como la causa más importante en otras regiones lechera como el altiplano cundiboyacense, con una prevalencia del 68,9%, el 93% en la región de Duitama y en el Valle de Ubaté, en donde el 67,9% de las mastitis subclínicas correspondieron a este mismo grupo de microorganismos contagiosos (Calderón y Rodríguez 2008). De otra parte prevalencias del 87,6% de *Staphylococcus*, en sistemas doble propósito como el utilizado en la zona de estudio

(Calderón *et al.* 2011), permiten afirmar que la mastitis por microorganismos contagiosos continúa siendo una problemática en la producción de leche bajo sistemas especializados y no especializados como se encontró en la provincia de Pamplona.

El *Staphylococcus aureus*, fue el principal microorganismo encontrado en el presente estudio, siendo este microorganismo el principal aislamiento en diferentes estudios a lo largo del país (Contreras y Ordoñez 1994; Ramírez *et al.* 2001; Calderón y Rodríguez 2008; Calderón *et al.* 2011) así como en otras partes del mundo (Giannechini *et al.* 2002; Persson 2011). Sin embargo, en algunos sistemas de producción en nuestro medio, el *Streptococcus agalactiae* sigue siendo el principal microorganismo involucrado. Así, Ramírez *et al.* (2011) encontraron una prevalencia de 34% para los *Streptococcus* y de 10,2% para los *Staphylococcus*; la presencia de *Staphylococcus* coagulasa negativos (SCN) en este estudio, en el que se hallaron prevalencias de 2% para *Staphylococcus simulans* y de 3,2% para *Staphylococcus haemolyticus*, corroboran la importancia que han adquirido estos microorganismos como organismos emergentes, además que son considerados carga bacteriana normal de la piel, por lo que pueden persistir fácilmente en las poblaciones y, adicionalmente, contribuir al aumento de células somáticas (Pyörälä y Taponen 2009; Thorberg *et al.* 2009).

La presencia de *Staphylococcus aureus*, como el mayor patógeno encontrado en el presente estudio, pone de relevancia la incidencia de patógenos contagiosos como causantes de mastitis, toda vez que, al ser el ordeño manual el sistema utilizado en las explotaciones estudiadas, este microorganismo puede ser fácilmente contagiado debido a que se ha aislado de piel, así como de heridas en proceso de cicatrización, de

la cavidad nasal de novillas, del piso del establo, del alimento, de las manos de los trabajadores, de animales diferentes a los bovinos, de los equipos de ordeño y de las camas de los establos (Calderón y Rodríguez 2008; Keefe 2012). Adicionalmente, puede ser diseminado por las manos de los ordeñadores, por toallas no desechables y por las moscas de establo (Calderón y Rodríguez 2008); su importancia radica en la presencia de diversos factores de virulencia (leucocidinas, coagulasas, proteinasas, cápsula y resistencia a antibióticos) que junto a algunas prácticas, como la falta de detección y segregación de los animales enfermos, ayudan a su persistencia en las explotaciones debido a las malas prácticas de ordeño, las cuales fueron predominantes en las explotaciones estudiadas.

La presencia de coliformes en un 13,3% de los aislamientos en nuestro estudio se relaciona en gran medida con las pobres medidas sanitarias encontradas, la baja disponibilidad de agua en el sitio del ordeño, así como la ausencia del lavado previo de la ubre y de las manos de los ordeñadores, lo que contribuye significativamente a este hallazgo; estos microorganismos se consideran contaminantes medioambientales y han sido señalados como agentes causales hasta en un 97,5% en otras explotaciones en regiones tropicales (Olivares-Pérez *et al.* 2015). Las malas prácticas ganaderas en la implementación de las medidas profilácticas, hace que algunos de estos microorganismos puedan llegar a desarrollar signos sistémicos en la vaca e incluso, provocar la muerte (Calderón y Rodríguez 2008).

Los hallazgos etiológicos descritos están en directa relación con lo encontrado al diligenciar el cuestionario, ya que los patógenos medioambientales y contagiosos proliferaban en aquellas explotaciones donde se determinaron fallas en las prácticas

de prevención y control de la mastitis, así como en la implementación de la higiene de la ubre antes, durante y después del ordeño, o la presencia de un ambiente contaminado por la presencia de heces, aguas encharcadas y lodazales (Olivares-Pérez *et al.* 2015). En nuestro estudio, los problemas relacionados con la falta de higiene al momento del ordeño, la baja disponibilidad de agua potable en el sitio de ordeño, la falta de medidas para evitar la contaminación de la ubre y la ausencia del lavado de manos y ubres constituyen puntos que fueron significativos en los predios en los cuales se encontró mastitis; estos hallazgos están en concordancia con los encontrados por Ramírez *et al.* (2014) quienes encontraron que las deficiencias en la rutina del ordeño, así como la falta de higiene del ordeñador, constituyeron factores fundamentales para el desarrollo de un porcentaje relativamente alto de vacas y cuartos afectados de mastitis. Adicionalmente, las pobres condiciones de higiene al momento del ordeño y a nivel de la ubre en la región estudiada, en donde raramente se utilizan los procesos de sellado y pre sellado, pueden contribuir de manera fundamental con los niveles de mastitis y los tipos de microorganismos encontrados, tal como se ha determinado en otras regiones del país (Calderón *et al.* 2009).

La producción de la leche se relaciona directamente con la sanidad de la ubre al mantener unas condiciones de ordeño apropiadas; sin embargo, el bajo nivel tecnológico y de asistencia técnica van en contravía de estas medidas y por esta razón la gran mayoría de patógenos en la zona del estudio está representada por patógenos contagiosos, más que por ambientales, lo cual indica que las infecciones mantienen su ciclo epidemiológico dentro de las explotaciones. De otra parte, solo en la medida que se ofrezca una capacitación

adecuada para el conocimiento de las medidas sanitarias apropiadas, y su aceptación e implementación en las explotaciones, se logrará que los ganaderos puedan mejorar dichas producciones; la asociatividad ha sido un punto clave en el proceso de mejoramiento de las condiciones higiénico sanitarias de la producción de leche.

El presente estudio se vio limitado por el hecho de contar con un bajo número de predios para muestrear en algunos municipios, lo que no permitió la extrapolación a todo el sistema productivo de la provincia. Igualmente la realización de un estudio transversal para una enfermedad que, como la mastitis, es muy dinámica en las explotaciones productoras de leche, pueden limitar la relevancia de los valores encontrados, así como la verdadera influencia de la enfermedad en los bajos niveles de producción de la zona. Por otro lado, la presencia de contaminaciones de las muestras, pueden haber llevado a sobrevalorar las mastitis subclínicas por microorganismos como los coliformes. El hecho de no haber realizado observaciones para el cuestionario con respuestas dicotómicas, llevó a perder información importante que no pudo utilizarse al realizar el análisis final. No obstante las mencionadas limitaciones, los resultados de este estudio ponen de manifiesto la necesidad de continuar con los procesos de investigación, capacitación y asistencia a los ganaderos para mejorar, tanto las condiciones de vida, como las sanitarias y de salud pública para la región.

CONCLUSIONES

La prevalencia de mastitis en la región estudiada es moderada en cuanto al número de cuartos afectados, pero alta en cuanto al número de animales asumidos como

positivos, lo que indica que muchos de estos presentan pocos cuartos afectados. El principal microorganismo asociado a mastitis subclínica en los hatos estudiados fue *Staphylococcus aureus* el cual se asocia con la ocurrencia de mastitis de tipo contagioso; esto parece derivarse de malas prácticas de ordeño, las cuales fueron evidentes en los predios estudiados, y están relacionadas de manera significativa con la presencia de mastitis subclínicas; por su parte, las mastitis contagiosas se asocian con la presencia de un número importante de vacas con pocos cuartos infectados, por lo que se requiere implementar medidas básicas de control que apunten fundamentalmente a la prevención; la capacitación constante del personal involucrado directamente con el proceso es esencial; estas medidas tradicionales podrían reducir el riesgo de incidencia de la enfermedad.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio hizo parte del programa “Fortalecimiento de las Alianzas Productivas de la Cadena Láctea en la Provincia de Pamplona, Norte de Santander” y fue financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR), el IICA, FEDEGAN y la Universidad de Pamplona. Se da un agradecimiento especial a los integrantes del Semillero de Investigación de Enfermedades Infecciosas, SIDEIN, de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Pamplona, a los estudiantes de Medicina Veterinaria que participaron en los diversos muestreos, así como a los técnicos y ganaderos de las asociaciones ASPROMUSIL, COAGROCHITAGÁ y COGANSONORTE, sin quienes habría sido imposible la realización de este trabajo. Los autores agradecen a los microbiólogos Giovanni Gelvez y Lady

Jhovanna Vera por su colaboración en el procesamiento de muestras y, finalmente, al profesor Saury Thomas Manzano y su grupo de estudio por su participación en el análisis estadístico

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

JAM diseño del proyecto y financiación, redacción del manuscrito. YAV procesamiento y análisis de muestras. LCP director del proyecto, toma, procesamiento y análisis de muestras.

REFERENCIAS

- Åkerstedt M, Wredle E, Lam V, Johansson M. 2012. Protein degradation in bovine milk caused by *Streptococcus agalactiae*. J Dairy Res. 79(3): 297-303. Doi: 10.1017/S0022029912000301.
- Andrade-Becerra RJ, Caro-Carvajal ZE, Dallos-Baez AE. 2014. Prevalencia de mastitis subclínica bovina y su etiología infecciosa en fincas lecheras del altiplano boyacense (Colombia). Rev Científica. 24(4): 305-310.
- Bradley AJ. 2002. Bovine mastitis: An evolving disease. Vet J. 164(2): 116-128. Doi: 10.1053/tvjl.2002.0724.
- Calderón A, Rodríguez VC. 2008. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias. 21(4): 582-589.
- Calderón A, Martínez N, Cardona J. 2009. Determinación de factores de protección para mastitis bovina en fincas administradas bajo el sistema doble propósito en el municipio de Montería. Rev UDCA Actualidad & Divulgación Científica. 12(2): 61-68.
- Calderón A, Rodríguez VC, Arrieta GJ, Máttar S. 2011. Prevalencia de mastitis bovina en sistemas doble propósito en Montería (Colombia): etiología y susceptibilidad antibacteriana. Rev Col Cienc Pec. 24(1): 19-28.
- Cerón-Muñoz MF, Agudelo EJ, Maldonado-Estrada JG. 2007. Relación entre el recuento de células somáticas individual o en tanque de leche y la prueba CMT en dos fincas lecheras del departamento de Antioquia (Colombia). Rev Col Cienc Pec. 20(4): 472-483.
- Contreras DL, Ordóñez M. 1994. Prevalencia y dinámica de la mastitis bovina en el valle de Ubaté [tesis]. [Bogotá (CO)]: Departamento de Microbiología, Facultad de Bacteriología, Pontificia Universidad Javeriana.
- Deb R, Kumar A, Chakraborty S, Verma AK, Tiwari R, Dhama K, Singh U, Kumar S. 2013. Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: A review Pak J Biol Sci. 16(23): 1653-1631. Doi: 10.3923/pjbs.2013.1653.1661.
- Dingwell RT, Kelton DF, Leslie KE. 2003a. Management of the dry cow in control of peripartum disease and mastitis. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 19(1): 235-65. Doi: 10.1016/S0749-0720(02)00072-5.
- Dingwell RT, Leslie KE, Schukken YH, Sargeant JM, Timms LL. 2003b. Evaluation of the california mastitis test to detect an intramammary infection with a major pathogen in early lactation dairy cows. Can Vet J. 44(5): 413-415.
- Giannechini R, Concha C, Rivero R, Delucci I, Moreno-López JM. 2002. Occurrence of clinical and sub-clinical mastitis in dairy herds in the west littoral region in Uruguay. Acta Vet Scand. 43(4): 221-230. Doi: 10.1186/1751-0147-43-221.
- Green MJ, Bradley AJ, Medley GF, Browne WJ. 2007. Cow, farm, and management factors during the dry period that determine the rate of clinical mastitis after calving. J Dairy Sci. 90(8): 3764-3776. Doi: 10.3168/jds.2007-0107.
- Hogan J, Gonzalez R, Harmon R, Nickerson S, Oliver S, Pankey J, Smith KL. 1999. Laboratory handbook on bovine mastitis. Madison (WI): National Mastitis Council.
- [ICA] Instituto Colombiano Agropecuario. 2016. Censo Pecuario Nacional – 2016 [Internet]. Bogotá (CO): ICA; [citado 2016 oct. 20]. Disponible en: <http://www.ica.gov.co/getdoc/8232c0e5-be97-42bd-b07b-9cdbfb07fcac/Censos-2008.aspx>.

- Keefe G. 2012. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 28(2): 203-216. Doi: 10.1016/j.cvfa.2012.03.010.
- [MADR] Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. 2013. Proyecto apoyo a alianzas productivas-PAAP. Bogotá (CO): MADR; [citado 2016 oct. 20]. Disponible en: <https://www.minagricultura.gov.co/tramites-servicios/desarrollo-rural/Paginas/Proyecto-apoyo-a-alianzas-productivas-PAAP-.aspx>
- Mellenberger R, Roth C. 2000. California Mastitis Test (CMT) Fact Sheet. Department of Animal Sciences, Michigan State University / Department of Dairy Science, University of Wisconsin-Madison; [consultado 2016 oct. 20]. Disponible en: <http://www.ashbyvets.com/milk/CMT%20Directions.pdf>.
- McDougall S. 1999. Prevalence of clinical mastitis in 38 waikato dairy herds in early lactation. *N Z Vet J.* 47(4): 143-149. Doi: 10.1080/00480169.1999.36131.
- Olivares-Pérez J, Kholif AE, Rojas-Hernández S, Elghandour MM, Salem AZ, Bastida AZ, Velázquez-Reynoso D, Cipriano-Salazar M, Camacho-Díaz LM, Alonso-Fresán MU, DiLorenzo N. 2015. Prevalence of bovine subclinical mastitis, its etiology and diagnosis of antibiotic resistance of dairy farms in four municipalities of a tropical region of México. *Trop Anim Health Prod.* 47(8): 1497-1504. Doi: 10.1007/s11250-015-0890-8.
- Persson Y, Nyman AK, Grönlund-Andersson U. 2011. Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden. *Acta Vet Scand.* 53(1): 36. Doi: 10.1186/1751-0147-53-36.
- Pyörälä S, Taponen S. 2009. Coagulase-negative Staphylococci-Emerging mastitis pathogens. *Vet Microbiol.* 134(1-2): 3-8. Doi: 10.1016/j.vetmic.2008.09.015.
- Ramírez N, Gaviria G, Arroyave O, Sierra B, Benjumea J. 2001. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia. *Rev Col Cienc Pec.* 14(1): 76-87.
- Ramírez N, Henao OA, Muñoz MF, Jaramillo M, Cerón J, Palacio LG. 2011. Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia, Colombia. *Rev Med Vet.* (22): 31-42. Doi: 10.19052/mv.562.
- Ramírez N, Keefe G, Dohoo I, Sánchez J, Arroyave O, Cerón J, Jaramillo M, Palacio LG. 2014. Herd-and cow-level risk factors associated with subclinical mastitis in dairy farms from the High Plains of the northern Antioquia, Colombia. *J Dairy Sci.* 97(7): 4141-4150. Doi: 10.3168/jds.2013-6815.
- Rodríguez G. 1988. La mastitis bovina y el potencial para su control en la sabana de Bogotá, Colombia: Informe Técnico No. 2. Bogotá (CO): Instituto Colombiano Agropecuario – ICA.
- Rodríguez G, Contreras DL, Ordóñez M. 2002. Caracterización de la mastitis bovina en el Valle de Ubaté. *Rev Med Vet.* 2(4): 57–66.
- Rodríguez G. 2006. Comportamiento de la mastitis bovina y su impacto economico en algunos hatos de la Sabana de Bogota, Colombia. *Rev Med Vet.* 12: 35-55. Doi: 10.19052/mv.2052.
- Sargeant JM, Leslie KE, Shirley JE, Pulkrabek BJ, Lim GH. 2001. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California mastitis test for identifying intramammary infection in early lactation. *J Dairy Sci.* 84(9): 2018-2024. Doi: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74645-0.
- Smith KL, Hogan JS. 1993. Environmental mastitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 9(3): 489-498.
- Thorberg BM, Danielsson-Tham ML, Emanuelson U, Persson Waller K. 2009. Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative staphylococci. *J Dairy Sci.* 92(10): 4962-4970. Doi: 10.3168/jds.2009-2184.
- Trujillo CM, Gallego AF, Ramírez N, Palacio LG. 2011. Prevalencia de mastitis en siete hatos lecheros del oriente antioqueño. *Rev Col Cienc Pec.* 24(1): 11-18.
- Winn W, Allen S, Janda W, Koneman EW, Procop G, Schrenckenberger P, Woods G. 2008. Koneman. Diagnóstico Microbiológico: Texto y Atlas en color. 6° ed. Buenos Aires (AR): Ed. Médica Panamericana.

Article citation:

Mendoza JA, Vera YA, Peña LC. 2017. Prevalencia de mastitis subclínica, microorganismos asociados y factores de riesgo identificados en hatos de la provincia de Pamplona, Norte de Santander. [Prevalence of subclinical mastitis, associated microorganisms and identified risk factors in dairy herds in the Province of Pamplona, Norte de Santander]. Rev Med Vet Zoot. 64(2): 11-24. Doi: 10.15446/rfmvz.v64n2.67209.