

PREVALENCIA DE MASTITIS EN VACAS LECHERAS DE PRIMER PARTO Y PATRÓN DE SENSIBILIDAD DE LAS BACTERIAS AISLADAS EN UNA LECHERÍA ESPECIALIZADA

Mabelin Armenteros, P. Ponce, J. Capdevila, Victoria Zaldívar y R. Hernández

*Centro de Ensayos para el Control de la Calidad de la Leche y Derivados Lácteos (CENLAC),
Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba.
Correo electrónico: mabelin@ censa.edu.cu*

RESUMEN: Se evaluó el estado clínico y microbiológico de la ubre, en vacas lecheras de primer parto pertenecientes a una lechería especializada con predominio de la raza Jersey, mediante el examen clínico, aislamiento bacteriológico y prueba de california. De los 568 cuartos analizados (142 animales), 12.1% mostró mastitis clínica, el 13% se encontraba afectado por mastitis crónica y el 22.9% por mastitis subclínica. El 42.8 % de las muestras analizadas fueron positivas por algún microorganismo productor de mastitis. Los microorganismos aislados fueron: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Staphylococcus coagulasa* negativa, *Corynebacterium* sp., *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa* y algunas infecciones mixtas con la combinación de *S.aureus* + *S. agalactiae*, para un porcentaje de afectación de 19.2%, 7%, 5.7%, 4.4%, 2.2%, 1.31%, 1.3% y 0.9 %, respectivamente. *Staphylococcus aureus* estuvo asociado a un caso de mastitis gangrenosa. El patrón de sensibilidad de los microorganismos circulantes indicó sensibilidad a la ciproflorxacina, enroflorxacina, meticillin (excepto *P. aeruginosa* y *E. coli*), oxytetraciclina (excepto *S. aureus* y *P. aeruginosa*), cloxacilina (excepto *E. coli* y *P. aeruginosa*), cefalexina y gentamicina (excepto *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*) y una elevada resistencia a la tetraciclina, trimetoprim, bacitracina, penicilina G y neomicina.

(Palabras clave: mastitis; prevalencia; *Staphylococcus aureus*; *Corynebacterium* sp.; *Staphylococcus coagulasa* negativa; *Pseudomonas aeruginosa*; coliformes; sensibilidad antibióticos)

PREVALENCE OF MASTITIS IN FIRST LACTATION DAIRY COWS AND SENSITIVITY PATTERN OF THE BACTERIA ISOLATED IN A SPECIALIZED DAIRY

ABSTRACT: The clinical and microbiological status of the udder in first lactation dairy cows, belonging to a specialized dairy with prevalence of the race Jersey, was assessed by means of clinical examination, bacteriological isolation and california mastitis test. From the 568 analyzed quarters (142 animals), 13 % presented chronic mastitis, 12.1% showed clinical mastitis, 22.9% had subclinical mastitis and 42.8% of the samples taken were positive by the main mastitis-associated microorganisms. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Staphylococcus coagulasa* negativa, *Corynebacterium* sp., *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa* and mixed infections with the combination of *S.aureus* + *S. agalactiae*. They showed affectation percentages of 19.2%, 7%, 5.7%, 4.4%, 2.2%, 1.31%, 1.3% and 0.9%, respectively. *Staphylococcus aureus* was associated to a case of gangrenous mastitis. Microorganism sensitivity to ciproflorxacin, enroflorxacin, meticillin (except *P. aeruginosa* and *E. coli*), oxytetracycline (except *S. aureus* and *P. aeruginosa*), cloxacillin (except *E. coli* and *P. aeruginosa*), cefalexin and gentamicin (except *S. aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*), and a high resistance to the tetracycline, trimethoprim, bacitracin, penicillin G and neomycin were shown.

(Key words: mastitis; prevalence; *Staphylococcus aureus*; *Corynebacterium* sp.; *Staphylococcus negative coagulase*; *Pseudomonas aeruginosa*; coliforms; antibiotic sensitivity)

INTRODUCCIÓN

La mastitis bovina se considera la enfermedad más importante de la ganadería lechera a nivel mundial debido a las grandes pérdidas económicas que ocasiona en la producción, en el valor nutricional y sanitario de la leche (13). *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* son considerados como los principales responsables de las mastitis contagiosas, sin embargo existe una amplia gama de microorganismos asociados con la mastitis que no se reportan frecuentemente (6).

La etiología de la mastitis clínica y subclínica muestra diferencias entre regiones y países. Teniendo en cuenta este comportamiento es fundamental identificar los microorganismos circulantes y su patrón de sensibilidad, antes de considerar cualquier control de la enfermedad (14).

En los últimos años el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), ha regido algunos estudios con respecto a la situación de la mastitis bovina en algunas regiones de importancia económica para el país (1,12). Estos estudios demuestran que es un problema económico-productivo presente en los rebaños cubanos. En este sentido el presente trabajo estuvo encaminado a evaluar el estado clínico y microbiológico de la ubre, así como la susceptibilidad antimicrobiana *in vitro*, en vacas lecheras de primer parto, pertenecientes a una lechería especializada de nuestro país.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló en 142 vacas de primer parto en ordeño (568 cuartos), pertenecientes a una lechería especializada con predominio de la raza Jersey. A todos los cuartos se le realizó observación de la secreción mamaria (prueba de contraste), inspección y palpación de la ubre, a fin de detectar glándulas atrofiadas y afectadas por mastitis clínica.

Se realizó la prueba de California (CMT) a cada cuarto y los resultados se interpretaron de acuerdo a lo establecido internacionalmente, considerándose a los procesos subclínicos en presencia de reacción a partir de trazas (15,16). Posteriormente se colectaron asépticamente, 229 muestras de leche proveniente de todos los cuartos, que presentaron alteraciones a la prueba de California y de los casos de mastitis clínica, las cuales se procesaron inmediatamente que llegaron al laboratorio.

La recolección de la muestra, el procedimiento para el análisis bacteriológico y el antibiograma a cada

muestra positiva (17), se realizó según lo recomendado por el National Mastitis Council (10). Los análisis se realizaron en el laboratorio del Centro de Ensayos para el Control de la Calidad de la leche y Derivados Lácteos (CENLAC) (CENSA).

Para la siembra de las muestras de leche se empleó una alícuota de 0.01 mL en agar sangre (BIOCEN, Cuba) conteniendo 5% de eritrocitos de carnero, se incubó a 37°C por 24 -48 h. Los microorganismos aislados se identificaron teniendo en cuenta la morfología de la colonia, hemólisis, tinción de Gram, catalasa. Para la identificación a nivel de especie, se empleó el sistema de diagnóstico Api (Biomérieux, Francia).

La prueba de susceptibilidad antimicrobiana se realizó, a través de la técnica de difusión en agar empleando Mueller Hinton agar (BIOCEN, Cuba) y discos de antibióticos disponibles en el mercado (Oxoid) Las placas sembradas se incubaron a 30°C para meticillin (5 µg/disco) y a 37°C para el resto de los antibióticos evaluados: oxytetraciclina (30 µg /disco), cefalexina (30 µg /disco), gentamicina (30 µg /disco), ciproflorxacina y enroflorxacina (5 µg /disco), trimetoprim (5 µg /disco), penicilina G (10 unidades/disco), tetraciclina (30 µg /disco), bacitracina (10 unidades/disco), neomicina (5 µg /disco), cloxacilina ((5 µg /disco). La interpretación de la susceptibilidad o resistencia se realizó según lo establecido por el National Mastitis Council (10) y Bauer *et al.* (3).

Además se hizo inspección a ordeño de la unidad, a través de una encuesta que contemplaba datos generales, raza, días y número de lactancia de animales en ordeño, condiciones de los utensilios y de higiene; así como cumplimiento de la correcta rutina de ordeño.

Se determinó la prevalencia en las diferentes formas de manifestación de la enfermedad, teniendo en cuenta el porcentaje de cuartos afectados entre el total de cuartos investigados. El porcentaje de afectación por microorganismos se realizó sobre la base de las muestras enviadas al laboratorio para cultivo bacteriológico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de prevalencia de mastitis subclínica, clínica, (mastitis crónica), así como el porcentaje de afectación por microorganismos obtenidos se muestran en la Tabla 1.

La prevalencia de mastitis clínica fue elevada, lo que indicó la existencia de un brote de mastitis, fundamentalmente, de origen infeccioso, el valor obtenido de prevalencia de mastitis subclínica corroboró la

TABLA 1. Comportamiento de las diferentes formas de manifestación de la enfermedad/ *Behaviour of the disease manifestation*

Total de cuartos	Prevalencia (%)		
	Subclínica	Clínica	Crónica
568 (142 animales)	22.9 (130 cuartos)	12.1 (69 cuartos)	13 (74 cuartos)

compleja situación epidemiológica que existía en la unidad, alcanzándose un elevado porcentaje de cuartos afectados por ambas manifestaciones de la enfermedad (35%). Con respecto a la prevalencia de mastitis crónica se refleja una elevada afectación, considerando que son novillas de primer parto y que existe un elevado porcentaje de cuartos con proceso crónicos que son irreversibles, incluyendo, animales que ya presentan en el momento del parto cuartos atrofiados.

De las muestras enviadas al laboratorio, el 42.8 % resultó positivo (98 muestras), indicando un elevado porcentaje de afectación. Este valor evidenció que existen problemas en el rebaño de mastitis contagiosa provocada fundamentalmente por *S. aureus*, de mastitis ambiental por la presencia de *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Streptococcus* sp. (fundamentalmente *Streptococcus dysgalactiae*) y coliformes (*Escherichia coli*). También se aisló *Corynebacterium* sp. incluso, con 3 aislamientos de *Corynebacterium minutissimum*, especie poco reportada en la literatura como patógeno productor de mastitis (Tabla 2).

TABLA 2. Prevalencia de microorganismos./ *Microorganism prevalence*

Microorganismos	Prevalencia (%)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1.31 (4 cuartos)
<i>Streptococcus</i> sp.	7 (16 cuartos)
<i>Staphylococcus aureus</i>	19.2 (44 cuartos)
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	5.7 (13 cuartos)
<i>Escherichia coli</i>	2.2 (5 cuartos)
<i>Corynebacterium</i> sp.	4.4 (10 cuartos)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.3 (3 cuartos)
<i>S.aureus</i> + <i>S. agalactiae</i>	0.9% (2 cuartos)
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	0.4% (1 cuarto)

La presencia de un elevado número de cuartos infectados por patógenos ambientales (34 cuartos), explica la alta prevalencia de mastitis clínica en el rebaño, aunque debemos señalar que se diagnosticó un

caso de mastitis clínica positivo a *S. aureus*; que desarrolló una mastitis gangrenosa (Figura 1), coincidiendo con lo reportado en otros trabajos (7,9,11), donde aparece este microorganismo como causante de este tipo de mastitis que puede llegar hacer fatal, aunque también *Pseudomonas aeruginosa* y *Arcanobacterium pyogenes*, estuvieron presentes. Por otra parte se reporta a *Staphylococcus coagulasa negativa*, *E. coli* (8,18) y *Streptococcus* sp. como los microorganismos más frecuentemente aislados en casos de mastitis en novillas, también aislaron *Arcanobacterium pyogenes* con una prevalencia similar (0.6%) a la encontrada por nosotros (8).



FIGURA 1. Caso de mastitis gangrenosa./ *Case of gangrenous mastitis.*

Los factores que pudieron incidir directamente en este comportamiento y que se evidenciaron en la inspección a la unidad se resumen en: una incorrecta rutina de ordeño, presencia de ambientes contaminados y deficiencias en las principales medidas de control de la mastitis como la higiene del ordeño, tratamiento de los casos clínicos y terapia de secado.

Los resultados obtenidos coinciden con los reportados por Armenteros *et al.* y Novoa *et al.* (1,2,12,16). Por otra parte, el elevado porcentaje de circulación de microorganismos, unido al resto de los resultados obtenidos indica que es importante la aplicación de las medidas de control de la enfermedad.

El patrón de sensibilidad, observado a partir de los 98 antibiogramas realizados a los microorganismos que están circulando, indica que se obtuvo mayor sensibilidad a la ciproflorxacina, enroflorxacina, meticillin (excepto *P. aeruginosa* y *E. coli*), oxytetraciclina (excepto *S. aureus* y *P. aeruginosa*), cloxacilina (excepto *E. coli* y *P. aeruginosa*),

cefalexina y gentamicina (excepto *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*). Existió baja sensibilidad en: tetraciclina, trimetoprim, bacitracina, penicilina y neomicina, por lo que formulaciones a partir de estos antibióticos no deben ser usadas para la terapia (Tabla 3).

TABLA 3. Nivel de sensibilidad de los antibióticos evaluados./ *Sensitivity level of the antibiotic evaluated*

Antibiótico	Porcentaje de eficacia en los aislamientos (%)
Ciproflorxacina	80
Enroflorxacina	70
Meticillin	65
Oxytetraciclina	60
Cloxacilina	50
Cefalexina	45
Gentamicina	40
Tetraciclina	10
Trimetoprim	7
Bacitracina	5
Penicilina G	3
Neomicina	3

Nuestros resultados coinciden con estudios realizados sobre susceptibilidad antimicrobiana donde se ha obtenido mayor sensibilidad a antibióticos como ciproflorxacina, meticillin, y elevada resistencia a la penicilina (4,5,19). Es necesario enfatizar en este último aspecto relacionado con la resistencia cada día mayor que están adquiriendo los patógenos productores de mastitis a este antibiótico, incluso cepas de *Streptococcus agalactiae*, que ha sido eficientemente controlada en otros países con este antibiótico. Estos resultados difieren con respecto a lo encontrado en otros (2, 19), con respecto a la sensibilidad obtenida a la oxytetraciclina. Dichas diferencias se deben posiblemente al uso indiscriminado de algunos antibióticos utilizados para el tratamiento de los diversos procesos infecciosos en bovinos, entre ellos mastitis.

CONCLUSIONES

- Se reflejó una elevada prevalencia de mastitis en todas las formas de manifestación de la enfermedad en vacas de primer parto, con un elevado porcentaje de circulación de microorganismos contagiosos y ambientales.
- Los antibióticos de mayor eficacia "in vitro" frente a los gérmenes circulantes son ciproflorxacina, enroflorxacina y meticillin.

REFERENCIAS

1. Armenteros, Mabelin; Peña, Janachy; Ponce, P.; Pulido, J.L. (2002): Caracterización de la situación de la mastitis bovina en rebaños de lechería especializada. *Rev. Salud Anim.* 24(2): 20-26.
2. Armenteros, Mabelin; Sequeira, M.; Hartikainen, María; Campos, A.; Directivos de PRODEGA, Extensionistas de las cooperativas (2004): Caracterización de la situación de la mastitis bovina en rebaños lecheros de los departamentos de Boaco-Chontales: Época de lluvia. *Rev. Salud Anim.* 26(2): 124-127
3. Bauer, A.W.; Kirby W.M.M.; Sherris, J.C.; Turck M. (1966): Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45: 493-495.
4. Bhattacharyya, D. and Rahman, H. (1995): Antibigram of pathogens isolated from cases of bovine mastitis. *Indian Vet J.* 72: 414-415.
5. Bhaumik, A. (1997): Antibigram and therapeutic studies on clinical mastitis in cattle. *Indian Vet. J.* 74: 1054-1055.
6. Giannechini, R.; Concha, C.; Rivero, R.; Delucci, I.; Moreno López, J. (2002): Occurrence of clinical and subclinical mastitis in dairy herds in the west littoral region in Uruguay. *Acta vet. Scand.* 43: 221-230.
7. Jones, T.O. (1998): Toxin production by *Staphylococcus aureus* from cases of bovine mastitis. *Proceedings of the British Mastitis Conference, Axient/Institute for Animal Health, Milk Development Council/Novartis Animal Health*, p94.
8. Malinowski, E.; Kłossowska, Anna; Kaczmarowski, M.; Kuoma, Krystyna (2003): Prevalence of Intramammary Infections in Pregnant Heifers. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* 47: 165-170.
9. Milnes, A. and Platter, P. (2003): Gangrenous mastitis in a dairy herd. *Veterinary Record.* 153: 635.
10. National Mastitis Council: Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. National Mastitis Council inc. Madison, WI 53704-6797, U.S.A. Revised Edition 1999.

11. Nickerson, S.C. (1995). Mastitis in dairy heifers: Initial studies on prevalence and control. *J. Dairy Sci.* 78: 1607-1618.
12. Novoa, R.; Armenteros, Mabelin; Abeledo, María A.; Casanovas, E.; Valera, R.; Pulido, J.L. (2004): Evaluación epizootiológica y económica de la mastitis bovina en rebaños lecheros especializados de la provincia de Cienfuegos. *Rev. Salud Anim.* 26(2): 20-26.
13. Peeler, E.J.; Green, M.J.; Fitzpatrick, J.L.; Green, L.E. (2004): The association between quarter somatic-cell counts and clinical mastitis in three British dairy herds. *Prev. Vet. Medicine.* 59: 169-180.
14. Pitkälä, A.; Haveri, M.; Pyörälä, S.; Myllys, V.; Honkanen-Buzalski, T. (2004): Bovine mastitis in Finland 2001-Prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *J. Dairy Sci.* 87: 2433-2441.
15. Quiñones, J.; Demo, M.; Pajaro, C.; Martín, V.; Bagni, G. (1994): Observaciones a la prueba de california para mastitis, recuento celular somático y análisis bacteriológico como índices para un programa de control de la salud de la glándula mamaria. *Vet. Arg.* 6(51): 60-68.
16. Ramírez, N.; Gaviria, G.; Arroyave, Ofelia; 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: 1-7.
17. Sears, P.M.; Gonzalez, R.N.; Wilson, D.W.; Han, H.R. (1993): Procedures for Mastitis Diagnosis and Control. *Food Anim. Pract.* 9(3): 445.
18. Uçan, U.S.; Açık, L.; Çeleby, A.; Erganis, O.; Arslan, E. (2005): Plasmids and Protein Patterns of *Escherichia coli* isolated from Bovine Mastitis in Konya, Turkey. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 29: 475-480.
19. Younis, A.; Leitner, G.; Heller, D.E.; Samra, Z.; Gadba, R.; Lubashevsky, G.; Chaffer, M.; Yadlin, N.; Winkler, M.; Saran, A. (2000): Phenotypic Characteristics of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Mastitis in Israeli Dairy Herds. *J. Vet. Med.* B47: 591-597.

(Recibido