

IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS CAUSANTES DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN BOVINOS DE UNA FINCA DEL ESTADO TRUJILLO – VENEZUELA

IDENTIFICATION OF BACTERIA CAUSING SUBCLINICAL MASTITIS IN CATTLE FARM IN TRUJILLO STATE - VENEZUELA

Wilfredo Peña¹, Solbey Morillo², María Sosa³, Jairo Morales¹,
Luis Cañizalez¹ y Carmen Castillo^{1*}.

¹Universidad de los Andes, Núcleo Universitario “Rafael Rangel”, Trujillo-Venezuela. ²Universidad de los Andes, Departamento de Metodología, Escuela de Criminología, Facultad de Ciencias Jurídicas y Políticas. ³Instituto Venezolano de los Seguros Sociales, Trujillo-Venezuela. E-mail: carmenc@ula.ve

Resumen

La mastitis bovina es una enfermedad compleja que causa grandes pérdidas a nivel mundial y especialmente en las regiones con una intensa producción lechera. Se seleccionaron 95 vacas al azar en la Finca La Orquídea, ubicada en el Municipio Candelaria en la Localidad de Minas de Monay, vía Torococo, Estado Trujillo, para realizar toma de muestras y realizar el aislamiento y caracterización de bacterias causantes de mastitis subclínica en bovinos. La prevalencia de la misma se realizó mediante la prueba de Mastitis Test California (MTC). Las muestras recolectadas, fueron tomadas durante el ordeño de la tarde. Primero se procedió a realizar la prueba de MTC y luego a la toma de muestras para el aislamiento bacteriano. Todas las muestras fueron transportadas en cavas con hielo al laboratorio del Centro de Investigaciones “José Witremundo Torrealba” del Núcleo Universitario “Rafael Rangel” de la Universidad de Los Andes en Trujillo, para su procesamiento el mismo día de la toma. Estas fueron sembradas en agar sangre y agar Mc Conkey e incubadas a 37 °C durante 48 horas. Cada colonia aislada fue coloreada por la técnica de Gram y posteriormente identificadas según resultados de la batería bioquímica. Los resultados obtenidos nos permiten concluir que en la Finca La Orquídea existe una alta prevalencia de mastitis subclínica, alcanzando el 93% de positividad de acuerdo a la prueba de MTC. *Staphylococcus aureus* fue la bacteria aislada con más frecuencia en las muestras examinadas. Estos resultados sugieren la necesidad de establecer sistemas de vigilancia de mastitis para controlar y prevenir dicha patología y mejorar la calidad de la leche.

Palabras Clave: Mastitis subclínica, Bacteria, Colonias, Prevalencia, *Staphylococcus*, Patología.

ABSTRACT

Bovine mastitis is a complex disease that causes significant losses worldwide and especially in regions with intensive dairy production. Ninety five cows were selected randomly in the Orchid Farm, located in the municipality of Candelaria in the Town of Mines Monay, to Torococo, Trujillo State, to carry out sampling for the isolation and characterization of bacteria causing subclinical mastitis in cattle. The prevalence of the same test was performed using the California Mastitis Test. The collected samples were taken during the afternoon milking. The first procedure was The California Mastitis Test, followed by sampling for bacterial isolation. All samples were transported in ice coolers to the laboratory of the Research Centre “José Witremundo Torrealba” Nucleo Universitario “Rafael Rangel” at The Andes University, in Trujillo, processing in the same day of collection. These were cultured on blood agar and McConkey agar and incubated at 37 °C for 48 hours. Each isolated colony was stained by the Gram technique and subsequently identified by biochemical results. The results obtained allow concluding that in the Orquídea Farm there is a high prevalence of subclinical mastitis, reaching 93% positivity according to the California Mastitis Test. *Staphylococcus aureus* was the most frequently isolated bacteria in the samples examined. These results suggest the need to establish monitoring systems to control and prevent mastitis and improve milk quality.

Keywords: Subclinical mastitis, Bacteria, Colonies, Prevalence, *Staphylococcus*, Pathology

Recibido: 11/07/2011 - **Aprobado:** 17/10/2011

Introducción

El término de mastitis se utiliza para referirse a la inflamación que se produce en la glándula mamaria, como consecuencia de diversos factores, siendo los más frecuentes de origen infecciosos. Independientemente de la causa que la origine, esta se caracteriza por modificaciones patológicas del tejido glandular que se reflejan en alteraciones físico-químicas y casi siempre bacteriológicas de la leche [1]. La mastitis es considerada una enfermedad bastante compleja y costosa, debido a la etiología, patogenia, secuelas que esta causa en las vacas, así como también se considera complejo el tratamiento [2,3].

La ubre es un gran cuerpo glandular y está constituido por cuatro cuartos, formados por el cuerpo glandular y el pezón, cada uno de los cuales representa una unidad. Esto significa que la mastitis puede estar presente en un solo cuarto o varios a la vez [4]. El 80% de los casos de mastitis son causados por la invasión de microorganismos patógenos específicos en los pezones y tejidos de la ubre; mientras que el resto es debido a las lesiones traumáticas, con o sin invasión secundaria de microorganismos [5]. Cuando está presente la inflamación leve de la glándula mamaria en ausencia de signos graves (inflamación aguda, descamación, sangramiento entre otros) la mastitis es referida como mastitis subclínica [2]. La mastitis suele ser la causa más común para sacrificar tempranamente las vacas lecheras. El 26,5 % de las vacas lecheras sacrificadas en el continente americano es debido a trastornos ocasionados por la mastitis [4,6].

La mastitis es una patología de distribución mundial y en la mayoría de los países los estudios realizados sobre la prevalencia de mastitis han señalado hasta un 40% de morbilidad entre las vacas lecheras. Estudios realizados sobre la mastitis bovina en nuestro país reflejan una situación similar en cuanto a los principales gérmenes involucrados con la infección, otras causas de mastitis, prevalencia en los rebaños y pérdidas económicas [7].

La mastitis es causada por más de 100 especies diferentes de microorganismos patógenos y el 95% de estas infecciones son causadas (en orden de importancia) por bacterias entre las que se encuentran: *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *S. epidermidis* [7]. Osteras (2006), afirman que la distribución de los agentes que producen mastitis pueden ser diferentes, ya que en los casos clínicos la etiología puede ser por bacterias que están presentes sólo por un corto periodo de tiempo, (*Escherichia coli*), mientras que las mastitis subclínicas pueden ser causadas por patógenos (*S. aureus*) que pueden estar presentes por largos periodos de tiempo, produciendo solamente signos muy leves en la ubre de la vaca [8].

Considerando básicamente la etiología, las mastitis contagiosas son producidas por microorganismos cuyo hábitat principal es el canal del pezón o la piel externa del mismo, de forma que los contagios se producen fundamentalmente durante el ordeño, destacando en este caso bacterias tales como *S. aureus* y *St. agalactiae*.

En algunos rebaños una alta incidencia de mastitis y particularmente en la forma aguda es causada por coliformes como: *E. coli* y *Enterobacter sp.* Por su parte *Pseudomonas aeruginosa* representa una causa secundaria de mastitis y aun cuando la incidencia es baja, la infección puede ocurrir cuando las condiciones inadecuadas de limpieza e higiene permiten una mayor exposición a estos gérmenes [7].

Aunque la mastitis ocurre esporádicamente en todos los mamíferos, adquiere mayor importancia económica solamente en las vacas lecheras debido a la alteración en las características físicas, químicas y bacteriológicas de la leche y a la modificación que ocurre en el tejido glandular. Por lo tanto, se produce una reducción en la cantidad de leche producida, lo cual se refleja en un problema con consecuencias económicas [9].

Por lo general en el manejo diario del rebaño, los ganaderos suelen prestar atención a los casos clínicos, los cuales son evidentes y fácil de diagnosticar, pero el mayor problema se presenta con la mastitis subclínica, toda vez que es una condición que se propaga con gran facilidad, causando la mayor parte de las pérdidas [10]. La mastitis bovina se ha convertido en un verdadero problema de salud pública, ya que esta infección trae como consecuencia el uso indiscriminado de los antibióticos, los cuales finalmente son eliminados en la leche. Adicionalmente este uso indiscriminado parece tener un efecto inhibitorio en la fermentación bacteriana, usada en la preparación de productos lácteos [11].

No cabe duda que la mastitis bovina representa uno de los problemas más graves a los cuales debe enfrentarse la industria lechera en los actuales momentos. En los Estados Unidos las pérdidas económicas son enormes, al igual que en Inglaterra. Así mismo en Venezuela han sido estimadas las pérdidas económicas significativas por mastitis aguda y subclínica, específicamente en la zona Sur del Lago y en Carora Estado Lara [7]. En dos fincas de producción lechera en el Municipio Autónomo Torres en Carora, Estado Lara, ha sido reportado 41,34% de infección en vacas de ordeño y 83,07% de infección en 260 vacas de ordeño. En la primera finca el microorganismo predominante fue *S. aureus* y en la segunda finca fue *St. agalactiae*. En el estado Portuguesa los estudios realizados permitieron el aislamiento de *S. aureus* y *S. epidermidis*, mientras que en la Cuenca del Lago de Maracaibo se ha estimado una prevalencia de mastitis subclínica del 60,6 % [7].

A pesar de todos los avances científicos y tecnológicos alcanzados en la actualidad, la mastitis permanece hoy día en muchos hatos lecheros, con más o menos consecuencias, graves moderadas o leves, sobre la producción lechera, dependiendo de la intensidad del problema. El objetivo de este trabajo fue la identificación de agentes etiológicos de mastitis en un rebaño bovino del estado Trujillo - Venezuela.

Metodología

Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la Finca La Orquídea, ubicada en el Municipio Candelaria, en sector Minas de Monay en la vía hacia Torococo, municipio Candelaria Estado Trujillo, la cual ocupa una extensión de 444 hectáreas. El rebaño total está compuesto por 408 animales, donde hay 350 vacas en producción lechera. Los animales son un mestizaje producto de los cruces de las razas Holstein - Carora y Pardo Suizo – Carora.

Prueba de mastitis

Las pruebas fueron realizadas durante el ordeño de la tarde en 3 lotes de 25 animales cada uno y uno de 20 para un total de 95 animales. La realización de la prueba, así como la lectura y el reporte se realizó siguiendo los criterios originalmente establecidos [12]. Las tomas de muestras fueron realizadas en 4 días diferentes.

Toma de muestras para el estudio bacteriológico

Se recolectaron en forma aséptica 380 muestras, provenientes de los cuartos de ubre de 95 vacas, para el aislamiento y caracterización de microorganismos patógenos. Cada tubo correctamente identificado y herméticamente cerrado fue colocado en la cava con hielo, para luego ser transportados al Laboratorio del Centro de Investigaciones “José Witremundo Torrealba” del NURR”, donde fueron procesadas el mismo día de la recolección.

Aislamiento y caracterización de las bacterias con mayor prevalencia

Una vez que las muestras alcanzaron temperaturas entre 18 y 20 °C en el laboratorio, fueron sembradas con asa de platino en agar sangre y agar Mac Conkey. Las placas de agar sangre fueron incubadas bajo una atmósfera de 5-8% de CO₂. Todas las placas fueron incubadas durante 24 a 48 horas a 37 °C.

Los siguientes criterios fueron utilizados para la interpretación de los resultados obtenidos: 1) Cultivo negativo: Cuando el desarrollo de colonias iguales o diferentes fue menor a 5. 2) Cultivo positivo: Cuando el desarrollo de las colonias presentes fue igual a 5 del mismo tipo o al menos 8 colonias de no más de dos tipos de colonias. 3) Cultivo contaminado: se consideraron todos aquellos cultivos donde se observó el crecimiento de varios tipos de colonias y estos cultivos fueron excluidos del estudio.

La identificación de los microorganismos se realizó siguiendo los esquemas de clasificación de International Dairy Federation y National Mastitis Council de los Estados Unidos [13,14].

Análisis Estadístico

Se llevó a cabo un análisis descriptivo univariante de los datos, empleando para ello frecuencias absolutas simples (número de casos) y relativas (porcentaje), que se presentan en tablas de frecuencias.

Resultados y discusión

De las 95 vacas incluidas en este estudio, 85 presentaron mastitis subclínica, diagnosticada mediante la prueba de MTC, lo cual representa una alta prevalencia (89,5%). De las 85 vacas que resultaron positivas a la prueba de mastitis, 45 presentaron los 4 cuartos de ubre afectados, 16 presentaron 3 cuartos de ubre afectados, 15 vacas 2 cuartos de ubre y 9 vacas presentaron sólo 1 cuarto de ubre afectado, tal como se observa en la tabla 1. Aunque en ninguno de los animales estudiados se observó signos evidentes característicos de mastitis clínica [2], los resultados de la prueba MTC, permitieron establecer el diagnóstico de mastitis subclínica.

En la tabla 2 se presentan los resultados de la Prueba Mastitis Test California, realizada a 95 vacas, equivalentes a 380 cuartos de ubre, los cuales se reportaron tomando en cuenta el grado de gelificación de la leche, con sus respectivos porcentajes. Se puede observar que el mayor número de cuartos de ubre (160 equivalente a 42%) correspondió al reporte Positivo, lo cual significa que en estos casos la mezcla espesó rápidamente y se observó la formación de gel. Esta formación de gel guarda relación directa con el contenido de células somáticas en la leche y que a su vez es una expresión del grado de afectación del cuarto de

ubre de la vaca como consecuencia de la presencia de microorganismos causantes de mastitis. El estudio bacteriológico permitió la caracterización de las bacterias en cuatro géneros: *S. aureus*, *Pseudomonas sp.*, *Enterobacter sp.*, y *E. coli*.

En la tabla 3 se presentan los resultados del aislamiento bacteriano realizados en muestras de leche provenientes de 95 vacas, siendo *S. aureus* el microorganismo encontrado con mayor frecuencia en este estudio, ya que se aisló en más del 93% de las muestras, ya fuese sólo o acompañado. El siguiente microorganismo más frecuente fue *Pseudomonas sp.*, el cual estuvo presente en 37 vacas (39%). *E. coli* y *Enterobacter sp.* fueron los microorganismos aislados con menos frecuencia, encontrándose en 5 y 2 vacas respectivamente (5.2% y 2.1%).

Los resultados encontrados en la Finca La Orquídea en cuanto a la prevalencia de mastitis subclínica (89,5%), concuerdan con los obtenidos por Osechas (1986), en algunas fincas evaluadas en el Estado Trujillo. Este autor reporta un rango entre 23,33 y 97,36% [15]. En otros estudios realizados en la Finca Mono Viejo del Estado Trujillo, el 46, 75% resultó positivo para mastitis [16]. En ninguno de los dos casos anteriores se reportó el aislamiento y caracterización de microorganismos. Ambos estudios fueron realizados utilizando la prueba de MTC.

En este estudio el microorganismo que se aisló con mayor frecuencia fue *S. aureus*, un coco Gram positivo, que se encuentra señalado como el agente causal más importante de mastitis clínica y subclínica, seguido de *Pseudomonas*, *Enterobacter* y *E. coli*, los cuales son considerados agentes etiológicos secundarios.

S. aureus fue aislado como agente etiológico primario en el 47% de las muestras, mientras que en el 93% se aisló acompañado de otros microorganismos. Estos resultados se corresponden con lo señalado en la literatura en cuanto a la extensión de la mastitis estafilocócica bovina [17,18].

Los resultados obtenidos por otros investigadores [11] en Honduras, revelan positividad a mastitis en un alto porcentaje de las fincas evaluadas (89,5%), aun cuando la prevalencia en la vacas fue relativamente baja (19,6%). Así mismo en otros países, como Estados Unidos, Jordania, Reino Unido y Alemania, aunque con porcentajes más bajos se han reportado varios estudios sobre la prevalencia de mastitis en ganado bovino [3,19,20]. Los resultados de tales estudios sugieren que a pesar de la tecnología y el desarrollo la mastitis sigue siendo un importante problema de la industria lechera.

La alta prevalencia de mastitis encontrada en este estudio puede ser explicada debido a que las medidas higiénicas necesarias en el manejo de los rebaños de ordeño no se aplican rigurosamente. Los equipos de ordeño no son lavados entre vaca y vaca, lo cual puede representar una vía de fácil transmisión de los microorganismos entre los animales.

Conclusiones

- Existe una alta prevalencia de mastitis subclínica en la Finca La Orquídea, Municipio Candelaria, Estado Trujillo, ya que cerca del 90% de las vacas resultaron positivas al diagnóstico realizado.

- El mayor porcentaje de Mastitis subclínica en la Finca La Orquídea es causada primariamente por *S. aureus*.
- En las muestras evaluadas se encontraron microorganismos secundarios causantes de mastitis subclínicas como: *Pseudomonas sp.*, *Enterobacter sp.* y *E. coli*.
- La prueba de MTC resultó ser de utilidad en el diagnóstico de mastitis subclínica, pudiendo ser empleada para estudios epidemiológicos a gran escala.

Recomendaciones

- Realizar estudios epidemiológicos detallados para conocer la prevalencia de la mastitis bovina en el Estado Trujillo.
- Establecer programas de vigilancia de mastitis que permitan detectar en forma temprana los casos de mastitis clínica y subclínica para implementar los correctivos oportunamente.
- Estrechar las relaciones de trabajo entre los organismos sanitarios y las instituciones universitarias para diseñar políticas de control de mastitis que impacten significativamente sobre la salud animal y calidad de la leche.
- Implementar campañas de información y capacitación dirigidas a los productores lecheros de la zona para el control y prevención de dicha patología.

Agradecimiento:

Los autores agradecen al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la Universidad de Los Andes por el financiamiento de este trabajo a través del proyecto Código: NURR-C-343-03-03-F.

Referencias bibliográficas:

1. BLOOD, D.C., HENDERSON, J.A. y RADOSTITS, O.M., 1986. Medicina Veterinaria. 6ía Edición. México. D.F. Interamericana.
2. JAIN, N.C., 1979. Common pathogens and factors in infection and mastitis. Journal of Dairy Sciences. 62: 128-134. <http://jds.fass.org/cgi/content/abstract/62/1/128>.
3. HAWARI, A. D. and Al-Dabbas, F., (2008). Prevalence and Distribution of Mastitis Pathogens and their Resistance against Antimicrobial Agents in Dairy Cows in Jordan. American Journal of Animal and Veterinary Sciences 3 (1): 36-39.
4. WOLTER, W., CASTAÑEDA, V. H., KLOPPER, Y. T. B. y ZSCHOECK, M., La Mastitis Bovina, Instituto de Investigaciones de Hesse. Universidad de Guadalajara. México (hcastaneda@cucba.udg.mx).
5. BLANCO, O., M.A., 2001., Diagnóstico de la Mastitis Bovina Subclínica Bovina, III Congreso Nacional de Mastitis y Calidad de la Leche. México.
6. BOOTH, J.M. 1981. The importance of udder health in relation to milk quality improvement and control. Milk Quality Improvement and Control. Eds. J. D. Collins and J. Hannan. University College Dublin. pp. 1-11.

7. CONTRERAS, J. A., 1992. Enfermedades de los Bovinos causadas por Agentes Virales, Bacterianos, Rickettsiales y Protozoarios: Diagnóstico, Tratamiento y Control.
8. OSTERAS, 2006. Milk culture results in a large Norwegian survey. *J. Dairy Sci.* 89:1010-1023.
9. NOGUERA, E., 1997. La mejor manera de controlar la Mastitis. *Rev. Hosp. Mat. Inf. Ramón Sarda*, XVI, N° 2.
10. THE NEW ZELAND FARMER., 1984. Manual para la obtención de leche calidad. Montevideo, Uruguay.
11. RODRÍGUEZ, M. Y.L, 2000. Determinación de Mastitis Bovina en Catacarnas y Santa María del Real. Olancho, Honduras. Tesis Ing Agrónomo. ENA. Catacarnas, Honduras.
12. SCHALM, O. W., NOORLANDER, D. O., 1957. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 130, 199-204.
13. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1981. Laboratory methods for use in mastitis work. *Doc.* 132:1-26.
14. NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 1990. Microbiological procedures for the diagnoses of bovine udder infection. 3th edition. 1-34.
15. OSECHAS, A. M., 1986. Prevalencia de Mastitis Bovina Subclínica en el Estado Trujillo. Trabajo de Ascenso. NURR-ULA, Venezuela.
16. PÉREZ B., O. J., 1985. Incidencia de Mastitis Bovina en la Finca Mono Viejo, Estado Trujillo. Tesis de Grado. NURR-ULA
17. MERCHANT - PACKER, 1970. Bacteriología y Virología Veterinarias. Editorial Acribia, Zaragoza, España. 328-347.
18. STUART, W. T., 2000. Microbiología. Tercera Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana, España.
19. OLIVER, S.P. AND A.B. MITCHELL, 1984. Prevalence of mastitis pathogens in herds. Participating in a mastitis control program. *J. Dairy Sci.*, 67: 2436-2440.
20. TENHAGEN, B.A., G. KOSTER, J. WALLMAN AND W. WEUWIESER, 2006. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *J. Dairy Sci.*, 89: 2542-2551.

Anexos:

Tabla 1.- N° de Vacas con 0, 1 ,2 ,3 y 4 cuartos de ubre afectados.

N° de Cuartos Afectados	N de Vacas	Porcentaje (%)
0	10	11
1	9	9
2	15	16
3	16	17
4	45	47
Total	95	100

Tabla 2.- Resultados de la Prueba Mastitis Test California realizada a 95 vacas (380 cuartos de ubre).

RESULTADOS	N°DE MUESTRAS	PORCENTAJE (%)
NEGATIVOS	106	28
TRAZAS	72	19
POSITIVO (+)	160	42
POSITIVO (++)	22	6
POSITIVO (+++)	12	3
AFUNCIONALES	8	2
TOTAL	380	100

Tabla 3. Bacterias aisladas en muestras de leche de 95 vacas de la finca la Orquídea, Trujillo.

Bacterias aisladas	N° de vacas	(%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	44	46,3
<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomonas</i> sp.	37	39
<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>	5	5,2
<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Enterobacter</i> sp.	2	2,1
Negativo	7	7,4