

ETIOLOGÍA DE LAS INFECCIONES INTRAMAMARIAS SUBCLINICAS AL SECADO Y EN EL POSTPARTO EN VACAS LECHERAS EN CALDAS, COLOMBIA

Etiology of subclinical intramammary infections at drying-off and around calving in dairy cows in Caldas, Colombia

Néstor Alonso Villa-Arcila, Paulo César Duque-Madrid, Laura Lasso-Rojas, Sebastián Sánchez-Arias y Alejandro Ceballos-Márquez

Departamento de Producción Agropecuaria, Grupo de calidad de leche y epidemiología veterinaria, Universidad de Caldas. A. A. 275. Manizales, Colombia. E-mail: navilla@ucaldas.edu.co

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la probabilidad de ocurrencia de una infección intramamaria subclínica (IIMs) y su asociación con algunos factores de riesgo, como hato, raza, número de partos, producción de leche y cambios en la condición corporal en vacas Holstein y Normando en pastoreo en lecherías de Caldas, Colombia. Dos muestras de leche compuesta fueron tomadas a cada una de las vacas seleccionadas al momento del secado (n = 165) y durante el primer mes de lactancia (n = 208, se incluyeron 43 novillas). Una muestra se utilizó para determinar el recuento de células somáticas (RCS) y la otra para cultivo bacteriológico. La IIM fue establecida cuando un patógeno causante de mastitis fue aislado a partir de una muestra de leche, que además tenía un RCS ≥ 100.000 y ≥ 200.000 células /mL en vacas primíparas y multiparas, respectivamente. Se utilizaron modelos multivariados de regresión logística para establecer la probabilidad de la ocurrencia de una IIM en el periparto con otras variables. En promedio, el RCS al momento del secado fue mayor que el observado en el primer mes de lactancia. Se encontró un 44,8% de las vacas con IIM al momento del secado. Un 21,8% de las vacas con IIM se curó durante el secado. Un 12,1% de las vacas se mantuvo con una IIM crónica, mientras que se observó un 13,3% de infecciones nuevas, y 5,8% de las vacas presentó mastitis clínica al inicio de la lactancia. Se observaron diferencias en la probabilidad de ocurrencia de una IIM debidas al hato, a la producción de leche y a la condición corporal de las vacas. Las bacterias más prevalentes fueron *Staphylococcus aureus*, Staphylococci coagulasa negativo (SCN) y *Streptococcus uberis*. Factores de manejo propios de cada hato origina diferencias entre ellos, que hacen que la probabilidad de IIM en el inicio de la lactancia sea variable entre ellos, así como una mayor producción de leche estaba asociada con una menor probabilidad de infección.

Palabras clave: Mastitis; células somáticas; patógenos mamarios.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the odds of having a subclinical intramammary infection (IIM) around calving, and its association with risk factors, such as herd, breed, parity, milk yield, and changes in body condition score in Holstein and Normande cows (n = 208) in dairy grazing systems in Caldas, Colombia. Two composite milk samples were collected from each cow at drying-off (n = 165), and once a week during the first month of lactation (n = 208, 43 heifers were enrolled). One sample was used for the analysis of somatic cell count (SCC), and the other one for bacteriological culture. An IMI was declared when a mastitis-causing pathogen was isolated from milk samples had a SCC $\geq 100,000$ and $\geq 200,000$ cells/mL in primiparous and multiparous cows, respectively. Multivariate logistic regression models were used to establish the association between the odds of having an IMI around calving with other variables. On average, SCC at drying-off was higher than the average in the first month of lactation. It was found that 44,8% of cows had an IMI at drying off. Drying-off therapy cured 21, 8% of cows with IIMs. At calving, 12,1% of cows had chronic subclinical IIM, 13,3% new infections, and 5,8% of cows had clinical infections. Herd, milk yield and changes in body condition score had a significant effect on the odds of having an IMI around calving. The most frequent bacteria isolated were *Staphylococcus aureus*, coagulase negative staphylococci (CNS), and *Streptococcus uberis*. These results suggested that subclinical IMI around calving were associated to management conditions on each herd, which is an indication that subclinical mastitis is still a multivariate problem. High milk yield was also associated with a low odds of infection.

Key words: Mastitis; somatic cell; mammary pathogens.

INTRODUCCIÓN

La mastitis es una reacción inflamatoria de la glándula mamaria (GM) y produce alteraciones físicas y químicas en la leche, aumento del recuento de células somáticas (RCS) por la presencia de patógenos y finalmente pérdida de la funcionalidad de la GM [46]. Las pérdidas económicas que generan las infecciones intramamarias (IIM) a nivel mundial, ya sean clínicas o subclínicas, son elevadas, hasta el punto que se considera esta enfermedad junto a los problemas reproductivos, las que generan las mayores pérdidas en producción bovina por disminución en la producción de leche, descarte de leche, servicios profesionales, costo de los antibióticos, mano de obra y pérdidas del valor de las vacas [22,32,38]. Por ello las investigaciones en esta área buscan concentrar los esfuerzos en el conocimiento de los patógenos y la respuesta inflamatoria de la GM a cada uno de éstos con el fin de establecer de una manera correcta las medidas preventivas [36].

Las bacterias de los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium* y algunos gérmenes Gram negativos, son responsables de más del 90% de los casos clínicos y subclínicos de mastitis [4,44]. La enfermedad puede cursar como subclínica, siendo la de mayor prevalencia, o como clínica, con cambios macroscópicos de la leche y síntomas palpables en la ubre y a veces, con compromiso sistémico en el animal. Las IIM causadas por *Staphylococci* coagulasa negativos (SCN) son considerados patógenos menores que han recibido menos atención que los patógenos mayores, debido a que, generalmente inducen mastitis subclínica, que se caracterizan por un RCS moderado o bajo; no obstante, en la última década se han considerado como los patógenos más frecuentes hallados en mastitis subclínica alrededor de todo el mundo [11,40].

La mastitis clásicamente se ha definido como una “enfermedad multifactorial” porque el riesgo de infección depende de las condiciones del ambiente, del manejo en general y de la rutina de ordeño que se esté ejecutando en el establecimiento; asimismo, la respuesta inmune de la GM, el tipo, número y la patogenicidad de las bacterias también determinan la presentación y severidad de la enfermedad [28,39,44].

En Colombia, la producción de leche se basa en pastoreo, lo que favorece una baja prevalencia de patógenos Gram negativos y una mayor prevalencia de Gram positivos. En un trabajo reciente en Antioquia, Colombia, los principales patógenos causantes de IIM subclínica fueron patógenos contagiosos como el *S. agalactiae* con una frecuencia de presentación del 34,4%, *Corynebacterium* spp. (13,2 %) y *S. aureus* (8%); además, el ordeño manual, unido al número de meses en lactancia y el número de partos favoreció la presencia de IIM [29]. En este mismo sentido, estudiando la prevalencia de *S. agalactiae* en tanques de leche en Colombia, la presencia de este patógeno estuvo asociada con un aumento del 70% del RCS y casi duplicar el conteo de bacterias en leche cruda [20].

El objetivo de este estudio fue evaluar la prevalencia de IIM subclínica y su etiología al secado y en el primer mes postparto en vacas Holstein y Normando en los municipios de Manizales y Villamaría en Caldas, Colombia, y evaluar si había asociación entre algunos factores, como hato, raza, número de partos, producción de leche y cambios en la condición corporal con la probabilidad de tener una IIMs en el mismo período.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se diseñó un estudio longitudinal prospectivo entre octubre 2013 y mayo 2014 en cinco explotaciones bovinas dedicadas a la producción de leche, y localizadas en los municipios de Manizales y Villamaría en Caldas, Colombia. Las lecherías fueron seleccionadas a propósito, siguiendo los criterios de inclusión: Tener asistencia técnica profesional permanente, poseer registros sistematizados y tener establecido un plan sanitario. Además, según el tamaño promedio de los hatos en la zona objeto de estudio, en estas lecherías fue posible reunir el número de vacas necesarias para la realización del trabajo. Un total de 208 vacas fueron seleccionadas (151 Holstein y 57 Normando), las que se según la edad estaban distribuidas en 43 primíparas y 165 multíparas. A estas últimas se les realizó seguimiento desde el secado hasta un mes después del parto, mientras que el seguimiento a las primíparas se inició al momento del parto.

El sistema productivo de estas lecherías estaba clasificado como pastoreo rotacional con suplementación [30]. La alimentación se basaba en pastoreo de Kikuyo (*Pennisetum clandestinum*), Azul orchoro (*Dactylis glomerata*) y Falsa poa (*Holcus lanatus*); además, las vacas eran suplementadas con alimentos balanceados comerciales (14 al 16% de proteína cruda y 2,9 Mcal de energía metabolizable/kg de materia seca) a razón de 1 kg por 4 kg de leche producida en promedio. Se suministraron mezclas de sales minerales y agua a voluntad.

Muestras: Para conocer el estado de salud de la GM al inicio del estudio, de cada vaca multípara se tomaron dos muestras de leche compuesta en viales plásticos, uno de ellos con un conservante (bronopol) para la determinación del RCS mediante citometría de flujo, y la segunda muestra para cultivo bacteriológico. Es de notar que todas las vacas al momento del secado recibieron terapia antibiótica de secado con antibióticos comerciales para uso intramamario.

Seis ordeños después del parto y semanalmente durante cuatro semanas, de cada vaca se tomaron dos muestras de leche compuesta para determinar el RCS, seleccionándose posteriormente según el resultado, las muestras para cultivo bacteriológico. El punto de corte fue establecido en ≥ 100.000 y ≥ 200.000 células/mL para vacas primíparas y multíparas, respectivamente [7,33]. El RCS se realizó mediante un contador electrónico de células somáticas (Foss Electric. Hillerød, Dinamarca).

Análisis de laboratorio: Los análisis bacteriológicos se realizaron de acuerdo a los protocolos establecidos por el National Mastitis Council [18]. Las muestras de leche fueron sembradas con un hisopo de algodón estéril y para el aislamiento primario se utilizó agar sangre de cordero (*Ovis orientalis aries*) al 5% con esculina al 0,1%. La morfología y coloración de Gram fueron usadas para una primera identificación entre bacterias Gram positivas y Gram negativas. La prueba de catalasa se usó para diferenciar los staphilococci de los streptococci. La prueba de coagulasa se realizó en los cocos que resultaron positivos a la prueba de catalasa para confirmar la presencia de *S. aureus*. Los cocos Gram positivos y catalasa negativos fueron diferenciados por su reacción a la hidrólisis de esculina bajo luz ultravioleta. A los cocos negativos a la prueba de catalasa y a la hidrólisis de esculina se les realizó la prueba de Christie-Atkins-Munch-Petersen (CAMP) para diferenciar el *S. agalactiae* del *S. dysgalactiae*. Los cocos negativos a la prueba de catalasa y positivos a la hidrólisis de esculina fueron sembrados en agar Enterococcosel™ (Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Alemania) para diferenciar el *S. uberis*, ya que esta bacteria no crece en este medio. Las bacterias del género *Corynebacterium* se identificaron por su morfología, coloración de Gram y prueba de catalasa. Las bacterias Gram negativas fueron identificadas por su morfología en la coloración de Gram y por su posterior crecimiento en agar MacConkey. La diferenciación de las enterobacterias con las otras gram negativas se realizó mediante la prueba de oxidasa y además fueron usadas otras pruebas bioquímicas como citrato, indol, motilidad [23].

Definición de infección intramamaria: Al momento de secar la vaca, se cultivaron todas las muestras de leche y se estableció la IIMs cuando se aisló al menos una colonia de un patógeno causante de mastitis y la muestra de leche tenía un RCS ≥ 200.000 células/mL. El objetivo de este análisis inicial fue establecer el estado sanitario de la GM al secado en las vacas múltiparas. Posteriormente, durante el primer mes postparto, se estableció la IIMs cuando el RCS fue ≥ 100.000 y ≥ 200.000 células/mL en primíparas y múltiparas, respectivamente, y además, se aisló como mínimo una colonia de un patógeno mamario en al menos dos de tres muestras consecutivas (entre las semanas 1 y 3 o entre las semanas 2 y 4 después del parto). Una nueva IIMs después del parto se estableció si no había infección al momento del secado según el criterio definido previamente, o el patógeno aislado era diferente al aislado en el secado [8,13]. Las muestras de leche que contenían más de dos especies bacterianas fueron consideradas como contaminadas y no informativas de IIM.

Análisis estadístico: Todos los datos se introdujeron en una base de datos creada en el programa Excel (Microsoft Corp. Redmond, Washington, EUA) y posteriormente fueron exportados a un programa estadístico. Las variables fueron analizadas mediante estadística descriptiva (promedio y desviación estándar), donde además se hizo una evaluación del tipo de distribución de los datos con el objeto de detectar eventuales distribuciones no normales. Los datos del RCS fueron expresados como el logaritmo natural en miles/mL (LnRCS) [1].

Inicialmente, se realizaron análisis incondicionales mediante el cálculo de coeficientes de correlación entre la variable dependiente (IIMs) y las independientes, para establecer si había o no asociación entre ellas. Posteriormente, las variables cuya asociación fue significativa a un valor de $P \leq 0,10$ fueron seleccionadas para ser incluidas en un análisis de regresión logística multivariado, modelo que fue manualmente reducido mediante la selección de paso atrás (backward selection) hasta dejar las variables significativas a un valor de $P < 0,05$ [14]. Los análisis incluyeron la evaluación del efecto de las variables independientes: hato (categorizadas entre 1 y 5), raza (Holstein y Normando), número de partos (1, 2 y más de 3), producción de leche y cambios en la condición corporal. Se ajustó un modelo de regresión logística según la siguiente ecuación:

$$\text{logit} [\text{probabilidad de IIMs al parto}] = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_n x_n$$

donde la probabilidad de tener una IIMs en las cuatro primeras semanas de lactancia está dada por el intercepto (β_0) más el efecto de las variables independientes (β_n) anteriormente descritas, desde 1 hasta n. Las asociaciones significativas fueron representadas mediante la razón de probabilidades (odds ratio, OR), que para el caso de las variables continuas representa el factor mediante el cual la probabilidad de IIMs en el primer mes postparto se incrementa o decrece por cada unidad de cambio en el predictor [14]. Los análisis fueron realizados utilizando el comando 'logit' de Stata 14.2 (Stata Corp. College Station, Texas, EUA). El nivel de significancia se fijó en $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 165 vacas múltiparas al momento del secado, 87 (52,7%) vacas estaban sanas, mientras que 74 (44,8%) presentaron IIM subclínica, y en 4 (2,5%) vacas las muestras estaban contaminadas no pudiendo determinar su estado de infección. Al momento del parto, 22 (13,3%) se encontraron con una nueva IIM, así como 36 (21,8%) se curaron y 20 (12,1%) presentaron IIM subclínica crónica. En 14 (8,5%) vacas se observó que el promedio para el RCS, tanto al momento del secado como el postparto, fue mayor al punto de corte establecido; sin embargo, los patógenos aislados en ambos momentos fueron diferentes, estas observaciones no fueron consideradas en el análisis, ya que no fue posible clasificarlas según la definición de la IIMs. En total 9 (5,5%) vacas presentaron muestras contaminadas y no informativas de IIMs. Con respecto a las vacas de primer parto, 37 (n = 43; 86,0%) parieron sanas, mientras que 6 (14,0%) presentaron una IIM subclínica. En la TABLA I se observa el número y la frecuencia de bacterias aisladas en las muestras de leche tomadas al momento del secado y en las cuatro primeras semanas postparto.

TABLA I

NÚMERO Y FRECUENCIA DE PATÓGENOS MAMARIOS AISLADOS DURANTE EL SECADO Y EL INICIO DE LACTANCIA EN MUESTRAS DE LECHE DE VACAS EN LOS MUNICIPIOS DE MANIZALES Y VILLAMARÍA, CALDAS, COLOMBIA

| Infección | Secado | % ^a | Semana 1 | % | Semana 2 | % | Semana 3 | % | Semana 4 | % |
|-----------------------------|--------|----------------|----------|------|----------|------|----------|------|----------|------|
| Muestras negativas | 77 | | 145 | | 151 | | 153 | | 159 | |
| Muestras positivas | 88 | | 63 | | 57 | | 55 | | 49 | |
| <i>Strep. agalactiae</i> | 5 | 5,7 | 3 | 4,7 | 2 | 3,5 | 4 | 7,3 | 7 | 14,3 |
| <i>Strep. dysgalactiae</i> | 2 | 2,3 | 5 | 7,8 | 4 | 7,0 | 5 | 9,1 | 4 | 8,2 |
| <i>Strep. uberis</i> | 10 | 11,4 | 7 | 10,9 | 6 | 10,5 | 5 | 9,1 | 3 | 6,1 |
| <i>Strep. spp.</i> | 9 | 10,2 | 5 | 7,8 | 2 | 3,5 | 4 | 7,3 | 1 | 2,0 |
| <i>Staph. aureus</i> | 15 | 17,0 | 18 | 28,1 | 18 | 31,6 | 15 | 27,3 | 15 | 30,6 |
| SCN ^b | 34 | 38,2 | 16 | 25,0 | 14 | 24,6 | 10 | 18,2 | 11 | 22,4 |
| <i>Corynebacterium spp.</i> | 8 | 9,1 | 2 | 3,1 | 5 | 8,8 | 3 | 5,5 | 1 | 2,0 |
| <i>E. coli</i> | 1 | 1,1 | 2 | 3,1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Infecciones dobles | 4 | 4,5 | 6 | 9,4 | 6 | 10,5 | 9 | 16,4 | 7 | 14,3 |
| Contaminadas | 4 | | 2 | | 3 | | 0 | | 2 | |

^a% con respecto al número total de aislamientos

^bStaphylococci coagulasa negativos.

Con respecto a las IIM clínicas, 12 vacas la presentaron durante el primer mes de lactancia, lo que equivale a un 5,8%. Los patógenos causantes de estas IIM clínicas fueron *S. aureus*, *Staphylococcus spp.* SCN, *S. agalactiae*, *C. bovis*, *Streptococcus spp.* y *S. uberis*. Esta prevalencia fue inferior a la hallada en el estado de La Florida, EUA, donde se encontró una incidencia de IIM clínica en los primeros 30 días (d) postparto de 7,4%; no obstante, los autores no especifican el sistema productivo en el que estaban las vacas del estudio [26].

La baja eficiencia de la terapia de secado observada puede deberse a factores inherentes al hato y a la vaca como son: duración del período seco, prácticas de secado mal establecidas, la nutrición, la edad de la vaca, resistencia bacteriana, tipo de antibióticos de secado, patogenicidad de las bacterias y la integridad del pezón [12,24]. Mientras que la alta incidencia de infecciones nuevas pueden tener un origen en el manejo del preparto y en la rutina y procedimientos de ordeño [35].

Las vacas que presentaron IIMs al secado tuvieron una probabilidad $2,6 \pm 1,1$ veces más alta de presentar IIMs en el inicio de la lactancia ($P < 0,02$). Varios estudios indican que la IIM o un RCS alto al momento del secado incrementa la probabilidad de IIM en los primeros 120 d de la lactancia siguiente [16,24,26]. Esto debido a factores como la edad de la vaca, donde un mal cierre del esfínter del pezón incrementa la probabilidad de la ocurrencia de la IIM, y el estrés del parto, que se caracteriza por una respuesta inmunológica alterada, que puede incrementar la probabilidad de la ocurrencia de infecciones en el inicio de la lactancia [12,24].

Después del parto, únicamente se cultivaron las muestras de leche tomadas a las vacas y novillas con un RCS superior a 200.000 y 100.000 células/mL, respectivamente. A partir de la

primera semana posparto, se tomaron muestras de 208 vacas incluyendo las novillas de primer parto. No obstante, todos los datos de estos animales no fueron usados en el análisis por las razones descritas al inicio de esta sección. Los valores observados para la curación durante el secado y el número de nuevas IIM fueron superiores a lo descrito en vacas bajo condiciones de producción de Norte América (i.e. confinamiento) [12].

De otra parte, la duración de la infección fue de 1,6 meses ó 50 d y durante la primera semana, 22 vacas presentaron IIM subclínica, que corresponde a 11,1%, de las cuales, 10 fueron novillas, lo que representa un 23%. En un estudio, se halló una prevalencia superior de IIM en vacas, donde las infecciones fueron causadas principalmente por patógenos menores [12]. Lo anterior difiere de los resultados en el presente trabajo, donde el *S. aureus* fue el patógeno más prevalente, debido posiblemente al sistema productivo del país, caracterizado por pastoreo continuo sin estabulación donde en muchas lecherías todavía se ordeña en forma manual sin seguir protocolos establecidos de mejoramiento de los procedimientos de ordeño [29].

El RCS al secado fue un predictor significativo del mismo en el inicio de la lactancia, observándose una elevación de $0,38 \pm 0,13$ unidades (Ln RCS, miles/mL) por cada unidad de aumento en el RCS al secado ($P < 0,001$). Debe señalarse que este análisis no pudo realizarse en las novillas de primer parto debido a que no se tomaron muestras de leche antes del parto en este grupo. Este resultado es comparable con lo descrito en varios estudios donde se indica que, un RCS alto al momento de secado aumenta la probabilidad de IIM en el postparto de la vaca [16,24]. Con respecto al número de partos se observó un aumento del RCS en las vacas con más de tres partos ($P < 0,001$), lo que reafirma que el número de partos y el estado de la lactancia están asociados a la presentación de mastitis [5,24].

El alto RCS al secado es similar a lo observado en hatos bajo condiciones de estabulación en Chile [27]. También un RCS alto en la primera semana posparto es aceptado como normal hasta el tercer día posparto, posteriormente, el RCS declina a niveles fisiológicos en vacas sin IIM [3]. El RCS es un indicador del estado de infección de la GM y es la respuesta inflamatoria de defensa natural ante la presencia de agentes infecciosos [37]. El RCS entre el hato 1 y las demás explotaciones tuvo diferencias significativas ($P < 0,001$), donde el hato 1 presentó los valores promedio más bajos con respecto a las demás explotaciones. Es de resaltar que los valores más altos de células somáticas en los cinco hatos se observaron al momento del secado, presentándose diferencias significativas entre el RCS al momento del secado con las cuatro semanas posparto ($P < 0,001$). No se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) en el RCS en las semanas 2; 3 y 4.

Evaluando el RCS por razas se encontró que existen diferencias significativas ($P < 0,001$) entre la raza Holstein y la raza Normando, donde la raza Normando presentó los valores más altos, posiblemente debido a que en el hato de vacas Normando, el ordeño era manual. Sin embargo, al realizar el análisis multivariado se encontró que las variables raza, número de partos no estaban asociadas con el resultado de interés (IIM postparto), por lo tanto fueron removidas del modelo final, TABLA II.

TABLA II
ASOCIACIÓN ENTRE LAS VARIABLES INDEPENDIENTES Y LA RAZÓN DE PROBABILIDAD (OR) DE TENER INFECCIÓN INTRAMAMARIA (IIM)

| Variable | Coefficiente | IC 95% | P-valor |
|---------------------|--------------|--------------|---------|
| Hato: | | | < 0,01 |
| 1 | Referencia | | |
| 2 | -1,82 | -3,80; 0,14 | |
| 3 | 2,71 | 0,67; 4,76 | |
| 4 | -0,29 | -1,88; 1,29 | |
| 5 | -0,76 | -2,93; 1,40 | |
| Producción de leche | -0,15 | -0,25; -0,05 | < 0,01 |
| Condición corporal | -1,02 | -2,27; 0,23 | 0,11 |
| Constante | 5,85 | 0,52; 11,17 | 0,03 |

El patógeno más prevalente fue el *S. aureus*. En Colombia se han realizado varios estudios para establecer su presencia; por ejemplo, en el altiplano Cundiboyacense se encontró una prevalencia de 29,1% de *S. aureus* en muestras positivas a CMT [6], similar a los resultados obtenidos en este estudio. Sin embargo, en otros trabajos se han observado prevalencias menores, es así como, en un estudio realizado en la sabana de Bogotá se encontró una prevalencia de 13,7% en vacas y además fue la bacteria más prevalente en hatos con equipos de ordeño [31]. En el departamento de Antioquia, Colombia, la prevalencia fue del 10,3% [42]. Lo anterior sugiere que en el país y a nivel mundial, el agente contagioso que se aísla con mayor frecuencia y el más estudiado es el *S. aureus* [45].

Se asume que la principal causa de estas infecciones son las transmitidas de vaca a vaca o entre cuartos de la misma vaca, otras fuentes de contaminación con *S. aureus* de origen ambiental han sido descritas y posiblemente coexistan cepas patógenas y no patógenas [45]. No obstante, se han definido múltiples factores de riesgo en la transmisión de este patógeno, pero el uso de guantes por parte de los operarios durante el ordeño es una práctica que disminuye la transmisión de IIM entre vacas y entre cuartos en una misma vaca, lo anterior, posiblemente por la menor colonización de esta bacteria en las manos [15].

La IIM por *Staphylococcus coagulada* negativos SCN fueron la segunda causa más frecuente de mastitis en este estudio, se ha señalado que los SCN tienen especies que son de origen ambiental mientras que otras se consideran hospedador adaptado [10]. Estudios recientes no han encontrado diferencias entre especies de SCN y su asociación con la producción de leche, el RCS y la época del año en vacas con mastitis subclínica [37,41]. Sin embargo, hay antecedentes que indican que, las vacas infectadas con algunas especies de SCN producen más leche y se ha sugerido que estas bacterias tendrían un efecto protector para las infecciones producidas por patógenos mayores [25,34,43].

El *S. uberis* es un patógeno ambiental que tuvo una prevalencia que fluctuó entre 11,4% al secado y el 5,4% en la cuarta semana posparto. Tiene la particularidad que es resistente a la fagocitosis ya que posee los mecanismos bioquímicos, relacionados posiblemente con el metabolismo del hierro y la producción de ácido hialurónico, para obtener la nutrición y resistir la fagocitosis por parte de los neutrófilos y mantenerse de esta manera en la GM [21]. Estudiando la prevalencia de este patógeno a nivel de GM en Colombia, se han reportado prevalencias similares e inferiores a las observadas en este estudio, es así como, en la sabana de Bogotá, encontraron una prevalencia del 5,7%, mientras que el departamento de Antioquia se encontró un 2,2% de aislamientos de este patógeno [6,29].

La prevalencia de *S. agalactiae* varió entre el 3,5 y el 12,5% en las semanas uno y cuatro posparto, respectivamente. Este patógeno, parásito obligado de la GM, tiene la habilidad de ser muy contagioso a través de los procedimientos de ordeño y es la principal causa de mastitis subclínica. En Colombia se han encontrado prevalencias que fluctúan alrededor del 6,4 y 6,8% [6,42]. No obstante, en la sabana de Bogotá se encontró una prevalencia del 44,9% en infecciones de corta duración y estuvo asociada a hatos donde el ordeño era manual. En tanques de enfriamiento en varias zonas del país, se han observado prevalencias que superan el 40% [20,31]. Es de resaltar que existen países como Nueva Zelanda donde han erradicado este patógeno [9]. De otra parte, existen especies de este patógeno que son la principal causa de sepsis neonatal en humanos y se ha evidenciado que estas especies se derivan de las que afectan los bovinos [19]. De ahí la relevancia de este patógeno en la actualidad por su carácter zoonótico y la fácil transmisión entre las personas que tienen contacto con las vacas.

Con respecto al *Corynebacterium* spp., tuvo una prevalencia superior a la observada en el oriente de Antioquia, Colombia, donde se encontró una prevalencia del 1,3%, mientras que en la sabana de Bogotá se han encontrado prevalencias similares a las obtenidas en este estudio [6,42]. El *C. bovis* es un comensal normal que vive en conducto del pezón, donde puede ser aislado sin estar asociado a mastitis, aunque puede causar mastitis leve, su aislamiento está asociado a malos procedimientos de ordeño como un sellado deficiente [17].

El patógeno que tuvo la prevalencia más baja en este estudio fue *E. coli*, contrario a lo que sucede en otros países donde, la producción de leche se basa en sistemas de estabulación y la mastitis en vacas lactantes y no lactantes tiene como causa frecuente esta bacteria [2]. Estudiando los patógenos en episodios repetidos de mastitis en cinco explotaciones en el estado de New York, se encontró que la prevalencia para este patógeno fluctuó entre el 18 y el 29% en vacas y novillas de primer parto [2]. Lo anterior es debido al tipo de sistema productivo en estas regiones, donde la ganadería de leche está bajo condiciones de estabulación y donde los patógenos ambientales tienen mayor oportunidad de causar IIM debido a la escasa higiene en el ambiente de las vacas.

La producción promedio de leche en el primer mes de lactancia en las vacas Holstein fue $30,6 \pm 6,5$ L y en las vacas Normando $14,5 \pm 4,3$ L. Con respecto a la producción de leche, se observó una asociación negativa con la probabilidad de IIMs. Se ha observado que la producción de leche estuvo asociada con un mayor riesgo de incidencia de IIM clínica causada por *E. coli*; no obstante, esta asociación no se observó cuando la IIM fue causada por otros patógenos [35]. En relación a la condición corporal, no se encontraron antecedentes de literatura que pudieran explicar esta asociación, pero, es conocido que una respuesta inmune más baja está directamente relacionada con un balance nutricional negativo en la vaca, especialmente durante el periparto.

Los resultados sugieren que, cuando se trata de minimizar el impacto económico de las IIM clínicas en hatos lecheros, el énfasis debe estar colocado en la reducción de la transmisión de patógenos a partir de vacas con IIM clínica a las vacas no infectadas. Todo lo anterior indicaría que, mientras a nivel mundial los programas de sanidad mamaria han disminuido la prevalencia de algunos patógenos e incluso erradicarlos en algunos países como es el caso del *S. agalactiae*, otros patógenos como los SCN han venido en aumento. En el país es fundamental educar a los ganaderos y operarios en mejorar la rutina y procedimientos de ordeño e implementar programas de prevención y control con el fin de disminuir la prevalencia de estas bacterias. Además, es importante realizar más estudios con el fin de profundizar en los factores de riesgo y fortalecer los programas de calidad de leche en nuestro medio.

CONCLUSIONES

Se observó una alta prevalencia de mastitis subclínica al secado y en las primeras cuatro semanas posparto en la zona del estudio, donde las bacterias *S. aureus*, SCN y el *S. uberis* fueron las más prevalentes, mientras que la *E. coli* fue menos prevalente. La producción de leche tuvo un efecto negativo sobre la probabilidad de infección intramamaria, indicando que una mayor producción puede disminuir la probabilidad de infección, efecto que requiere la realización de estudios posteriores. Las diferencias observadas entre lecherías, indica que la mastitis sigue siendo un problema multifactorial, donde las diferencias debidas al manejo propio de cada hato determinan la mayor o menor probabilidad de infección en las vacas.

AGRADECIMIENTO

A la Vicerrectoría de investigaciones y posgrados de la Universidad de Caldas por el soporte económico para realizar este proyecto (0182912) y a los propietarios y empleados de las empresas ganaderas donde se realizó el estudio por el apoyo y la paciencia durante esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALI, A. K. A.; SHOOK, G. E. An optimum transformation for somatic cell concentration in milk. **J. Dairy Sci.** 63: 487-490. 1980.
- [2] BAR, D.; GRÖHN, Y. T.; BENNETT, G.; GONZÁLEZ, R. N.; HERTL, J. A.; SCHULTE, H. F.; TAUER, L.; WELCOME, F. L.; SCHUKKEN, Y. H. Effect of repeated episodes of generic clinical mastitis on milk yield in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 90: 4643-4653. 2007.
- [3] BARKEMA, H. W.; DELUYKER, H. A.; SCHUKKEN, Y. H.; LAM, T. J. G. M. Quarter-milk somatic cell count at calving and at the first six milkings after calving. **Prev. Vet. Med.** 38: 1-9. 1999.
- [4] BARKER, A. R.; SCHRICK, F. N.; LEWIS, M. J.; DOWLEN, H. H.; OLIVER, S. P. Influence of clinical mastitis during early lactation on reproductive performance of jersey cows. **J. Dairy Sci.** 81: 1285 - 1290. 1998.
- [5] BREEN, J. E.; GREEN, M. J.; BRADLEY, A. J. Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom. **J. Dairy Sci.** 92: 2551-2561. 2009.
- [6] CALDERÓN, A.; RODRÍGUEZ, V. C. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). **Rev. Colomb. Cien. Pec.** 21: 582-589. 2008.

- [7] CEBALLOS, A.; RAUCH, B. J.; LOPEZ-BENAVIDEZ, M.; HEMLING, T.; SCHUKKEN, Y. Udder health and communication. **Proceedings of the international conference**. Utrecht, The Netherlands. Pp 337-342. 2011.
- [8] CEBALLOS-MARQUEZ, A.; BARKEMA, H. W.; STRYHN, H.; WICHTEL, J. J.; NEUMANN, J.; MELLA, A.; KRUZE, J.; ESPINDOLA, M. S. The effect of selenium supplementation before calving on early-lactation udder health in pastured dairy heifers. **J. Dairy Sci.** 93: 4602-4612. 2010.
- [9] COMPTON, C. W. R.; HEUER, C.; PARKER, K.; MCDOUGALL, S. Epidemiology of mastitis in pasture-grazed peripartum dairy heifers and its effects on productivity. **J. Dairy Sci.** 90: 4157-4170. 2007.
- [10] DE VISSCHER, A.; SUPRE, K.; HAESBROUCK, F.; ZADOKS, R. N.; PIESSENS, V.; VAN COILLIE, E.; PIEPERS, S.; DE VLIEGHER, S. Further evidence for the existence of environmental and host-associated species of coagulase-negative staphylococci in dairy cattle. **Vet. Microbiol.** 172: 466-474. 2014.
- [11] DE VLIEGHER, S.; FOX, L. K.; PIEPERS, S.; MCDOUGALL, S.; BARKEMA, H. W. Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease, potential impact, prevention, and control. **J. Dairy Sci.** 95: 1025-1040. 2012.
- [12] DINGWELL, R. T.; LESLIE, K. E.; SCHUKKEN, Y. H.; SARGEANT, J. M.; TIMMS, L. L.; DUFFIELD, T. F.; KEEFE, G. P.; KELTON, D. F.; LISSEMORE, K. D.; CONKLIN, J. Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period. **Prev. Vet. Med.** 63: 75-89. 2004.
- [13] DOHOO, I.; ANDERSEN, S.; DINGWELL, R.; HAND, K.; KELTON, D.; LESLIE, K.; SCHUKKEN, Y.; GODDEN, S. Diagnosing intramammary infections: Comparison of multiple versus single quarter milk samples for the identification of intramammary infections in lactating dairy cows. **J. Dairy Sci.** 94: 5515-5522. 2011.
- [14] DOHOO, I. R.; MARTIN, S. W.; STRYHN, H. Linear regression. **Veterinary Epidemiologic Research**. 2nd. Ed. VER, Incorporated. Charlottetown, Prince Edward Island, Canada. Pp 323-364. 2009.
- [15] DUFOUR, S.; DOHOO, I. R.; BARKEMA, H. W.; DESCÔTEAUX, L.; DEVRIES, T. J.; REYHER, K. K.; ROY, J. P.; SCHOLL, D. T. Manageable risk factors associated with the lactational incidence, elimination, and prevalence of *Staphylococcus aureus* intramammary infections in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 95: 1283-1300. 2012.
- [16] HALASA, T.; ØSTERÅS, O.; HOGVEEN, H.; VAN WERVEN, T.; NIELEN, M. Meta-analysis of dry cow management for dairy cattle. Part 1. Protection against new intramammary infections. **J. Dairy Sci.** 92: 3134-3149. 2009.
- [17] HOGAN, J.; SMITH, K. L. Managing environmental mastitis. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** 28: 217-224. 2012.
- [18] HOGAN, J. S.; GONZALEZ, R. N.; HARMON, R. J.; NICKERSON, S. C.; OLIVER, S. P.; PANKEY, J. W.; SMITH, K.L. Diagnostic Procedures. **Laboratory Handbook on Bovine Mastitis**. Ed. National Mastitis Council. Inc., Verona, Pp. 222. 1999.
- [19] ISMAIL, A. Q.; YEATES, D. G.; MARCIANO, A.; GOLDACRE, M.; ANTHONY, M. Cow's milk and the emergence of group B streptococcal disease in newborn babies. **Neonatology**. 100: 404-408. 2011.
- [20] KEEFE, G.; CEBALLOS, A.; JARAMILLO, M.; LONDOÑO, M.; CHAFFER, M.; TORO, M. Effects of *Streptococcus agalactiae* on the Columbian dairy industry. **3rd Int. Symp. Mastitis and Milk Quality**. St. Louis, MO. National Mastitis Council, Verona, WI, American Association of Bovine Practitioners, Auburn, AL. 22-24/09. USA. Pp 155-159. 2011.
- [21] LEIGH, J. A. *Streptococcus uberis*: A permanent barrier to the control of bovine mastitis? **The Vet. J.** 157: 225-238. 1999.
- [22] NICKERSON, S. C.; OLIVER, S. P. Review: How well have United States dairy producers adopted mastitis-control technologies for reducing herd somatic cell counts and improving milk quality? **The Profess. Anim. Scientist**. 30: 115-124. 2014.
- [23] OLDE-RIEKERINK, R. G. M.; BARKEMA, H. W.; KELTON, D. F.; SCHOLL, D. T. Incidence rate of clinical mastitis on Canadian dairy farms. **J. Dairy Sci.** 91: 1366-1377. 2008.
- [24] PANTOJA, J. C. F.; HULLAND, C.; RUEGG, P. L. Somatic cell count status across the dry period as a risk factor for the development of clinical mastitis in the subsequent lactation. **J. Dairy Sci.** 92: 139-148. 2009.
- [25] PIEPERS, S.; PEETERS, K.; OPSOMER, G.; BARKEMA, H. W.; FRANKENA, K.; DE VLIEGHER, S. Pathogen group specific risk factors at herd, heifer and quarter. **Prev. Vet. Med.** 99: 91-101. 2011.
- [26] PINEDO, P. J.; FLEMING, C.; RISCO, C. A. Events occurring during the previous lactation, the dry period, and peripartum as risk factors for early lactation mastitis in cows receiving 2 different intramammary dry cow therapies. **J. Dairy Sci.** 95: 7015-7026. 2012.
- [27] PINEDO, P. J.; MELENDEZ, P.; VILLAGOMEZ-CORTES, J. A.; RISCO, C. A. Effect of high somatic cell counts on reproductive performance of Chilean dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 92: 1575-1580. 2009.
- [28] RAMÍREZ, N.; GAVIRIA, G.; ARROYAVE, O.; BLANCA-SIERRA, B.; BENJUMEA, J. E. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia. **Rev. Colomb. Cien. Pec.** 14: 76 - 87. 2001.

- [29] RAMÍREZ, N. F.; KEEFE, G.; DOHOO, I.; SÁNCHEZ, J.; ARROYAVE, O.; CERÓN, J.; JARAMILLO, M.; PALACIO, L. G. 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: 4141-4150. 2014.
- [30] RIVERA, B.; VARGAS, J. E.; ARCILA, C. P.; MÁRQUEZ, R.; PÉREZ, J. F.; TORO, G.; MARTINEZ, J.P. Propuesta para la clasificación de sistemas de producción de leche: el caso de la zona de influencia de Manizales. **Rev. Depto. Sist. Prod.** 10: 83-103. 1999.
- [31] RODRÍGUEZ, M. G. Comportamiento de la mastitis bovina y su impacto económico en algunos hatos de la Sabana de Bogotá, Colombia. **Rev. Med. Vet.** 12: 35-55. 2006.
- [32] SANTOS, J. E. P.; CERRI, R. L. A.; BALLOU, M. A.; HIGGINBOTHAM, G. E.; KIRK, J. H. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. **Anim. Reprod. Sci.** 80: 31-45. 2004.
- [33] SCHEPERS, A. J.; LAM, T. J. G. M.; SCHUKKEN, Y. H.; WILMINK, J. B. M.; HANEKAMP, W. J. A. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. **J. Dairy Sci.** 80: 1833-1840. 1997.
- [34] SCHUKKEN, Y. H.; GONZÁLEZ, R. N.; TIKOFSKY, L. L.; SCHULTE, H. F.; SANTISTEBAN, C. G.; WELCOME, F. L.; BENNETT, G. J.; ZURAKOWSKI, M. J.; ZADOKS, R. N. Mastitis: Nothing to worry about? **Vet. Microbiol.** 134: 9-14. 2009.
- [35] SCHUKKEN, Y. H.; GROMMERS, F. J.; VAN DE GEER, D.; ERB, H. N.; BRAND, A. Risk factors for clinical mastitis in herds with a low bulk milk somatic cell count. 1. Data and risk factors for all cases. **J. Dairy Sci.** 73: 3463-3471. 1990.
- [36] SCHUKKEN, Y. H.; GÜNTHER, J.; FITZPATRICK, J.; FONTAINE, M. C.; GOETZE, L.; HOLST, O.; LEIGH, J.; PETZL, W.; SCHUBERTH, H. J.; SIPKA, A.; SMITH, D. G. E.; QUESNELL, R.; WATTS, J.; YANCEY, R.; ZERBE, H.; GURJAR, A.; ZADOKS, R. N.; SEYFERT, H. M. Host-response patterns of intramammary infections in dairy cows. **Vet. Immunol. Immunop.** 144: 270-289. 2011.
- [37] SCHUKKEN, Y. H.; WILSON, D.; WELCOME, F. L.; GARRISON-TIKOFSKY, L.; GONZALEZ, R. N. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. **Vet. Res.** 34: 579-596. 2003.
- [38] SEEGER, H.; FOURICHON, C.; BEAUDEAU, F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. **Vet. Res.** 34: 475-491. 2003.
- [39] SORDILLO, L. M. Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. **Livest. Prod. Sci.** 98: 89-99. 2005.
- [40] SUPRÉ, K.; HAESEBROUCK, F.; ZADOKS, R. N.; VANECHOUTTE, M.; PIEPERS, S.; DE VliegHER, S. Some coagulase-negative Staphylococcus species affect udder health more than others. **J. Dairy Sci.** 94: 23-40. 2011.
- [41] THORBERG, B. M.; DANIELSSON-THAM, M. L.; EMANUELSON, U.; PERSSON, W. K. Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative staphylococci. **J. Dairy Sci.** 92: 4962-4970. 2009.
- [42] TRUJILLO, C. M.; GALLEGO, A. F.; RAMÍREZ, N.; PALACIO, L. G. Prevalence of mastitis in dairy herds in eastern Antioquia. **Rev. Colomb. Cien. Pec.** 24: 11-18. 2011.
- [43] VANDERHAEGHEN, W.; PIEPERS, S.; LEROY, F.; VAN COILLIE, E.; HAESEBROUCK, F.; DE VliegHER, S. Invited review: Effect, persistence, and virulence of coagulase-negative Staphylococcus species associated with ruminant udder health. **J. Dairy Sci.** 97: 5275-5293. 2014.
- [44] 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.
- [45] ZADOKS, R. N.; VAN LEEUWEN, W. B.; KREFT, D.; FOX, L. K.; BARKEMA, H. W.; SCHUKKEN, Y. H.; VAN BELKUM, A. comparison of Staphylococcus aureus isolates from bovine and human skin, milking equipment, and bovine milk by phage typing, pulsed-field gel electrophoresis, and binary typing. **J. Clin. Microbiol.** 40: 3894-3902. 2002.
- [46] ZHAO, X.; LACASSE, P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: Causes and control. **J. Anim Sci.** 86: 57-65. 2008.