

## TEST DE CALIFORNIA PARA MASTITIS Y MICROBIOLOGÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA EN EXPLOTACIONES DE VACAS LECHERAS

Cerqueira, J.O.L.<sup>1,2</sup>, Cruz, A.F.S.<sup>1</sup>, Correia, J.F.V.B.<sup>3</sup>, Blanco-Penedo, I.<sup>4</sup>, Cantalapiedra J.<sup>5</sup>, Araújo, J.P.<sup>1,6</sup>

<sup>1</sup>Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal. Email: [cerqueira@esa.ipv.pt](mailto:cerqueira@esa.ipv.pt). <sup>2</sup>Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV) - UTAD, 5000-801 Vila Real, Portugal. <sup>3</sup>Cooperativa Agrícola Vila do Conde, R. da Lapa, nº293, 4480-757 Vila do Conde, Portugal. <sup>4</sup>Subprograma Bienestar Animal, IRTA, Monells, Girona, España. <sup>5</sup>Servicio de Ganadería de Lugo. Xunta de Galicia, España. <sup>6</sup>Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA - IP Viana do Castelo.

### INTRODUCCIÓN

El Test de California para la detección de mastitis (TCM) es un método indirecto que permite estimar la cantidad de ácido desoxirribonucleico (ADN) de las células nucleadas en la leche. El reactivo del TCM es un detergente con indicador de pH que, al mezclarse con la leche en partes iguales, disuelve las paredes celulares y nucleares de los leucocitos presentes, liberando el material nuclear. El ADN libre forma una masa gelatinosa que aumenta de consistencia proporcionalmente al número de leucocitos presentes en la leche (Mellenberger, 2001). Se considera un método fiable para determinar la mastitis subclínica de una forma rápida durante el ordeño (Ruegg, 2003). Esta prueba tiene una alta correlación con el recuento de células somáticas en la ubre, siendo un excelente indicador de los cuartos sospechosos de la ubre en las vacas con descargas celulares (Divers y Peek, 2008). Las mastitis de origen bacteriano se clasifican en contagiosas y ambientales teniendo en cuenta el agente causal presente. Los agentes contagiosos más comúnmente aislados en la mastitis son el *Staphylococcus aureus* y el *Streptococcus agalactiae*. El principal reservorio de estos patógenos es la ubre de un animal infectado, y las infecciones se extienden entre las vacas durante el ordeño a través del equipo contaminado, manos de los operarios o los paños de limpieza. Los microorganismos ambientales son considerados agentes oportunistas que causan generalmente mastitis transitorias, aunque pueden ocasionar casos clínicos severos. Los agentes ambientales de mayor relevancia son los estreptococos y los coliformes. La principal fuente de agentes ambientales se sitúan en las camas de los animales y áreas de pastoreo. Normalmente la mastitis ambiental se presenta en forma clínica y se caracteriza como una infección corta, que se acompaña de una caída repentina de la producción de leche, que incluso en casos severos puede conducir a la muerte del animal (Tomazi y Santos, 2012). El objetivo del presente estudio fue detectar la presencia de infección en la ubre de las vacas a través del TCM y en los cuartos positivos hacer la recogida de muestras de leche para la identificación de los agentes bacterianos.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en 26 granjas lecheras de raza Frisona, situadas en el norte de Portugal. Se realizaron 1069 TCM, aplicando la metodología publicada por Ruegg (2003), que valora en una escala de 5 puntuaciones: 0, T, 1, 2 y 3, la reacción visible después de mezclar cantidades iguales de leche y reactivo. Se recogieron muestras de leche de todos los cuartos mamarios que obtuvieron clasificación positiva al TCM. En la recogida fueron adoptados los procedimientos adecuados para reducir al máximo la contaminación. Las muestras se acondicionaron en recipientes isotermos refrigerados con termoacumuladores y se transportaron al laboratorio de la Cooperativa Agrícola de Vila do Conde, donde permanecieron en el frigorífico hasta su análisis microbiológico. El tratamiento estadístico de los datos fue realizado utilizando los programas Microsoft Excel 2013 y SPSS para Windows, versión 22.0.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del total de los 1069 TCM realizados, el 92% de los cuartos de la ubre resultaron negativos y sólo el 8% de los cuartos se consideraron infectados. En las clasificaciones de TCM se verificaron ligeras diferencias entre los cuartos mamarios, aunque los valores más altos se observaron en los grados 2 y 3 para los cuartos posteriores (Tabla 1). En la clasificación de agentes bacterianos, se encontró que el microorganismo que aparecía con mayor frecuencia (14,2%) en las muestras totales recolectadas fue el *Staphylococcus coagulasa negativo*. Los

agentes bacterianos que resultaron más comunes fueron el *Streptococcus uberis* (15,2%), el *Corynebacterium spp* (11,9%) y el *Streptococcus spp* (10,0%). Se aprecia también una frecuencia de 18,6% de las muestras recolectadas con cultivo negativo (Tabla 2). Para Tomazi y Santos (2012), los agentes infecciosos más comúnmente aislados de la mastitis son el *Staphylococcus aureus* y el *Streptococcus agalactiae*, mientras que en nuestro estudio predominaron los *Staphylococcus coagulasa negativo* (17,4%), y el *Staphylococcus aureus* con una incidencia del 8,7% de los aislamientos. La mayoría de los agentes bacterianos se clasificaron en el grupo ambiental (79,1%), y el resto en el contagioso (20,9%) (Tabla 3). Los agentes bacterianos contagiosos y ambientales más frecuentes aislados fueron el *Corynebacterium spp* (11,9%) y el *Staphylococcus coagulasa negativo* (17,4%), respectivamente. Aires (2010), al realizar una caracterización de los principales agentes microbianos responsables de la aparición de la mastitis en 5 explotaciones de Entre Douro e Minho también identificaron como los agentes predominantes el *Staphylococcus coagulasa negativo* (32%) y el *Streptococcus spp*, con una frecuencia del 9,2%, muy similar al valor obtenido en este estudio, que fue del 10%. Para este autor cerca del 25% de las muestras dieron lugar a cultivos negativos, mientras que en nuestro caso fue del 18,6%. Bexiga et al. (2005) obtuvieron un porcentaje promedio de cuartos afectados del 15% en 12 granjas lecheras en el Alentejo, con valores superiores a nuestro estudio que fueron del 8%. Sin embargo los agentes patógenos *Staphylococcus coagulasa negativo* y el *Staphylococcus aureus* mostraron resultados bastante similares al presente estudio en relación de 18,1% vs 14,2% y 7,8% vs 7,1% respectivamente. Teniendo en cuenta la alta frecuencia de agentes ambientales encontrados en este estudio se recomendaría a los productores una mayor higiene en las camas de los animales, así como una correcta desinfección de la ordeñadora. Para la disminución de la mastitis ambiental es importante también que los productores realicen un ordeño limpio en un ambiente seco, así como controlar los lugares donde las vacas permanecen durante el secado, ya que este tipo de mastitis aparecen en esta etapa (Tomazi y Santos, 2012).

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aires, T.A.C.P., 2010. Tese de Mestrado em Medicina Veterinária, UTL, Portugal, 87pp.
- Bexiga, R., Cavaco, L.M., Vilela, C.L., 2005. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, 100: (553-554) 39-44.
- Divers, T.J., Peek, A.F., 2008. "Diseases of Body Systems" in Rebhun's Diseases of dairy cattle, 2ª Ed, Elsevier, 358: 378-386.
- Mellenberger, R., 2001. California Mastitis Test (CMT), an invaluable tool for managing mastitis; Dept of Animal Sciences, Michigan State University.
- Ruegg, P., 2003. Food Animal Practice, 19(1): 47-74.
- Tomazi, T., Santos, M.V., 2012. Site disponível em: <http://www.milkpoint.com.br> consultado em 29 de junho de 2016.

**Agradecimientos:** A los productores de leche que participaron en este estudio. Este estudio ha sido realizado gracias a los proyectos del CECAV UID/CVT/00772/2013 y UID/CVT/00772/2016, financiados por Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT), para el trienio 2015-2017.

**Tabla 1. Frecuencia de resultados del TCM en las explotaciones en estudio (%)**

Puntuación del TCM	PD	PI	AD	AI	TOTAL
0	22,8	22,7	23,0	23,5	92,0
T	0,2	0,2	0,3	0,2	0,9
1	0,7	0,8	0,8	0,7	3,0
2	0,8	0,5	0,6	0,3	2,1
3	0,5	0,8	0,4	0,3	2,0

Posición de los pezones: PD - Posterior derecho; PI - Posterior izquierdo; AD - Anterior derecho y AI - anterior izquierdo

**Tabla 2. Identificación de los agentes bacterianos y respectivas frecuencias**

Agente bacteriano	Frecuencia de las muestras (%)	Frecuencia de los aislamientos (%)
<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	14,2	17,4
<i>Streptococcus uberis</i>	12,3	15,2
<i>Corynebacterium spp</i>	9,7	11,9
<i>Streptococcus spp</i>	8,1	10,0
<i>Staphylococcus spp</i>	7,9	9,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,1	8,7
<i>Escherichia coli</i>	7,1	8,7
Levaduras	5,0	6,1
<i>Enterobacteriaceae</i>	4,7	5,8
Otras bacterias	5,2	6,5
Cultivo negativo	18,6	-

**Tabla 3. Agrupamiento de los agentes bacterianos por tipología de contagiosos y ambientales**

Microorganismos contagiosos	Frecuencia de aislamiento (%)	Microorganismos ambientales	Frecuencia de aislamiento (%)
<i>Corynebacterium spp.</i>	11,9	<i>Staphylococcus coag. neg.</i>	17,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,7	<i>Streptococcus uberis</i>	15,2
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	0,3	<i>Staphylococcus spp</i>	10,0
		<i>Streptococcus spp</i>	9,7
		<i>Escherichia coli</i>	8,7
		Levaduras	6,1
		<i>Enterobacteriaceae</i>	5,8
		<i>Enterococcus faecalis</i>	1,0
		<i>Bacillus spp</i>	1,0
		<i>Proteus spp</i>	1,0
		<i>Prototheca spp</i>	1,0
		<i>Pasteurella spp</i>	0,6
		Fungos	0,6
		<i>Actinomyces pyogenes</i>	0,6
		<i>Klebsiella spp</i>	0,3
<b>Total</b>	20,9		79,1

### CALIFORNIA MASTITIS TEST AND MICROBIOLOGY OF THE MAMMARY GLAND IN FARMS OF DAIRY COWS

**ABSTRACT:** The California Mastitis Test (CMT) is a rapid, accurate, cow-side test to help determine somatic cell counts (SCC) in a specific cow to sample individual quarters. The test was developed to determine the presence of subclinical mastitis. Despite the high reliability and efficiency for the implementation of programs to improve the quality of raw milk, it was only carried out by 15.4% of the producers of the present study. From the total TCM performed, it was observed that 92% were negative, which demonstrated high level of udder health of the herds under study. In the bacterial identification of the samples, it was verified that the majority were in the group of environmental agents (79.1%), being more frequent the *Staphylococcus coagulase negative* (17.4% of isolates) and the *Streptococcus uberis* (15.2% of isolates).

**Keywords:** Dairy cows, California Mastitis Test, contagious microorganisms, environmental microorganisms.