

Artículo de investigación

Microorganisms isolated in bacteriological culture from milk samples from clinically healthy holstein cows*Microorganismos aislados en cultivo bacteriológico de muestras de leche de vacas holstein clínicamente sanas**Microrganismos isolados em cultivo bacteriológico de amostras do leite de vacas holandesas clinicamente saudáveis*Juliana Colorado Jaramillo^{1,3}, IA MSc, [CVLAC](#); José Julián Echeverri Zuluaga², Zoot, MSc, Drsci, [CVLAC](#); Martha Olivera Angel³, Mv, MSc, Dr. Sci Agr, [CVLAC](#); Albeiro López-Herrera^{4*}, Zoot, Mv, MSc, Dr. Sci, [CVLAC](#)**Fecha correspondencia:**

Recibido: 21 de julio de 2017.

Aceptado: 23 de febrero de 2018.

Forma de citar:

Colorado Jaramillo J, Echeverry Zuluaga JJ, Olivera-Angel M, López-Herrera A. Microorganismos aislados en cultivo bacteriológico de muestras de leche de vacas holstein clínicamente sanas. Rev. CES Med. Zootec. 2018; Vol 13 (1): 31-41.

Open access© CopyrightCreative commonsEthics of publicationsPeer reviewOpen Journal SystemDOI: [http://dx.doi.org/10.21615/](http://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.13.1.3)[cesmvz.13.1.3](#)

ISSN 1900-9607

Filiación:* Autor para correspondencia:
Albeiro López-Herrera, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Medellín- Colombia Calle 59A No. 63-20, Bloque 50 oficina 305. Fax 4309025.

Comparte

**Abstract**

A microbiological analysis was performed to determine the frequency of isolation of microorganisms of infectious and environmental type in milk from a group of clinically healthy cows in two different types of milking (manual and mechanical). To each sample of milk was made bacteriological culture to determine the presence of microorganisms. Of 289 milk samples evaluated, 193 (66.78%) were positive for isolation of any type of pathogen, of which 81 (28.02%) samples came from manual milking and 112 (38.75%) belonged to mechanical milking, finding a higher percentage of isolation of bacterial pathogens in milks coming from mechanical milking system ($p = 0.0236$). The most isolated pathogen was the *Arcanobacterium haemolyticum*, A microorganism that forms part of the saprophytic flora of the animal, with an individual presence in 20.14% and in coinfection with other pathogens in 0.7% of the samples. The most common microorganism of subclinical mastitis in cattle is *Streptococcus agalactiae*, which in the present study was isolated from 12.50% of milk samples. The odds ratio (OR) between the isolation of *Streptococcus agalactiae* and the Somatic Cell Score (SCS) was determined, which was statistically significant, indicating that when this pathogen is present the SCS increases and the animals are more susceptible to mastitis.

Keywords: *holstein cows, microbiological culture, milking type, odd ratio (OR), somatic cell score (SCS), subclinical mastitis.*

Resumen

El objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de aislamiento de microorganismos de tipo infeccioso y ambiental en leche de un grupo vacas clínicamente sanas en dos diferentes tipos de ordeño. Para ello se utilizaron muestras de leche de 289 vacas ubicadas en hatos de cuatro municipios del Norte del departamento de Antioquia en diferentes sistemas de ordeño (manual y mecánico), a cada muestra de leche se le hizo cultivo bacteriológico para determinar la presencia de microorganismos. De 289 muestras de leche evaluadas, 193 (66,78%) fueron positivas para aislamiento de cualquier tipo de patógeno (ocho diferentes patógenos

¹ Grupo de Investigación Biodiversidad y Genética Molecular (Biogem). Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Medellín- Colombia. jcoloradoj@unal.edu.co.

² Grupo de Investigación Biodiversidad y Genética Molecular (Biogem). Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Medellín- Colombia. jjecheve@unal.edu.co.

³ Grupo de Investigación Biogénesis. Universidad de Antioquia, Sede Medellín. Medellín- Colombia. martha.olivera@udea.edu.co.

⁴ Grupo de investigación Biodiversidad y Genética Molecular (Biogem). Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín. Medellín- Colombia.

aislados), de las cuales 81 (28,02%) muestras provenían de ordeño manual y 112 (38,75%) pertenecían a ordeño mecánico, encontrando un mayor porcentaje de aislamiento de patógenos bacterianos en muestras de leche provenientes de sistema de ordeño mecánico ($p=0,0236$). El patógeno de mayor aislamiento fue el *Arcanobacterium haemolyticum* (antes clasificado como *Corinebacterium sp*), microorganismo que hace parte de la flora saprófita del animal, con presencia de manera individual en el 20,14% de las muestras analizadas y en confección con otros patógenos en 0,7% de las muestras. El microorganismo que siempre se reporta como mayor productor de mastitis subclínica en bovinos es el *Streptococcus agalactiae*, un patógeno infeccioso, que en el presente estudio se aisló del 12,50% de las muestras de leche. Se determinó el Odds ratio (OR), entre aislamiento de *Streptococcus agalactiae* y Score de Células somáticas (SCS) que fue estadísticamente significativo, indicando que cuando está presente este patógeno el SCS aumenta y los animales son más susceptibles a padecer mastitis.

Palabras clave: cultivo microbiológico, mastitis subclínica, "Odd ratio" (OR), "score" de células somáticas (SCS), tipo de ordeño, vacas holstein.

Resumo

O objetivo deste estudo foi determinar a frequência de isolamento de microorganismos de tipo infecciosos e ambiental no leite de um grupo de vacas clinicamente saudáveis em dois diferentes tipos de ordenha. Para este fim utilizaram-se amostras do leite de 289 vacas localizadas em rebanhos de quatro municipalidades do Norte de Antioquia com dois tipos diferentes de ordenha (manual e mecânica), a cada amostra do leite foi feito um cultivo bacteriológico para determinar a presença de microorganismos. De 289 amostras do leite avaliadas, 193 (66,78%) foram positivas para o isolamento de qualquer tipo de agente patogênico (oito diferentes agentes patogênicos isolados), das quais 81 (28,02%) amostras eram de ordenha manual e 112 (38,75%) foram de ordenha mecânica, encontrando uma maior percentagem de isolamento dos agentes patogênicos bacterianos nos leites provenientes do sistema de ordenha mecânica ($p = 0,0236$). O agente patogênico mais isolado foi *Arcanobacterium haemolyticum* (*Corinebacterium sp*), microorganismo que faz parte da flora saprófita do animal, presentes individualmente em 20,14% das amostras analisadas, e em relação com outros agentes patogênicos o 0,7% das amostras. O microorganismo que sempre se reporta como o maior produtor de mastite subclínica em gado é o *Streptococcus agalactiae*, um agente patogênico infeccioso, que neste estudo foi isolado no 12,50% das amostras do leite. Foi determinado o Odds ratio (OR) entre o isolamento de *Streptococcus agalactiae* e Pontuação das células somáticas (SCS), e foi estatisticamente significativo, indicando que quando o agente patogênico está presente, o SCS aumenta e os animais são mais susceptíveis à mastite.

Palavras-chave: cultivo microbiológico, mastite subclínica, "Odd ratio" (OR), pontuação das células somáticas (SCS), tipo de ordenha, holandesa.

Introducción

Los sistemas ganaderos de producción especializada de leche a nivel mundial, se ven afectados en el componente productivo por la presentación de la mastitis subclínica bovina, ya que es una de las enfermedades que impacta negativamente sobre la productividad de los hatos lecheros, en consideración al elevado costo en los tratamientos médico veterinario y a la disminución del nivel productivo (Hansen et al., 2004). La mastitis bovina subclínica, se caracteriza por no presentar signos clínicos visibles en

el animal, pero si disminución en la producción láctea y un conteo elevado de células somáticas (Hillerton *et al.*, 2005).

Las bacterias causantes de la mastitis bovina pueden ser clasificadas como patógenos mayores y menores de la glándula mamaria. Los patógenos mayores incluyen *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Actinomyces pyogenes*, y las enterobacterias *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp y *Enterobacter* spp., los cuales son contagiosos y las bacterias consideradas ambientales como *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus uberis*. Los patógenos menores incluyen *Mycoplasma*, *Pasteurella*, *Nocardia*, *Listeria*, y algunos hongos y levaduras (Archbald, 1999).

Los patógenos que incluyen *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium* spp (actualmente clasificado como *Arcanobacterium* spp) y *Mycoplasma* spp (Pellegrino *et al.*, 2011) son microorganismos transmitidos de vaca a vaca a través de las manos del ordeñador, las toallas de secado utilizadas para limpiar los pezones, la leche residual en las pezoneras o un equipo de ordeño con inadecuada desinfección que alberga los patógenos, es decir, se transmiten estos patógenos como consecuencia de una mala rutina de ordeño (Radostits *et al.*, 2002). Las bacterias que ocasionan con mayor frecuencia mastitis subclínica son *Streptococcus agalactiae* (Keefe y Chaffer, 2010), los *Staphylococcus* (Taponen y Pyorala, 2009), como *Staphylococcus coagulasa* negativos (ECN) (Thorberg *et al.*, 2009), *Staphylococcus coagulasa* positivos (ECP) (Fox, 2009) y *Staphylococcus aureus* (Taponen y Pyorala, 2009).

La mastitis subclínica afecta el estado de la salud de la ubre que, para la industria láctea, es medida en la cantidad de células somáticas (RCS) de la leche, que se traduce en productos de menor calidad, menor tiempo de vida en anaquel y el acceso restringido a mercados internacionales con estándares más exigentes (Gasque y Blanco, 2001). La presente investigación tuvo como objetivo determinar las principales bacterias presentes en muestras de leche en dos sistemas de ordeño de vacas de la raza holstein con mastitis subclínica.

Materiales y métodos

Localización y población de estudio

Se evaluaron un total de 289 muestras de leche de vacas clínicamente sanas (138 provenientes de ordeño manual y 151 de ordeño mecánico), distribuidos en 11 hatos de cuatro municipios pertenecientes a la subregión Norte del departamento de Antioquia (Don Matías, San José de la Montaña, Santa Rosa y Yarumal; [Tabla 1](#)). El criterio de selección de los hatos incluidos, se relacionó con que las vacas tuvieran un nivel de RCS por encima de 300.000/ml en los controles lecheros realizados en los dos meses anteriores.

Tabla 1. Municipios y porcentaje de los animales muestreados

Municipio	Porcentaje	Frecuencia	Manual	Mecánico
San José de la Montaña	49,48	143	85	58
Don Matías	22,84	66	30	36
Yarumal	18,34	53	23	30
Santa Rosa de Osos	9,34	27	0	27
Total	100	289	138	151

Toma de las muestras de leche

Previo lavado y desinfección, el personal encargado realizó el despunte de cada cuarto, posteriormente se realizó desinfección de cada pezón con alcohol etílico al 70% empleando un copo de algodón por cuarto. La limpieza y el muestreo de la leche contenida en los pezones se realizaron en el sitio de ordeño. Luego, de la leche muestreada de cada animal, se procedió a tomar 30 ml de leche como pool de los cuatro cuartos, que se depositó en un recipiente de plástico, estéril debidamente marcado, se refrigeró y se llevó al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia. Además, a cada vaca se le tomó una muestra de leche con el conservante Bronopol® para recuento de células somáticas.

Cultivo bacteriológico de leche

Para la caracterización de los patógenos bacterianos implicados en el desarrollo de la mastitis bovina, se siguió el protocolo interno del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia. Brevemente, las bacterias se identificaron por tinción de Gram y posteriormente se efectuaron pruebas confirmatorias. A los cocos Gram positivos se les efectuó la prueba de la catalasa para diferenciar los estreptococos de los estafilococos. Si se observaban Cocos Gram Positivos y la catalasa es positiva se realizaba la prueba de la coagulasa, si la prueba era positiva se reportaba como *Staphylococcus aureus*, si por el contrario, era negativa se reportaba como *Staphylococcus coagulasa* negativa. Cuando en el Gram se observaban Bacilos Gram Positivos en empalizada compatibles con *Corynebacterium spp*, y se le realizaba identificación por medio del Kit BBL Crystal™ para la identificación (ID) de bacterias gram-positivas (GP). Muestras de leche con aislamiento de tres o más patógenos fueron clasificadas como contaminadas y no se tuvieron en cuenta para los análisis estadísticos

Determinación del recuento de células somáticas (RCS) y conversión a score de células somáticas (SCS)

Una muestra de 30 ml de leche de cada vaca fue enviada al Laboratorio de calidad e inocuidad de la leche la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia. El análisis, se realizó mediante el uso de equipos con tecnología Combifoss™ para RCS, los cuales fueron calibrados bajo metodologías internacionales de referencia AOAC 986.33, BS ISO 21187 (IDF 196, 2004), para bacterias mesófilos aerobias y la ISO 13366-1, 2008 (IDF 148-1, 2008), para células somáticas. El RCS determinado en cada muestra fue transformado a una escala lineal para obtener el puntaje de células somáticas (SCS) de 1 a 10, mediante una transformación logarítmica, según la expresión $\text{Log}_2(\text{RCS}/100000)+3$, de acuerdo con lo descrito por [Dabdoub y Shook \(1984\)](#).

Análisis estadístico

Se utilizaron tablas de frecuencia para presentar el número de animales positivos y negativos al aislamiento de cualquier patógeno, para el número de hatos muestreados por municipio y para el número de animales muestreados en cada uno de los tipos de ordeño (manual y mecánico).

Para determinar la asociación del alto o bajo SCS con la presencia o ausencia de patógenos (cualquier tipo de patógeno obtenido en las muestras de cultivo microbiológico o el patógeno de mayor reporte en mastitis subclínica *Streptococcus agalactiae*) se determinó el intervalo de confianza y el ODDS Ratio (OR), a través de una regresión logística [Cerdeira et al., \(2013\)](#).

El Chi-cuadrado se utilizó para determinar si el OR era estadísticamente significativo ($P < 0,05$). El análisis estadístico se realizó en el programa SAS® versión 9.2 para Windows (SAS Institute Inc, Cary NC, USA) 2009.

Resultados

Cultivo y aislamiento de microorganismos

Se realizaron cultivos microbiológicos de 289 muestras de leche procedentes de pool de los cuatro cuartos, cuyos resultados se presentan en la tabla 2. Del total de las muestras el 29,86% no presentó crecimiento bacteriano y el 3,47% fueron clasificadas como muestras contaminadas (más de tres patógenos aislados) datos que se eliminaron de los análisis de acuerdo a los lineamientos de la National Mastitis Council (N.M.C., 1999). La bacteria más frecuentemente aislada fue *Arcanobacterium haemolyticum* con un 20,14% de manera individual y un 0,7% en coinfecciones. El *Staphylococcus coagulasa negativa* ocupó el segundo lugar de aislamiento con presencia en el 17,36% de las muestras de forma individual y en el 1,04% en coinfecciones, seguido de *Streptococcus agalactiae* en el 12,50% individualmente y 1,38% en coinfecciones y en cuarto lugar el *Staphylococcus aureus* en el 10,42% en aislamientos solo y 1,04% en coinfección; la totalidad de las coinfecciones se presentaron en muestras de leche provenientes de ordeño mecánico (Tabla 2).

Tabla 2. Patógenos encontrados en los análisis microbiológicos de muestras de leche procedentes de vacas con mastitis subclínica.

Patógeno	Ordeño manual	Ordeño mecánico	Frecuencia	%
No se aislaron bacterias	36	50	86	29,86
Muestra Contaminada (más de tres patógenos)	7	3	10	3,47
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	13	45	58	20,14
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	27	23	50	17,36
<i>Streptococcus agalactiae</i>	25	11	36	12,50
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	18	30	10,42
<i>Streptococcus uberis</i>	0	5	5	1,73
<i>Enterococcus spp</i>	1	3	4	1,39
<i>Yersinia spp</i>	1	1	1	0,70
<i>Enterobacter spp</i>	0	1	1	0,35
<i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	0	1	1	0,35
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i> - <i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	0	1	1	0,35
<i>Enterococcus Salmonella spp</i>	0	1	1	0,35
<i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Streptococcus agalactiae</i>	0	2	2	0,69
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i> - <i>Streptococcus agalactiae</i>	0	2	2	0,69
Total	122	167	289	100

Luego de tener los datos de aislamiento bacteriano en las 289 muestras de leche, se hizo un análisis de la distribución de los cuatro patógenos de mayor aislamiento (individual) en las muestras de leche en los dos sistemas de ordeño evaluados, que son 174 de las 289 muestras y se presenta en la tabla 3. Como se observa *Arcanobacterium*

haemolyticum y *Staphylococcus aureus* se presentaron en mayor proporción en salas de ordeño mecánico, mientras que *Staphylococcus coagulasa negativa* y *Streptococcus agalactiae* se aislaron en mayor proporción en salas de ordeño manual.

Tabla 3. Patógenos en mayor proporción encontrados en la muestra de cultivo microbiológico y su proporción en cada tipo de ordeño (manual, mecánico)

Patógeno	Ordeño manual	Ordeño mecánico	TOTAL
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	13	45	58
<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	27	23	50
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	18	30
<i>Streptococcus agalactiae</i>	25	11	36
Total	77	97	174

Presencia de la infección según el sistema de ordeño

La infección por cualquier tipo de patógeno aislado en las muestras de leche en los dos tipos de ordeño tiene una diferencia estadística significativa con un valor ($p=0,0236$), presentándose mayor porcentaje de aislamiento de patógenos bacterianos en muestras de leche proveniente de sistemas de ordeño mecánico.

Cuando se aisló *Streptococcus agalactiae* se determinó mayor porcentaje de repetición para este patógeno en sistemas de ordeño manual ($p=0,0046$)

Asociación del SCS con la presencia o ausencia de patógenos por medio de los ODSS RATIO (OR)

Inicialmente se determinó el OR entre SCS y la presencia o ausencia de patógenos (Tabla 4) y se observó que cuando no hay aislamiento de patógenos en la muestra de leche el SCS es bajo ($p < 0,0001$), mientras que el OR no fue estadísticamente significativo cuando hubo aislamiento de patógenos.

Tabla 4. SCS y asociación con aislamiento o coaislamiento de patógenos.

Patógenos	OR	95% Límites de confianza	Pr > ChiSq
NO se aislaron bacterias	1,790	1,119 - 2,863	<0,0001**
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	0,933	0,554 - 1,573	0,0195
<i>Enterobacter spp</i>	0,147	0,005 - 4,632	0,5473
<i>Enterococcus Salmonella sp</i>	0,023	<0,001 - 0,839	0,0959
<i>Enterococcus spp</i>	0,272	0,037 - 2,000	0,7012
<i>Streptococcus spp</i>	1,046	0,344 - 3,179	0,0987
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0,499	0,268 - 0,930	0,5593
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,812	0,409 - 1,613	0,0882
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	1,348	0,746 - 2,435	0,0017
<i>Staphylococcus aureus-</i> , <i>Sptreptococcus agalactiae</i>	0,149	0,013 - 1,718	0,4069
<i>Staphylococcus coagulasa negativa -</i> <i>Streptococcus agalactiae</i>	0,296	0,026 - 3,376	0,8044
<i>Staphylococcus aureus- Corynebacterium</i>	0,147	0,005 - 4,632	0,5473

** $p < 0,001$

En la (Tabla 5) se ilustran las asociaciones entre SCC y el aislamiento de *Streptococcus agalactiae*, se encontró un OR significativo y positivo, es decir que el valor de SCS aumenta significativamente en presencia de este patógeno ($p=0,0155$).

Tabla 5. SCS y su asociación con la ausencia o presencia de *Streptococcus agalactiae*

<i>Streptococcus agalactiae</i>	OR	95% Límites de confianza	Pr > ChiSq
Ausencia	1,117	0,811 - 1,538	0,0220*
Presencia	0,502	0,270 - 0,933	0,0155*

* $p < 0.05$

Discusión

Los hallazgos del trabajo en relación al porcentaje de muestras sin aislamiento (29,86%) es mayor al encontrado en el reporte de [Gasque y Blanco \(2001\)](#), quien halló el 10% cuando la leche es sembrada en agar sangre; las razones que argumentan los autores indican que esto se presenta porque las bacterias son eliminadas intermitentemente, porque la bacteria fue inactiva por los mecanismos de respuesta inmune del hospedero, por bajas concentraciones de patógenos o por efectos de tratamiento antibiótico ([Gasque y Blanco, 2001](#)) que también es mayor al encontrado por [Ramírez et al. \(2011\)](#), quien encontró el 23,9% de muestras negativas, en muestras de leche analizadas con la prueba de Prueba de Mastitis California CMT positivo.

Teniendo en cuenta que las muestras de leche de la presente investigación provenían de hatos que tuvieron vacas que presentaron altos recuentos de células somáticas en dos controles lecheros anteriores y sin tratamientos antibióticos reportados, entonces se puede determinar que el no aislamiento es resultado de la eliminación intermitente del patógeno o que en realidad las vacas ya hubiesen expresado respuesta positiva por acción del sistema inmune, como lo reportan [Clavijo et al. \(2002\)](#) quienes informaron que el análisis microbiológico de la leche no garantiza, con total confiabilidad el aislamiento de bacterias, debido a que los animales con mastitis subclínica pueden eliminar al microorganismo causante de manera intermitente durante la lactancia, así como el uso de antibióticos, presencia de leucocitos y un alto contenido de células somáticas en la leche que inhiben el crecimiento bacteriano *in vitro*.

El patógeno de mayor frecuencia de aislamiento en el presente estudio fue *Arcanobacterium haemolyticum* con presencia en el 20,84% de las muestras evaluadas y los hallazgos superan en porcentaje al señalado por [Calderón et al., \(2008 y 2010\)](#) quienes lo aislaron en un 8,44 % y 2.10% de las muestras respectivamente, pero es menor con respecto a lo encontrado por [Reyes et al., en el 2005](#), quienes identificaron este patógeno en un 24% de las muestras leche de vacas sometidas a ordeño manual en Venezuela.

En cuanto a la bacteria *Staphylococcus coagulasa negativa* [Ramírez et al., \(2001 y 2011\)](#) la aislaron en un 14,6% y 10,2% de las muestras de leche evaluadas respectivamente, mientras que [Calderón et al. \(2008 y 2010\)](#) lo encontraron en un 11,75% y un 0,3%, respectivamente. Los resultados de estas cuatro investigaciones son menores que los encontrados en la presente pesquisa por ser menor el porcentaje de aislamiento (18,4%). De otro lado [Trujillo et al. \(2001\)](#) y [Leal et al. \(2010\)](#) encontraron un 23% la positividad para *Staphylococcus coagulasa negativa* en muestras de leche en dos estudios aislados, resultados mayores a los encontrados en esta investigación.

El patógeno *Streptococcus agalactiae* que se aisló en un 13,8% en esta investigación fue menos frecuente que los hallazgos de [Cardona et al., en el \(2016\)](#) determinados en mastitis clínicas (31%). Otros estudios de muestras de leche aparentemente normal han sido contradictorios en sus hallazgos respecto [Ramírez et al., \(2001\)](#), donde aisló *Streptococcus agalactiae* en el 47%, mientras [Reyes et al., en el 2005](#), obtuvo un 20 % en las muestras evaluadas y [Pérez et al., \(2008\)](#) reportó un 62,5% en sistema de ordeño manual. [Leal et al.](#), en el 2010 encontraron una incidencia del 26 % y [Ramírez et al., \(2011\)](#) evaluaron cultivos bacteriológicos de leche encontrando un 34% de animales positivos a *Streptococcus agalactiae*.

De otro lado varios investigadores han encontrado porcentajes de positividad a *Streptococcus agalactiae* menores a los determinados en esta investigación, como [Aponte et al., \(2007\)](#) que hallaron esta bacteria en el 9% de las muestras, y [Calderón et al., \(2008\)](#), la hallaron en un 6,84% de sus muestras. Este patógeno no ha tenido un comportamiento de aumento o disminución a través de las investigaciones reportadas en los diferentes periodos, pero se debe recalcar que en el presente estudio ocupó el tercer lugar de aislamientos, precedido por *Arcanobacterium haemolyticum* y *Staphylococcus coagulasa negativa*, patógenos que parecen estar aumentando su presencia en leche de vacas clínicamente sanas.

El patógeno *Staphylococcus aureus* en este estudio se aisló en un 11,46% de las muestras de leche proveniente de hatos lecheros ubicados en la subregión norte del departamento de Antioquia con predominio de vacas de raza holstein del; resultados similares a los obtenidos por [Pérez et al., \(2008\)](#) que hallaron la bacteria en un 12,5% de sus muestras provenientes del sistema de ordeño manual. Pero los valores de positividad para *Staphylococcus aureus* del presente estudio son bajos, comparados con los estudios de San Martín et al., en el 2002 quienes encontraron en Chile una positividad del 55,53%, [Calderón et al., \(2008\)](#) que aislaron en el 29,09% de sus muestras y valores superiores de aislamiento de *Staphylococcus aureus*, similar a los de [Calderón et al., en el 2011](#) donde hallaron un 87,56 % en las muestras de leche evaluadas.

Todas las coinfecciones en este trabajo se presentaron en muestras de leche provenientes de sistemas de ordeño mecánico con valores menores al 1%, resultados similares a los que encontró [Calderón et al \(2008\)](#) en 2.854 vacas en producción de leche en el altiplano Cundiboyacense (Colombia) obteniendo infecciones mixtas del 1,2%.

Un hallazgo que se debe resaltar de la presente investigación es que el SCS es bajo en muestras de leche en la que no se aísla ningún patógeno bacteriano, y este SCS aumenta significativamente cuando está presente el *Streptococcus agalactiae* en la muestra de leche.

Según los resultados obtenidos en el presente estudio, hay mayor porcentaje de hatos con empleo de ordeño manual sin aislamiento bacteriano (32,14% en ordeño manual vs. 29,94% en ordeño mecánico) y hay menor porcentaje de aislamiento de cualquier patógeno en muestras de leche proveniente de vacas sujetas a sistemas de ordeño manual (68,26% ordeño manual vs. 76,78% en ordeño mecánico), resultados contradictorios a lo que se esperaba, ya que siempre se ha pensado que tiene mejor estatus sanitario la leche de vacas que se obtiene empleando ordeño mecánico.

Conclusiones

Se encontró que un 30% de las muestras de leche analizadas fueron negativas para aislamiento de bacterias. En los dos tipos de ordeño se aislaron *Arcanobacterium*

haemolyticum, *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* con mayor proporción en el sistema de ordeño mecánico. *Arcanobacterium haemolyticum* y *Staphylococcus aureus* se presentan con mayor frecuencia en ordeño mecánico y el *Streptococcus agalactiae*, se presenta con mayor incidencia en ordeño manual.

Declaración de no conflicto de interés

Los autores del artículo, declaramos no tener ningún tipo de conflicto de intereses, ni ninguna relación económica, personal, política, interés financiero ni académico que pueda influir en nuestro juicio.

Agradecimientos

Este artículo hace parte del proyecto "Fortalecimiento de la producción de la cadena láctea del distrito Norte Antioqueño", convenio N° 2012AS180031 firmado entre la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural del Departamento de Antioquia, la Universidad Nacional de Colombia (Sede Medellín) y la Universidad de Antioquia con recursos del Sistema General de Regalías- SGR.

Referencias

1. Aponte F. Perfil de resistencia *in vitro* a antimicrobianos de cepas causantes de mastitis aisladas de leche cruda bovina en establecimientos de pequeña y mediana producción. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud, 2007; 5 (1): 19-25.
2. Archbald, L. Reproductive diseases. Current Veterinary Therapy 3, Food Animal Practice, 1999; 563-568.
3. Calderón A, Rodríguez VC, Arrieta GJ, Máttar S. Prevalencia de mastitis bovina en sistemas doble propósito en Montería (Colombia): etiología y susceptibilidad antibacteriana. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 2011a; 24:19-28.
4. Calderón A, Rodríguez VC. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el Altiplano Cundiboyacense (Colombia) Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 2008; Vol. 21 (4): 582-589.
5. Calderón AR, Rodríguez Rodríguez VC, Arrieta GJ, Máttar SV. Prevalence of mastitis in dual purpose cattle farms in Montería (Colombia): etiology and antibacterial susceptibility. Rev Colomb. Cienc. Pec, 2011; Vol. 24:19-28.
6. Cardona X, López HA, Echeverri JJZ. Estimación de la prevalencia de *Streptococcus agalactiae*, diagnosticado por la técnica PCR en hatos del Norte y Oriente de Antioquia, Colombia. V Congreso Internacional de Producción Animal Tropical 2015, 2016. 21/04/2016.
7. Clavijo A, Meléndez B, Clavijo ML, Godoy A, Santander J. Efecto del sistema de explotación sobre la aparición de mastitis caprina en dos fincas del estado Falcón, sus agentes etiológicos y la resistencia a antimicrobianos. Zoot Trop, 2002; 20: 383-395.
8. Cerda J, Vera C, Rada G. Odds ratio: Theoretical and practical issues. Rev. méd. Chile, 2013; vol.141 no.10: 1329-1335.

9. Dabdoub SM, Shook GE. Phenotypic relations among milk yield, somatic cell count and clinical mastitis. *J Dairy Sci*, 1984; 67: 163-164.
10. Fox L. Prevalence, incidence and risk factor for heifers mastitis. *Veterinary Microbiology*, 2009; 134: 82-88.
11. Gasque G, Blanco O. *Zootecnia en bovinos productores de leche*. Primera edición, 2001. ISBN 968 – 36 – 9295-8. P 161.
12. Hansen PJ, Soto P, Natzke RP. Mastitis and Fertility in Cattle-Possible Involvement of Inflammation or Immune Activation in Embryonic Mortality. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2004; 51: 294-301.
13. Hillerton JE, Berry EA. A review. Treating Mastitis in The Cow-a Tradition or an Archaism. *Journal of Applied Microbiology*, 2005; 98: 1250-1255.
14. Keefe G, Chaffer M. Mastitis: su efecto en la calidad de la leche y plan de control. CONGRESO: VII Seminario Internacional en Competitividad en Carne y Leche, 2010; 59 – 62 P.
15. Leal V, Kutchynska V E, Chacón F, Olivares Y, Castro G, Briñez W. Patógenos contagiosos y ambientales aislados de cuartos mamarios con mastitis Subclínica de alto riesgo en tres fincas del estado Zulia. *Revista Científica*, 2010; Vol. XX - No. 005 Venezuela, 2010.
16. National Mastitis Council Laboratory and Field Hand book on bovine mastitis (1987). pp. 25-147.
17. Pellegrino MS, Frola ID, Odierno LM, Bognia CI. Mastitis Bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus* asiladas de leche. *Redvet Rev. Electrón. Vet*, 2011; 12 (7): 1-14.
18. Pérez C, Silveira P, Enrique A. Evaluación epizootiológica de la mastitis bovina en cuatro vaquerías (Epizootiological evaluation of bovine mastitis in four dairy farms). Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuaní Km. 5 ½. Santa Clara. CP 54830. Villa Clara. Cuba. *Redvet. Revista electrónica de Veterinaria* 1695-7504, 2008; Volumen IX Número 7: 1-9.
19. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. (2002). *Medicina Veterinaria. Mastitis Bovina*. Edit. Mcgraw-hill. 9o Edición. Vol 1. Madrid, España. pp 728 - 810.
20. Ramírez N, Gaviria G, Arroyave O, Sierra B, Benjumea J. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 2001; 14 (1): 76-87.
21. Ramírez V, Arroyave H, Cerón-Muñoz M, Jaramillo M, Cerón J, Guillermo P. Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, 2011; 22: 31-42.
22. Reyes F, Valero JFL, D'Pool K, García UA, Aleida M, Dora M. Agentes bacterianos y conteo de células somáticas en leche de cuartos de bovinos mestizos doble

- propósito ordeñados en forma manual o mecánica en cuatro fincas lecheras del estado Zulia, Venezuela. Universidad de los Andes Venezuela, Revista Científica, 2005; Vol XV - No. 001: 64-71.
23. Taponen S, Pyorala S. Coagulase negative Staphylococci as cause of bovine mastitis-Not so different from *Staphylococcus aureus* Veterinary. Veterinary Microbiology, 2009; Volume 134 (1-2): 29-36.
 24. Thorberg, B., Danielsson, T. M., Emanuelson, U. y Persson, K. Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative Staphylococci. Journal of Dairy Science, 2009; 92, 4962-4970.
 25. Trujillo CM, Gallego AF, Ramírez N y Palacio LG. Prevalencia de mastitis en siete hatos lecheros del oriente antioqueño Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 2011; 24:11-18.