

COMPORTAMIENTO DEL NIVEL CELULAR EN LECHE Y GERMENES AISLADOS EN LA MISMA, DURANTE LA LACTANCIA DE VACAS EN DOS DIFERENTES SISTEMAS DE EXPLOTACION BAJO CLIMA TROPICAL.

AMADO GUZMAN AVILES ¹

J. ANTONIO ALVAREZ MARTINEZ ¹

MIGUEL BAQUEIRO MAZA ¹

ROSA MARIA URRUTIA. ²

RESUMEN

Se estudió la lactancia de 19 vacas, de las cuales 10 eran cruzadas; 5 Holstein x Cebú y 5 Pardo Suizo x Cebú en libre pastoreo, y el resto (9 vacas) eran de raza pura 5 Holstein y 4 Pardo Suizo, en semiestabulación. Los muestreos de leche se hicieron cada 14 días de cada cuarto glandular de las vacas en estudio y se corrieron pruebas de Conteo Celular Directo, California y Wisconsin. Al cuarto que mostraba mayor cuenta celular de cada una de las vacas se le hizo examen bacteriológico cada 28 días. La lactancia se dividió en 3 periodos: 1) del 1° al 4° mes; 2) del 5° al 9° mes; 3) del 9° mes en adelante.

Los datos del número de células se transformaron al logaritmo base 10 para propósitos del análisis estadístico. Al comparar las medias del número de células/ml de leche, se observó una diferencia significativa

¹ Coordinación Regional del Golfo-INIFAP Sector Pecuario, Apdo. Postal 1224, Veracruz, Ver., México, C.P. 91700.

² Departamento de Epizootología. INIFAP Sector Pecuario, SARH, Km. 15.5 Carr. México-Toluca, México, D. F. C.P. 05110.

Téc. Pec. Méx. 50 (1986)

entre ambos sistemas ($P < .01$), sin que tal diferencia pueda atribuirse específicamente a la raza o al tipo de manejo.

En el sistema semiestabulado el período 2 mostró menor número de células que el 1 y 3 ($P < .05$) y en el sistema de libre pastoreo el período 1 mostró mayores cuentas que el 2 y 3 ($P < .05$). La producción láctea fue mayor en los cuartos posteriores que en los anteriores ($P < .01$), pero en los conteos celulares no hubo diferencia significativa. Los gérmenes aislados con mayor frecuencia fueron *Corynebacterium spp*, *Corynebacterium bovis*, *Staphylococcus epidermidis* y *S. aureus*, éste último y la combinación actinomicetos-levaduras fueron aislados a partir de leches con las cuentas más altas (5.83, antilog 676, 083 y 5.95, antilog 891, 251 respectivamente). Las corinebacterias y el *S. epidermidis* se aislaron tanto de leche con conteos celulares bajos como altos. Los coeficientes de correlación entre el número de células/ml de leche y los resultados de las pruebas de California y Wisconsin fueron $r = 0.66$ y $r = 0.629$ respectivamente.

INTRODUCCION

La infección de la glándula mamaria resulta por alteraciones del tejido glandular que provocan una serie de cambios composicionales en la leche secretada (Schalm, Carroll y Jain, 1971; Schmidt, 1974; Weaver y Kroger, 1976). Estos cambios reflejan el grado de daño causado a las células secretorias y red de vasos capilares de la ubre y uno de los primeros y principales es el incremento del número de células somáticas lo cual ocurre estrechamente al incremento inicial del número de patógenos (Schultz, 1977a, b; Kitchen, 1981).

El conteo de células somáticas fue uno de los primeros métodos usados para el diagnóstico de mastitis y todavía hoy retiene la primera posición como la más confiable y específica prueba en el diagnóstico de esta enfermedad. Sin embargo, factores tales como la etapa de lactación, número de lactancias, la tensión causada por el manejo, problemas nutricionales y condiciones climáticas, pueden influenciar el nivel celular de la leche (Kitchen, 1981).

Otras situaciones que afectan el número de células en la leche son la época del año, edad de la vaca y la hora de ordeño (Syrstad y Ron, 1979). Los conteos celulares son elevados la primera semana de lactación, se reducen varias semanas, para elevarse paulatinamente hasta el final de la lactancia (Schultz, 1977a, b).

El número de células considerado como normal en la leche de vacas sanas, se ha sugerido de 500 000 células/ml; en la leche de cuartos normales de la 2^o semana al 7^o mes de lactación, un 90% muestran conteos menores a 250 000 células/ml y un 95% conteos menores a 300 000 células/ml (Schalm, Carroll y Jain, 1971). En cuartos en los que no se aíslan bacterias se esperan niveles

menores a 169 500 células/ml, en los que se encuentran gérmenes no patógenos se observan concentraciones de 225 000 células/ml y en cuartos afectados por gérmenes considerados patógenos 998 000 células/ml, (Schultz, 1977a), esto indica que el tipo de germen invasor se relaciona con el nivel celular, ya que se ha observado que los cuartos infectados por **Streptococcus agalactiae** contenían 900 000 células/ml y los infectados por **Streptococcus uberis** 1,950 000 células/ml (Ward y Schultz, 1972). Ciertas bacterias como el **Corynebacterium bovis** y el **Staphylococcus epidermidis**, son considerados como no patógenos para la glándula mamaria por algunos autores (Pérez et al., 1981), pero otros le han encontrado propiedades patógenas al **Corynebacterium bovis**, induciendo mastitis experimentalmente (Packer, 1977). **Staphylococcus epidermidis** actualmente es considerado como causa común de infecciones intramamarias bovinas (McDonald, 1977).

La mayor parte de las investigaciones sobre mastitis han sido realizadas en zonas lecheras templadas y con ganado de razas puras especializadas. El potencial lechero del trópico mexicano es enorme, en estas áreas se ordeñan alrededor de 5.5 millones de vacas (Román, 1980), por lo que es necesario saber en que medida los conocimientos obtenidos en otras regiones son aplicables a dichas zonas tropicales, con otro clima, manejo y razas. Los objetivos de este estudio fueron: a) conocer el efecto de las diversas etapas de lactación sobre la concentración celular en leche durante la lactancia de vacas Holstein y Pardo Suizo semiestabuladas y vacas F-1 Holstein y Pardo Suizo x Cebú en pastoreo en una zona tropical; b) identificar los principales gérmenes presentes en la glándula mamaria de

estos animales; c) obtener la correlación existente entre las pruebas empleadas para estimar el número de células/ml de leche (Wisconsin, California y Conteo Directo).

MATERIAL Y METODO

El trabajo se desarrolló en el Centro Experimental Pecuario "La Posta" de Paso del Toro, Ver., bajo condiciones de un clima cálido semi-húmedo Aw con lluvias en verano (Tamayo, 1962). El estudio se realizó, durante la lactancia de un total de 19 vacas. Se utilizaron 10 vacas cruzadas F-1, 5 Holstein x Cebú y 5 Pardo Suizo x Cebú en un sistema de pastoreo rotacional en zacate Pangola, así como 9 vacas de raza pura, 5 Holstein y 4 Pardo Suizo bajo un sistema semiestabulado con suministro de ensilaje de sorgo y concentrado durante el día y pastoreo nocturno en zacate Estrella de Africa. Todas las vacas se ordeñaron mecánicamente dos veces al día. El inicio de la lactancia de las vacas en estudio ocurrió en un lapso de dos meses, y a partir de la primera o segunda semana y hasta el final de la lactancia se tomaron cada 14 días muestras de leche a cada cuarto glandular de todas las vacas para la realización de las pruebas de California, Wisconsin y Conteo Celular Directo (Pérez *et al.*, 1981) para determinar el número de células por mililitro de leche. Cada mes (28 días) de acuerdo a las cuentas celulares obtenidas en el muestreo previo de ese día, se tomaban muestras de leche para análisis bacteriológico, del cuarto que mostraba mayor cuenta celular de cada una de las vacas, con el objeto de determinar los gérmenes presentes en la leche. Estas muestras fueron procesadas de acuerdo a las técnicas bacteriológicas recomendadas por Pérez *et al.*, 1981), se tomaban durante

el ordeño de la tarde e inmediatamente se refrigeraron para sembrarlas a la mañana siguiente en agar sangre.

El análisis estadístico consistió en un análisis descriptivo de los datos, correlación lineal y pruebas de T de Student, para comparación de medias realizadas en el paquete SAS (Barr *et al.*, 1979). Los datos del número de células por mililitro de leche se manejaron como el logaritmo base 10 del mismo, con el objeto de ajustar su distribución a la normalidad. La lactancia se dividió en tres periodos: 1) del 1° al 4° mes; 2) del 5° al 9° y 3) del 9° en adelante.

RESULTADOS Y DISCUSION

El Cuadro 1 contiene los promedios celulares de la leche de ambos sistemas incluidos todos los muestreos. Cuando los conteos de células se manejan transformados se observa que los promedios celulares son bajos en cada sistema, en comparación a los promedios obtenidos con los valores absolutos, los cuales se ven elevados como consecuencia de la distribución anormal. En este caso algunos cuartos con cuentas celulares muy altas elevan la media de manera dramática, como lo comenta Schultz, (1977a), las desviaciones standard dan idea de la gran variabilidad de estos datos. Los promedios de las cuentas celulares observados en ambos sistemas resultaron menores a los niveles celulares considerados normales por algunos autores, tales como 300 000 células/ml o 500 000 células/ml (Schalm, Carroll y Jain, 1971; Schultz, 1977a; Meijering *et al.*, 1978; Rindsig *et al.*, 1979) o de 700 000 células/ml para el altiplano mexicano (Pérez, 1981) así como a los resultados experimentales de algunos investigadores que encuentran que vacas con lactancias normales, en un 90% tienen cuentas menores a 250

000 células/ml y en un 98.5% conteos de menos de 500 000 células/ml, (Schalm, Carroll y Jain, 1971). En el mismo Cuadro 1 se muestra que entre los dos sistemas existe una diferencia significativa ($P < .01$) en los promedios celulares, que puede deberse al manejo (higiene, ordeñadora, nutrición), la raza, o bien a la diferencia en el promedio del número de lactancias, todos estos, factores que afectan los niveles celulares en la leche según diversos autores (Schultz, 1977a; Carroll, 1977; Kitchen, 1981; Honkanen et al., 1981; Raubertas y Shook, 1982). Sin embargo, debido a que el diseño de este trabajo provoca efectos confundidos no se puede atribuir a ninguno de estos factores en particular la causa de la diferencia entre los niveles celulares.

El Cuadro 2 muestra las diferencias entre las cuentas celulares con relación a la etapa de lactación. El primer período mostró un nivel más elevado que el siguiente en ambos casos ($P < .05$) y también se manifestó una diferencia significativa ($P < .05$) entre el 2º y 3er período, incrementándose los conteos en este último en el sistema de semiestabulación. Esto concuerda con observaciones hechas en las curvas normales de células

somáticas durante la lactación en otro tipo de explotaciones y climas (Schalm, Carroll y Jain, 1971; Rindsig et al., 1977a; Schultz 1977b; Kitchen, 1981). El sistema de pastoreo no mostró diferencia entre los períodos 2 y 3 de la lactancia. Sin embargo, los conteos celulares que mostraron estas vacas durante la lactancia fueron más bien bajos (166 000 células/ml).

Las diferencias de producción entre los cuartos anteriores y posteriores, así como las medias de las concentraciones celulares de los mismos se encuentran en el Cuadro 3. En los dos tipos de explotación la producción es mayor en los cuartos posteriores ($P < .01$) mientras que las diferencias entre las cuentas celulares no son significantes, tal como lo menciona Meijering et al., (1978).

Entre la variedad de gérmenes aislados e identificados (Cuadro 4) se detectó una mayor prevalencia de *Corynebacterium spp.*, *Corynebacterium bovis* y *Staphylococcus epidermidis*, (17, 13 y 9% respectivamente), cuyas medias celulares de las leches en que fueron aislados fueron menores a 263 000, sin embargo, se encontraban presentes, como únicos gérmenes aislados, tanto en leches con bajos conteos como en aquellas

CUADRO 1

MEDIAS DEL NUMERO DE CELULAS POR ML DE LECHE EN LOS DOS TIPOS DE EXPLOTACION

Tipo de producción	\bar{X} del log 10 del # de cél/ml	D. S.	Promedio del # de lactancias	Promedio del # de células	D. S.
Semiestabulado	4.929 ^a (84,918)*	+ .796	2.11	1,167,779	+ 5,623,430
Pastoreo	5.110 ^b (128,825)	+ .625	2.53	427,956	+ 1,275,466

a, b Diferente literal indica diferencia estadística ($P < .01$).

* Valores entre paréntesis: antilogaritmo de la media geométrica presentada (cels/ml de leche).

D.S. Desviación Standard.

CUADRO 2

MEDIAS DEL NUMERO DE CELULAS POR ML DE LECHE EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE LA LACTANCIA

Tipo de explotación	Período	X del log. 10 del # de cél.	No. de observaciones
Semiestabulado	1	5.068a (116,950)*	269
	2	4.749b (56,105)	240
	3	4.953c (89,743)	184
Pastoreo	1	5.22c (165,959)	288
	2	5.07b (117,490)	222
	3	4.97b (93,325)	169

a, b Literales diferentes indica diferencia estadística. En cada tipo de explotación. ($P < .05$).

* Valores entre parentesis : antilogaritmo de lo media presentado.

que mostraban altas concentraciones celulares. Esto concuerda con las afirmaciones de McDonald, (1977) y Packer, (1977) en relación a que estos gérmenes pueden ser causa de infecciones intramamarias en los bovinos, aunque también puede deberse a que son bacterias que poblan el canal del pezón sin causar infección de la glándula, tal y como lo mencionan

Black, Marshall y Baourland (1972). *Staphylococcus aureus* y la combinación de actinomicetos y levaduras mostraron las cuentas más elevadas (5.83, antilog= 676,083 y 5.95, antilog= 891,251 células/ml respectivamente). La bacteria *S. aureus* se ha identificado como uno de los gérmenes causantes de mastitis más frecuentes (Ward y Schultz, 1972;

CUADRO 3

PRODUCCION DE LECHE EN LOS CUARTOS ANTERIORES Y POSTERIORES

Tipo de explotación	Cuarto	Log. 10 del No. celulas	D. S.	Producción de leche p/ cuarto (kg)	D. S.
Semiestabulado.	Anterior	4.955 (90.157)*	+ .563	1.168a	+ .347
	Posterior	4.902 (79,799)	+ .710	1.755a	+ .741
Pastoreo	Anterior	5.057 (114,025)	+ .827	1.790a	+ .624
	Posterior	5.16 (144,543)	+ .872	2.16b	+ .623

a, b Diferente literal indica diferencia ($P < .01$). (Para cada tipo de explotación).

* Valores entre parentesis : antilog. del valor presentado.

D.S. Desviación Standard.

CUADRO 4

PRINCIPALES GERMENES ENCONTRADOS DURANTE LA LACTANCIA DE VACAS LECHERAS EN EL TROPICO

Tipo de germen	No. casos	%	Media/geométrica del No. células al aislamiento (log. 10)	D. S.
<u>Corynebacterium spp</u>	30	17.5	5.42 (263,027)*	+ .48
<u>Corynebacterium bovis</u>	22	12.9	5.11 (128,825)	+ .50
<u>S. epidemidis</u>	16	9.4	5.42 (263,027)	+ .37
<u>S. aureus</u>	13	7.6	5.83 (676,083)	+ .49
<u>Corynebacterium bovis-levaduras</u>	7	4.1	5.29 (194,984)	+ .81
Actinomicetos-levaduras	3	1.8	5.95 (891,251)	+1.69
Otros	18	10.5		
Sin aislamiento	62	36.2	5.12 (131,825)	+ .67
T o t a l	171	100		

* Valores entre parentesis = antilog del valor presentado
= cels/ml de leche

D.S. Desviación Standard.

Schults, 1977; McDonald, 1977). Es interesante hacer notar la ausencia de aislamientos de **Streptococcus agalactiae** también reconocido como uno de los agentes más importantes en mastitis (Schultz, 1977; Ward y Schultz, 1972; McDonald, 1977). Las correlaciones entre el número de células somáticas en la leche, determinadas microscópicamente, y los resultados

de las pruebas de California y Wisconsin se presentan en el Cuadro 5. Cuando la correlación se hace con el valor absoluto, los coeficientes de correlación son bajos para ambas pruebas ($r = 0.44$). Este valor se incrementa cuando se correlaciona con la transformación logarítmica obteniéndose coeficientes de $r = 0.629$ para Wisconsin y $r = 0.66$ para California.

CUADRO 5

COEFICIENTES DE CORRELACION ENTRE LOS DIFERENTES METODOS UTILIZADOS PARA CUANTIFICAR EL NUMERO DE CELULAS POR MILILITRO DE LECHE

	Prueba de Wisconsin	Prueba de California
Log. 10 del No. de células	$r = 0.629$ $n = 1382$	$r = 0.66$ $n = 1382$
Valor de absoluto del No. células	$r = 0.449$ $n = 1382$	$r = 0.427$ $n = 1382$

Los resultados sugieren que en explotaciones lecheras ubicadas en zonas tropicales, los conteos celulares son comparables a los que se mencionan en áreas templadas; también se detecta la mastitis subclínica manifestada por la elevación de los niveles celulares en la leche, así como la presencia de germen patógenos en la glándula mamaria. Debe tomarse en cuenta que estos resultados fueron obtenidos en dos hatos pertenecientes a un Centro Experimental Pecuario, donde las condiciones de manejo e higiene son presumiblemente mejores que en el común de las explotaciones lecheras ubicadas en las zonas tropicales de México. Dado el potencial de producción del trópico mexicano, es necesario proseguir estudios sobre el tema con el objeto de evaluar el problema, así como de establecer condiciones para programas de control.

SUMMARY

This study was conducted with 19 dairy cows of different breeds. Ten of them were crossbreed (5 Holstein x Cebu and 5 Brown Swiss x Cebu) kept under grazing conditions all the time (system A). Nine cows were pure breed (5 Holstein and 4 Brown Swiss) under a semiconfinement system (system B). Quarter milk samples were obtained every 14 days from each cow during the whole lactation for direct microscopic somatic cell count, California Mastitis Test and for Wisconsin Mastitis Test. Sterile milk samples were obtained from the quarter of each cow that present the highest cell count every 28 days for bacteriological analysis. The lactation was divided into the following periods: 1) parturition to 4th month of lactation; 2) 5th to 9th month of lactation; 3) more than 9 months of lactation. The cell counts were transformed to their

logarithms (base 10) for statistical analysis purposes.

A significant difference in the mean count level was detected between management system ($P < .01$) although this difference can not be attributed to the system nor the breed.

Period 2 showed the lowest somatic cell count in the system A and period 1 in the system B ($P .05$). Higher amount of milk were obtained from rear quarters ($P .01$) but not differences were detected in the cell count between rear and fore quarters. The most frequently isolated bacteria were **Corynebacterium spp**, **C. bovis**, **Staphylococcus epidermidis** y **S. aureus**. It was found that milk that contained **S. aureus** and yeast had the highest cell count. **Corynebacterium spp.** and **S. epidermidis** were isolated from milk with low and high cell counts. The correlations between the direct microscopic somatic cell counts and the California and Wisconsin tests were 0.66 and 0.62, respectively.

LITERATURA CITADA

- BARR, J.A., GOODNIGHT, J.H., SMALL, J. P. and BLAIR, W.H., 1979, SAS user's guide, SAS Institute Inc. (ED), U.S.A.
- BLACK, R.T., MARSHALL, R.J. and BOURLAND, C.T., 1972. Locus of mammary gland infections of **Corynebacterium bovis**. *J. Dairy Sci.* 55 (4):413-416.
- CARROLL, E.J., 1977, Environmental factors in bovine mastitis. *JAVMA*. 170 (10-2):1143-1149.
- HONKANEN-BASALSKIHO, T., KANGASNIEMI R., ATROSHI, F. and SANDHOLM, M., 1981, Effect of lactation stage and number on milk albumina (BSA) and somatic cell count. *Zentralblatt Fur Veterinarmedizin. A*, 28 (9/10):760-767. Resumen tomado del *Vet. Bull.* 1982, Vol. 52 No. 5332.
- KITCHEN, B.J., 1981, Review of the progress of dairy science: Bovine mastitis: Milk compositional changes and related diagnostic test. *J. Dairy Res.* 48:167-188.

- McDONALD, J.S., 1977, Streptococcal and Staphylococcal mastitis, *JAVMA*. 170(10-2): 1157-1159.
- MEIJERING, A., JAARTSELD, F.H.J. VERS-TEGEN, M.W.A. and TIELEN, M.J.M, 1978, The cell count of milk in relation to milk yield. *J. Dairy Res.* 45:5-14.
- PACKER, R.A., 1977, Bovine mastitis produced by *Corynebacteria* *JAVMA*. 180 (10-2): 1164-1165.
- PEREZ, D.M., 1981. Comunicación Personal.
- PEREZ, D.M., CASTILLO, R.F., CAMPOS, R. V. y MURILLO, S. E., 1981, Manual de técnicas para el análisis físico químico de la leche. Curso de actualización de mastitis-INIP, Memorias.
- RAUBERTAS, R.F. and SHOOK, G.E., 1982, Relationship between lactation measures of somatic cell count and milk yield. *J. Dairy Sci.* 65:419-425.
- RINDSING, R.B., RODEWALD, R.G., SMITH., A.R., THOMSEN, N.K. and SPAHR, S.L., 1979, Mastitis history, California mastitis test, and somatic cell count for identifying cows for treatment in a selective dry cow therapy program. *J. Dairy Sci.* 62:1135-1139.
- ROMAN, P. H., 1980, Problemas y posibilidades de la producción de leche en el trópico. Simposium sobre Ganadería Tropical INIP-SARH. Memorias. Veracruz. Ver., México.
- SCHALM, O.W., Carroll, E.J. and JAIN, N.C., 1971, Bovine mastitis. Lea and Febiger. Philadelphia.
- SCHMIDT, G.H., 1974. Biología de la lactación 1a. Ed. Edit. Acribia. Zaragoza, España.
- SCHULTZ, L.H., 1977a, Somatic cell in milk, physiological aspects and relationship to amount and composition of milk. *J. Food. Protec.* 40 (2): 125-131.
- SCHULTZ, L.H., 1977b, Somatic cell counting of milk in production testing programs as a mastitis control technique. *JAVMA*. 170 (10-2): 1244-1246.
- SYRSTAD, O. and RON, I., 1979, Variation in somatic cell counts of milk samples from individual cows. *Acta Vet. Scand.* 20: 555-561.
- TAMAYO, J.L., 1962, Geografía General de México, 2º Ed. Inst. Mex. de Investigaciones Económicas.
- WARD, G.E. and SCHULTS, L.H., 1972, Relationship of somatic cells in quarter milk to type of bacteria and production. *J. Dairy Sci.* 55(10): 1428-1431.
- WEAVER, C.J. and KROGER, M., 1976, Protein, casein, and noncasein protein percentages in milk with high somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 60 (6):878-881.