

## PREVALENCIA DE MASTITIS BOVINA SUBCLÍNICA Y MICROORGANISMOS ASOCIADOS: COMPARACIÓN ENTRE ORDEÑO MANUAL Y MECÁNICO, EN PERNAMBUCO, BRASIL

A.K. Ruiz\*, P. Ponce\*, G. Gomes\*\*, R.A. Mota\*\*, Elizabeth Sampaio\*\*, E.R. Lucena\*\*, S. Benone\*\*\*

\*Centro de Ensayos para el Control de la Calidad de la Leche y Derivados Lácteos (CENLAC), Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Cuba. \*\*Departamento de Medicina Veterinaria de la Universidad Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Brasil. \*\*\*Departamento de Zootecnia de la UFRPE, Brasil.

**RESUMEN:** Se estudiaron 11 propiedades productoras de leche bovina del estado de Pernambuco, Brasil; seis con ordeño manual y cinco con ordeño mecánico. Los rebaños estaban constituidos por animales de varias razas, edades y periodos de lactación. Se tomaron muestras de 185 vacas, resultando en 708 cuartos muestreados. Antes de coleccionar se realizó la prueba de California (CMT), con independencia de este resultado fueron coleccionadas muestras para cultivo microbiológico y conteo de células somáticas (CCS) y composición. Se obtuvieron prevalencias de 39,3% y 54,8% (CMT), 57,2% y 63,3% (diagnóstico microbiológico), 33,4% y 49,4% (CCS), para ordeño manual y mecánico respectivamente. Se aislaron microorganismos patógenos en el 61% de las muestras con mayor prevalencia para *Corynebacterium sp.* (45,0%), *Staphylococcus sp.* (29,6%) y *Streptococcus sp.* (14,6%) en ordeño manual; *Staphylococcus sp.* (36,4%), *Corynebacterium sp.* (27,6%), *Micrococcus sp.* (15,6%) y *Streptococcus sp.* (12,9%) en ordeño mecánico. Los rebaños ordeñados mecánicamente tuvieron mayor prevalencia de mastitis subclínica, tanto para el diagnóstico por CMT, como para CCS y cultivo bacteriológico; con diferencias significativas en CMT y CCS. El patrón de sensibilidad de los patógenos hallados indicó mayor susceptibilidad hacia la combinación Neomicina-Bacitracina-Tetraciclina (NBT), Florfenicol (FLF), Cefquinome (CEQ) y Enroflorxacina (ENO) en ese orden; la Oxacilina (OXA) resultó ser el antimicrobiano con menor porcentaje de sensibilidad entre los patógenos.

(Palabras clave: mastitis; ordeño manual; ordeño mecánico; prevalencia; *Staphylococcus spp.*; *Corynebacterium spp.*; *Streptococcus spp.*; sensibilidad antibióticos)

---

### COMPARISON OF MANUAL AND MECHANICAL MILKING: PREVALENCE OF SUBCLINICAL MASTITIS AND MICROORGANISMS ASSOCIATED WITH MASTITIS, IN PERNAMBUCO, BRAZIL

**ABSTRACT:** Eleven dairy properties from Pernambuco State in Brasil were studied; six with hand milking and five with machine milking. The herds were constituted by animals of several races, ages and lactation periods. 185 cows were studied, resulting in 708 quarters sampled. Before sampling, the California Mastitis Test (CMT) was carried out independently of this result samples were collected for microbiologic cultures and Somatic Cells Counts (SCC) and milk composition. Prevalencies of 39,3% and 54,8% (CMT); 57,2% and 63,3% (microbiologic culture); 33,4% and 49,4% (SCC) were obtained for hand and machine milking respectively. Pathogens were isolated in 61% of the samples with higher prevalence for *Corynebacterium sp.* (45.0%), *Staphylococcus sp.* (29.6%) and *Streptococcus sp.* (14.6%) in hand milking; *Staphylococcus sp.* (36.4%), *Corynebacterium sp.* (27.6%), *Micrococcus sp.* (15.6%) and *Streptococcus sp.* (12.9%) in machine milking. Mechanically

**milked herds had higher prevalence of subclinical mastitis, both for diagnosis by CMT, as for CCS and bacteriological culture with significant differences in CMT and CCS. The sensibility pattern of the pathogens indicated bigger susceptibility for the combination Neomicine-Bacitracine-Tetraciline (NBT), Florfenicol (FLF), Cefquinome (CEQ) and Enrofloxacin (ENO) in that order; Oxaciline (OXA) was the antimicrobial with smaller percent of sensibility among the pathogens.**

*(Key words: mastitis; hand milking; machine milking; prevalence; Staphylococcus spp.; Corynebacterium spp.; Streptococcus spp.; antibiotics sensibility)*

## INTRODUCCIÓN

A pesar de los métodos modernos establecidos para el control de la mastitis bovina, esta es una de las mayores causas de serias pérdidas económicas en la producción lechera, sufrimiento animal, efectos negativos en la calidad de leche, y reducción en la higiene del producto (1).

Dos características son distintivas de la pecuaria lechera brasileña: ocurre en todo el territorio nacional; y no existe un patrón de producción, por lo que la heterogeneidad de los sistemas de producción es muy grande (2). La productividad y la calidad de la leche brasileña son muy variables entre los estados; esto se debe a las características propias de cada región, como: el perfil del productor, el mayor acceso a la asistencia técnica, a los programas regionales de control sanitario del rebaño y la presencia de lecherías con políticas serias de pago por calidad (3). Gran parte de la producción de leche proviene de pequeños y medianos productores, con rebaños cruzados, los cuales aún utilizan el ordeño manual (4, 5).

Desde el punto de vista sanitario la forma de ordeñar al ganado resulta importante en el estado de salud de las ubres y en la calidad de la leche que se produce, la carga bacteriana varía significativamente entre métodos de ordeño (6).

Los resultados del examen microbiológico pueden ser usados para la adopción de medidas específicas de control, identificación de patógenos emergentes, segregación y descarte de animales con infección crónica, evaluación de la eficacia de tratamientos y establecimiento de patrones de susceptibilidad a antimicrobianos (7).

La etiología de la mastitis clínica y subclínica muestra diferencias entre regiones y países (8). Teniendo en cuenta este comportamiento es fundamental identificar los microorganismos circulantes antes de considerar cualquier control de la enfermedad (9).

La adopción de un programa de control y prevención de la mastitis por los productores, debe ser con-

siderando las características de los patógenos involucrados para que el programa sea lo más eficiente posible (10).

En las condiciones del trópico americano se han realizado pocos trabajos encaminados a evaluar las diferencias entre ordeño manual y mecánico; sin embargo, se ha encontrado diferencias significativas en cuanto a prevalencia de infecciones intramamarias, prevalencia de mastitis subclínica y clínica, incidencia, conteo total de microorganismos mesófilos aerobios y coliformes, así como en los microorganismos aislados (6, 11). Estos mismos autores reportan en experimentos realizados en México y Venezuela mayor prevalencia de mastitis bovina subclínica en animales con ordeño manual, contraria a la opinión general entre los productores cubanos, avalada por algunos resultados (12). Teniendo en cuenta lo anterior y con el objetivo de contribuir a la diferenciación microbiológica y epizootiológica de la mastitis en ordeño manual y mecanizado en las condiciones del nordeste brasileño, se realizó el presente trabajo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Fueron estudiadas 11 propiedades productoras de leche bovina, seis con ordeño manual y cinco con ordeño mecánico distribuidas en cinco municipios del estado de Pernambuco, comprendiendo tres mesoregiones; Mata Atlántica (Paudalho); Región Metropolitana de Recife (Camaragibe) y Agreste (Gravatá, São Bento do Una y Bom Conselho). Los rebaños estaban constituidos por animales de varias razas, edades y periodos de lactación, criados en sistema intensivo y semi-intensivo. El trabajo fue realizado en los meses de mayo a julio del 2008 (periodo lluvioso).

## MUESTREOS

Se colectaron muestras de 185 vacas, resultando en 708 cuartos muestreados. Antes de colectar se realizó la prueba de California (CMT). Los resultados del CMT fueron recodificados como 0 (negativo y trazas), 1 (1+), 2 (2+) y 3 (3+) para su análisis. Independientemente del resultado del CMT, fueron colectados 10mL de leche en tubos de ensayos estériles según la meto-

dología descrita por Rabello *et al.* (13), así como 40 mL en frascos plásticos estériles que contenían una pastilla de Bronopol. Las muestras fueron acondicionadas en cajas isotérmicas con hielo reciclable. Las muestras en tubos de ensayo se llevaron al Laboratorio de Enfermedades Infecto-Contagiosas del Departamento de Medicina Veterinaria, de la Universidad Federal Rural de Pernambuco, donde se realizó el cultivo microbiológico.

### ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO

De cada muestra, fueron sembradas alícuotas de 0,1 mL en Placas de Petri con Agar Base Sangre Columbia (Oxoid) más 5% de sangre desfibrinada de carnero e incubadas a 37°C por 24 a 48 horas. Los aislados obtenidos fueron replicados según fue necesario, para pruebas bioquímicas, antibiogramas y conservación del aislamiento. La identificación presuntiva de los microorganismos fue realizada por las características de la colonia y morfo-tintoriales por la técnica de Gram, así se identificaron *Candida sp.*, *Streptococcus sp.* y *Corynebacterium sp.*; en el caso de *Streptococcus sp.* es definitorio el resultado de la catalasa (negativo). Para la identificación de *Corynebacterium bovis* se empleó el medio Agar Triptona Soya y este medio más Tween 80, más el resultado de la catalasa (positivo). Los agentes Gram-negativos fueron identificados a través de pruebas bioquímicas según lo establecido por Koneman (14): producción de ureasa, reacción en Agar Tres Azúcares Hierro (TSI), prueba de Rojo de Metilo, prueba VP (Voges-Proskauer), prueba en Agar SIM (Indol y Motilidad) y test en Agar Citrato.

Para la identificación de los aislamientos de *Staphylococcus spp.* fueron realizadas pruebas bioquímicas como producción de coagulasa libre, DNAsa y Catalasa, de acuerdo con Vasconcelos (7). Las pruebas de producción de acetoina, fermentación de la glucosa (anaerobiosis) y del manitol (aerobiosis e anaerobiosis) fueron realizadas según lo establecido por Koneman (14).

Después de la realización de las pruebas, los aislados fueron clasificados en *Staphylococcus aureus*, cuando resultó positivo en todas las pruebas, *Staphylococcus coagulase positiva* (E.C.P.), cuando resultó positivo para la producción de coagulasa, fermentación de la glucosa en anaerobiosis y Catalasa, pero negativo en algunas de las otras prueba y, *Staphylococcus coagulase negativa* (E.C.N.), cuando sólo fermentaba la glucosa en anaerobiosis y producía catalasa (15).

Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana *in vitro* de los aislamientos fueron realizadas de acuerdo a la técnica de difusión de disco en Agar Mueller Hinton de acuerdo a lo recomendado por Bauer (16) y la interpretación del halo de inhibición formado por el antibiótico según lo establecido por el fabricante. Se utilizaron los siguientes discos de antibióticos: Enroflorxacina (5 µg) (ENO), Sulfametoxazol (25 µg) + Trimetoprim (25 µg) (SUT), Florfenicol (30 µg) (FLF), Penicilina (40 µg) + Novobiocina (40 µg) (PNM), Cefquinome (30 µg) (CEQ), Neomicina (30 µg) + Bacitracina (10 µg) + Tetraciclina (30 µg) (NBT) y Oxacilina (1 µg).

La leche en frascos plásticos fue enviada al Laboratorio PROGENE de la Facultad de Zootecnia de la UFRPE para realizar el conteo de células somáticas (CCS) y la composición físico-química mediante los equipos Bentley Somacount 300 y Bentley 2000 respectivamente.

Para el análisis de los datos se empleó el paquete estadístico computadorizado STATGRAPHICS Plus para Windows 5.1.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de prevalencia de mastitis subclínica obtenidos mediante CMT, cultivo bacteriológico y conteo de células somáticas se muestran en las Tablas 1, 2 y 3, respectivamente.

**TABLA 1.** Prevalencia de Mastitis subclínica por CMT / *Subclinical mastitis prevalence by CMT*

	Total	Ordeño manual	Ordeño mecánico
Cuartos evaluados	684	425	259
>=1+	309	167	142
%	45,2 % <sup>a</sup>	39,3 % <sup>a</sup>	54,8 % <sup>b</sup>
>=2+	173	91	82
%	25,3% <sup>ab</sup>	21,4 % <sup>a</sup>	31,7 % <sup>b</sup>

Proporciones con diferentes superíndices en la misma fila difieren significativamente para P<0,01.

**TABLA 2.** Prevalencia de mastitis subclínica por aislamientos de microorganismos./ *Prevalence of subclinical mastitis by microorganisms isolations*

	Aislamiento microbiológico		
	Total	O. manual	O. mecánico
Cuartos evaluados	684	425	259
Positivos	417	243	164
%	59,5 <sup>a</sup>	57,2 <sup>a</sup>	63,3 <sup>a</sup>

Proporciones con diferentes superíndices en la misma fila difieren significativamente para  $P < 0,01$ .

**TABLA 3.** Prevalencia de mastitis subclínica por CCS ( $\geq 200.000$  y  $\geq 400.000$  células/mL)/ *Prevalence of subclinical mastitis by SCC ( $\geq 200.000$  &  $\geq 400.000$  cells/mL)*

	Total	O. manual	O. mecánico
Cuartos evaluados	675	416	259
$\geq 200.000$ cel./mL	267	139	128
%	39,6 <sup>a</sup>	33,4 <sup>a</sup>	49,4 <sup>b</sup>
$\geq 400.000$ cel./mL	190	95	95
%	28,1 <sup>ab</sup>	22,8 <sup>a</sup>	36,7 <sup>b</sup>

Proporciones con diferentes superíndices en la misma fila difieren significativamente para  $P < 0,01$ .

Analizando estadísticamente los resultados, en ambos niveles de CMT ( $\geq 1+$  y  $\geq 2+$ ) encontramos diferencia significativa para el tipo de ordeño, favorable (menor prevalencia) al ordeño manual; lo mismo ocurre con la prevalencia según el CCS (para ambos niveles); en el caso del cultivo microbiológico no hay diferencia significativa, pero es menor en ordeño manual. Estos resultados demuestran una menor prevalencia de mastitis subclínica en las unidades con ordeño manual.

Los resultados de cuartos positivos al CMT ( $\geq 1+$ ) analizados según el ordeño difieren con lo reportado por otros investigadores (17), quienes encontraron una proporción de cuartos con reacción 2+ y 3+ mayor (34,82%) para los animales en ordeño manual, con respecto a los ordeñados a máquina (29,64%). Otros trabajos (6) han obtenido resultados de prevalencia de mastitis menores en ordeño mecánico al comparar con ordeño manual, pero utilizando un número mucho menor de animales y fincas, la realidad en nuestra región hace que, generalmente y si se analiza un número representativo de vaquerías, sea menor la prevalencia en ordeño manual, pues no se garantizan en las propiedades las condiciones y materiales necesarios para efectuar el ordeño mecánico con calidad.

Tanto el total como en el ordeño manual y mecánico por separado se halló menor prevalencia en el resultado del CMT que mediante el aislamiento de microorganismos. González y Wilson (18) estiman la

sensibilidad del CMT ante *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* en 66 y 72 %, esto explica parte de la diferencia de prevalencia de mastitis subclínica detectada mediante CMT o cultivo bacteriológico, pues se aislaron estos microorganismos. Puede ocurrir que la infección bacteriana esté comenzando y no haya ocurrido aún la respuesta inflamatoria.

Para determinar la validez del CMT en la identificación de cuartos infectados, se calculó la sensibilidad, especificidad y efectividad para los valores umbrales de  $>1+$  y  $>2+$  en cada tipo de ordeño. Estos resultados se muestran en la Tabla 4. La sensibilidad fue calculada como la proporción de cuartos positivos al cultivo que tenían valores para el CMT superiores al umbral seleccionado; la especificidad fue la proporción de cuartos negativos al cultivo que tenían valores de CMT por debajo del umbral evaluado y la efectividad fue la proporción de verdaderos positivos y negativos.

Faría *et al.* (11) obtuvieron resultados de sensibilidad, empleando también el aislamiento de microorganismos como criterio de veracidad, que difieren de los obtenidos aquí pues son mayores para el ordeño manual en ambos criterios. En cuanto a la especificidad encontraron mayor especificidad en el ordeño manual para  $\geq 1$  y en el ordeño mecánico para  $\geq 2$ . La efectividad estuvo cercana a los valores reportados en sus investigaciones para el ordeño manual, siendo nuestros valores mejores en el caso del ordeño mecánico, sobre todo para  $\geq 1$ . Al igual que Sargeant

**TABLA 4.** Sensibilidad, especificidad y efectividad del CMT / *Sensibility, specificity and effectiveness of the CMT*

Tipo de ordeño	Resultado	Sensibilidad	Especificidad	Efectividad
Ordeño manual	>=1+	0,531	0,903	0,697
	>=2+	0,321	0,946	0,595
Ordeño mecánico	>=1+	0,762	0,906	0,819
	>=2+	0,451	0,979	0,649

*et al.* (19) encontramos que al elevar el nivel para clasificar en sanos y enfermos disminuye la sensibilidad y aumenta la especificidad.

De acuerdo a las medias halladas en el CCS para el ordeño manual y mecánico,  $8,16 \times 10^5$  y  $1,22 \times 10^6$  células/mL respectivamente, se tomó como patrón para definir entre cuartos sanos y enfermos  $2 \times 10^5$  células/mL, comúnmente usado (20). A partir de ese valor se halló la prevalencia de mastitis global, y desglosada en ordeño manual y mecánico que se muestra en la Tabla 3.

Para determinar el grado de asociación entre los resultados del CMT y el conteo de células somáticas se halló la correlación, que fue de 0,42 en total, 0,68 para el ordeño manual y 0,29 en el ordeño mecánico. Una correlación mayor en el ordeño manual y menor en el mecánico con relación al resultado de 0,42 y 0,55 respectivamente obtenido por Faría *et al.* (11). Esta misma correlación pero hallada con respecto al log10 del CCS resultó mayor 0,81 en total, 0,84 para el ordeño manual y 0,76 en el ordeño mecánico.

Del total de cuartos examinados, cuatro (0,56%) presentaron mastitis clínica, 331 mastitis subclínica (46,75%) y 373 (52,7%) resultaron negativos.

Al comparar los resultados del CMT con el examen microbiológico se obtuvo que de los 331 cuartos mamarios con mastitis subclínica, solamente 50

(15,1%) resultaron negativos al examen microbiológico, indicando posibles procesos inflamatorios de etiología no bacteriana, en un por ciento menor a lo reportado en el mismo estado, por Freitas *et al.* (21) que obtuvieron 36,7% de negatividad en el examen microbiológico cuando el CMT fue positivo.

Los microorganismos aislados en 708 muestras de leche se presentan en la Tabla 5. Los agentes de mayor prevalencia general fueron *Corynebacterium* sp. (37,4%), *Staphylococcus* sp. (32,8%) y *Streptococcus* sp. (13,9%) difiriendo de lo hallado por Freitas *et al.* (21) quienes encontraron con mayor prevalencia al *Staphylococcus* sp. (49,6%) seguido por *Corynebacterium* sp. (34,4%) para la mesorregión del Agreste Pernambucano.

Comparando los tipos de ordeño, de manera general son los mismos grupos de microorganismos, sin diferencia significativa para *Staphylococcus* sp. y *Streptococcus* sp. en el caso de *Corynebacterium* sp. se encontró una diferencia significativa con mayor prevalencia del patógeno en el ordeño manual, resultado similar al encontrado por Faría *et al.* (11), que justifica parte de los resultados menores en CCS y CMT del ordeño manual, pues varios investigadores (22, 23), han sugerido que los cuartos infectados con *Corynebacterium bovis*, tienen un efecto protector contra infecciones subsecuentes provocadas por patógenos mayores de la mastitis (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*).

**TABLA 5.** Prevalencia de microorganismos./ *Prevalence of microorganisms*

Microorganismos	Total		O. Manual		O. Mecánico	
	#	%	#	%	#	%
<i>Staphylococcus spp.</i>	165	32,8 <sup>a</sup>	83	29,6 <sup>a</sup>	82	36,4 <sup>a</sup>
<i>Streptococcus sp.</i>	70	13,9 <sup>a</sup>	41	14,6 <sup>a</sup>	29	12,9 <sup>a</sup>
<i>Corynebacterium sp.</i>	188	37,4 <sup>ab</sup>	126	45,0 <sup>a</sup>	62	27,6 <sup>b</sup>
<i>Micrococcus sp.</i>	42	8,3 <sup>a</sup>	7	2,5 <sup>b</sup>	35	15,6 <sup>c</sup>
<i>Bacillus sp.</i>	17	3,4	12	4,3	5	2,2
<i>Candida sp.</i>	1	0,2	1	0,4	0	0,0
<i>Escherichia coli</i>	9	1,8	6	2,1	3	1,3
Bacilos Gram Neg.	13	2,6	4	1,4	9	4,0
Total	505	100	280	100	225	100

Proporciones con diferentes superíndices en la misma fila difieren significativamente para  $P < 0,01$ .

De 165 aislados de *Staphylococcus sp.* Se seleccionaron aleatoriamente 54 (32,7%) para la caracterización bioquímica. De estos, se identificaron 26 (48,1%) como *Staphylococcus aureus*, 19 (35,2%) como *Staphylococcus Coagulasa Negativa* (E.C.N.) y 9 (16,7%) como *Staphylococcus Coagulasa Positiva* (E.C.P.). Corroborando lo encontrado por otros autores que obtuvieron una mayor prevalencia de *S. aureus* (66,4%) en el Agreste de Pernambuco, (24).

Se realizó el test de sensibilidad frente a los antimicrobianos en 94 (18,6%) de los 505 microorganismos aislados. De este subtotal, 27 (28,7%) eran *Corynebacterium spp.*, 36 (38,3%) *Staphylococcus spp.*, 18 (19,1%) *Streptococcus spp.*, siete (7,4%) *Micrococcus spp.* y seis (6,4%) *Escherichia coli*.

El perfil de sensibilidad antimicrobiana se muestra en la Figura 1. Para los aislamientos de *Corynebacterium spp.* se encontró 100% de sensibilidad para los antimicrobianos ENO, FLF y NBT y para la OXA apenas 33% de sensibilidad. Para los aislados de *Staphylococcus spp.*, se halló 100% de sensibilidad para el NBT y 50% para la OXA, contrario a lo expresado por Brito: que la resistencia a la oxacilina es infrecuente en estafilococos aislados de glándulas mamarias bovinas en Brasil, (25).

Para los aislamientos de *Streptococcus spp.* la sensibilidad fue de 100% para los antimicrobianos: FLF

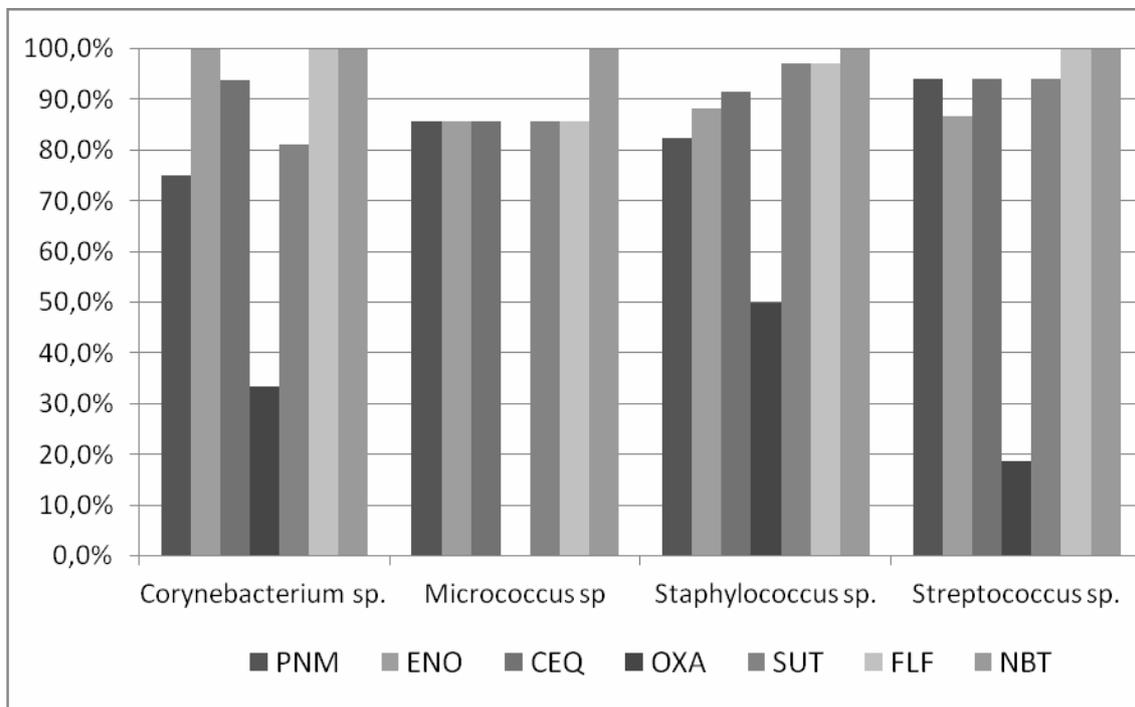
y NBT, para la OXA sólo 19%. En el caso de la asociación PNM la sensibilidad fue de 94%, siendo mayor que la obtenida por Owens *et al.* (26) experimentando la Penicilina y la Novobiocina separadamente, 84 y 85% respectivamente. El perfil de sensibilidad de tres aislados de *Escherichia coli* fue de 100% para los antibióticos NBT e FLF, y 100% resistente para la OXA.

Siete (19,44%) del total de aislados de *Staphylococcus spp.* utilizados en los tests de sensibilidad antimicrobiana, fueron resistentes a dos o más antimicrobianos. En el caso de los aislamientos de *Streptococcus spp.* sólo dos (11,1%) fueron multirresistentes, y de los aislamientos de *Escherichia coli* cuatro (66,6%).

La asociación Neomicina-Bacitracina-Tetraciclina, fue la más eficaz frente a los patógenos estudiados, principalmente por ser un medicamento reciente y por ende poco utilizado en el mercado brasileño. El uso indiscriminado de la Oxacilina tiene mucho que ver con el alto grado de resistencia de los aislamientos.

## CONCLUSIONES

1. Los rebaños de ordeño mecánico tuvieron mayor prevalencia de mastitis subclínica, tanto para el diagnóstico por CMT, como para CCS y cultivo bacteriológico.



**FIGURA 1.** Perfil de sensibilidad antimicrobiana / *Antimicrobial sensibility profile.*

2. El CMT resultó válido para la identificación de infecciones intramamarias, con mayor sensibilidad, especificidad y efectividad en el ordeño mecánico.
3. Solamente *Corynebacterium sp.* tuvo diferencia significativa en la prevalencia de microorganismos, comparando ordeño manual y mecánico.
4. El antibacteriano más efectivo «*in vitro*» contra los patógenos fue la asociación Neomicina+Bacitracina +Tetraciclina (NBT), seguido de Florfenicol (FLF).
5. Los microorganismos implicados, causantes de mastitis bovina en las regiones estudiadas, mostraron resistencia «*in vitro*» a la Oxacilina (OXA).

### REFERENCIAS

1. Chagunda MGG Friggens NC, Rasmussen MD, Larsen T. A Model for Detection of Individual Cow Mastitis Based on an Indicator Measured in Milk. *J Dairy Sci* 2006;89:2980-98.
2. Zoccal R, Vasconcelos A, Junqueira R, Zamagno M. A nova pecuária leiteira brasileira. III Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite; Recife, Brasil: PROGENE, DZ-UFRPE; 2008.
3. Nero IA, Mattos MR, Beloti V, Barros MAF. Hazards in non-pasteurized milk on retail sale in Brazil: prevalence of *Salmonella ssp.*, *Listeria monocytogenes* and chemical residues. *Braz J Microbiol.* 2004;35:211-5.
4. Cavalcante FA. Manejo Necessário no Rebanho Leiteiro para uma Boa Ordenha. Acre, Brasil: EMBRAPA; 2004.
5. Costa D, Reinemann DJ, Cook N, Ruegg P. The Changing Face of Milk Quality and Milking Technology in Brazil. Wisconsin, EEUU: Babcock Institute; 2004.
6. Ávila S, Gutiérrez AJ, Sánchez JI, Canizal E. Comparación del estado de salud de la ubre y la calidad sanitaria de la leche de vacas ordeñadas manual o mecánicamente. *Veterinaria México.* 2002;33(4):387-94.
7. Vasconcelos MA. Importância do diagnóstico microbiológico para a detecção da mastite. III Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite; Recife, Brasil: PROGENE, DZ-UFRPE; 2008.
8. Bradley AJ, Green MJ. Factors affecting cure when treating bovine clinical mastitis with cephalosporin-based intramammary preparations. *J. Dairy Sci.* 2009;92(5):1941-53.
9. Pitkälä A, Hayeri M, Pyörälä S, Myllys V, Honkanen-Buzalski T. Bovine mastitis in Finland 2001 – Prevalence, distribution of bacteria and antimicrobial resistance. *J Dairy Sci.* 2004;87:2433-41.
10. Nunes G, Vasconcelos MA, Lange CC, Gomes C, Castro L, Feitosa JR. Qualidade do leite de rebanhos bovinos localizados na Região Sudeste: Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Janeiro/2007 a Junho/2008. III Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite; Recife, Brasil: PROGENE, DZ-UFRPE; 2008.
11. Faría JF, García A, D'Pool G, Valero K, Allara M, Angelosante G. Detección de mastitis subclínica en bovinos mestizos doble propósito ordeñados en forma manual o mecánica. Comparación de tres pruebas diagnósticas. *Revista Científica.* 2005;15(2):109-18.
12. Alfonso D, Pérez C, Silveira EA. Evaluación epizootológica de la mastitis bovina en cuatro vaquerías. REDVET [serial on the Internet]. 2008 [cited 2009; 9(7): Available from: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070708/070801.pdf>.
13. Rabello RF, Souza CRVM, Duarte RS, Lopes RMM, Teixeira LM, Castro ACD. Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolates Recovered from Bovine Mastitis in Rio de Janeiro, Brazil. *J Dairy Sci.* 2005;88(9):3211-9.
14. Koneman EW. Enterobacteriaceae. Diagnostic Microbiology. 5 ed. Philadelphia, EEUU: Lippincott-Raven; 1989.
15. Baird-Parker AC. The Staphylococci: an introduction. *J Appl Bacteriol.* 1990;19:15-85.
16. Bauer AW. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966;54(4):493-6.
17. Ferraro L, Scaramelli A, Troya H. Prevalencia de la Mastitis Subclínica Bovina en Venezuela y Evaluación de la Prueba de Mastitis de California (CMT) como Prueba Diagnóstica. *Revista Científica.* 1999;9(2):81-90.

18. González R, Wilson D. Realistic milk culture programs for herd expansion. In: NMC, editor. Annual Meeting National Mastitis Council; Florida, EEUU: NMC; 2002.
19. Sargeant JM, Leslie KE, Shirley JE, Pulkrabek BJ, Lim GH. Sensitivity and Specificity of Somatic Cell Count and California Mastitis Test for Identifying Intramammary Infection in Early Lactation. *J Dairy Sci.* 2001;84(9):2018-24.
20. Dohoo IR. Setting SCC cutpoints for cow and herd interpretation. In: NMC, editor. Annual Meeting National Mastitis Council; Reno, EEUU: NMC; 2001.
21. Freitas MFL, Pinheiro JW, Stamford TLM, Rabelo SSA, Silva DR, Silveira VM, *et al.* Perfil de Sensibilidade antimicrobiana in vitro de Staphylococcus coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. *Arq Inst Biol.* 2005;72(2):171-7.
22. Lam TJ, Schukken YH, van Vliet JH, Grommers FJ, Tielen MJ, Brand A. Effect of natural infection with minor pathogens on susceptibility to natural infection with major pathogens in the bovine mammary gland. *Am J Vet Res* 1997;58(1):17-22.
23. Pyörälä S, Taponen S. Coagulase-negative staphylococci—Emerging mastitis pathogens. *Vet Microbiol.* 2009;134(1):3-8.
24. Pinheiro de Sá ME, Mota RA, Souza MI, Oliveira AAF. Etiologia da mastite subclínica em bovinos leiteiros do agreste meridional do Estado de Pernambuco. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária.* 2000;7(2):100-3.
25. Brito MAVP. Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos para amostras de Staphylococcus aureus isoladas de infecção intramamária bovina. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2001;53(5):531-7.
26. Owens WE, Watts JL, Greene BB, Ray CH. Minimum inhibitory concentrations and disk diffusion zone diameter for selected antibiotics against Streptococci isolated from bovine intramammary infections. *J Dairy Sci.* 1990;73:1225-31.

**(Recibido 22-12-2009; Aceptado 30-9-2010)**