

# Efecto de la mastitis subclínica sobre la calidad láctea<sup>1</sup>

Carlos Pedraza G.,<sup>2</sup> Joaquín García E.,<sup>2</sup> Claudio Ciudad B.,<sup>3</sup> Rosa Palma V.,<sup>3</sup>  
Gastón Alegría R.<sup>4</sup> y Livio Zurita A.<sup>4</sup>

## INTRODUCCION

Mastitis Subclínica es una de las formas de presentación de la mastitis bovina, enfermedad que provoca cuantiosas pérdidas económicas en el campo de la producción lechera. Con el uso del Test de California, ha sido posible detectar en el país altos índices de prevalencia de esta enfermedad que alcanza al 74,41% de las vacas y 48,81% de los cuartos (Zurita, Palavicino, Cripe, Timm, Styles, 1972; Caballero, Raby y Ebert, 1970).

Conocer las variaciones que experimentan las leches provenientes de glándulas mamarias enfermas de mastitis subclínica (MSC) constituye una necesidad cuando se han establecido mecanismos de pago por calidad láctea.

De acuerdo a numerosos antecedentes científicos Gray y Schalm (1960), (1962); Forster, Ashworth y Luedecke (1967); Ashworth, Forster y Luedecke (1967), se puede afirmar que la producción de una glándula mamaria puede disminuir en un rango que va desde un 5% hasta 43% a causa de la mastitis subclínica. Estas cifras indican la enorme pérdida que debe ocurrir en aquellos rebaños altamente afectados. Sin embargo, se ha establecido que, además de la pérdida antes señalada, la leche producida es de inferior calidad nutricional.

El presente trabajo reúne información sobre el comportamiento de diversos parámetros indicadores de calidad en leches valoradas a través del Test de California.

## MATERIALES Y METODOS

La investigación se realizó en seis lecherías de la provincia de Santiago, durante los meses de junio, julio y agosto de 1976. Se ocupó un total de 272 vacas con 1.088 cuartos. Para el diagnóstico de la MSC se utilizó el

<sup>1</sup>Recepción originales: 18 de marzo de 1977.

<sup>2</sup>Méds. Vets., Programa Producción de Leche, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Casilla 5427, Santiago, Chile.

<sup>3</sup>Bioquímicos, Laboratorio Central, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Casilla 5427, Santiago, Chile.

<sup>4</sup>Méds. Veterinarios, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de Chile.

Test de California. Como requisito para ingresar al muestreo se consideró que las vacas estuvieran bajo régimen de ordeño mecánico. No debían presentar mastitis clínica ni estar en tratamientos con antibióticos. Además, debían encontrarse como mínimo un mes y como máximo ocho meses de lactancia.

Las muestras se ordenaron de acuerdo a su reacción con el Test, en cinco grupos, que correspondieron a tratamientos, usándose un diseño completamente al azar con 80 repeticiones. Los grupos de leche correspondientes a los grados CMT normal, CMT trazas, CMT<sub>1</sub>, CMT<sub>2</sub> y CMT<sub>3</sub> del Test de California, fueron: leche normal, leche con mastitis grado trazas, leche con mastitis grado 1, leche con mastitis grado 2 y leche con mastitis grado 3, respectivamente.

Previo a la extracción de las muestras, se lavó la ubre con una solución desinfectante y se secó prolijamente. En seguida, se desinfectó el pezón con alcohol de 75 grados.

Cada muestra se sometió a las siguientes determinaciones:

1. Test de California (Schalm y Noorlander, 1957).
2. Densidad medida a temperatura constante 15°C con Lactodensímetro (Goss, 1953).
3. Test de Reducción del Azul de Metileno o tiempo de Reductasa (Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 1953).
4. Cultivo Bacteriológico. Las muestras fueron tomadas asépticamente, en frascos estériles de 60 ml.

Examen microscópico directo: se utilizó coloración de Gram.

Siembra y aislamiento en medios diferenciales para bacterias aerobias y anaerobias, hongos y micoplasma.

La identificación final se hizo en base a los caracteres microscópicos, biológicos y bioquímicos, según la clave de Bergey (Buchanan y Gibbons, 1974).

5. Proteína total. Determinada por el método Kjeldahl (Standard Methods for the Examination of Dairy Products, 1953).
6. Caseína. Precipitación selectiva aprovechando características del punto isoeléctrico del complejo proteico caseína. Se utilizó el método Kjeldahl (Standard Methods

for the Examination of Dairy Products, 1953).

7. Acidez de la leche. Se utilizó el método Dornic (FAO, 1965).
8. pH. El potencial de hidrógeno se midió con un potenciómetro Metrhom directamente de la muestra.

Cabe mencionar que todas las determinaciones mencionadas se realizaron dentro de los primeros 60 minutos de haberse obtenido la muestra de leche.

## RESULTADOS Y DISCUSION

**CMT.** A través del muestreo con el CMT, se detectó un 84,2% de vacas enfermas con un 61,76% de cuartos afectados. Del total de cuartos enfermos, se pudo observar que el 34,52% correspondió a CMT<sub>1</sub>; 22,47% a CMT<sub>2</sub>; 20,38% a CMT<sub>3</sub> y 20,68% a CMT<sub>3</sub>. Sólo el 1,93% presentó mastitis clínica.

**pH.** El pH de la leche fresca fluctúa entre 6,4 y 6,7 (Revilla, 1969); Schmidt-H (1966). En este estudio el pH varió entre 6,7 y 6,88 (Cuadro 1) constatándose un aumento gradual del pH como consecuencia de la mastitis subclínica. Al comparar los promedios de pH entre los diferentes grados de CMT, se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) (Cuadro 1). Los valores de pH superiores a 6,70 en leches provenientes de glándulas inflamadas (MSC) se deben a la incorporación de constituyentes sanguíneos secretados por los tejidos alterados de la glándula (Milk Industry Foundation, 1957).

**Acidez.** Se observó un descenso gradual de la acidez a medida que se intensificó la MSC (Cuadro 1), encontrándose valores bajo lo normal para CMT<sub>2</sub> y CMT<sub>3</sub>. La acidez normal de la leche fresca, fluctúa entre 16°-18° Dornic (Veisseyre, 1972); según Henderson (1971), ésta no se debe al ácido láctico, sino que al comportamiento ácido, especialmente de caseína y algunos fosfatos lácteos.

El descenso en la acidez se ajusta al comportamiento del pH encontrado, obteniéndose un coeficiente de correlación  $r = -0,96$  ( $P \leq 0,01$ ) entre pH y acidez de la leche. Se logró determinar una correlación positiva  $r = 0,95$  ( $P \leq 0,05$ ) entre valores de caseína y los de acidez.

De acuerdo a lo expresado anteriormente, se puede considerar a la caseína como un factor importante para explicar el descenso en

Cuadro 1 — Variación de parámetros indicadores de calidad en leches sometidas al CMT

	pH	Acidez Dornic	Proteína total gr %	Caséina gr %	$\frac{N \text{ Caséina}}{N \text{ total}} \times 100$ %	Densidad gr/ml	Tiempo de reduc- ción del azul de metileno (h)
CMT <sub>n</sub>	± 0,02 6,70 a	± 1,59 17,03 a	± 0,34 3,13 a*	± 0,45 2,30 b	± 6,11 73,53 a	± 0,002 1,031 a	± 16,98 36,84 a
CMT <sub>t</sub>	± 0,11 6,74 ab	± 1,98 16,91 a	± 0,42 3,21 a	± 0,32 2,36 a	± 7,26 73,38 a	± 0,002 1,031 a	± 14,67 33,59 a
CMT <sub>1</sub>	± 0,09 6,76 bc	± 2,16 16,70 a	± 0,33 3,27 a	± 0,38 2,36 a	± 7,79 71,43 ab	± 0,002 1,031 a	± 14,77 27,35 b
CMT <sub>2</sub>	± 0,16 6,80 c	± 2,17 15,82 b	± 0,45 3,21 a	± 0,32 2,23 c	± 7,79 70,20 b	± 0,002 1,030 b	± 13,02 28,13 b
CMT <sub>3</sub>	± 0,2 6,88 d	± 3,51 14,69 d	± 0,61 3,19 a	± 0,38 2,10 d	± 11,88 61,51 c	± 0,0082 1,028 c	± 16,26 27,49 b
	$\bar{X} = 6,78$	$\bar{X} = 16,23$	$\bar{X} = 3,20$	$\bar{X} = 2,27$	$\bar{X} = 70,81$	$\bar{X} = 1,030$	$\bar{X} = 30,68$

\*Promedios seguidos de igual letra no difieren estadísticamente (P ≤ 0,05), según Prueba de Duncan.

acidez manifestado por las leches positiva al Test de California.

La acidez Dornic no difirió significativamente entre las leches correspondientes a los grados CMT<sub>n</sub>, CMT<sub>1</sub> y CMT<sub>2</sub>, los que presentaron acidez normal (Cuadro 1). Esto se debe probablemente al efecto tamponante natural de la leche, condición que se pierde gradualmente a medida que la MSC aumenta la intensidad (CMT<sub>2</sub> y CMT<sub>3</sub>).

**Proteína Total.** Los valores de proteína total más frecuentes de observar en leche fresca se encuentran alrededor de 3,32%, Henderson (1971); 3,6%, Webb y Whittier (1970); 3,35%, Revilla (1969), y en Chile 3,53% ± 0,244 (Pinto, 1976). En este trabajo se encuentra un valor de 3,20% que se considera levemente inferior a lo normal.

No hubo diferencias estadísticamente significativas en el contenido de proteína de acuerdo a grado en el Test de California (Cuadro 1); por lo tanto, no se detectó efecto de la MSC sobre la proteína total. Este resultado difiere de lo observado por Ashworth y Blosser (1964), que encuentran incrementos en la proteína total explicado por la aparición de proteínas sanguíneas en el suero lácteo.

**Caseína.** El contenido normal de caseína alcanza al 2,5%, Revilla (1969); 2,6%, Webb y Whittier (1970), y en Chile 2,75% ± 0,233 (Pinto, 1976). El valor promedio encontrado en este estudio es 2,27%, resultando levemente inferior a lo normal.

El efecto negativo de la MSC sobre este parámetro se aprecia al comparar leche normal al CMT y los grados más altos de MSC (CMT<sub>2</sub> y CMT<sub>3</sub>), efecto que no se observó en los grados CMT<sub>t</sub> y CMT<sub>1</sub>.

**Relación N Caseína/N total.** De esta relación se citan valores que fluctúan entre 77,3 y 80,7% (Rowland, 1938), 69,4 y 84,3%, con un valor promedio de 77,6% Vanlandingham, Weakley, Moore y Henderson (1941). Se encuentran diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0,05$ ) al comparar los promedios obtenidos en este estudio (Cuadro 1). El descenso observado en los valores de CMT<sub>2</sub> y CMT<sub>3</sub> confirman la disminución de caseína a la vez que permite establecer la existencia de un desplazamiento de la caseína por otro tipo de proteínas, ya que la proteína total no varía (Jones y Little, 1933).

**Densidad.** Una densidad  $d = 1,0325$  gr/ml se considera normal para una leche fresca y sana (Revilla, 1969), existiendo un rango posible que fluctúa entre 1,027 – 1,035 gr/ml (Spreer, 1975) (Veisseyre, 1972).

En este estudio, la densidad tendió a disminuir con el aumento de intensidad de la mastitis subclínica, encontrándose un valor bajo lo normal para leche CMT<sub>3</sub> (Cuadro 1), siendo los valores para los grados CMT<sub>2</sub> y CMT<sub>3</sub> significativamente más bajos que para los grados menores de mastitis subclínica.

La densidad disminuye por alza en los sólidos grasos o bien por disminución de proteína, lactosa y sales minerales (Spreer, 1975).

Según Ashworth, Forster and Luedecke (1967), los sólidos grasos disminuyen en promedio 0,45%, como consecuencia de la mastitis subclínica. El efecto negativo de la MSC sobre la producción lechera podría estar influyendo sobre el contenido graso de la leche. De acuerdo a Forster, Ashworth y Luedecke (1967), la producción de leche disminuye en 9% – 19,5% – 31,8% – 43,4% por efecto de la MSC diagnosticada por CMT al pasar desde CMT<sub>t</sub> hasta CMT<sub>3</sub>, respectivamente. En las glándulas afectadas por mastitis grado 2 y 3 se observa el mayor deterioro de producción. Es probable que proporcionalmente la grasa se concentre ya que su disminución es menos intensa que el volumen de leche total, como resultado de ello, la densidad debería bajar.

**Test de Reducción del Azul de Metileno (AM).** Se observa una disminución significativa del tiempo requerido para reducir al (AM) a medida que se intensifica la mastitis subclínica (Cuadro 1). Se consideran los valores obtenidos como iniciales para esta variable. Los valores obtenidos en cada grado del Test de California, representan el tiempo máximo de reducción del azul de metileno para su categoría. Si se observa (Cuadro 1), queda de manifiesto el efecto de la MSC sobre el tiempo de reducción, significando esto que los grupos, según el CMT, tienen diferentes niveles desde la partida.

El alto número de horas requerido para decolorar al azul de metileno, se puede considerar probablemente como efecto del tipo, concentración y calidad de las bacterias presentes, Demeter (1969).

**Cultivo Bacteriano.** Los resultados indican que se detectaron microorganismos patógenos

incluso en leches que reaccionan negativamente al CMT (Cuadro 2). Se aprecia un incremento en el porcentaje de muestras positivas a bacterias patógenas, al aumentar la intensidad de la MSC, particularmente en los grados CMT<sub>2</sub> y CMT<sub>3</sub>. Según Schalm *et al.* (1971), la presencia de microorganismos patógenos en la glándula mamaria y la ausencia de síntomas clínicos de mastitis configuran el cuadro denominado "Infección Latente", situación que se debe considerar como un estado previo a la mastitis clínica.

Se destaca el alto porcentaje de leches positivas a *Staphylococcus aureus* (21,53%), en relación a la incidencia notoriamente más baja de *Streptococcus agalactiae*. Si se expresan estos valores como porcentajes del total de leches positivas a bacterias patógenas se obtiene un 75,65% de casos ocurridos por *S. aureus* y 24,35% por *S. agalactiae*.

Esta situación difiere de lo observado por Zurita *et al.* (1972), quienes utilizando como método de diagnóstico la Reacción de Hotis, encuentran la ocurrencia de MSC explicada

Cuadro 2 — Presencia de microorganismos patógenos asociados a MSC en leches sometidas al Test de California.

	CMT <sub>n</sub> %	CMT <sub>1</sub> %	CMT <sub>2</sub> %	CMT <sub>3</sub> %	Promedio
Negativa	85,18	78,57	78,75	54,43	71,53
<i>Staphylococcus aureus</i>	9,87	16,32	16,25	35,44	21,53
<i>Streptococcus agalactiae</i>	4,93	5,10	5,00	10,12	6,93

en un 73,57% por *S. agalactiae*, en 20,73% por *S. aureus* y en 5,69% por Coliformes. Los resultados de ambos trabajos son discrepantes debido, probablemente, al uso de diferentes métodos de diagnóstico bacteriano. De todas formas, esta diferencia se considera fundamental, puesto que la infección estafilocócica es de difícil y costoso control.

El porcentaje de infección detectado en glándulas mamarias que presentaron reacción negativa al CMT, podría significar una independencia, entre la presencia de bacterias patógenas y el desencadenamiento de la mastitis subclínica. Sin embargo, el papel de la flora patógena, en una glándula ya inflamada, parecería quedar más claro si se consideran los resultados obtenidos en este trabajo.

## R E S U M E N

Se aplica el Test de California (CMT) a leches que provienen de 1.088 cuartos correspondientes a 272 vacas distribuidas en seis lecherías de la provincia de Santiago. Se encuentra 84,2% de vacas reaccionantes y 61,76% de los cuartos enfermos.

De acuerdo al CMT se establecen cinco grupos de leches, los cuales se someten a mediciones químicas y bacteriológicas. Los resultados se presentan ordenados desde leches provenientes de glándulas sin mastitis subclínica (CMT<sub>n</sub>) a leche con mastitis grado 3 (CMT<sub>3</sub>), observándose para los distintos parámetros los siguientes rangos: pH 6,70 a 6,88; acidez 17,03 a 14,69° Dornic; proteína total 3,13 a 3,19 gr %; caseína 2,30 a 2,10 gr %; densidad 1,031 a 1,028 gr/ml; test de reducción del azul de metileno 36,84 a 27,49 h.

Las diferencias para cada parámetro dentro de grados de mastitis fueron estadísticamente significativas ( $P \leq 0,05$ ), excepto para proteína total.

La incidencia de bacterias patógenas en la glándula mamaria, aumenta con el grado de mastitis subclínica. La principal flora patógena está representada por *Staphylococcus aureus* (75,65% de las muestras positivas a bacterias patógenas) y 24,35% para *Streptococcus agalactiae*.

## S U M M A R Y

## EFFECT OF SUBCLINICAL MASTITIS UPON MILK QUALITY

The California Mastitis Test (CMT) was applied to fore milk samples from 1.088 quarters corresponding to 272 cows from six dairy farms of the province of Santiago, Chile. The results indicated 84.2% of reacting cows and 61.76% quarters with mastitis.

Five milk groups according to the degree CMT were determined and these were submitted to chemical and bacteriological examinations. Results for analytical data are presented ranging from milk derived from glands without subclinical mastitis (CMT<sub>0</sub>) up to milk with mastitis grade 3 (CMT<sub>3</sub>) and the corresponding range of values determined for the various parameters were: pH 6.70 to 6.88; acidity 17.03 to 14.69° Dornic; total protein 3.13 to 3.19%; casein 2.30 to 2.10%; density 1.031 to 1.028 gr/ml; methylene blue test 36.8 to 27.5 h.

Differences for all parameters except total protein were significant ( $P \leq 0.05$ ).

Incidence of pathogenic bacteria in udders increased with increment in grade of subclinical mastitis. The main pathological flora was represented by *Staphylococcus aureus* (75.7% of samples positive to pathogenic bacteria) and *Streptococcus agalactiae* (24.3% of samples).

## LITERATURA CITADA

- ASHWORTH, U. S., FORSTER, T. L. and LUEDECKE, L. O. 1967. Relationship between California Mastitis Test reaction and composition of milk from opposite quarters. *J. Dairy Sci.* 50:1078.
- and BLOSSER, T. H. 1964. Relationship between the California Mastitis Test and the chemical composition of milk from opposite quarters. *J. Dairy Sci.* 46:696.
- BUCHANAN, R. E. and GIBBONS, N. E. 1974. *Bergey's manual of Determinative Bacteriology*. 8<sup>a</sup> edition. The Williams and Wilkins Co. 1268 p.
- CABALLERO, E., RABY, J. y EBERT, J. 1970. Diagnóstico de mastitis mediante California Mastitis Test (CMT) y estudio bacteriológico en las muestras de leche positivas al CMT en lecherías de la comuna de Máfil (Prov. de Valdivia). *ARCH. Med. Vet.* 2: 41-46.
- DEMETER, K. J. 1969. *Lactobacteriología*. Trad. por Jaime Esain Escobar. Editorial Acribia, Zaragoza. 331 p.
- FAO. 1965. Recepción de leche y control de calidad. Cursos regionales de capacitación y demostraciones en industrias lecheras en Chile, pp. 31-35.
- FORSTER, T. L., ASHWORTH, U. S. and LUEDECKE, L. O. 1967. Relationship between California Mastitis Test reaction and production and composition of milk from opposite quarters. *J. Dairy Sci.* 50:675.
- COSS, E. 1953. *Techniques of Dairy Plant Testing*. Ed. The Iowa State College Press Ames. Iowa. 350 p.
- GRAY, D. M. and SCHALM, O. W. 1960. Interpretation of the California Mastitis Test Results on milk from individual mammary quarters, bucket milk and bulk herd milk. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 136:195.
- and —. 1962. The Mastitis variable in milk yield as estimated by the California Mastitis Test. *Am. J. Vet. Res.* 23:541.
- HENDERSON, J. LL. 1971. *The fluid milk industry*. Third Edition. The Avi Publishing Company, Inc. 668 p.
- JONES, F. S. and LITTLE, R. B. 1933. Protein of the whey fraction in milk from normal and abnormal udders. *J. Dairy Sci.* 16:101.
- MILK INDUSTRY FOUNDATION. 1957. *Manual for milk plant operators*. Washington 6 D.C. 669 p.
- PINTO, M. 1976. *Materia grasa, proteínas y crioscopia de la leche. Avances de investigación*. U. Austral. Inst. Tecn. Leche. Publ. N° 6. 17 p.
- REVILLA, A. 1969. *Tecnología de la leche*. Centro Regional de Ayuda Técnica. México A.I.D. 159 p.
- ROWLAND, S. J. 1938. The protein distribution in normal and abnormal milk. *J. Dairy Res.* 9: 47.
- SCHALM, O. W., CARROL, E. J. and JAIN, N. C. 1971. *Bovine Mastitis*. Lea & Febiger. Philadelphia. 360 p.
- and NOORLANDER, D. O. 1957. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 130: 199.

- SCHMIDT, HERMANN-HEBBEL. 1966. Química y Tecnología de los alimentos. 313 p.
- SPREER, E. 1975. Lactología Industrial. Trad. José Romero Muñoz de Arenillas. Acribia, Zaragoza. 459 p.
- STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF DAIRY PRODUCTS. 1953. American Public Health Association. Inc. 345 p.
- VANLANDINGHAM, A. H., WEAKLEY, C. E., MOORE, E. N. and HENDERSON, H. O. 1941. J. Dairy Sci. 24: 383.
- VEISSEYRE, R. 1972. Lactología Técnica. Trad. Justino Burgos González, José Luis, Teresa Heredia, Acribia, Zaragoza. 631 p.
- WEBB, B. H. and WHITTIER, E. O. 1970. By products from milk. The Avi Publishing Company. Inc. Westport, Connecticut. 423 p.
- ZURITA, L., PALAVICINO, I., CRIPE, W. S., TIMM, P., y STYLES, J. 1972. Contribución al estudio de la mastitis del Bovino, formas de presentación y etiología más frecuente. Arch. Med. Vet. Vol. IV. Nº 2 (51-57).