

CONTROL DE MASTITIS SUBCLINICA BOVINA DURANTE LA LACTANCIA, MEDIANTE EL USO DE ANTIBIOTICOS INTRAMAMARIOS¹

Control of subclinical mastitis in lactating cows, using intramamary antibiotics

Carlos Pedraza G.², Eduardo de la Maza L.³, Gastón Alegría R.³ y Lázaro Zurich Z.³

SUMMARY

An experiment, designed to show the response of lactating cows to treatments with intramamary antibiotics, to control subclinical mastitis (MSC), was performed at La Platina Research Station (INIA), Santiago, Chile, during 1983.

Cows were selected under the following premises: lactation period shorter than 170 days and positive to CMT 2 or CMT 3 and to pathogen bacteria. Three groups, with 25 CMT 2 and 25 CMT 3 quarters each, were established: I, control, without antibiotics; II treated with two intramamary antibiotic applications; and III treated with four applications, both applied in successive milkings.

Stafilococcus aureus was the most frequent pathogen, present in 53% of the cases. Only a 38.5% of the quarters CMT 2 and CMT 3 were negative to pathogens presence. There were no significative differences between 2 and 4 antibiotics doses to the udder; both treatments had a significative effect. The proportion of pathogen positive quarters decreased significantly ($P \leq 0.05$) in treated cows.

INTRODUCCION

El uso de antibióticos, aplicados intramamariamente, como una posibilidad de control de la mastitis subclínica durante el período de lactancia, constituye en general una modalidad terapéutica poco difundida y que, sin embargo, algunos estudios han demostrado como eficaz, para disminuir el porcentaje de cuartos afectados (Wilson y otros, 1972) (Morris, 1973).

Los niveles productivos de leche en los animales tratados, no se modifican significativamente como consecuencia de la aplicación de esta terapia, pero sí se observa una reducción evidente en la cuenta celular y el número de cuartos infectados (Mc Dermott y otros,

1983; Mwakipesile, Holmes y Moore, 1983). Existen algunos inconvenientes, que dificultan la aplicación de la terapia durante la lactancia, como la presencia de antibióticos en la leche después del tratamiento, lo que representa un riesgo para la salud humana, así como también genera importantes pérdidas económicas a la industria láctea (Labie, 1981).

Con el objeto de aportar antecedentes al tratamiento de la mastitis subclínica en vacas lactantes, se estudiaron dos diferentes esquemas terapéuticos.

MATERIALES Y METODOS

El ensayo se desarrolló con el rebaño lechero, de raza Holstein Friesian, de la Estación Experimental La Platina (INIA), Santiago de Chile, entre mayo y diciembre de 1983.

Se utilizaron animales ubicados entre los 10 y 170 días de lactancia, positivos a los grados 2 y 3 del CMT (California Mastitis Test) y positivos a bacterias patógenas.

¹ Recepción de originales: 17 de junio de 1985.

² Estación Experimental La Platina (INIA), Casilla 439, Correo 3, Santiago, Chile.

³ Escuela Medicina Veterinaria, Univ. de Chile, Casilla 1004, Santiago, Chile.

Los resultados del CMT y la presencia de cuartos positivos a bacterias patógenas, fueron analizados en tablas, mediante la prueba de Chi-cuadrado, para dos muestras independientes (Sidney, 1972), identificándose tres tratamientos: I = sin antibióticos (testigo); II = 2 aplicaciones antibióticas intramamarias; III = 4 aplicaciones antibióticas intramamarias.

En el análisis de m.g. y s.n.g. se utilizó un arreglo factorial 2 x 3: dos grados de mastitis subclínica (CMT 2 y CMT 3) y tres niveles de tratamientos antibióticos, según antibiograma (0; 2 y 4 infusiones antibióticas intramamarias, en ordeñas sucesivas). Se consideró co-variables al número ordinal del parto y días de lactancia. Cada tratamiento se completó con 25 observaciones.

La obtención de muestras se realizó previo a la ordeña, en frascos estériles y según lo recomendado por el NMCRC (1981). La primera muestra de leche (tiempo inicial) se tomó previo al tratamiento con antibióticos y las siguientes, una y cuatro semanas después del último tratamiento antibiótico intramamario (tiempos medio y final, respectivamente). En cada instancia de muestreo, se efectuaron las siguientes determinaciones: CMT, según Schalm y Noorlander (1957); examen bacteriológico (dentro de las 2 hr de obtenida la muestra), efectuándose: homogenización de la muestra, examen microscópico, aislamiento, obtención de cultivo puro, determinación de propiedades bioquímicas e identificación de las cepas (Buchanan y Gibbons, 1974). Previo al tratamiento antibiótico, se efectuaron antibiogramas con sensibilizadores de Cloxacilina y Cloranfenicol, para utilizar el primero como antibiótico de elección y el segundo como alternativo a los agentes resistentes a Cloxacilinas. El antibiograma se desarrolló según la técnica de difusión en agar (Thornsberry y Hankins, 1977).

La materia grasa láctea se analizó mediante el método de Gerber; los sólidos totales, por desecación con aire forzado a 100°C; y los sólidos no grasos, por diferencia. La presencia de antibióticos en la leche fue determinada con delvotest P multi (R), cada 24 hr, a partir de las 18 hr posúltimo tratamiento.

Los antibióticos utilizados fueron: Cloxacilina sódica 400 mg en 10 g de aceite mineral y/o Cloranfenicol solución al 20%/o, en cantidad de 5 ml, equivalente a 1 g de antibiótico.

RESULTADOS Y DISCUSION

En un total de 283 cuartos con mastitis subclínica grados 2 y 3 del CMT, 174 presentaron bacterias patógenas (Cuadro 1).

CUADRO 1. Presencia de bacterias patógenas en cuartos con mastitis subclínica grados 2 y 3 del CMT

TABLE 1. Presence of pathogenic bacteria in quarters with subclínical mastitis (grades 2 and 3 CMT)

CMT	Cuartos con presencia de bacterias patógenas				Total
	(+)	o/o	(-)	o/o	
2	90	55,9	71	44,1	161
3	84	68,9	38	31,1	122
Total	174	61,5	109	38,5	283

El elevado porcentaje de positividad a patógenos es coincidente con lo señalado por Pedraza y otros (1978) y Mc Dermott y otros (1983), los cuales señalan además una mayor probabilidad de infección, a medida que aumenta el grado de inflamación, registrado por el CMT, de la glándula mamaria.

Los cambios experimentados por el CMT, a través del estudio, se analizan sobre las siguientes posibilidades de variación:

CMT 2: DISminución a CMT 1, T (trazas), o a -; MANtener; o AUMentar a CMT 3 o a mastitis clínica (C).

CMT 3: DIS a CMT 2 ó 1, T, o a -; MAN; o AUM a C.

El Cuadro 2 muestra la evolución observada entre el CMT inicial (CMT_i), el CMT medio (CMT_m) y el CMT final (CMT_f) en los distintos tratamientos.

Las variaciones ocurridas en el tiempo medio (CMT_m, una semana de aplicado el tratamiento), permiten observar una tendencia hacia la disminución del grado original o mantención del CMT registrado. Esta situación es justificable en los que recibieron antibióticos; sin embargo el tratamiento I (testigo), que no recibió

CUADRO 2. Evolución del CMT_i a CMT_m y CMT_f, en los distintos tratamientos

TABLE 2. Evolution of CMT_i to CMT_m and CMT_f, under different treatments

Trat.	CMT _i	Variación observada en					
		CMT _m			CMT _f		
		DIS	MAN	AUM	DIS	MAN	AUM
I	CMT 2	9	5	11	4	9	12
	CMT 3	12	13	0	2	22	1
II	CMT 2	15	7	3	12	6	7
	CMT 3	20	5	0	14	11	0
III	CMT 2	12	7	6	8	8	9
	CMT 3	16	9	0	16	9	0

antibióticos, presentó un porcentaje de mejoría espontánea (Jackson, 1971), pero también un elevado desplazamiento de cuartos desde el grado 2 del CMT al grado 3.

El Cuadro 3, resume el efecto de los tratamientos sobre la evolución del CMT, mostrando lo ocurrido entre las determinaciones de CMT_i y CMT_f.

Se observa que, al no aplicar antibióticos (Tratamiento I), transcurridas cuatro semanas de efectuada la primera observación (CMT_i), la tendencia es a mantenerse en el grado original o aun a aumentar de intensidad, situación claramente contrastante con lo observado en los tratamientos con antibióticos, donde la tendencia predominante es hacia la disminución o mantención del grado de mastitis subclínica.

Al considerarse el grado de CMT_i (cuadros 4 y 5), se podrá apreciar que aquellos cuartos con mayor grado de inflamación (CMT_i = 3; Cuadro 5), son los que mejor reaccionan al tratamiento con antibióticos, siendo indiferente la aplicación de 2 ó 4 dosis de antibióticos.

La dispersión observada en el Cuadro 4 (CMT_i = 2), no permitió detectar diferencias estadísticas, situación sobre la cual no es posible dar una explicación satisfactoria.

La evolución del grado (CMT) de mastitis subclínica, entre el tiempo medio y el final, se puede observar en el Cuadro 6.

CUADRO 3. Resumen con la evolución del CMT_i a CMT_f, en los diferentes tratamientos

TABLE 3. Summary with the evolution of CMT_i to CMT_f, under different treatments

Tratamiento	DIS	MAN	AUM
I	6 a	31 a	13 a
II	26 b	17 b	7 b
III	24 b	17 b	9 b

En cada columna, letras distintas indican diferencias estadísticas al 5^o/o, según χ^2 .

CUADRO 4. Evolución del CMT_i = 2 a CMT_f

TABLE 4. Evolution of CMT_i = 2 to CMT_f

Tratamiento	DIS	MAN	AUM
I	4	9	12
II	12	6	7
III	8	8	9

CUADRO 5. Evolución del CMT_i = 3 a CMT_f

TABLE 5. Evolution of CMT_i = 3 to CMT_f

Tratamiento	DIS	MAN	AUM
I	2 a	22 a	1 *
II	14 b	11 b	0
III	16 b	9 b	0

* mastitis clínica.

CUADRO 6. Variación del CMT_m a CMT_f, para los distintos tratamientos

TABLE 6. Variation of CMT_m to CMT_f, under different treatments

Trat.	CMT	Grados de CMT					Clínica
		(-)	T	1	2	3	
I	CMT _m	2	4	6	14	24	0
	CMT _f	1	2	1	11	33	2
II	CMT _m	4	9	11	18	8	0
	CMT _f	5	5	9	13	18	0
III	CMT _m	11	3	9	12	15	0
	CMT _f	13	3	3	13	18	0

En esta forma, se destaca la mayor proporción de cuartos con los grados más bajos del CMT_f en los tratamientos II y III; incluso en este último se presenta un mayor número de cuartos negativos a mastitis.

Bacterias patógenas: el Cuadro 7 permite apreciar las principales cepas bacterianas aisladas de la leche, proveniente de cuartos afectados con CMT 2 y CMT 3, en cada uno de los tratamientos ensayados. Cabe destacar que, previo al tratamiento, existe una elevada frecuencia de aparición del *S. aureus*, que constituye el 55,33^o/o del total de patógenos, más un 1,33^o/o por concepto de infección mixta con otros estreptococos; similares cifras han sido descritas en otros estudios (Caballero, Raby y Ebert, 1970).

El efecto de aplicación de los antibióticos sobre el número de cuartos positivos a bacterias patógenas queda de manifiesto al observar el Cuadro 8.

Los cuartos que permanecieron positivos, luego del tratamiento, fueron significativamente menores que los controles, sin que se presentaran diferencias entre aplicar 2 ó 4 dosis de antibióticos. Especialmente notoria es esta tendencia en el tiempo medio, dado que el efecto del antibiótico a siete días de su aplicación

CUADRO 7. Bacterias patógenas en cuartos CMT 2 y 3, en los diferentes tratamientos

TABLE 7. Pathogenic bacteria in CMT 2 and CMT 3 quarters, under different treatments

Tiempo de muestreo:	Previo tratamiento							Una semana postratamiento						Cuatro semanas postratamiento						
	I		II		III			I		II		III		I		II		III		
Tratamiento:	2	3	2	3	2	3	T	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	
CMTj:	2	3	2	3	2	3	T	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	2	3	
Bacterias patógenas:																				
S. aureus	18	18	8	11	14	14	83	19	13	2	5	2	3	17	11	3	8	7	6	
+Str. agalactiae														1						
+Str. dysgalactiae							1	1												
+Str. uberis							1	1						1	2					
S. epidermidis	1		9	5	7	2	24	1						1		1			2	
Str. agalactiae	1	1				1	3	1	1		1				1		1			
Str. dysgalactiae	2	3		3	1	2	11	2						2	1		1			
Str. uberis	1	3	4	2		3	13	1	6	1			1	1	1	1			1	3
+ E. aerogenes					1		1													
C. bovis	2		4	4	2	1	13	1		1					2	1			1	
Total cuartos (+)	25	25	25	25	25	25	150	25	21	3	7	2	4	23	16	7	11	10	10	

CUADRO 8. Número de cuartos positivos a bacterias patógenas según tratamiento, a los distintos tiempos de muestreo

TABLE 8. Number of positive quarters to pathogenic bacteria, under different treatments and at different sampling times

Tratamiento	Tiempo de Muestreo		
	Inicial	Medio	Final
I	50	46 a	39 a
II	50	10 b	18 b
III	50	6 b	20 b

Letras distintas indican diferencias significativas P 0,001, según χ^2 .

aún permanece vigente. Esta situación cambia, transcurridas cuatro semanas de la aplicación del antibiótico, comprobándose un aumento de cuartos reaccionantes positivos a bacterias patógenas. Esta presencia permite suponer un grado de resistencia hacia los antibióticos utilizados, máxime si se considera que la cepa predominante fue *S. aureus*, de reconocida capacidad para mutar y hacerse resistente a los antibióticos corrientes (Philpot, 1980).

En cuanto a la detección de inhibidores, se observó la ausencia de Cloranfenicol, tanto en la leche de los cuartos tratados como en la de los no tratados, a las 36 hr (1,5 días) después de la última aplicación del antibiótico por vía intramamaria. Este hecho obedecería a características propias del Cloranfenicol y del excipiente acuoso utilizado en este caso.

Por el contrario, la detección de Cloxacilina en la leche de los cuartos tratados permitió comprobar su presencia hasta 10,5 días después de haber sido utilizada (Figura 1). Es de interés señalar que la Cloxacilina también se presentó en los cuartos no tratados, hasta los 4,5 días de realizado el tratamiento, indicando paso del antibiótico hacia los cuartos sanos (Archimbault, Aubert y Haas, 1978).

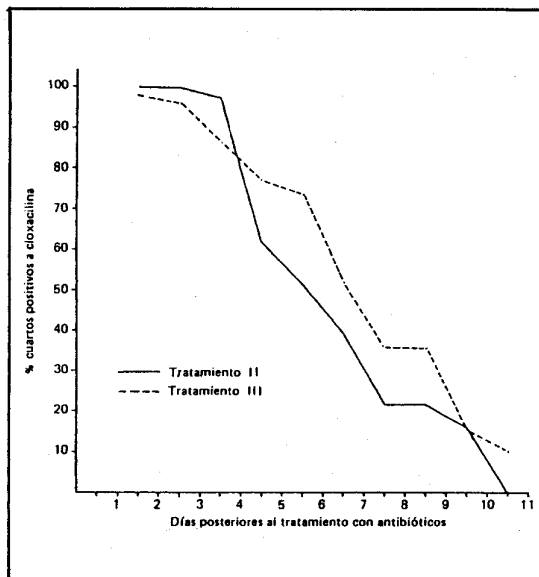


FIGURA 1. Detección de Cloxacilina en cuartos tratados. Porcentaje de cuartos positivos.

FIGURE 1. Detection of Cloxacillin in treated quarters. Percentage of positive quarters.

Materia grasa y sólidos no grasos: durante la realización del estudio, la lechería mantuvo un promedio general de 3,63% de m.g., cifra que contrastó con un 2,98% registrado para el promedio de muestras al tiempo inicial (Cuadro 9). Los tratamientos con antibióticos fueron significativamente superiores ($P \leq 0,05$) al testigo, tanto al tiempo inicial como a los tiempos medio y final. Sin embargo no se aprecia un cambio significativo en el tiempo dentro de cada tratamiento.

El tratamiento con antibióticos no produjo variaciones significativas en el porcentaje de s.n.g., para ninguno de los seis tratamientos, ni sus interacciones. Los promedios de s.n.g. observados fueron: 8,69; 8,75 y 8,59%, para las mediciones inicial, una y cuatro semanas después de la aplicación del antibiótico, respectivamente.

CONCLUSIONES

- El tratamiento con antibióticos durante la lactancia, se traduce en una disminución temporal del nivel del CMT y disminución significativa de la proporción de cuartos positivos a bacterias patógenas, no afectando el nivel de s.n.g. y de m.g.
- La mejor respuesta se obtuvo en la variable de las bacterias patógenas y en los grados 3 de mastitis subclínica.

CUADRO 9. Promedios de materia grasa (0/o) en los distintos tiempos de muestreo¹

TABLE 9. Average content (0/o) of fat, at the different sampling times

Tratamiento	Tiempo de Muestreo		
	Inicial	Medio	Final
I	2,66 b	2,67 b	2,62 b
II	3,20 a	3,52 a	3,15 a
III	3,10 a	3,31 a	2,98 a

¹ En cada columna, letras diferentes indican promedios diferentes, según Test de Duncan ($P \leq 0,05$). Los promedios presentados corresponden a los observados, pero la comparación se realizó con los promedios ajustados por covariables (m.g. inicial).

— De acuerdo a esta información, la conveniencia de efectuar este tipo de tratamientos dependerá del grado de contaminación con bacterias patógenas imperante en el rebaño. De un punto de vista económico, se recomienda el tratamiento II, que utiliza la mitad del antibiótico, logrando similares resultados al III. Sin embargo, la relación costo-beneficio deberá establecerse según las particulares condiciones de cada rebaño.

RESUMEN

Un ensayo, destinado a observar la respuesta al tratamiento con antibióticos durante la lactancia, como control de la mastitis subclínica (MSC) fue realizado en la Estación Experimental La Platina (INIA), Santiago de Chile, durante 1983. Se utilizaron animales con lactancias no mayores a 170 días, reaccionantes al CMT 2 y CMT 3 y positivas a bacterias patógenas. Para esto último, se revisaron 283 cuartos, resultando sólo un 38,5% negativos a bacterias patógenas.

Se formaron tres grupos, de 50 cuartos c/u, con 25 a nivel CMT 2 y 25 a nivel CMT 3 y todos positivos a bacterias patógenas. Los tratamientos fueron: I testi-

go sin antibiótico; II con dos aplicaciones de antibiótico intramamario en ordeñas sucesivas; y III con cuatro aplicaciones.

Stafilococcus aureus constituyó el patógeno de mayor frecuencia (55,3%). No hubo diferencias significativas entre 2 ó 4 dosis de antibióticos a la ubre; ambos tratamientos generan un efecto significativo ($P \leq 0,01$) tendiente a disminuir la intensidad de la MSC. El porcentaje de materia grasa no se modifica por acción de los tratamientos. La proporción de cuartos positivos a patógenos disminuyó significativamente ($P \leq 0,05$) en los tratados.

LITERATURA CITADA

- ARCHIMBAULT, P.; AUBERT, A. et HAAS, P. 1978. Résidus de Cloxacilline et de Néomycine dans le lait après leur administration, en association par voie galactophore. Rec. Méd. Vét. 154 (11): 951–956.
- BUCHANAN, R.E. and GIBBONS, N.E. 1974. Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed. Baltimore, Williams and Wilkins. 1268 p.
- CABALLERO, E.; RABY, H. 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 (Provincia de Valdivia). Arch. Méd. Vet. 2 (1): 41–46.
- JACKSON, E.R. 1971. Elimination of intramammary infection. En: Dodd, F.H. and Jackson, E.R. (ed). The control of bovine mastitis. Shinfield, Reading, the National Institute for Research in Dairying. p: 24–34.
- LABIE, C. 1981. Dispositions Législatives destinées a éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait. Rec. Méd. Vét. 157 (2): 161–167.
- Mc DERMOTT, M.; ERB, H.; NARSKE, R.; BARNES, F.; and BRAY, D. 1983. Cost-benefit analysis of lactation therapy with somatic cell counts as indications for treatment. J. of Dairy Sci. 66 (5): 1198–1203.
- MORRIS, R.S. 1973. The depression of quarter milk yield caused by bovine mastitis, and the response of yield to successful therapy. Australian Veterinary J. 49 (3): 153–156.
- MWAKIPESILE, S.M.; HOLMES, C.W.; and MOORE, Y.F. 1983. Antibiotic therapy for subclinical mastitis in early lactation; effects on infection, somatic cell count, milk production. N.Z. Vet. J. 31 (11): 192–195.
- NMCRC—National Mastitis Council Research Committee. 1981. Microbiological procedures for use in the diagnosis of bovine mastitis. 2nd ed. Washington D.C. 35 p.
- PEDRAZA, C.; ALEGRIA, G.; BARRALES, L. y SILVA, F. 1978. Incidencia de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* determinada por examen bacteriológico directo y método de Hotis en leches sometidas al test de California. Agricultura Técnica (Chile) 38 (1): 30–35.
- PHILPOT, N. 1980. Manejo de la mastitis. Oak Brook Ill. Babson Bros, 72 p.
- SCHALM, O.W. y NOORLANDER, D.O. 1957. Experimentos y observaciones en el desarrollo de la Prueba Californiana para el diagnóstico de mastitis. Ciencias Veterinarias (México) 2 (3): 266–275.
- SIDNEY, S. 1972. Estadística no paramétrica. 2º ed. México, Editorial Trillas. p: 130–133.
- THORNSBERRY, C. and HANKINS, T.M. 1977. Agar disc diffusion susceptibility testing procedure. Atlanta, Georgia. U.S. Department of Health, Education and Welfare. 9 p.
- WILSON, C.D.; WESTGARTH, D.R.; KINGWILL, R.G.; FRIFFIN, T.K.; NEAVE, F.K.; and DODD, F.H. 1972. The effect of infusion of sodium Cloxacillin in all infected quarters of lactating cows in sixteen herds. Br. Vet. J. 128 (2): 71–86.