

Mastitis Subclínicas

COMPORTAMIENTO DE LOS DISTINTOS METODOS DIAGNOSTICOS. ESTIMACION DE SU INCIDENCIA ECONOMICA EN LA REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

Trabajo realizado en el Instituto de Industria Animal de la Facultad de Veterinaria de Montevideo, República Oriental del Uruguay. Cátedra de Tecnología de la Leche.

Dres. Líbero Rossi Lema (1)
Carlos Gil Turnes (2)

SUMARIO

Se estudia comparativamente la leche producida por 1001 cuartos correspondientes a 249 vacas de ocho establecimientos de la cuenca lechera de Montevideo, mediante técnicas de establo (determinación de pH, California Mastitis Test y test de Whiteside) y de laboratorio (contaje celular directo y siembras en placa).

Se concluye que existe relación entre el test de Whiteside, el CMT y el contaje celular directo, no así con la determinación de pH.

Se concluye que la Mastitis Subclínica estafilocócica puede ser considerada como enfermedad con incidencia económica nacional. El 68,5 % de las muestras estudiadas fueron producidas por mamas, que padecían mastitis subclínicas, y se aisló estafilococos del 29,7 % de las mismas.

-
- (1) Doctor en Medicina Veterinaria. Director del Instituto de Industria Animal. Profesor Titular de la Cátedra de Tecnología de la Leche.
(2) Doctor en Medicina Veterinaria. Ayudante Técnico de la Cátedra de Tecnología de la Leche. Colaborador Honorario de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas.

Se estima una pérdida de 79 a 177 millones de litros de leche por año en nuestro país por concepto de disminución de la producción causada por la mastitis subclínicas.

INTRODUCCION

Diferentes autores trabajando en distintas partes del mundo están llamando la atención sobre el problema de las mastitis subclínicas, de su incidencia económica, de la dificultad de su control y los problemas de salud pública (3-7-15-17-20-21-25).

La introducción de nuevas técnicas para el diagnóstico de esta enfermedad ha permitido entrar a programas de control y a estimar las pérdidas en la producción causadas por la misma (4-7-9-18-27).

En nuestro país, con una industria lechera de importancia creciente se ha indicado repetidamente la necesidad de entrar al control de mastitis (3-20-21-22-23-24). En 1965, luego de aceptarse la propuesta de la Facultad de Veterinaria en el sentido de pagar un sobreprecio a la leche producida por los establecimientos que se ajustaran a un plan denominado de leche higiénica, se estableció que los mismos deberían aceptar y dar cumplimiento a un Plan de Control de Mastitis Bovina.

No se ha realizado hasta ahora en nuestra país ningún trabajo que indicara la importancia de las mastopatías, en la producción lechera. Leániz y col, (11) consideraron que era necesario entrar en el estudio de las mastopatías bovinas y que posiblemente fuera la enfermedad infecciosa de mayor incidencia económica de la cuenca lechera. FAO-OMS (6) consideran que es una enfermedad limitada a ciertas regiones, y en la cual el tratamiento terapéutico es voluntario. Organismos internacionales (3) han recomendado que nuestro país adopte a corto plazo un plan integral de control de las mastitis bovinas.

La intención que ha guiado a los autores a realizar el presente trabajo, es la de estudiar el comportamiento de los distintos métodos de diagnóstico de que se cuenta en nuestro medio, con la finalidad de recomendar su aplicación en los programas de control de Mastitis Bovina a desarrollar. Al mismo tiempo, basados en trabajos realizados por autores especializados (7-9) estimamos la pérdida causada por la mastitis subclínicas en nuestro país de acuerdo con la frecuencia en que se da en los establecimientos estudiados.

MATERIALES Y METODOS

Las muestras estudiadas representan la totalidad de los animales en ordeño de cada uno de ocho establecimientos ubicados

en distintas zonas de la cuencia lechera de Montevideo. Como se comprueba en el cuadro 1, son establecimientos medianos y chicos con diferente grado de higiene y utilizando ya sea ordeño manual o mecánico.

CUADRO 1

Establecimiento	Nº de Vacas	Nº de Cuartos	Higiene	Ordeño	Vacas libres de mastitis subclínicas	
					Nº	%
1	24	92	Regular	Mec.	4	16.6
2	24	90	Deficiente	Mec.	0	0
3	72	320	Deficiente	Man.	9	12.5
4	57	228	Muy buena	Mec.	10	17.5
5	18	68	Deficiente	Man.	0	0
6	31	119	Deficiente	Man.	0	0
7	10	39	Deficiente	Man.	0	0
8	22	83	Deficiente	Man.	0	0
Totales	248	1.039			23	9.2

Las muestras de leche fueron extraídas por o bajo personal vigilancia de los autores. Para ello se procedió a desinfectar los pezones con una solución de hipoclorito y alcohol yodado y a recoger la muestra en tubos de ensayo (160x15 mm.) previamente esterilizados. En los establecimientos 1, 2 y 4 las muestras se tomaron al comenzar el ordeño, mientras que en los restantes las mismas corresponden al final del ordeño. Se realizó en el momento de la recolección de las muestras el examen clínico de la ubre para detectar la existencia de procesos de fibrosis u otro tipo de mastopatía. Cada animal fue individualizado y protocolizado teniendo en cuenta número de lactancias, mes de lactancia y de gestación y examen clínico de la ubre.

Las muestras se conservaron en heladera de 15 a 20 horas, para ser procesadas según las técnicas siguientes:

- 1) siembra en placa;
- 2) California Mastitis Test;
- 3) test de Whiteside;
- 4) determinación de pH y
- 5) contaje celulares directos.

Las siembras en placa se hicieron en agar sangre de ternero o conejo desfibrinada al 5 % mediante ansa de platino, por agota-

miento, utilizando una placa de Petri para los cuatro cuartos de una vaca. Se realizó observación de las siembras a las 24 horas de cultivo y a las 48 se hizo observación microscópicas de las especies bacterianas cultivadas. En algunos casos se siguió su estudio bioquímico con la finalidad de llegar a su clasificación. Las cepas de estafilococos y estreptococos se protocolizaron con respecto a sus propiedades hemolíticas (15-17). Las cepas de estafilococos de los establecimientos 1 y 2 se estudiaron con respecto a su capacidad de coagular el plasma de conejo mediante la prueba de placa (18).

El California Mastitis Test se realizó mediante la utilización de un reactivo preparado en nuestro Instituto en base al original de Schalm y Noerlander (27) utilizando planchas provistas por Imperial Chemical Industries. La protocolización se llevó a cabo utilizando los cinco scores clásicamente admitidos de N, T, 1, 2 y 3 (4-7-8-9-27).

El test de Whiteside se realizó según la modificación introducida por Murphy y Hanson, agregando a cinco gotas de leche dos gotas de soda normal y protocolizando los resultados utilizando las cinco calificaciones aceptadas de N, T, 1, 2 y 3 (18).

Las determinaciones de pH se realizaron para los establecimientos 1, 2 y 3 mediante un potenciómetro Beckman Zeromatic I y para los restantes mediante la técnica del Alizarol.

El conteo celular directo se realizó según la técnica de Breed y Brew (2) utilizando el colorante de Levine y Black (12). Los promedios de concentración de células se determinaron luego del conteo de diez campos.

RESULTADOS Y DISCUSION

La primera parte del trabajo pretendió encontrar una relación entre las pruebas de establo y las de laboratorio, con la finalidad de justificar el uso de alguna de las primeras en una campaña nacional de control.

Tomamos para ello el conteo celular directo como prueba de referencia (1-1) y se concluye que existe una relación entre sus resultados y los aportados por las de Whiteside y CMT, y no así con la determinación de pH (25). También hemos observado que el test de Whiteside da resultados más ajustados con el conteo celular directo que el California Mastitis Test. Por último, de la comparación mencionada se desprende, tal cual se comprueba en el cuadro 2, que los resultados son más comparativos cuando se considera como presuntivo de mastitis subclínica a toda reacción de Whiteside o CMT superior a T inclusive, y no así

cuando se considera al grupo N T como negativos. El límite máximo de células de 500.000 por cc. para considerar a un cuarto libre de mastopatías es el mismo tomado como base por autores con gran experiencia en el tema (4-17-25-29).

CUADRO 2

RELACION ENTRE LAS PRUEBAS DE LABORATORIO Y DE ESTABLO

Est.	Brood			Whiteside					CMT			pH			
	<500.000	500.000-1:000.000	>1:000.000	N	T	1	2	3	N	T	1	2	3	<6,8	>6,8
1	17	3	15	16	1	5	6	7	7	0	6	9	3	9	26
2	0	1	14	2	2	3	5	3	4	0	2	2	7	11	4
3	15	9	22	17	12	9	3	5	28	5	6	6	1	42	4
4	49	10	26	38	9	17	13	8	41	17	8	11	8	73	12
5	4	12	18	5	7	12	3	7	9	11	7	3	4	34	0
6	3	1	47	15	2	8	6	20	15	4	5	12	15	48	3
7	16	8	15	11	4	13	7	4	27	1	4	4	3	39	0
8	5	6	30	1	6	2	11	21	2	4	4	3	28	36	5
Totales:	109	50	137	105	43	69	54	75	143	42	42	50	69	292	54

FRECUENCIA RELATIVA DE LAS REACCIONES

Breed		
<500.000	109	31.5 %
>500.000	237	68,5 %
pH		
<6.8	292	84.4 %
>6.8	54	15.6 %
Whiteside		
N-T	148	42.7 %
1-2-3	198	57.3 %
N	105	30.3 %
T-1-2-3	241	69.7 %
CMT		
N-T	185	53.5 %
1-2-3	161	46.5 %
N	143	41.3 %
T-1-2-3	203	58.7 %



De este mismo cuadro se desprende la importancia que se puede adjudicar a la mastitis subclínica en el muestreo realizado, ya que sólo el 31,5 % de los cuartos estudiados resultaron libres de esta enfermedad.

Consideramos que al examen clínico de la ubre debe dársele su importancia, aunque no excluye al examen directo o indirecto para la detección de las mastitis subclínicas. Como se comprueba en el cuadro 3, de 249 vacas estudiadas, 61 presentaron mastopatías detectables clínicamente, representando el 24,4 % de los animales estudiados.

CUADRO 3

MASTOPIAS DETECTABLES CLINICAMENTE

Nº de cuartos:	1.001
Nº de vacas:	249
Vacas con mastopatías detectable clínicamente:	61
% de vacas con mastopatías detectable clínicamente:	24.4 %
Cuartos atróficos:	20
Cuartos con distintos grados de fibrosis:	62
Mastitis agudas:	7
Forunculosis:	4
Varias:	3
Estafilococos:	27 vacas
Estreptococos:	2 "
Corynebacterium:	1 "
Varios:	14 "

Desde el punto de vista de las causas del elevado porcentaje de mastitis subclínica presente en los animales estudiados y que seguramente se mantenga en los restantes de la cuenca lechera, podemos considerar que existen varios puntos a tener en cuenta: higiene, metodología del ordeño, agentes etiológicos de origen microorgánico, etc.

Como se estableció en el cuadro 1 las condiciones higiénicas del ordeño y alojamiento del ganado son en su mayoría deficitarias y en ese sentido la muestra puede ser representativa de las condiciones higiénicas de los demás establecimientos de la cuenca. Este es un punto que sin duda hay que considerarlo en la planificación de la lucha contra esta enfermedad (15-19-22-28-31).

Con respecto a la metodología del ordeño, no pueden extraerse conclusiones terminantes ni comparables con las de la bi-

bliografía debido a que subsisten puntos todavía no resueltos, tal cual es el previamente mencionado de la higiene, y posiblemente su incidencia enmascare la importancia de la metodología del ordeño como predisponente a la enfermedad estudiada (15-31).

Como agentes etiológicos de origen microorgánico debemos hacer la diferenciación entre los agentes bacterianos, víricos y micóticos. Del trabajo realizado se desprende la importancia manifiesta de estafilococos como agentes de la mastitis subclínicas, corroborando los resultados obtenidos por distintos autores (17-28) y el desplazamiento que están sufriendo a este respecto las diferentes especies de estreptococos.

CUADRO 5

Est.	Muestras sembradas	Estafilococos			Estreptococos		Corynebacterium	
		H	no H	%		%		%
1	88	37	3	44.5	0	0	1	1.1
2	90	16	1	18.8	5	5.5	0	0
3	189	27	2	15.3	4	2.1	3	1.5
4	228	59	19	34.2	0	0	1	4.3
5	68	28	3	45.5	0	0	5	7.3
6	95	14	11	26.3	2	2.1	8	8.4
7	39	0	8	20.5	0	0	8	20.5
8	84	13	21	40.4	3	3.5	0	0
Totales	881	194	68	29.7	14	1.5	35	3.9

De los datos tabulados en el cuadro 5 se desprende la importancia que han adquirido los estafilococos como agentes de mastitis subclínica. Con respecto a las especies de *Corynebacterium* cabe destacar que en la intención de clasificar la especie actuante hemos encontrado por primera vez en Uruguay (26) el *Corynebacterium bovis*, por lo que no podemos informar si los *Corynebacterium* aislados son *C. pyogenes* o *C. bovis* o en que porcentaje se aisló cada uno de ellos.

Dentro del grupo de varios se encuadran bacterias que la sistematización del trabajo no permitió clasificar, pero dentro de los cuales hay bacilos Gram—, microorganismos morfológicamente similares a levaduras y hongos.

Tenemos la sospecha de que existe en nuestro país, tal cual lo hemos podido apreciar en el examen clínico de 1001 cuartos, mamilitis a virus (10-14). No contamos en nuestro laboratorio con equipo adecuado para realizar el aislamiento y la clasificación correspondiente, por lo que no se ha incluido en el trabajo.

CUADRO 4
RESUMEN DE LAS DISTINTAS TECNICAS DE DIAGNOSTICO

Est.	pH>6.8	W>T	CMT>T	Breed >500.000	Strep.	Staph.	Coryns.
1	62:91 68.1 %	44:92 47.8 %	45:88 51.1 %	19:40 47.5 %	0	37	3
2	18:89 20.2 %	73:90 81.1 %	43:62 69.3 %	45:47 95.7 %	5	16	1
3	16:178 8.9 %	212:320 66.2 %	168:320 52.5 %	79:137 57.6 %	4	27	2
4	21:170 12.3 %	146:228 64.0 %	129:228 56.5 %	46:116 39.6 %	0	59	19
5	0:68 0.0 %	56:68 84.7 %	44:68 64.7 %	29:34 85.2 %	0	23	3
6	6:119 5.0 %	89:113 78.7 %	87:112 77.6 %	49:52 94.2 %	2	14	11
7	0:39 0.0 %	28:39 71.7 %	12:39 30.7 %	23:39 58.9 %	0	0	3
8	10:83 12.0 %	76:83 91.5 %	73:82 89.0 %	37:42 88.0 %	3	13	21

Basados en los datos precedentemente establecidos, creemos que de mantenerse estos porcentajes para las cuencas lecheras de nuestro país, la mastitis asubclínica puede ser considerada como enfermedad de incidencia económica nacional. Para demostrarlo hemos estimado la pérdida anual en litros de leche, de acuerdo con una producción anual estimada en 730 millones de litros, basándonos en la relación existente entre el grado de CMT y la disminución de la producción por el cuarto correspondiente. Hemos tomado como base los trabajos que indican la merma mínima y la máxima, a saber 6., 10., 16., y 24.5 y 9., 19., 31.8 y 43,4 % para grados T, 1, 2 y 3 respectivamente (7-9).

CUADRO 6
FRECUENCIA DE LOS GRADOS DE CALIFORNIA MASTITIS TEST

Est.	Nº de muestras	N	T	1	2	3
1	88	43	0	22	17	6
2	62	19	3	11	6	23
3	277	133	33	37	41	28
4	228	99	42	24	43	20
5	68	24	19	14	5	6
6	112	25	16	11	25	35
7	39	27	1	4	4	3
8	84	9	9	11	6	49
Total	958	384	123	134	147	170
%	100	40.0	12.8	13.9	15.3	17.5

La pérdida de producción total para el país podría estimarse, de acuerdo con lo establecido en el cuadro 7, entre 79 y 177 millones de litros de leche anuales que dejan de producirse debido a la mastitis subclínicas del ganado lechero.

CUADRO 7

ESTIMACION DE MERMA DE PRODUCCION DE LECHE POR MASTITIS SUBCLINICA

(Según Gray y Schalm (9) Ficto: 2,5 lt./cuarto/día

CMT	Producción ficta	Merma	Producción real
N	960	0	960
T	307,5	18,4	289,1
1	335	33,5	301,5
2	367,5	58,7	308,8
3	425	104,1	320,9
Total	2.395	214,7	2.180,3

(Según Forster, Asworth y Luedecke (7)

N	960	0	960
T	307,5	27,6	279,9
1	335	65,3	269,7
2	367,5	116,7	250,8
3	425	184,4	240,6
3	425	184,4	240,6
Total	2.395	394	2.001

La producción posible, mediante el control de la mastitis subclínica, sería de 809 millones de litros y 907 millones, según el primer y segundo cuadro respectivamente.

SUMMARY

A comparative study of the milk produced by 1001 quarters of 249 cows in eight dairy farms of the dairy area of Montevideo was done by stable techniques (pH determination, California Mastitis Test and Whiteside Test) and laboratory techniques (direct microscopic cell count and plate culture).

We conclude that a relation between Whiteside Test, CMT and plate culture exists, but not with pH determinations.

We conclude, as well, that Staphylococcal subclinical mastitis may be considered as a disease with economic incidence in our country. 68,5 % of the samples were produced by udders with subclinical mastitis and Staphylococcus was isolated from 29,7 % of them.

We estimate a loose of 79 to 177 million liters of milk caused by a decrease in milk production by subclinical mastitis.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer expresamente la colaboración técnica de los Dres. Mirtha Bonilla y Luis P. Del Baglivi y de la Sra. Angélica F. de Grasso.

BIBLIOGRAFIA

- 1) BEECH, J. A. (1967). — Vet. Rec. **80**, 23, 667
- 2) BREED, R. S. y BREW, J. D. (1917). — New York Agr. Exp. Sta. Bull, 443, 717.
- 3) Cuarta Conferencia de agricultura, FAO (1950).
- 4) CULLEN, G. A. (1967). — Vet. Rec. **80**, 22, 649.
- 5) Difco Manual, 9th. ed., Detroit, Michigan, USA.
- 6) FAO - OMS - OIE (1967). — Anuario animal.
- 7) FORSTER, T. L.; ASWORTH, U. S. y Luedecke, L. O. (1967). — J. DAIRY Sci. **50**, 5, 675.
- 8) GRAY, D. M. y SCHALM, O. W. (1960). — J. am. vet. med. ass. **136**, 5, 195.
- 9) GRAY, D. M. y SCHALM, O. W. (1962). — Am. J. vet. Res. **23**, 94, 541.
- 10) HAIG, D. A. (1967). — Vet. Rec. **80**, 9, 311.
- 11) LEANIZ, R.; CAFFARENA, R.; GIL TURNES, C.; REGGIARDO, C.; PEREIRA, J. y BARRIOLA, J. (1967). — "Enfermedades infecciosas más frecuentes en el Uruguay. Su incidencia económica, diagnóstico y control". Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Veterinaria, Montevideo.
- 12) LEVINE, B. S. y BLACK, L. A. (1942). — J. milk and food Tech. **12**, 2.
- 13) LOKEN, K. I. y HOYT, H. H. (1962). — Am. J. vet. Res. **23**, 94, 534.
- 14) MARTIN, W. B.; MARTIN, B.; HAY, D. y LAUDER, I. M. (1966). — Vet. Rec. **78**, 14, 494.
- 15) Mc. CLURE, J. J.; HUGHES, K. L. DOVELL, A.; MURPHY, S. y JOYCE, E. (1965). — Aust. vet. J. **42**, 6, 194.
- 16) MILLER, D. D. y KEARNS, J. V. (1967). — J. Dai. Sci. **50**, 5, 683.
- 17) MUNCH PETERSEN, E. y GARDINER, M. R. (1965). — Aust. vet. J. **41**, 1, 5.

- 18) MURPHY, J. M. y HANSON, J. J. A. (1941). — *Cornell Vet.* **31**, 47, 55.
- 19) NEAVE, F. K.; DODD, F. H. y KINGWILL, R. G. (1966). — *Vet. Rec.* **78**, 15, 521.
- 20) ROSSI LEMA, L. y ECHENIQUE, L. (1950). — 4ª Conferencia interamericana de Agricultura, FAO.
- 21) ROSSI LEMA, L. y ECHENIQUE, L. (1956). — 1er. Congreso Nacional de Profesores de Higiene, Montevideo.
- 22) ROSSI LEMA, L. (1957). — 2º Congreso Nacional de Veterinaria, Montevideo.
- 23) ROSSI LEMA, L. (1964). — Informe de beca a los EE.UU. Facultad de Veterinaria, Montevideo.
- 24) ROSSI LEMA, L. y ECHENIQUE, L. (1964). — J 3ras. Jornadas Veterinarias de La Plata, R. Argentina.
- 25) ROSSI LEMA, L. (1967). — "Intoxicación alimenticia humana de origen estafilococo". *Gaceta Veterinaria*, (en prensa).
- 26) GIL TURNES, C. y ROSSI LEMA, L. (1967). — "Constatación en el Uruguay de *Corynebacterium bovis* en leche de vaca". *Gaceta Veterinaria*, (en prensa).
- 27) SCHALM, O. W. y NOORLANDER, D. O. (1957). — *J. am. vet. med. ass.* **130**, 199.
- 28) VAN RONSBERG, S. W. J. (1947). — *Onderstepoort J. vet. Sci.* **22**, 91.
- 29) WIKINSON, F. C. (1965). — *Aust. vet. J.* **41**, 4, 93.
- 30) WILLIAM SMITH, H. (1959). — "Staphylococcal diseases", en *Diseases due to bacteria*, editado por A. W. Stableforth y I. A. Galloway, Butterworth Scientific Publications, London.

Montevideo, octubre de 1967.