

Detección de la mastitis subclínica mediante diferentes técnicas diagnósticas en unidades bovinas.

Omelio Cepero Rodríguez; Julio César Castillo Cuenca; José Salado Rodríguez; Emilio Monteagudo Jiménez

Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Medicina Veterinaria. Carretera de Camajuaní Km 5_{1/2}, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

E-mail: juliocc@agronet.uclv.edu.cu

RESUMEN

El trabajo se realizó en tres vaquerías, (Autoconsumo de la Empresa Pecuaria Santa Clara, la Ofelia y Niña Bonita) del sector estatal del municipio de Santa Clara que poseen ordeño manual con apoyo del ternero y las vacas en producción son en su mayoría de la raza mestizo Siboney con una edad promedio de cuatro años. Se recopilaron un total de 568 muestras de leche de cada cuarto individual de animales presuntamente sanos según lo establecido en la **Norma Cubana 78-25 (1987)**. Para determinar la conductividad eléctrica y sales, pH y Potencial Redox. Además, se realizó la prueba de California Mastitis Test. (C.M.T) según **Norma Cubana 78-11-17 (1986)** para detectar los posibles grados de reacción de la mastitis subclínica, comparándose dicha técnica con la conductividad eléctrica (E.C), el pH y el Potencial Redox. Los datos obtenidos fueron procesados por con Excel, el modelo estadístico Stargraphy Plus. 4.1 para Window. De acuerdo con los resultados estadísticos obtenidos se evidenció una correlación positiva entre la técnica California Mastitis Test (C.M.T), en relación con las pruebas conductividad eléctrica, pH y las sales, mientras que no se comprobó correlación entre la C.M.T y el Potencial Redox. Se constató correlación entre los valores de conductividad eléctrica y las sales, sin embargo entre los valores de pH y Potencial Redox no se encontró ninguna correlación.

Palabras clave: Mastitis subclínica, California Mastitis Test, Conductividad Eléctrica

Subclínical Mastitis: detection by different diagnose techniques in bovine herds.

Central University "Marta Abreu" of Las Villas.

Agricultural Sciences.

Department of Veterinary Medicine.

Highway to Camajuaní Km 5½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

SUMMARY

This investigation was carried out in 3 bovine units of Santa Clara's municipality having a majority of crossbreed Siboney race aging 4 years and with manual milking supported by calves. There were collected total of 568 milk samples of each quarter from **142** apparently healthy cows, according to NC78-25(1987). These sample were tested for electric conductivity, salts, pH, redox potential, California Mastitis Test (CMT). There is a positive correlation among CMT and electric conductivity, pH and salts, meanwhile there is no correlation with redox potential. There is also correlation between electric conductivity and salts and no correlation between pH and redox potential

Key words: subclinical mastitis, CMT, electric conductivity

INTRODUCCIÓN

La leche constituye un alimento de importancia universal. Su riqueza en proteína de alto valor biológico, aporte de energía, y contribución de minerales osteotróficos hacen que esta forme parte esencial de la dieta del hombre. Es el alimento natural que mayor número de sustancias nutritivas contiene a la dieta. Otros son más ricos que ella en algún nutriente en particular, pero ninguno la supera como alimento equilibrado en componentes necesarios para el ser vivo (**Eastringe, 2001**).

Al poseer un alto contenido en agua y nutrientes, así como el pH cercano a la neutralidad, constituye un excelente medio de cultivo para el desarrollo de diferentes microorganismos, lo que desde el punto de vista social constituye un riesgo potencial, ya que la población pudiera estar expuesta al consumo de leche contaminada, cargada de agentes patógenos o sus toxinas si las normas higiénicas no se cumpliesen (**Noquera, 2001**).

En interés en evaluar diferentes técnicas y métodos de diagnósticos, en cuanto a determinar la sensibilidad y el grado de detectabilidad, especialmente a la forma

subclínica, la investigación consistió en comparar las pruebas de Conductividad Eléctrica (E.C), California Mastitis Test (CMT) y pH en diferentes vacas.

MATERIALES Y MÉTODOS.

El presente trabajo se realizó en tres vaquerías del sector estatal del municipio de Santa Clara (Autoconsumo de la Empresa Pecuaria Santa Clara, La Ofelia (Pedestales), La Niña Bonita) con ordeño manual y apoyo del ternero, las vacas en explotación son en su mayoría de la raza mestizo Siboney con una edad promedio de cuatro años. Se recopilaron un total de 568 muestras de leche de cada cuarto individual de animales presuntamente sanas según lo establecido en la **Norma Cubana 78-25 (1987)**. A todas las muestras se les determinó la Conductividad Eléctrica y sales, pH y Potencial Redox en un pH/Cond. Level 1 digitalizado, marca INOLAB WTW, de fabricación alemana en el Laboratorio de Alelopatía del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP). A cada muestra se le introdujo un electrodo para medir los valores de conductividad eléctrica y los de sales y otro para el pH y Potencial Redox, mostrando los resultados después de estabilizar la temperatura de la muestra con la del ambiente. Además, se realizó la prueba de California Mastitis Test (CMT) según **Norma Cubana 78-11-17 (1986)** para detectar los posibles grados de reacción de la mastitis subclínica, en el laboratorio de leche de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UCLV. Los datos obtenidos fueron procesados con Excel, el paquete estadístico Stargraph Plus. 5.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se observan los resultados de la prueba California Mastitis Test (CMT) en las distintas unidades bovinas investigadas, donde se puede apreciar que el mayor por ciento de muestras reaccionantes correspondió a la Unidad de Autoconsumo de la Empresa Pecuaria de Santa Clara con un 26,3%, aunque el mayor número de muestras analizadas fue en Niña Bonita, donde se obtuvo un 22,4% de muestras que reaccionaron a la prueba de California Mastitis Test (C.M.T).

En la Tabla 2 aparecen reflejados los resultados en cuanto a la detectabilidad de las mastitis subclínicas por cuartos individuales, obteniéndose un mayor número de cuartos anteriores reaccionantes a la prueba de la California Mastitis Test (C.M.T) en relación con los cuartos posteriores aunque la cantidad de muestras reaccionantes de los cuartos anteriores no presentan una diferencia marcada en relación a los cuartos posteriores.

Con relación a la técnica de California Mastitis Test (C.M.T), **Ponce (1988)** expresa que dicha prueba posee gran importancia práctica ya que permite un diagnóstico de campo rápido y sin muchas exigencias técnicas, aunque presente algunas deficiencias debido a la gran diversidad de errores a la que se encuentra expuesta y la gran variabilidad en su interpretación.

Estudios realizados en la provincia de Villa Clara por **Suárez et al (1998)** señalan que la determinación de grados reaccionantes a la California Mastitis Test (CMT), constituyen un criterio válido para indicar una situación de emergencia de mastitis subclínica en un rebaño que se corresponde a su vez con la incidencia de patógenos de alto riesgo, y refiere que dicha prueba posee importancia práctica, que permite un diagnóstico de campo, rápido y sin muchas exigencias técnicas, aunque se considera una prueba sujeta a determinadas limitaciones, siendo una de las primeras fuentes de error la propia variación de interpretación de una misma prueba por diferentes analistas, a lo que se unen factores que influyen en la lectura, tales como el tiempo que deba procederse a leer después de unir el reactivo con la leche, la homogenización de las muestras, el tiempo recorrido desde de la toma a su análisis y la calidad del reactivo.

Odierno et al (1997) y Noquera (2001) consideran que el reactivo de California para la prueba de Mastitis, posee entre sus componentes un tensoactivo que disminuye la tensión superficial de los leucocitos presentes en la leche de la vaca con mastitis, por lo que al disminuir la tensión superficial se produce el estallido de los leucocitos y su contenido, al ponerse en contacto con el producto, formando un gel en la raqueta, en dependencia del grado de reacción que presente la muestra, que es directamente proporcional al nivel de afectación que presente la glándula con agentes patógenos.

Noquera (2001) comunica que la California Mastitis Test (C.M.T) posee más de un 75% de detectabilidad de mastitis subclínica, consistiendo dicha técnica en el agregado de un detergente a la leche (alquil-aril-sulfonato de sodio) causando la liberación de ADN de las células presentes, y este se convierte, en combinación con agentes proteicos de la leche, en una gelatina. A mayor presencia de células, se libera una mayor concentración de ADN por lo que mayor será la formación de gelatina, traduciéndose en la lectura e interpretación de los resultados, como el grado más elevado de inflamación. Además del reactivo para realizar la prueba de la California Mastitis Test (C.M.T), posee un colorante que indica cambios de pH ocurridos en la leche a raíz de la inflamación.

Teniendo en consideración los resultados obtenidos en nuestro trabajo en cuanto al comportamiento de la California Mastitis Test (C.M.T) podemos expresar que coincidimos con los autores anteriormente mencionados en cuanto a que el método de detección de la mastitis subclínica mediante la California Mastitis Test (C.M.T) aunque tiene vigencia y puede ser de gran utilidad en la realización de un plan de control de mastitis a pesar de la diversidad de errores a que se encuentra expuesta y a la gran variabilidades de su interpretación.

En la Tabla 3 se muestran los valores de conductividad eléctrica y sales con respecto al grado de reacción detectado por la prueba de la California Mastitis Test (C.M.T). Se puede constatar que a medida que se aumentan los grados reaccionantes a la C.M.T aumentan los valores de conductividad eléctrica y las sales. **Fernando et al. (1995)** compararon las técnicas California Mastitis Test (C.M.T) y electro conductividad para conocer su sensibilidad y especificidad en cuanto a la detectabilidad de la Mastitis subclínica, para la interpretación de los resultados con relación a la prueba de electro Conductividad Eléctrica (EC), dichos autores sugieren la siguiente clasificación:

- Cuartos sanos (valores inferiores a 5,6 ms/cm)
- Mastitis subclínica (valores entre 5,6 y 7,9 ms/cm)
- Mastitis clínica (valores superiores a 8,0 ms/cm)

Barbano (1998) afirma que la leche procedente de una vaca afectada es mejor conductora de la corriente que la procedente de una vaca sana.

Fernando et al. (1995) asevera que la técnica de electro conductividad es una de las más seguras y eficaz en el diagnóstico de la mastitis. **Harding (1995)** señala que de todos los métodos empleados en la determinación de la incidencia de mastitis, la electro conductividad y la densidad celular son los más utilizados en el mundo. Según **Tinsky et al (1995)** el proceso inflamatorio establecido en la ubre, a raíz de la invasión y multiplicación bacteriana, resulta también en cambios en la composición iónica de la leche. Como electrolitos importantes a resaltar, que modifican su presencia en la leche se encuentran el Na^+ y Cl^- , que aumentan, y el K^+ que disminuye; esto incrementa la Conductividad Eléctrica (CE) de la leche, la cual es posible medir y ser usada como indicador de inflamación. La leche se vuelve salada, y una forma común de detectar la mastitis en el campo, es probar su sabor. Los resultados del estudio coinciden con los obtenidos por **Fernando et al. (1995)**, **Harding (1995)**, y **Tinsky et al (1995)** ya que la conductividad eléctrica permite determinar la situación de la mastitis bovina y especialmente la subclínica en un hato lechero.

Trabajos realizados por **Cepero (1991)** en diferentes unidades bovinas de la provincia de Sancti Spiritus evidenciaron una correlación positiva entre la C.M.T y la Conductividad Eléctrica (C.E) obteniéndose valores promedios que oscilaron entre 4,96 y 6,44 ms/cm. **Suárez et al (1998)** en Villa Clara demostraron una gran relación entre la C.M.T y la Conductividad Eléctrica (C.E) con valores promedios que oscilaron entre 4,98 y 5,94 ms/cm.

Se coincide con estos autores en que existe una correlación entre la C.M.T y C.E. empleadas en el trabajo, y en parte, con los rangos en los que osciló la electro conductividad, donde se puede apreciar que a medida que se incrementan los valores de pH aumentan los grados reaccionantes a la C.M.T .

En la Tabla 4 se comparan los valores obtenidos de pH y conductividad eléctrica en relación con la prueba de C.M.T, Según **Cabrera et al (1987)** los valores de pH para una leche normal deben oscilar entre 6,6 y 6,8 mientras que **Ponce (1988)** afirma que la leche por encima de 6,75 está generalmente asociado a leches con mastitis subclínicas o tratamientos con algún fármaco que provoque alteración de dicho valor.

Ponce, P. (1996) expresa que la leche de ubres afectadas con mastitis posee valores de pH iguales o superiores a 7; se consideró por tanto que la determinación del pH de la leche resulta de gran interés para realizar una valoración de vacas que estén afectadas con mastitis subclínica, ya que de acuerdo con los resultados obtenidos en el trabajo, se evidenció que a medida que aumentaban los grados reaccionantes a la C.M.T y los valores de la Conductividad Eléctrica (E.C), se incrementaban los valores de pH, existiendo entre dichas técnicas una determinada correlación.

En la Tabla 5 se muestran los valores de pH y potencial redox de acuerdo con el grado de reacción de la California Mastitis Test (C.M.T), constatándose que los valores de potencial redox no tienen un comportamiento ascendente a medida que aumentan los grados reaccionantes de la California Mastitis Test (C.M.T), por lo que dicha determinación no se puede considerar de acuerdo con los resultados de nuestro trabajo como una técnica, para orientarnos ante la presencia de una posible mastitis subclínica. De acuerdo con los resultados estadísticos realizados se constató que existió correlación entre los valores de conductividad eléctrica y las sales,

$R^2 = .6821035$ siendo $P < 0.0000010$, mientras que entre los valores de pH y potencial redox no se determinó ninguna correlación siendo $R^2 = .0008536$ y $P < 0.76012$.

Al realizar la correlación (r) entre la California Mastitis Test (C.M.T) y la Conductividad Eléctrica (E.C), se obtuvo que esta fue altamente significativa y positiva (0.976**); encontrándose una regresión (R^2) alta (0.95).

Mientras que al efectuar la correlación (r) entre la California Mastitis Test (C.M.T) y pH, se obtuvo que esta fue altamente significativa y positiva (0,987), encontrándose una regresión (R^2) alta (0,97).

En relación con los resultados estadísticos entre la California Mastitis Test (C.M.T) y el potencial redox, se encontró que esta fue negativa, significativa y alta (-0,557), encontrándose una regresión (R^2) baja (0,31) respectivamente.

Determinándose también la posible correlación entre la California Mastitis Test (C.M.T) y las sales que resultó altamente significativa y positiva (0,973) encontrándose una regresión (R^2) alta (0,95).

CONCLUSIONES

- Existe una correlación positiva entre la California Mastitis Test (C.M.T) en relación con las pruebas de conductividad eléctrica, pH y sales,
- No se evidenció existencia de correlación entre la California Mastitis Test (C.M.T) y potencial redox ni tampoco entre los valores de pH y potencial redox
- Se determinó correlación entre los valores de conductividad eléctrica y las sales.

REFERENCIAS

Barbano, D. M.. Nuevos horizontes en la calidad y composición láctea. Congreso Pan. Mastitis y Calidad de la leche. Mérida, México. 23-27 de marzo. **1998**

Cabrera, A., Alvarez J., Hidalgo, J. Microbiología de la leche. Leche y sus derivados. Manual de higiene de los alimentos II. Ediciones Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias. La Habana. Cuba. p.: 89-166. **1987**.

Cepero, O.; Llorente, D.; Hernández, J. E. Conductibilidad eléctrica, California Mastitis Test. y Conteo celular en la detección de mastitis subclínica. Trabajo de Diploma. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central de Las Villas. Cuba. **1991**.

Eastringe, M.: 2001. Control De la mastitis ambiental. Disponible en : <http://wwwa.Aces. Edu/urbans/spanis hagricultura>. [Consultado el 16 de abril de 2000]

Fernando, R.; Spahn, S.; Joster, E.: Comparación de la conductividad electrica de la con otros métodos indirectos para la detección de la mastitis forma subclínica. Journal Dairy SCR .60 (2) :44-556. **1995**.

NC 78-25.: Obtención de muestras. Comité Estatal de Normalización, La Habana Cuba. **1987**.

NC 78-11-17 Leche. Método de ensayo. Prueba california para la mastitis. Comité Estatal de Normalización, La Habana Cuba. **1986**.

Noquera, E. 2001. La mejor manera de controlar la mastitis. Disponible en : <http://www.aic.uniavi>. [Consultado el 3 de marzo de 2000].

Odierno, L.; Mercado, P.; Rampone, A.; Giraudo, I. 1997. Frecuencia de Estreptococos aislados de mastitis clínicas y subclínicas. Actas de resúmenes, Tomo I. Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina.

Ponce, P. Calidad de la leche y su control: una problemática nacional, Edición ISCAH: 1-47, **1988**.

Ponce, P. Garantía de la Calidad de la Leche Cruda. Enfoques actuales y perspectivas en América Latina. III Taller Internacional sobre Calidad de La Leche. Universidad Austral de Chile. **1996**.

Suárez, Yolanda; Cepero, O.; Jiménez, R.; Ruiz, L. 1998. Empleo de la conductibilidad eléctrica y su relación con otras técnicas de detección de mastitis subclínica. Revista Veterinaria de México. 26 / 2.

Tinsky, M.; Zagrir, S.; Pels. 1995. Detection of clinical and sub clinical mastitis using an on line electrical conductivity. Proceeding mastitis of the 3^{er} International mastitis. Ámsterdam, Holanda. semmer S5: 13-14.

Tabla 1. Resultados de la prueba de CMT en las unidades Bovinas evaluadas.

Grado de reacción (CMT)	unidades						Total
	Auto consumo Emp.Pec S.C.	%	La Ofelia (pedestales)	%	Niña Bonita	%	
-	99	68.8	90	80.4	232	74.4	421
±	7	4.9	5	4.5	10	3.2	22
+	17	11.8	4	3.6	43	13.8	64
++	11	7.6	6	5.4	13	4.2	30
+++	10	6.9	7	6.3	14	4.5	31
Total muestra	144	100	112	100	312	100	568
Muestras reaccionantes	38	26.3	17	15.2	70	22.4	125

Tabla 2. Detectabilidad de la mastitis subclínica mediante el reactivo de California por cuartos individuales.

Numero de muestras	Grado De Reacción	CMT					
		AD	AI	PD	PI	Total	%
568	-	105	106	106	101	421	74
	±	6	7	4	5	22	3.9
	+	16	23	15	13	64	11.3
	++	10	4	10	6	30	5.3
	+++	5	2	7	17	31	5.5
	muestras reaccionantes	31	39	32	36	138	24.5

Tabla 3 Valores de Conductividad Eléctrica y Sales con respecto al grado de reacción detectado por la prueba de C.M.T.

Número de muestras	Grado de reacción	CMT		Conductividad mS/cm			sales		
		total	%	\bar{X}	Valor máx.	Valor mín.	\bar{X}	Valor max.	Valor mín.
568	-	421	71.7	4.97	6.97	2.3	3.01	6.2	2.1
	±	22	4.7	5.31	7.0	2.5	3.28	4.81	2.2
	+	64	12	5.40	7.48	2.7	3.30	5.81	2.2
	++	30	5.6	5.77	7.04	2.7	3.47	6.09	2.8
	+++	31	6	5.84	7.04	2.7	3.71	5.97	2.2

Tabla 4. Comparación de los valores de C.M.T., pH y conductividad eléctrica

CMT		Conductividad mS/cm			pH		
total	%	\bar{X}	Valor máximo	Valor mínimo	\bar{X}	Valor máximo	Valor mínimo
421	71.7	4.97	6.97	2.3	6.49	6.74	6.1
22	4.7	5.31	7.0	2.5	6.50	6.62	6.23
64	12	5.40	7.48	2.7	6.54	6.88	6.23
30	5.6	5.77	7.04	2.7	6.58	6.73	6.29
31	6	5.84	7.04	2.7	6.61	6.75	6.28

Tabla 5. Valores de pH y la conductividad eléctrica con respecto al grado de reacción detectado por la prueba de C.M.T.

Número de muestras	Grado de reacción	CMT	pH	Potencial Redox
--------------------	-------------------	-----	----	-----------------

		total	%	\bar{X}	Valor máx.	Valor mín.	\bar{X}	Valor máx.	Valor mín.
568	-	421	71.7	6.49	6.74	6.1	45.37	61.3	27.6
	±	22	4.7	6.50	6.62	6.23	45.04	60.1	32.1
	+	64	12	6.54	6.88	6.23	38.57	58.1	25.5
	++	30	5.6	6.58	6.73	6.29	43.58	61.7	31.6
	+++	31	6	6.61	6.75	6.28	41.02	62.2	28.8