

## Nota Técnica

# DISMINUCIÓN EN LA INCIDENCIA DE MASTITIS EN GANADO VACUNO CON LA APLICACIÓN DE UN SELLADOR DE BARRERA EXPERIMENTAL

María Laura Fernández\*, Juan Pablo Ramírez\*, Carolina Chaves\* y María Laura Arias<sup>1</sup>\*

**Palabras clave:** Mastitis, sellador de barrera, *Staphylococcus aureus*, coliformes

**Keywords:** Mastitis, barrier sealer, *Staphylococcus aureus*, coliforms

Recibido: 15/01/08

Aceptado: 03/03/08

## RESUMEN

La mastitis es la enfermedad más común y costosa del ganado lechero en la mayor parte del mundo, causada principalmente por bacterias u otros organismos. Para tratar de controlar este tipo de infecciones, se utiliza un sellador después del ordeño. En general, estos selladores son a base de soluciones yodóforas y tienen un control efectivo en infecciones intramamarias recurrentes; no obstante, no contribuyen significativamente en la disminución de patógenos ambientales. Un sellador de barrera puede resultar más útil en el control de la mastitis causada por patógenos ambientales, ya que proporciona una barrera física sobre el orificio del pezón. El propósito de este trabajo fue determinar la eficacia de un sellador de barrera experimental, nuevo en el mercado, en la prevención de infecciones intramamarias en ganado vacuno. Se realizó una comparación de las infecciones intramamarias que ocurrieron en un hato control tratado con un sellador convencional, con otro grupo experimental, tratado con un sellador de barrera a lo largo de 10 semanas. El producto evaluado resultó ser un 75% más efectivo en la prevención de infecciones intramamarias recurrentes que el sellador convencional control. Se observó que el sellador de barrera disminuyó en un 66% las infecciones recurrentes causadas por *Staphylococcus aureus* y en un 100% las causadas por coliformes fecales, por lo que su uso reduciría el riesgo de infección. Esto implicaría un aumento en la producción de leche y una disminución en los costos veterinarios y de manejo.

## ABSTRACT

**Mastitis incidence decrease in cattle with the application of an experimental barrier sealer.** Mastitis represents the most common and expensive disease of dairy cattle worldwide and is caused by bacteria or other organisms. In order to control this kind of infection, the application of a final sealer after milking is used. Iodophore-based sealers have an effective control over recurrent intramammary infections; nevertheless, they do not contribute to the control of environmental-origin pathogens. A barrier sealer may be more effective in the control of mastitis caused by environmental pathogens since it offers also a physical barrier. The aim of this work was to determine the efficacy of an experimental barrier sealer, new in the market, in the prevention of mastitis in cattle. The intramammary infections that occurred in a control herd treated only with a conventional sealer were compared with those in an experimental herd treated with a barrier sealer, during 10 weeks. The evaluated product was 75% more effective in the prevention of intramammary recurrent infections than the conventional sealer. Barrier sealer diminished by 66% infections caused by *Staphylococcus aureus* and in by 100% those caused by fecal coliforms, so its use may have a reductive effect over the risk of mastitis in dairy cattle, resulting in cost benefits because of an increase in milk production and a reduction in treatment costs.

1 Autor para correspondencia. Correo electrónico: mlarias@cariari.ucr.ac.cr

\* Facultad de Microbiología y Centro de Investigación en Enfermedades Tropicales (CIET), Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica

## INTRODUCCIÓN

El ganado vacuno lechero, como todos los demás animales, es susceptible a una gran variedad de trastornos y enfermedades. Unos son de naturaleza metabólica o funcional, y otros son debidos a la acción de microorganismos infecciosos (Davis 1983).

La mastitis bovina es una enfermedad con una alta incidencia en la industria lechera a nivel mundial, incluso en hatos con programas de control de mastitis. Esto causa considerables pérdidas económicas, ligado a la disminución en la calidad y cantidad de la producción de leche; además, aumenta el costo del tratamiento y los servicios veterinarios, así como el desgaste del animal (Bradley 2002, Oviedo *et al.* 2006, Taverna *et al.* 2007).

La mastitis puede ser causada por al menos 135 agentes diferentes, principalmente bacterias (Lammers *et al.* 2001, Barbosa *et al.* 2007), las cuales pueden ser patógenas o de origen ambiental (Oviedo *et al.* 2006). Entre las bacterias que con mayor frecuencia causan esta infección se encuentran *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Escherichia coli* (Bradley 2002). Como factores ambientales determinantes se encuentran: la ubicación del ganado (estabulado o en pastura); la ausencia del control de moscas; hacinamiento; malas prácticas de ordeño; estación climática caliente; y malas condiciones de mantenimiento (Oliver *et al.* 2005)

La prevención de las enfermedades constituye el tratamiento más eficaz y económico a nivel mundial. En países con climas extremos, la práctica de estabular el ganado es frecuente y permite controlar el ambiente donde se desarrolla este, teniendo un efecto de disminución sobre la mastitis de origen ambiental. Esta práctica no es común en países tropicales, como Costa Rica, donde se ha encontrado que aún en hatos bien manipulados, que mantienen sus niveles de células somáticas bajas, es difícil controlar la mastitis ambiental (Bradley, 2002). En países tropicales se ha descrito un incremento en la incidencia de la enfermedad (Oliver *et al.* 2005), lo cual lleva al

productor a hacer uso de diferentes antibióticos, práctica que en los últimos tiempos se ha tratado de disminuir o evitar, dadas las consecuencias que puede tener en el animal y en el consumidor.

En los últimos años, la inmersión de pezones luego del ordeño en un sellador o solución germicida, ha sido una manera efectiva de reducir la incidencia de infecciones intramamarias, convirtiéndose en una práctica habitual en el manejo del ganado lechero. La efectividad y el poder de acción de la solución germicida, están íntimamente relacionados con los selladores empleados (Tecnología de Procesos Industriales S. A. 2006).

En general, los selladores basados en soluciones yodóforas realizan un control efectivo en las infecciones intramamarias recurrentes, especialmente en aquellas originadas por patógenos tales como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus coagulasa negativa* (National Mastitis Council 1990, Tecnología de Procesos Industriales S. A. 2006.). Sin embargo, estos selladores no contribuyen significativamente en la disminución de patógenos ambientales como *Streptococcus sp.*, y coliformes, incluyendo *E. coli*, los cuales atacan al animal en períodos entre ordeños, cuando se encuentran al aire libre, echados sobre diferentes materiales de cama (National Mastitis Council 1990, Contreras *et al.* 2006).

Se ha observado que la propagación de patógenos infecciosos y ambientales se puede reducir con una buena higiene de la ubre y sumergiendo el pezón en selladores de barrera después del ordeño, lo cual disminuye la incidencia de nuevas infecciones intramamarias (Philpot *et al.* 1978, Bradley 2002). Los selladores de barrera actúan formando una muralla entre la piel del pezón y el medio ambiente, así como un sello en la punta del pezón, impidiendo la entrada de material extraño o microorganismos en la ubre (Chacón *et al.* 2006)

Con base en lo anterior, este trabajo pretende determinar la disminución de infecciones intramamarias recurrentes en un hato de ganado vacuno, tras la aplicación de un sellador de barrera experimental (nuevo en el mercado) versus un sellador convencional, aplicado a un hato control.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Ubicación del proyecto

El proyecto se llevó a cabo en la Estación Experimental de Ganado Lechero Lic. Alfredo Volio Mata de la Facultad de Ciencias Agroalimentarias de la Universidad de Costa Rica. Para realizar la prueba se contó con 38 vacas de la raza Jersey.

El estudio se extendió por 10 semanas, con un total de 4 muestreos, tomados cada 2 semanas. Para el primer muestreo se tomó 2 muestras consecutivas de leche de cada vaca para determinar las infecciones existentes del hato antes de empezar la prueba, esto con el fin de mejorar la sensibilidad. De estos resultados se obtuvo un promedio de UFC.ml<sup>-1</sup>.animal<sup>-1</sup>.

Se trabajó con el protocolo recomendado para el muestreo y la determinación de eficacia de sellador de barrera, basado en la reducción de infecciones intramamarias recurrentes, recomendado por el National Mastitis Council (1990).

### Hato experimental vs hato control

Se trabajó con 2 hatos de 19 vacas cada uno. Los animales fueron asignados a cada hato, respecto a la fecha del último parto, días de producción y número de lactancias.

Un hato fue denominado hato de Barrera Experimental, al cual se le aplicó un sellador de barrera experimental, mientras que al hato Control, se le aplicó un sellador convencional de yodo.

Las soluciones con las que se trabajó fueron un sellador convencional con 0,44% de yoduro metálico como ingrediente activo, así como con un sellador barrera con 0,26% de yodo-povidona. Esta última solución incluyó la adición de plastificantes (6%), así como de humectantes y emolientes (15%), aditivos que le otorgaron su capacidad de formar un sellado mecánico de barrera.

### Preparación de ubres y pezones

El monitoreo del equipo de ordeño fue estricto, así como las prácticas de ordeño, para minimizar el riesgo de infecciones causadas por

la misma máquina. Los 4 cuartos fueron elegibles, excepto los que presentaban pezones deformes o con lesiones anteriores.

Las ubres, especialmente el canal o meato del pezón, fueron limpiados y secados antes de tomar la muestra. Los pezones se sumergieron en una solución germicida (presellado), al 0,5% de yodo con aplicador especial para esa labor, antes de realizar el muestreo. Dicho germicida se dejó actuar por 20-30 s y luego se removió con una toalla de papel. Se desecharon los primeros chorros de leche para reducir el número de bacterias contaminantes en el canal del pezón.

Luego, cada punta del pezón se limpió vigorosamente con un algodón con 70% de alcohol isopropílico (un algodón para cada pezón).

### Recolección de la muestra

Para reducir la contaminación de las puntas de los pezones durante la toma de la muestra, primero se recolectó de las más alejadas y de último las 2 más cercanas. En bolsas estériles Whirl- Pak se recolectaron 4 ml de cada pezón, para obtener un total de 16 ml de muestra por vaca para el conteo bacteriológico.

### Procesamiento de muestras

Se preparó una dilución inicial con 1 ml de leche en 9 ml de Agua Peptonada Estéril (APE) al 0,1%, y se agitó bien. Para el aislamiento e identificación de patógenos, cada muestra fue procesada según lo describe Pouch (2003):

- a) **Identificación de *Staphylococcus aureus*.** Se inoculó 0,1 ml de la dilución madre en una placa de Agar Baird Parker. Se incubó 48 h a 35°C para aislar *S. aureus*. A las colonias con morfología característica de *S. aureus* se les realizó pruebas de catalasa, oxidasa, y Gram, para su identificación final.
- b) **Identificación de coliformes fecales.** Se inoculó 0,1 ml de la dilución madre en una placa de Agar Mc Conkey por 24 h a 44,5°C. Se contó aquellas colonias rojas,

de 1-2 mm de diámetro, rodeadas por una zona rojiza de precipitado de sales biliares.

- c) **Identificación de *Streptococcus agalactiae*.** Se tomó 0,1ml de la solución madre y se inoculó en una placa de Agar Sangre en atmósfera microaerófila (jarra con candela), por 24 h a 37°C. Los morfotipos típicos fueron evaluados con las pruebas de Gram, catalasa, oxidasa, bilis esculina, y CAMP (Christie, Atkins and Munch-Peterson).

#### **Criterio para diagnosticar una infección nueva o recurrente con base en colonización bacteriana de la glándula mamaria**

Para determinar que un cuarto o una vaca están libres de infección cuando empieza la prueba, no deben presentarse patógenos en las muestras iniciales. Se diagnostica una infección intramamaria recurrente cuando una especie bacteriana es aislada a partir de una muestra de leche, y esta bacteria no se encontraba presente en el muestreo anterior (National Mastitis Council 1990).

#### **Análisis de los datos**

Para evaluar el efecto en la reducción de nuevas infecciones intramamarias del grupo tratado con sellador barrera, comparado con el grupo control, se utilizó la siguiente fórmula (National Mastitis Council 1990):

$$\frac{(x_1/n_1)-(x_2/n_2)}{(x_1/n_1)} \times 100$$

Donde:

- $x_1$ = número de nuevas infecciones intramamarias en vacas control.  
 $x_2$ = número de nuevas infecciones intramamarias en vacas tratadas.  
 $n_1$ = número de vacas control por unidad tiempo.  
 $n_2$ = número de vacas tratadas por unidad tiempo.

## **RESULTADOS**

Se realizó un conteo en UFC.ml<sup>-1</sup> de las 3 bacterias establecidas, en cada muestra proveniente de cada uno de los 38 animales, durante 4 muestreos. Según el criterio establecido por National Mastitis Council (1990) para la determinación de infecciones intramamarias, se observó que el porcentaje de infecciones intramamarias recurrentes causadas por *S. aureus* y coliformes fecales, fueron estadísticamente diferentes entre el grupo control y el grupo al cual se le aplicó el sellador de barrera experimental ( $p < 0,05$ ).

En el grupo control se determinó un total de 12 infecciones intramamarias recurrentes durante la prueba. De estas, 9 correspondieron a *S. aureus* y 3 se debieron a coliformes fecales. No se dio ninguna infección por *S. agalactiae*.

En cuanto al hato al cual se le aplicó el sellador de barrera experimental, se dieron 3 infecciones intramamarias recurrentes, todas causadas por *S. aureus*. En este grupo no se detectó infecciones por coliformes fecales ni por *S. agalactiae*.

Según la fórmula recomendada en National Mastitis Council (1990), el porcentaje de reducción de infecciones intramamarias recurrentes, en el grupo tratado con sellador el barrera experimental, comparado con el grupo control, fue de 66% para *S. aureus*, 100% para coliformes fecales, y 75% para la sumatoria de coliformes totales y *S. aureus*.

## **DISCUSIÓN**

Desechar la leche proveniente de animales con mastitis es aún un motivo de preocupación y pérdidas económicas en un gran número de hatos lecheros (García 2004). *S. aureus*, *S. agalactiae* y los coliformes fecales representan 3 agentes bacterianos de gran importancia y frecuencia en la producción de mastitis en ganado vacuno (Philpot *et al.* 1978, Bradley 2002, Oviedo *et al.* 2006); por lo que la utilización de un producto que proteja eficientemente al pezón de la vaca luego del ordeño, evitaría la colonización por

parte de estas bacterias (Chacón *et al.* 2006). Esta acción se ha buscado a través de los años, usando diversos agentes químicos como selladores y los actuales selladores de barrera, que adicionan una barrera física a la colonización bacteriana.

A partir de los resultados obtenidos, se logra comprobar que el grupo tratado con sellador de barrera experimental, sufrió menos infecciones que el grupo tratado con el sellador convencional. En la prueba se determinó un total de 15 infecciones intramamarias durante el tiempo de evaluación, de las cuales 12 se dieron en el grupo control al cual se le aplicó el sellador convencional, y 3 en el grupo experimental, al cual se le aplicó el sellador de barrera experimental, existiendo una diferencia a  $p < 0,05$ . Se pudo observar que el sellador de barrera experimental tiene un mayor efecto que el sellador control, en cuanto a la disminución de la incidencia de infecciones intramamarias en ganado vacuno. Estos resultados concuerdan con estudios de Bradley (2002) y Chacón *et al.* (2006), quienes se refieren a los beneficios obtenidos por el uso de selladores de barrera en la prevención de la mastitis bovina.

De todas las infecciones intramamarias determinadas durante la prueba, *S. aureus* causó un 60% en el grupo control y un 20% en el grupo con el sellador de barrera, lo cual es también estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ). El 20% restante de las infecciones que se dieron en el grupo control fueron debidas a los coliformes fecales. Lo anterior concuerda con los datos obtenidos por Contreras *et al.* (2006), demostrando que *S. aureus* es el agente infeccioso más frecuentemente relacionado con casos de mastitis bovina.

Un aspecto muy importante a considerar es la mastitis de origen ambiental. De acuerdo con Correa y Marín (2002), la rutina de sellado post-ordeño, con un yodóforo tradicional, es efectiva principalmente contra organismos patógenos infecciosos, pero no contra patógenos ambientales tales como *E. coli*. En la mayoría de los estudios realizados, las infecciones por coliformes no se reducen en un 100% (Tecnología de Procesos Industriales S. A. 2006). Contrariamente, un sellador de barrera puede ser más útil en el control

de la mastitis por patógenos ambientales que un sellador convencional, como se demuestra con los resultados obtenidos en este trabajo, donde para el caso de los coliformes fecales, hubo en total 3 infecciones intramamarias, todas dentro del grupo con sellador control, lo que equivale a un 100% de reducción de infecciones intramamarias por parte del sellador de barrera.

Con respecto a la capacidad del sellador de barrera de disminuir infecciones intramamarias recurrentes, causadas por *S. aureus* y coliformes fecales en conjunto, se obtuvo un valor de reducción de infecciones del 75%, lo cual coincide con los estudios realizados por y Philpot *et al.* (1978) y Bradley (2002), quienes reportan que la propagación de patógenos infecciosos y ambientales se puede reducir con buena higiene de la ubre y sumergiendo el pezón en selladores de barrera después del ordeño.

Como lo mencionan Bradley (2002) y Oviedo *et al.* (2006), el esfínter del pezón queda abierto durante un tiempo luego del ordeño, y esto puede llevar a la invasión de microorganismos en la glándula mamaria. La disminución en las infecciones observada en este trabajo, se debe a que el sellador de barrera experimental, contiene no solo soluciones germicidas que destruyen a los microorganismos por la vía química, sino que también contiene componentes plastificantes que actúan formando una capa protectora entre la piel del pezón y el medio ambiente, así como un sello en la punta del pezón, que impide la entrada de microorganismos a la ubre mientras el esfínter se cierra.

Cabe destacar que no se tomó en cuenta a *S. agalactiae* en ninguna de estas conclusiones, ya que, si bien hubo 3 muestras positivas por este agente durante la prueba, ninguna de estas presentaba una infección intramamaria por parte de este patógeno.

Concluyendo, el sellador de barrera utilizado no solo previno infecciones por *S. aureus*, sino que lo hizo con un mayor porcentaje de reducción que el sellador convencional, lo mismo ocurrió con el patógeno de origen ambiental. Se puede establecer que el empleo de selladores

de barrera en el ganado lechero, tiene un efecto directo en la reducción del riesgo de infección, por lo tanto, su uso implica un aumento de la producción de leche, una reducción del descarte de animales y una disminución de los costos veterinarios y de manejo. Resultando en un beneficio para el productor y la salud pública del país, dada la disminución en el uso de antibióticos para el tratamiento de la mastitis (Chacón *et al.* 2006).

### LITERATURA CITADA

- BARBOSA S., MONARDES H., CUE R. 2007. Evaluation of test-day somatic cell count of first lactating Holstein Cows. *Rev. Bras. Zoot.* 36:94-102.
- BRADLEY A. 2002. Bovine mastitis an evolving disease. *Vet. J.* 164:116-126.
- CHACÓN A., VARGAS C., JIMÉNEZ M. 2006. Incidencia en el conteo de células somáticas de un sellador de barrera (yodo-povidona 0,26%) y un sellador convencional (yoduro 0,44%). *Agronomía Mesoamericana* 2:207-212.
- CONTRERAS A., SIERRA D., SÁNCHEZ A., CORRALES J., MARCO J., PAAPE M., GONZALO C. 2006. Mastitis in small ruminants. Small ruminant's research. Murcia España. 1-9.
- CORREA M., MARIN J. 2002. O-serogroups, *eae* gene and EAF plasmid in *Escherichia coli* isolates from cases of bovine mastitis in Brazil. *Vet. Mic.* 85:125-132.
- DAVIS E. 1983. La vaca lechera. México. Editorial Limusa.
- GARCÍA A. 2004. Células somáticas y altos recuentos bacterianos. ¿Cómo controlarlos? *Dair. Sci.* 31:1-4.
- LAMMERS A., VAN VORSTENBOSCH J., ERKENS J., SMITH H. 2001. The major bovine mastitis pathogens have different cell tropisms in cultures of bovine mammary gland cells. *Vet. Mic.* 80:255-265.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL. 1990. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection. 3<sup>rd</sup> ed, USA.
- OLIVER S., GILLSPIE B., HEADRICK S., LEWIS M., DOWLEN H. 2005. Prevalence, risk factors and strategies for controlling mastitis in heifers during the periparturient period. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.* 3:150-162.
- OVIDO-BOYSO J., VALDEZ-ALARCÓN J., CAJERO-JUÁREZ M., OCHOA-ZARZOSA A., LÓPEZ-MEZA J., BRAVO-PATIÑO A., BAIZABAL-AGUIRRE V. 2006. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *J. Infect.* 20:1-11.
- PHILPOT W., BODDIE R., PANKEY J. 1978. Hygiene in the prevention of udder infections. IV. *J. Dair. Sci.* 61:950-955.
- POUCH F. 2003. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 5<sup>th</sup> ed. Washington: APHA.
- TAVERNA F., NEGRI A., PICCININI R., ZECCONI A., NONNIS S., RONCHI S., TEDESHI G. 2007. Characterization of cell wall associated proteins of a *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis case by a proteomic approach. *Vet. Mic.* 119:240-247.
- TECNOLOGÍA DE PROCESOS INDUSTRIALES S. A. 2006. Yodóforos: Dipping para el control de la mastitis. Kemical. Costa Rica.