



**DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE SUPRESIÓN DE BETALACTÁMICOS EN LECHE DE BOVINOS SANOS Y CON MASTITIS SUBCLÍNICA, UTILIZANDO UN TEST CUALITATIVO DE INHIBICIÓN MICROBIOLÓGICO**

*Fernandez, H.<sup>1</sup>; Barbero, J.<sup>1</sup>; Bontoro, J.<sup>1</sup>;  
 Litterio, N.<sup>2</sup>; Boggio, J.C.<sup>2</sup>.*

<sup>(1)</sup> Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral. R.P. Kreder 2805. Esperanza (3080) Argentina. <sup>(2)</sup> Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Católica de Córdoba. Campus Camino A. Gracia KM 10. Córdoba (5000) Argentina.  
 jcboggio@fcv.unl.edu.ar

**INTRODUCCIÓN**

En las explotaciones tamberas es frecuente la presencia de antimicrobianos en leche, pudiendo ocasionar trastornos en la salud humana y en los procesos de industrialización (Saran y Chaf Fer, 2000). Existen diversas reglamentaciones que pretenden lograr un equilibrio entre la pérdida económica para el productor y el nivel de residuos inocuos tolerables para el hombre, por lo que es importante utilizar técnicas de detección adecuadas y fijar períodos de retirada seguros, pudiendo estos últimos estar afectados por afecciones mamarias (Archimbault, 1983; Fehlhaber y Janetschke, 1992). El objetivo de este trabajo fue determinar el tiempo de supresión en preparados farmacéuticos a base de betalactámicos en vacas sanas y con mastitis subclínicas utilizando un método de detección cualitativo de inhibición microbiológica.

**MATERIALES Y MÉTODOS**

El ensayo se realizó en dos fases. En la fase 1 se administró un preparado a base de penicilina G a la dosis de 15.000 UI/kg. Para ello se emplearon 12 bovinos hembras en lactación, divididas en dos grupos. Los 6 animales del grupo 1 estaban clínicamente sanos, mientras que los del grupo 2 presentaban mastitis subclínicas, con un recuento superior a 500.000 células somáticas por ml.

En la fase 2 se valoró una formulación con 0,3 y 0,6 gramos de ampicilina y cloxacilina respectivamente, aplicándose el mismo diseño experimental que en la fase 1. En las dos fases el preparado fue administrado por vía intramamaria y se extrajeron dos muestras diarias de leche hasta el quinto día post administración.

El análisis se realizó mediante un método de inhibición microbiológica, Charm AIM-96 que utiliza esporas de *Bacillus stearothermophilus* variedad *collidolactis* en un medio de cultivo que posee un indicador de pH. El test emplea un incubador pre-programado para controlar los cambios de temperatura y tiempo, con un paso intermedio de pasteurización para reducir el efecto del cloro y otros inhibidores naturales (Zomer and Lieu, 1996). Es una técnica cualitativa, ya que indica la presencia o ausencia de los antimicrobianos en leche al inhibirse el crecimiento bacteriano o permitir su desarrollo. Los resultados positivos se interpretan con una coloración azulada en el medio, mientras que los negativos se generan cuando el microorganismo consume la glucosa del medio produciendo ácido que disminuye el pH a valores inferiores a 6, lo que hace virar el color a amarillo-verdoso.

**RESULTADOS Y CONCLUSIONES**

En ambos ensayos, en los animales afectados por mastitis subclínicas el tiempo de eliminación se extendió en forma significativa, así con Penicilina G la negativización ocurrió a las 48 horas para los sanos y a las 72 horas en los enfermos, mientras que con la asociación Ampicilina + Cloxacilina fue de 60 horas en sanos, por su parte, en los enfermos la depuración fue irregular con positivos hasta las 120 horas.

Esto se debería probablemente a los cambios que experimenta la glándula mamaria afectada por infecciones

subclínicas, entre ellos variaciones de pH, niveles de proteínas, permeabilidad de las membranas celulares que modifican la distribución y eliminación de los antimicrobianos (Baggot, 1980). También tenemos que tener en cuenta que el elevado número de células somáticas y la mayor proliferación de inhibidores naturales puede inducir a que el método de detección utilizado presente muestras con resultados falsos positivos (Gardner et al, 1996). Para dilucidar lo último mencionado y determinar la magnitud de los cambios producidos en los procesos de distribución y eliminación, debemos reiterar los mismos ensayos con métodos cuantitativos biológicos y/o químicos como los citados por Carlsson et al (1991) y Anderson, et al (1996).

**SUMARY**

The milk antibiotic remainders can cause upheavals in the human health, like induction of allergies or bacterial resistance and at another level, to affect the processes of industrialization of the same one. In order to avoid his presence it is important to use technical of detection suitable and to fix safe withdrawal times, being able these last ones to be affected by mammary affections. The objective of this work was to determine the withdrawal times to Beta-lactam antibiotics in healthy cows and with subclinical mastitis using a qualitative method of detection of microbiological inhibition. 24 Holstein dairy cattle, those were used that divided in groups according to the sanitary state of the mammary gland and the used antibiotic. Such they were administered in intramammary form and two daily milk samples were extracted until the fifth day post-administration. The analysis was made by means of the test Charm Aim-96 that uses *Bacillus stearothermophilus* var. *collidolactis*. The results showed to differences between the groups with penicillin G (48 hours for healthy and the 72 hours for the patients) and ampicilina + cloxacilina association (60 and 120 hours for healthy and the ill ones, respectively). This would probably have to the changes that the mammary gland affected by subclinical infections experiences, influencing in the pharmacokinetics characteristics of the antimicrobial ones. Also the used analytical technique is due to consider, reason why some complementary test would be due to make to confirm the results. This is similar to which it happens with this method when it is used for the detection of other antibiotics.

**BIBLIOGRAFÍA**

- ANDERSON, K. L.; MOATS, W. A.; RUSHING, J. E.; WESEN, D. P.; PAPICH, M. G. (1996). Ampicillin and Amoxicillim residue detection in milk, using microbial receptor assay (Charm II and liquid chromatography methods, after extra-label administration of the drug to lactating cows). American journal of veterinary research. 57 (1): 73 - 78.
- ARCHIMBAULT, P. (1983). Persistence in milk of active antimicrobial intramammary substances. In: Veterinary Pharmacology and Toxicology, RUCKEBUSCH, Y.; TOUTAIN P. L.; KORITZ, G. Boston, MPT Press Limited, pp. 647-657.
- BAGGOT, J. D. (1980). Distribution of antimicrobial agents in normal and diseased animals. Journal of the American Veterinary Medical Association. 176: 1085 - 1090.
- CARLSSON, A.; BJORCK, L. (1991). Charm Test II for confirmation of inhibitory substances detected by different microbial assays in herd milk. Journal of Food Protection. 54: 32 - 36.
- FEHLHABER, K. y JANETSCHKE, P. (1992). Causas de las alteraciones de salud provocadas por alimentos. 2: 7 - 128. En: FEHLHABER, K. y JANETSCHKE, P. (1992). Higiene veterinaria de los alimentos. Acribia. Zaragoza, pp. 669.
- SARAN, A. y CHAF FER, M. (2000). Mastitis y calidad de leche. Intermédica. Buenos Aires. 194 pp.
- ZOMER, E. and LIEU, T. (1996). Performance of a broad spectrum antimicrobial drug inhibition assay (AIM 96) in an interlaboratory collaborative study in bulk raw milk. Milchwissenschaft. 51 (12): 696 - 698.