

CARACTERIZACIÓN ETIOLÓGICA DE LAS MAMITIS CLÍNICAS Y SUBCLÍNICAS EN EL GANADO VACUNO

Esnal, A. Extramiana, A.B.

ANALÍTICA VETERINARIA

analitica @analiticaveterinaria.com. Tfno: 946744251

RESUMEN

Un total de 62978 muestras de leche de vacuno lechero procedentes de casos de mastitis subclínica y 3247 muestras procedentes de casos de mastitis clínica, fueron analizadas para la identificación de los patógenos implicados. Una vez descartados los cultivos negativos y contaminados, y desglosados los cultivos mixtos, se incluyeron en el estudio un total de 46204 aislamientos de mastitis subclínicas y 2287 aislamientos de mastitis clínicas. A nivel subclínico, el género *Staphylococcus*, con el 32,91%, fue el más aislado (*S. aureus*: 16,76%; estafilococos coagulasa negativos: 16,15%), seguido de las diferentes especies incluidas en Streptococcaceae (30,41%), y del género *Corynebacterium* spp (18,18%). Las Enterobacterias representaron el 13,75%. Por el contrario, en el ámbito de las mastitis clínica, Streptococcaceae fue el grupo más aislado (34,20%), seguido de las Enterobacterias (24,44%). Los estafilococos se situaron en tercer lugar, con un 20,51 % (SCN: 10,54%; *S. aureus*: 9,97%). Tanto a nivel clínico como subclínico, el resto de patógenos aislados (*Bacillus* spp, *Arcanobacterium pyogenes*, Levaduras y Mohos, *Prototheca* spp, *Pseudomonas* spp, *Mycoplasma* spp, *Mannhemia* spp, *Pasteurella* spp y otros) tuvieron cada uno de ellos frecuencias de aislamiento inferiores al 3%. Se estimó el potencial patógeno de cada microorganismo para inducir mastitis clínica, calculando lo que se denominó Índice de

Patogenicidad Clínica (IPC), cociente entre su frecuencia de aislamiento en mastitis clínica y su frecuencia de aislamiento en mastitis subclínica. Según este índice, fueron precisamente aquellos microorganismos menos prevalentes en términos absolutos los que presentaron un mayor potencial clínico, por este orden: *Prototheca* spp (3,91), *Mannhemia* / *Pasteurella* spp (3,43), *Arcanobacterium pyogenes* (2,51) y Levaduras y Mohos (2,47). Dentro de las especies más prevalentes, fueron las Enterobacterias las que mostraron un IPC más elevado (1,78). Los microorganismos que mostraron menor potencial clínico fueron *S. aureus* (0,59), *Corynebacterium* spp (0,62) y los estafilococos coagulasa negativos. (0,65). Se estudió también la evolución de la distribución etiológica a lo largo de los años, observándose una clara disminución de las prevalencias relativas de *S. aureus* (1999: 19,56%; 2005: 9,35%) y *Str. agalactiae* (1999: 8,46%; 2005: 2,26%) y un moderado aumento de Enterobacterias (1999: 13,19%; 2005: 21,44%), mientras que la prevalencia de Streptococcaceae no varió prácticamente (1999: 28,87%; 2005: 27,93%).

Abreviaturas clave: IPC = Índice de Patogenicidad Clínica; MC = mastitis clínica; MS = mastitis subclínica; RCS = recuento de células somáticas; SCN = *Staphylococcus* coagulasa negativo.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de los microorganismos causantes de mastitis en el ganado vacuno lechero es importante, ya que debido a las diferencias que presentan entre sí en cuanto a hábitat, formas de transmisión, contagiosidad y repercusión clínica y

productiva, las estrategias de control se pueden enfocar de diferentes formas (Hill, 1991). El presente estudio incluye un número elevado de muestras y de explotaciones, ampliamente representativo del conjunto del territorio español. Por otro lado, analizar las

diferencias en la distribución de los diferentes microorganismos en función del tipo de mastitis, clínica o subclínica, es interesante ya que aporta información sobre el potencial

patógeno de cada uno de ellos, estimado habitualmente a través de otros parámetros como el recuento celular.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo y expresión de resultados

En el estudio se incluyeron 66225 muestras de leche recibidas en el laboratorio de diagnóstico veterinario Analítica Veterinaria S.L., localizado en la Comunidad Autónoma del País Vasco, España. Las muestras correspondieron a vacas afectadas de mastitis clínica o sospechosas de padecer mastitis subclínica, y pertenecientes a explotaciones de ganado vacuno lechero distribuidos por todo el territorio español.

Se catalogaron como mastitis clínicas aquellas muestras que fueron identificadas como tales por parte del veterinario que envió las muestras, así como muestras que aunque no hubieran sido identificadas como clínicas por parte del mismo, presentaban una evidente alteración de la secreción láctea atribuible a un caso clínico de mastitis, tal como aspecto sanguinolento y aspecto purulento. Se catalogaron como de mastitis subclínicas, aquellas muestras que fueron identificadas como tales por parte del veterinario que envió las muestras y procedentes de glándulas

mamarias seleccionadas en base a procedimientos de diagnóstico en campo como el California Mastitis Test (CMT) o la exploración clínica de ubres, así como muestras que aunque no hubieran sido identificadas como subclínicas por parte de dicho veterinario, se enviaron al laboratorio para diagnóstico etiológico de mastitis y no presentaban alteración aparente de la secreción láctea.

Así, se incluyeron en el estudio 62978 muestras de leche de casos de mastitis subclínica y 3247 muestras de leche de casos de mastitis clínica. Una vez desglosados los cultivos positivos mixtos, el número total de cepas aisladas fue de 48491, de las cuales 46204 correspondieron a casos de mastitis subclínica y 2287 a episodios de mastitis clínica (Tabla 1). Para cada uno de los dos tipos de mastitis, la frecuencia de cada microorganismo se calculó como el porcentaje de aislamiento respecto al total de aislamientos obtenidos, una vez desglosados los cultivos mixtos en dos aislamientos cada uno de ellos.

Tabla 1. Características del muestreo.

	Total		MS		MC	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Total muestras	66225	100,0	62978	100,0	3247	100,0
Negativas	16800	25,37	15950	25,33	850	26,18
Contaminadas	6626	10,00	6330	10,05	296	9,12
Positivas	42799	64,63	40698	64,62	2101	64,71
Cultivos puros	37107	56,03	35192	55,88	1915	58,98
Cultivos mixtos	5692	8,59	5506	8,74	186	5,73
Total aislamientos ¹	48491		46204		2287	

Total aislamientos¹: Número total de cepas aisladas desglosando los cultivos mixtos

MS: Mastitis subclínicas; MC: Mastitis clínicas

La proporción entre la frecuencia de aislamiento en casos de mastitis clínica y la frecuencia de aislamiento en casos de mastitis

subclínica, puede ser un buen indicador del potencial patógeno de cada microorganismo. Para cada microorganismo se estimó el que se

denominó Índice de Patogenicidad Clínica (IPC), calculado como el cociente entre la frecuencia de aislamiento en mastitis clínicas y la frecuencia de aislamiento en mastitis subclínicas. Un IPC inferior a 1 indica una mayor frecuencia subclínica que clínica, mientras que un IPC superior a 1 indica lo contrario.

Análisis bacteriológicos

Se sembraron 0,02 ml de leche de cada muestra en medio agar Columbia con 5% de sangre de carnero (bioMérieux S.A), incubándose las placas durante 7 días a 37°C en condiciones de aerobiosis y realizándose lecturas a 24 y 48 h, así como a 5-7 días. La metodología utilizada para la clasificación de los cultivos (negativos, contaminados, positivos puros y positivos mixtos) y para identificación de los microorganismos fue en términos generales la recomendada por el National Mastitis Council (1990).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados microbiológicos del estudio se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Distribución de los diferentes microorganismos en conjunto y según el tipo de mastitis (MS y MC). Índice de Patogenicidad Clínica (IPC) estimado para cada microorganismo como el cociente de la frecuencia de aparición en MC y la frecuencia de aparición en MS.

	Total		MS		MC		IPC
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	
<i>Corynebacterium</i> spp	8658	17,85	8399	18,18	259	11,32	0,62
<i>Staphylococcus aureus</i>	7970	16,44	7742	16,76	228	9,97	0,59
<i>Staphylococcus coag. neg.</i>	7705	15,89	7464	16,15	241	10,54	0,65
Enterobacteria	6911	14,25	6352	13,75	559	24,44	1,78
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	4000	8,25	3805	8,24	195	8,53	1,04
<i>Streptococcus uberis</i>	3973	8,19	3737	8,09	236	10,32	1,28
<i>Enterococcus</i> spp	3540	7,30	3407	7,37	133	5,82	0,79
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2154	4,44	2019	4,37	135	5,90	1,35
<i>Streptococcus</i> spp	767	1,58	701	1,52	66	2,89	1,90
<i>Bacillus</i> spp	631	1,30	605	1,31	26	1,14	0,87
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	534	1,10	475	1,03	59	2,58	2,51
Levaduras	400	0,82	356	0,77	44	1,92	2,50
<i>Streptococcus canis</i>	397	0,82	380	0,82	17	0,74	0,90
<i>Prototheca</i> spp	302	0,62	253	0,55	49	2,14	3,91
<i>Pseudomonas</i> spp	295	0,61	275	0,60	20	0,87	1,47
<i>Mycoplasma</i> spp	75	0,15	72	0,16	3	0,13	0,84
<i>Pasteurella / Mannheimia</i> spp	62	0,13	53	0,11	9	0,39	3,43
Mohos	22	0,05	20	0,04	2	0,09	2,02
Otros	95	0,20	89	0,19	6	0,26	1,36
TOTAL	48491	100,00	46204	100,00	2287	100,00	1,00

A nivel subclínico, el género *Staphylococcus*, con el 32,91%, fue el más aislado (*S. aureus*: 16,76%; estafilococos coagulasa negativos - SCN: 16,15%), seguido de las diferentes especies incluidas en Streptococcaceae (30,41%), y del género *Corynebacterium* spp (18,18%). Las Enterobacterias representaron el 13,75%. Por el contrario, a nivel de mastitis clínica, Streptococcaceae fue el grupo más aislado

(34,20%), seguido de las Enterobacterias (24,44%). Los estafilococos se situaron en tercer lugar, con un 20,51 % (SCN: 10,54%; *S. aureus*: 9,97%). Tanto a nivel clínico como subclínico, el resto de patógenos aislados (*Bacillus* spp, *Arcanobacterium pyogenes*, Levaduras y Mohos, *Prototheca* spp, *Pseudomonas* spp, *Mycoplasma* spp, *Mannheimia* spp, *Pasteurella* spp, y otros) tuvieron cada uno de ellos frecuencias de

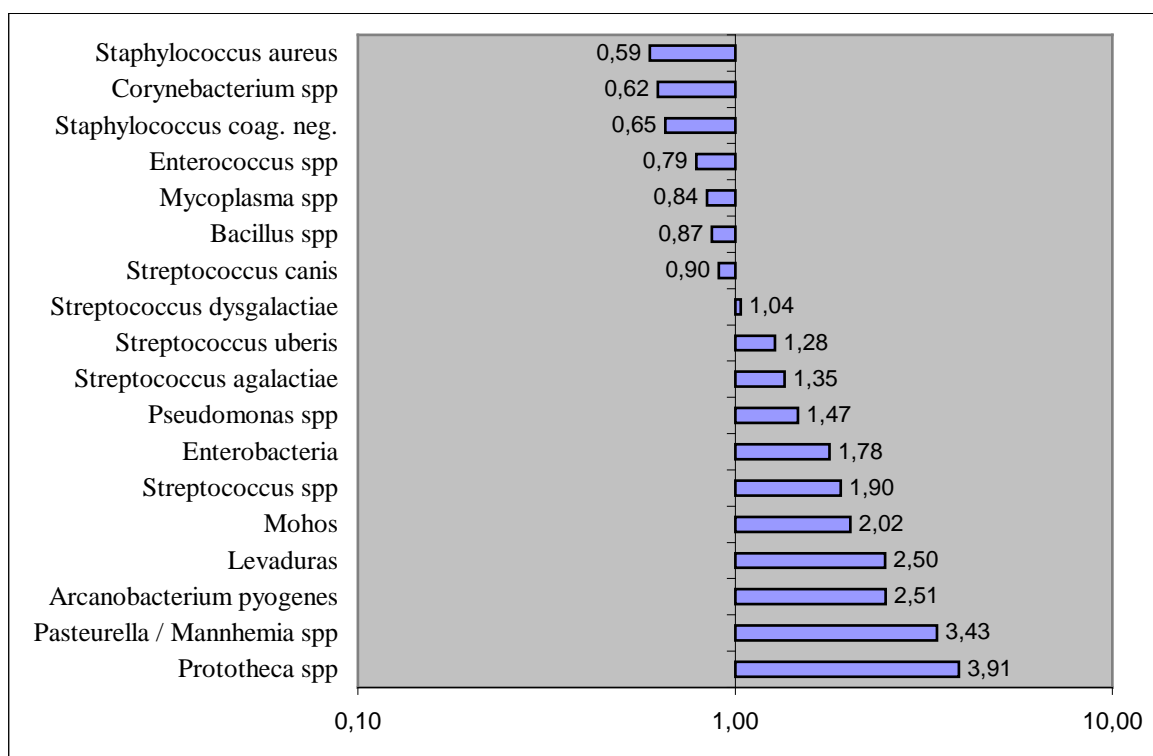
aislamiento inferiores al 3%, aunque con diferencias notables entre sus frecuencias clínicas y subclínicas.

Respecto a las mastitis subclínicas, la práctica similitud en la frecuencia de estafilococos y estreptococos es coincidente con otros trabajos exhaustivos desarrollados en España (Marco et al., 1998; Soriano, 2007). Respecto a las mastitis clínicas, algunos autores también señalan a coliformes y estreptococos como los patógenos más prevalentes (Bradley et al., 2007) mientras que otros (Marco et al., 1998; Whist et al., 2006) señalan a *S. aureus* como la especie más aislada.

Mediante el Índice de Patogenicidad Clínica (IPC) se estimó el potencial patógeno

de cada microorganismo para inducir mastitis clínica (Gráfico 1). Según dicho índice, fueron precisamente aquellos microorganismos menos prevalentes en términos absolutos los que presentaron un mayor potencial clínico, por este orden: *Prototheca* spp (3,91), *Mannhemia* / *Pasteurella* spp (3,43), *Arcanobacterium pyogenes* (2,51) y Levaduras y Mohos (2,47). Respecto a las especies más prevalentes, fueron las Enterobacterias las que mostraron un IPC más elevado (1,78%). Dentro de los estreptococos, *Str. agalactiae* y *Str. uberis* fueron los que presentaron el mayor potencial clínico. Los microorganismos que mostraron menor potencial clínico, todos ellos con un IPC similar, fueron *Staphylococcus aureus* (0,59), *Corynebacterium* spp (0,62) y los estafilococos coagulasa negativos (0,65).

Gráfico 1. Índices de Patogenicidad clínica (IPC) de cada microorganismo ordenados de menor a mayor, utilizando una escala logarítmica. A la izquierda del valor 1, microorganismos con mayor frecuencia relativa de aislamiento en mastitis subclínicas que en mastitis clínicas. A la derecha, microorganismos con mayor frecuencia relativa de aislamiento en mastitis clínicas que en mastitis subclínicas.



Aunque sus frecuencias en términos globales pueden considerarse bajas, hay que destacar el marcado potencial clínico de *A. pyogenes*, *Pasteurella* / *Mannhemia* y en especial de *Prototheca* spp, cuya manifestación clínica es casi cuatro veces

superior a su manifestación subclínica. Este resultado, unido a la capacidad de esta alga de provocar brotes clínicos y elevaciones marcadas del recuento celular (Bueno et al., 2006; Jánosi et al., 2001), aconsejan tener muy presente a esta bacteria en los sistemas

de vigilancia analítica de los programas de control de mastitis. El conjunto de estos patógenos minoritarios, incluidos *Pseudomonas* spp, *Bacillus* spp y mohos / levaduras, estuvo implicado en el 10% de los casos de mastitis clínica.

Hay que señalar la similar frecuencia clínica obtenida para *S. aureus* y SCN. Este resultado, que contradice otros en los que sí se observan diferencias en la frecuencia clínica de ambos patógenos (Whist et al., 2006), pondría en cuestión las marcadas diferencias de patogenicidad que se han atribuido tradicionalmente a ambos grupos. Otros trabajos también consideran que las especies de SCN pueden tener un nivel de patogenicidad similar al de patógenos mayores, alcanzando elevadas prevalencias y provocando importantes pérdidas productivas (Rajala-Schulz et al., 2004; Timms et al., 1987). Por otro lado, la frecuencia observada de SCN en mastitis clínicas (10,54%) es

superior a otros estudios (Whist et al., 2006: 6,3%) pero inferior incluso a la señalada por otros (Schallibaum, 2001: 17%)

Se estudió también la evolución de la distribución etiológica a lo largos de los años (Tabla 3), observándose una disminución de las prevalencias relativas de *S. aureus* (1999: 19,56%; 2005: 9,35%) y *Str. agalactiae* (1999: 8,46%; 2005: 2,26%) y un moderado aumento de las Enterobacterias (1999: 13,19%; 2005: 21,44%), mientras que la prevalencia de Streptococcaceae no varió prácticamente (1999: 28,87%; 2005: 27,93%). Estos resultados están en consonancia con la consideración de que los programas de control de mastitis consiguen principalmente la reducción de la prevalencia de patógenos contagiosos como *S. aureus* y *Str. agalactiae*, pasando a ocupar el hueco dejado por ellos especies ambientales como estreptococos o Enterobacterias.

Tabla 3. Evolución de la distribución de los diferentes microorganismos expresado en porcentaje sobre el total de aislamientos. Datos conjuntos tanto de mastitis subclínicas como clínicas.

Microorganismo	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
<i>S. aureus</i>	19,56	18,01	16,35	18,56	12,51	11,99	9,35
<i>Corynebacterium</i> spp	18,47	17,36	17,24	16,69	20,75	21,24	15,8
SCN	15,08	16,6	15,77	13,61	15,22	15,68	20,59
Enterobacteria	13,19	12,75	13,82	14,98	15,06	14,05	21,44
<i>Str. agalactiae</i>	8,46	5,09	4,66	3,43	3,47	3,50	2,26
<i>Str. uberis</i>	6,96	8,18	7,29	8,00	10,50	9,29	8,42
<i>Str. dysgalactiae</i>	5,36	7,59	9,21	9,32	9,14	7,16	7,99
<i>Enterococcus</i> spp	4,89	6,94	9,48	7,99	6,02	8,45	5,27
<i>Streptococcus</i> spp	2,34	2,08	0,91	1,46	1,60	1,07	1,97
<i>A. pyogenes</i>	0,84	0,70	1,21	1,65	1,25	1,26	0,66
Levaduras	1,25	0,72	0,59	0,81	0,98	0,69	1,22
<i>Bacillus</i> spp	1,21	2,15	1,27	0,67	0,88	1,41	1,46
<i>Str. canis</i>	0,86	0,85	0,50	0,82	0,68	1,29	2,02
<i>Pseudomonas</i> spp	0,60	0,60	0,40	0,77	0,63	0,53	0,56
<i>Prototheca</i> spp	0,55	0,21	0,58	0,76	0,81	1,48	0,75
Mohos	0,08	0,05	0,03	0,02	0,03	0,15	
<i>Pasteurella / Mannheimia</i>	0,06	0,04	0,12	0,08	0,28	0,15	0,19

CONCLUSIONES

Aunque en términos globales de infección mamaria, los estafilococos y estreptococos son los grupos de patógenos más frecuentes, a nivel de mastitis clínicas cobran especial importancia las Enterobacterias y *Str. uberis*. Por el contrario, la frecuencia clínica observada para los estafilococos es muy inferior a su frecuencia

subclínica, y similar además entre *S. aureus* y los coagulasa negativos, lo que cuestionaría algunas de las diferencias de patogenicidad atribuidas a ambos grupos.

Las especies con mayor potencial de manifestarse clínicamente son precisamente especies minoritarias como *Prototheca* spp,

Pasteurella / *Mannheimia*, *Arcanobacterium pyogenes*, Mohos y Levaduras, etc. El conjunto de todas ellas está implicado en el 10% del total de casos clínicos. Es especialmente destacable el caso de *Prototheca* spp, cuya frecuencia clínica es 4 veces superior a su frecuencia subclínica. Estos resultados resaltan la necesidad de analizar casos clínicos con el fin de tener un

diagnóstico completo de la problemática de mastitis en una explotación.

A lo largo de 7 años de estudio, las frecuencias de *S. aureus* y sobre todo de *Str. agalactiae* disminuyeron considerablemente, dando lugar al incremento de otros patógenos, en especial de Enterobacterias.

REFERENCIAS

Bradley AJ, Leach KA, Breen JE, Green LE, Green MJ. 2007. Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Vet Rec.* 160(8):253-7.

Bueno V.F., De Mesquita A.J., Neves R.B, De Souza MA, Ribeiro AR, Nicolau ES, de Oliveira AN. 2006. Epidemiological and clinical aspects of the first outbreak of bovine mastitis caused by *Prototheca zopfii* in Goiás State, Brazil. *Mycopathologia.* 161(3):141-5.

Marco J.C., Rodriguez M., González M., Ziluaga I., Salazar L.M., Palomino A., Mendez A., Díaz A., Fernández G. 1998. Etiología de las mamitis bovinas en España. *Revista Bovis,* 85: 13-31.

Rajala-Schultz P.J., Smith K.L., Hogan J.S., Love B.C. 2004. Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens from first lactation and older cows. *Vet Microbiol.* 102(1-2):33-42.

Schallibaum M. 2001. Impact of SCC on the quality of fluid milk and cheese. Pp 38-46 in *Proc. Natl. Mastitis Coun. 40th Annual Meeting.,* Reno, NV.

Soriano F.C. 2007. Evaluación de la eficacia de un tratamiento antibiótico intramamario (Ceparavin V.S) sobre la sanidad de la glándula mamaria y efectos en los niveles de producción láctea. Tesis Doctoral. Universidad politécnica de Valencia.

Timms LL, Schultz LH. 1987. Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections. *J Dairy Sci.* 70(12):2648-57.

Whist AC, Østerås O, Sølverød L. 2006. Clinical mastitis in Norwegian herds after a combined selective dry-cow therapy and teat-dipping trial. *J Dairy Sci.* 89(12):4649-59

ANALÍTICA VETERINARIA