

## **Análisis de los resultados de 427 muestras remitidas para aislamiento de bacterias de mastitis y antibiograma.**

Mette Bouman, Darío Hirigoyen, Alicia Bertón, COLAVECO, Parque el Retiro, Nueva Helvecia, Colonia, Uruguay. e-mail: colaveco@adinet.com.uy

**Introducción:** En el Uruguay existen varios estudios de la prevalencia de bacterias causantes de mastitis subclínica y su sensibilidad. La mayoría se refiere a la situación en los años setenta y principio de los ochenta, cuando la mayoría de los rodeos todavía ordeñaba a mano.

Luís del Baglivi et al. (1) estudiaron 43 rodeos en la cuenca de Montevideo en 1976. Encontraron un nivel de mastitis subclínica alto (53 % de las **vacas** afectadas, sin mencionar el número de cuartos afectados) y una alta prevalencia de *Str. agalactiae* (27 %). La prevalencia de *Staphylococcus hemolyticus* era el 16 %. El recuento de células somáticas estimado en una leche mezcla era entre 1.500 y 2.000 mil cels/ml. Solamente el 53 % de los *Staphylococcus hemolyticus* era sensible a la penicilina.

Otro estudio en la cuenca de Tacuarembó por Blanca Herrera et al. en 1976 (3) encontró el 63 % de las vacas y el 37 % de los cuartos infectados. No se aisló ningún *Str. agalactiae*. Aproximadamente el 75 % de los aislamientos eran *S. aureus*, con un 78 % de sensibilidad a la penicilina.

Un estudio posterior, realizado por Manrique Laborde et al. (2) en el 1981, también en la cuenca de Montevideo, encontraba un muy alto nivel de mastitis subclínica, con el 52 % de los **cuartos**, y el 79 % de las **vacas** afectados. El 42 % de las vacas tenía *Str. agalactiae*, y el 33 % *S. aureus*. Había una diferencia significativa entre vacas ordeñadas a mano y vacas ordeñadas por máquina en cuanto a la prevalencia de *S. aureus* (más alta en el caso de la máquina). No se efectuó una prueba de sensibilidad.

En todos los estudios los rodeos fueron seleccionados por su ubicación cerca del laboratorio y la voluntad del productor a cooperar, y las vacas fueron seleccionadas por azar simple.

En el mundo se ve una tendencia a la baja para *Str. agalactiae* debido a su sensibilidad a la penicilina y a programas de prevención y control de mastitis. *S. aureus* es mucho más difícil de controlar (4).

Por otro lado, los *staphylococcus* coagulasa negativos están ganando en importancia y en prevalencia (5), especialmente en rodeos con una baja prevalencia de patógenos mayores como *S. aureus* o *Str. agalactiae*.

En una encuesta de la FIL en 1990 (6), varios países hicieron un ranking de los patógenos más comunes para mastitis subclínica y clínica. Nueva Zelanda, con un sistema de producción pastoril semejante al Uruguay, es probablemente el país que mejor refleja una prevalencia de patógenos en el Uruguay, aunque empezó mucho antes con programas nacionales de control de mastitis. En esta encuesta Nueva Zelanda no dio información sobre mastitis subclínica. En mastitis clínica *S. aureus* tiene el primer lugar, seguido por *Str. uberis*.

El objetivo de este trabajo es presentar el análisis de los resultados obtenidos de muestras de leche mastítica recibidas en nuestro laboratorio entre 27/8/97 y 4/3/99. A si mismo, se presenta el valor predictivo para un punto de corte del recuento celular a 200 mil cels/ml como indicador de patógenos en la ubre.

### **Materiales y métodos:**

COLAVECO es un laboratorio comercial que recibe muestras de leche para detección de patógenos de mastitis y antibiograma. La mayoría de las muestras llega en tandas de 6, porque se recomienda sacar un mínimo de 6 muestras de

vacas infectadas (definido por CMT, recuento celular individual o registros de mastitis clínica indicando una mastitis crónica) en un rodeo para definir el antibiótico recomendado para el tratamiento en el período seco y durante la lactancia. La mayoría de las muestras fueron sacadas en el departamento de Colonia.

**Toma y transporte de muestra, siembra y lectura:** Las muestras remitidas fueron sacadas por el técnico o por el productor, sobre la base de un protocolo claro del National Mastitis Council de Estados Unidos en frascos estériles proporcionados por COLAVECO. La siembra, la lectura y el antibiograma se efectuaron también de acuerdo al método del National Mastitis Council (7).

**Resultados:**

**Tabla 1. Tipo de mastitis:**

Tipo de mastitis	No. de muestras	Porcentaje
subclínica	273	64 %
clínica	46	11 %
crónica	6	1 %
sin datos	102	24 %
Total	427	100 %

La diferencia entre crónica y subclínica es arbitraria, pero indica que las vacas con mastitis crónica tuvieron varios casos de mastitis clínica en el mismo cuarto.

**Tabla 2. Bacterias aisladas:**

Bacteria	No. de muestras	Porcentaje
S. aureus	138	32 %
Staphylococcus coagulasa negativos (SCN)	121	28 %
Str. dysgalactiae	18	4 %
streptococci spp. (sin definir)	10	2 %
Corynebacterium bovis	7	2 %
Str. uberis	6	1 %
SCN y C. bovis	5	1 %
A. pyogenes	4	1 %
Str. agalactiae	3	<1 %
SCN y Str. dysgalactiae	3	< 1%
S. aureus y streptococci	3	< 1 %
S. aureus y Str. dysgalactiae	2	< 1 %
E. coli	2	< 1 %
Pseudomonas	1	< 1 %
sin crecimiento	85	20 %
contaminada	19	4 %
Total	427	

Los staphylococcus son las bacterias más comunes, con S. aureus y SCN casi en proporciones iguales.

**S. aureus:**

**Tabla 3: Sensibilidad de S. aureus a los distintos antibióticos:**

Sensibilidad	Penicilina	Cloxacilina	Nafpenzal	Rifamixina	Tetraciclina
Sensible	30 (31 %)	86 (65 %)	88 (92 %)	85 (89 %)	39 (49 %)
Mediana	11 (11 %)	26 (20 %)	3 (3 %)	4 (4 %)	18 (22 %)
Resistente	57 (58 %)	21 (16 %)	5 (5 %)	6 (6 %)	23 (29 %)
Sin datos	40	5	42	43	58

**Tabla 4: Recuento celular de las muestras conteniendo S. aureus:**

menos de 200 mil cels/ml	23 (17 %)
200-400 mil cels/ml	8 (6 %)
más de 400 mil cels/ml	73 (53 %)
sin efectuar	34 (25 %)

**Staphylococcus coagulasa negativos:**

**Tabla 5: Sensibilidad de staphylococcus coagulasa negativos:**

Sensibilidad	Penicilina	Cloxacilina	Nafpenzal	Rifamixina	Tetraciclina
Sensible	11 (23 %)	45 (45 %)	33 (69 %)	34 (79 %)	20 (47 %)
Mediana	1 (2%)	13 (13 %)	7 (15 %)	4 (9 %)	12 (28 %)
Resistente	36 (75 %)	42 (42 %)	8 (17 %)	5 (12 %)	11 (26 %)
Sin datos	73	21	73	78	78

**Tabla 6: Recuento celular de las muestras conteniendo CNS:**

menos de 200 mil cels/ml	28 (23 %)
200-400 mil cels/ml	8 (7 %)
más de 400 mil cels/ml	48 (40 %)
sin efectuar	37 (30 %)

**Recuento celular e infección:**

**Tabla 7:**

**Valor del recuento celular como indicador de presencia o ausencia de patógenos (se excluyen las muestras contaminadas):**

	RC < 200 mil cels/ml	RC > 200 mil cels/ml
Presencia de patógenos	52	174
Ausencia de patógenos	29	39

El valor predictivo para encontrar un patógeno en una muestra con un recuento celular de más de 200 mil cels/ml es 82 % (nivel de confianza 95 %).

El valor predictivo que una muestra con un recuento de menos de 200 mil cels/ml no contiene patógenos es solamente el 36 %.

**Tabla 8:**

**Valor del recuento celular como indicador de presencia o ausencia de patógenos mayores (S. aureus, streptococcus, A. pyogenes, coliformes, Pseudomonas, o mezclas de un patógeno mayor con un menor, excluidas las muestras contaminadas):**

	RC < 200 mil cels/ml	RC > 200 mil cels/ml
Presencia de patógenos mayores	23	112
Ausencia de patógenos mayores	58	101

El valor predictivo para encontrar un patógeno mayor en una muestra con un recuento celular de más de 200 mil cels/ml es el 53 %.

El valor predictivo que una muestra con un recuento celular de menos de 200 mil no contiene un patógeno mayor es el 72 %.

#### **Discusión:**

La mayoría de las muestras remitidas eran de vacas con problemas. Por lo tanto, los resultados no son comparables con estudios anteriores, y no indican la prevalencia de mastitis subclínica en el Uruguay. En este análisis están incluidos 130 muestras al azar para una prueba de pomo de secado, varias de las cuales no tenían crecimiento y provenían de vacas con un recuento celular bajo. Sin embargo, muchas de esas muestras dieron SCN, muchas veces con recuentos celulares muy bajos. En esas muestras se cuestiona la calidad de la muestra. Se sospecha que los SCN son contaminantes.

#### **Recuento celular e infección:**

No hay datos del recuento celular del 27 % de las muestras. De las muestras con datos, el 26 % tiene un recuento celular por debajo de 200 mil cels/ml, el 8 % un recuento entre 200 y 400 mil cels/ml, y el 66 % un recuento arriba de 400 mil cels/ml.

Se comprueba que un punto de corte de 200 mil cels/ml del recuento celular es un indicador poco sensible de infección (8): el 19 % de las muestras con crecimiento tenía un recuento celular por debajo de 200 mil cels/ml. El 17 % de los *S. aureus* aislados provenía de muestras con un recuento de menos de 200 mil cels/ml.

Un recuento celular de más de 200 mil cels/ml tiene un valor predictivo razonable para la presencia de patógenos generales, pero no tiene un valor predictivo bueno para la presencia de patógenos mayores. La causa son las muestras con SCN: muchas de ellas tienen un recuento celular alto.

Un recuento celular de menos de 200 mil cels/ml ofrece poca garantía que la muestra no contiene patógenos, aunque la probabilidad de no encontrar patógenos mayores es razonable.

Estos resultados no coinciden bien con la observación de Radostits (8), que un punto de corte de 250 mil cels/ml clasifica correctamente el 80 % de las muestras positivas, y el 75-80 % de las muestras negativas. Sin embargo, no menciona el standard usado para establecer este punto de corte (una o múltiples muestras para bacteriología), y tampoco menciona si se trata de patógenos mayores o menores.

**Staphylococcus:** La gran mayoría de las muestras con crecimiento tenía staphylococcus. Confirma la hipótesis del Dr. Laborde (2) que, con el aumento del ordeño mecanizado, se aumenta la prevalencia de staphylococcus. Los staphylococcus están aproximadamente igualmente divididos entre coagulasa positivos (aquí clasificados como *S. aureus*) y negativos. En estudios previos en el Uruguay no se mencionaron los SCN, que se consideraban como patógenos menores hasta hace pocos años. Generalmente, causan un aumento moderado del recuento celular (5). En este estudio se aislaron SCN de muestras con recuentos muy altos (28 % arriba de 1 millón cels/ml).

#### **Sensibilidad de *S. aureus*:**

Los *S. aureus* aislados son altamente resistentes a la penicilina. Solamente el 23 % se clasificó como sensible. También existe resistencia a la cloxacilina (16 % de las muestras con resistencia).

**Str. agalactiae:** Es muy llamativo el escaso aislamiento de *Str. agalactiae*, teniendo en cuenta que era el patógeno principal hace 20 años en la cuenca de

Montevideo. Es posible que el extenso uso de la penicilina redujo la prevalencia a un mínimo. Sin embargo, la mayoría de los países con una tradición mucho más larga de programas de control de mastitis, todavía aíslan *Str. agalactiae* de rodeos con recuentos celulares altos. En una encuesta de la FIL en el 1990 (6) 10 de 23 países consideraban *Str. agalactiae* el patógeno de mastitis subclínica más importante o segundo más importante. En el mismo bulletin se menciona que el pomo de secado en todas las vacas se usa en el 37 % de los rodeos. En la zona principal de este estudio (litoral sur), esta práctica es más difundida: el 68 % de los rodeos ponía pomo de secado a todas las vacas en el 1996 (9). Posiblemente es una de las causas de la prevalencia baja.

#### **Muestras sin crecimiento:**

El porcentaje sin crecimiento es parecido al encontrado en otros laboratorios y otros países. Analizando las muestras sin crecimiento por su recuento celular, se ve que el 38 % tiene un recuento de más de 400 mil cels/ml, indicando inflamación. Posibles explicaciones pueden ser: el patógeno murió en el transporte, la cantidad de patógeno era insuficiente para detectar (común con *S. aureus*), infección ya dominada, pero el recuento celular todavía no bajó (común en infecciones con coliformes), inflamación por otras causas.

#### **Conclusiones:**

1. Los staphylococcus son las bacterias mas frecuentemente aisladas en este estudio.
2. La prevalencia de SCN en estas muestras es casi igual a la prevalencia de *S. aureus*. En el 27 % de las muestras con SCN tenía recuentos celulares arriba de 1 millón cels/ml.
3. El 17 % de las muestras de las cuales se aisló *S. aureus* tenía un recuento celular por debajo de 200 mil cels/ml.
4. Existe grande resistencia a la penicilina dentro de los staphylococcus.
5. Es llamativo el escaso aislamiento de *Str. agalactiae*.

#### **Referencias:**

1. Luís del Baglivi et al., Investigaciones sobre mastitis subclínica en rodeos lecheros del Uruguay. *Veterinaria* 12 (61):69-77, 1976.
2. Manrique Laborde et al., Mastitis subclínica: etiología y distribución de la infección en cuartos mamarios de vacas ordeñadas manual y mecanizadamente, *Veterinaria* 76:75-80, 1981.
3. Blanca Herrera et al. Etiología de las mastitis subclínicas y estudio de la cuenca lechera de Tacuarembó, 1976.
4. Zecconi et al., *IDF Mastitis Newsletter* 22, *Bulletin of the IDF* 330
5. K.L.Smith et al, *IDF Mastitis News* 20
6. J.M. Booth, *Bulletin of the IDF* no. 262/1991
7. National Mastitis Council: *Laboratory and Field Handbook on Bovine Mastitis* 1987.
8. Radostits et al. *Herd Health*, p. 239
9. Bouman et al. , *Congreso Nacional de Veterinaria*, 1996.