

Mastitis:

importancia de su diagnóstico en el laboratorio

Diana M. Macías P.

Bacterióloga
Colegio Mayor de Antioquia
Bacterióloga Programa de Mastitis
dianamp@colanta.com.co
Colombia



Resumen

El análisis de la calidad de la leche cruda es una práctica cotidiana muy utilizada en el sector lácteo. Se realiza con diferentes objetivos: determinar el pago a productores según la calidad higiénica – sanitaria y composicional y controlar la materia prima que ingresa a la industria y que iniciará un proceso de transformación para productos de alta calidad que serán entregados al consumidor final.

Una de las causas por la cual se ve afectada la calidad de la leche es la mastitis, proceso inflamatorio, principalmente infeccioso, muy frecuente entre los hatos lecheros de nuestro medio y de gran impacto económico en el sector, ya que es considerada la enfermedad que genera mayores pérdidas para la industria láctea y los productores. Sin embargo, puede llegar a controlarse eficientemente, incluso erradicarse en el caso de *Streptococcus agalactiae*, empleando una adecuada terapia antibiótica, en conjunto, con apropiadas medidas de manejo desde el ordeño. La toma de la muestra es el primer eslabón que condiciona el logro de los buenos resultados del análisis microbiológico.

El presente documento tiene como objetivo:

- Informar cuáles son las condiciones que se deben de tener para realizar un muestreo exitoso.
- Nombrar algunas técnicas microbiológicas que son utilizadas en el laboratorio para el diagnóstico de los microorganismos causantes de mastitis.
- Nombrar los principales microorganismos causantes de la mastitis bovina en nuestro medio.

Abstract

The analysis of the quality of raw milk is a daily practice widely used in the dairy sector. It is done with different objectives: making the payment to producers, depending on the milk hygienic - sanitary and compositional, and controlling raw material entering into industry, to initiate a process of transformation to high quality products that are delivered to the final consumer.

One reason why is affected the quality of the milk is mastitis. It is an inflammatory process, mainly infectious, very common among dairy herds in our area and of great economic impact on the sector. This disease is considered the one that generates greater losses for the dairy industry and farmers. However, sometimes can be controlled efficiently and maybe eradicated, in the case *Streptococcus agalactiae*, employing adequate antibiotic therapy, in conjunction with appropriate measures from milking management. The sampling is the first step that determines the achievement of good results of microbiological analysis.

This document aims to:

- Report what the conditions must have for getting a successful sampling.
- Name some microbiological techniques that are used in the laboratory for diagnosis of mastitis-causing organisms.
- Name the main organisms causing bovine mastitis in our environment.

Foto: Diana M. Macías P.



Introducción

La mastitis bovina es la enfermedad de mayor impacto económico en los hatos lecheros en el ámbito mundial. Influye en: la salud y el bienestar de las vacas, la producción, la calidad y la seguridad de la leche que se entrega a la industria. Estos factores afectan la rentabilidad de los hatos e industrias lecheras.

Alrededor de 140 microorganismos pueden causar mastitis. Ellos se agrupan en:

- Microorganismos contagiosos como *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis* y *Mycoplasma bovis*.
- Microorganismos ambientales como estreptococos no *agalactiae* y bacterias coliformes.
- Microorganismos oportunistas como estafilococos coagulasa negativa y otros microorganismos como *Pseudomonas*, *Nocardia* y levaduras (Philpot, 1977).

Se ha determinado que la glándula mamaria sana es estéril, pero en el ordeño hay diferentes condiciones que no permiten obtener muestras totalmente estériles. Ya sea con extracción manual o mecánica, la leche contendrá casi siempre contaminantes provenientes del canal del pezón, las lesiones del pezón, la piel de la ubre o de las manos de quien ordeña o realiza el muestreo (Agrobit Gestión Agropecuaria, 2004).

Las muestras de leche mal recolectadas, y contaminadas inadvertidamente, producirán

cultivos microbiológicos difíciles de interpretar y pueden conducir a diagnósticos erróneos y decisiones incorrectas en el manejo de la mastitis. Por tal motivo, la toma de la muestra, su almacenamiento y el manejo en general es importante para garantizar un diagnóstico preciso, oportuno y confiable, el cual es esencial para ayudar a determinar los protocolos de tratamientos y a desarrollar estrategias que ayuden a prevenir nuevas infecciones y a controlar las existentes.

1. Toma de muestra

Se debe tener presente:

- Tener las vacas limpias, con ubres motiladas.
- El ordeñador debe utilizar guantes de látex o polivinilo.
- Para realizar la toma de muestras y el ordeño, realizar previa desinfección de manos entre vaca y vaca con jabones antibacteriales apropiados.

Pasos para toma y manejo de muestras para análisis microbiológico

En la finca

- Identificar el recipiente estéril antes de tomar la muestra con:
 - Fecha
 - Identificación de la vaca o tanque de enfriamiento (nombre o número), cuarto o muestra combinada.
- Lavar y secar los pezones que están demasiados sucios, antes de tomar la muestra, y limpiarlos con una toalla de papel desechable.
- Realizar el despunte, con dos o tres chorros. NUNCA usar

los primeros chorros para la muestra.

- Cuando se va tomar muestra de los cuatro cuartos, desinfectar primero los pezones lejanos y después los cercanos.

Toma de muestra

- Empezar con los cuartos más cercanos y terminar con los más lejanos.
- Aplicar un desinfectante efectivo para los cuartos a muestrear, dejar en contacto como mínimo 30 segundos.
- Limpiar y secar con una toalla de papel desechable.
- Frotar las puntas de los pezones vigorosamente con un paño desinfectante impregnado con alcohol al 70%. Usar las que sean necesarias.
- Desinfectar los pezones nuevamente, cada vez que la vaca pateé o mueva la cola es necesario.
- Mantener el recipiente en un ángulo de 45 grados.
- Cubrir el recipiente con su tapa para evitar, que caiga suciedad dentro de este. El recipiente no debe tocar el pezón.
- Ordeñar con la mínima presión posible para evitar turbulencia y formación de espuma, exponiendo el recipiente una vez que este saliendo la leche del pezón. Evitar el empezar a tomar la muestra con el recipiente expuesto.
- Asegurar que la leche NO toque los dedos ni la mano.
- Nunca llenar el frasco más de tres cuartos de su capacidad total.
- Aplicar un desinfectante efectivo a todos los cuartos o iniciar el ordeño.

- Poner las muestras INMEDIATAMENTE en una nevera o cava con hielo.
- Trasladar las muestras al laboratorio certificado lo más pronto posible para el análisis microbiológico. (Hogan et al., 1999).

Cuando se requieren analizar muestras de tanque de enfriamiento se debe: esperar a terminar todo el ordeño, dejar que la leche alcance la temperatura de 4 a 5 grados centígrados y homogenizar durante 3 minutos, para poder proceder a tomar la muestra, con un cucharón estéril o desinfectado con alcohol, por la parte superior del tanque de enfriamiento y no por la válvula de descarga, porque esta normalmente se encuentra contaminada.

En cuanto al número de muestras, es importante aclarar que cuanto mayor es el número de análisis, mejor será la información que se obtendrá para identificar el tipo de microorganismo que está causando la mastitis y, así, se podrán tomar decisiones que ayuden con su tratamiento y control. Con un muestreo seriado (4 días consecutivos) se obtiene una información muy representativa de la calidad microbiológica de la leche del hato.

Los productores de leche pueden obtener resultados de muestras de vacas individuales, las cuales han sido previamente identificadas (vacas afectadas). Este análisis se justifica si el productor está dispuesto y comprometido a tomar las medidas necesarias para erradicar el problema del hato (Levesque, 2004).

En el laboratorio

Verificar la temperatura de la muestra control. Si es inferior a 4 grados centígrados se puede realizar el análisis microbiológico, de lo contrario no se debe analizar y se deben tomar medidas de control para que la siguiente muestra cumpla con la temperatura requerida.

2. Cultivo y aislamiento de microorganismos causante de mastitis

Las pruebas microbiológicas son un método directo para determinar el tipo de microorganismo causante de mastitis. El medio utilizado para el aislamiento primario de la mayoría de los microorganismos es agar sangre con 0.1% de esculina, constituye la prueba de referencia de la microbiología tradicional (Wallace, 2008).

Cuando la muestra de leche llega al laboratorio:

- Se siembran 10 microlitros de la muestra de leche en la superficie del agar sangre esculina.
- Se incuba a una temperatura de 37 grados centígrado durante 24 a 48 horas.
- Una vez transcurrido el tiempo de incubación se observa el crecimiento de diferentes tipos de colonias.
- Se realiza coloración de Gram para identificar la morfología y el tipo de bacterias Gram positivas o Gram negativas, adicionalmente se realizan las pruebas confirmatorias (catalasa, oxidasa, Camp y otras bioquímicas) y se siembra en

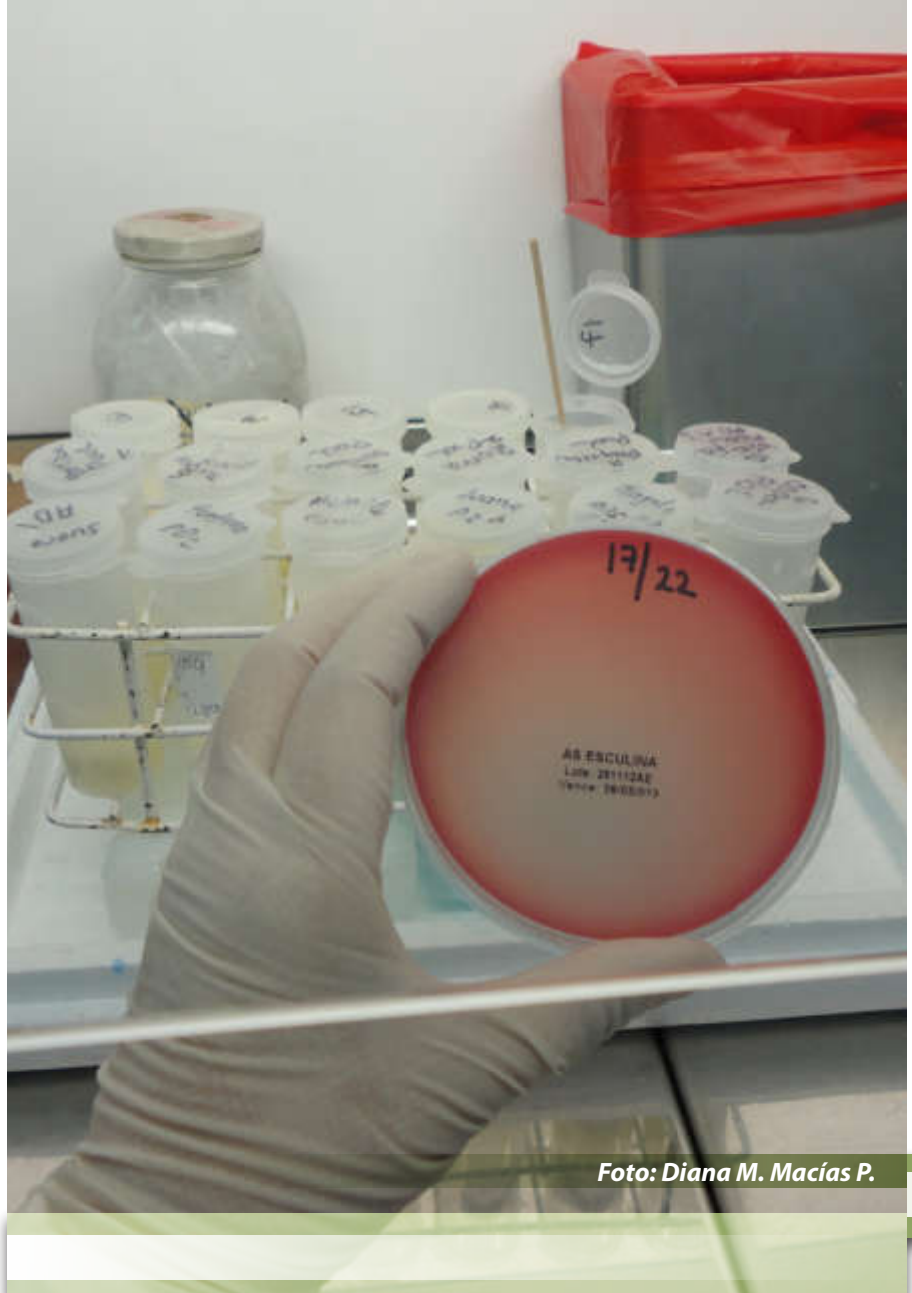


Foto: Diana M. Macías P.

- medios de cultivos selectivos, cuyos resultados nos llevan a identificar cuáles son los géneros y especies de microorganismos causantes de la mastitis.
- Por último, se realizan los antibiogramas. Esta prueba nos indica la resistencia o sensibilidad de las bacterias a los antibióticos.

En cultivos rutinarios de leche de tanque de enfriamiento se considera que tanto *Staphylococcus aureus* como *Streptococcus agalactiae* provienen del interior de la glándula mamaria y no son

el resultado de contaminación externa. La presencia de estos microorganismos en leche de tanque de enfriamiento indica que están causando infecciones intramamarias en el hato, sin embargo, la falta de aislamiento de estos microorganismos no indica su ausencia.

Si hay un problema de *Streptococcus agalactiae* y el productor desea erradicarlo de su hato, debe: realizar cultivos a todas las vacas y tratar los animales con cultivo positivo. Si el productor no desea tratar o descartar las vacas con

infecciones crónicas en estos hatos, NO debe desperdiciar su tiempo y dinero en hacer cultivos.

En los hatos que tienen *Staphylococcus aureus*, el cultivo de todo el hato se justifica solo si se va a identificar el grupo de vacas con *Staphylococcus*, para luego separarlo y ordeñar de acuerdo con el grupo (Linn, 1997).

No hay absolutamente ninguna ventaja en hacer cultivos de todo el hato cuando las muestras de tanques de leche muestran problemas de mastitis ocasionada por microorganismos ambientales.

Los cultivos de vacas individuales debe ser una estrategia infaltable en los programas de calidad de la leche, estos también se pueden utilizar como medida de seguimiento a las recomendaciones que da el personal técnico para controlar la mastitis.

3. Microorganismos contagiosos

La mastitis contagiosa se define como una infección intramamaria transmitida de vaca a vaca durante el ordeño, a través de las manos del ordeñador, de las pezoneras o de otros elementos utilizados para el ordeño. Los microorganismos contagiosos incluyen los *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis*, *Mycoplasma spp* y *Streptococcus dysgalactiae*. Pueden sobrevivir un largo plazo solo en la ubre, ya que la glándula mamaria es su reservorio principal.

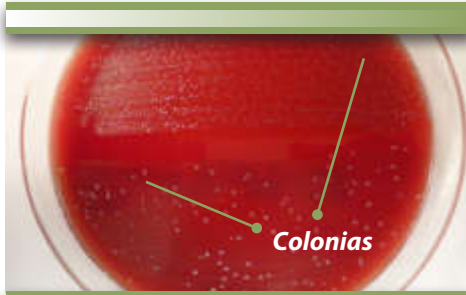


Figura 1. Cultivo de leche con crecimiento de *Streptococcus agalactiae* en un medio de agar sangre con esculina.



Figura 2. Vista a través de microscopio, placa en fresco con solución salina.



Figura 3. Prueba de Camp positiva, confirmatoria de *Streptococcus agalactiae*.



Figura 4. Cultivo de leche con crecimiento de *Staphylococcus aureus* en un medio de agar sangre con esculina.

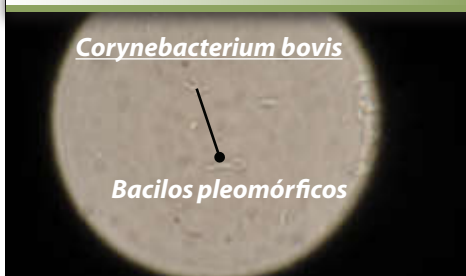


Figura 5. Placa en fresco con solución salina.

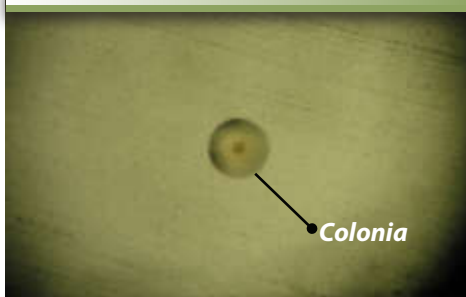


Figura 6. Cultivo de leche con crecimiento de *Mycoplasma spp* en medio de cultivo Hayflick Modificado Media.

4. Microorganismos ambientales

Los microorganismos ambientales viven en el ambiente que rodea a la vaca. Infechan el animal entre ordeños, cuando los pezones entran en contacto con barro o estiércol, entre otros. Generalmente originan muchos más casos clínicos que subclínicos.

Los principales microorganismos ambientales son los coliformes que incluyen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxyteca* y *Enterobacter aerogenes*. Es también frecuente el aislamiento de estreptococos ambientales caracterizados genéricamente como *Streptococcus* no *agalactiae* como: (*Streptococcus uberis* y *Streptococcus sp*). Estos microorganismos pueden provenir tanto del ambiente como de glándulas mamarias infectadas.

Conclusiones

- Los métodos microbiológicos para la identificación de microorganismos causantes de la mastitis bovina constituyen una herramienta que permite detectar el tipo de infección y las posibles fuentes de contaminación, lo que posibilita la toma de medidas inmediatas en la finca, ya sea el tratamiento con antibióticos, la segregación o el descarte de las vacas.
- Es necesario fomentar el buen manejo del hato durante el proceso de ordeño. En el caso de una alta prevalencia de mastitis, es importante incentivar al ganadero para que los animales no útiles para la explotación lechera sean descartados y así evitar el contagio del resto del hato.
- Se recomienda realizar la prueba de CMT (*California Mastitis Test*) mensualmente ya que contribuye a tener un manejo adecuado de mastitis y orienta al técnico de campo o al productor para identificar que vacas se les debe realizar cultivo microbiológico, además de tener un mayor control sobre el hato, evitando grandes pérdidas económicas.
- Para la toma de muestras para cultivo microbiológico es importante capacitar al personal encargado de la tarea para un correcto procedimiento de las mismas y de esta manera

Foto: Diana M. Macías P.

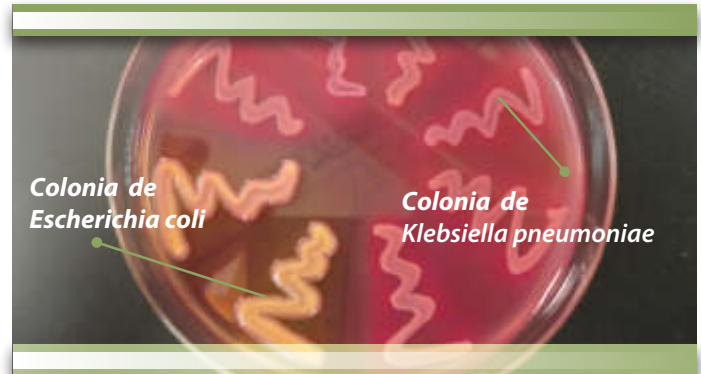


Figura 7. Cultivo de leche positivo a *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en un medio de MacConkey, las colonias se observan rosadas por ser fermentadoras de lactosa.

evitar falsos positivos al momento del análisis, para tener un diagnóstico más preciso, confiable y oportuno.

- Se recomienda que todos los hatos ganaderos trabajen conjuntamente con laboratorios de microbiología debidamente acreditados; esto permitirá realizar un tratamiento eficiente con el antibiótico más oportuno de acuerdo con el patógeno encontrado como causante de la infección.
- Se debe evitar el uso indiscriminado de antibióticos en el hato, pues este procedimiento provoca que las bacterias presenten resistencia a los tratamientos.

Referencias

- Agrobit Gestión Agropecuaria (2004). *Mastitis: Enfermedad y transmisión*. Córdoba. Extraído el 1 de enero de 2013 de: www.agrobit.com/Infotecnica/Ganaderia/enfermedades/GA000009en.htm
- Hogan, J. et al. (1999). Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. *The National Mastitis Council, Inc.*
- Levesque, P. (2004). Menos mastitis, mejor leche. *Revista Hoard's Dairyman*, 42, 46.
- Linn, D. (1997). Calidad de la leche. Los cultivos de muestras de leche pueden resolver problemas de mastitis. *Revista Hoard's Dairyman*, 7, 426-427.
- Philpot, N. (1997). Calidad de la leche y control de mastitis. *Revista Holstein Colombia*, 130, 20-22.
- Wallace, J. (2008). Pueden ser rentables los cultivos bacteriológicos en la granja, *Revista Hoard's Dairyman*, 9, 556-557.