PREVALENCIA DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS MAYORES CONTAGIOSOS EN LECHE BOVINA DE TANQUE EN ASTURIAS

González, M.*; García, C.*; Romeo, M.; Marco, J.C.****

* Laboratorio Interprofesional Lactológico de Asturias (LILA). Pº Silvota 96. 33428. Llanera (Asturias).

** Dpto. Patología Animal. SIMA. Gobierno Vasco. c/ Berreaga 1. 48160. Derio (Vizcaya).

Introducción

El cultivo bacteriológico individual, ha sido la alternativa común para el diagnóstico etiológico de las mamitis. Sin embargo, actualmente la tendencia es combinar esta opción con el cultivo de leche del tanque, el cual informa del estado general de la ganadería[2,4,5]. El rendimiento del cultivo de la leche de tanque para la detección de microorganismos patógenos contagiosos, es especialmente satisfactorio en el caso de *Streptococcus agalactiae, Staphylococcus aureus* y *Mycoplasma* spp[2].

En España y en varios paises de la Europa Comunitaria, el azidiol (azida sódica/cloranfenicol)[1], es la formulación empleada por los laboratorios interprofesionales como conservante de las muestras de leche de tanque destinadas al pago por calidad: composición fisico-química (densidad, pto. criscópico, grasa, proteina, lactosa, extracto seco), bacteriología y recuento celular.

Objetivos

* Determinar la prevalencia de los patógenos mayores contagiosos, *S. aureus*, *Str. agalactiae* y *M. bovis*, en leche de tanque de las explotaciones de Asturias, y su efecto en el recuento de células somáticas.

* Comprobar el rendimiento de los medios selectivos, Baird-Parker y Granada.

* Evaluar la influencia del conservante azidiol en la detección de estos microorganismos.

Material y métodos

El estudio se llevó a cabo en 1.146 explotaciones, en las cuales se realizaron análisis microbiológicos para determinar la presencia de *S. aureus* y *Str. agalactiae* en 1.213 muestras de leche de tanque. El cultivo de micoplasmas se efectuó a partir de 149 muestras. Del total de muestras de leche analizadas, 200 fueron conservadas con azidiol y 1.009 no recibieron ningún conservante (en 4 no se dispone de este dato). En 403 muestras se determinó además el recuento de células somáticas (RCS).

Las muestras fueron tomadas por el personal del LILA, previa agitación durante unos minutos de la leche del tanque, utilizando envases estériles y pinzas de gollete, y se mantuvieron en refrigeración hasta su llegada al laboratorio, en donde fueron congeladas hasta su análisis.

El aislamiento de *S. aureus* y *Str. agalactiae* se realizó mediante la siembra de 40 µl de leche en agar sangre (Columbia Blood agar: BioMérieux), y en medios selectivos: Baird-Parker (BioMérieux) para *S. aureus*, y Granada (Difco) para *Str. agalactiae*. La identificación de estos microorganismos se llevó a cabo por los métodos microbiológicos rutinarios[3]. Se definieron unos "rangos de densidad", a partir del recuento de las colonias de morfología compatible con *S. aureus* y *Str. agalactiae* en las placas de agar sangre, a efectos de estimar la prevalencia de vacas excretoras en cada una de las explotaciones infectadas.

El cultivo de mycoplasmas se llevó a cabo mediante la siembra de las muestras en agar y caldo Hayflick PPLO y posterior incubación a 37°C en una atmósfera enriquecida con 7% de CO_2

Los registros de recuento celular fueron obtenidos mediante el analizador Fossomatic.

Resultados y discusión

Las prevalencia obtenida para los dos agentes estudiados, *S. aureus* (60,8%) y *Str. agalactiae* (8,7%), revelan una aparente profilaxis inadecuada de las mamitis contagiosas[2, 5]. El cultivo simultáneo en agar sangre y en medios selectivos permitió el diagnóstico de un mayor número de explotaciones. Mientras que para *S. aureus*, el medio selectivo Baird-Parker mostró un mejor rendimiento, los porcentajes de aislamiento obtenidos para *Str. agalactiae*, fueron similares en ambos medios. (Tabla 1). *M. bovis* se aisló a partir de un sola explotación de las 149 analizadas, proporcionando una prevalencia del 0,7%.

Tabla 1: *Prevalencia de S. aureus y Str. agalactiae en diferentes medios de cultivo (1.213 leches de tanque).*

	Agar Sangre	Baird-Parker	Granada	Ambos medios	Total
S. aureus	531 (43,8%)	671 (55,3%)	-	465 (38,3%)	737 (60,8%)
Str. agalactiae	84 (6,9%)	-	77 (6,4%)	56 (4,6%)	105 (8,7%)

En relación a la distribución de las explotaciones infectadas por *S. aureus* según los rangos de densidad, podemos afirmar que el 26,7% de las mismas se sitúan en el rango más elevado (> 250 ufc/ml), por lo que "a priori" se puede extrapolar en estas ganaderías un porcentaje elevado de vacas infectadas por *S. aureus*[2]. Respecto a las infectadas por *Str. agalactiae*, se puede observar que la mayoría se distribuyen en los rangos de mayor densidad, aspecto que podría obedecer a una prevalencia elevada de vacas excretoras (Tabla 2).

Tabla 2. *Distribución de la densidad del cultivo de los aislamientos efectuados en Columbia agar.*

	0-50 ufc/ml	51-150 ufc/ml	151-250 ufc/ml	>250 ufc/ml
S. aureus (531)	147 (27,7%)	159 (29,9%)	83 (15.6%)	142 (26,7%)
Str. agalactiae (84)	7 (8,3%)	11 (13,0%)	12 (14,3%)	54 (64,3%)

Los valores de prevalencia obtenidos a partir de las muestras suplementadas o no con azidiol, se detallan en la tabla 3. Los datos de prevalencia son muy similares en ambos grupos de muestras, por lo que el efecto bacteriostático del conservante azidiol no parece interferir el aislamiento de ambos microorganismos, como ya se había constatado respecto a la flora microbiana total[1].

Tabla 3. *Prevalencia de S. aureus y Str. agalactiae en leches de tanque con (200) y sin (1009) azidiol.*

	Azidio	Agar Sangre	Baird-Parker	Granada	Ambos medios	Total
S. aureus	Con	87 (43,5%)	102 (51,0%)	-	69 (34,5%)	120 (60,0%)
	Sin	443 (43,9%)	568 (56,3%)	-	395 (39,1%)	616 (61,1%)
Str. agalactiae	Con	13 (6,5%)	-	17 (8,5%)	13 (6,5%)	17 (8,5%)
	Sin	71 (7,0%)	-	60 (5,9%)	43 (4,3%)	88 (8,7%)

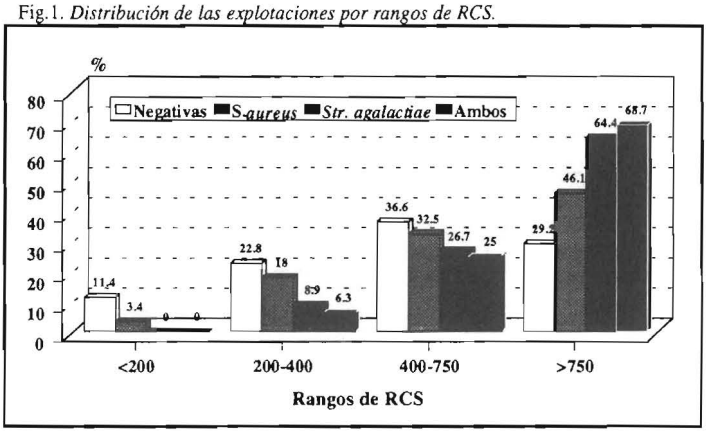
Las ganaderías en las que se diagnosticó la presencia de patógenos mayores contagiosos, presentaron valores más elevados de recuento celular (Tabla 4). Los registros más elevados se obtuvieron a partir de las infectadas por ambos agentes, y los mínimos en el grupo en el que no se detectó su presencia. La media geométrica del RCS de las explotaciones infectadas por *Str. agalactiae* (919.700 cel/ml), fue superior a la de *S. aureus*, (682.600 cel/ml).

Tabla 4. *Medias de RCS cel/ml en miles, según el estado infectivo (403 datos).*

	N°	Mínimo	Máximo	M. aritmética ± ds	Media geométrica
Negativas	123	47	2.900	680,3 ± 549,4	517,0
S. aureus	267	41	4.845	869.3 ± 662,8	682,6
Str. agalactiae	45	298	3.356	1.095,4 ± 690,2	919,7
S. aureus . *Str. agalactiae*	32	314	3.356	1.176,7 ± 673,4	1.011,0

En líneas generales puede observarse una asociación entre la detección de *S. aureus* y *Str. agalactiae* y la presencia de RCS elevados. Así, el 91,1% y 78,6% de explotaciones infectadas por *Str. agalactiae* y *S. aureus* se sitúan en RCS > 400.000 cel/ml, frente al 65,8% de las que están aparentemente libres de ambos microorganismos patógenos (Fig. 1).

Fig.1. *Distribución de las explotaciones por rangos de RCS.*



Conclusiones

* La combinación de medios enriquecidos de aislamiento general y medios selectivos específicos, es fundamental para aumentar la sensibilidad del cultivo de patógenos mayores contagiosos en leche de tanque.

* El aislamiento de *S. aureus* y *Str. agalactiae* es posible llevarlo a cabo en las muestras de leche de tanque suplementadas con el conservante azidiol.

* El laboratorio interprofesional puede ofrecer a partir de las muestras recogidas para el pago por calidad, un servicio de cultivo de leche de tanque, con un bajo coste y a nuestro juicio rentable para el ganadero. Integrado en un programa de mejora de la calidad de la leche, el diagnóstico de explotaciones infectadas por *Str. agalactiae*, o con elevada prevalencia de mamitis por *S. aureus*, será una herramienta de gran ayuda para avanzar y centrar las intervenciones.

* El cultivo de leche de tanque es una estrategia fundamental para la vigilancia epidemiológica de mamitis por microorganismos inhabituales, con especial atención a *M. bovis*. La gravedad de los episodios mamíticos por este agente, y su detección en Asturias, así como en otras Comunidades Autónomas[2], son argumentos suficientes para realizar sondeos microbiológicos periódicos.

Bibliografía

1.- Barcina, Y.; Zorraquino, M.A.; Pedauye, J.; Ros, G.; Rincón, F. Azidiol as a preservative for milk samples. *Ann. Vet. (Murcia)* 3: 65-69. (1987)

2.- Farnsworth, R.J. Microbiological examination of bulk tank milk. Update on Bovine mastitis. *Veterinary Clinics of North America.* Vol 9: nº 3: 469-474. (1993)

3.- Marco, J.C; Muñoyerro. A.; Pérez, I; Adúriz, J.J.; Romeo, M. Mamitis por *M. bovis*: estudio de varios casos clínicos. *II Congreso Internacional de Medicina Bovina.* ANEMBE. 23-25 de Octubre. Madrid. (1992).

4.- National Mastitis Council. *Laboratory and field handbook on bovine mastitis.* (1987).

5.- Sischo, W.M.; Heider, L.E.; Miller,G.Y.; Moore D.A. Prevalence of contagious pathogens of bovine mastitis and use of mastitis control practices. *JAVMA*, vol 202, Nº 4. (1993).

Agradecimientos

A mis compañeros del LILA y en especial a Lucía Amor, Pedro Argüelles, Javier Noriega y Julián Pérez, por su inestimable ayuda en las diferentes tareas de este estudio.

A F. Poumarat (CNEVA-Lyon) por la confirmación de la identidad de la especie de Mycoplasma aislada.