

Capítulo XLVII

Actualización en el diagnóstico de la mastitis

Julio C. Boscán Ocando

La mastitis bovina es una enfermedad caracterizada por la inflamación de la glándula mamaria que afecta al ganado lechero ocasionando elevadas pérdidas económicas a los productores en gran parte del mundo, manifestada en disminución de la producción láctea, deterioro tanto en los aspectos cualitativos y cuantitativos de la leche, gastos por servicios médico veterinarios, medicamentos y por el descarte de leche durante el tratamiento para evitar la contaminación y la repercusión a la salud pública (Meglia & Mata, 2001; Faría *et al.*, 2005; Bedolla *et al.*, 2007; Waldner, 2007; Boscán *et al.*, 2009; Viguier *et al.*, 2009; Boscán & Valeris, 2010). La mastitis es una enfermedad multicausal, donde se han identificado innumerables especies de microorganismos entre ellas: bacterias, hongos, mycoplasmas y algas (Calvinho, 2007; Boscán *et al.*, 2009; Boscán & Valeris, 2010).

La severidad de la inflamación de la glándula mamaria se puede clasificar en clínica o subclínica, siendo la primera caracterizada por presentar signos clínicos como tumefacción, calor y dolor a la palpación sobre los cuartos mamarios, observándose fácilmente pezones hinchados o endurecidos, acompañados de alteración físico-química en la leche con presencia de grumos, sangre o suero e incremento del contenido de leucocitos debido a la línea de defensa sobre del tejido glandular. La segunda, la subclínica, se caracteriza por carecer de inflamación apreciable de la glándula y anomalías observables en la leche; aunque estas últimas pueden detectarse por pruebas específicas son las que causan las mayores pérdidas económicas en los sistemas de producción, representadas en hipogalactia y disminución de la calidad de la leche (Bedolla *et al.*, 2007; Boscán *et al.*, 2009; Boscán & Valeris, 2010).

Las bacterias asociadas con infecciones intramamarias (IIM) subclínicas han sido estudiadas por muchos años; ejemplo de ello, se tienen a los *Staphylococcus coagulasa negativo* (SCN), *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* y *Staphylococcus aureus*, los cuales aprovechan situaciones favorables para penetrar a través de la roseta de Fürstenberg, atravesando el ducto del pezón, multiplicándose y colonizando la glándula mamaria produciendo mastitis (Oviedo-Boyo, 2007; Schroeder, 2007).

La mastitis subclínica siempre ha sido la de mayor ocurrencia en los rebaños y la que induce mayores pérdidas económicas, disminuyendo la producción láctea paulatina y silenciosamente. Además de ser fuente de infección colabora en la persistencia de la enfermedad, de ahí que se están realizando grandes esfuerzos científicos dirigidos a la prevención y control de este tipo de mastitis (Boscán *et al.*, 2009; Viguer *et al.*, 2009; Boscán & Valeris, 2010). Basado en estos problemas, surge la necesidad de desarrollar una revisión sobre los avances en el diagnóstico de la mastitis bovina con énfasis en la eficacia y la practicidad.

PATOGÉNESIS DE LA MASTITIS

El conocimiento sobre el origen y evolución de la mastitis es de gran importancia para el desarrollo de técnicas diagnósticas de detección. El principal causal de esta enfermedad es la gama de bacterias oportunistas que circundan la glándula mamaria, más específicamente el canal del pezón protegido por la roseta de Fürstenberg y la queratina interna, cuyo papel radica en obstaculizar la migración bacteriana, impidiendo la infección (Corbellini, 1996; Meglia & Mata, 2001; Oviedo-Boys *et al.*, 2007; Schroeder, 2007; Viguer *et al.*, 2009). Sin embargo, estas defensas primarias se pierden cerca del parto, debido a que la acumulación láctea dentro de la glándula mamaria incrementa la presión interna, generando dilatación del canal del pezón e induciendo pérdida de la queratina (Corbellini, 1996; Viguer *et al.*, 2009). De igual manera, la involución de la glándula mamaria al inicio del período seco se caracteriza por poseer un elevado riesgo a contraer infecciones; sin embargo, una vez que la glándula mamaria se estabiliza en el estado no secretorio, los mecanismos de defensas naturales (humorales, celulares y enzimáticos) son estimulados reduciendo dicha susceptibilidad (Boscán, 2008).

Una vez que la bacteria ha penetrado el canal del pezón, esta tiene que enfrentarse a los mecanismos inmunológicos de defensa (humoral y celular) de la ubre; en caso que los llegara a vencer, se iniciaría la multiplicación de la bacteria en la glándula mamaria, liberando toxinas e induciendo a los leucocitos y células epiteliales a liberar citotoxinas como el factor de necrosis tumoral ($TNF\alpha$), interleuquinas (IL)-8, IL-1, prostaglandina $F2\alpha$ (PGF 2α), radicales oxígenos y proteínas de la fase aguda (APPs); todas ellas, con el objetivo de atraer hacia el sitio de infección a los polimorfonucleares (PMN) el principal paquete celular inmune de defensa (Daley *et al.*, 1991; Corbellini, 1996; Bedolla *et al.*, 2007; Viguer *et al.*, 2009). Los PMN actúan fagocitando a la bacteria, a partir de los gránulos intracelulares almacenadores de moléculas bactericidas (péptidos, proteínas y enzimas) que no solo destruyen al agente invasor, sino también a algunas células epiteliales, resultando en disminución de la producción de leche y liberación de enzimas como la N-acetyl-β-D-glucosaminidasa (NAGasa) y lactato deshidrogenasa (LDH) (Bedolla *et al.*, 2007; Viguer *et al.*, 2009). Tan pronto los PMN hayan ejercido su papel, toma lugar la apoptosis, seguida del efecto de los macrófagos que fagocitan el resto de los PMN. Tanto las células epiteliales mamarias y los leucocitos muertos son secretados en la leche, resultando en un contejo celular muy alto en la leche (Corbellini, 1996; Viguer *et al.*, 2009).

En caso que la infección persista, ocurrirá una inflamación interna en el tejido mamario que es imperceptible mediante un abordaje clínico. Asimismo, el daño en el alvéolo mamario es inminente, iniciando una pérdida en la integridad anatómica,

pérdida de la barrera hemato-láctea y liberación de componentes del fluido extracelular como: cloro, sodio, hidrógeno, potasio, hidróxidos, que entran a la glándula y se mezclan con la leche (Corbellini, 1996; Viguier *et al.*, 2009). Cuando el daño es extensivo, se puede detectar sangre en la leche acompañada de cambios visibles de la ubre como: inflamación y enrojecimiento, al igual que en la leche, como incremento en la conductividad, aumento del pH, contenido de agua elevado, presencia de coágulos visibles o flóculos de pus que bloquean a los conductos mamarios, impidiendo la remoción de leche que proviene de áreas aún funcionales, iniciando la sintomatología clínica que dependiendo de la severidad de la infección, pudiera culminar en muerte de la vaca (Corbellini, 1996; Bedolla *et al.*, 2007; Viguier *et al.*, 2009).

ENFOQUE ACTUAL EN EL DIAGNOSTICO DE LA MASTITIS

El diagnóstico temprano es de vital importancia debido a los altos costos que acarrea la mastitis. Actualmente, los métodos diagnósticos que se han desarrollado son utilizados para determinar la calidad de la leche a través de la detección de la inflamación de la glándula mamaria y del diagnóstico de la infección con sus patógenos causales (Bedolla *et al.*, 2007; Sandrucci *et al.*, 2007; Viguier *et al.*, 2009). Básicamente, las pruebas se fundamentan en la determinación del conteo de células somáticas (CCS), análisis enzimático, la prueba California de coagulación de la leche o California Mastitis Test (CMT), cambios en la conductividad y pH, así como también el cultivo de microorganismos, siendo esta última la prueba dorada, a pesar de ser laboriosa y costosa (Bedolla *et al.*, 2007; Viguier *et al.*, 2009).

MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LA MASTITIS BOVINA

El diagnóstico de la mastitis clínica se inicia con una observación visual, por lo tanto el ordeñador juega un papel imprescindible al momento de identificar de manera temprana cambios en el aspecto de la leche. Esta acción se puede lograr realizando el llamado despunte, lo cual es también importante para preparar la ubre al inicio del ordeño. Para realizarlo adecuadamente, debe masajearse la punta del pezón con los dedos y ordenarse 3 a 4 chorros de leche (Bedolla *et al.*, 2007; Sandrucci *et al.*, 2007).

La identificación de los cambios organolépticos de la leche se pueden también evidenciar al utilizar, como alternativa al despunte, la prueba de fondo negro, donde se utiliza una paleta de color negro que facilita la identificación de grumos, pus, coágulos de sangre u otras alteraciones del aspecto normal de la leche (Bedolla *et al.*, 2007).

Ante la presencia de una mastitis clínica es recomendable el aislamiento del agente causal para conocer su sensibilidad a los antibióticos comúnmente encontrados en las preparaciones para vacas lactantes (NMC, 1990). Para realizar el aislamiento del agente causal, primero se lava el pezón afectado, se desinfecta la punta, se descarta el primer chorro de leche y se toma una muestra en un tubo estéril con tapa de baquelita. Esta muestra de leche idealmente debe procesarse dentro de las 24 horas pos-colección, siendo mantenida a 4°C). Los estafilococos y estreptococos pueden soportar una congelación por una semana, sin embargo, las probabilidades de aislar enterobacterias disminuye considerablemente si se congela la leche (NMC, National Mastitis Council, 1990).

La muestra de leche tomada de un cuarto con mastitis clínica se siembra en agar sangre (o agar Sabouraud), en caso que se sospecha de hongos o *Prototheca* spp. y/o en medios especiales para *Mycoplasma* spp; este agar se coloca en condiciones de aerobiosis y anaerobiosis. De haber crecimiento bacteriano, se procede a la identificación de la bacteria por los métodos tradicionales (NMC, 1990). El cultivo bacteriano también es útil en el diagnóstico de mastitis subclínicas, ya que determinará cuales son las medidas de prevención y control más eficaces según el círculo de los agentes etiológicos prevalentes en el rebaño. Sin embargo, para clasificar a un cuarto como afectado con mastitis subclínica, generalmente se recurre al conteo de células somáticas (CCS) como indicador.

El CCS es la medición más global utilizada para detectar inflamación de la glándula mamaria y tiene la ventaja de que puede ser utilizada en un solo cuarto mamario, en toda una vaca e incluso en un pool de leche de la finca (Bedolla *et al.*, 2007). Estas células generalmente (99%) son neutrófilos que migran a la glándula mamaria y son excretados en la leche, el resto (1%) está representado por células secretoras originadas del tejido de la ubre. El CCS puede realizarse manualmente, con ayuda de un hematómetro o por un contador automático que es costoso para su uso rutinario en el rebaño; su resultado se expresa generalmente en mL, donde la glándula mamaria sana presentará un CCS menor a 200.000/mL.

Es por ello que a nivel de finca es más útil y más recomendable la estimación del conteo de células somáticas que se consigue con la prueba de CMT. Esta es una prueba semicuantitativa que consiste en la formación de un gel a partir de la reacción del alkil-aryl-sulfonato de sodio (y púrpura de bromocresol como indicador de pH) con el ADN de las células somáticas. Sus ventajas radican en la rapidez, economía y sencillez para su aplicación. Sin embargo, la subjetividad de la lectura y su relativa baja sensibilidad limitan su potencial diagnóstico (Bedolla *et al.*, 2007; Viguier *et al.*, 2009). El CMT puede ser útil para evaluar el tratamiento a vacas clínicamente recuperadas o para detectar cuartos mamarios afectados con elevados conteo de células somáticas (>800.000 células somáticas/mL) (Faria *et al.*, 2005).

Además de los métodos tradicionales antes mencionados, en varias partes del mundo se utilizan y se desarrollan diferentes metodologías para llegar a un diagnóstico de la mastitis subclínica (y clínica en algunos casos). Cuando hay alteraciones inflamatorias en la glándula mamaria, se elevan los iones de sodio, potasio, calcio, magnesio y cloruros, lo cual aumenta la conductividad de la leche, cambios que pueden ser identificados y registrados por algunos dispositivos. Asimismo, se han desarrollado pruebas enzimáticas de la actividad NAGasa y LHD en leche como indicadores de inflamación intramamaria.

Los avances tecnológicos, junto con el aumento de la información genómica y proteómica, se han traducido en mejoras en la sensibilidad de las pruebas utilizadas para la detección de la mastitis como los ensayos por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA), puede proporcionar un enfoque fiable y de bajo costo, siempre que los anticuerpos adecuados están en contra de biomarcadores específicos relacionados con la inflamación o los microorganismos causantes (Bedolla *et al.*, 2007; Viguier *et al.*, 2009).

La secuenciación del genoma de muchos de los principales patógenos que causan mastitis ya se encuentran disponibles y pueden ser utilizados para desarrollar métodos basados en ácidos nucleicos, tales como la técnica de PCR, la cual es por lo general más costosa que la prueba ELISA. Sin embargo, tienen la ventaja que son altamente sensibles, específicas y en algunos casos más rápido como el PCR en tiempo real Viguier *et al.*, 2009).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bedolla CC, Castañeda VH, Wolter W. 2007. Métodos de detección de la mastitis bovina. REDVET. Rev electr Vet ISSN 1695-7504 VIII (9): 1-17.
- Boscán J. 2008. Secado intramamario y sanidad de la ubre para minimizar los riesgos de mastitis clínica y subclínica. En: Desarrollo sostenible de la ganadería doble propósito. C González Stagnaro, N Madrid Bury, E Soto Beloso (eds). Fundación GIRARZ. Ediciones Astro Data S.A. Maracaibo, Venezuela. LI: 631-639.
- Boscán J, Villarroel R, Oviedo A, Sánchez A, Pino D, García D, Hernández L, Pérez M. 2009. Bacterias patógenas potenciales al inicio del período seco de vacas doble propósito con mastitis subclínicas. Revista Científica, FCV-LUZ XIX (3): 277-283.
- Boscán J, Valeris R. 2010. Mastitis Bovina. En: Cuadernos Científicos Girarz 9. A Sánchez Villalobos (ed). Ediciones Astro Data S.A. Maracaibo, Venezuela, Pp. 207-214.
- Calvinho L. 2007. Actualización en terapia antibiótica de mastitis bovina. Curso de Actualización en Mastitis Bovina. APROCAL Y Escuela de Graduados de la Carrera de Veterinaria, Universidad del Salvador. Pilar, de Buenos Aires 18.
- Corbellini CN. 1996. Actualización en la patogenia y diagnóstico de las mastitis. En: Memorias. Congreso Nacional de Calidad de Leche y Mastitis, ALMAST, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina. Pp37-48.
- Daley MJ, Coyle P, Williams TJ, Furda G, Dougherty R, Hayes PW. 1991. *Staphylococcus aureus* Mastitis: Pathogenesis and Treatment with Bovine Interleukin-1 α and Interleukin-2. J Dairy Sci 74 (12): 4413-4424. Faría J, García A, D'Pool G, Valero Leal K, Allara M, Angelosante G. 2005. Detección de mastitis subclínica en bovinos mestizos doble propósito ordeñados en forma manual o mecánica. Comparación de tres pruebas diagnósticas. Revista Científica FCV-LUZ XV (2):109-118.
- Megliá GE, Mata HT. 2001. Mecanismos específicos y no específicos de defensa, con referencia a la glándula mamaria de los bovinos productores de leche. Cienc Vet 3: 29.
- NMC, National Mastitis Council. 1990. Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Udder Infection and Determination of Milk Quality. National Mastitis Council, WD. Hoard and Sons Co. 4th ed. Fort Atkinson, USA:1.
- Oviedo-Boys J, Valdez-Alarcón JJ, Cajero-Juárez M, Ochoa-Zarzosa A, Lópezmeza JE, Bravo-Patiño A, Baizabal-Aguirre VM. 2007. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. J Infect 54: 399-409.
- Sandrucci A, Tamburini A, Bava L, Zucali M. 2007. Factors affecting milk flow traits in dairy cows: results of a field study. J Dairy Sci 90: 1159.
- Schroeder JW. 1997. Mastitis control programs: Bovine mastitis and milking management. North Dakota State University and U.S. Department of Agriculture cooperating. AS-1129. On Line: www.ag.ndsu.edu/pubs/ansci/dairy/as1129.pdf. 18 de septiembre, 2007.

Waldner DN. 2007. Dry Cow Therapy for Mastitis Control. Oklahoma Cooperative Extension Service. Division of Agricultural Sciences and Natural Resources. Oklahoma State University (OSU), Stillwater, Oklahoma, USA: 4351.

Viguier C, Arora S, Gilmartin N, Welbeck K, O'Kennedy R. 2009. Mastitis detection: current trends and future perspectives. Trends in Biotechnology 27 (8): 486-493.