

Aportaciones al diagnóstico de las mastitis subclínicas en la agrupación caprina canaria

OTILIA ROSA FERRER QUINTANA

RESUMEN

Este trabajo, realizado a partir del análisis de un colectivo de 75 animales pertenecientes a la Agrupación Caprina de la isla de Gran Canaria, ofrece una valoración de la incidencia de las infecciones por mastitis subclínicas, el principal problema que hoy en día tiene planteado el complejo patológico de las afecciones de la ubre en este tipo de ganadería. En concreto, se ha tratado de cubrir dos objetivos fundamentales: por una parte, establecer los valores celulares fisiológicos en muestras de leche mediante los métodos *California Mastitis Test*, *Coulter-Counter* y *Fossomatic*, considerando otros factores que pueden afectar a los mismos, como la edad y el estadio de lactación de cada animal estudiado, y por la otra, conocer las variaciones que se producen en dichos valores celulares a consecuencia de infecciones subclínicas de la ubre comparando las diferencias que se producen con cada una de las etiologías implicadas.

ABSTRACT

Diagnostic contribution regarding subclinical mastitis in the Canarian caprine group

This research, carried out after an analysis of 75 animals belonging to the Caprine Group of the island of Gran Canaria, evaluates the incidence of subclinical mastitis infections, the main problem that today affects the udders of this type of livestock. Specifically two main objectives were covered: on the one hand, establish the cellular physiological values in samples of milk by means of the California Mastitis Test, Coulter-Counter and Fossomatic, considering other factors that affect the same, such as age and lactating state of each animal studied, and on the other hand, to get to know the variations that are produced in said cellular values due to subclinical infections of the udder comparing the differences that are produced in each one of the etiologies involved.



Ejemplares de cabras canarias

Las mastitis continúan siendo una de las causas más importantes de enfermedad y pérdidas económicas en la industria lechera, a pesar de la introducción de programas de control desde hace más de veinte años. La mastitis subclínica, cuya frecuencia es de veinte a cincuenta veces superior a la mastitis clínica, es hoy día el principal problema de todo el complejo patológico que representan las afecciones de la ubre. Además, el 80% de las pérdidas de la producción de leche son debidas a las mastitis subclínicas. Al no ser detectadas estas infecciones subclínicas de la ubre constituyen un auténtico peligro para el estado sanitario de las ganaderías, ya que con la leche se eliminan bacterias que serán transmitidas a otros animales sanos a través de los utensilios de ordeño. Pueden convertirse en mastitis clínicas (agudas o crónicas). En ello estriba su importancia, junto al peligro que representa para la ganadería y la pérdida de producción lechera. A estas pérdidas hay que añadir la baja calidad de la leche.

La alteración en la baja calidad de la leche se debe prin-

cipalmente a una variación en su composición. Las modificaciones cualitativas de la leche producidas por la mastitis se traducen en los análisis en un mayor contenido celular. La leche con alto contenido en células sufre un descuento en su valoración, por lo que, para los ganaderos, las mastitis se traducen en la práctica en un menor beneficio de las ventas. Sin duda, las mastitis representan para la Agrupación Caprina Canaria uno de los pilares básicos que suponen pérdidas económicas para las ganaderías y, posiblemente, de los problemas más desatendidos en cuanto a medidas de control se refiere. Debemos destacar que es la producción láctea la principal función de este colectivo.

Atendiendo a las aseveraciones anteriormente expuestas hemos centrado nuestro trabajo en un colectivo de la Agrupación Caprina Canaria situado en la Isla de Gran Canaria, y que obedece en su condición de explotación a las características que reúnen la mayoría de estos colectivos ganaderos de nuestro Archipiélago. Con esta premisa los objetivos que nos hemos fijado son: Establecer los valo-

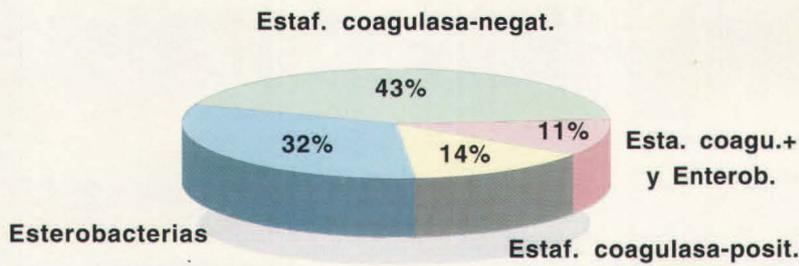
res celulares fisiológicos en muestras de leche mediante *California Mastitis Test*, *Coulter-Counter* y *Fossomatic* considerando otros factores que puedan afectar a los mismos como la edad y el estadio de lactación de cada animal estudiado y conocer las variaciones que se producen en dichos valores celulares a consecuencia de infecciones subclínicas de la ubre comparando las diferencias que acontecen con cada una de las etiologías implicadas.

1. RESULTADOS

1.1. Estado de salud de las glándulas mamarias del rebaño estudiado por control bacteriológico

Resultados bacteriológicos

De acuerdo con los datos obtenidos por Mansr (1981) para considerar la presencia de mastitis subclínica en el ganado caprino hemos obtenido los siguientes resultados:

GRÁFICO 1**Resultados bacteriológicos de las muestras de leche con mastitis subclínica**

De un total de 85 cabras investigadas en esta fase experimental, a las cuales les hicimos el seguimiento a lo largo del periodo de una lactación completa y sin que en ningún momento mostraran síntomas clínicos de mastitis, obtuvimos que 37 (46'25 %) de ellas presentaron en algún o algunos meses de este periodo mastitis subclínicas, y las 40 (53'75 %) cabras restantes se encontraban sanas o sin infección.

Etiología de las mastitis subclínicas en los animales estudiados

De un total de 1078 muestras de leche procesadas aislamos 37 cepas diferentes, que correspondían a distintas especies bacterianas (gráfico 1), de

las cuales las bacterias aisladas con mayor prevalencia resultaron ser los estafilococos coagulasa negativos 16 (43'24 %), y en porcentajes menores obtuvimos en 12 ocasiones (32'43 %) enterobacterias, 5 (13'51 %) fueron debidas a estafilococos coagulasa positivos y 4 (10'82 %) restantes se presentaron con infecciones mixtas debidas a estafilococos coagulasa negativos y enterobacterias.

1.2. Evaluación del contaje celular en la leche

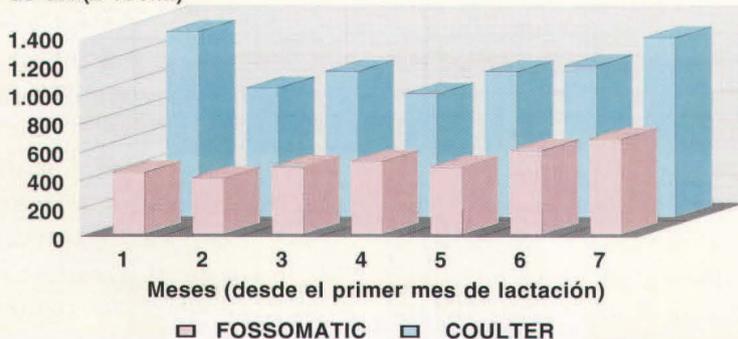
Valores celulares fisiológicos

Los resultados obtenidos con el método directo de cuantificación celular en leche mediante

Fossomatic en el grupo de animales sanos han oscilado a lo largo del periodo de la lactación con unas medias aritméticas comprendidas entre $349'28 \times 10^3$ células/ml y $671'46 \times 10^3$ células/ml, coincidiendo el mayor registro con el final de este periodo.

Atendiendo a los resultados de estos contajes celulares estableciendo distintos grupos según la edad de los animales estudiados, se observa que en el lote de animales más jóvenes, de 3 años, muestran los niveles más bajos en el número de células contenidas en la leche comparado con los demás lotes de animales mayores, sólo presentando contajes comparables a los niveles de los demás en el último mes de la lactación, que es donde se han registrado los mayores contajes celulares en este lote en su ciclo de la lactación. Los contajes celulares se comprueba que van aumentando con la edad, aunque son bastante similares en los meses intermedios de la lactación entre los lotes que comprende las edades de 6-7 años y de 8-9 años. En todos los lotes de animales sanos los mayores registros del número de células coinciden con la etapa final de la lactación. También en general, excepto en el lote de 4 años de edad, todos comienzan con un número elevado de contaje celular que disminuye en el siguiente mes de lactación.

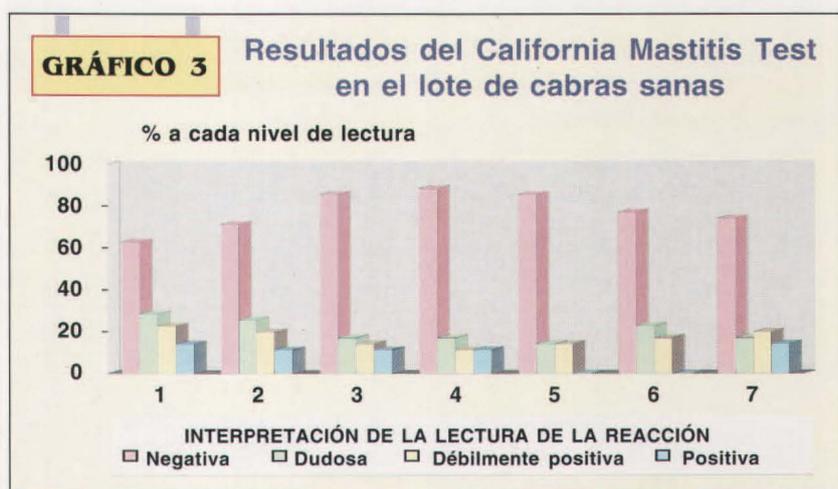
Los resultados de la cuantificación celular obtenidos con el método directo *Coulter-Counter* en el grupo de animales sanos se nos han presentado con unas medias aritméticas que han oscilado entre $860'32 \times 10^3$ células/ml y $1.341'99 \times 10^3$ células/ml. Los contajes ce-

GRÁFICO 2**Comparación del contaje celular en leche de cabras sanas**nº de cél.(x 10³/ml)

lulares registrados con el método *Coulter-Counter* al igual que ocurre con el *Fossomatic* nos muestra los valores más pequeños en el lote de animales de menor edad, y a medida que los lotes van aumentando de edad, este método fue registrando cada vez contajes más elevados del número de células en la leche, siendo en el lote de mayor edad (8 y 9 años) donde se registraron los valores del número de células más elevados. Excepto en el lote de 3 años, en el cual el registro mayor fue en el inicio de la lactación, en todos los demás lotes los registros mayores se produjeron tanto en el inicio como al final de la lactación.

En todos los lotes de los animales sanos se observa que los contajes registrados con el método *Coulter-Counter* superan con diferencia a los contajes registrados con el método *Fossomatic*, en una proporción que suele ser aproximadamente el doble en los meses intermedios, y del triple tanto en el primer mes como en el último de la lactación, lo cual queda claramente reflejado en el gráfico 2.

Además de la cuantificación de los contajes celulares con estos métodos directos en las muestras procesadas del grupo de animales sanos, realizamos una estimación con el *California Mastitis Test* (gráfico 3), con el cual observamos en el primer mes de lactación un elevado porcentaje (79'41 %) de animales que dan negatividad al mismo, y el 20'59 % restante presenta una positividad entre los niveles de reacción 1 y 2. Esta positividad observada en el primer mes de lactación va disminuyendo en los meses



siguientes, alcanzándose el menor porcentaje de positividad (3'55 %) en el cuarto mes de lactación, pero a medida que los meses se van aproximando hacia el final del periodo de producción, se incrementa de nuevo el porcentaje de positividad, alcanzando un 17'54 % de los animales niveles de positividad en el último mes de lactación (a nivel de reacción 1 y 2).

Si comparamos la distribución de los resultados al *California Mastitis Test* entre los cuatro lotes establecidos en el grupo de animales sanos, se observa que el lote de animales sanos más joven, de 3 años de edad, es el que presenta un mayor porcentaje de negatividad a la lectura de la reacción, mostrando un nivel muy esca-

so de positividad que corresponde tanto al inicio como al final del ciclo de la lactación.

Si comparamos los resultados obtenidos con el *California Mastitis Test* con los resultados de contajes celulares realizadas con los métodos directos *Fossomatic* y *Coulter-Counter* se puede observar la existencia de una correlación, ya que los niveles de la lectura de reacción al *California Mastitis Test* han mostrado un elevado porcentaje de negatividad correspondiente a esos animales sanos, apreciándose un aumento de los niveles de positividad con valores entre 1 y 2, tanto en el inicio como en el final de la lactación, lo cual ha coincidido con el aumento celular detectado en estos periodos tan-

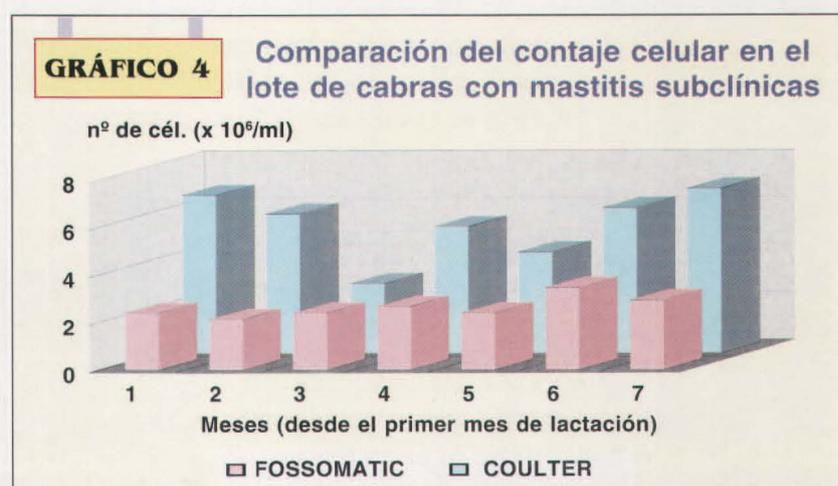
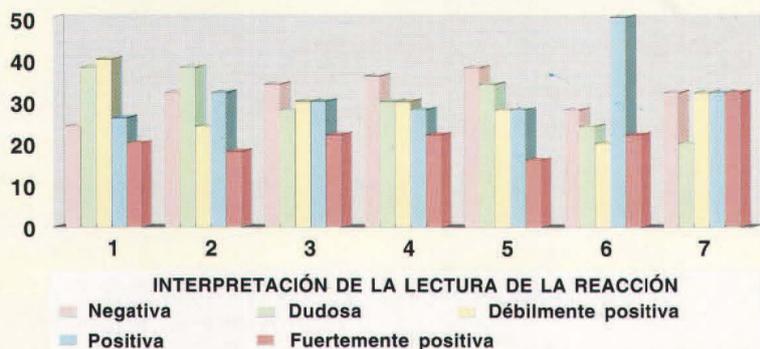


GRÁFICO 5 Resultados del California Mastitis Test en el lote de cabras con mastitis subclínica

% a cada nivel de lectura



to con el método *Fossomatic* como con el *Coulter-Counter*.

Valores celulares en leche de cabra con mastitis subclínica

Los resultados obtenidos con la técnica *Fossomatic* (gráfico 4) en el lote de cabras con mastitis subclínica se han presentado con unas medias elevadas a lo largo de toda la duración de la lactación, variando entre la mínima ($1.908'69 \times 10^3 \pm 1.717'32$ cél./ml) que se produjo en el segundo mes, y la máxima ($3.393'83 \times 10^3 \pm 2.148'33$ cél./ml) que se presentó en el sexto mes de la misma. En cuanto a los contajes celulares obtenidos con la técnica *Coulter-Counter* en este grupo de animales con infecciones mamarias han mostrado unos valores medios que han varia-

do entre ($3.282'28 \times 10^3 \pm 2.536'08 \times 10^3$ cél./ml) en el tercer mes y ($7.244'78 \times 10^3 \pm 8.563$ cél./ml) presentados en el séptimo mes de la lactación.

La representación gráfica del contaje celular realizada con *Fossomatic* y *Coulter-Counter* (gráfico 4) nos muestra una variación paralela a lo largo de todo el ciclo de la lactación, pero al igual que ocurría con los animales sanos estudiados, en esta última técnica se ha mostrado con contajes celulares en leche proporcionalmente más elevados, que han sido del orden de dos a siete veces superiores a los valores del *Fossomatic* según los casos.

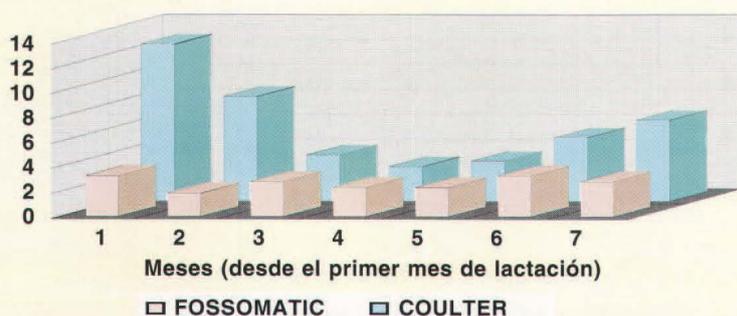
En el estudio de la distribución de los resultados al *Calif-*

ornia Mastitis Test en el lote de cabras con mastitis subclínica no se han presentado diferencias notables entre las muestras recogidas en los diferentes momentos de la lactación de cada animal infectado. El nivel de positividad de presentación más frecuente en este lote ha sido el correspondiente al nivel 2. En la curva (gráfico 5) de la distribución de los resultados al *California Mastitis Test* se puede apreciar que el grupo de animales que dieron reacciones negativas muestran una morfología inversa a la desarrollada por el grupo de animales sanos (gráfico 3), ya que los porcentajes del grupo de animales con mastitis subclínica que demostraron negatividad son menores tanto en el inicio como en las etapas finales de la lactación, y más elevadas en las etapas intermedias de este ciclo.

Considerando la etiología de las mastitis subclínicas, los valores de contaje celular en leche en este lote de animales dio resultados muy superiores a los que muestra el lote sano en todos los casos, incluso en las infecciones por estafilococos coagulasa-negativos. Los contajes celulares realizados con la técnica de *Fossomatic* (gráfico 6) en animales que presentaron mastitis subclínica con este grupo de bacterias mostraron unos valores medios que oscilaron entre $1.375'29 \times 10^3 \pm 1.087'16 \times 10^3$ cél./ml y $2.968'00 \times 10^3 \pm 2.624'03 \times 10^3$ cél./ml. Si comparamos estos contajes celulares con los obtenidos en el grupo de animales sanos se observa que el número de células en cabras con mastitis subclínicas debidas a estafilococos coagulasa-negativos (gráfico 6) son notablemente ma-

GRÁFICO 6 Comparación del contaje celular en leche de cabras con mastitis subclínica debidas a estafilococos coagulasa negativa

nº de cél. ($\times 10^6$ /ml)



yores que en animales sanos, e incluso se aprecia bastante diferencia si dentro del grupo de animales sanos los comparamos con el de mayor edad (que presentaban los valores más elevados).

Los resultados obtenidos con el método *Coulter-Counter* en este grupo de animales han mostrado unos contajes medios a lo largo del periodo de la lactación que han oscilado entre $2.303'27 \times 10^3 \pm 1.311'72 \times 10^3$ cél/ml y $13.128'00 \times 10^3 \pm 13.387'57 \times 10^3$ cél./ml). Estos últimos que han sido los más elevados se obtuvieron en el primer mes de lactación.

Valores de sensibilidad y especificidad de las técnicas empleadas

La prueba indirecta de contaje celular en leche con el *California Mastitis Test* ha ofrecido una sensibilidad del 76 % y una especificidad del 86%.

El método directo de contaje celular con *Fossomatic* ha presentado una sensibilidad del 85% y una especificidad del 88%.

En cuanto a la prueba directa de contaje celular con el método *Coulter-Counter* nos ha dado unos resultados de sensibilidad de un 67% y una especificidad del 89%.

Con la elaboración de todos estos resultados hemos obtenido que la técnica de mayor sensibilidad ha sido la mostrada por el *Fossomatic*, y que en cuanto a especificidad, todas ellas, tanto el *California Mastitis Test*, *Fossomatic* y *Coulter-Counter*, han mostrado niveles muy similares, variando entre el 86 y el 89%.

2. DISCUSIÓN

2.1. Estado de salud de las glándulas mamarias por control bacteriológico

Etiología de las mastitis subclínicas en el ganado caprino

Del total de 1.078 muestras procesadas de leche de cabra en nuestro estudio un 53'75% no presentaron infecciones subclínicas, estos hallazgos son un poco inferiores a los obtenidos por Hunter (1984) y C. Lerondelle y Poutrel (1984), quienes encontraron que las muestras de leche libres de infección constituían el 69'4, 75 y 67'4% respectivamente. Sin embargo contrastan con los resultados obtenidos por D. Kalogridou-Vaasiliadou y cols. (1992), los cuales observaron unos elevados índices de mastitis subclínicas, ya que sólo el 18'6% de las muestras de leche examinadas estaban libres de infección. Estos elevados porcentajes de ubres

caprinas con infecciones subclínicas se atribuyen a las escasas medidas higiénicas practicadas en las granjas donde no se lleve a cabo un control sistemático basado en el lavado y desinfección de las manos de los ordeñadores, de los utensilios de ordeño o limpieza y desinfección de los pezones.

En nuestros resultados obtuvimos que en un 46'25% de los animales estudiados presentaron mastitis subclínica en algún o algunos meses del periodo de la lactación, lo cual es indicativo que en el ganado caprino (Maisy y Riipinen, 1991; Kalogridou-Vaasiliadou, 1992) al igual que ocurre en el bovino (Kleinschroth y cols., 1989; Cullor y cols., 1990) el verdadero problema de las mastitis son estas infecciones subclínicas debido a su elevada presentación, y al no ser detectadas constituyen un verdadero peligro para el estado sanitario de las ganaderías. Muchas de estas infecciones subclínicas persistieron durante varios meses a lo largo de la lactación, infecciones persistentes que han



sido observadas por diversos investigadores, incluso a través del periodo de secado.

Se ha observado que los microorganismos patógenos más significativos asociados con las mastitis caprinas son similares a aquellos encontrados en las ubres bovinas, como por ejemplo los estafilococos hemolíticos y no hemolíticos, estreptococos, etc. De las distintas especies bacterianas aisladas por nosotros, los estafilococos han sido los principales organismos presentes en las mastitis subclínicas y dentro de este grupo de bacterias los estafilococos coagulasa-negativos fueron los que se presentaron con mayor prevalencia, lo cual coincide con los resultados obtenidos por la mayoría de los autores.

En nuestro estudio el porcentaje de estafilococos coagulasa negativos fue de un 43'24%, resultados muy similares a los obtenidos por Poutrel y Lerondelle (1983) que fue de un 41'6%. Sin embargo, otros autores han obtenido porcentajes menores entre un 20-24% (Hunter, 1984; Lerondelle y Poutrel, 1984) y en otros considerablemente mayores entre un 65-98% (Kalogridou-Vaasiliadou y cols., 1992). Aunque la prevalencia de las infecciones debidas a estafilococos coagulasa-negativos subclínicas sean elevadas, sin embargo su importancia ha sido ampliamente debatida. En nuestros resultados al igual que en los de diversos autores estas infecciones pueden persistir a lo largo de los meses que comprende la lactación, por lo que tales resultados no apoyan el punto de vista de que estas infecciones pueden presentarse y desaparecer de un día para otro, lo cual sugiere que se tratan de

verdaderas infecciones de las ubres. Además, se ha observado que estos microorganismos provocan un incremento del contaje de células somáticas y una disminución de la producción de leche, por lo que se han considerado patógenos genuinos de las ubres caprinas.

En la mayoría de los países, *Staphylococcus aureus* es la etiología predominante de las mastitis subclínicas y también de los casos clínicos, pero la prevalencia de estas bacterias suele ser siempre menor que los estafilococos coagulasa-negativos. Un 32'43% de las cepas aisladas fueron enterobacterias, estos resultados contrastan con los de numerosos autores, los cuales las han aislados en porcentajes bastantes menores. Aunque en general los porcentajes del número total aislado de estas bacterias sean bajos, en muchos rebaños estas bacterias son los patógenos secundarios más importantes. A pesar de que generalmente la incidencia de estas infecciones sean bajas pueden producirse brotes cuando se presentan condiciones que incrementan la exposición de estos microorganismos. Los microorganismos coliformes abundan en el estiércol y en las camas de los animales, mientras que las mastitis por pseudomonas pueden originarse de aguas contaminadas o de máquinas de ordeño lavadas inadecuadamente.

En nuestros aislamientos bacteriológicos nunca encontramos cepas del Género *Streptococcus*. Estos resultados están en concordancia con la baja prevalencia de estreptococos recogida por numerosos autores (Manser, 1986; East y cols., 1987; Contreras de Vera y cols., 1992)

lo que se ha sugerido que en determinados países este Género tiene poco significado como causa de las mastitis caprinas. Aunque diversas especies, tales como *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus zooepidermicus* han sido aislados de ubres caprinas (Baxendell, 1985; León y cols., 1985). Esto contrasta con el ganado vacuno, donde la prevalencia de los *Streptococcus spp.* es mucho más importante; aunque también en porcentajes importantes han sido hallados en el ganado caprino en determinadas áreas geográficas (El-Sergany y cols., 1982; Lerondelle y Poutrel, 1984; Shuman y cols., 1986).

Otras bacterias pueden aislarse de mastitis subclínicas, aunque en esta fase experimental no los hemos aislados sí pueden presentarse pero generalmente con prevalencias bajas tales como *Bacillus spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Corynebacterium spp.*, hongos y levaduras.

2.2. Evaluación del contaje celular en la leche del ganado caprino

Valores celulares fisiológicos

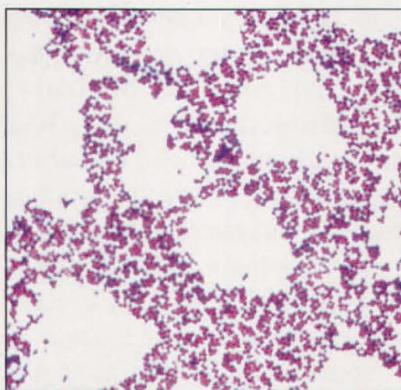
El contenido celular de la leche es un factor que ayuda a conocer el estado sanitario de la ubre. Un elevado contenido celular significa enfermedad de la ubre, menor producción de leche, alteración de su composición y consiguiente pérdida económica. El grado de incremento celular se halla en relación directa con la gravedad del proceso que sufre la ubre, por

lo que el exámen del contenido celular de la leche puede indicar su estado funcional. Los contajes de células somáticas se han aceptado como el mejor índice cuantitativo de la inflamación de la glándula mamaria bovina y se utiliza tanto para evaluar la calidad de la leche como para predecir el estado de infección de la ubre.

La cuestión ha sido si los diversos métodos usados rutinariamente para estimar los contajes de células somáticas y el valor umbral reconocido como normal en vacas (500.000 células/ml) pudieran aplicarse con precisión para las determinaciones en la leche de cabra, lo cual ha sido motivo de controversia. Diversos autores han indicado que el contaje de células somáticas en cabras no se correlaciona con el número de leucocitos, ésto es debido a la secreción de la leche de cabra que al ser de tipo apocrino resulta con un elevado número de partículas esféricas citoplásmicas y de células epiteliales.

Los resultados obtenidos con el método directo de cuantificación celular en leche mediante *Fossomatic* en el grupo de animales sanos han oscilado a lo largo del periodo de lactación con unas medias aritméticas comprendidas entre $349'28 \times 10^3$ células/ml y $671'46 \times 10^3$ células/ml. Presentando unos valores medios en los estadios intermedios de $471'23 \times 10^3 \pm 489'58 \times 10^3$ células/ml (gráfico 2).

Atendiendo a los resultados de estos contajes celulares según los distintos lotes de animales según la edad hemos observado que existen diferencias estadísticas manifiestas entre los distintos grupos, diferencias que



Stafilococo.

se han podido atribuir al grupo de 3 años ($p < 0'01$), en el cual se puede apreciar unos valores medios muchos más bajos que los observados en los restantes grupos.

Aunque los diversos investigadores no han considerado este factor edad en la interpretación de los resultados, debido a la gran variabilidad con que resultan los distintos contajes realizados en los animales, hemos considerado este factor como una posible variante de la diversidad de los valores, y con nuestros resultados y estudios estadísticos hemos podido apreciar que la edad es un factor que influye en el contenido celular de las ubres de los animales. En todos los lotes de animales sanos se ha podido apreciar que los mayores registros observados del número de cé-



Streptococo.

lulas en la leche coinciden con la etapa final de la lactación. También en general, todos suelen comenzar con un número elevado de contaje celular que disminuye en el siguiente mes de lactación. Estos incrementos a medida que la lactación avanza en las medias de los contajes celulares se ha observado que tienen lugar tanto en la leche de bovinos como en la de caprinos. Al igual que los resultados observados en nuestros estudios, se ha observado que los contajes de células somáticas en la leche del ganado caprino muestra fluctuaciones durante la lactación, observándose los mayores aumentos tanto en la época del parto como en los estadios últimos de la lactación. Es por ello que se ha sugerido que los contajes celulares debían relacionarse con el estado de la lactación, y que hacia el final de la misma se podían alcanzar valores similares a los de las ubres infectadas con patógenos mayores.

Smith y Roguinsky (1977) establecieron la siguiente guía general para la interpretación de mastitis del ganado caprino: contajes inferiores a un millón de células por mililitro representan glándulas sanas o con una ligera irritación; de quinientas mil a dos millones de células por mililitro sugerían la presencia de microorganismos no patógenos o ligeramente patógenos; y contajes superiores a un millón y medio por mililitro son indicativos de la presencia de microorganismos patógenos, siendo los más frecuentes *Staphylococcus spp.*

Los contajes celulares en cabras se pueden presentar con valores muy variables que se han situado por debajo de 500.000

células por mililitro (19-47 % de las muestras), entre 500.000 y 1.000.000 de células/ml (17-25 % de las muestras) y entre 1.000.000 y 2.000.000 de células por mililitro (21-34 % de las muestras). Estos distintos rangos de valores también lo hemos podido apreciar en nuestro estudio. Debido a la gran variabilidad en los resultados de los contajes de células somáticas que se pueden presentar en la leche del ganado caprino es por lo que se considera importante el tener en cuenta los diversos factores que puedan influir en los mismos, ya sea edad de los animales, estado de lactación, así como considerar otros factores que han sido observados en otros estudios, en los cuales aprecian que pueden existir diferencias significativas cuando se comparan las medias de contajes celulares entre rebaños distintos. Posiblemente esto sea debido a las diferentes medidas de manejo llevadas a cabo, condiciones sanitarias o estado de infección.

Los contajes celulares obtenidos con el método *Fossomatic* se han presentado bastante inferiores a los obtenidos con el método *Coulter-Counter*. Esto posiblemente sea debido a que las partículas citoplásmicas parecidas a las células que no son leucocitos y que comúnmente se encuentran en la leche de cabra no contienen ADN, por lo que con este método al igual que los diversos métodos que son específicos para medir el ADN, dan resultados significativamente menores que los contajes electrónicos de partículas mediante *Coulter-Counter* o con los contajes de células somáticas con métodos directos al microscopio mediante técnicas de tinciones no específi-

cas. Debido a que el método *Coulter-Counter* no puede diferenciar entre las partículas citoplásmicas (las cuales están presentes en la leche de cabra) de los leucocitos, es por lo que con este método se obtienen elevados contajes celulares. Por esta razón diversos autores recomiendan que para estimar la concentración de células somáticas en la leche de cabra se deben de emplear sólo aquellos métodos que sean específicos para la determinación del ADN nuclear. Aunque cabe esperar que el número de partículas citoplásmicas sea variable, nosotros hemos encontrado que aproximadamente los contajes obtenidos con el método *Coulter-Counter* han sido el doble a los obtenidos con el método *Fossomatic* para el grupo de animales sanos, y más variable, de dos a siete veces para animales con mastitis subclínica.

En el presente estudio, la distribución de los resultados al *California Mastitis Test* en la leche de cabras sanas varía ligeramente dependiendo del estado de lactación y de las edades de los animales, variaciones que también han sido apreciadas por otros autores, pues en nuestro estudio hemos obtenido que en el primer mes de lactación un 79'41 % de los animales mostraron una negatividad al mismo, y el 20'59 % restante ha presentado una positividad entre los niveles de reacción 1 y 2. Esta positividad observada en el primer mes de lactación va disminuyendo en los meses intermedios, pero a medida que se van aproximando hacia el final del periodo de producción, se incrementa de nuevo el porcentaje de positividad, donde en el último mes de la lactación un 17'54 % de los anima-

les mostraron niveles de positividad (a nivel de reacción 1 y 2). Ahora bien estas variaciones que se pueden apreciar al observar las distintas curvas del *California Mastitis Test* al realizar los análisis de varianza no resultaron siempre significativas, sólo se apreciaron tales diferencias en el tercer, cuarto y quinto mes de la lactación, y se atribuyeron al grupo de animales más joven ($P < 0'05$). Estos resultados son similares a los observados en otros estudios (Maisi, 1990 a), apreciándose también que los animales más jóvenes suelen dar reacciones más bajas, lo cual coincide con los resultados observados anteriormente para las técnicas *Fossomatic* y *Coulter-Counter*.

Aunque el *California Mastitis Test* podría aplicarse en cualquier mes de la lactación, se ha recomendado que para una mayor fiabilidad de este test se debe aplicar a partir del tercer día después del parto y no utilizarlo una vez que el periodo de secado hubiese comenzado, ya que tanto las leches calostrales como las secreciones en el periodo de secado presentan un elevado contenido celular, y por lo tanto, pueden manifestar reacciones falsas positivas con esta técnica. A pesar de que numerosos autores han comprobado que los contajes de células somáticas en la leche normal del ganado caprino presenta unos niveles mayores que los obtenidos en la leche de vacas, sin embargo se ha indicado que los niveles de lectura con el *California Mastitis Test* que reflejan los contajes de neutrófilos en leche de cabra son similares a los encontrados en la leche del ganado bovino. Esto es debido, a que el incremento que



Ubre de cabra afectado por mastitis

se produce con el *California Mastitis Test* normalmente es debido a una elevación en el número de neutrófilos y las estructuras citoplásmicas que están presentes en la leche de cabra no reaccionan con el reactivo de dicha prueba. Algunos autores han sugerido que los niveles de lectura 1, 2 y 3 del *California Mastitis Test* deben considerarse como normales en la leche de cabras en los estadios intermedios de la lactación, y que las reacciones cuarta y quinta son las realmente importantes en el ganado caprino, ya que la leche normal de cabra puede dar reacciones del nivel segundo y tercero. Aunque nosotros estaríamos más de acuerdo con aquellos autores que consideran que el umbral del *California Mastitis Test* a partir de cuatro es indicativo de infección, y el nivel tres se debe considerar sospechoso de presentar infección.

En nuestro estudio hemos podido observar que un bajo nivel de lectura al *California Mastitis Test* suele ser un buen indicador de la ausencia de infección en la glándula mamaria. Sin embargo, un elevado nivel de reacción a esta prueba no siempre es indicativo de in-

fección, al igual que ha sido observado en otros estudios. El *California Mastitis Test* ha sido uno de los métodos indirectos más ampliamente utilizado para propósitos rutinarios en el laboratorio así como en condiciones de campo tanto en el ganado vacuno, ovino, como en el ganado caprino. A pesar de ello, al ser el *California Mastitis Test* un método subjetivo presenta las limitaciones propias de dicho carácter.

Valores celulares en leche de cabra con mastitis subclínica

El número de microorganismos patógenos presentes en la leche puede ser un índice cuantitativo de inflamación de la glándula mamaria. Es por ello que algunos autores consideran que se debe comparar o correlacionar el conteo de células somáticas con el número de bacterias presentes en la leche. La influencia de las infecciones de la ubre debidas a estafilococos coagulasa negativos sobre los conteos totales de células somáticas en la leche del ganado caprino ha sido una cuestión ampliamente debatida. Esta controversia es debida a que algunos autores recogen la presentación de un incremento

del conteo de células somáticas en ubres que albergan estafilococos coagulasa-negativos, y sin embargo otros autores no hallaron diferencias entre las ubres infectadas y ubres libres de infección.

Por todo ello se ha indicado que se deben separar los estándares establecidos para la leche de vaca de los de cabra. Y aunque existan problemas de coste y viabilidad en la situación práctica de las ganaderías, es recomendable realizar la determinación de leucocitos para detectar las condiciones anormales en las leches del ganado caprino. En el presente estudio los animales que presentaron mastitis subclínicas mostraron conteos celulares elevados a lo largo de toda la duración de la lactación determinados tanto con la técnica *Fossomatic* ($P < 0'001$), como con el método *Coulter-Counter* ($P < 0'001$) (gráfico 4). Estos incrementos son observados en los diversos estudios que han aplicado los diversos métodos de cuantificación celular. La cuestión ha sido que si tales incrementos se producen sólo por patógenos mayores o también por los patógenos menores.

Nuestros resultados apoyan a los de aquellos autores que recogen un incremento del conteo de células somáticas en ubres que albergan estafilococos coagulasa-negativos, incrementos que han sido significativos determinados tanto con el método *Fossomatic* ($P < 0'001$) como con el método *Coulter-Counter* ($P < 0'001$). Los resultados de algunos estudios han mostrado que los conteos con el método *Fossomatic* cuando se exceden de 1.000.000 de células por mililitro detecta entre un 72-

80 % de infecciones por patógenos mayores, siendo la detección de patógenos menores más pequeña, entre un 18 y 45 %.

En nuestro estudio al tomar como referencia este nivel de un millón de células para el *Fossomatic* obtenemos resultados muy similares con respecto a la detección de patógenos mayores (86'96 %), sin embargo para la detección de patógenos menores (comprendiendo éstos a los estafilococos coagulasa-negativos) hemos obtenidos porcentajes bastantes superiores (81'43 %) a los obtenidos en otros estudios (Poutrel y Lerondelle, 1983; Kalogridou-Vasiliadou, 1992). Esto podría explicarse al distinto grado de patogenicidad que puede presentarse en las distintas especies de estafilococos coagulasa-negativos, como ha quedado demostrado en el estudio llevado a cabo por P. Maisi y Riipinen (1991) en el que apreciaron que numerosas especies de estafilococos coagulasa-negativos que se aíslan de casos de mastitis subclínicas presentan una patogenicidad intermedia, produciendo por lo tanto incrementos significativos en los contajes de células somáticas en la leche del ganado caprino.

En estudios realizados en el ganado caprino, se ha obtenido que el umbral de mayor discriminación determinado con el método *Coulter-Counter* para el diagnóstico de ubres infectadas era de 1.000.000 de células por mililitro. Usando este valor, el 72% de infecciones producidas por patógenos mayores fueron diagnosticadas y sólo un 18% de infecciones producidas por estafilococos coagulasa-negativos. Sin embargo nuestros resultados nos mues-

tran tomando como nivel de discriminación 1.000.000 de células por mililitro una detección de microorganismos más elevada, un 99% de los patógenos mayores y un 96% de los patógenos menores, lo cual podría explicarse como anteriormente visto en el método *Fossomatic* a la diferencia del grado de patogenicidad de los microorganismos que intervienen en estas mastitis subclínicas. Estos autores aunque no detectan el 19 % de las infecciones por patógenos mayores, consideran que ese umbral de 1.000.000 de células por mililitro no es demasiado malo para el diagnóstico de las mastitis subclínicas si se comparan con resultados obtenidos para vacas con un umbral de 500.000 células por mililitro. Sin embargo, en el periodo de secado, aunque el 90% de las infecciones por patógenos mayores fueron diagnosticadas, aproximadamente un 60% de ubres no infectadas fueron consideradas como infectadas, debido a que en este periodo los contajes celulares son muy elevados. Con este umbral de discriminación de 1×10^6 células por mililitro los valores de sensibilidad y especificidad de esta técnica en nuestro caso varían sustancialmente situándose, respectivamente, en 96 p. 100 y 61 p. 100. Aunque en diversos estudios se asocia a los estafilococos coagulasa-negativos con aumentos relativos de los contajes celulares en leche, también se ha observado que algunos rebaños con infecciones debidas a *Staphylococcus aureus* se han asociado con contajes celulares relativamente limitados ($1'44 \times 10^6$ células/ml), lo cual es debido a las propiedades patogénicas particulares de las cepas presentes en tales rebaños.

En el estudio de la distribución de los resultados al *California Mastitis Test* en este grupo de animales con mastitis subclínicas aunque en muchas de estas infecciones se produjeron un aumento en los niveles de la prueba, no en todos los casos se obtuvieron reacciones positivas, presentándose reacciones negativas a lo largo de los meses de la lactación. Por lo que con estos resultados observamos que tanto el nivel dos como el tres se pueden presentar tanto en animales sanos como en animales con mastitis subclínica, por lo que estos niveles del *California Mastitis Test* aunque no siempre son indicativos de la presencia de infección pueden considerarse como sospechosas de mastitis subclínicas. Estas variaciones pueden ser debidas tanto a la subjetividad del test, como al grado de patogenicidad de los microorganismos que albergan en la ubre del animal (Ávila y cols., 1982). Así como observábamos que en las ubres sanas tras el periodo calostroal los niveles del *California Mastitis Test* declinan a niveles menores dentro de las primeras semanas de la lactación, en las ubres infectadas estos niveles permanecen elevados, al igual que lo observado en otros estudios (Maisi, 1990 a, Maisi, 1990 b).

P. Maisi (1990 a) observó en su estudio diferencias altamente significativas entre los niveles del *California Mastitis Test* de ubres sanas y ubres caprinas infectadas subclínicamente. Sin embargo en nuestro estudio hemos observado diferencias pero que no son tan significativas, lo cual podría deberse al carácter subjetivo de la prueba y al diverso grado de patogenicidad de los

microorganismos. Si incrementamos los coeficientes de positividad para esta técnica en el sentido de considerar con mastitis subclínicas aquellas muestras con lecturas de positividad superiores al cuarto nivel (positiva ++), los valores de sensibilidad y especificidad obtenidos en nuestro caso se sitúan, respectivamente, en 41 y 97 %.

En los diversos estudios llevados a cabo para valorar la cuestionada patogenicidad de las infecciones por estafilococos coagulasa-negativos se ha observado que la mayoría de estas infecciones producen aumentos significativos a la lectura de reacción del *California Mastitis Test*, incrementos que también han sido observados en nuestro estudio.

Como hemos podido observar de los diversos resultados de nuestra investigación, los estafilococos coagulasa-negativos producen incrementos celulares significativos ($P < 0'001$) de-

tectados tanto con los métodos *Fossomatic*, *Coulter-Counter* como en los niveles de reacción del *California Mastitis Test* ($P < 0'05$), resultados que apoyan a los de aquellos autores que indican que estos microorganismos que producen disminución de la producción de leche, persisten a lo largo de la lactación, pueden persistir de una lactación a otra y además aumentan aquellos parámetros indicativos de inflamación de la ubre, son patógenos genuinos de las ubres caprinas. Los resultados de los diversos estudios llevados a cabo apoyan el punto de vista de que las infecciones de la ubre con patógenos, y en numerosas ocasiones con microorganismos generalmente considerados como de baja patogenicidad, son la principal causa del aumento de los niveles de los contajes celulares en la leche.

Una importante observación que emerge del presente estudio es referente a la persistencia de las infecciones subclí-

cas a lo largo de la lactación. En nuestro estudio hemos observado que un 72'73 % de las infecciones diagnosticadas al inicio de la lactación todavía estaban presentes al final de la misma, similares resultados se han apreciado en otros estudios. Las infecciones por estafilococos coagulasa-negativos persistieron a lo largo de la lactación así como las infecciones por patógenos mayores, esta misma tendencia también se ha observado en infecciones de la glándula mamaria de los bovinos. Muchas de estas infecciones persisten en el periodo de secado hasta la siguiente lactación, además en este periodo también se ha observado que se produce nuevas infecciones en la ubre en una proporción que es el doble a las que tiene lugar en el periodo de lactación. Estos datos justifican el uso de procedimientos de control de las mastitis tales como desinfección del canal del pezón tras el ordeño, y tratamientos en el periodo de secado en rebaños problemáticos.

BIBLIOGRAFÍA

- **Hinckley, L.S. y Williams, L.F.**, 1981: Diagnosis of mastitis in goats. *Veterinary Medicine Small Animal Clinic*, 76: 711-712.
- **Kalogridou-Vassiliadou, D., Manolkidis, K., Tsigoida, A.**, 1992: Somatic cell counts in relation to infection status of the goat udder. *Journal Dairy Research*, 59: 21-28.
- **Lerondelle, C. & Poutrel, B.**, 1984: Characteristics of non-clinical mammary infections of goats. *Annales de Recherches Vétérinaires*, 15: 105-112.
- **Maisi, P. & Riipinen, I.**, 1991: Pathogenicity of different species of staphylococci in caprine udder. *British Veterinary Journal*, 147: 126-132.
- **Park, Y.W. & Humphrey, R.D.**, 1986: Bacterial cell counts in goat milk and their correlations with somatic cell counts, percent fat, and protein. *Journal Dairy Science*, 69: 32-37.
- **Pérez, M. & Schultz, L.H.**, 1979: Somatic cells in goat milk. *Proc. Annu. Mtg. Natl. Mastitis Counc.* 18:44.
- **Petterson, K.E.**, 1981: Cell content in goat's milk. *Acta Vet. Scand.* 22: 226.
- **Poutrel, B. & Lerondelle, C.**, 1983: Cell content of goat milk: California Mastitis Test, Coulter Counter and Fossomatic for predicting half infection. *Journal of Dairy Science*, 66: 2575-2579.
- **Poutrel, B. & Rainard, P.**, 1981: California Mastitis Test guide of selective dry cow therapy. *Journal of Dairy Science*, 64: 241-248.
- **Roguinsky, M., Redon, J.F.**,

- Le Mens, P., Gendron, H., Allard, P., 1971: Causes et diagnostic des mammites de la chèvre. *Chèvre*, 68: 4-5.
- Sheldrake, R.F., Hoare, R.J.T. & Woodhouse, V.E., 1981: Relationship of somatic cell count and cell volume analysis of goat's milk to intramammary infection with coagulase-negative staphylococci. *Journal of Dairy Research*, 48: 393-403.
 - Smith, M.C. & Roguinsky, M., 1977: Mastitis and other diseases of the goat's udder. *Journal American Veterinary Association*, 171 (12): 1241-1248.

BIOGRAFÍA

Otilia Rosa Ferrer Quintana

Otilia Rosa Ferrer Quintana nace en Las Palmas de Gran Canaria en 1965. Se licencia en Veterinaria por la Universidad de Córdoba en 1989. En este mismo año colabora con la Consejería de Agricultura y Pesca del Gobierno de Canarias para llevar a cabo la Campaña de Saneamiento de la Ganadería en la isla de Lanzarote. Desde octubre de 1989 hasta la fecha desarrolla su actividad docente como Profesora Asociada a tiempo completo en el Departamento de Patología Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Durante este periodo participa en diversos programas de investigación, tales como «*Leishmaniosis canina*», «*Paratuberculosis caprina*», «*Agalaxia contagiosa caprina*» y «*Mastitis subclínicas*», siendo este último proyecto financiado en parte

por la Fundación Universitaria de Las Palmas, y base de la tesis doctoral que lleva por título «*Aportaciones al diagnóstico de las mastitis subclínicas en la Agrupación Caprina Canaria*», con la cual se doctora en Veterinaria en abril de 1994. Actualmente se especializa en dermatología de pequeños animales, para lo cual ha realizado una estancia en la Clínica de Pequeños Animales de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Edimburgo.

Dirección:

Facultad de Veterinaria
Dpto. Medicina Veterinaria, Patología Animal,
y Ciencia y Tecnología de los Alimentos
Edificio de Veterinaria
C/ Francisco Iglott Artiles, 12
35080 - Las Palmas de Gran Canaria
Tfn: 45 11 00

Este trabajo ha sido patrocinado por:

VIDRIERAS CANARIAS, S.A.