

# Aislamiento de *Prototheca* en un brote de mastitis bovina

Antonio Porras Almeraya\*

Existe un gran número de géneros y especies de microorganismos que se asocian a mastitis bovina; de éstos, una pequeña parte se aísla de un alto porcentaje de muestras de leche, siendo los más comunes los estafilococos, estreptococos y colibacilos. En ocasiones se presentan casos de mastitis que no ceden a los tratamientos rutinarios con quimioterapéuticos, éstos pudieran ser ocasionados por organismos como: actinomicetos, hongos, levaduras o algas incoloras, que pueden provocar casos aislados o brotes en los hatos.

El género *Prototheca* fue descrito por primera vez por Kruger,<sup>10</sup> como un grupo de microorganismos unicelulares no pigmentados, los cuales se pueden aislar de una gran variedad de ambientes como arroyos, aguas marinas, aguas estancadas y heces de bovino. La *Prototheca* comúnmente se encuentra como un organismo saprófito, pero también puede ocasionar enfermedad tanto en el hombre como en los animales. Lerche<sup>11</sup> describió el primer caso de mastitis bovina causada por algas aclorofílicas señalando que posiblemente la *Prototheca zopfii* fuera la causante de mastitis bovina epizootica. Frank *et al.*<sup>6</sup> lograron reproducir experimentalmente la enfermedad a partir del organismo aislado de un hato lechero, donde el 24.7% de las vacas estaban infectadas con dicha alga.

La mastitis bovina por *Prototheca* se ha descrito en diferentes países por diversos autores: en el Reino Unido,<sup>1</sup> Estados Unidos de América,<sup>6, 8</sup> Dinamarca,<sup>2</sup> Canadá<sup>4, 5</sup> y en Nueva Zelanda.<sup>9</sup>

El objetivo del presente estudio es describir un brote de mastitis bovina por *Prototheca* en un hato lechero en el estado de Hidalgo, México.

En octubre de 1984, el dueño de un hato lechero solicitó asistencia técnica debido a una marcada disminución en la producción láctea, por un incremento en el número de casos de mastitis clínica. Dicho hato se ubica en el municipio de Atitalaquia en el estado de Hidalgo, México, el cual se localiza entre los paralelos 20° 01' y 20° 05' de latitud norte y entre los 99° 09' y 99° 16'

de longitud oeste, a una altura de 2073 metros sobre el nivel del mar. El clima es templado, con temperatura media anual de 16.5° y precipitación pluvial de 947 milímetros al año.<sup>7</sup> El hato se encontraba compuesto por aproximadamente 230 vacas Holstein en ordeño, para lo cual se contaba con una sala de ordeño tipo tandem con seis unidades en total.

La metodología que se empleó para determinar las causas de dicho brote de mastitis consistió en: A. Inspección clínica de las vacas con mastitis clínica, B. Realización de la Prueba de California para mastitis (PCM) en todos los animales en ordeño, C. Análisis bacteriológico, para lo cual se tomaron muestras de leche individuales o combinadas de hembras con una o varias glándulas afectadas de la ubre y D. Se evaluó el funcionamiento del equipo de ordeño y las prácticas de manejo durante el mismo.

La toma de muestras para el análisis bacteriológico se llevó a cabo en dos ocasiones con un intervalo de un mes entre cada muestreo, seleccionando aquellas glándulas visiblemente afectadas y positivas a la PCM (calificación 3). Colectadas las muestras de leche, se conservaron en refrigeración y se transportaron para su procesamiento en el Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Medicina Veterinaria, de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). La metodología empleada para el cultivo, aislamiento e identificación de microorganismos, se hizo conforme a lo indicado para muestras de leche sospechosas de mastitis.<sup>3</sup>

**A. Inspección clínica.** Las glándulas de las vacas donde posteriormente se aisló *Prototheca* presentaron tres hallazgos constantes: reducción de tamaño e incremento a la palpación en la consistencia de las glándulas infectadas, sin presentar signos de inflamación marcada. Segundo, las glándulas afectadas presentaban una disminución marcada de la producción láctea. Tercero, las glándulas dañadas estaban sometidas a tratamientos con infusiones intramamarias de antibióticos comerciales sin resultados efectivos.

**B. Prueba de California para mastitis.** Se realizó esta prueba en 230 vacas en producción. Los resultados de 920 glándulas examinadas fueron: el 52% mostró una reacción negativa, 16% trazas y 32% alguna reacción positiva a la prueba (1, 2 o 3). Es importante señalar que

Recibido para su publicación el 19 de febrero de 1993

\* Departamento de Reproducción. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. 04510, México, D.F.

todas las glándulas de los animales donde se aisló *Prototheca* tuvieron valores de 3 en la Prueba de California.

**C. Análisis bacteriológico.** La primera colección incluyó 11 muestras de leche de 9 vacas. En tres de ellas se aisló *Prototheca* spp, en dos *Streptococcus agalactiae*, en una *Candida albicans* y en tres no hubo crecimiento de microorganismos (Cuadro 1). En la segunda colección, se tomaron 20 muestras combinadas de 20 vacas, de las cuales 12 resultaron positivas a *Prototheca* spp; dos de ellas provenían de animales en donde se había aislado previamente dicha alga y 10 correspondían a nuevos casos. En el mismo muestreo, en cuatro vacas se aislaron hongos del género *Geotrichum* spp y bacterias

Cuadro 1

RESULTADOS DEL ANALISIS BACTERIOLOGICO DE MUESTRAS DE LECHE DE UN HATO LECHERO CON PROBLEMAS DE MASTITIS CLINICA (MUESTREO I)

Identificación	Aislamiento
404, 382, 139	Sin crecimiento
40 (AI, PI)*, 77	<i>Streptococcus agalactiae</i>
315	<i>Candida albicans</i>
298, 66 (PI)*, 214 (AI, PD)*	<i>Prototheca</i> spp

\* Muestras de leche de cuartos específicos

AI = Anterior izquierdo

PI = Posterior izquierdo

PD = Posterior derecho

como *Staphylococcus* spp o *Streptococcus agalactiae* (Cuadro 2).

**D. Equipo de ordeño y prácticas de manejo durante el mismo.** El principal problema en el equipo de ordeño fue su incapacidad para ordeñar 230 vacas en producción en un tiempo adecuado. Dicha labor duraba más de 5 horas, lo que contribuía a tiempos de ordeño inadecuados (con sub o sobreordeño), deficiente desinfección tanto de las unidades de ordeño como de la ubre de los animales (se empleaba una toalla para limpiar y secar la ubre de todas las vacas).

En este trabajo no se determinó la posible fuente de

Cuadro 2

RESULTADOS DEL ANALISIS BACTERIOLOGICO DE MUESTRAS DE LECHE DE UN HATO LECHERO CON PROBLEMAS DE MASTITIS CLINICA (MUESTREO II)

Identificación	Aislamiento
139, 382, 400, 404	Sin crecimiento
377	<i>Streptococcus agalactiae</i>
315	<i>Staphylococcus</i> spp
214*, 221	<i>Geotrichum</i> spp
4, 42, 50, 66*, 117, 166, 202, 213, 219, 298*, 429, 465	<i>Prototheca</i> spp

\* Vacas en que se aisló *Prototheca* spp previamente

contaminación. Empero, en diversos estudios se ha logrado aislar *Prototheca* spp de superficies húmedas, agua de bebederos, agua de drenaje, material de cama e incluso de heces de vaca, de hatos con o sin problema de mastitis por algas.<sup>9,12</sup> Como se indicó, en este estudio no se determinó la fuente de contaminación, únicamente se tomaron muestras de la solución utilizada para el lavado del equipo de ordeño y de la solución empleada para la protección de los pezones después del ordeño, sin lograr aislar microorganismos a partir de las mismas.

Hodges *et al.*<sup>9</sup> sugieren que la presencia de pezones con lesiones, aunado a la contaminación de la ubre con agua que contenga dicho microorganismo, pudiera ser el origen del problema. Dion<sup>4</sup> señala que alguna alteración en la inmunidad del huésped es necesaria antes de que la infección se presente en seres humanos. La prototecosis ocurre asociada a infecciones severas o traumatismos.

El aislamiento de *Prototheca* se realizó en tres vacas durante el primer muestreo y en diez nuevos casos en un segundo muestreo. De los tres casos iniciales hubo uno donde se aisló inicialmente la *Prototheca* y después (segundo muestreo) sólo *Geotrichum* spp, hongo que posiblemente esté asociado a este tipo de mastitis. Otros organismos que se aislaron de otras muestras fueron *Staphylococcus* spp, *Streptococcus agalactiae* y *Candida albicans*. El crecimiento de dichas algas en un medio de gelosa sangre se caracterizó por ocurrir después de las primeras 48 horas de incubación, lo cual es similar en otros estudios, donde se indica que dicho crecimiento se manifiesta después de 36 a 72 horas de incubación en un medio de gelosa sangre, las colonias se caracterizan por tener una consistencia friable, de color grisáceo y tener un diámetro de 1 a 3 mm.<sup>9</sup>

Las vacas con mastitis por *Prototheca*, a la palpación, presentaron un incremento en la consistencia de la glándula dañada, una disminución marcada de su tamaño, así como de su producción láctea, hallazgos similares a los encontrados en otro estudio.<sup>6</sup> Al respecto, Frank *et al.*<sup>6</sup> lograron reproducir experimentalmente la infección por *Prototheca* encontrando que ésta se caracteriza clínicamente por una inaparente respuesta inflamatoria, las glándulas infectadas pueden estar ligeramente más firmes a la palpación. Frank *et al.*<sup>6</sup> también indican que microscópicamente la infección por *Prototheca* es altamente invasiva, lo que provoca una inflamación de tipo granulomatosa, que se refleja en una marcada reducción en la producción de leche, característica notable que se observó en aquellas glándulas que presentaban dicha infección. Como consecuencia, las glándulas afectadas presentan calificaciones elevadas en la Prueba de California para mastitis, así como en los conteos de leucocitos. Como ya se señaló, en este estudio todas las glándulas donde se aisló ese microorganismo tuvieron valores de tres positivo en la Prueba de California.

Las vacas que desarrollaron infección por *Prototheca* se encontraban sometidas a tratamiento con infusiones intramamarias de antibióticos sin resultados efectivos.

La mastitis por *Prototheca* es extremadamente resistente al tratamiento con antimicrobianos. McDonald *et al.*,<sup>13</sup> al estudiar la sensibilidad *in vitro* de 48 cepas de *Prototheca zopfii* contra 27 agentes antimicrobianos, observaron que las cepas fueron sensibles a la mixina y nistatina. Sin embargo, la susceptibilidad *in vitro* a un agente determinado deberá determinarse *in vivo*, porque la infección por *Prototheca* puede provocar un daño extenso en el tejido de la glándula mamaria, que puede disminuir la efectividad del agente antimicrobiano. Al parecer y hasta el momento, la identificación de vacas infectadas con *Prototheca* y su eliminación del hato es el único método para el control de la enfermedad.

## Abstract

The purpose of this study was to describe a case of bovine mastitis caused by the colourless alga *Prototheca* in a dairy herd with 230 milking cows. The California Mastitis Test and bacteriological examinations were done. *Prototheca* spp was isolated from milk samples in 13 cows with clinical mastitis. The affected quarters were not noticeably swollen, but an increased density was usually detected by palpation with a reduced size, as well as milk production. The infected quarters had been unsuccessfully treated with a wide variety of antibiotics.

## Agradecimientos

El autor agradece a la MVZ. Martha Merino Moncada del Departamento de Bacteriología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, por la realización de los estudios bacteriológicos de este estudio,

así como al MVZ. Salvador Avila Téllez por su ayuda en la revisión de este manuscrito.

## Literatura citada

1. Ainsworth, G.C. and Austwich, P.K.C.: A survey of animal mycosis in Britain: Mycological aspects. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 38: 369-386 (1955).
2. Bodenhoff, J. and Schmidt, M.: Bovine protothecosis. A brief report of ten cases. *Acta pathol. microbiol. scand. Sect. B.*, 86: 51-52 (1978).
3. Carter, G.R.: Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. 4th ed. *Charles C. Thomas Publisher*, Chicago, Illinois, 1984.
4. Dion, W.M.: Bovine mastitis due to *Prototheca zopfii*. *Can. vet. J.*, 20: 221-222 (1979).
5. Dion, W.M.: Bovine mastitis due to *Prototheca zopfii* II. *Can. vet. J.*, 23: 272-275 (1982).
6. Frank, N., Ferguson, L.C., Cross, R.F. and Redman, D.R.: *Prototheca* a cause of bovine mastitis. *Am. J. vet. Res.*, 30: 1785-1794 (1969).
7. García, E.: Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 3a ed. *Instituto de Geografía*, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1981.
8. Goudwaard, J.: Prothothecosis in a cow. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 102: 567-570 (1977).
9. Hodges, R.T., Holland, J.T.S., Neilson, F.J.A. and Wallace, N.M.: *Prototheca zopfii* mastitis in a herd of dairy cows. *N.Z. vet. J.*, 33: 108-111 (1985).
10. Kruger, W.: Beiträge zur Kenntnis der Organismen des Saftflusses (sug. Schleim-flusses) der Laubbaume. *Zpf's Beitr. Physiol. Morphol.*, 4: 69-116 (1984). Citado por Zopf's<sup>6</sup>.
11. Lerche, M.: Eine durch Algen (*Prototheca*) hervorgerufene Mastitis der Kuh. *Berl. Münch. tierärztl. Wochenschr.*, 65: 64-69 (1952).
12. Linqvist, W.E.: *Prototheca* mastitis. A case report. *Proc. Natl. Mastitis Council*, S/V: 161-163 (1982).
13. McDonald, J.S., Richard, J.L. and Anderson, A.J.: Antimicrobial susceptibility of *Prototheca zopfii* isolated from bovine intramammary infections. *Am. J. vet. Res.*, 45: 1079-1080 (1984).