

# Nuevas alternativas en el tratamiento de las mamitis en el ganado vacuno

PILAR GARCÍA SUÁREZ. Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC). pgarcia@ipla.csic.es

BEATRIZ MARTÍNEZ FERNÁNDEZ. Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC). bmf1@ipla.csic.es

ANA RODRÍGUEZ GONZÁLEZ. Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA-CSIC). anarguez@ipla.csic.es

**La utilización de bacteriófagos, virus específicos de bacterias, podría ser la solución frente a las bacterias causantes de mamitis multirresistentes a los antibióticos.**

## La mamitis

La mamitis es la enfermedad más común del ganado vacuno y la más importante bajo un punto de vista económico. Según la epidemiología de los patógenos que la inducen, la mamitis puede clasificarse en dos tipos: mamitis contagiosa y mamitis ambiental. Las bacterias responsables de la mamitis contagiosa incluyen estreptococos (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*), estafilococos coagulasa positivos (*Staphylococcus aureus*), estafilococos coagulasa negativos (*Staphylococcus epidermidis*) y *Corynebacterium bovis*. La mamitis contagiosa se transmite de vaca a vaca durante el proceso de ordeño, siendo el reservorio del patógeno los cuarterones infectados. Por el contrario, el reservorio de los patógenos responsables de la mamitis ambiental es el entorno de la vaca lechera. Los cuarterones no infectados se pueden exponer al patógeno causal en cualquier momento durante la vida de la vaca, incluyendo el ordeño, entre ordeños y durante el período seco. Los patógenos responsables de este tipo de mamitis son bacterias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Serratia* sp. y *Proteus* sp.), estreptococos (*Streptococcus uberis* y *Str. dysgalactiae*) y enterococos ambientales (*Enterococcus*



*faecalis*). La mamitis ambiental se asocia sobre todo a la mamitis clínica más que a la infección subclínica. *Arcanobacterium pyogenes* junto con *Str. dysgalactiae* son los responsables de la mamitis del verano que afecta seriamente al ganado vacuno de montaña en el Principado de Asturias (García-Paloma *et al.*, 2005).

La mamitis clínica (Fotografía 1) se pone de manifiesto por la producción de leche anormal (escamas, coágulos o secreciones acuosas) y es también habitual que el cuarterón infectado muestre síntomas clínicos como hinchazón, calor y dolor a la palpación. En los casos de mamitis clínica aguda, estos síntomas se pueden combinar con otros que afectan al estado general de la vaca como hipertermia, anorexia, etc. Los exámenes epidemiológicos han identificado *S. aureus*, *Str. uberis* y *E. coli*,

←

**Fotografía 1.**-Vista parcial de una vaca con tres cuarterones perdidos por mamitis de verano.

Fotografía: J. A. García Paloma.



**Figura 1-**Ciclo de vida de un bacteriófago cuando infecta una bacteria.

- 1) Un bacteriófago se encuentra con una bacteria sensible.
- 2) El bacteriófago se une a la superficie de la bacteria.
- 3) El bacteriófago introduce su material genético en el interior de la bacteria sensible.
- 4) El material genético se replica en el interior de la bacteria generándose multitud de copias.
- 5) Se sintetizan envueltas proteicas en el interior de las cuales se introduce el material genético del bacteriófago para formar partículas fágicas maduras.
- 6) Los nuevos bacteriófagos destruyen la envuelta de la bacteria y se liberan al exterior celular para comenzar de nuevo el ciclo.

como los patógenos más frecuentes causales de la mastitis clínica.

La mastitis subclínica no plantea una amenaza urgente ni para la vida de la vaca ni para la producción de leche. La principal evidencia de esta patología es un aumento de las células somáticas (SCC) que se traduce en pérdidas económicas para el ganadero, dado que este parámetro se utiliza como un factor clave para evaluar la calidad de la leche. Los microorganismos responsables de la infección subclínica, generalmente *Str. agalactiae* y otros estreptococos, son fácilmente controlados con antibióticos.

Cabe destacar, por otro lado, que la mastitis causada por *S. aureus* es difícil de tratar pues da lugar con frecuencia a abscesos profundamente arraigados poco sensibles al tratamiento con antibióticos. Esto es debido a que el patógeno puede sobrevivir en el interior de las células de la glándula mamaria donde la concentración del antibiótico es más baja que en el ambiente extracelular. Así mismo, *S. aureus* es con frecuencia resistente a muchos antimicrobianos (particularmente  $\beta$ -lactámicos) y además libera toxinas que deterioran las defensas naturales de la ubre. Por lo tanto, las tasas de curación en la mastitis causada por *S. aureus* son muy bajas y las recaídas ocurren con frecuencia cuando los trata-

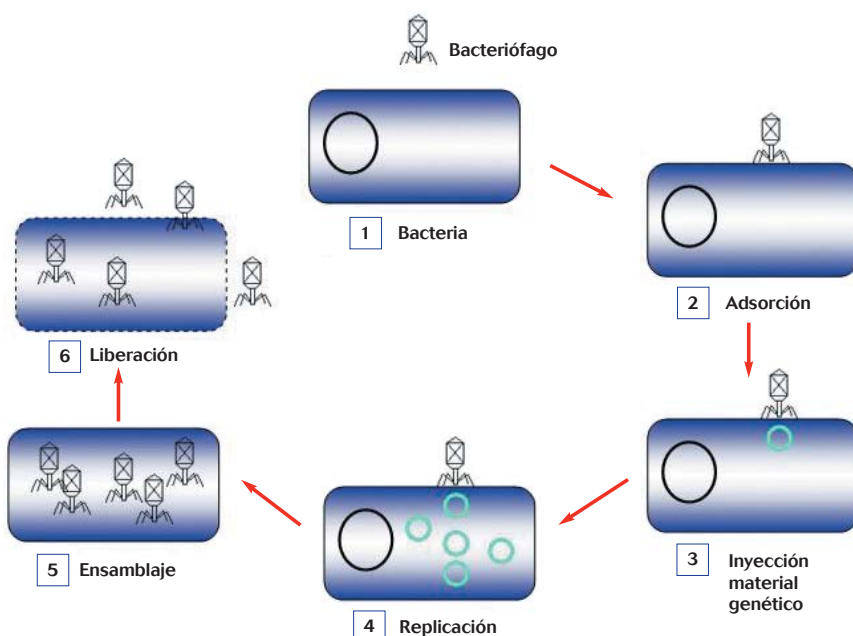
mientos se aplican durante el periodo de lactación.

El negativo impacto económico que origina la mastitis en el ganado vacuno ha estimulado el desarrollo de varias estrategias terapéuticas con el objeto de controlar tanto la infección en sí, como sus secuelas. Entre ellas, cabe destacar la utilización de antibióticos, antiinflamatorios, vitaminas, vacunas, citoquinas e incluso homeopatía. También se ha ensayado la eficacia de las distintas rutas de administración como la aplicación sistémica, intramamaria o la aplicación local al pezón (Gruet *et al.*, 2001).

La tendencia actual en el control de la mastitis está enfocada más en la prevención que en la terapia. Las infecciones durante el período seco pueden prevenirse con la aplicación intramamaria de antibióticos así como con otras técnicas como el sellado del pezón. Otra manera de prevenir la infección intramamaria es sumergir o rociar el pezón después del ordeño con una mezcla antiséptica. Es habitual que el antiséptico se asocie a un agente que forma una película que permite aislar físicamente el pezón del ambiente. La utilización de antisépticos es más recomendable que la utilización de antibióticos, ya que existe una presión a nivel internacional contra la terapia antibiótica dado que la utilización masiva de antibióticos en animales supone un indudable riesgo de aumentar la frecuencia de aparición de bacterias resistentes y su transmisión a los seres humanos.

## Agentes antimicrobianos naturales: los bacteriófagos

Los bacteriófagos o fagos son virus que infectan exclusivamente a bacterias y, por tanto, son totalmente inoocuos para los organismos superiores. Para propagarse necesitan infectar a una bacteria huésped en cuyo interior los fagos se replican. Finalmente, para liberarse al exterior, producen enzimas que provocan la lisis o ruptura de la bacteria. Estas nuevas partículas fágicas están listas para comenzar un nuevo ciclo e infectar a una nueva bacteria. Un diagrama esquemático del ciclo de vida de un fago se presenta en la figura 1.



Desde este punto de vista, los bacteriófagos pueden considerarse agentes antimicrobianos ya que la lisis que provocan ocasiona irremediablemente la muerte de la bacteria. Al igual que las bacterias, los fagos se encuentran de manera natural en el ambiente (agua, suelo, etc.).

La terapia fágica, es decir, el uso de bacteriófagos para combatir infecciones, se ha aplicado satisfactoriamente como alternativa a los antibióticos en numerosos países de la antigua Unión Soviética. En sus centros de investigación se siguen produciendo en la actualidad preparaciones fágicas para el tratamiento de diversas enfermedades (más información <http://www.eliava-ibmv.caucasus.net/history.htm>).

Ante la aparición de multitud de cepas bacterianas multirresistentes y la escasez de nuevos antibióticos, la terapia fágica resurge como una alternativa viable al tratamiento con antibióticos. En la actualidad, se están ampliando sus campos de aplicación y se han obtenido muy buenos resultados en el control de infecciones en peces, pollos, cerdos, terneros y corderos. Además, los fagos pueden ser utilizados también en la profilaxis de estas enfermedades.

Una de las ventajas que tienen los fagos frente a los antibióticos es su extraordinaria especificidad. Únicamente van a eliminar los patógenos frente a los que se han aislado, dejando intacta el resto de la microbiota o flora microbiana del animal. El mantenimiento de esta microbiota es muy importante pues disminuye el riesgo de infecciones producidas por microorganismos oportunistas. Otra de las ventajas es el hecho de que los fagos se repliquen en presencia de la bacteria patógena, por lo que cualquier incremento en los niveles del patógeno supondría la replicación inmediata del fago y, consecuentemente, la inhibición de la proliferación de la bacteria patógena.

### Bacteriófagos específicos frente a *S. aureus*

En un proyecto de investigación financiado por el Plan Regional de Investiga-

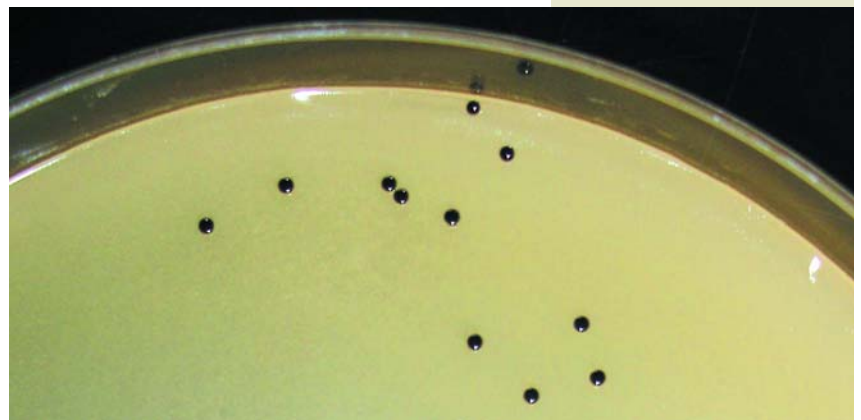
ción de Asturias y cofinanciado por la Caja Rural de Asturias, hemos comenzado un estudio en colaboración con el SERIDA para el desarrollo de nuevos antimicrobianos para el tratamiento de la mamitis en el ganado vacuno. El objetivo del trabajo es obtener bacteriófagos específicos, capaces de infectar patógenos que con mayor frecuencia ocasionan mamitis en vacas, en concreto *S. aureus*. Estos bacteriófagos podrían utilizarse como terapia frente a la infección y también como medida profiláctica. En la terapia fágica, los bacteriófagos se aplicarán por vía tópica o por vía intramamaria. En el caso de la profilaxis, la mezcla de bacteriófagos podrá ser utilizada en el lavado de la ubre, o incluso ser pulverizada en el establo y en las camas de los animales para eliminar la bacteria patógena del ambiente.

Inicialmente, el Laboratorio Interprofesional Lechero de Asturias (LILA) aisló 14 cepas de *S. aureus* causantes de mamitis en vacas (Fotografía 2). Las cepas se obtuvieron a partir de muestras de leche que procedían de animales con síntomas de la enfermedad.

Estas cepas de *S. aureus* se utilizaron en ensayos de enriquecimiento para la obtención de bacteriófagos específicos a partir de 75 muestras de leche y queso. Se seleccionaron un total de ocho bacteriófagos diferentes en función de su rango de huésped (Tabla 1). Algunos de estos bacteriófagos son capaces de infectar la práctica totalidad de las cepas ensayadas y, por ello, son los más interesantes ya que, potencialmente, eliminarán las cepas de *S. aureus* causantes de mamitis que con



Fotografía 2.-Colonias de *S. aureus* creciendo en una placa de medio de cultivo.



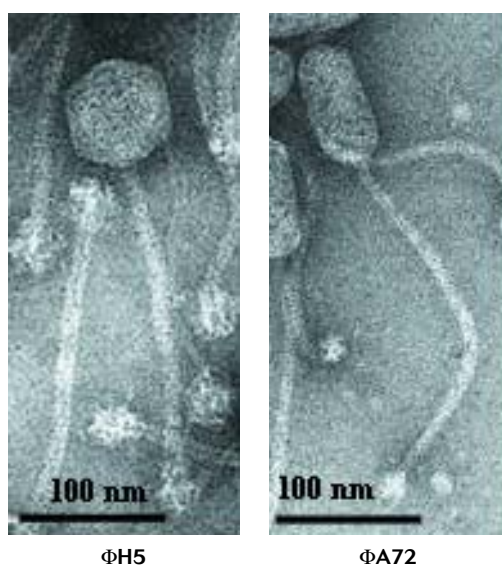
Bacteriófago	Fuente	Nº de muestras <sup>1</sup> (n=75)	Rango de huésped Nº de cepas sensibles (n=22)
Φ C1	Queso Cabrales	3	2
Φ P1	Queso Peñamellera	1	1
Φ L7	Leche	1	6
Φ L13	Leche	1	6
Φ A8	Leche	2	4
Φ H5	Leche	26	8
Φ G7	Leche	20	3
Φ A72	Leche	21	14

<sup>1</sup> Número de muestras en las que se aisló el bacteriófago.

↑

**Tabla 1.**-Bacteriófagos específicos frente a *S. aureus* aislados de productos lácteos.

más frecuencia se aíslan en el Principado de Asturias. En concreto, los fagos ΦH5 y ΦA72, cuya imagen al microscopio electrónico se presenta en la fotografía 3, son capaces de infectar en conjunto a todas las cepas de *S. aureus* ensayadas.

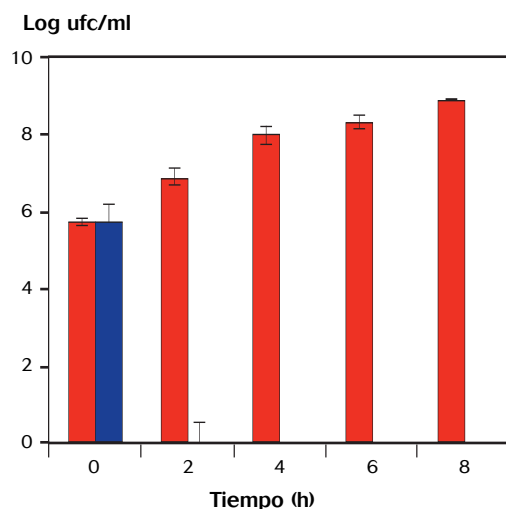


→

**Fotografía 3.**-Imagen al microscopio electrónico de los bacteriófagos ΦH5 y ΦA72.

→

**Gráfico 1.**-Evolución en el número de bacterias viables de *S. aureus* en presencia (■) y en ausencia (■) de los fagos ΦH5 y ΦA72.



La eficacia antimicrobiana de los fagos ΦH5 y ΦA72 fue comprobada en leche contaminada con *S. aureus* a la que se añadió una mezcla de ambos fagos. Como se muestra en el gráfico 1, en ausencia de fagos, la bacteria patógena se multiplicó en la leche alcanzando más de  $10^8$  células/ml tras ocho horas de incubación. Sin embargo, en presencia de los fagos ΦH5 y ΦA72, el patógeno desaparece tras dos horas de incubación.

## Perspectivas

En la actualidad, disponemos de bacteriófagos específicos y activos frente a *S. aureus*, principal agente causal de la mastitis clínica en el Principado de Asturias, que han sido aislados del ambiente lácteo.

En ensayos *in vitro* hemos puesto de manifiesto la eficacia de los bacteriófagos ΦH5 y ΦA72 como antimicrobianos. Será necesario ahora llevar a cabo ensayos *in vivo* que confirmen su potencial aplicación en sanidad animal. En la misma línea, hemos comenzado con el aislamiento de fagos activos frente a *A. pyogenes*, causante de la mastitis de verano, cuya eficacia será evaluada inicialmente en el laboratorio. Para ello, disponemos de cepas de este patógeno obtenidas dentro del proyecto dirigido por el Dr. García Paloma.

## Bibliografía

- GARCÍA-PALOMA, J. A. SUÁREZ DE LA FUENTE, J., NIETO, F., LOMBARDÍA, V., SUÁREZ, F. MARTÍNEZ, M. 2005. La mastitis de verano, una enfermedad que reduce de forma permanente la capacidad maternal y el valor comercial de las vacas de cría. *Tecnología Agroalimentaria 2ª época*. **2**: 36-38.
- GRUET P., P. MAINCENT, X. BERTHELOT AND V. KALTSATOS. 2001. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. *Adv. Drug Del. Reviews*. **50**:245-259.

## Más información

Instituto de Productos Lácteos de Asturias.  
<http://www.ipla.csic.es> ■