

## MAMITIS CLÍNICAS CON CULTIVO NEGATIVO. ¿CÓMO ES POSIBLE?

Esnal, A.; Extramiana, A.B  
ANALÍTICA VETERINARIA

### 1. ¿Obtenemos tantos cultivos negativos en muestras de mamitis clínicas?

El porcentaje de cultivos negativo (ausencia de crecimiento bacteriano) en muestras procedentes de mamitis clínicas es mucho más elevado de lo que cabría esperar. Según datos de nuestro laboratorio en un estudio sobre 4.260 muestras de mamitis clínicas de vacuno y ovino, en el 24,0% de las mismas no se obtuvo crecimiento bacteriano, es decir, en una de cada cuatro.

### 2. ¿A qué se atribuye normalmente la ausencia de crecimiento bacteriano en las muestras de mamitis clínicas?

Las principales causas propuestas son las siguientes:

- Aplicación previa a la recogida de la muestra de un tratamiento antibiótico, cuya presencia en la leche inhibiría el crecimiento bacteriano. No obstante, actualmente los veterinarios son conscientes de la importancia de enviar al laboratorio muestras de animales no tratados o de indicar expresamente si se ha dado tal circunstancia.

- Baja o nula excreción bacteriana en el momento de la manifestación clínica de la mamitis. Esta causa se considera más frecuente en algunos grupos bacterianos como los coliformes, especialmente *Escherichia coli*, o en especies cuya patogenia se basa fundamentalmente en la producción de toxinas, como es el caso del propio *E. coli* o de *Mannheimia haemolytica*.

- Implicaciones de bacterias que no crecen en los medios o condiciones estándares (anaerobios, micoplasmas etc.). Según nuestra experiencia, salvo en el caso de micoplasmas, para los cuales empleamos de rutina medios específicos, la participación de este tipo de especies “dificultosas” representan menos del 10% de los casos de cultivo negativo.

Otra causa propuesta es la presencia de inhibidores naturales en la leche fruto de la actividad inmunológica de la mama durante la manifestación clínica de la infección, y que actuaría de forma similar a un antibiótico, inhibiendo el crecimiento bacteriano en el cultivo. Lisozima o lactoferrina son algunos de ellos. ¿Cuál puede ser el alcance de esta causa?

### 3. Un hallazgo casual y sorprendente.

En el curso de un estudio de *Staphylococcus aureus* como causa de mamitis clínica, se realizaron recuentos bacterianos para conocer la carga bacteriana presente en dichas mamitis. Para ello, se realizaron diluciones seriadas de la leche mamítica, las cuales fueron inoculadas en un medio de cultivo general (agar sangre) y un medio selectivo para *S. aureus* (Baird Parker-RPF). Curiosamente, en numerosas muestras los cultivos de la leche directa y de las diluciones más concentradas no presentaron crecimiento bacteriano, mientras que la bacteria comenzó a crecer a partir de una determinada dilución, aumentando su recuento en las siguientes soluciones aún más diluidas. La explicación más probable para este hallazgo es lógicamente la existencia de sustancias inhibitoras en la leche o de condiciones físicas de la misma (pH en especial) que impidieran el crecimiento bacteriano, sustancias que irían desapareciendo a medida que se aumentaba la dilución de la leche, hasta un umbral en el que la bacteria pudiera ya crecer en el medio de cultivo. Lo relevante del hallazgo es que si solamente se hubiera realizado una siembra directa de la leche o de una primera dilución, el cultivo hubiera sido dado como negativo, bien por la ausencia o baja concentración de la bacteria, bien porque ésta no fuera viable. Por el contrario, el estudio no sólo mostró la presencia de la bacteria viva en las muestras, sino que ésta se encontraba en concentraciones elevadísimas en la mayor parte de los casos.

#### 4. Imágenes

En las siguientes imágenes podemos observar los hallazgos descritos.

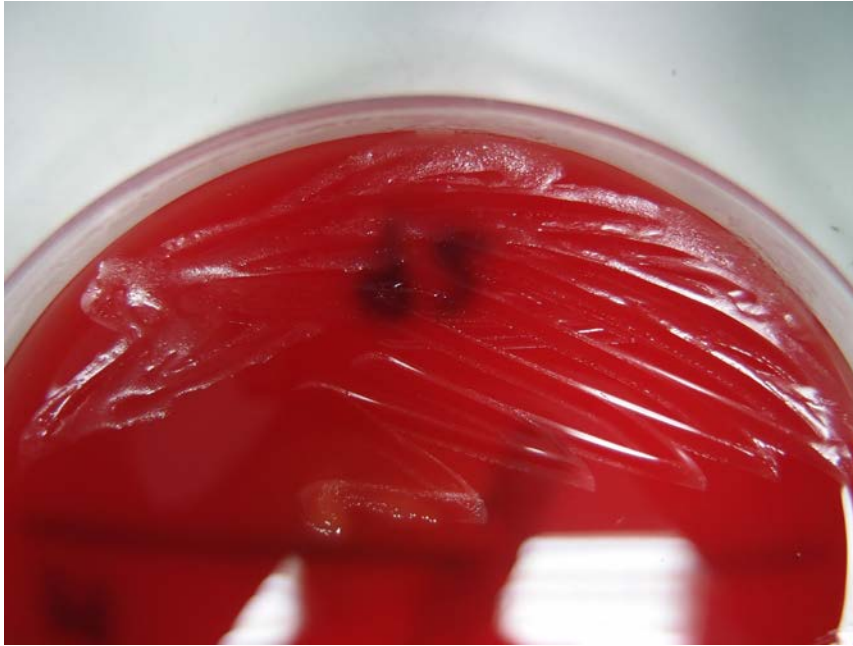


Imagen 1. Cultivo de una muestra de mamitis clínica en agar sangre. Ausencia de crecimiento bacteriano. Una de cada cuatro muestras clínicas presentan este resultado negativo.

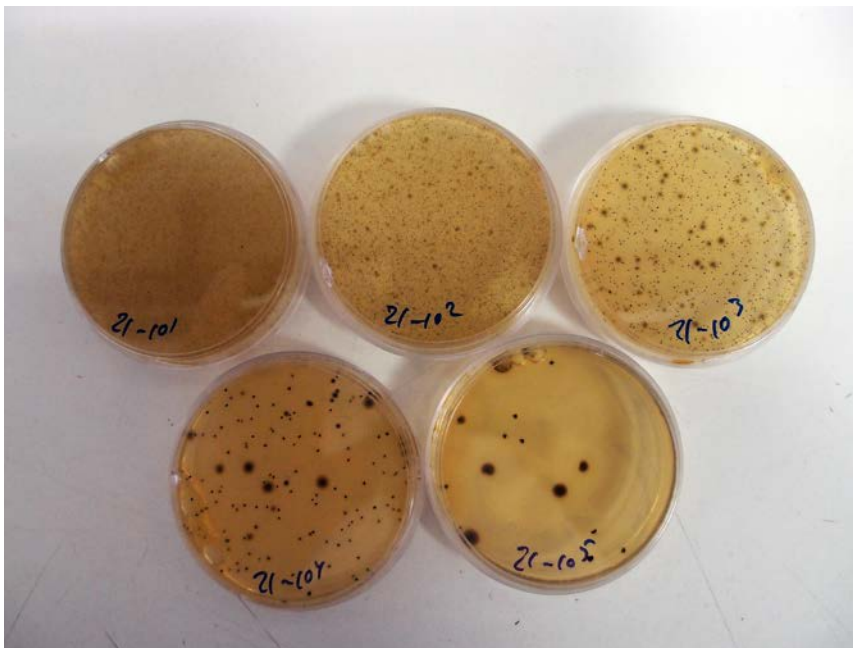


Imagen 2. Recuento de *S. aureus* en medio Baird Parker-RPF en una muestra de mamitis clínica que no presenta inhibición. Existe crecimiento desde la primera dilución y en cada dilución siguiente la carga bacteriana se reduce a 1/10. El recuento bacteriano final es de  $1,4 \times 10^6$  ufc/ml.

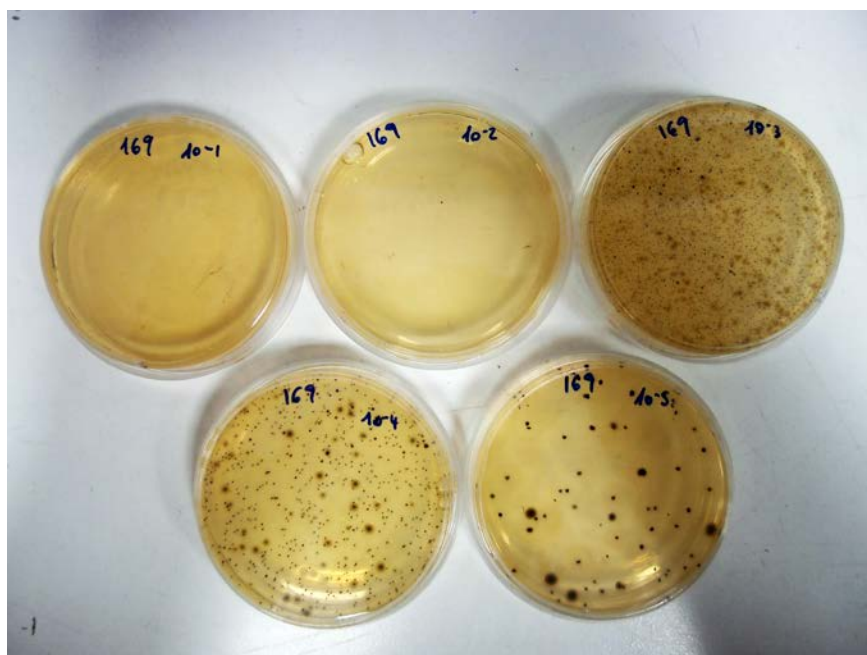


Imagen 3. Recuento de *S. aureus* en medio Baird Parker-RPF en una muestra de mamitis clínica que presenta inhibición. En las diluciones  $1/10$  y  $1/10^2$  no se observa crecimiento. En la dilución  $1/10^3$  la bacteria es capaz de crecer y en las diluciones siguientes ya baja la concentración bacteriana hasta permitir su recuento. El recuento bacteriano final es de  $5,6 \times 10^6$  ufc/ml.

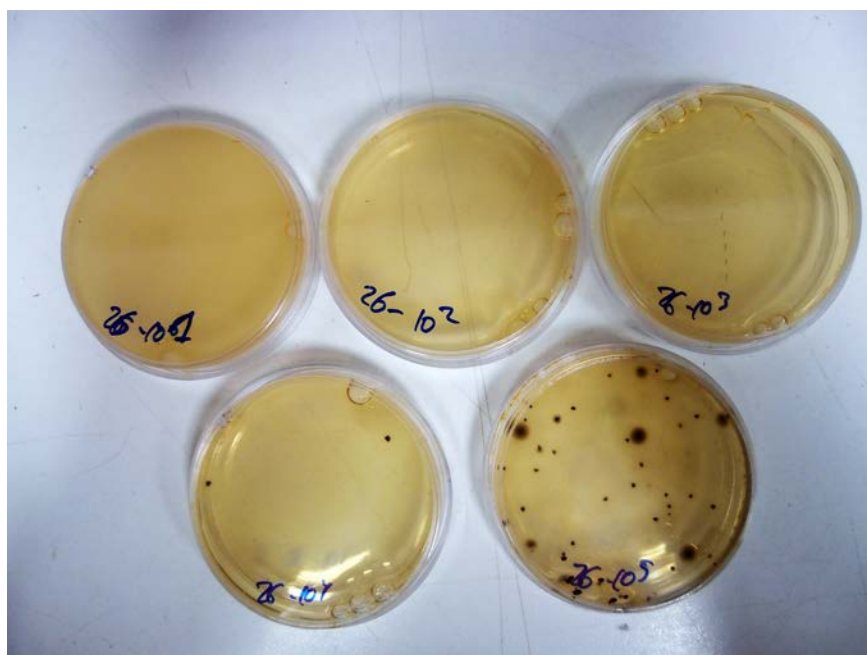


Imagen 4. Recuento de *S. aureus* en medio Baird Parker-RPF en una muestra de mamitis clínica que presenta un caso extremo de inhibición. En las diluciones  $1/10$ ,  $1/10^2$  y  $1/10^3$  no se observa crecimiento. En la dilución  $1/10^4$  se observan dos colonias bacterianas y en la  $1/10^5$  la bacteria es capaz de crecer en mayor número. El recuento bacteriano final es de  $4,1 \times 10^6$  ufc/ml, aunque no es posible saber si en mayores diluciones la bacteria hubiera crecido aún en mayor número.



Imagen 5. En el estudio fue posible encontrar imágenes como ésta, poco habitual. Cultivo en siembra directa de la leche en medio agar sangre, mediante estría por agotamiento. En el área en la que la leche presenta una mayor concentración no se observa crecimiento bacteriano. A medida que en la estría disminuye la concentración de inóculo, la bacteriana es capaz de crecer,



Imagen 6. Caso extremo similar al anterior. Cultivo en siembra directa de la leche en medio agar sangre, mediante estría por agotamiento. Tan solo al final de la estría, cuando la concentración de la leche es más baja, comienza a observarse un crecimiento bacteriano incipiente.



Imagen 7. En el cultivo superior se observa inhibición de crecimiento en el área con más concentración de inóculo lácteo. En el cultivo inferior se observa crecimiento bacteriano en la totalidad de la estría (no se produce inhibición bacteriana).

## 5. Conclusiones

- El trabajo muestra el efecto de la presencia de sustancias inhibidoras o de condiciones físico-químicas adversas en la leche mamática sobre el crecimiento bacteriano en el cultivo. En estos casos, la ausencia de crecimiento no se

debe a una baja concentración bacteriana, pues se constataron altos recuentos (por encima de un millón de bacterias por mililitro).

- La dilución seriada de las muestras de mamitis clínicas podría mejorar la sensibilidad del cultivo.