

PREVENCIÓN Y CONTROL INTELIGENTE DE *PROTOTHECA* EN EXPLOTACIONES DE VACA DE LECHE

Maria Somolinos, Product Manager, OX-CTA S.L.



INTRODUCCIÓN

Uno de los temas de mayor actualidad en estos momentos en el área de la sanidad de las explotaciones de ganado vacuno lechero es la presencia del alga microscópica *Prototheca*. Su gran importancia radica en que este alga es responsable de problemas de mastitis que pueden llegar a ocasionar elevadas pérdidas económicas debido a la reducción en la calidad y cantidad de leche producida, sacrificio de los animales infectados, etc.

Prototheca es un alga unicelular heterótrofa, filogenéticamente correlacionada con el Género *Chlorella*. Se trata de un microorganismo inmóvil, de forma oval o esférica, de 7 a 10 μm de diámetro, de reproducción asexual, carente de actividad fotosintética y ampliamente distribuido en el medio ambiente (Di Persio, 2010). Como agente saprófito tiene necesidad de azúcares y aminoácidos simples para su metabolismo.

Prototheca es ubicuitaria en la naturaleza, y ha sido aislada en suelos, cursos de agua, heces de bovinos, cerdos, perros, roedores, e incluso de seres humanos afectados de enfermedad gastroentérica. Habitualmente, en el agua corriente se encuentra en niveles inferiores a 10 UFC/ml, mientras que en el biofilm y los sedimentos depositados en los diferentes elementos del sistema de distribución de agua, puede alcanzar valores mayores de 10.000 UFC/ml o gr (Pore et al., 1986; Cantoni et al., 2012).

En las explotaciones lecheras, las áreas más favorables para el crecimiento de *Prototheca* son las grietas del pavimento, el biofilm del sistema hídrico, los pequeños charcos de agua existentes en las áreas de paso a la sala de ordeño, los poros microscópicos de los elementos de goma del sistema de ordeño, etc.

Dado que *Prototheca* ha demostrado una elevada resistencia a la desinfección con productos clorados (Anderson et al., 1988; Costa et al., 1997), los programas de limpieza y desinfección de las instalaciones, y especialmente del equipo de ordeño, deben llevarse a cabo con productos y protocolos de trabajo específicos. Debe tenerse en cuenta que los detergentes clorados comúnmente utilizados **no** son eficaces frente a este alga. Por tanto, **la única acción posible, es la desinfección con productos en base a peróxido de hidrógeno y ácido peracético, cuya acción alguicida ha sido certificada** (Cantoni et al., 2012).

Tabla 1: Muestras positivas a la presencia de *Prototheca* en explotaciones de vaca de leche:

Muestra	Muestras + a <i>Prototheca</i> / Total de muestras	% Muestras + a <i>Prototheca</i>
Agua de bebida	10 / 56	19
Agua de aclarado del equipo de ordeño	2 / 6	30
Hisopado goma interna pezonera	4 / 31	13
Hisopado superficie sala de ordeño	4 / 21	19
Alimento	0 / 3	0
Material de cama	5 / 26	19
Heces animales – excreción mamaria	0 / 5	0

Fuente: Cammi et al., 2008

ASPECTOS CLÍNICOS

En condiciones normales, la mastitis causada por *Prototheca* se manifiesta como una patología de la glándula mamaria de tipo crónico evolutivo. La aparición de la mastitis es generalmente asintomática o sub-clínica, no asociada a signos clínicos evidentes, aunque sí que puede observarse el aumento del recuento de células somáticas en leche, incluso alcanzando valores superiores a 10^6 células/ml. Con el progreso de la infección y el consiguiente deterioro del parénquima glandular se pueden manifestar signos clínicos, como por ejemplo, coágulos de sangre en los primeros chorros de leche, aspecto acuoso de la leche, aumento en el espesor del parénquima y progresiva disminución de la producción láctea, asociada incluso a la atrofia del cuarto afectado. En condiciones normales, la mayor parte de los animales afectados con mastitis crónicas por *Prototheca* eliminan una cantidad significativa de este alga, aunque frecuentemente esta eliminación es de carácter intermitente (Roesler et al., 2003).

La presentación en forma aguda de las mastitis causadas por *Prototheca* es normalmente esporádica. En este caso, cursa con evidente alteración de las secreciones mamarias (suero purulento) y con un considerable aumento en el volumen del cuarto afectado. La característica más constante de este tipo de mastitis es el aumento permanente del recuento de células somáticas. No obstante, principalmente en las infecciones recientes, hay casos en los que el recuento de células somáticas se mantiene dentro de la normalidad.

Tanto en los casos crónicos como en los agudos, no se suelen observar signos clínicos sistémicos de enfermedad. Sin embargo, en presencia de factores predisponentes, tras un tiempo, la infección mamaria puede ocasionar complicaciones sistémicas ligadas a la difusión de *Prototheca* a través del torrente sanguíneo (Taniyama et al., 1994; Janosi et al., 2001; Thompson et al., 2009).

Dado que, tal y como se ha comentado anteriormente, habitualmente la mastitis asociada a *Prototheca* no está asociada a signos clínicos evidentes, el riesgo de la **no** detección de estas mastitis sub-clínicas puede ser un serio problema que facilite su difusión al resto de animales de la explotación.

El mayor riesgo de contraer una infección mamaria por *Prototheca* se halla en las primeras semanas de lactación, a causa del estado de inmunosupresión que acompaña el parto y el inicio de la producción láctea (Janosi et al., 2001).

La cura espontánea de las vacas lecheras es extremadamente rara. Además, la infección mamaria por *Prototheca* no desaparece durante la fase de secado, sino que permanece, reapareciendo de nuevo tras el parto (Arrigoni et al., 2010).

EPIDEMIOLOGÍA

Prototheca presenta una difusión ambiental ubicuitaria, encontrándose preferentemente en hábitats húmedos y ricos en materia orgánica. Así, las condiciones favorables para la supervivencia y el desarrollo de este alga están ampliamente presentes en las explotaciones de ganado vacuno lechero. En este tipo de instalaciones, *Prototheca* puede encontrarse en los bebederos (en el agua, en el biofilm adherido a sus paredes y en las zonas húmedas circundantes), en el forraje y ensilado, en las heces, el material de cama,

las superficies húmedas (suelo de goma de la sala de espera y pasillos), pezoneras, equipo de ordeño, etc. (Anderson et al., 1988; Rosignoli et al., 2006).

La ingestión de *Prototheca* por parte de los animales puede ocurrir, por ejemplo, al ingerir agua del bebedero, al ingerir alimento contaminado o al lamer superficies donde el alga está presente. *Prototheca* es capaz de reproducirse en el rumen, dando lugar a un animal **portador sano**. Este animal eliminará el alga a través de las heces, contaminando la cama, el suelo, etc. El riesgo de contagio por exposición ambiental del resto de los animales aumenta considerablemente cuando *Prototheca* está presente en las heces de los animales portadores sanos. Hasta este momento, el alga se puede considerar un "patógeno ambiental", con la peculiaridad del alto riesgo de contagio. Teniendo en cuenta la multiplicación del alga en el rumen, es necesario destacar el elevado riesgo de contagio horizontal existente a través del agua de los bebederos.



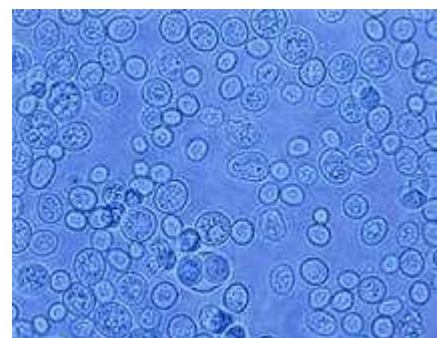
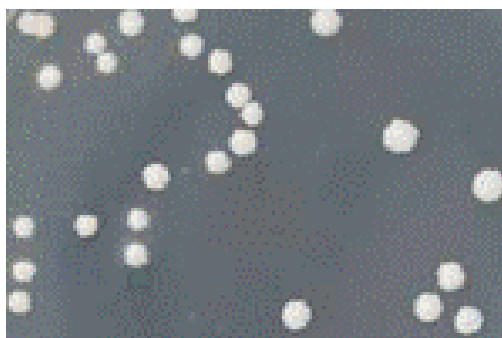
La infección de la ubre se produce mediante la entrada de *Prototheca* con la apertura del esfínter del pezón durante el ordeño. De esta forma, se transmite de cuarto a cuarto mediante los vectores tradicionales de contagio del ordeño (agua, manos, paredes internas de la pezonera, etc.), dando lugar a la aparición de mastitis en forma contagiosa (comportamiento de *Prototheca* como "patógeno contagioso"). La eliminación del alga en la leche se produce de forma intermitente, pudiendo dar lugar a falsos negativos si no se elimina en la cantidad suficiente para ser detectada en el laboratorio. Los terneros alimentados con leche de vacas infectadas pueden actuar como una importante fuente de contaminación ambiental gracias a la eliminación de *Prototheca* por las heces.

Cuando en la explotación no se han introducido animales recientemente, la infección suele tener un origen ambiental, con posterior propagación de un animal a otro principalmente a través del ordeño.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la mastitis causada por *Prototheca* es imposible desde el punto de vista clínico debido a la ausencia de síntomas patognomónicos. Por tanto, es esencial la realización de pruebas de laboratorio. Así mismo, para evaluar el grado de contaminación ambiental es posible la identificación en laboratorio de la presencia de *Prototheca* en diferentes tipos de muestra (agua de bebida de animales, agua de lavado del equipo de ordeño, hisopos de las pezoneras, alimento, material de cama, heces, etc.).

En **Laboratorios OX** las pruebas diagnosticas de *Prototheca* se llevan a cabo mediante un procedimiento exclusivo que sigue las directrices del National Mastitis Council y contempla el cultivo en PIM (*Prototheca Isolation Medium*) (37°C 72h) y la posterior identificación de las colonias sospechosas mediante observación microscópica precedida de tinción con Azul de Lactofenol.



SENSIBILIDAD DE *PROTOTHECA* A LOS ANTIMICROBIANOS Y DESINFECTANTES

Prototheca spp. ha demostrado ser **resistente a la terapia antibiótica** tanto *in vitro* como *in vivo* (Segal et al., 1976; Casal et al., 1983; Shahan et al., 1991). Los estudios de sensibilidad realizados *in vitro* han demostrado sensibilidad escasa de *Prototheca zopfii* a algunos antibióticos y fungicidas, tales como Polimixina B, Gentamicina, Nistatina, Anfotericina B, Fluconazol, Itraconazol y Posaconazol (McDonald et al., 1984; Buzzini et al., 2008; Piccinini et al., 2008). Los ensayos *in vivo* con estos y otros ingredientes activos, en los casos más favorables han mostrado solamente una reducción temporal de los síntomas y de la excreción de algas.

Por otra parte, *Prototheca* ha demostrado una **elevada resistencia a la desinfección con productos clorados** (Anderson et al., 1988; Costa et al., 1997). Merece especial atención la resistencia que presenta *Prototheca* al tratamiento del agua mediante los procedimientos tradicionales de cloración (Cammi et al., 2011).

PROFILAXIS Y CONTROL

Teniendo en cuenta la gran resistencia que presenta *Prototheca* a la terapia antibiótica/fungicida, las medidas de prevención alcanzan una importancia máxima. No obstante, es necesario tener en cuenta que la resistencia de este alga a los productos clorados obliga a la implantación de protocolos de trabajo inteligentes que contemplen la utilización de productos biocidas de eficacia testada específicamente frente a *Prototheca*.

Grupo OX, dentro de su Programa de Gestión Inteligente de la Bioseguridad en Explotaciones de Ganado Vacuno Lechero, ha desarrollado un protocolo específico de prevención y control de *Prototheca*. Dicho programa de trabajo contempla la implantación de las siguientes medidas:

-Identificación de los animales infectados:

Periódicamente es necesario controlar la leche de todos los animales presentes en la explotación con el fin de identificar las vacas que presentan infecciones subclínicas. Los animales positivos a *Prototheca* deberán ser separados de los sanos y ordeñados en último lugar, con el fin de contener la difusión de la infección. Una vez eliminados o separados los animales positivos, se aconseja monitorizar la presencia de *Prototheca* en el grupo de animales negativos mediante análisis de la leche en laboratorio.

-Identificación y control de las fuentes de contaminación ambiental:

La resistencia de *Prototheca* a los productos clorados hace necesaria la instauración de métodos alternativos de tratamiento de agua:

- ✓ Tratamiento del agua utilizada en la explotación (agua de bebida de animales, agua de limpieza del equipo y la sala de ordeño, etc.) con **OX-AGUA 2ª GENERACIÓN®**. Dicho producto en base a peróxido de hidrógeno estabilizado por la inclusión del núcleo exclusivo OX-R^{PLUS}, ha demostrado su eficacia frente a *Prototheca*, garantizando la ausencia del alga en el agua, evitando así el posible contagio horizontal en los bebederos.

Se deben mantener los corrales y las camas limpios y secos. El contacto entre los pezones y las zonas de descanso sucias aumentará la probabilidad de que las bacterias invadan la ubre. En las granjas de vacuno de leche no puede aplicarse el sistema “todo

dentro todo fuera" ya que la ocupación de los establos es continua. Por esta razón, se deberán extremar las medidas higiénicas y aplicarlas permanentemente. Así mismo, tras la limpieza del equipo de ordeño con el correspondiente detergente, será necesario proceder a su desinfección con un producto específico. Se recomienda seguir estas indicaciones:

- ✓ Desinfección de corrales, equipo y sala de ordeño, pezoneras, alojamientos de los terneros, etc. con **OX-VIRIN®**. Este exclusivo desinfectante 100% biodegradable en base a peróxido de hidrógeno y ácido peracético ha demostrado su eficacia frente a *Prototheca* incluso a dosis bajas, pudiéndose utilizar dentro del marco legal vigente para todas las labores de desinfección requeridas (incluso en el interior del circuito de ordeño).
- ✓ Aplicación sobre el material de cama (especialmente en puntos críticos como la sala de partos y la enfermería) del producto sólido desinfectante **OX-S4®**. Su formulación específica garantiza un absoluto control de la humedad y la destrucción de *Prototheca* debido a su contenido en compuestos peroxiacéticos exclusivos.



Las características de estos productos permiten una fácil y cómoda aplicación, garantizando el control de *Prototheca* en las instalaciones en las que se ha detectado este alga, y su prevención en aquellas instalaciones que permanecen negativas a la presencia de este agente patógeno.

-Controlar los factores de riesgo para la infección mamaria:

Deben controlarse aquellos factores de riesgo que afectan a la integridad y funcionalidad del canal del pezón, facilitando la entrada del alga. Es necesario verificar el correcto funcionamiento del sistema de ordeño, así como las operaciones llevadas a cabo por el personal durante el ordeño. La desinfección pre- y post-ordeño de los pezones debe llevarse a cabo con productos eficaces y registrados para este uso. Para la desinfección pre-ordeño, Grupo OX recomienda la utilización de **PRE-OX Mousse®**, que garantiza un máximo cuidado de la piel, sin renunciar a una eficacia biocida total. Como post-dipping se recomienda el uso **BLUE-OX®**. Ambos productos contienen compuestos en base a oxígeno activo para garantizar su eficacia frente a microorganismos de interés, incluida *Prototheca*.

Este protocolo de trabajo ayudará a evitar la entrada de *Prototheca* en las explotaciones de vaca de leche, y en aquellos lugares donde ya se ha detectado la presencia del alga, evitará que este agente patógeno se propague. Teniendo en cuenta las importantes pérdidas económicas que puede ocasionar *Prototheca*, no es de extrañar que se haya demostrado que la gestión inteligente de la bioseguridad es una oportunidad de mejora muy rentable a corto, medio y largo plazo.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson K.L., Walker R.L. (1988) Source of *Prototheca* spp. in a dairy herd environment. J. Am. Vet. Med. Assoc., 193, 5: 553-556.
- Arrigoni N., Belletti G.L., Cammi G., Garbarino C., Ricchi M. (2010) Mastite bovina da *Prototheca*. Large Ani. Rev., 16: 39-43.
- Buzzini P., Turchetti B., Branda E., Goretti M., Amici M., Lagneau P.E., Scaccabarozzi L., Bronzo V., Moroni P. (2008) Large-scale screening of the *in vitro* susceptibility of *Prototheca zopfii* towards polyene antibiotics. Med. Mycol., 46, 5: 511-514.
- Cammi G., Arrigoni N., Belletti G.L., Garilli F., Ricchi M., Vicari N., Tamba M., Galletti G. (2008) Indagine sulla presenza di *Prototheca* spp. in allevamenti di bovine da latte del Nord Italia. Atti X Congresso Nazionale SIDI LV, Alghero. 22-24 Ottobre 2008: 120-121.
- Cammi G., Merenda M., Garilli F., Ricchi M., Garbarino C., Arrigoni N., Belletti G.L. (2011) Indagine sulla presenza di *Prototheca* spp. nel latte crudo erogato tramite distributori automatici: aspetti di sanità pubblica. A.I.V.I. Giugno 1: 87-91.
- Cantoni C.A., Parra-Titos E.R., Adami L., Ibba S. (2012) *Prototheca* spp.: biologia, patogenicità, metodi di identificazione, profilassi e terapia. SUMMA Ani. Reddito, 6: 7-13.
- Casal M., Gutiérrez J. (1983) *In vitro* activity of ribostamycin against *Prototheca* spp. Mycopathologia, 83: 21-23.
- Costa E.O., Melville P.A., Ribeiro A.R., Watanabe E.T., Parolari C.F.F. (1997) Epidemiologic study of environmental sources in a *Prototheca zopfii* outbreak of bovine mastitis. Mycopathologia, 137: 33-36.
- Di Persio J.R. (2001) *Prototheca* and Protothecosis. Cli. Microbiol. Newsletter, 23: 115-120.
- Janosi S., Ratz F., Szigeti G., Kulcsar M., Kerényi J., Lauko T., Katona F. (2001) Review of the microbiological, pathological, and clinical aspects of bovine mastitis caused by the alga *Prototheca zopfii*. The Vet. Quart., 23, 2: 58-61.
- McDonald J.S., Richard J.L., Anderson A.J. (1984) Antimicrobial susceptibility of *Prototheca zopfii* isolated from bovine intramammary infections. Am. J. Vet. Res., 45, 3: 1079-1080.
- Piccinini R., Daprà V., Tortorano A.M., Viviani M.A. (2008) Attività *in vitro* di farmaci antifungini tradizionali e di prodotti naturali nei confronti di *Prototheca* spp. Large Ani. Rev., 14: 7-9.
- Pore R.S., Boehm F. D. (1986) *Prototheca* (Achloric alga) in wastewater. Water, Air, Soil Pollution, 355-362.
- Roesler U., Hensel A. (2003) Longitudinal analysis of *Prototheca zopfii* specific immune response: correlation with disease progression and carriage in dairy cows. J. Clin. Microbiol., 41, 3: 1181-1186.
- Rosignoli C., Nigrelli A.D., Franzini G., Nardi M., Guizzardi S., Bottoli E., Favalli F. (2006) Indagine preliminare sulla presenza ambientale di *Prototheca zopfii* in allevamenti di bovine da latte. Buiaatria. J. Italian Assoc. Buiaiatrics, 2: 45-53.
- Segal E., Padhye A.A., Ajello L. (1976) Susceptibility of *Prototheca* species to antifungal agents. Antimicrob. Agents Chemother., 10: 75-79.
- Shahan T.A., Pore R.S. (1991) *In vitro* susceptibility of *Prototheca* spp. to gentamicin. Antimicrob. Agents Chemother., 35: 2434-2435.
- Taniyama H., Okamoto F., Kurosawa T., Furuoka H., Kaji Y., Okada H., Matsukawa K. (1994) Disseminated protothecosis caused by *Prototheca zopfii* in a cow. Vet. Pathol., 31: 123-5.
- Thompson G., Siva E., Marques S., Muller A., Carnevalheira J. (2009) Algaemia in a dairy cow by *Prototheca blaschkeae*. Med. Mycol., 47, 5: 527-531.