

UTILIZACIÓN DE LOS RCS EN EL DIAGNÓSTICO DE LAS MASTITIS SUBCLÍNICA EN OVEJAS LECHERAS DE RAZA ASSAF

LAS HERAS DEL RÍO, A.¹; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL FERNÁNDEZ, J. F.¹; LEGAZ HUIDOBRO, E.²; LÓPEZ PAREDES, I. ¹, FERNÁNDEZ RIERA, E. ¹ Y DOMÍNGUEZ RODRÍGUEZ, L.¹

1 Dpto. Patología Animal I (Sanidad Animal). Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense. Avda. Puerta de Hierro s/n. 28040 Madrid (España). 2 Castellana de Ganaderos Sociedad Cooperativa. C/ Egijos 10. Campo Real 28510 Madrid (España).

RESUMEN

Se ha estudiado la utilización del RCS como método de diagnóstico de las mastitis subclínica en ovejas lecheras de raza Assaf. El área englobada bajo la curva ROC fue de 0,86, pudiendo considerar que el diagnóstico mediante RCS se ajusta bastante bien al diagnóstico bacteriológico de referencia. Sin considerar el factor estado de lactación, el valor de 400.000 cél/ml. es el que mejor optimiza el VPN (91%) y proporciona un 82% de MCC. Para mejorar la especificidad y el VPP, un umbral de 560.000 cél/ml. proporcionaría un menor porcentaje de FP (10%) y un mayor VPP (70,5%) sin perder VPN (90%). Considerando tres periodos en la lactación (meses 1 y 2; meses 3 y 4; meses 5 y 6), se pueden establecer unos valores umbrales de 325.000, 400.000 y 600.000 cél/ml. para los tres periodos, respectivamente, y que permitirían obtener un bajo porcentaje de FN (3,5, 6,5 y 8%, respectivamente). Si la finalidad de nuestro diagnóstico es reducir el porcentaje de FP, el valor de 600.000 cél/ml. sería válido a lo largo de los dos primeros periodos (11 y 9,2%, respectivamente), mientras que en el último sería más apropiado el de 800.000 cél/ml. (8%).

Desde un punto de vista práctico, más que considerar un único valor umbral de referencia, deben tenerse en cuenta los objetivos de nuestro diagnóstico y tomar como valor umbral aquel que más optimice el VPP o VPN, según interese en cada caso.

Palabras clave: Mastitis subclínica, diagnóstico, recuentos de células somáticas, ovino, Assaf.

INTRODUCCIÓN

El recuento de células somáticas (RCS) es un método indirecto de diagnóstico de mastitis de tipo cuantitativo y considerado de alta correlación con el estado de infección mamaria (Gonzalo *et al*,

1998a). Aunque la mayor parte de la varianza de los RCS se debe al estado sanitario de la mama, existen otros factores de tipo no infeccioso que pueden influir en el RCS y que conviene tener en cuenta tanto de cara al diagnóstico individual como a la interpretación de los RCS de tanque (Gonzalo *et al*, 1998b, Lagriffoul *et al*, 1996). Entre estos factores destaca el estado de lactación, siendo los periodos más críticos a la hora de interpretar un RCS sin el apoyo de la bacteriología el principio y final de la misma (Gonzalo *et al*, 1998b). Para las razas autóctonas españolas se han establecido distintos valores umbrales para el periodo medio de la lactación; 250.000 cél/ml. en la raza Lacha (Marco, 1994) y de 200.000 cél/ml. en la Manchega (De la Cruz *et al*, 1994) y Churra (Gonzalo *et al*, 1998c). Los sistemas de explotación con razas foráneas de alta producción como la Assaf se han implantado enormemente en las principales regiones productoras de leche de nuestro país (López *et al*, 1999). Por tanto, en este trabajo hemos pretendido evaluar el empleo del RCS para el diagnóstico de las mastitis subclínicas en la raza Assaf a lo largo de diferentes periodos de la lactación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras. Se estudiaron 884 muestras de leche procedentes de dos rebaños de la raza Assaf respecto al RCS y al análisis bacteriológico. Los datos se procesaron de manera conjunta así como considerando el estado de la lactación de acuerdo con los siguientes periodos: primero (meses 1 y 2); segundo (meses 3 y 4) y último (meses 5 y 6), siendo el número de muestras estudiadas de 394, 228 y 202, respectivamente.

Recuento de Células Somáticas. Antes del ordeño se recogieron 40 ml. de leche de cada mama en frascos con azidiol. Los RCS fueron realizados en el Instituto Lactológico de Lecumberri (Navarra) entre las 24 y las 48 horas después de su recogida a una temperatura de 40°C. Las muestras fueron procesadas por un COMBIFOSS que agrupaba un FOSSOMATIC 250/360 (P.E./ALVO/03) y un MILKOSCAN 255/605 (P.E./ALVO/02) respectivamente, contando con la acreditación de ENAC.

Análisis bacteriológico. Para cruzar los resultados del RCS con el análisis bacteriológico, se recogieron y se analizaron muestras de leche de cada mama de acuerdo con lo descrito por Las Heras *et al* (1999).

Parámetros estudiados. Se calculó una curva ROC (Receiver-operator characteristic) a partir de los RCS respecto al análisis microbiológico y en la que se ven enfrentadas la sensibilidad frente a 1- la especificidad (Erdreich y Voller, 1991). Además para cada uno de los valores de RCS se calculó, respecto al análisis bacteriológico, la sensibilidad (S), especificidad (E), porcentaje de falsos positivos (FP) y negativos (FN), el porcentaje de muestras correctamente clasificadas (MCC) así como el valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN), de manera que permitiesen escoger el valor umbral más apropiado en cada momento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El área englobada bajo la curva ROC fue de 0,86, pudiendo considerar que el diagnóstico mediante RCS se ajusta bastante bien al diagnóstico bacteriológico de referencia. En la Figura 1 aparece la evolución de los valores de sensibilidad y especificidad de cada posible valor umbral de RCS sin considerar el estado de lactación, en la que los valores de sensibilidad y especificidad se cruzaron en el valor 400.000 cél/ml. (0,82). Este valor, que proporcionó un porcentaje de MCC del 82%, con un porcentaje de FP del 13%, de FN del 6%, un VPN del 91% y un VPP del 66%, puede ser considerado un buen umbral para evitar la aparición de FN. Sin embargo, de cara a mejorar la E y el VPP, un umbral superior de 560.000 cél/ml. proporcionó un menor porcentaje de FP (10%) y un mayor VPP (70,5%) sin perder VPN (90%), consiguiendo igualmente un porcentaje de MCC del 83%.

Considerando el estado de lactación, durante los dos primeros meses de la misma los valores de S y E se cruzaron en el valor 325.000 cél/ml. (0,83, Figura 2). El porcentaje de FP fue del 14%, el de FN del 3,5%, el VPN fue del 94,6%, el VPP del 56% y el porcentaje de MCC del 82%. Al igual que se comentó en el caso del conjunto de muestras, se deben proponer umbrales más altos para mejorar la E en este periodo si el objetivo de nuestra intervención diagnóstica es detectar animales infectados. Tendríamos que subir hasta un RCS de 600.000 cél/ml. para obtener menos FP (11%) aunque el VPP no pasaría del 60%. El VPN sería todavía del 93% y el porcentaje de MCC del 83%. Se observa cómo en este periodo el VPN de los RCS puede ser excelente aunque resulta complicado mejorar el VPP, incluso considerando valores muy elevados. Durante el periodo medio de la lactación (meses 3 y 4), los valores de S y E se cruzaron en el valor 400.000 cél/ml. (0,79, figura 3). El porcentaje de FP fue del 14%, el de FN del 6,5%, el VPN fue del 89%, el VPP del 64% y el porcentaje de MCC del 79%. Este valor es apropiado para evitar la aparición de FN y optimizar el VPN ya que bajando el umbral a un RCS de 200.000 cél/ml., a penas proporcionaría un 2% menos de FN y el VPN sería del 91%. Sin embargo, si el objetivo diagnóstico en base al RCS en este periodo fuese detectar animales infectados, al igual que en el primer periodo de la lactación se debería alcanzar un umbral de 600.000 cél/ml. para obtener menos FP (9,2%) y aumentar el VPP (72%). Así, el VPN permanecería en el 89% y el porcentaje de MCC mejoraría hasta el 83%. La escasa información existente sobre valores umbrales individuales en esta raza aparece referida a este periodo medio de la lactación, proponiéndose como valor umbral el de 400.000 cél/ml. (Gonzalo *et al*, 1998c). En este trabajo se citaron unos valores tanto para S y E (82%) muy similares a los nuestros, si bien el porcentaje de FP fue inferior (9%), y por tanto el VPP superior (82%). Este hecho podría deberse a que el porcentaje de cultivos bacteriológicos positivos a partir de las muestras de nuestro estudio (31,5%) fue inferior al de ese estudio (45%, Gonzalo *et al*, 1998c), lo cual puede determinar que a partir del valor umbral el VPN sea alto pero sin embargo el VPP disminuya. Por tanto, más que proponerse un valor umbral fijo, parece más razonable que, en función de nuestros objetivos del diagnóstico, se elija un valor de 400.000 cél/ml. para potenciar el VPN y de 600.000 cél/ml. para potenciar el VPP y evitar parte de los FP.

En el último periodo de la lactación (meses 5 y 6), los valores de S y E se cruzaron en el valor 600.000 cél/ml. (0,83, figura 4). El porcentaje de FP fue del 9,4%, el de FN del 8%, el VPN del

85%, el VPP del 79,5% y el porcentaje de MCC del 83%. En esta fase de la lactación, si se pretende realizar un tratamiento selectivo con antibióticos al secado y seleccionar solamente los animales infectados, resulta imprescindible disminuir el porcentaje de FP. Sin embargo, incluso por encima de las 800.000 cél/ml. el porcentaje de FP sólo se reduciría al 8%, el VPP sería solamente del 80% y además quedarían sin tratar un 9% de mamas enfermas (FN).

CONCLUSIONES

1. El empleo del RCS para el diagnóstico de las mastitis subclínicas en la raza Assaf, en condiciones de elevada prevalencia, presenta un ajuste aceptable respecto al análisis bacteriológico.
2. El RCS supone una herramienta diagnóstica más eficaz para discriminar las mamas sanas que las infectadas.
3. En lugar de proponer un valor umbral determinado, se deben considerar valores que permitan aumentar el VPN o VPP (según nuestros objetivos) de acuerdo con en los diferentes periodos de la lactación.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto N° 2FD97-0001 del Ministerio de Educación y Cultura. A. Las Heras y E. Fernández disfrutaron de una beca predoctoral del Ministerio de Educación y Cultura y del Ministerio de Ciencia y Tecnología, respectivamente.

BIBLIOGRAFÍA

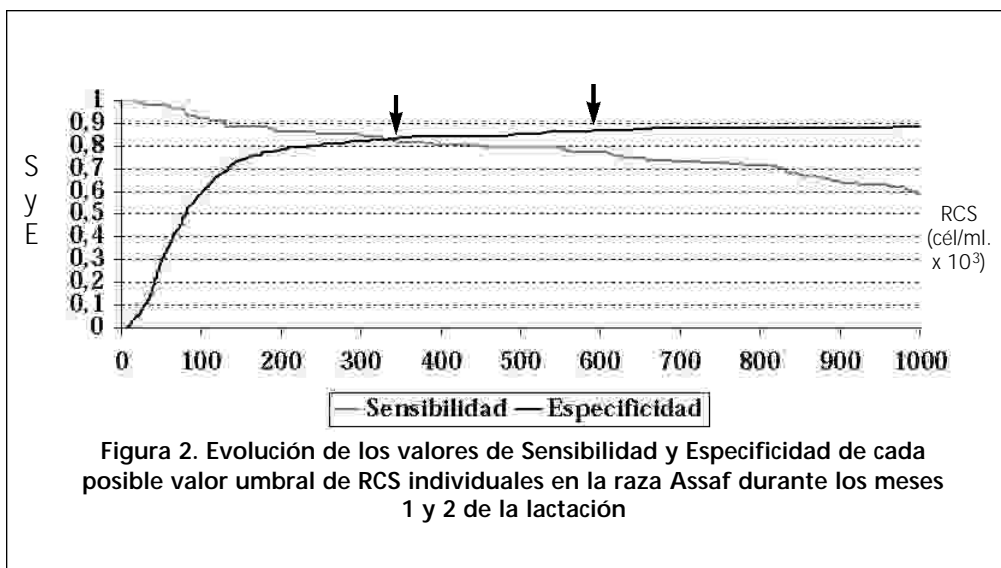
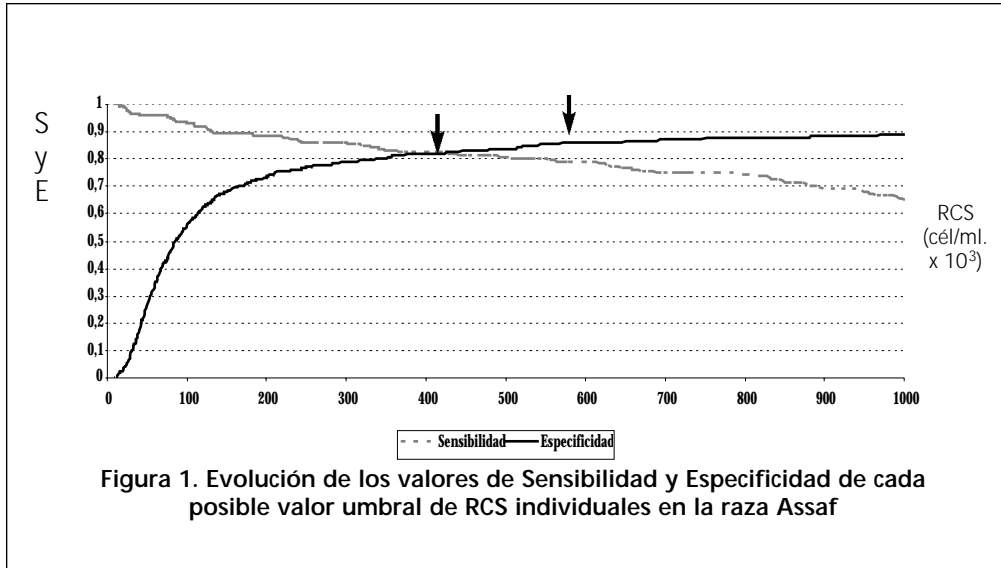
- ERDREICH, L. S. Y VOLLER, A. 1981. Use of relative operating characteristic analysis in epidemiology. *American Journal of Epidemiology* 114, 639-662.
- GONZALO, C.; ARIZNABARRETA, A.; TARDÁGUILA, J. A. Y SAN PRIMITIVO, F. 1998a. Factores infecciosos de variación del recuento celular de la leche de oveja. *Revista Ovis* 56, 27-34.
- GONZALO, C.; FUERTES, J. A.; CARRIEDO J. A. Y SAN PRIMITIVO, F. 1998b. Factores no infecciosos de variación del recuento celular de la leche de oveja. *Revista Ovis* 56, 34-40.
- GONZALO, C.; GONZÁLEZ, M. C.; ARIZNABARRETA, A. y SAN PRIMITIVO, F. 1998c. Umbral celular de discriminación de infección mamaria ovina. *Revista Ovis* 56, 41-46.
- LAGRIFFOUL, G.; BERGONIER, D.; BERNARD, J.; MILLET, F.; BERTHELOT, X. y BARILLET, F. 1996. Facteurs de variation génétiques et non génétiques des comptages de cellules somatiques du lait de brebis en relation avec les caractères laitiers et les mesures portant sur le lait de tank, p. 343-347. Somatic cells and milk of small ruminants. Bella, Italy (25-27 September 1993).

- LAS HERAS, A.; DOMÍNGUEZ, L. y FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J. F. 1999. Prevalence and aetiology of subclinical mastitis in dairy ewes of the Madrid region. *Small Ruminants Research*, 32, 21-29.
- MARCO, J. C. 1994. Mastitis en la oveja Lacha: epidemiología, diagnóstico y control. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza, España.
- DE LA CRUZ, M.; SERRANO, E.; MONTORO, V.; MARCO, J.; ROMEO, M.; BALSEGA, R.; ALBIZU, I. y AMORENA, B. 1994. Etiology and prevalence of subclinical mastitis in the Manchega sheep at mid-late lactation. *Small Ruminant Research*, 14: 175-180.
- LOPEZ, I.; FERNÁNDEZ-GARAYZABAL, J. F.; LAS HERAS, A.; LEGAZ, E.; MORENO, M. A. y DOMINGUEZ, L. 1999. Explotación del ovino lechero en la Comunidad de Madrid: situación actual y perspectivas. *XXIV Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia*, 99-103.

SUMMARY

The use of SCC for diagnosing subclinical mastitis in Assaf dairy ewes was studied. The area under the ROC curve was 0.86, suggesting a satisfactory accuracy of SCC with regard to bacteriological diagnostic. For any lactation period, a threshold value of 400,000 cel/ml. was chosen for having a high NPV (91%), classifying correctly 82% of the samples. For improving specificity and the PPV, a threshold value of 560,000 cel/ml. had a lower FP rate (10%), a higher PPV (70,5%) and a remaining NPV of 90%. Considering three different periods of lactation (months 1 and 2; 3 and 4; 5 and 6), the suggested threshold values were 325,000, 400,000 and 600,000 cél/ml., respectively, for minimising the FN rate (3.5, 6.5 and 8%, respectively). For diagnostic purposes in which a low FP is suitable, a threshold value of 600,000 cél/ml. was valid for the two first periods (11 and 9.2%, respectively), while for late lactation a threshold value of 800,000 cél/ml. would be more appropriate (8%). These results suggest, from a practical point of view, the convenience of having different threshold values according to the diagnostic purposes (to improve the NPV or the PPV, as necessary).

Key words: Subclinical mastitis, diagnostic, somatic cell counts, sheep, Assaf.



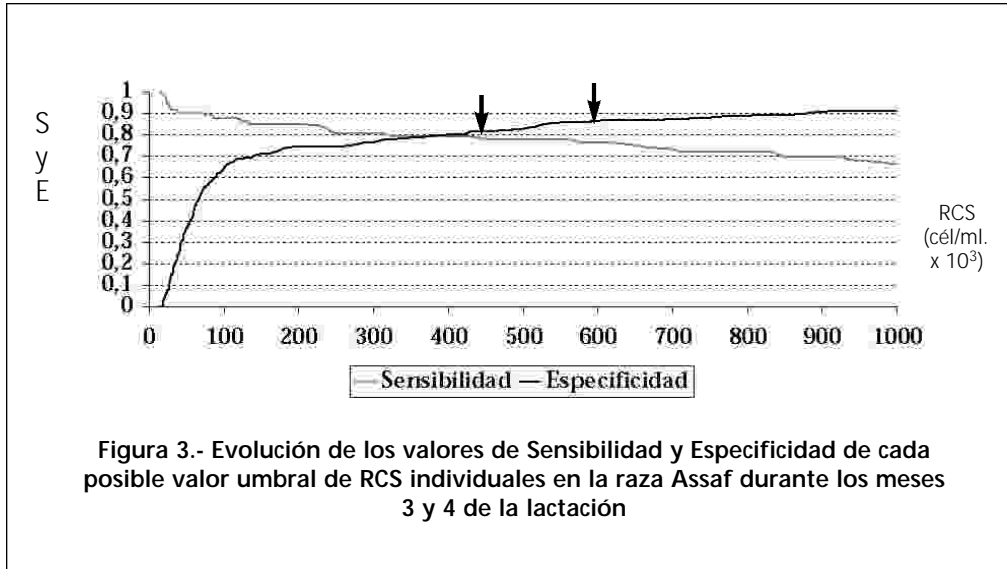


Figura 3.- Evolución de los valores de Sensibilidad y Especificidad de cada posible valor umbral de RCS individuales en la raza Assaf durante los meses 3 y 4 de la lactación

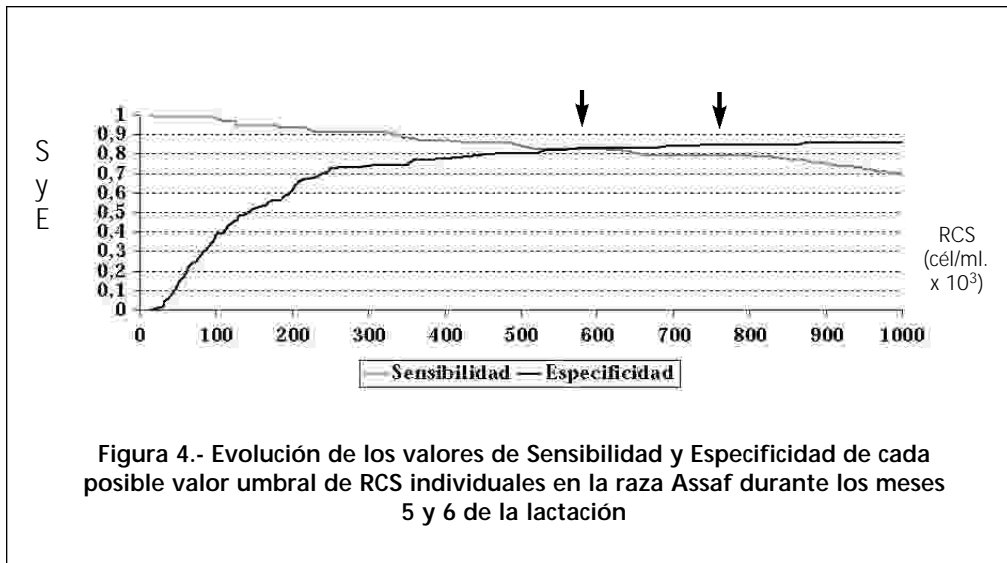


Figura 4.- Evolución de los valores de Sensibilidad y Especificidad de cada posible valor umbral de RCS individuales en la raza Assaf durante los meses 5 y 6 de la lactación