

La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana
Centro Universitario de Ciencias Biológicas Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara
Universidad de HESSEN
Servicio Alemán de Intercambio Académico y
La Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos del estado de Veracruz, A.C.



ANIVERSARIO
Universidad Veracruzana
1944-2019



DAAD
Deutscher Akademischer Austausch Dienst
Servicio Alemán de Intercambio Académico



MEMORIAS

XVI Curso Internacional Teórico Práctico *“Diagnóstico y Control de la Mastitis Bovina”*



BV 06/19
30 horas



6 al 9 de mayo de 2019 en Veracruz, Ver.



Comité Organizador

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Dr. Jorge Genaro Vicente Martínez. Director

Dra. Patricia Cervantes Acosta

Dr. Antonio Hernández Beltrán

Dr. Raymundo Gudiño Escandón

Dr. José M. Martínez Hernández

Q.C. Nohemí B. Segura Jaym

Universidad de Guadalajara

Dr. Hugo Castañeda Vázquez

Dra. Martha A. Castañeda Vázquez MBA. Oscar Carbajal Mariscal

Instituto Estatal de Investigaciones de Hessen, Giessen, Alemania.

PD Dr. Tobias Eisenberg

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

MC. Carlos Bedolla Cedeño

Universidad Autónoma de Sinaloa.

Ing Luciano Abelino López Juárez

**Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas
de Bovinos del Estado de Veracruz (AMVEBEV)**

UV-CA-252 - Reproducción y Biotecnología

UGU-632 - Fisiopatología de la Mastitis

Ponentes

Instituto Estatal de Investigaciones de Hessen

PD Dr. Tobias Eisenberg Dra. Irene Noll

CUCBA, Universidad de Guadalajara

Dr. Hugo Castañeda Vázquez

Dra. Martha Alicia Castañeda Vázquez Dr. Fco. Javier Padilla Ramírez

Biol Erika P. Salas Castañeda

Universidad Veracruzana

Dr. Belisario Domínguez Mancera; Dr. Antonio Hernández Beltrán;

Dra. Patricia Cervantes Acosta; MCA Diana Pamela Bonilla Sessler

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

MC. Carlos Bedolla Cedeño

Universidad Autónoma de Chiapas

Dr. Jorge Luis Ruiz Rojas

Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco

Dr. Adolfo Bucio Galindo

Práctica Privada, MVZ. Roberto Pérez Gutiérrez

CytaLab, Dr. Pablo Hernández Jáuregui

DeLaval-México, MVZ Francisco Ferrusca

Foss Electric – México, Ing. Luis Hernández Lledias

Ovejero Group - MVZ Fernando Abad Medrano

Objetivos

1. Vincular y difundir resultados de investigaciones realizadas en colaboración con Cuerpos Académicos y grupos de investigación nacional e internacional, con la enseñanza teórico-práctica en trabajos de campo y de laboratorio.
2. Actualizar el conocimiento teórico práctico en campo y laboratorio sobre diagnóstico, control y tratamiento de la mastitis bovina, con énfasis de la repercusión en la calidad de la leche

PATROCINADORES



Lunes 06 de Mayo

1.	Introducción del Curso. Los factores que influyen sobre la salud de la ubre. Dr. Hugo Castañeda Vázquez	1
2.	Diagnóstico clásico de mastitis en el laboratorio. PD Dr. Tobías Eisenberg	39
3.	Visita a un establo con problemas de Mastitis en Hesse. Dra. Irene Noll.	61
4.	Lista de control para la visita al establo lechero.. MC Carlos Bedolla C.	90
5.	La toma correcta de muestras. MC Carlos Bedolla C.	113
6.	Pruebas de diagnóstico de la mastitis bovina MC Carlos Bedolla C.	126
7.	El conteo automático de células somáticas y la prueba de California. MC Carlos Bedolla C.	139
8.	Importancia de los cultivos bacteriológicos en el diagnóstico de la mastitis. Dra. Martha Castañeda Vázquez	157
9.	Vacuna ECOSTAPH pm3 para el control de mastitis. Dr. Pablo Hernández Jáuregui.	185

Martes 07 de Mayo

10.	El Reactivo de California y su elaboración en un laboratorio de primer nivel. Dr Antonio Hernández Beltrán, Patricia Cervantes Acosta y Dr Belisario Domínguez Mancera.	200
11.	Diagnóstico moderno de agentes patógenos de mastitis. PD Dr. Tobias Eisenberg.	217
12.	Impacto de la rutina de ordeña sobre la presencia de mastitis. MVZ Francisco Ferrusca (DeLaval)	233
13.	Tratamiento y manejo de la mastitis subclínica y aguda ligera sin antibióticos; relación costo beneficio. Dr Pablo Hernández Jáuregui.	307
14.	El problema de la mastitis en ranchos lecheros del trópico en el estado de Chiapas, México. Dr. Jorge Luis Ruiz Rojas.	341
15.	Mastitis ocasionada por bacterias patógenas principales. Dr. Hugo Castañeda	430

Miércoles 8 de Mayo

16.	Agentes patógenos de la mastitis en Hessen. PD Dr. Tobias Eisenberg.	440
17.	Determinación automática de bacterias y células somáticas para análisis de calidad de leche. Ing José Luis Hernández. Foss-México	460
18.	Mastitis en Ovejas y Cabras. Dra. Irene Noll	482
19.	Mastitis y Calidad de la Leche. MVZ Fernando Abad Medrano. Lab. Ovejero.	520
20.	Secado selectivo de las vacas. Dra. Irene Noll.	598
21.	Capacitación del personal en sala de ordeña: su importancia para evitar la mastitis. MVZ Roberto Pérez G.	625

Jueves 9 de Mayo.

22.	Mecanismos de adquisición y transferencia de la resistencia a los antimicrobianos de bacterias en los alimentos de origen animal. Dr. Adolfo Bucio Galindo	666
23.	Diagnóstico de estreptococos causantes de mastitis. MC. Carlos Bedolla Cedeño.	742
24.	Efecto de la mastitis sobre el comportamiento reproductivo de las vacas. Dr. Fco. Javier Padilla Ramírez.	765
25.	Profilaxis de la mastitis. MC Carlos Bedolla C.	801

**XVI Curso Internacional Teórico Práctico “Diagnóstico y Control de la Mastitis Bovina”
Veracruz, Ver., 6 al 9 de Mayo de 2019.**

Introducción del curso. Los factores que influyen sobre la salud de la ubre.

Hugo Castañeda Vázquez¹, Martha Alicia Castañeda Vazquez¹, Erika P. Salas Castañeda¹, Patricia Cervantes Acosta², Carlos Bedolla Cedeño³, Fco. Javier Padilla R.¹

¹Laboratorio de Mastitis y Diagnóstico Molecular, CUCBA Universidad de Guadalajara.

²Facultad de Medicina Veterinaria y Zoot. Universidad Veracruzana.

³Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo México.

La producción de leche en México tiene una larga tradición. México, el segundo país mayor productor de leche de Latinoamérica y uno de los mayores países importadores de lácteos en el mundo, deberá continuar la importación de lácteos a pesar de la expectativa de crecimiento esperada en la producción en esta década. En 2017 México ocupó el 11^º lugar en producción de leche, con 12,2 miles de millones de leche producidos y con un incremento anual de cerca de 1.5%. Jalisco ocupa a nivel nacional el primer lugar en producción de leche de vaca con cerca de 6.5 millones de litros diarios lo cual aporta un 19% de la producción de leche nacional.

A pesar de ello nuestro País tiene un enorme déficit ya que la importación de leche es del 40% de los productos lácteos consumidos.

Las explotaciones pecuarias, productoras de leche bovina, en todo el mundo tienen el mayor problema de la mastitis.



Fig. 1 La mayoría de las explotaciones lecheras en el Estado de Jalisco son familiares y cuentan con aproximadamente 30 vacas en producción.

Definición de la Mastitis.

La Mastitis se define como la inflamación de la glándula mamaria de los mamíferos, como consecuencia de la introducción y multiplicación de microorganismos patógenos en los conductos galactóforos, es la enfermedad más común del ganado lechero.

Un cuarto de la ubre sano es aquel que no muestra alguna alteración patológica externa, la leche no contiene microorganismos patógenos y tiene un nivel normal de células somáticas de < 100,000/ml.

La Mastitis bovina es un complejo singular de enfermedades, que causa una gran cantidad de pérdidas a nivel mundial y en especial en las regiones con producción lechera intensiva.

La causa más común para un sacrificio temprano de las vacas lecheras son los problemas de salud de la glándula mamaria, además de problemas de fertilidad. El 26.5% de las vacas lecheras sacrificadas en el continente americano es debido a trastornos ocasionados por la mastitis. Se ha estimado que la mastitis bovina causa pérdidas de unos 150 a 300 dólares americanos por vaca afectada al año.

Las pérdidas causadas por mastitis se clasifican de la siguiente manera:

1. - En los casos de mastitis clínica.

Perdida por baja producción láctea del animal enfermo.

Perdida de producción por la duración de la eliminación del medicamento.

Frecuentemente hay un perjuicio duradero en el rendimiento de la vaca.

Costos de medicamentos y del médico veterinario.

Aumento en los costos de la mano de obra.

2. - En los casos de mastitis subclínica.

Una considerable reducción en la producción diaria de leche.

Cambios importantes en la composición de la leche (Cuajado del queso).

Se perjudica el valor higiénico de la leche.

La mastitis es una enfermedad de factores:

Que factores juegan los principales roles en la presentación de la enfermedad:

a) La vaca.

El estado inmune de la vaca ya sea específico o inespecífico es muy importante.

El estadio de la lactación. Así como el número de lactaciones.

La presencia de factores estresantes

b) Los microorganismos.

La cantidad y tipo de bacterias en el establo.

La patogenicidad del microorganismo, es importante.

Los factores de virulencia de las bacterias varían entre las diferentes cepas.

c) El medio ambiente.

La higiene del ordeño, una buena higiene impide la transmisión de bacterias causantes de mastitis.

Higiene en el manejo diario, en todas las instalaciones del establo.

Factores climáticos, el calor excesivo tiene influencia en la cantidad de leche por vaca.

La alimentación que debe de ser balanceada, dependiendo del estadio de lactación.

Clasificación de la mastitis.

Se distinguen dos presentaciones de mastitis: **la clínica** caracterizada por la afectación de las características físico-químicas de la leche, la cual se encuentra visiblemente alterada por coágulos, descamaciones y en ocasiones sangre y **la forma subclínica**, donde la vaca parece sana y la ubre no presenta ningún signo de inflamación, sin embargo, las células somáticas se encuentran aumentadas en número y es posible detectar en leche la presencia de microorganismos patógenos. Se estima que un tercio de todas las vacas lecheras están afectadas por cualquier forma de Mastitis en uno o más cuartos.

Comúnmente es una enfermedad infecciosa causada por más de 170 especies de microorganismos, especialmente bacterias, también pueden ser *Micoplasmas*, hongos, levaduras y algas, siendo las más frecuentes *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*. Esta enfermedad constituye un problema tanto para la salud pública como para la economía del sector lechero en general.

Los cálculos mundiales recientes han revelado que la mastitis representa el 30% del costo total de las enfermedades del ganado lechero.

	Patógenos Mayores asociados a la ubre (Contagiosos)	Patógenos Mayores asociados al medio ambiente	Patógenos Menores Secundarios (Contagiosos)
Agente Patógeno	<i>S. agalactiae</i> <i>S. aureus</i> <i>S. disgalactiae</i> <i>G – Streptococcus.</i> <i>L- Streptococcus</i>	Stp. esculina positivo <i>E. coli</i> Cepas coliformes <i>Streptococcus uberis</i> Enterococos.	Stp. coagulasa negativo <i>Corynebacterium spp</i> <i>Proteus spp</i> <i>Klebsiella spp</i>
Reservorio	La ubre	Medio ambiente. Piel de la ubre	Piel de la ubre. Canal lineal (<i>C. Bovis</i>).
Transmisión	Al ordeño	En cualquier tiempo	En cualquier tiempo
Profilaxis	Higiene al ordeño	Aumentar las defensas. Disminuir número de bacterias	Aumentar las defensas

Tabla 1.- Descripción de los grupos de agentes microbianos patógenos causantes de mastitis, clínica y subclínica.

En el área del diagnóstico de mastitis pueden ser utilizados diversos métodos microbiológicos para una posterior identificación mediante tipificación de técnicas de biología molecular, las cuales pueden ser utilizadas con éxito para la identificación de especies, de factores de virulencia, y/o de identificación de genes.

Las Células Somáticas son principalmente células de defensa predominantemente leucocitos, y en pequeña proporción células de descamación y algunos microorganismos.

La mastitis por sí misma es la enfermedad más costosa del ganado lechero. En total, las pérdidas económicas de las mastitis subclínicas exceden aquellas causadas por las

mastitis clínicas. Las pérdidas económicas que se producen como resultado de una producción de leche reducida han sido predichas basándose en el conteo de células somáticas. Si el promedio de producción de un hato es 7.000 kg / vaca /año, esto significa que un promedio de conteo de células somáticas de 1.000.000, es un indicativo de pérdidas de producción de $(7.000 \times 18/100=)$ 1.260 kilogramos por vaca y a un conteo de 500.000 representa una pérdida de 420 kilos por año.

El conteo de células somáticas es actualmente un parámetro que puede interpretarse ya sea directa del cuarto o como muestra de leche del tanque y se usa ampliamente para este propósito, y como indicador de la calidad de la leche.

Un conteo de células < 200,000 por mililitro no tiene implicaciones en la salud de la ubre. Niveles de 200,000 a 500,000 céls./ml en muestras de tanque nos hace sospechar de mastitis subclínica ya que no es un indicativo. Hay sospecha de unas pocas vacas afectadas subclínicamente en el hato si el recuento de células está entre 500,000 a 1,000,000. Cuando los conteos son de 1,000,000 a 1. 500.000 hay mastitis subclínica y es posible que por lo menos la mitad de los cuartos en el hato se encuentren infectados y la producción de leche puede bajar un 30%.

Se mide la calidad sanitaria de la leche cruda en tanque mediante cuantificación de las células somáticas y prueba de California para mastitis en ubres de las vacas , pero lo más importante son las perdidas en calidad de dicho producto, ya que bajo los efectos de las mastitis disminuye en la leche del orden de 0,2 a 0,3 décimas el contenido graso mientras que la caseína se reduce en un 20 %, disminuyendo también la lactosa. Los cloruros aumentan, mientras el pH tiende a la alcalinidad.

Los referidos cambios en la composición química de la leche repercuten en las industrias lácteas que obtendrán el menor rendimiento en producción de queso y mantequilla, partiendo del mismo volumen de leche al estar disminuidas en aquéllas la grasa y la caseína.

Detección de la mastitis.

Para la detección de la mastitis es necesario llevar a cabo algunas pruebas, tales como la detección del número de células somáticas en leche, ya sea por la prueba de California, por medición con Fossomatic o alguna de las múltiples pruebas que existen, las mas aceptadas y probadas son las 2 anteriores.

Además del conteo de células somáticas en leche, se debe de hacer un examen bacteriológico, para demostrar la presencia de microorganismos patógenos en la leche. De acuerdo con las normas nacionales e internacionales.

Conteo celular

Conteo celular de cuartos sencillos:

diagnostico de mastitis
(prueba de Schalm; CMT)

Conteo celular de la vaca:

prueba de rendimiento de leche

Conteo celular del tanque:

decreto de calidad de la leche, NOM



Figura 2.- Diferentes formas de hacer el conteo de células somáticas en el establo con la prueba de California o con el Fossomatic en laboratorio.

El diagnóstico oportuno es muy importante en el hato lechero, que también, puede basarse en los diferentes signos clínicos, como son, la inflamación, dolor al tacto, fiebre, depresión y disminución de la producción láctea. Con pruebas sencillas como la de California Mastitis Test (CMT) o cualquier otra que permita conocer el estado normal o anormal de células somáticas en leche.

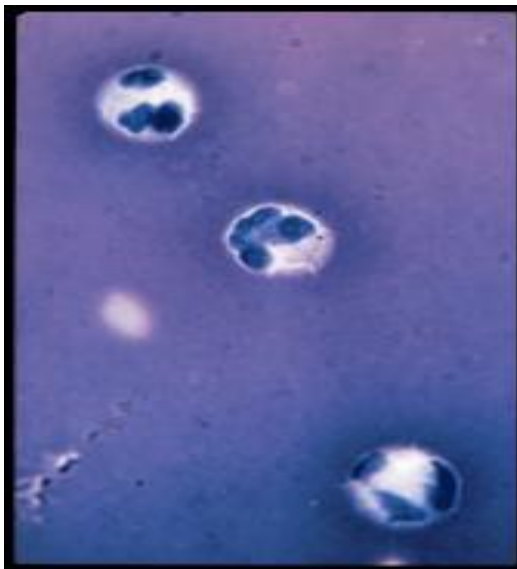
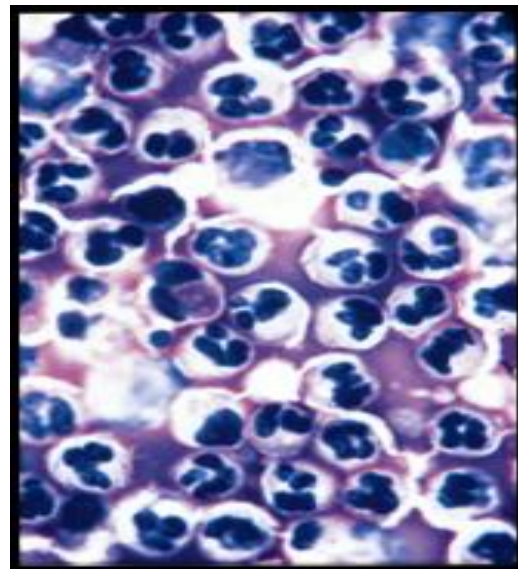


Fig.-3 CONTEO CÉLULAR NORMAL



MASTITIS.

Aislamientos de los agentes patógenos causantes de mastitis, en el Estado de Jalisco.

A pesar de la importancia económica y de salud pública de la mastitis bovina, la información sobre la prevalencia y distribución de la enfermedad, por muestreos en los establos lecheros en la región Occidente es muy escasa o nula.

Existen reportes de mastitis clínica y subclínica, hasta en un 50% de las vacas lecheras. Sin embargo hay muchos vacíos de información, con respecto a los agentes causales más comunes. Se acepta una división, de los agentes causantes de mastitis; en patógenos principales o “major pathogens” y patógenos secundarios o “minor pathogens”, esto tiene relación con la reacción que estos microorganismos causan en la ubre.

Teniendo como objetivo determinar que agentes patógenos son los principales causantes de la mastitis en hatos lecheros comerciales en la cuenca lechera del estado de Jalisco, analizamos 33 establos lecheros de las diferentes zonas lecheras del estado de Jalisco, estando ubicados la mayoría de ellos en la cuenca lechera de la región de los Altos de Jalisco, en estos fueron tomados de vacas lactantes de manera antiséptica, al inicio del ordeño, muestras de leche de cuartos sencillos de la ubre, sin importar si la vaca tenía o no mastitis. Al final de este muestreo se obtuvieron un total de 2,979 muestras.

Los aislamientos y métodos utilizados para la identificación, fueron los sugeridos por la DVG (2002) y el documento 132 de la Federación Internacional de la leche (IDF).

Una vez realizados los análisis obtuvimos los siguientes resultados.

Respecto a las 2,979 muestras tomadas en los establos lecheros, 1,603 resultaron negativas, 53.8% (no hubo crecimiento). En el restante 46.2% (1,376 muestras) fueron positivas. Siendo los agentes patógenos mas frecuentes; SCN (estafilococos coagulasa negativos),

Corynebacterium spp, *S. aureus*, *Sc. agalactiae*, seguido de los microorganismos coliformes y de los *Streptococcus spp*. Los resultados de las muestras bacteriológicamente positivas (46.2%). Además en los resultados donde se sugiere que las bacterias aisladas están en relación con un mal manejo zootécnico del hato lechero, por ejemplo aislamientos de SCN, *Sc. agalactiae* y de *S. aureus*. En el caso de *Corynebacterium spp* existe la controversia, de sí estos son patógenos, ya que comúnmente se encuentran como colonizadores normales del canal del pezón. Entonces podemos observar claramente que los microorganismos encontrados en casos de mastitis clínica y/o subclínica de vacas en lactación, predominan los patógenos menores o “minor pathogens”, seguidos de los patógenos clásicos los cuales se consideran como agentes muy importantes para la presentación de casos de mastitis en el estado de Jalisco, México.

Staphylococcus aureus.

Staphylococcus aureus es el microorganismo económicamente mas importante causante de mastitis bovina. La conocida capacidad de supervivencia del *S. aureus* en el medio ambiente juega un papel importante en la trasmisión de la infección a otras vacas del hato lechero. Las pezoneras de la maquina de ordeña, las toallas de papel o textil y las manos del ordeñador transmiten el agente patógeno de un cuarto infectado a un cuarto sano y de las vacas infectadas a las vacas sanas. De los plásticos de las pezoneras penetra el patógeno hacia el canal lineal y al tejido glandular de la ubre. Mediante algunos factores de patogenicidad específicos se eliminan, cuando menos en parte, las defensas de la ubre, eso ocasiona que el patógeno pueda sobrevivir y estar presente en la leche durante largos periodos.

Si bien acúmulos de estafilococos en el tejido glandular son rodeados de células de defensa específicas, no se presenta una destrucción efectiva de las bacterias patógenas.

Además de esto, el *S. aureus* es un agente causante de Zoonosis. Las bacterias secretadas en leche pueden, bajo condiciones desfavorables, ocasionar intoxicaciones alimenticias al humano. Una parte de las cepas aisladas de muestras de leche tiene la capacidad de formar enterotoxinas estables al calor; por protección del consumidor esta bacteria no debe encontrarse en leche que el ganadero vende. Una de las metas del productor a largo plazo, debe ser la eliminación de *S. aureus* de todo el hato lechero.

Bibliografía Consultada.

- 1.- Bedolla, C. C. y Castañeda Vazquez H. (2004). Mastitis Bovina. Cuatro Vientos. No. 41. Febrero Marzo. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Pp 24-28.
- 2.- Bedolla C. C. Kloppert B. Mejia R. Renteria I. Conejo J. Castañeda, V. H., Wolter W. Prevalence of bovine mastitis caused by *Staphylococcus aureus* in small scale cattle barns in Michoacan, Mexico.
- 3.- Castañeda, V. H.; Castañeda, V. M. A.; Bedolla, C. C.; Salas, C. E. P.; Wolter, W.; Ventura, A .R. Agentes causales de Mastitis Bovina en Jalisco. VI Congreso Universitario de Ciencias Veterinarias.. Puerto Vallarta, 2009. Jalisco, Mexico.
- 4.- Castañeda Vázquez, H. Sybille Jäger, Wilfried Wolter, Michael Zschöck, Martha Alicia Castañeda Vazquez, Amr El Sayed. Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy herds in Mexico. Revista Científica No. 4 Julio-Agosto 2011.

- 5.- Castañeda-Vázquez, H., Wolter, W., Zschöck M. y Kloppert, B. Inicios de la Higiene de la leche; Journal of Food Safety trends. No.- 1/ Julio de 2004.
- 6.- Castañeda Vazquez H., Jung, H. P., Wolter W. and Zschöck M. Revista Milk Science International. Alemania Federal. Occurrence and Prevalence of bacterial pathogens in Bovine Mastitis in Jalisco México. Autores:..Vol 57, Numero 3 2002.
- 7.- Castañeda Vazquez Hugo. Efectos del *Staphylococcus aureus* en la glándula mamaria en bovinos lecheros. Primer Simposium sobre la Leche y saberes para su viabilidad como alimento y opción de desarrollo regional. Universidad de Veracruz.. Veracruz, Mexico, Septiembre 2009.
- 8.- Castañeda V. H, Jung HP, Wolter W, Zschöck M. Occurrence and prevalence of bacterial pathogens in bovine mastitis in Jalisco, México. Milchwissenschaften.;3. 2002
- 9.- Castañeda Vázquez, H., Bedolla Cedeño C., Pérez Contreras Guadalupe y Castañeda Vazquez M. A.: Saneamiento Sustentable de hatos lecheros infectados con *Streptococcus agalactiae*. Revista; Sustentabilidad: Universidad de Guadalajara Volumen IV, numero I, Enero- Abril de 2006, p. 39-53.
- 10.- Castañeda Vázquez H y Michael Zschöck. Avances recientes en el diagnostico de mastitis debido a la utilización de métodos de biología molecular. Seminario Internacional en reproducción animal, producción de leche y carne. Universidad Autónoma Metropolitana. 20 y 21 de Febrero de 2006. Memorias, Conferencia Magistral, p. 93-108.
- 11.- Castañeda Vazquez H., Castañeda Vazquez, M.A. y Bedolla Cedeño C. Introduccion a las Zoonosis. Ed. Universidad de Guadalajara. Mayo 2011.
- 12.- El-Sayed, A. Jörg Alber, Christoph Lämmler, Amir Abdulmawjood, Michael Zschöck, and H Castañeda-Vázquez. Comparative sequence análisis of *spa* gene of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. Characterization of an unusual *spa* gene variant. Journal of Dairy Research, Mayo 2006, p 1-6 version en Internet, doi: 10.1017/S002202990600183X.
- 13.- El-Sayed, A., Jörg Alber, Christoph Lämmler, Sybille Jäger, Michael Zschöck, Wilfried Wolter, H Castañeda-Vázquez. Estudio comparativo de las características genotípicas de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de casos de mastitis clínica y subclínica en México. Vet. Mex. 37 (2) 2006p. 165-179.
- 14.- Castañeda Vazquez H., Castañeda Vazquez, M.A. y Bedolla Cedeño C. Introducción a las Zoonosis. Ed. Universidad de Guadalajara. Mayo 2011.
- 15.-Castañeda Vazquez, H, Castañeda Vazquez, MA, E. Patricia Salas Castañeda, EP, Cervantes Acosta, P, y Alvarez Moya, C. **Detección de genes de resistencia a antibióticos en *Staphylococcus aureus* aislados de casos de mastitis bovina.** (Detection of antibiotic resistance genes of

Staphylococcus aureus isolated from cases of bovine mastitis.). Bienestar animal en la práctica, en producciones lecheras, desde la perspectiva europea. Edited and published by Frank J.C.M. van Eerdenburg. © 2018

16.- Castañeda Vázquez, H, Wolter, W, Serratos, JC, Castañeda, MA, Salas Castañeda, EP, y Alvarez Moya, C . **Avances en las investigaciones de *Staphylococcus aureus* como agente patógeno causante de Mastitis bovina, mediante biología molecular.** (Advances in the investigations of *Staphylococcus aureus* as a causative agent of bovine mastitis, using molecular biology). Bienestar animal en la práctica, en producciones lecheras, desde la perspectiva europea. Edited and published by Frank J.C.M. van Eerdenburg. © 2018.

17.- Castañeda Vazquez H., Castañeda Vazquez M A., Padilla Ramirez J, Carbajal Mariscal O y Alvarez Moya C.. Capítulo de libro: Jalisco en el mundo Contemporáneo. Aportaciones para una Enciclopedia de la época. **2014:** La Mastitis Bovina, pag. 79-102. ISBN 979-607-450-980-8. Tomo III.

18.- Hugo Castañeda Vázquez y Michael Zschöck Avances recientes en el diagnóstico de mastitis debido a la utilización de métodos de biología molecular . Seminario Internacional en Reproducción animal y producción de leche y carne. Universidad Autónoma Metropolitana. 20 y 21 de Febrero de 2006. Memorias, P. 93-108

19.- Wolter W., Kloppert B., Zschöck M., Castañeda-Vázquez, H. Netzwerke zur Qualitätssicherung und Erfüllung Gesetzlicher und Handelsrechtlicher Normen in der primärproduktions von Milch. 2006,.. Tagung des Arbeitskreises „Eutergesundheit“ Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft. E. V. **p. 177-188, ISBN 3-938026-92-8.**

20.- Zschöck M., **Castañeda-Vázquez, H.,** Wolter W. , Jäger, S.P., Kloppert B., Castañeda-Vázquez, M.A. y Sommerhäuser J. **Relación genética de cepas de *Staphylococcus aureus* provenientes de la glándula mamaria de vacas con Mastitis.** Relatedness of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mammary gland suffering from mastitis. Memorias del XII Congreso Latinoamericano de Buiatría , 2005: Lugar: Valdivia, Chile.

21.- Wolter, W. Kloppert B., **Castañeda V.H.** y Zschöck M. Die Mastitis des Rindes. Universidad de Giessen, Biblioteca Electronica, [www. Uni-giessen. de/ub/geb](http://www.Uni-giessen.de/ub/geb), Book. January 2002.



Introduccion, los factores que influyen en la salud de la ubre.

Hugo Castañeda V., Castañeda V. Martha.A., Salas C.Erika, P., Cervantes A. P., Bedolla C.C, y Padilla R.

XVI Curso Int. Diagnostico y Control de la mastitis bovina. Mayo 2019

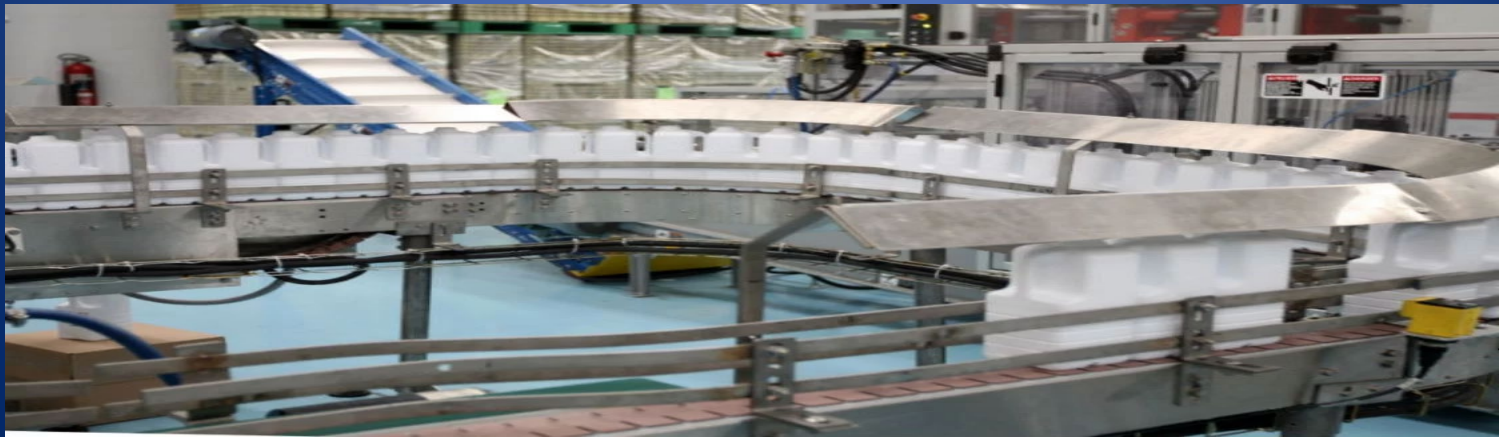
- Producción de leche en nuestro país



- En 2018, México ocupó la novena posición en la producción mundial de leche.
- En 2018 se estima un crecimiento de producción de leche del 1.85%. Siendo Jalisco y La laguna los mas productores de leche. La leche de bovino es el tercer producto pecuario en importancia economica, con el 17.22% ciento del valor nacional



- Dentro de la cadena de la leche, en el eslabón de la industrialización, existen 130 empresas formales que procesan el 86% de la producción nacional, con un personal ocupado de 42,000 personas, además de un sinnúmero de pequeñas empresas familiares, con un valor mayor a 380,000 millones de pesos.



En el 2018 se produjeron 12,020 millones de toneladas de leche de vaca, en todo el país, sin embargo, la producción de leche es deficitaria desde hace muchos años y una cantidad similar debió de ser importada, para cubrir la demanda de la población.





Mastitis como enfermedad de Factores



VACA

- Estado del sistema inmune, específico e inespecífico.
- Estadio de Lactación
- Presencia de factores estresantes

Patogeno

- Num. Microorg.
- Patogenicidad
- Factores de virulencia



Ambiente

- Higiene del ordeño
- Higiene en el manejo
- Factore climaticos
- Alimentacion



Mastitis



Mastitis subclinica:

no se detecta a simple vista,

Parametros medibles de inflamacion
(cel. som), + Ag. Patogeno.

Mastitis clinica:

Sintomas visibles de inflamacion

Temperatura, dolores, inflamacion, en-
rojecimiento, cambios en la leche.

Mastitis subclinica - Investigacion

1. Conteo celular



2. Examen bacteriologico de acuerdo con las normas de las DVG- e IDF



Mastitis Clínica

Examen Físico de la ubre

Aspecto de la leche

Células Somáticas

CMT-Fossomatic

Examen bacteriológico



Posibilidades del ingreso de microorganismos patogenos por el canal lineal hacia la glandula mamaria.

Sistema inmune de defensa

inespecifico: Fagocitos, Lactoferrina, Lisozyma otros.
especifico: Inmunoglobulinas (IgA, IgG y otras.)

Sistema local de defensa

biologico: Fagocitos
quimico: Proteinas cationicas, FFA
Fisico: „Esfinter“, Adsorcion, queratina, descamacion

Eliminacion mecanica de las Bacterias patogenas que hayan entrado mediante ordeño.

Invasion de la cisterna del pezón

Invasion por el canal lineal

Contaminacion

Agente patogeno

Riesgo de invasion por contaminacion de la glandula mamaria

- Durante la secrecion de la leche

Transporte pasivo de la bacteria mediante:
Efecto de bombeo en la pulsacion
Flujo inverso, -aerosoles

Despues del ordeño

Transporte pasivo del patogeno mediante: efecto capilar
-penetracion activa por crecimiento

Clasificación de los patógenos de la mastitis

	Major Pathogens (Agentes patógenos primaria)		Minor Pathogens (Agentes patógenos secundaria)
	Asociados a la ubre, contagiosos	Asociados al medio ambiente	
	<i>Streptococcus agalactiae</i> G-Streptococcus <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Estreptococos esculina + (Streptococcus uberis, Enterococos) Bacterias coliformes	Estafilococos coagulasa negativos
Reservorio	Cuarto infectado Herida en el pezon	Medio ambiente	Piel externa Canal lineal
Trasmision en el Pezon	Durante el ordeno	Todo el tiempo	
Prevencion	Higiene del ordeno	Aumentar lasdefensas Disminuir la cantidad de bacterias	Aumentar lasdefensas

Evaluación de un cuarto de la ubre

En relacion al conteo celular y al examen bacteriologico

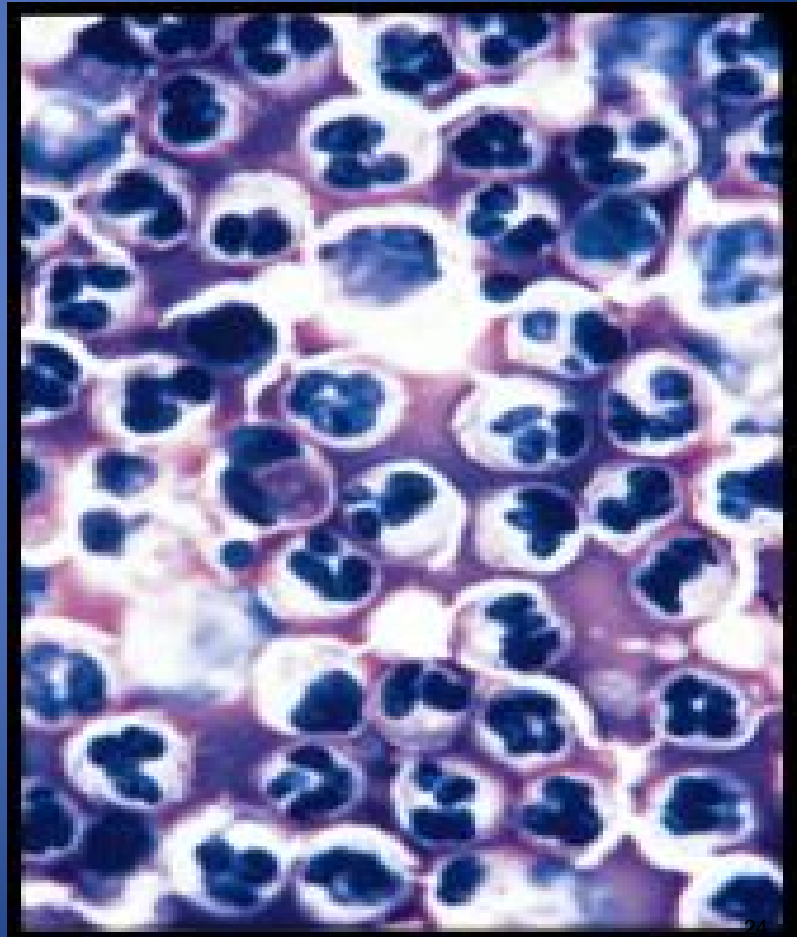
Conteo celular por ml/leche	Microorganismos patogenos de la ubre	
	No Identificados	Identificados
hasta 100.000	Secrecion normal	??
> 100.000	??	Mastitis

Celulas de la leche (somaticas)

Conteo celular normal



Mastitis



Celulas de la leche

- granulocitos neutrofilos polimorfonucleares
- linfocitos
- macrofagos
- celulas epiteliales

Conteo celular

Conteo celular de cuartos sencillos:

diagnostico de mastitis
(prueba de Schalm; CMT)

Conteo celular de la vaca:

prueba de rendimiento de leche

Conteo celular del tanque:

decreto de calidad de la leche, NOM



163	531	VL	56
164	531	HL	58
165	001	VR	41
166	001	HR	38
167	001	VL	25
168	001	HL	36
169	645	VR	22
170	645	HR	19
171	645	VL	12
172	645	HL	40
173	683	VR	20
174	683	HR	23
175	683	VL	23
176	683	HL	23
177	638	VR	88
178	638	HR	17
179	638	VL	13
180	638	HL	13
181	548	VR	51
182	548	HR	12
183	548	VL	46
184	548	HL	10
185	657	VR	19
186	657	HR	20
187	657	VL	19
188	657	HL	28
189	622	VR	Keine Probe
190	622	HR	25
191	622	VL	7
192	622	HL	5
193	684	VR	12
194	684	HR	8
195	684	VL	14
196	684	HL	39
197	670	VR	62
198	670	HR	41
199	670	VL	3
200	670	HL	8
201	612	VR	19
202	612	HR	242
203	612	VL	13
204	612	HL	239
205	550	VR	101
206	550	HR	77
207	550	VL	227
208	550	HL	50
209	595	VR	52
210	595	HR	35

Hato Sano

kulturell kein Keimgehalt -

kulturell kein Keimgehalt -

kulturell kein Keimgehalt -

kulturell kein Keimgehalt -

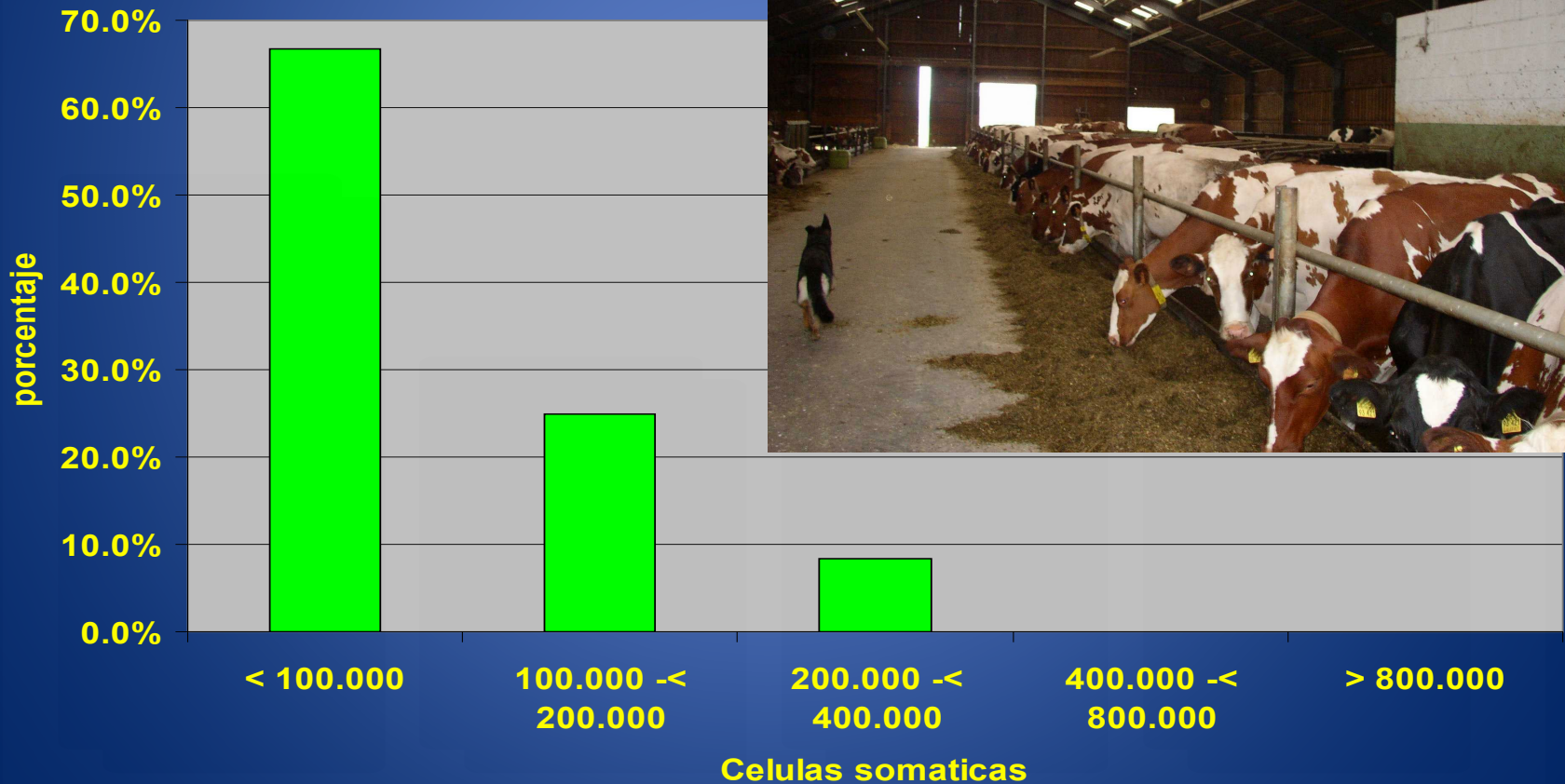
Hato sano

Frecuencia de la conteo celular total de las vacas

2/3	< 100.000
1/4	100.000 -< 200.000
1/12	200.000 -< 400.000
niguna	> 400.000

Conteo celular total de las vacas

Hato sano



Juzgamiento de un cuarto de la ubre

Con relacion al conteo celular

Conteo celular	Hasta 100.000	100.000 – 200.000	> 200.000
Evaluacion	sana leche normal	sospechosa	Mastitis leche anormal

hasta 100.000

> 200.000

Sana

sospechosa

Mastitis

Nueva infectada

222 137 257 223 120 67 36 57*



**Aumento de conteo celular a mas de
100.000 celulas/ml**

Cronica



222 137 257 223*

401 317 197

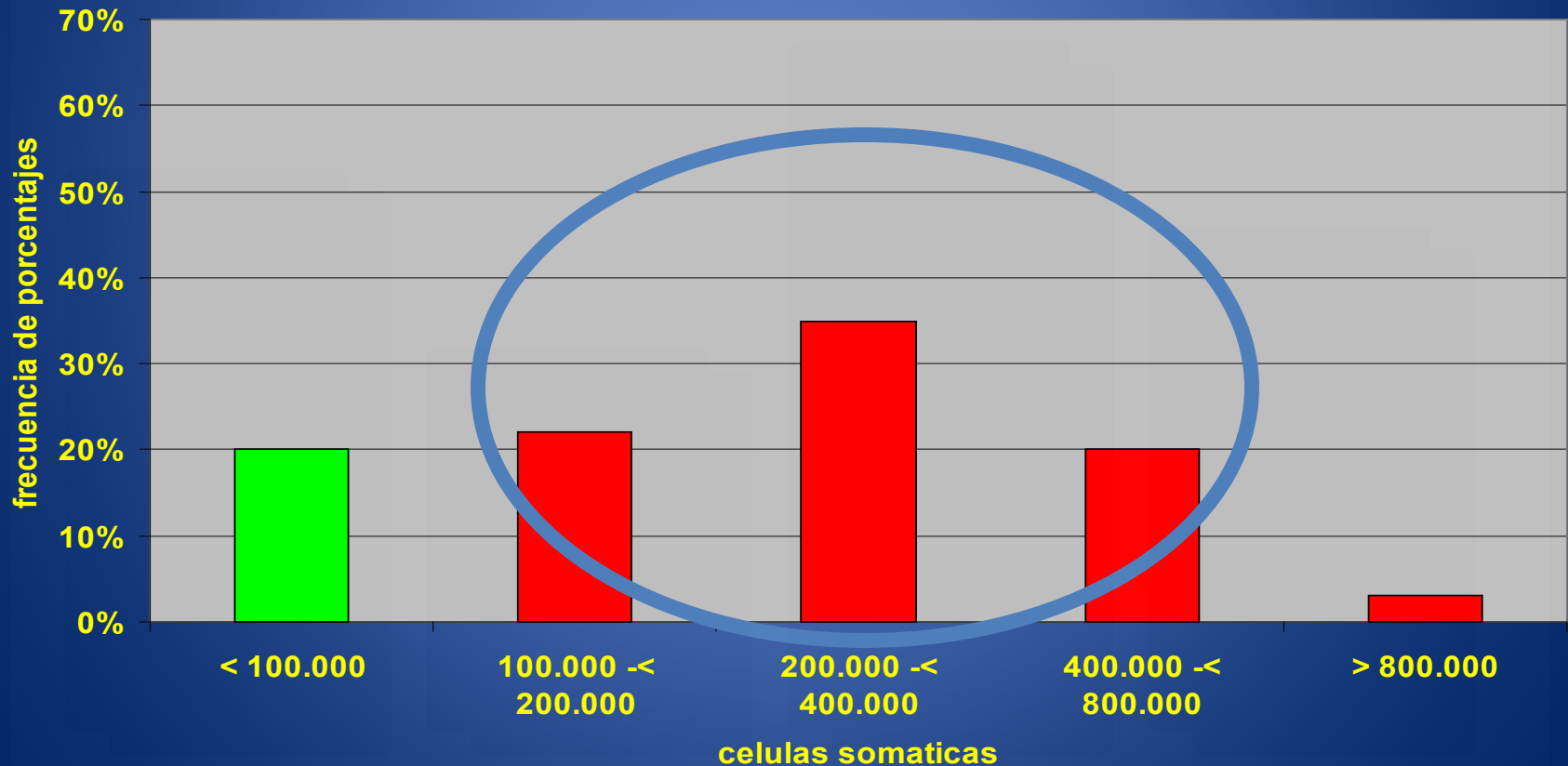
**Conteo celular constante mayor
a 100.000 células/ml**

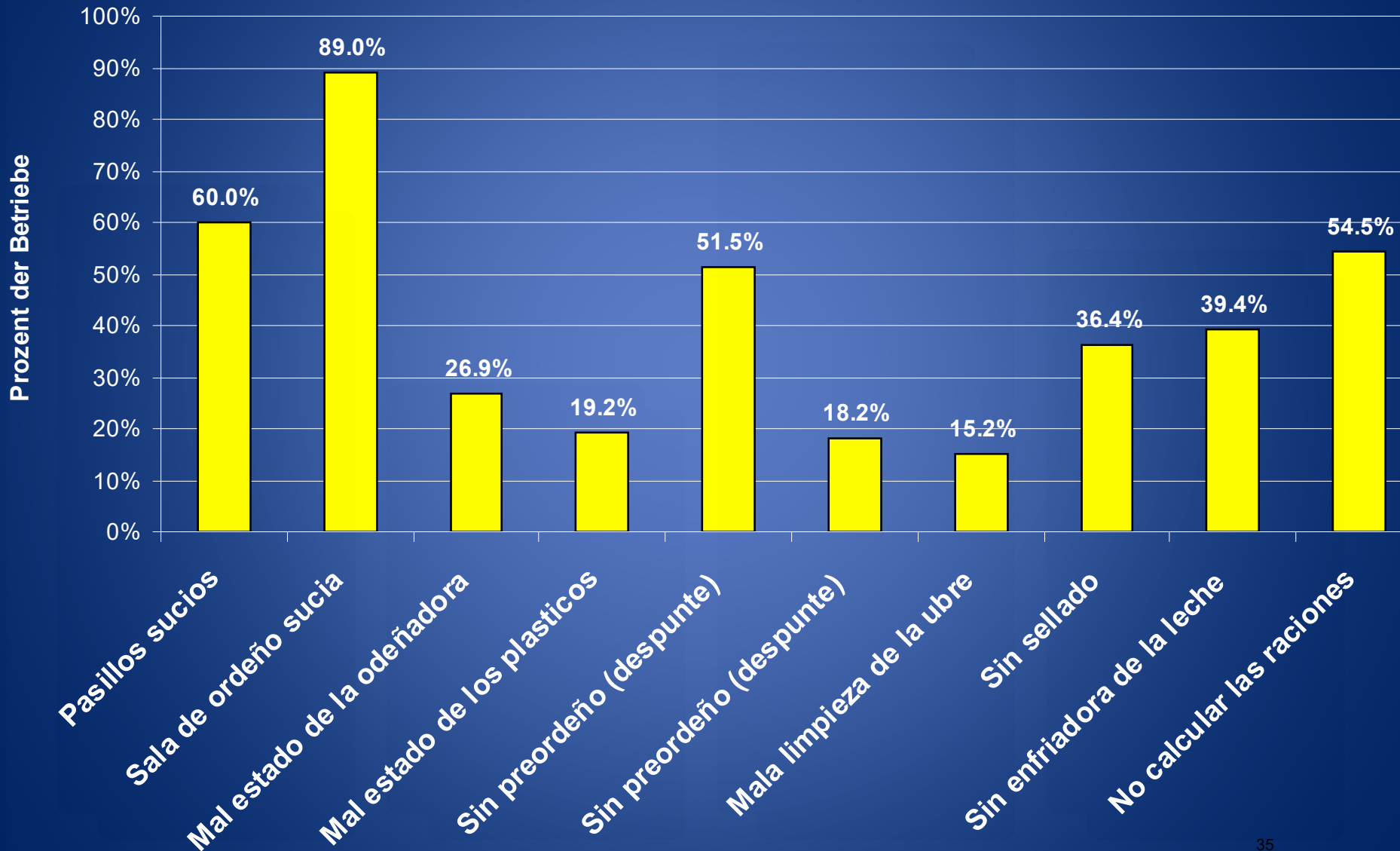
25	73751	VR	46		
26	73751	HR	200	aerobe Bazillen	+
			200	Koagulase-negative Staphylokokken	++
27	73751	VL	51		
28	73751	HL	174	Kontaminationsflora	++
29	27169	VR	23		
30	27169	HR	1677	aerobe Bazillen	+
			1677	Staphylococcus aureus (Penicillinase positiv)	++
31	27169	VL	43		
32	27169	HL	14		
33	27152	VR	61		
34	27152	HR	62		
35	27152	VL	42		
36	27152	HL	167	Koagulase-negative Staphylokokken	++
			167	Staphylococcus aureus (Penicillinase positiv)	++
37	27161	VR	18		
38	27161	HR	31		
39	27161	VL	42		
40	27161	HL	17		
41	84008	VR	1454	aerobe Bazillen	+
			1454	Staphylococcus aureus (Penicillinase positiv)	++
42	84008	HR	53		
43	84008	VL	31		
44	84008	HL	2353	Koagulase-negative Staphylokokken	++
			2353	Staphylococcus aureus (Penicillinase positiv)	+
45	27151	VR	98		
46	27151	HR	73		
47	27151	VL	72		
48	27151	HL	94		
49	84004	VR	190	kulturell kein Keimgehalt	-
50	84004	HR	1986	aerobe Bazillen	+
			1986	Staphylococcus aureus (Penicillinase positiv)	+
51	84004	VL	78		
52	84004	HL	729	aerobe Bazillen	+
53	84017	VR	29		
54	84017	HR	256	aerobe Bazillen	+
55	84017	VL	37	Kontaminationsflora	++
			37	Staphylococcus aureus (Penicillinase positiv)	+

S. aureus

Conteo celular total de la vaca

Hato infectado con *S. aureus*



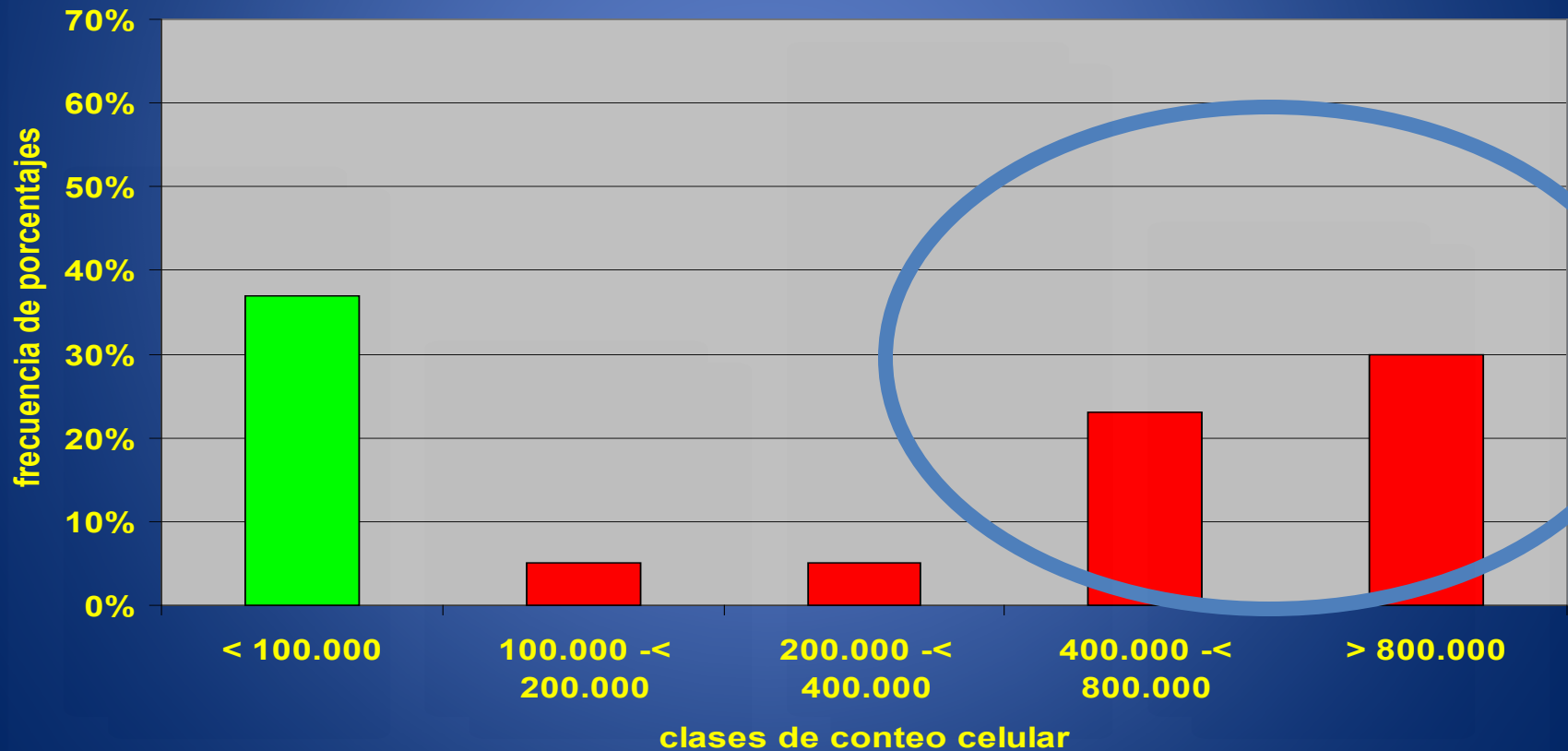


Estreptococos esculina negativo
S. agalactiae



Conteo celular total de la vaca

Hato infectado con *S. agalactiae*



!Gracias por su Atención ¡



XVI Curso Internacional „Diagnostico y Control de la
Mastitis“

Mayo 2019. Veracruz, Veracruz

Diagnóstico clásico de mastitis
en el laboratorio
De las muestras de leche enviadas
hasta el reporte de laboratorio

PD Dr. Tobias Eisenberg

Especialista en Microbiología

Contenido de la presentacion

- Inoculacion de las muestras de leche en el laboratorio
- Metodos de identificacion de agentes causales de mastitis



Conteo de células en muestras de leche con el Fossomatic®

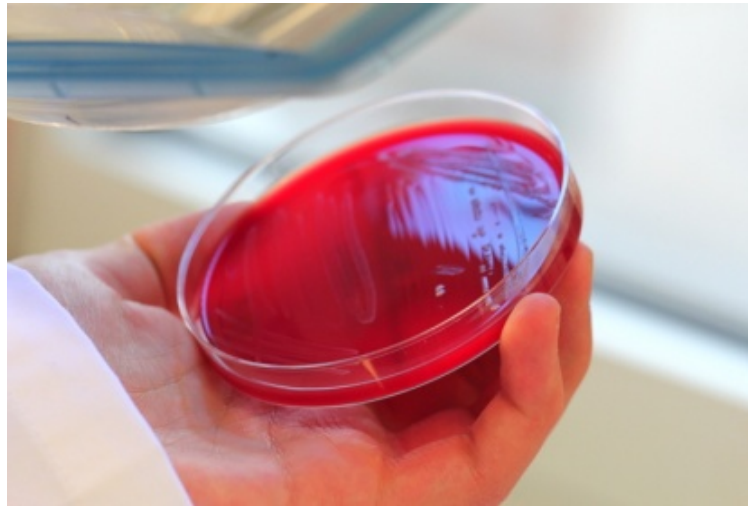


Conteo de células con el Fossomatic®



Inoculación de las muestras de leche en agar sangre

Medios estandares para el cultivo de los agentes patogenos de mastitis

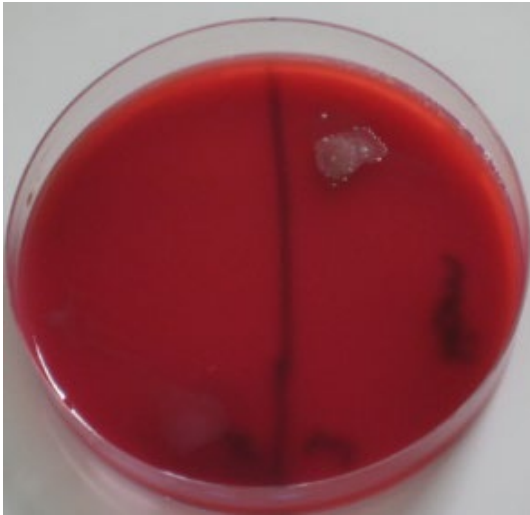


Agar sangre con esculina (8 – 10 %)

- Sangre de bovino (de becerro < 6 meses.)
- Sangre de borrego

CAVE: libre de anticuerpos anti-toxina β

Medios nutritivos estandar

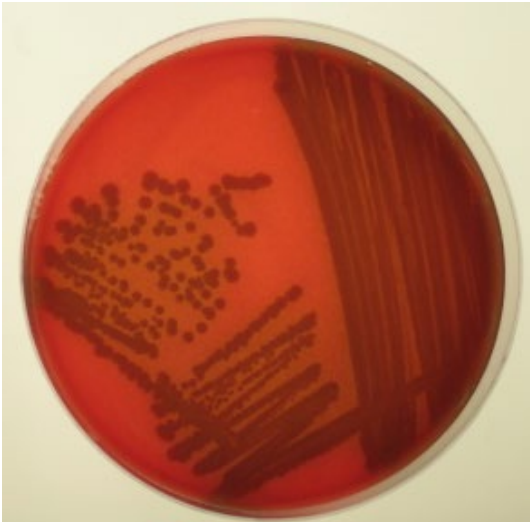


Agar sangre con esculina

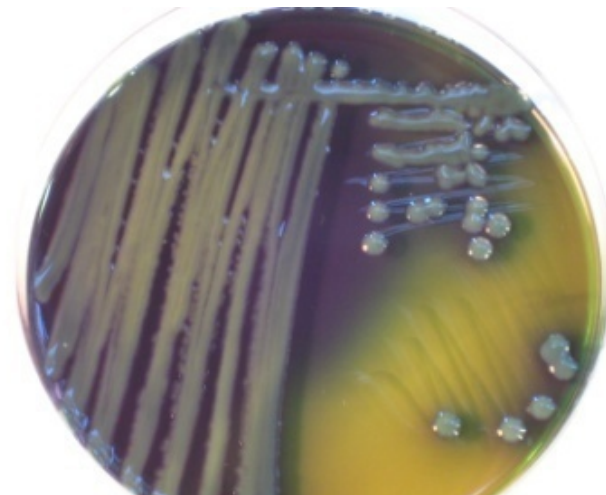


Agar levadura (CCS \geq 3 Millo)

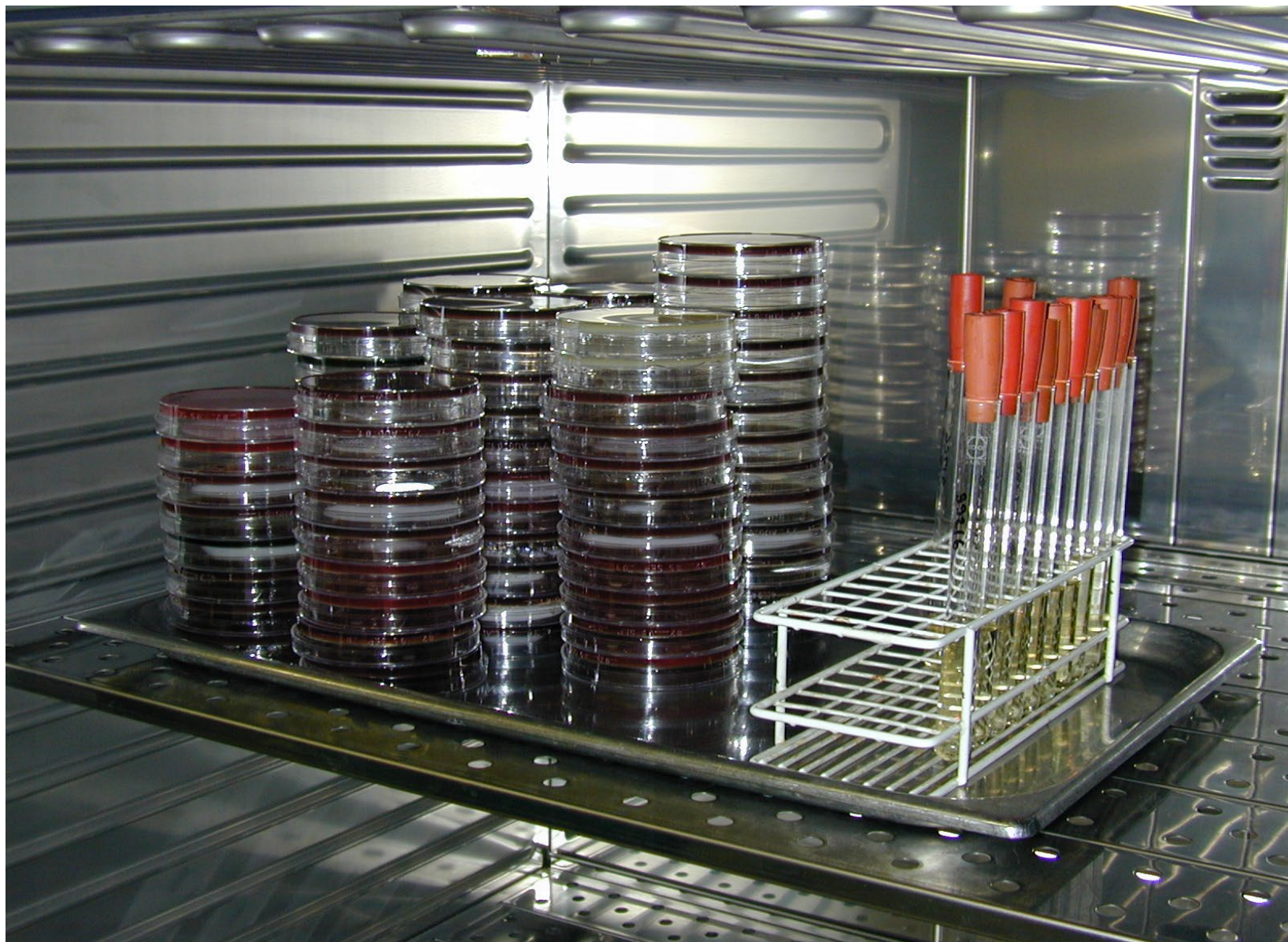
Medios nutritivos selectivos



Columbia-Agar

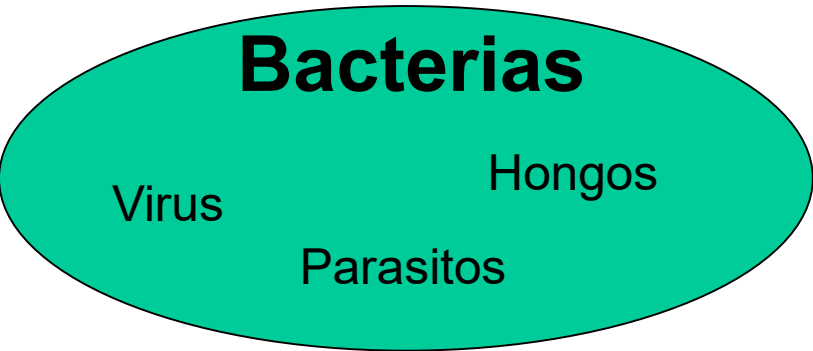


Agar Gassner



Incubacion de los Agares en estufa incubadora a 37 °C

Agentes patogenos



Cultivo en medios de cultivo adecuados

Crecimiento de colonias

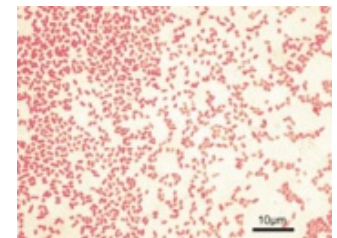
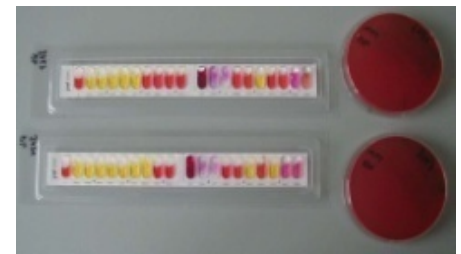
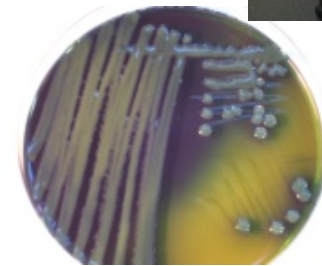
Diferenciacion del patogeno

Morfologia colonial

p. ej *Staphylococcus*,
Streptococcus, cepas
Coliformes

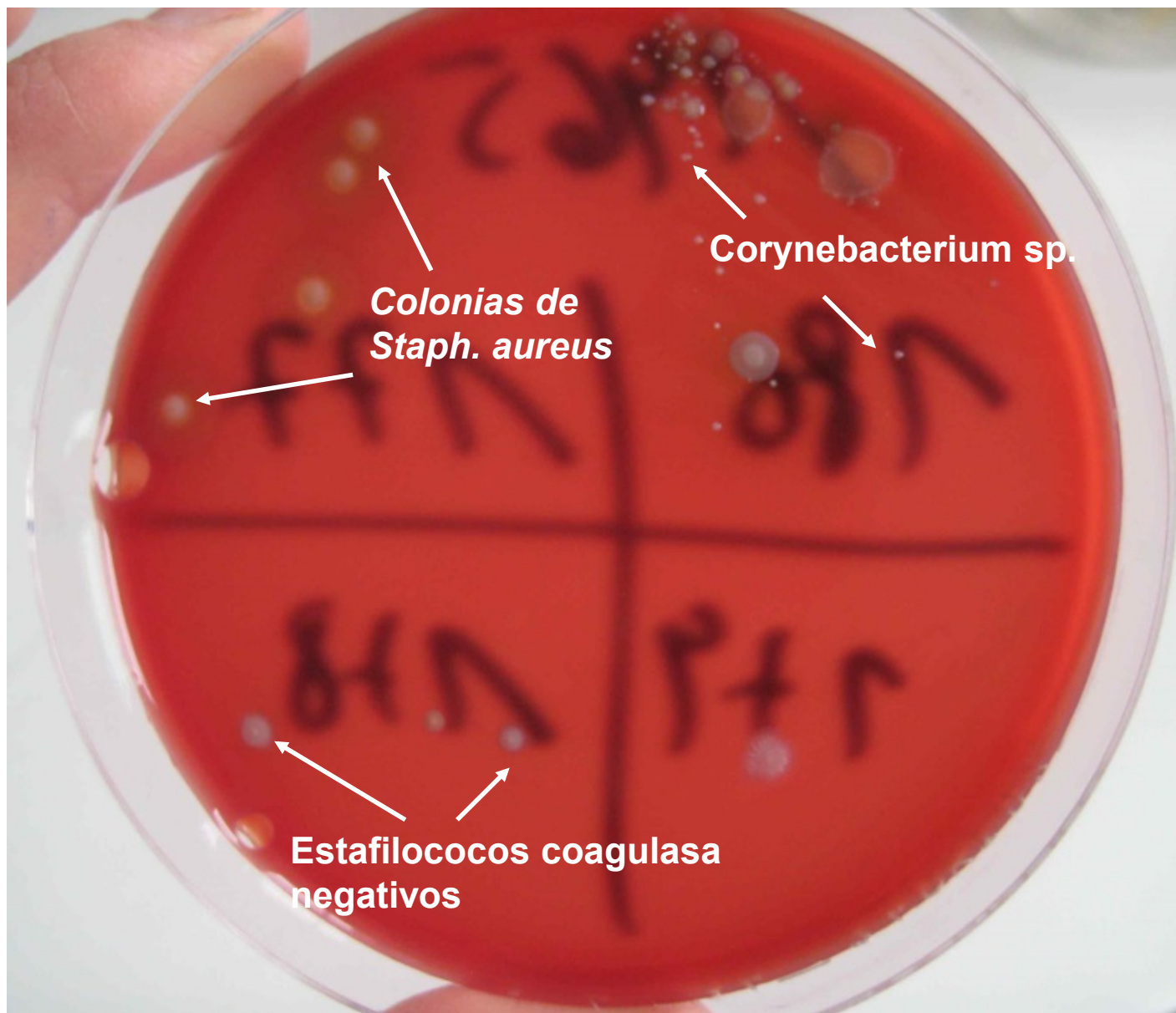
Analisis varios:

- bioquimicos, MALDI
- Tincion/ microscopio
- PCR/Secuenciacion





Muestras fuertemente contaminadas de una vaca



Lectura del agar sangre a las 24 y 48 h



Deteccion de patogenos despues de una buena toma de muestras



Colonias de
levaduras

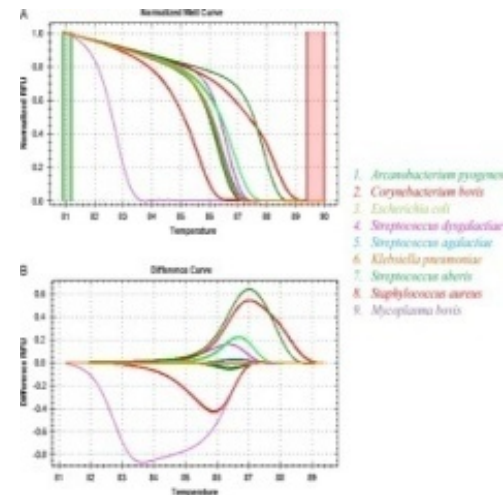
Lecturas de agar levadura despues de 48 h

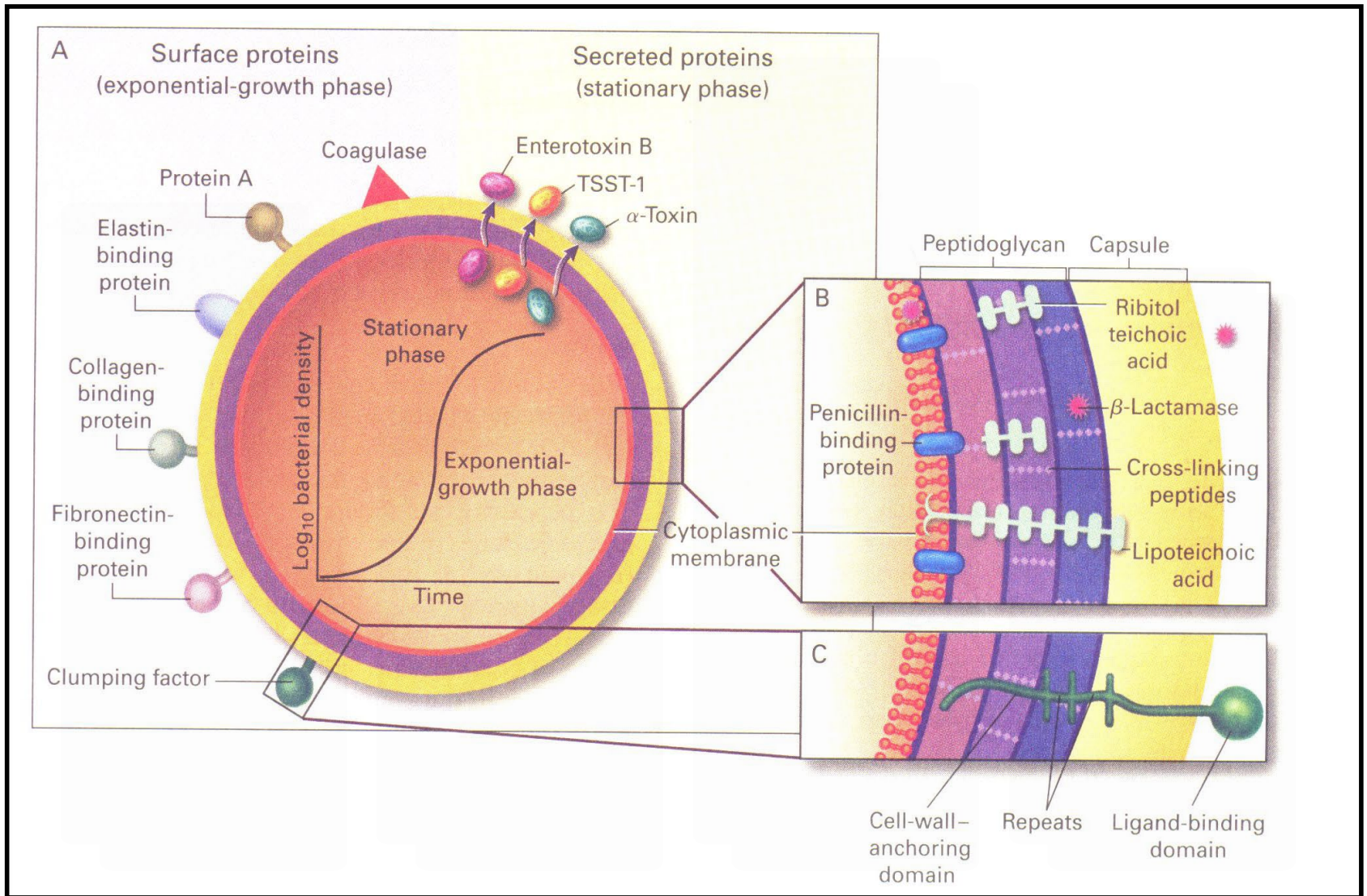


Preparacion de un subcultivo

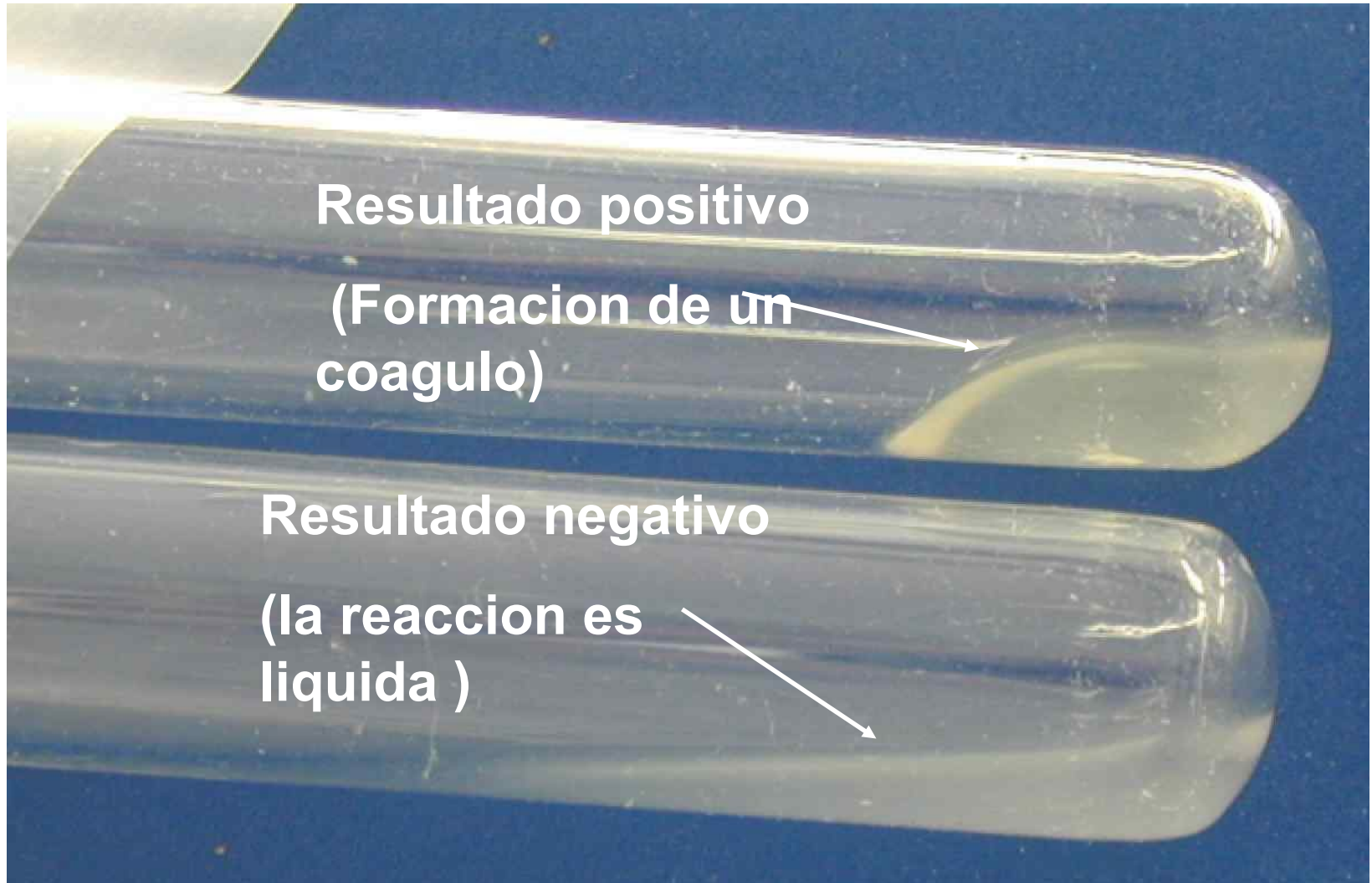
Posibilidades de identificación de agentes causales de mastitis mediante cultivo

- Detección de propiedades **fenotípicas** (diferenciación bioquímica, p. ej prueba de coagulasa, fermentación de azúcares, etc.)
- Identificación mediante **biología molecular** (p. ej identificación de secuencias de un gen por PCR)

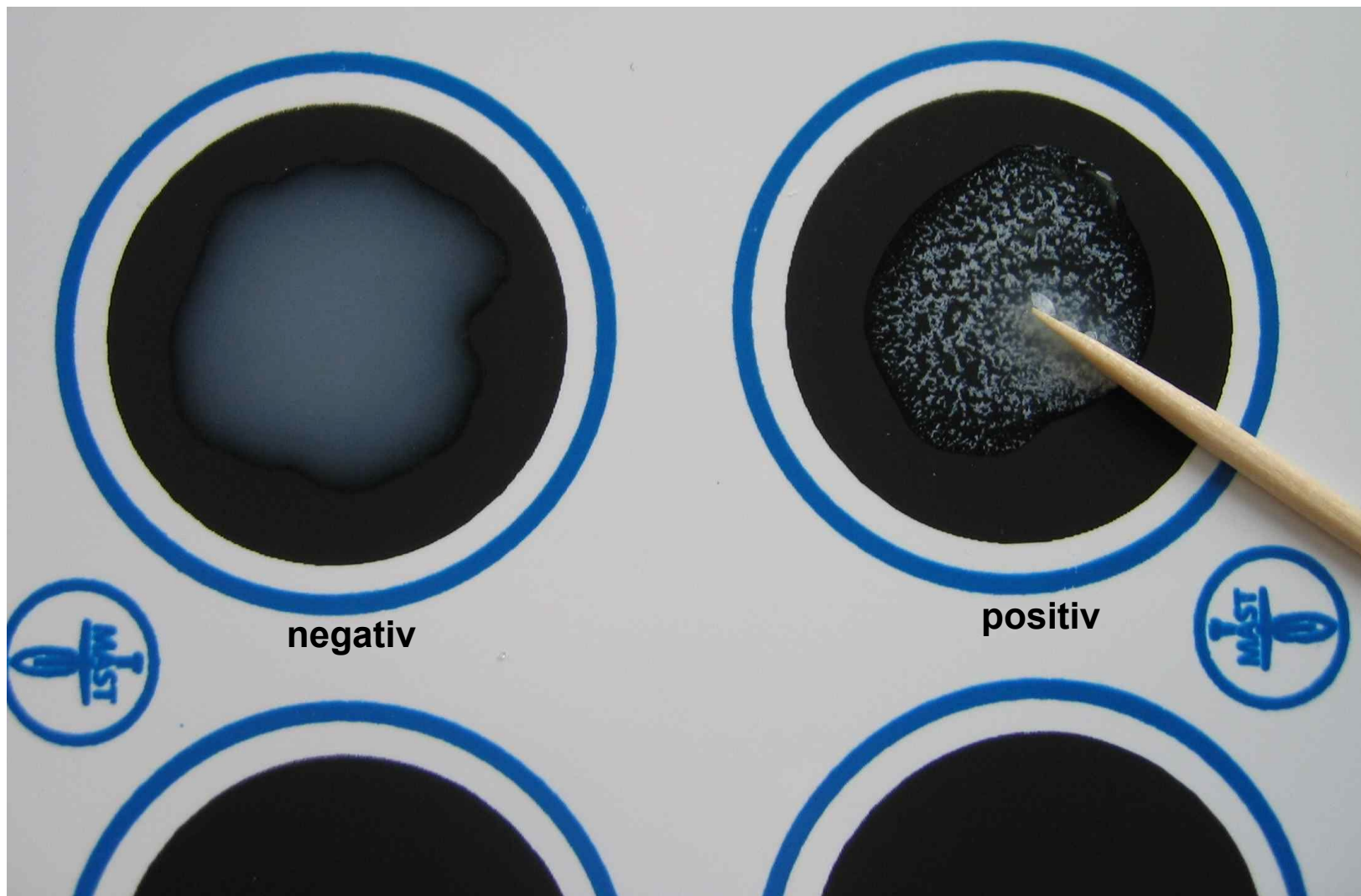




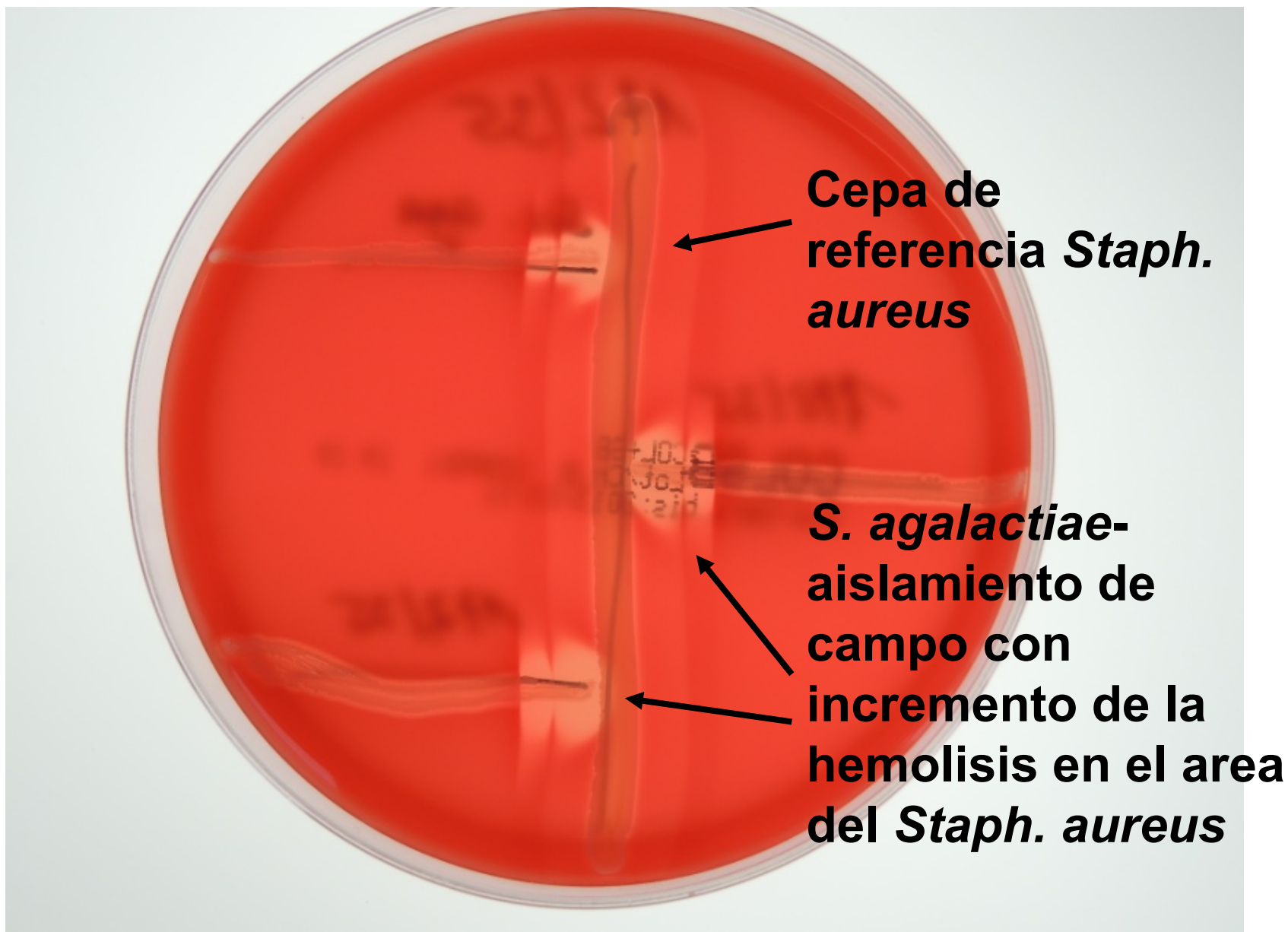
Esquema de una célula bacteriana



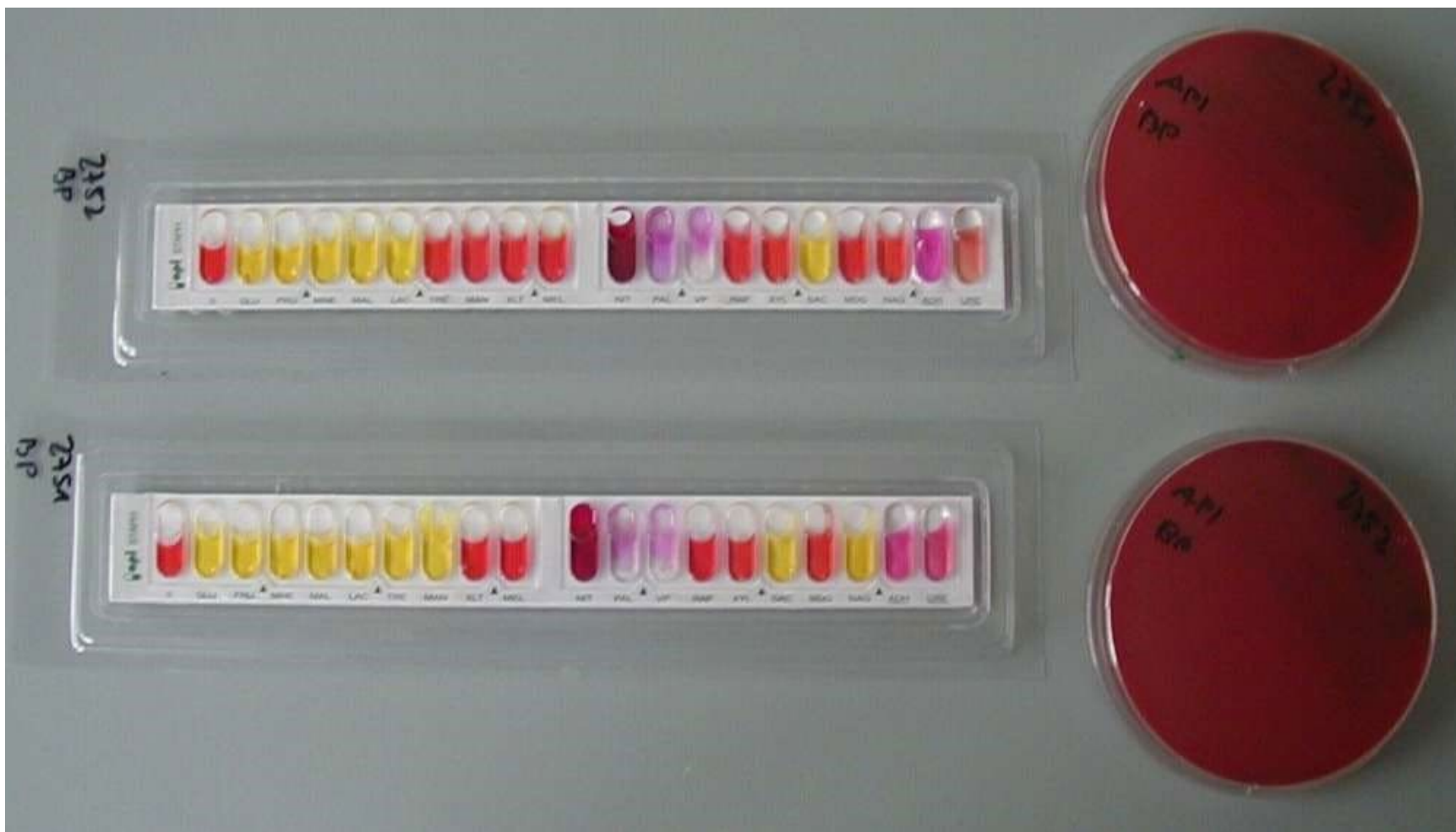
Valoracion de la prueba de coagulasa para detectar *Staphylococcus aureus*



Prueba rapida de coagulasa para deteccion del *Staph. aureus*



Test de CAMP para identificación de *S. agalactiae*



Diferenciación bioquímica de los estafilococos mediante el sistema API-Staph®

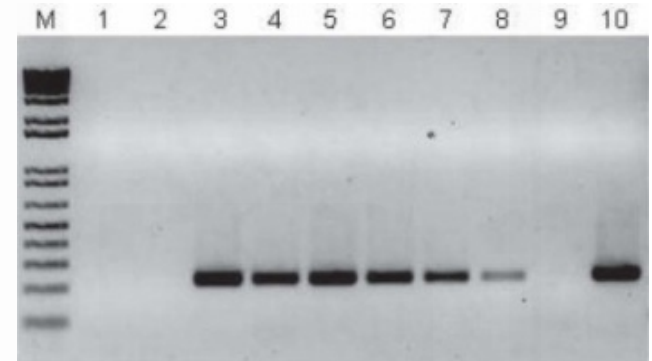
La PCR en el diagnostico microbiologico

•Ventajas

- Alta sensibilidad
- Rapido
- Util para agentes patogenos de dificil/ negativo cultivo
- Deteccion especifica de factores de virulencia
- Posibilidad de automatizacion

•Desventajas

- No da informacion de la vitalidad e infecciosidad o de resistencia a antibioticos, del microbio investigado
- Alto riesgo de contaminacion exterior
- Estandarizacion muy baja
- Costos elevados



**Muchas gracias
por su Atencion!**



www.lhl.hessen.de

tobias.eisenberg@lhl.hessen.de



La Mastitis un problema del hato la visita al establo.

Dra. Irene Noll

XVI Curso International „Diagnostico y
Control de la Mastitis 2019. Veracruz.



Determinación de factores que favorecen la mastitis.



VISITA DEL RANCHO

Evaluación del proceso de ordeño y de la higiene del ordeño.

...

La toma correcta de muestras para el diagnóstico de Mastitis.

Procedimiento en casos de trastornos de la ubre. Valoración de la situación del Hato.



Preparación de la ubre

- Despunte (preordeño)
Observación de la composición de la leche
- leche (legalmente requerido!)
- Limpieza de la ubre.
Pezones limpios y secos, la base del pezon y la ubre.
- Preparación
Disparar el reflejo de eyección de la leche.
(Primer contacto en la ubre hasta inicio del ordeño, en la sala de ordeño 60-90 segundos)

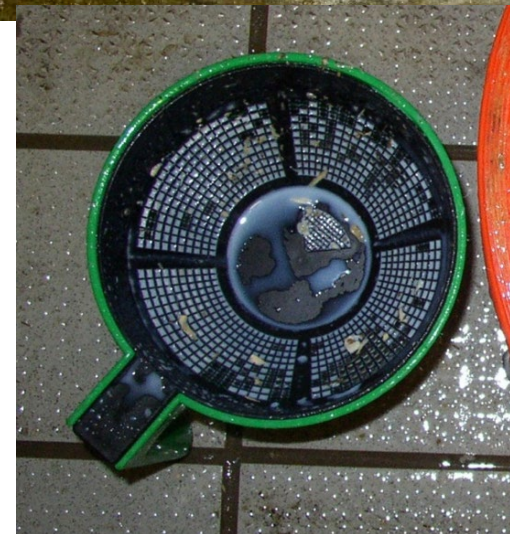




El preordeño es adecuado?

Preordeño correcto (despunte)

- Primero despuntar luego limpiar!
- Vaso de despunte con coladera;
- 2 - 3 chorros
- Observacion de la leche.



Preordeño (despunte) mediante el robot.

