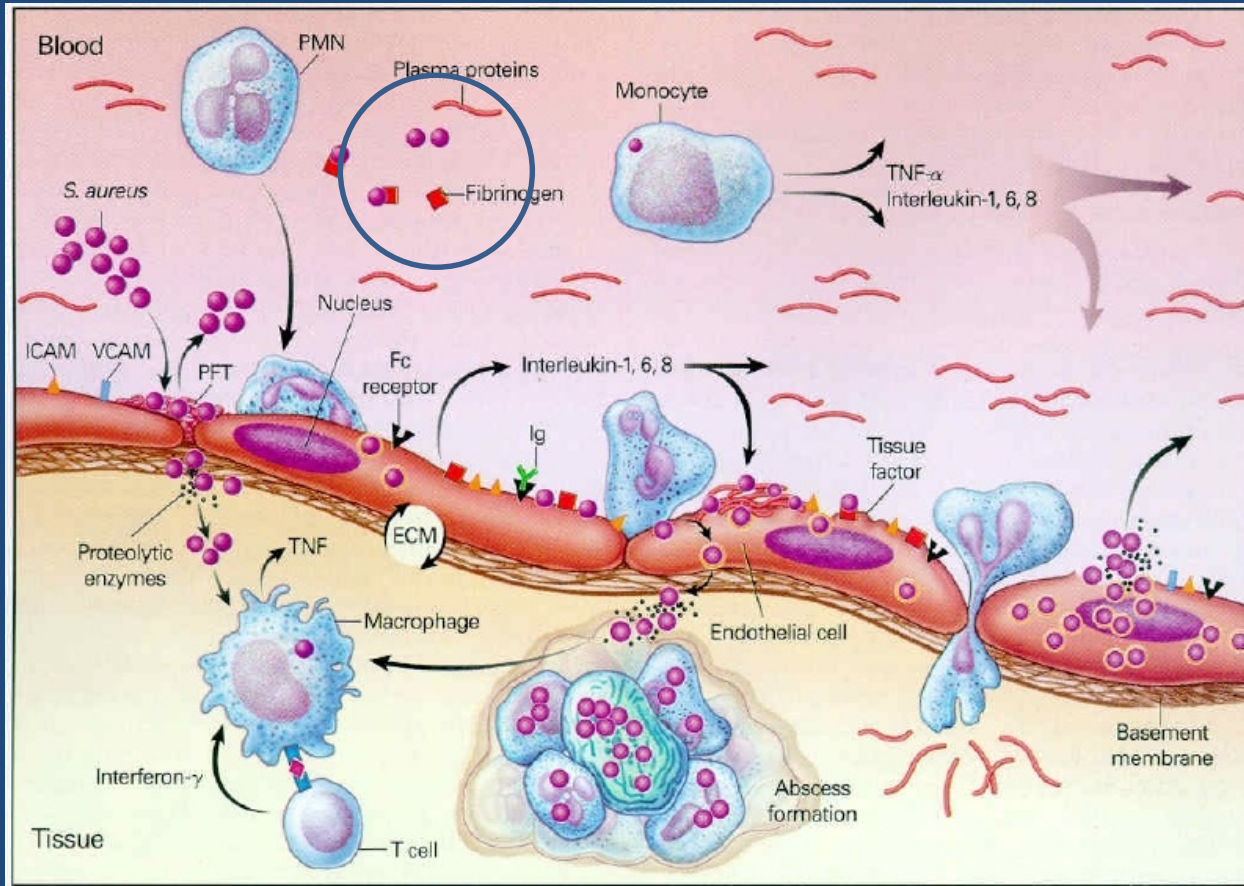


Recordar que porque los nichos de persistencia son intracelulares, los antibióticos deben ser suministrados por dos ciclos de 7 días cada uno

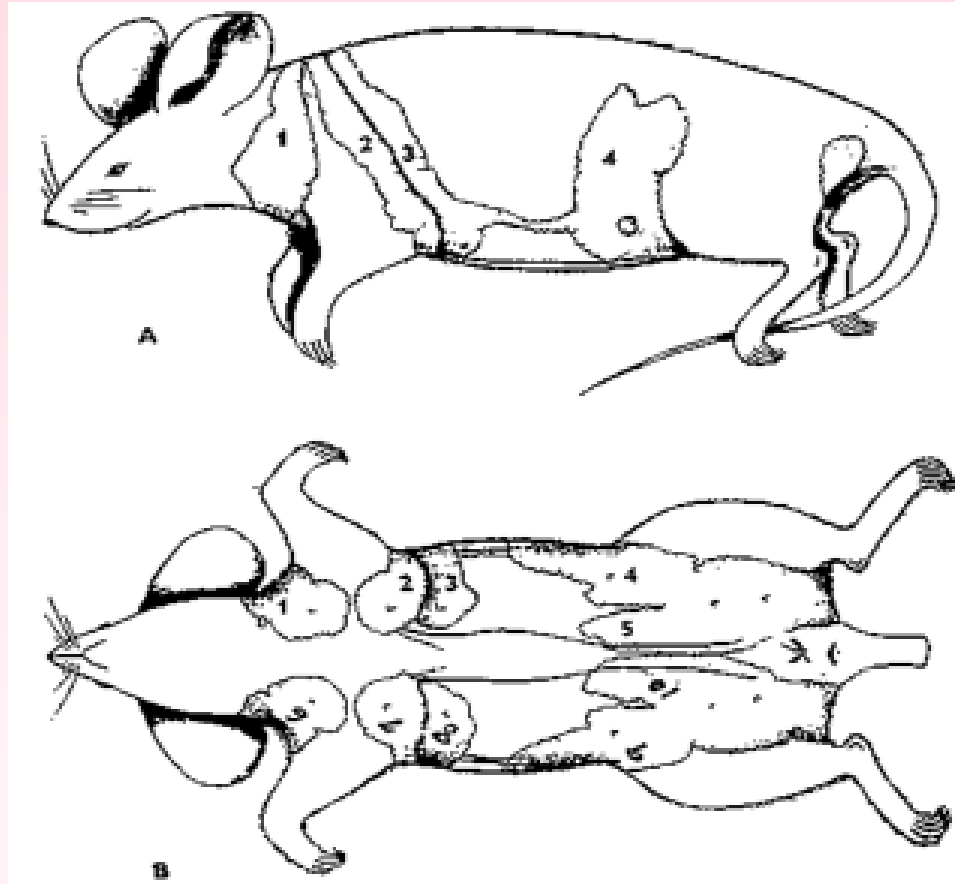
Proteínas de virulencia **ClfA** y **B** y **FnBP A** del glicocálix (slime) de *Staphylococcus aureus*.

ClfA y **B** adhesión a la cadena C terminal del fibrinógeno. Aglutinación de *S. aureus*, ligación cruzada con fibrina y adhesión a plaquetas que resultan en lesiones trombo embolicas.

FnBP A adhesión a la fibronectina.

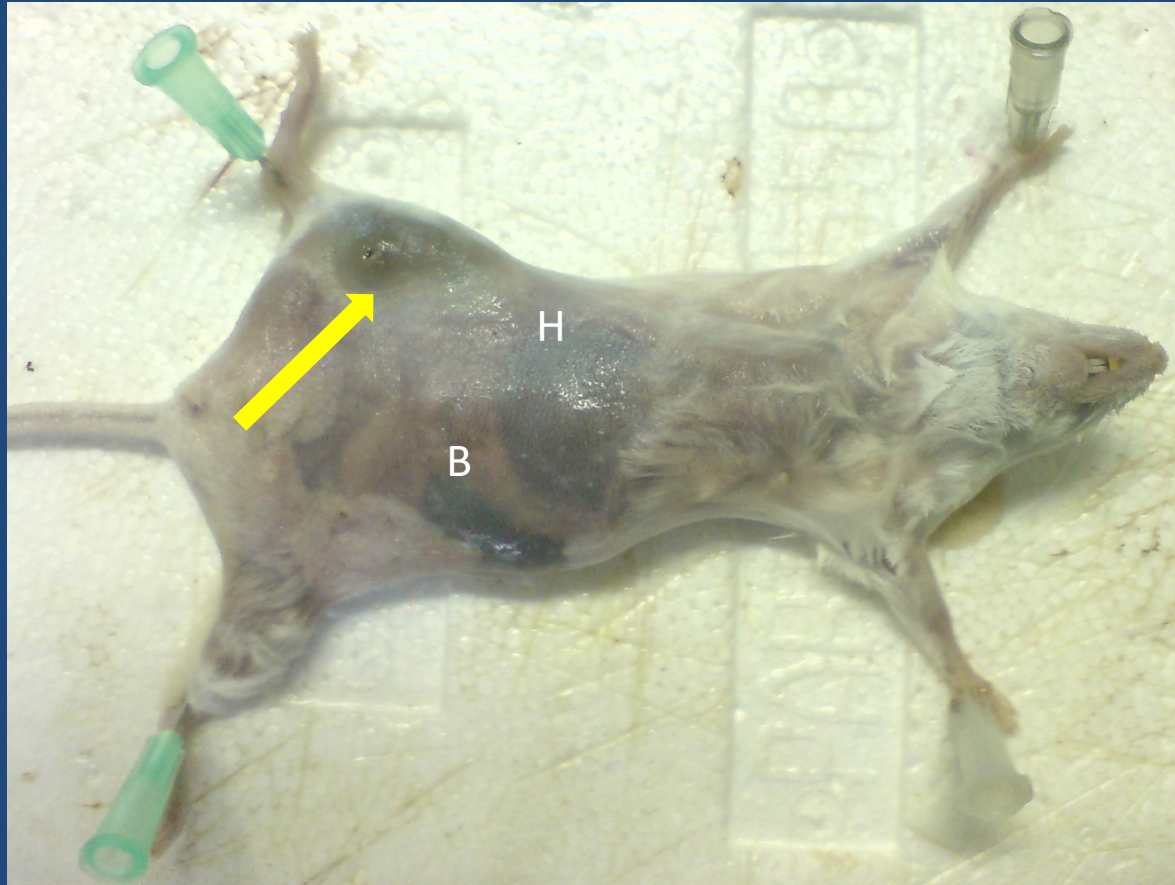


Mice have 10 Mammary Glands



Las ratonas cuentan con 10 glándulas mamarias. Para propósitos de ensayos se emplea la glándula No 4. Las ratonas cuentan con un solo pezón y conducto galactóforo similar a a los bovinos.

Modelo murino de mastitis por la anatomía de un solo conducto en pezón empleado por CyTA Labs para la investigación de vacunas contra factores de virulencia de *Staphylococcus aureus*.



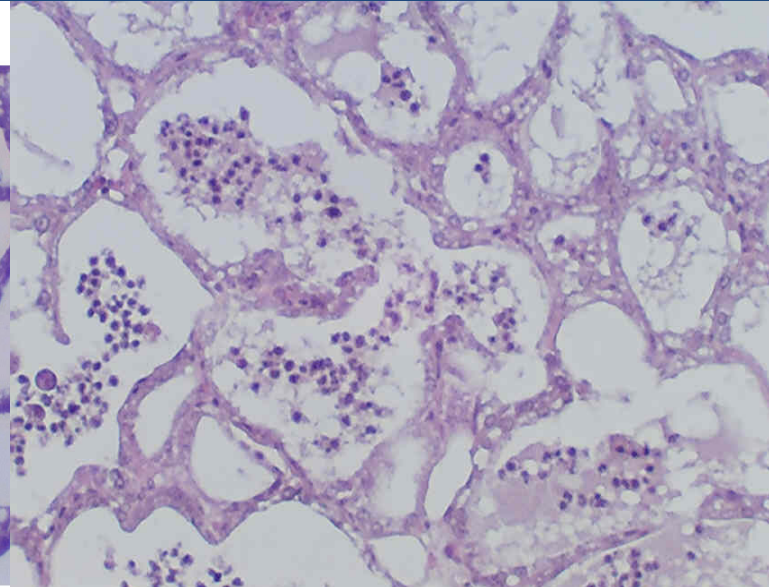
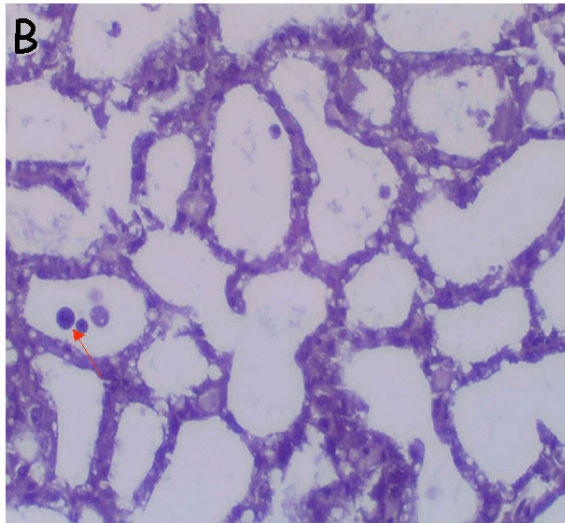
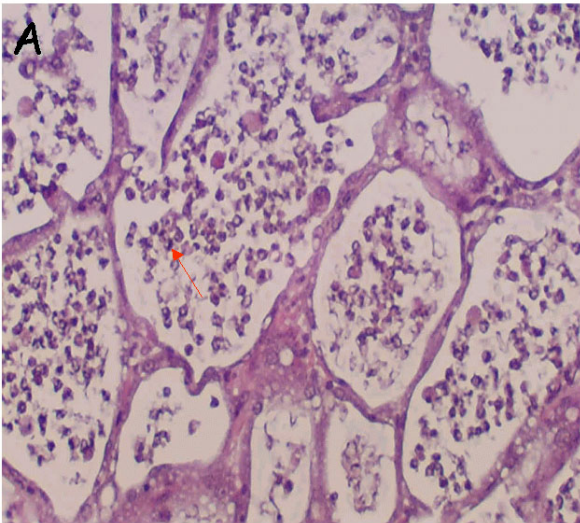
Fotografía de una ratona con tres días posparto y en lactancia. Note la glándula 4 con inoculación de *S.aureus* de color café (flecha) en comparación con la glándula contra lateral con la aplicación de solución salina. Hígado (H) Bazo (B).



Disección de las glándulas mamarias de una ratona inoculada con *S.aureus* y su control de inoculación con solución salina. Note las zonas de hemorragia y necrosis en la glándula que recibió *S.aureus* (flecha).

Micrografías al microscopio de luz de las secciones de glándula mamaria de ratonas no inmunizadas e inmunizadas con antígenos recombinantes FnBP y ClfA
Desafío con *S aureus* bovino 10^3 Unidades Formadoras de Colonias.

Ratona 1 testigo dosis 10^3 UFC Sa a 24h



Grupo **no inmunizadas**
Glándula mamaria con desafío
S aureus.

Grupo **testigo**
Glándula mamaria
placebo solución
salina estéril

Grupo **inmunizadas**
Glándula mamaria con desafío
S aureus.

**Inoculación intra ductal de Staph aureus 10³
Cuenta de PMN en 10 campos 20 X**

Ratona	Glándula mamaria	No de PMN
1	4D S au 4 I H2O	1,752 41
2	4D S au 4 I H2O	2,232 52
3	4D S au 4 I H2O	1,291 52
4	4D S au 4 I H2O	2,867 70
5	4D S au 4 I H2O	1,585 63

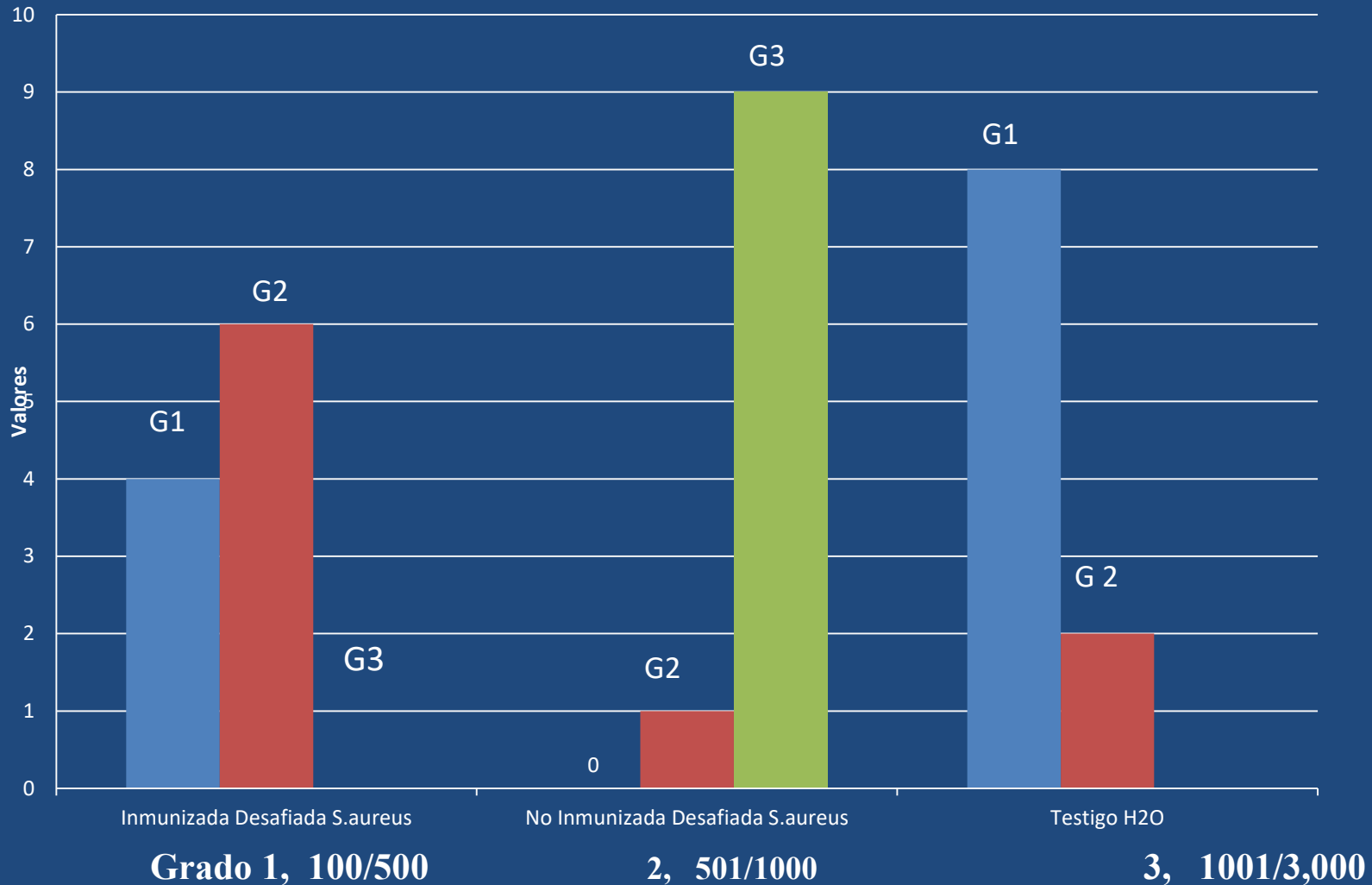
Grado 1, 100/500	2, 501/1000	3, 1001/3,000
-------------------------	--------------------	----------------------

Grupo	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Inóculo
Testigo 1			X	S.aureus
			X	S.aureus
		X		S.aureus
	X			Control
	X			Control
Testigo 2			X	S.aureus
			X	S.aureus
			X	S.aureus
	X			Control
	X			Control
Testigo 3			X	S.aureus
	X			Control
Inmunizada 1		X		S.aureus
		X		S.aureus
	X			Control
Inmunizada 2		X		S.aureus
	X			S.aureus
	X			Control
Inmunizada 3	X			S.aureus
	X			S.aureus
		X		Control

Cuadro que muestra la celularidad inflamatoria contada en los acinos glandulares de ratonas lactantes desafiadas con S aureus. Las ratonas 1 y 3 muestran el máximo grado de inflamación comparadas con la inflamación moderada en las ratonas inmunizadas

Gráfica que muestra la suma de células inflamatorias dentro de los acinos glandulares. grupos organizados de acuerdo al número de células, grados 1-3.

Ratonas lactación 1-3 días N-10 por grupo



Bacterinas y autobacterinas

Mecanismos de acción

- Las bacterinas después de su aplicación IM e inducir anticuerpos, **facilitan la eliminación de las bacterias** por mecanismos de opsonización y fagocitosis.
- **El costo beneficio de la aplicación** de bacterinas para el control de mastitis es el de la evidente **disminución de los signos clínicos y recuperación del estado de salud** del cuarto afectado en menor tiempo.
- Las bacterinas EcoStaph y ABD **cuentan con toxoide** por lo que se facilita la eliminación de endotoxinas producidas por las bacterias.

Bacterinas y autobacterinas

Mecanismos de acción

- Ecostaph y ABD cuentan con el adyuvante PM+3 a base de glicósidos inmunoestimulantes que aseguran producción de anticuerpos IgG permanentes entre 6 a 8 meses después de su segunda aplicación.

Las bacterinas una vez aplicadas (pa) inducen anticuerpos desde los primeros 5-7 días del tipo IgM y su máximo pico a los 15 días (IgG), **después de la primera aplicación**, con decrecimiento progresivo hasta los 30 días pa.

La segunda aplicación se recomienda después de los 30 días de la primera aplicación.

Una vez aplicada la doble inmunización, se recomienda e refuerzo al secado del ganado.

BACTERINA con E.coli J 5

La aplicación a 246 vacas, de la bacterina de la cepa mutante rugosa de E-coli 0111:B4, asociada al adyuvante incompleto de Freund, dos dosis durante el periodo seco y una en la lactancia temprana, obtuvo un índice de mastitis por bacterias Gram negativas de 2.57% comparadas con 12.77% obtenido en las vacas no inmunizadas.

La vacuna J-5 ante un desafío con E.coli que produce una mastitis moderada.

Las vacas inmunizadas con J-5 redujeron el tiempo y signos clínicos de mastitis comparados con el grupo de vacas no inmunizadas, así mismo el número de bacterias cuantificadas de los cuartos desafiados, fue menor en el grupo de vacas inmunizadas (Hogan y col. 1992).

Producto	inactivado	Staph aureus Completo	Biotipo 5	Autóctono	Slime	Lisado celular	Fibronectina	Ac. Proteína A	Ac. Antitoxina A y B	Ac Antifactor Clonación	staph Coagulasa Negativos	Número de Aplicaciones	Adyuvantes
Hipramastivac	Sí	Sí	Sí	No	Sí	No	No	***	Sí	No	No	3	¿
Ecostaph CyTA	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí	***	Sí	Sí	Sí	2	Saponinas
Start vac Hipra	Sí	Sí		No	Sí	No	No	***	Sí	No	Si	3	Base oleosa
Lisygin Boheringer	Sí	Sí	Sí	No	No	Sí	No	¿	¿	No	No	2	AIOH



XVI CURSO INTERNACIONAL TEÓRICO PRÁCTICO “DIAGNÓSTICO Y CONTROL DE LA MASTITIS BOVINA”

El Reactivo de California y su elaboración en un laboratorio de primer nivel

Antonio Hernández Beltrán, Patricia Cervantes Acosta, Belisario Domínguez Mancera, Federico Gómez Boucrin.

anhernandez@uv.mx

INTRODUCCIÓN

La prueba de California para el diagnóstico subclínico de la mastitis ha sido ampliamente utilizada para el desarrollo de programas de medicina veterinaria preventiva relacionados con lo que se reconoce como la enfermedad más común y la que más pérdidas económicas genera a la ganadería lechera (Escobar y Ponce, 2001).

La mastitis es una enfermedad propia de las hembras en lactación, por lo que la prueba ha sido utilizada para el diagnóstico de mastitis en, ovinos, caprinos, llamas y camellos, en estas últimas se utilizó junto con conteo de células somáticas, donde los resultados muestran un valor similar entre ambas pruebas ($p < 0.05$), para predecir el estado que guarda la infección de la ubre (Abdurahman, 1996). Estos resultados son semejantes a los obtenidos en trabajos similares realizados en otras especies.

La prueba de California de mastitis conocida como California Mastitis Test (CMT) es, de acuerdo con Mellenberg (2001), un examen sencillo que con exactitud predice el conteo de células somáticas ya sea, a partir de cada cuarto o en muestras de leche. La exactitud del CMT se fundamenta en tres principios:

1. El número de leucocitos (células blancas) incrementa enormemente en número cuando una lesión o una infección afectan el tejido mamario.
2. Los leucocitos, especialmente los polimorfonucleares tienen un núcleo extenso con material nuclear (ADN) comparadas con otras células o bacterias de la leche.
3. Las paredes de los leucocitos son principalmente lípidos (grasa).

¿Cómo es que funciona el reactivo CMT?

El reactivo CMT es un detergente con un indicador de pH añadido, razón del color púrpura, cuando la leche y el reactivo se mezclan en igual cantidad, el reactivo de CMT, disuelve o rompe las paredes celulares externas y las nucleares de cualquier leucocito, constituidas principalmente de grasa (el detergente disuelve la grasa), el ADN ahora se libera desde el núcleo. El ADN se gelifica formando una masa fibrosa; debido a que el número de leucocitos se incrementa en los cuartos afectados, la cantidad de gel formado se incrementará en una forma lineal, además, la formación puede ser clasificada en función al resultado del conteo de células somáticas, (Cuadro 1):

N	Negativo	≤ 100,000 CCS
T	Traza	300, 000 CCS
1	Positivo	900, 000 CCS
2	Positivo	2.7 millones CCS
3	Positivo	8.1 millones CCS

CCS = Conteo de células somáticas.

Cuadro 1. Clasificación del resultado de CMT de acuerdo al resultado del conteo de células somáticas de acuerdo con Mellenberg (2001).

Las lecturas de **1, 2 y 3** son **positivos** sin duda; una lectura **Traza**, indica una posible infección. Cuando los cuatro cuartos indican trazas no es signo de infección, sin embargo, si dos cuartos tienen indicativo de traza la infección es posible, una lectura **negativa** indica **no infección**.

La idea de desarrollar un reactivo químico de la mastitis, semejante a CMT, ha prosperado en diversos laboratorios que ofrecen servicios de diagnóstico en las IES del país y del extranjero.

En el presente trabajo se reportan datos sobre la utilización de un reactivo similar a CMT elaborado en el Laboratorio de Alteraciones Funcionales (LAF) de la Unidad de Diagnóstico (UD) “Augusto R. Mancisidor Ahuja” localizado en las instalaciones de la Posta Zootécnica “Torreón del Molino”, instancias académicas de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Veracruzana (UV), en Veracruz, México.

ANTECEDENTES

La necesidad del LAF de contar con la oportunidad de ofrecer un reactivo similar a CMT, surge a mediados de la década de los años noventa (1995), a partir del reporte de una drástica reducción en el empleo de la prueba de mastitis por parte los productores de lechería tropical del sistema bovino de doble propósito (SBDP) integrados como Grupos Ganaderos de Validación y Transferencia de Tecnología, también conocidos como GGAVATS, en donde el uso de CMT, esta considerada como un práctica estratégica para el desarrollo y consolidación de dichos grupos de productores, y la disminución de su empleo entre los mismos se asociaba a los altos costos que representaba su utilización, dada la fuerte crisis económica que afecto de una manera significativa a las empresas pecuarias por aquellos años, por lo que las IES involucradas, entre ellos la UV, generaron acciones para que las metas propuestas para el desarrollo del programa de innovación tecnológica no fueran afectadas.

Por lo que se consideró la posibilidad de remplazar el para el diagnóstico de CMT por un reactivo preparado con base a detergentes aniónicos y colorantes indicadores del pH existentes en el mercado local, con un costo menor al reactivo CMT que se ofrecía de una manera comercial a los productores.

MATERIALES Y METODOS

MATERIAL DE LABORATORIO

Matraz Erlen – Meyer de 500 ml.

Probetas graduadas de 100 ml.

Pipetas automáticas 10 – 100 y 100 – 1000 μ L.

Agitador magnético con imán para agitación.

Balanza y papel glacine.

Envases plásticos de 1 L.

REACTIVOS

Jabón líquido obtenido en el comercio local: Agua, tensoactivo no iónico, tensoactivo aniónico, agente humectante y perfume, (ALEN, INC. USA).

Agua purificada libre de sodio, obtenida en el mercado local, (Coca – Cola Company. USA).

Colorante purpura de bromocreasol, (SIGMA).

MATERIAL DE CAMPO.

Paleta de plástico para el diagnóstico de mastitis.

Para la preparación del reactivo se empleo la formula propuesta por Jasper *et al.* (1972), modificada por el LAF, (Cuadro 2).

COMPUESTO	CANTIDAD (ml)
Jabón líquido	25
Agua purificada	75
Colorante púrpura de bromocreasol al 1.5%	0.4

Modificado de Jasper *et al.* (1972).

Para evaluar la viabilidad del reactivo preparado, se llevaron a cabo pruebas de CMT en veinte hatos del SBDP manejados de acuerdo al paquete tecnológico de los GGAVATT, de donde se obtuvieron muestras de leche al azar de 448 vacas, de las cuales se realizó la prueba en 1792 cuartos.

Para valoración de la prueba CMT se siguieron los criterios propuestos por Ávila, (1994), para la interpretación de la misma en vacas del SBDP; donde se consideraron **negativas** las muestras que presentaron una reacción sin evidencias o precipitación; **trazas** a las que solo reaccionaron de una manera leve.

Positiva 1, cuando no existió la formación de gel, y si una muestra espesa; **positiva 2**, aquellas muestras que presentaron una reacción espesa, más cierta formación de gel leve y **positiva 3**, cuando la reacción causa la formación de gel y esta muestra una forma convexa.

Las muestras se tomaron por duplicado, de las cuales una se utilizó para realizar la prueba con el reactivo comercial de CMT, que de una manera rutinaria se había utilizado para realización de las pruebas en el GGAVATT seleccionado y la otra para realizarla con el reactivo elaborado en el LAF.

Por medio de un examen estadístico entre las pruebas; el CMT comercial y el elaborado en LAF, se obtuvo el valor del índice de correlación ó r .

RESULTADOS

Los resultados estadísticos mostraron una estrecha correlación, ($r = 0.99$), entre las pruebas, donde la diferencias existentes se apreciaron en la reacciones calificadas como trazas.

El análisis de los costos, el cual considero el precio en el mercado del reactivo comercial, contra los costos por concepto de insumos reactivos, gastos de alquiler por hora del laboratorio y el pago por hora del profesional que realiza la prueba; arrojó una diferencia de 60.8%, siendo más económica la prueba del reactivo preparado en LAF que el reactivo CMT comercial.

En Cuba se desarrollo un reactivo químico de la mastitis que contiene un detergente anionico ramificado sintético, el cual presento una correlación del 99.5%, similar a la encontrada en el reactivo preparado en LAF (Escobar y Ponce, 2001).

Una vez determinada la validez de la prueba y su utilidad en el campo, por medio de la realización de un taller sobre la elaboración del reactivo se capacito a los técnicos responsables de los GGAVATT para que lo desarrollaran y lo emplearan en el programa de innovación tecnológica; a la fecha la práctica de preparación del reactivo similar a CMT del LAF, es usada con fines educativos en la preparación de los estudiantes que cursan la carrera de MVZ en FMVZ de la UV.

LITERATURA CITADA:

Abdurahman, O.A.S., 1996. The detection of subclinical mastitis in the bactrian camel (*Camelus bactrianus*) by somatic cell count and California mastitis test. *Veterinary Research Communications*. 20: 9-14.

Ávila T.S., 1994. Procedimientos para el diagnóstico de la mastitis. Memoria. *Curso, Manejo de la Salud del hato*. CEIEGT – FMVZ – UNAM. Martínez de la Torre, Veracruz, México. 18p.

Escobar A. y Ponce P., 2001. Obtención evaluación de un diagnosticador químico para la determinación de la mastitis. *Rev. Salud Anim.* 23:97 – 101.

Jasper D.E., Wittwer M.V., Araya O. y Pappel C. (1972). Empleo de un reactivo preparado con TEEPOL para ser utilizado en el “California Mastitis Test” (CMT). *Archivos de Medicina Veterinaria*. 1:1 – 2.

Mellenberg R. 2001, California mastitis test (CMT) an Invaluable toll for managing mastitis. Dept. of Animal Sciences. Michigan State University. Disponible internet [http://www.immucell.com/pdf/An InvaluableTool.pdf](http://www.immucell.com/pdf/An%20InvaluableTool.pdf) [Fecha de acceso: septiembre, 2012].



XVI Curso Internacional Teórico Práctico "Diagnóstico y Control de la Mastitis Bovina"

INSTRUCCIONES RÁPIDAS PARA PREPARAR EL REACTIVO PARA LA PRUEBA DE CALIFORNIA

Fundamentación La Prueba de California para Mastitis consiste en la adición de un detergente a la leche (aquil-aril sulfonato de sodio), que causa la liberación de ADN de las células presentes y en combinación con agentes proteicos de la leche se forma un gel. A mayor presencia de células se libera una mayor concentración de ADN, por lo tanto mayor será la viscosidad del gel ; la lectura e interpretación del resultado indicará el grado de inflamación. La solución posee el indicador de pH Purpura de Bromocresol, (5',5-Dibromo-o-Cresolsulfonftaleína – C₂₁H₁₆Br₂O₅S -, Técnica Química^(MR)), que muestra los cambios de pH que ocurren en la leche a causa de la inflamación (Saran y Chaffer, 2000). Cuando la glándula está inflamada por un proceso infeccioso, junto con la leche se eliminan cantidad de células, sobre todo neutrófilos, que son las responsables de proteger al órgano de las bacterias. Cuantas más células haya, mayor infección se ha de esperar que tenga la glándula.

Preparación del reactivo colorante **Reactivo Purpura de Bromocresol en polvo** (Amarillo – Purpura) ; Indicador pH 5.2 – 6.8. (C₂₁H₁₆Br₂O₅S ; N° CAS: 115-40-2)

Solución Madre : Pesar 1.5 gr de Purpura de Bromocresol y diluir en 100 ml de agua destilada (solución 1.5% P/V).

Solución de trabajo :

Guardar en un envase ambar, en un sitio fresco a temperatura ambiente

Preparación del reactivo CMT **Ingredientes necesarios para preparar un litro (1000 ml) de reactivo de CMT.**

1. Agua purificada 750 ml.
2. Jabón lavatrastes 250ml (sin aditivos).
3. Solución de trabajo del reactivo púrpura de Bromo Cresol 4 ml (0.4 % V/V).
4. Mezclar suavemente y guardar en un recipiente plástico que sea útil para emplearse durante la prueba y mantener en un lugar fresco.
5. Para la prueba, coloque preferentemente en una paleta de cuatro pozos, en volumen igual (1:1) de Reactivo CMT y de leche problema de la glándula correspondiente, mezcle suavemente en forma circular y espere al menos 20 segundos para su interpretación.

Observaciones : Puede realizar la interpretación de acuerdo al criterio establecido en la tabla siguiente, que muestra la relación entre el resultado de CMT y Recuento de Células Somáticas (RCS).

Grado CMT	Viscosidad	RCS/ml
Negativo (N)	Ninguna	< 200.000
Trazas (T)	Leve	200000 - 500.000
Una cruz (+)	Leve moderada	400.000 - 1.500.000
Dos cruces (++)	Moderada	800.000 - 5.000.000
Tres cruces (+++)	Severa	>5.000.000

Diagnostico moderno de agentes patogenos causantes de Mastitis

XVI Curso Internacional „Diagnostico y control de mastitis“

PD Dr. Tobias Eisenberg

Mayo 2019, Veracruz, Veracruz.

Hessisches Landeslabor (LHL),
Abteilung Veterinärmedizin, 35392 Gießen
www.lhl.hessen.de

Procedimiento en el laboratorio.



1. Inoculación de las muestras de leche en medio de cultivo
 2. Determinación del contenido de células somáticas.
 3. Investigación bacteriológica (Normas de DVG y IDF)
 4. Creando pruebas de resistencia.(Antibiogramas)
- otras muestras: de leche del hato, del medio ambiente, de la cama, de toallas de la ubre etc.

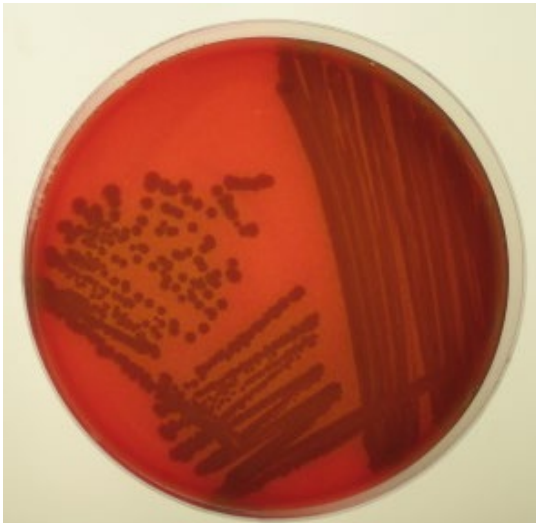
Medios de cultivo utilizados



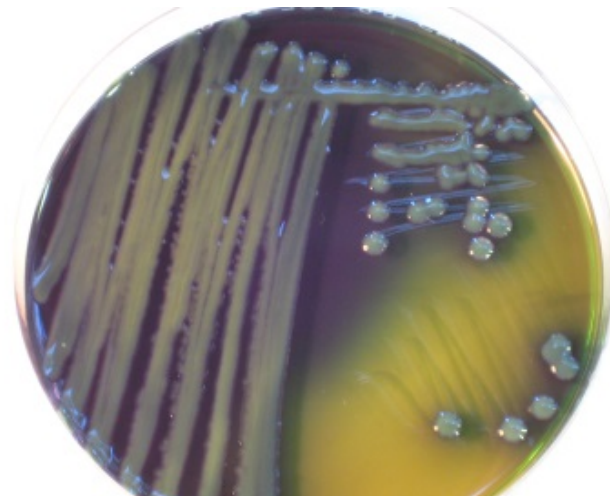
Agar sangre (de bovino) con esculina



Agar de Kimmig (levaduras; (CS ≥ 3 Millones))



Agar sangre Columbia



Agar de Gassner (*Enterobacteriaceae*)

Evaluación bacteriológica

1. Lectura despues de **24 h** de incubación (aerobia 37°C)

- Obtener cultivos puros
- Realizar antibiogramas.
- Diferenciacion de patogenos de la Mastitis.

2. Lecturas de cultivo a **48 h** de incubacion y observacion del agar levaduras.

- Si es necesario, hacer (al final) antibiogramas.
- Validación
- Hacer y enviar el reporte oficial.



„culturalmente no hay bacterias“ a pesar de un elevado conteo celular ! – Que hacer/entonces?

Posibles causas:

Cantidad de bacterias, debajo del nivel de detección.

Los patógenos debidos a las defensas inmunitarias en la ubre, culturalmente no son (más) detectables

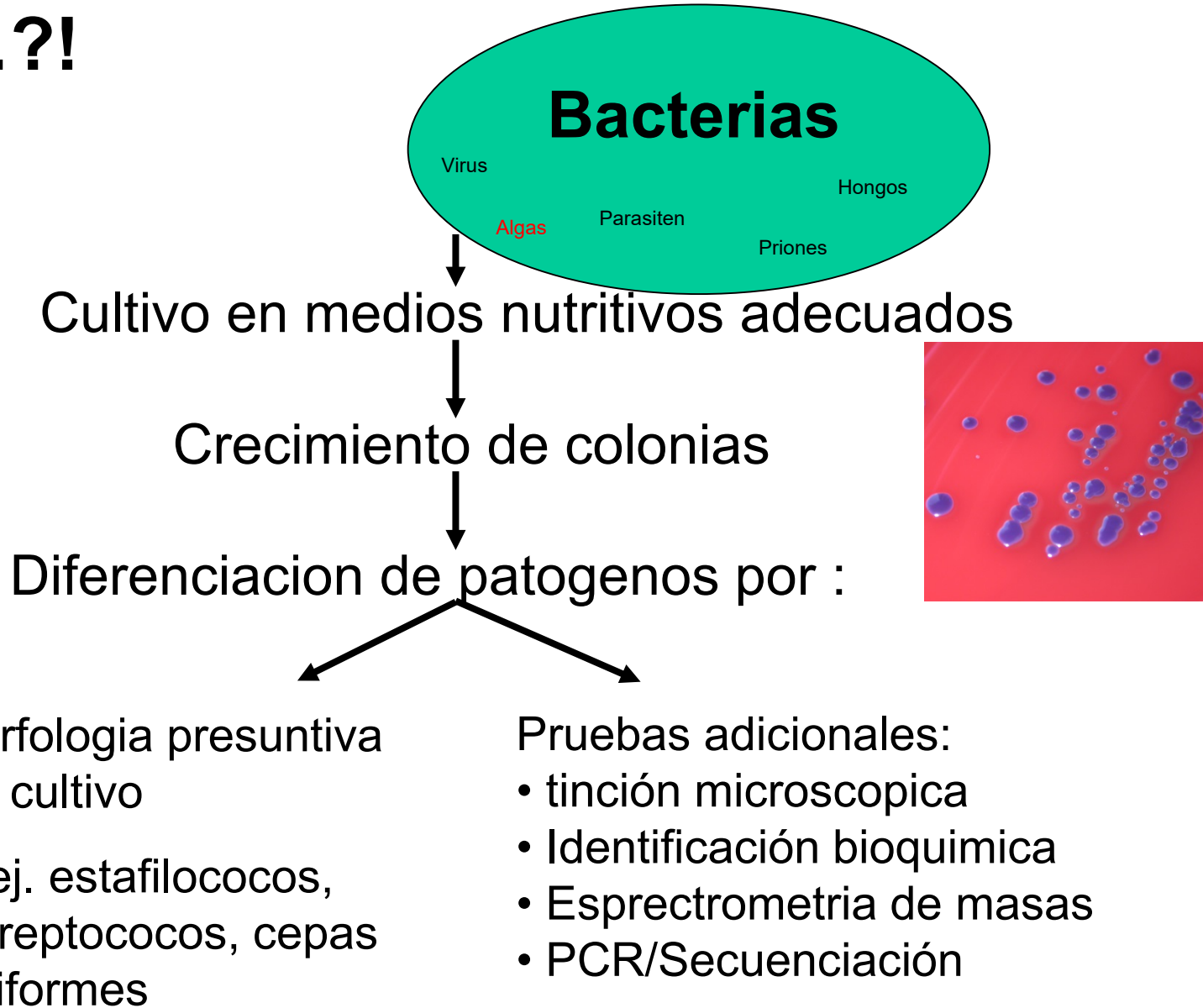
Efecto inhibitorio, los antibióticos ya utilizados inhiben el crecimiento cultural.

El aumento en el recuento celular resulta de un proceso inflamatorio periférico (eczema femoral, absceso pélvico o similar)

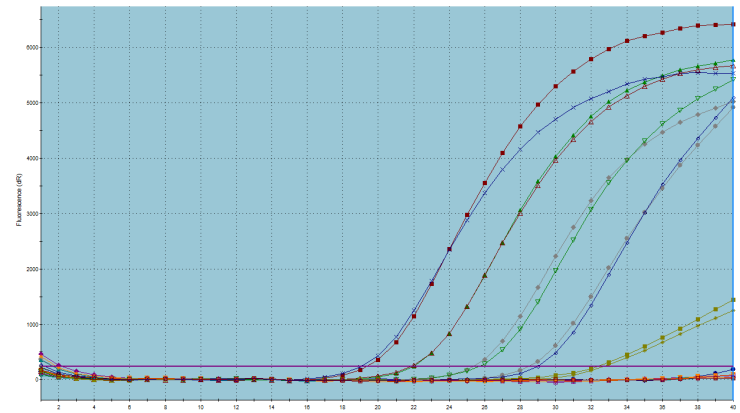
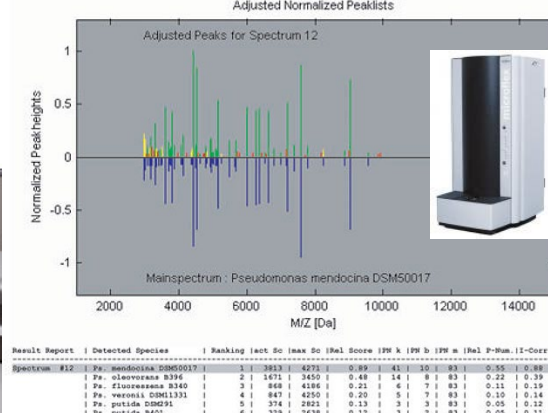
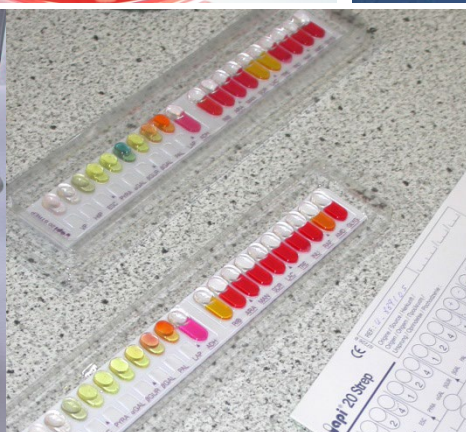
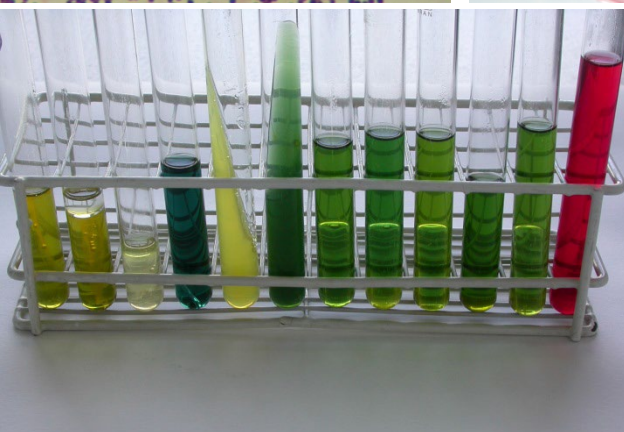
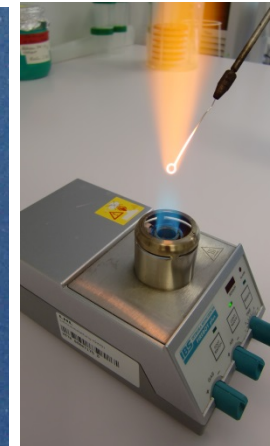
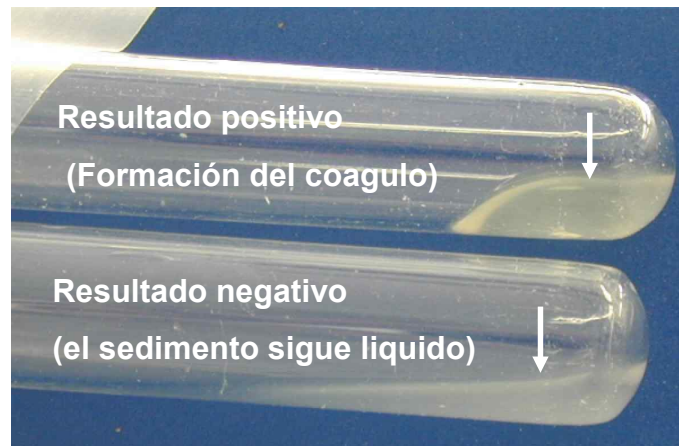
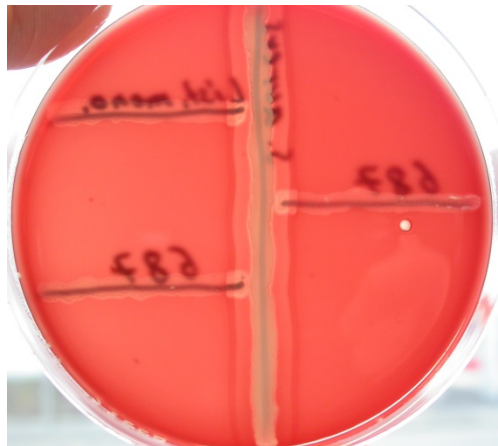
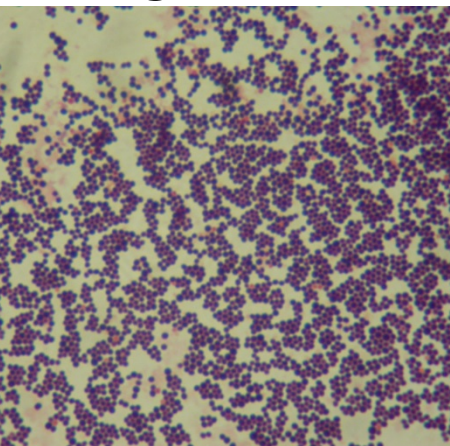
Los patógenos no se detectan rutinariamente debido a las demandas especiales de cultivo.(p.ej. Mycoplasmas, *Helcococcus ovis*, Mycobacterias atípicas)

Condiciones de transporte incorrectas (muy largas)

De que agente patogeno de mastitis se trata...?!



...y como hacer la identificación?!



Formas especiales de mastitis aguda (patogenos)

„lo común sucede frecuentemente, lo raro pasa (no siempre) poco...”

- **Estafilococos y estreptococos**
- **Enterobacteriaceae**
- **Pasteurelas** (*Pasteurella multocida*)
- **Mannheimia** (*Mannheimia haemolytica*)
- **No fermentadores** (*Pseudomonas aeruginosa*)
- **Micoplasmas** (*Mycoplasma (M.) bovis*; *M. bovigenitalium*; *M. californicum*; *M. canadense*)
- **Micobacterias** (*Mycobacterium (M.) fortuitum*; *M. smegmatis*; *M. marinum*)
- **Clamidas** (*Chlamydia psittaci*)
- **Rickettsias** (*Coxiella burnetii*)
- **Bacilos aerobios** (*Bacillus cereus*)
- **Nocardias** (*Nocardia asteroides*)
- **Anaerobios** (*Clostridium perfringens*)

- **Levaduras** (*Candida*; *Tulolopsis*; *Rhodotorula*; *Trichosporon*; *Cryptococcus* spp.)
- **Mohos (hongos)** (*Aspergillus fumigatus*; *Penicillium* sp.)

- **Algas** (*Prototheca zopfii*)

- **Muy raros:** *Helococcus ovis*, *H. kunzii*, *Histophilus somni*

(MALDI-TOF) espectrometria de masas_T-V

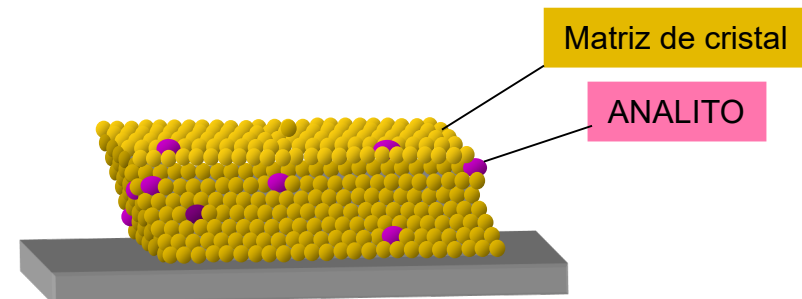
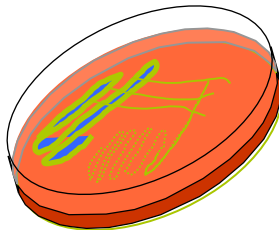
„matrix-assisted laser desorption/ionization – time of flight“

Partiendo de cultivos puros o de colonias puras aisladas

Preparacion de las muestras en placa metalica (directo, extracto)

Incrustar la muestra en matriz (derivado de ácido cinámico)

Colonias puras



Matriz de cristal

ANALITO

Espectrometría de masas T V (MALDI-TOF)

„matrix-assisted laser desorption/ionization – time of flight“

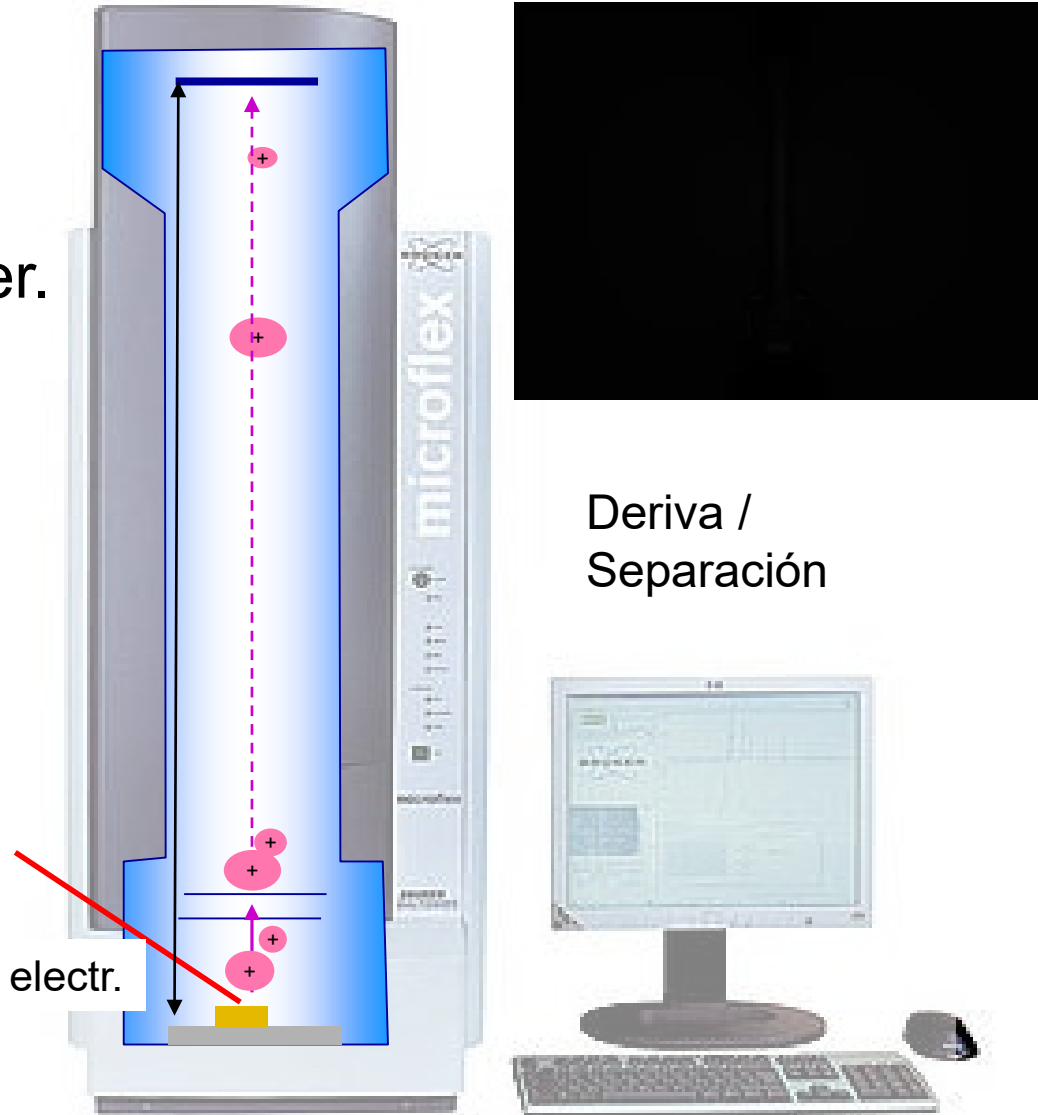
Bombardeo con pulso láser.
Desorción / ionización

Aceleración de analitos
cargados en el campo
eléctrico

Separación por espectrometría
de masas, tiempo de vuelo.

➤ Espectro de masas
(p. ej. 2-20 kDalton)

Campo electr.



Deriva /
Separación

Espectrometria de masas T V (MALDI-TOF)

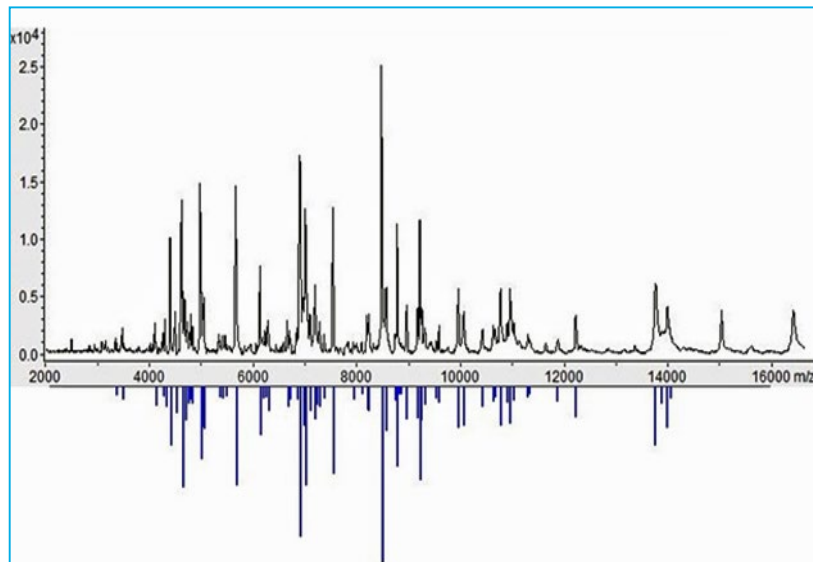
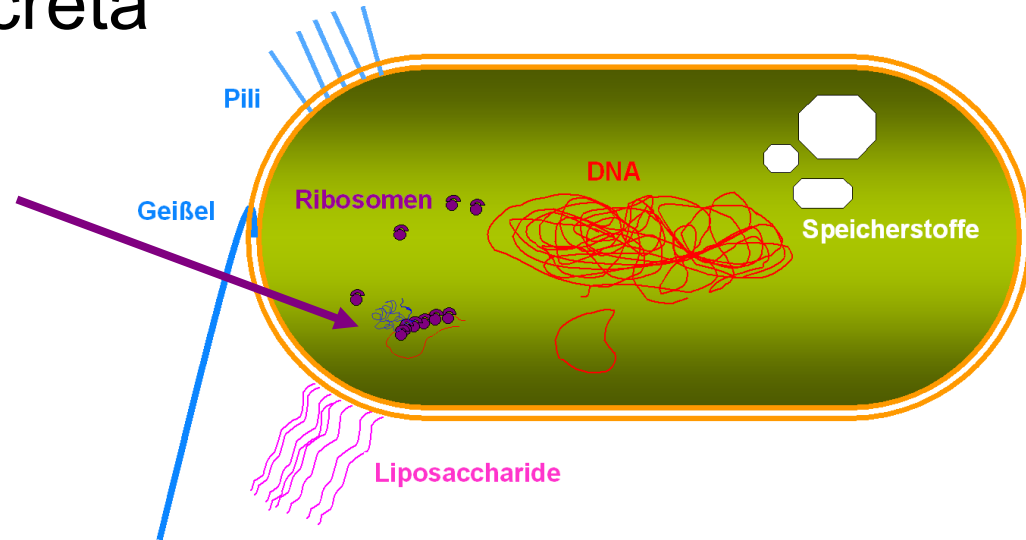
„matrix-assisted laser desorption/ionization – time of flight“

Biomoleculas: masa concreta

→ **Proteina** ribosomal

- marcador **taxonomico**

Genero / especies



¿Que es aun posible ?

– MALDI directo de la muestra de leche?!

Proteomics 2012, 00, 1–7

DOI 10.1002/pmic.201200053

RESEARCH ARTICLE

Nonculture-based identification of bacteria in milk by protein fingerprinting

Juliana Regina Barreiro¹, Patricia Aparecida Campos Braga^{1,2}, Christina Ramires Ferreira², Markus Kostrzewa³, Thomas Maier³, Beatrix Wegemann³, Viktoria Böettcher³, Marcos N. Eberlin² and Marcos Veiga dos Santos^{1*}

¹ School of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo, Pirassununga, São Paulo, Brazil

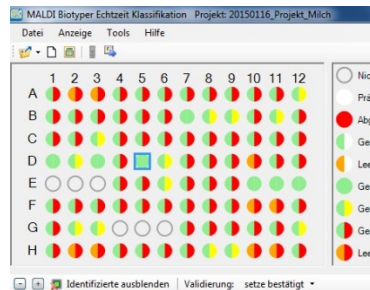
² ThoMSON Mass Spectrometry Laboratory, Institute of Chemistry, University of Campinas – UNICAMP Campinas São Paulo, Brazil

³ Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany

Muestra de leche

Preparación

Analisis directo MALDI-TV



ID	Name	Position	Chip	Nachgewiesene Spezies	Bewertung	Kommentar	Beschreibung	Validierung als	Exported
Soc. uberis 10E7	D5	D5	0	Streptococcus uberis	2.001			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Soc. uberis 10E7	D6	D6	0	Streptococcus uberis	1.927			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Soc. uberis 10E5	D7	D7	0	unzuverlässige Identifikation	1.568			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Soc. uberis 10E5	D8	D8	0	unzuverlässige Identifikation	1.498			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Soc. uberis 10E6	D9	D9	0	unzuverlässige Identifikation	1.354			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Soc. uberis 10E5	D10	D10	0	keine Peaks gefunden				Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Soc. uberis 10E5	D11	D11	0	unzuverlässige Identifikation	1.464			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Soc. uberis 10E5	D12	D12	0	unzuverlässige Identifikation	1.423			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Soc. uberis 10E4	E4	E4	0	unzuverlässige Identifikation	1.690			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Soc. uberis 10E4	E5	E5	0	unzuverlässige Identifikation	1.616			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Soc. uberis 10E4	E6	E6	0	Lactobacillus fructivorans	1.743			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Soc. uberis 10E3	E7	E7	0	unzuverlässige Identifikation	1.406			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Soc. uberis 10E3	E8	E8	0	unzuverlässige Identifikation	1.362			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Soc. uberis 10E3	E9	E9	0	unzuverlässige Identifikation	1.319			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E8	E10	E10	0	Truiperella pyogenes	2.093			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E8	E11	E11	0	Truiperella pyogenes	2.158			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E8	E12	E12	0	Truiperella pyogenes	2.157			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E7	F1	F1	0	unzuverlässige Identifikation	1.616			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E7	F2	F2	0	unzuverlässige Identifikation	1.610			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E7	F3	F3	0	unzuverlässige Identifikation	1.621			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E6	F4	F4	0	unzuverlässige Identifikation	1.432			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E6	F5	F5	0	unzuverlässige Identifikation	1.618			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E6	F6	F6	0	unzuverlässige Identifikation	1.571			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E6	F7	F7	0	unzuverlässige Identifikation	1.618			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E5	F8	F8	0	unzuverlässige Identifikation	1.570			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E5	F9	F9	0	unzuverlässige Identifikation	1.650			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E4	F10	F10	0	keine Peaks gefunden				Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E4	F11	F11	0	keine Peaks gefunden				Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E4	F12	F12	0	unzuverlässige Identifikation	1.349			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E3	G1	G1	0	unzuverlässige Identifikation	1.687			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E3	G2	G2	0	Lactobacillus paracasei	1.821			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Arcano 10E3	G3	G3	0	Lactobacillus paracasei	1.796			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Past 10E8	G7	G7	0	unzuverlässige Identifikation	1.503			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Past 10E8	G8	G8	0	unzuverlässige Identifikation	1.550			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Past 10E8	G9	G9	0	unzuverlässige Identifikation	1.425			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Past 10E7	G10	G10	0	unzuverlässige Identifikation	1.592			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Past 10E7	G11	G11	0	unzuverlässige Identifikation	1.634			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Past 10E7	G12	G12	0	Lactobacillus paracasei	1.709			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Past 10E5	H1	H1	0	unzuverlässige Identifikation	1.344			Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Past 10E5	H2	H2	0	keine Peaks gefunden				Spezies Genus unbekannt	bestätigt
Past 10E5	H3	H3	0	keine Peaks gefunden				Spezies Genus unbekannt	bestätigt

Bereit.

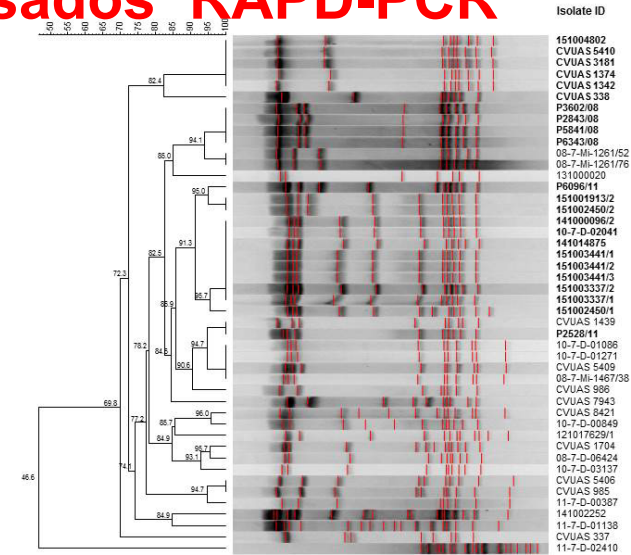
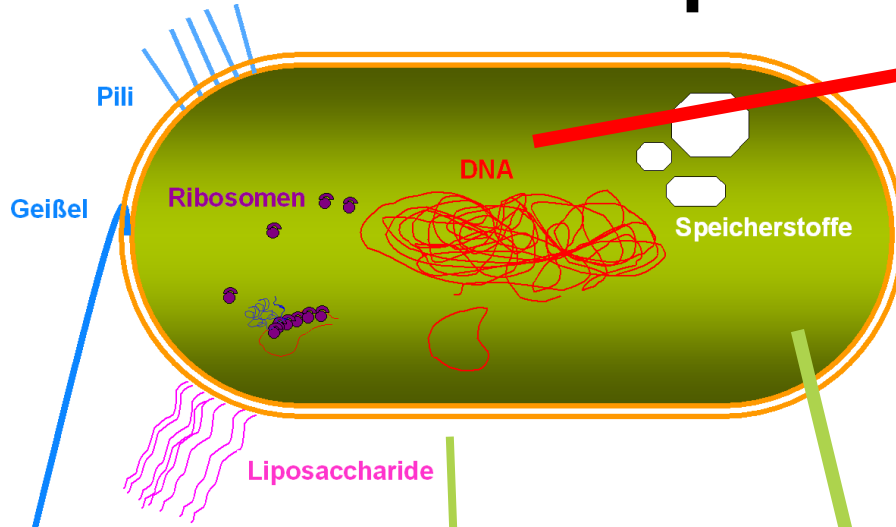
Server: localhost Port: 8080

8:27 AM

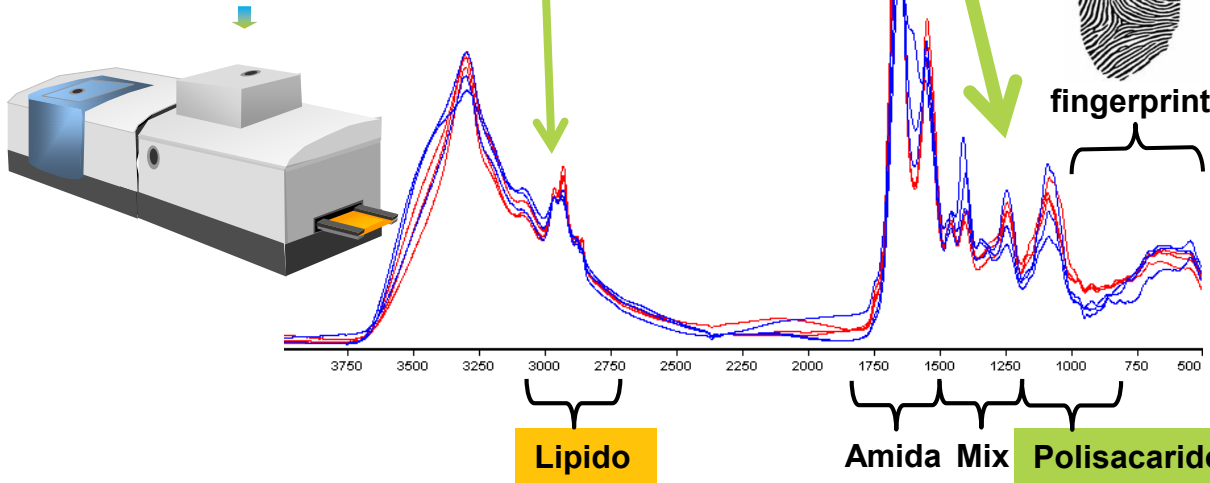
1/19/2015

En ocasiones uno debe saber eso de forma precisa...

Secuenciación
Electroforesis de campos pulsados
RAPD-PCR



espectroscopia infraroja



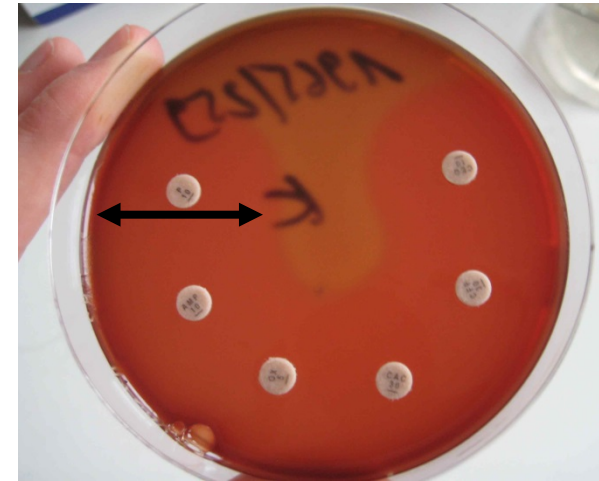
Para microorganismo se obtiene un patron caracteristico Muster: **genetico** o **moleculas** Finger print, (huella digital)

Resistencia antibiotica *in-vitro*

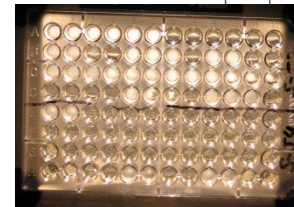
- !Solo de cultivos puros!

- Prueba de difusion en agar (perimetro del halo de inhibición) **en Alemania no esta permitido.**

- Microprueba de dilución en caldo (Determinacion de la concentracion minima inhibitoria [MHC] según CLSI VET01S 4th ed.



Katalog-Nr.	Kategorie	Bezeichnung	MERLIN Diagnostika									
E1-931-200	V	MICRONAUT-S Mastitis 2	Aktualisierungsdatum: 22.08.2006 Druckdatum: 13.11.2006									
Layout		K										
2 Tests												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	GC	GC	PEN	PEN	PEN	PEN	PEN	PEN	PEN	AMP	AMP	AMP
			0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	4	8	16
B	CEZ	CEZ	CEZ	CEZ	CPZ	CPZ	CPZ	CPZ	CEQ	CEQ	CEQ	CEQ
	4	8	16	32	2	4	8	16	1	2	4	8
C	OXA	OXA	OXA	PIR	PIR	PIR	ERY	ERY	ERY	ERY	ERY	ERY
	1	2	4	1	2	4	0,125	0,25	0,5	1	2	4
D	AMC	AMC	AMC	GEN	GEN	GEN	GEN	MAF	MAF	MAF	MAF	MAF
	8/4	16/8	32/16	2	4	8	16	0,25	0,5	1	2	
GC	PEN	PEN	PEN	PEN	PEN	PEN	PEN	AMP	AMP	AMP	AMP	
	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	4	8	16		
CEZ	CEZ	CEZ	CPZ	CPZ	CPZ	CPZ	CEQ	CEQ	CEQ	CEQ		
	8	16	32	2	4	8	16	1	2	4	8	
OXA	OXA	PIR	PIR	PIR	ERY	ERY	ERY	ERY	ERY	ERY		
	2	4	1	2	4	0,125	0,25	0,5	1	2	4	
AMC	AMC	AMC	GEN	GEN	GEN	GEN	MAF	MAF	MAF	MAF		
	8/4	16/8	32/16	2	4	8	16	0,25	0,5	1	2	



Conclusión y perspectivas

- Dominan los métodos espectroscópicos (MALDI) o como complemento las pruebas clásicas (FT-IR)
- operación más rápida (resultados preliminares).
- Amplia aplicación (rutina completa) para el diagnóstico de mastitis, pero también para otras microbiología de salud animal y alimentos
- reconocimiento fácil de lo inusual
- costo neutral para el remitente

- Deseable: desarrollo de la metodología hacia la independencia de cultivos:
- Las preguntas epidemiológicas especiales son emocionantes, pero requieren más tiempo (**fuera de la rutina**).

¡Muchas Gracias por su atención!

¿Preguntas?



www.lhl.hessen.de

tobias.eisenberg@lhl.hessen.de

Impacto de la Rutina de Ordeña Sobre La Presencia de Mastitis

XVI Curso Internacional Teórico Práctico

“Diagnóstico y Control de la Mastitis Bovina”

MVZ Francisco Ferrusca

Veracruz, Ver., del 6 al 9 de Mayo de 2019

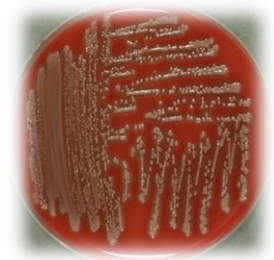
Currículum

- MVZ. Francisco Ferrusca.
- Egresado de la Universidad de Guadalajara. (1991)
- Título de MVZ (1992)
- Ejercicio independiente en Clínica de Pequeñas Especies (1992 – 1994)
- Del año 1992 a 1994 colaboró como ayudante de Inspector de Holstein de México, A.C., zona Querétaro.
- Asesor técnico del Dpto. de Servicios Agropecuarios de Alpura. (1995 – 2001)
- Actualmente Labora en la Compañía DeLaval, LSO, MX. Como Gerente de Producto de AfterMarket. (2002 – actual)
- Especialista
 - Control de Mastitis y Producción de Leche Cruda de Alta Calidad.
 - Especificaciones, Métodos de Prueba y Diagnóstico para Equipos de Ordeño.
 - Procedimientos de Limpieza en equipos de ordeña y Tanques Colectores de Leche.
 - Dinámicas de Flujo y Sistemas de Inyección de Aire en Equipos de Ordeño.
- Miembro del Consejo para el Desarrollo de la Norma Mexicana NMX-F-704-COFOCALEC. Sistema Producto Leche – Equipos para Ordeño Mecánico – Especificaciones y Métodos de Prueba. (2004)
- Miembro del Comité Técnico de Normalización para la Actualización de Norma Mexicana NMX-F-704-COFOCALEC. Sistema Producto Leche – Equipos para Ordeño Mecánico – Especificaciones y Métodos de Prueba. (2009)
- Miembro del Comité Técnico de Normalización. (2004 – actual)
- Participación como Ponente en Diferentes Conferencias Nacionales e Internacionales.



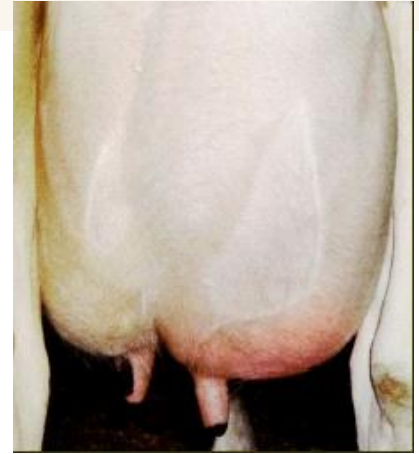
Generalidades de la Mastitis

- **La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria.**
 - ✓ Infección intramamaria (IMI): basada en los resultados de bacteriología de una muestra de leche
 - ✓ La mastitis clínica son los signos físicos asociados a la infección.
- **La mastitis generalmente es causada por bacterias, pero también puede ser causada por**
 - ✓ Bacterias sin pared celular: Mycoplasma spp.
 - ✓ Algas: Prototheca spp.
 - ✓ Levaduras y mohos: Saccharomyces cerevisiae.
- **¿Cómo se determina la mastitis?**
 - ✓ Casos clínicos
 - ✓ Casos subclínicos
- **Medida más común = respuesta de la vaca a (conteo de células somáticas = CCS)**
 - ✓ Vaca normal CCS <100K células / mL.
 - ✓ Un aumento en el CCS por encima de los niveles normales puede ser llamado mastitis subclínica (MSC)
 - MSC puede no mostrar signos físicos
 - ✓ La mastitis causará una disminución en la producción de leche.
- **CCS no es la única forma de medir la mastitis.**
 - ✓ Herd Navigator utiliza lactato deshidrogenasa (LDH)
 - ✓ Conductividad eléctrica
 - ✓ Otros



Mastitis

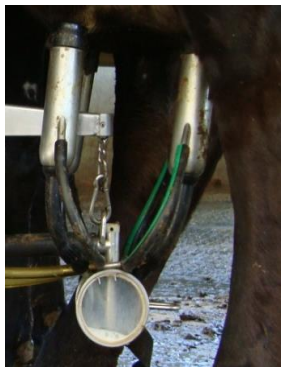
- ¿Qué causa la mastitis?
- ¿Por qué agrupamos los patógenos mastitis?
- ¿Qué agrupación existe?
- ¿Por qué es importante?



Triángulo de la Mastitis



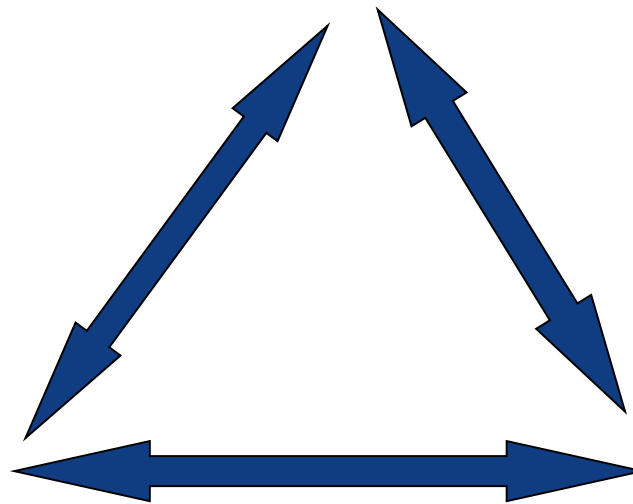
Vaca y Medio Ambiente



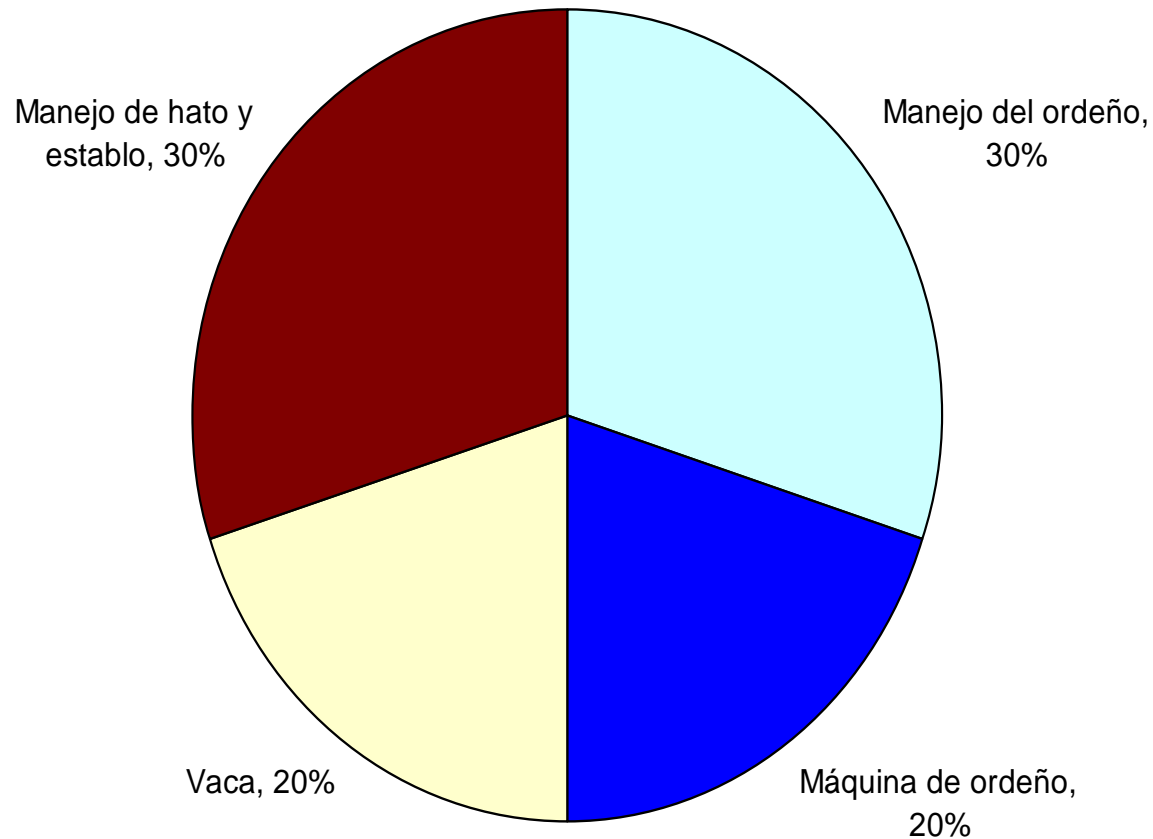
Equipo



Hombre



Contribución estimada para problemas de Mastitis



Patógenos de la mastitis

➤ Tinción de Gram (presencia de membrana externa)

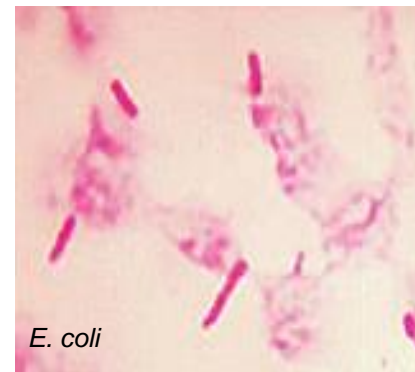
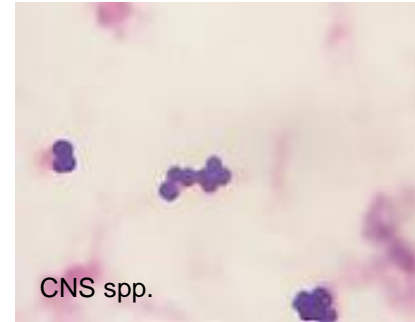
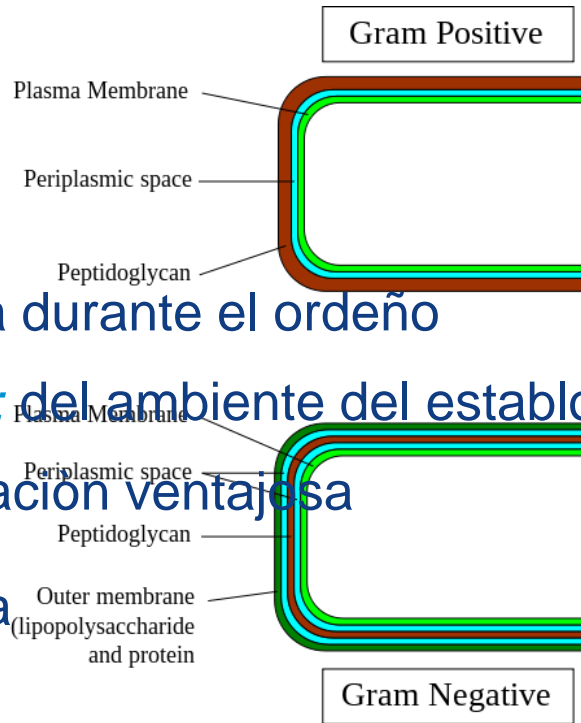
- Gram positivo
- Gram negativo

➤ Transmisión

- *Contagiosa*: vaca durante el ordeño
- *Medio Ambiental*: del ambiente del establo
- *Oportunista*: situación ventajosa

➤ Respuesta de la vaca

- *Mayor*: alto CCS
- *Menor*: moderado CCS



Patógenos causantes de mastitis

Patógeno	Gram	Cont/Amb	mayor/menor
<i>Staph. aureus</i>	+	C	Mayor
<i>Strep. agalactiae</i>	+	C	Mayor
<i>Strep. dysgalactiae</i>	+	Amb	Mayor
<i>Strep. uberis</i>	+	Amb/C	Mayor
<i>E. coli</i>	-	Amb/C	Mayor
<i>Klebsiella spp.</i>	-	Amb/C	Mayor
<i>Serratia spp.</i>	-	Amb/C	Mayor
coagulase-negative staph. (CNS)	+	Oport.	Menor
<i>C. bovis</i>	+	C	Menor

Estado de la glándula mamaria y de la leche



Compruebe si la ubre se ve normal.

➤ La ubre no debe estar:

- Dura
- Caliente
- Inflamada
- Rojo
- Dolorosa



Compruebe si la leche se ve normal

➤ La leche no debe estar:

- Sin sangre
- Sin escamas, coágulos, secreción acuosa ...

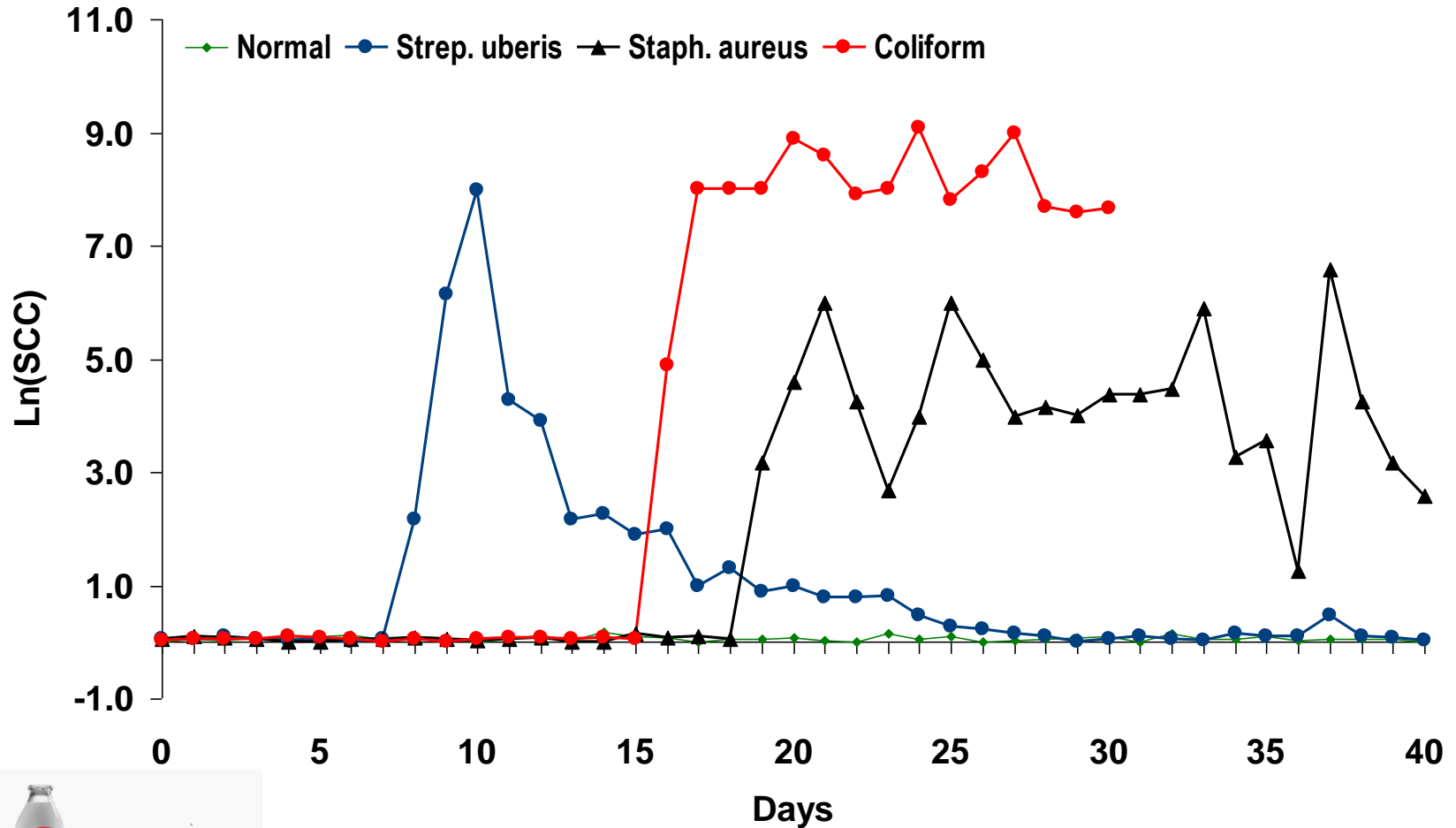
Mastitis Clínica

Distribución de los signos clínicos (%) asociados a casos de mastitis clínica, subdivididos por los patógenos aislados más importantes.

Signos Clínicos	Todos los casos (n=1075)	<i>E.coli</i> (n=184)	<i>S.aureus</i> (n=147)	<i>S.uberis</i> (n=125)	<i>S.dysgalactiae</i> (n=95)
La leche no tiene un color blanco normal.	39.0	53.0	36.1	44.8	37.9
La aparición de la leche es acuosa.	29.9	43.2	22.1	35.8	34.4
La leche contiene sangre	4.9	4.3	5.4	7.2	2.1
La leche contiene pequeñas manchas.	72.0	65.8	71.4	72.6	74.7
Mastitis cuarto está hinchado.	65.4	79.7	59.2	68.8	63.4
Apetito vaca anormal	18.7	39.1	11.5	13.6	11.6
Disminución de la producción de leche.	64.4	80.2	61.3	66.1	62.9
Teta pisoteada	9.6	5.9	9.5	13.6	26.9

Source: Miltenburg *et al*, National Mastitis Council Proceedings (1998)

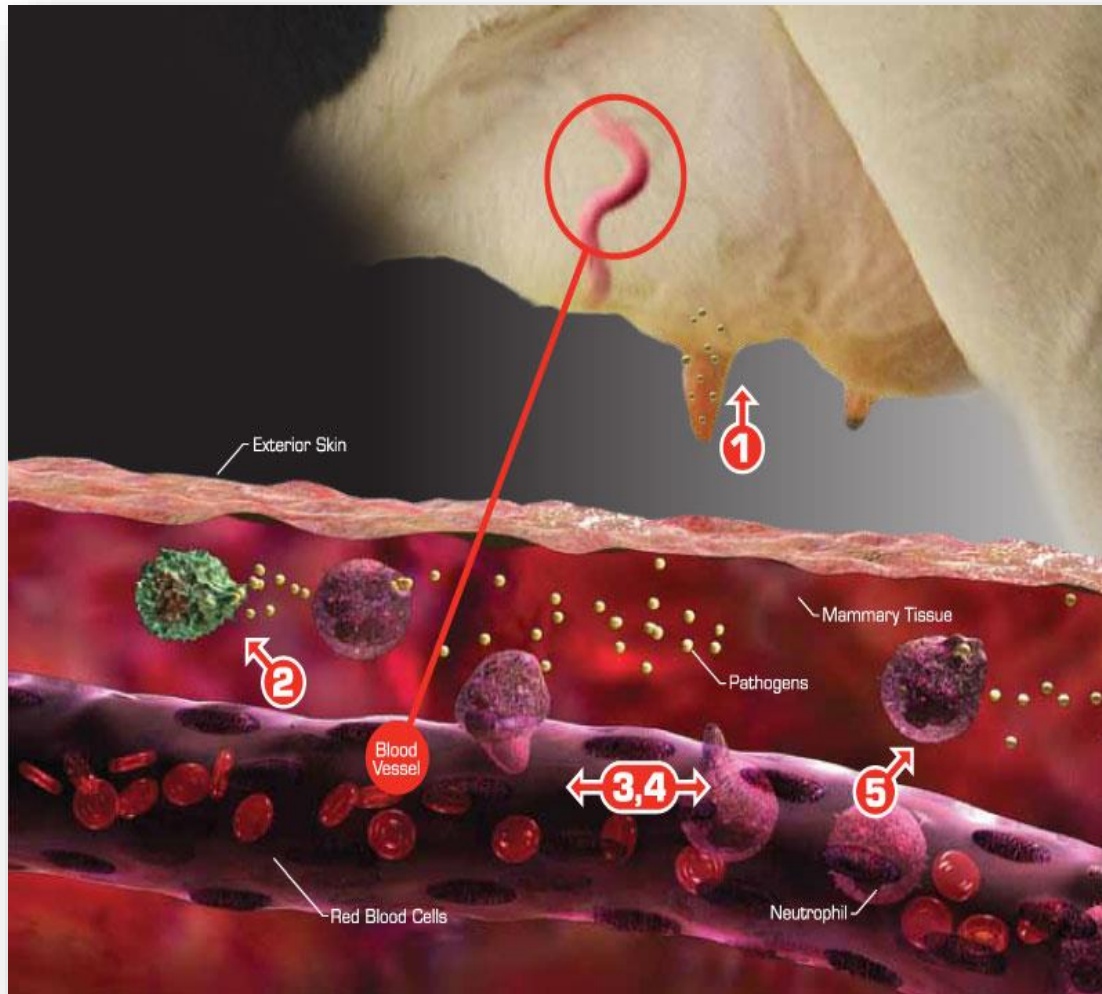
Patógenos de mastitis y patrones de CCS: no todos son iguales



Microorganismos causantes de mastitis

Tipo de bacteria	Fuente	Comentarios	High CCS	High SPC
Staph. aureus	Cuartos infectados, lesión de pezones, incorporación de ganado nuevo al hato	Contagioso: manos, pezoneras	++	
SCN (Staph coagulase negativo)	Normal en la piel del pezón, material de camas, bajo CCS	Tratar de secar todas las vacas, presellar y post sellar con un producto confiable		
Str. agalactiae	Cuartos infectados, incorporación de ganado nuevo al hato	Contagioso: manos, wash rage, pezoneras	++	++
Ambiental streptococci (S.uberis, S.dysgalactiae)	Estiercol, material de cama, pezones húmedos y sucios, deslizamiento de pezoneras	Condiciones húmedas y sucias que exponen los extremos de los pezones a las bacterias: alojamiento sucio y entornos de parto.	+	++
Coliforms (E.coli, Klebsiella)	Estiercol, material de cama, pezones húmedos y sucios	ubres y pezones limpios / secos: freestalls	+	+
Mycoplasma spp.	Cuartos infectados, ingreso de ganado nuevo al hato	Contagioso: lavado y desinfección de manos, pezoneras		
Pseudomonas spp.	Agua, pisos, estiercol	Se encuentra en equipos de ordeño sucio, agua contaminada, antibióticos contaminados		
Prototheca	Agua. estiercol, cuartos infectados	Sin Tratamiento Eliminar el agua estancada y estiercol		
Serratia	Agua contaminada, material de cama o basura	Eliminar el lavado de ubres y pezones		
Nocardia	Cuartos infectados	Se encuantra en tramientos contaminados y multi dosis		
Levaduras y mohos	Cuartos infectados	Se encuentra en tratamientos contaminados y multi dosis		

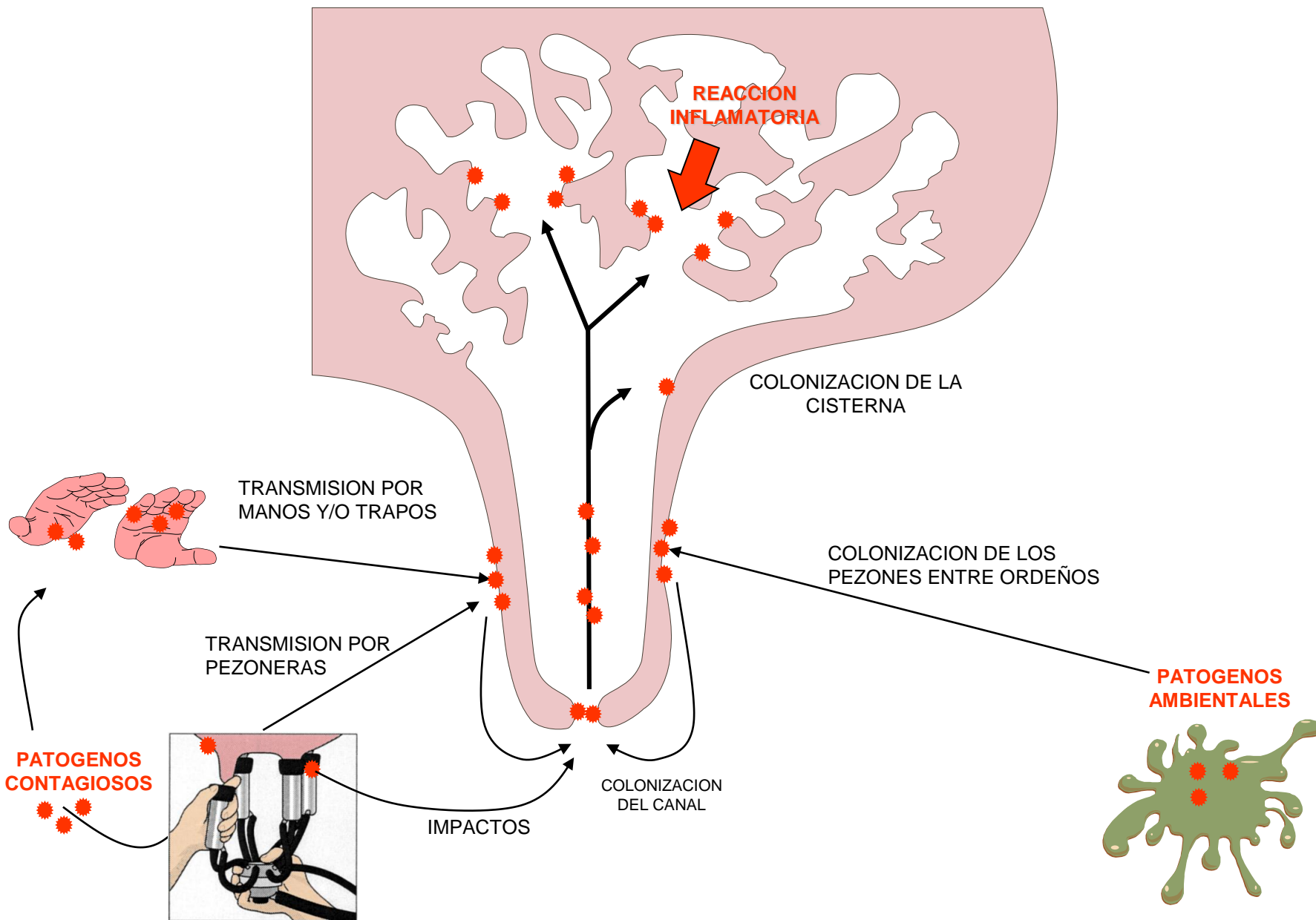
Respuesta de las vacas a la infección



Blood vessel artwork by Russell Kightley

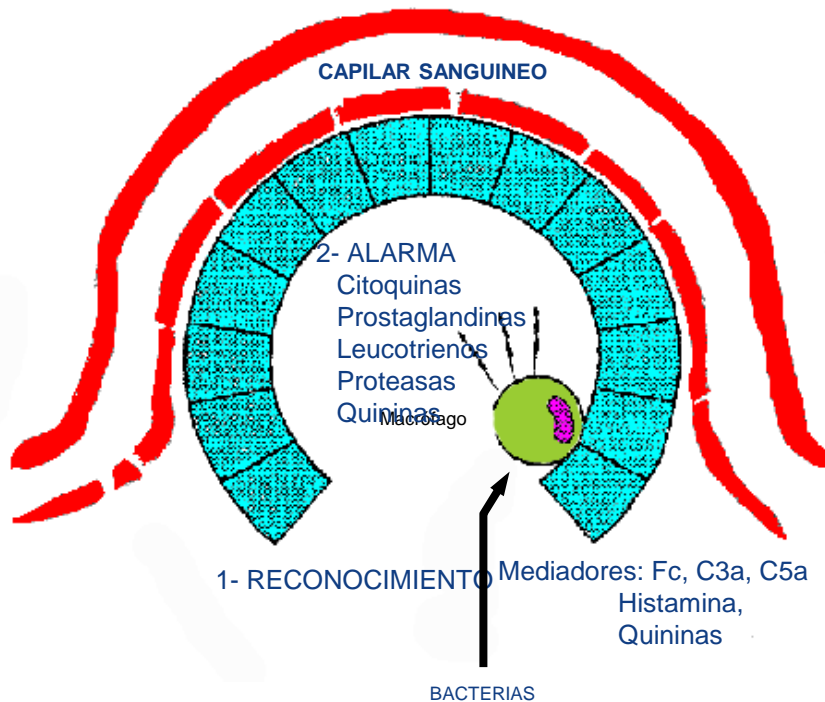
1. Los patógenos ingresan a la ubre a través del canal estriado y crean infecciones.
2. Las células somáticas (macrófagos) son capaces de ligar, atacar y destruir bacterias.
3. Y 4, Al hacerlo, liberan señales químicas que resultan en una mayor migración de células somáticas (neutrófilos) de la sangre al tejido de la ubre para matar a los patógenos - Quimotaxis.
4. Los neutrófilos destruyen los agentes patógenos envolviéndolos físicamente: fagocitosis.

Mecanismo de la Infección mamaria

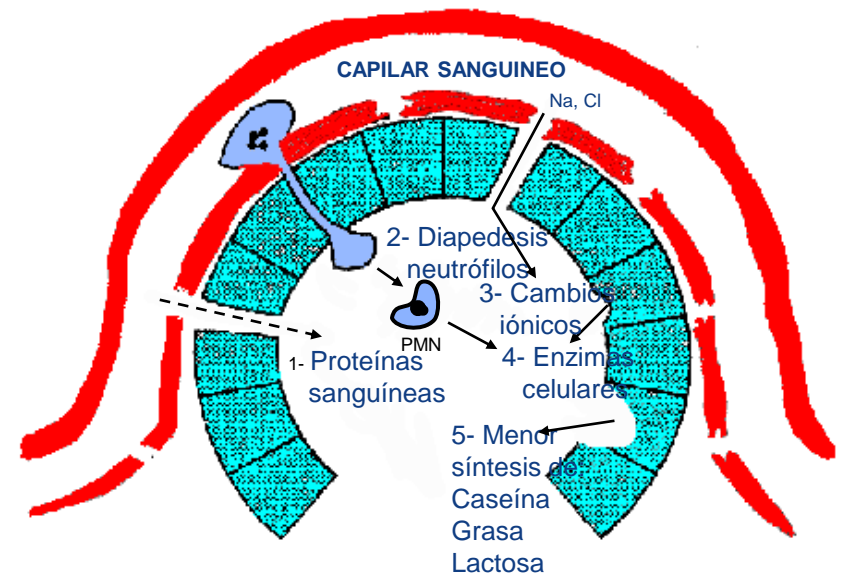


Fases del proceso inflamatorio del tejido mamario

(Adaptado de M. Sandholm, 1995)



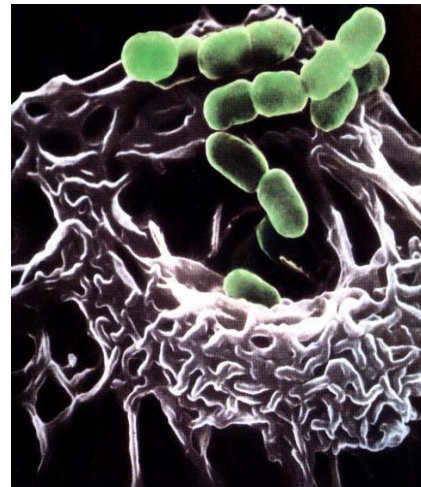
FASE A: Reconocimiento y alarma



FASE B: Respuesta inflamatoria

Células Somáticas - Función

- Protección de la glándula mamaria contra la infección bacteriana.
- Capacidades:
 - ✓ Desplazamiento rápido hasta el lugar de la infección.
 - ✓ La capacidad de localizar las bacterias en el sitio de la infección.
 - ✓ Capacidad para inmovilizar y / o matar a las bacterias en el sitio de la infección.



Cambios en la leche asociados con CCS

Componente	SCC (x1000 cells/ml)				Razón de cambio
	<100	<250	500-1000	>1000	
Decrease (en g/100 ml)					
Lactosa	4.90	4.74	4.60	4.21	Síntesis Reducida
Caseína	2.81	2.79	2.65	2.25	
Grasa	3.74	3.69	3.51	3.13	
Incrementa (en g/100/ml)					
Proteína sérica (total)	0.81	0.82	1.10	1.31	Goteo de la sangre
Albumina sérica	0.02	0.15	0.23	0.35	
Immunoglobulinas	0.12	0.14	0.26	0.51	
Cloro	0.091	0.096	0.121	0.147	
Sodio	0.057	0.062	0.091	0.105	
Potasio	0.173	0.180	0.135	0.157	
pH	6.6	6.6	6.8	6.9	

(Schaellibaum *et al.*, NMC Proceedings-2001)

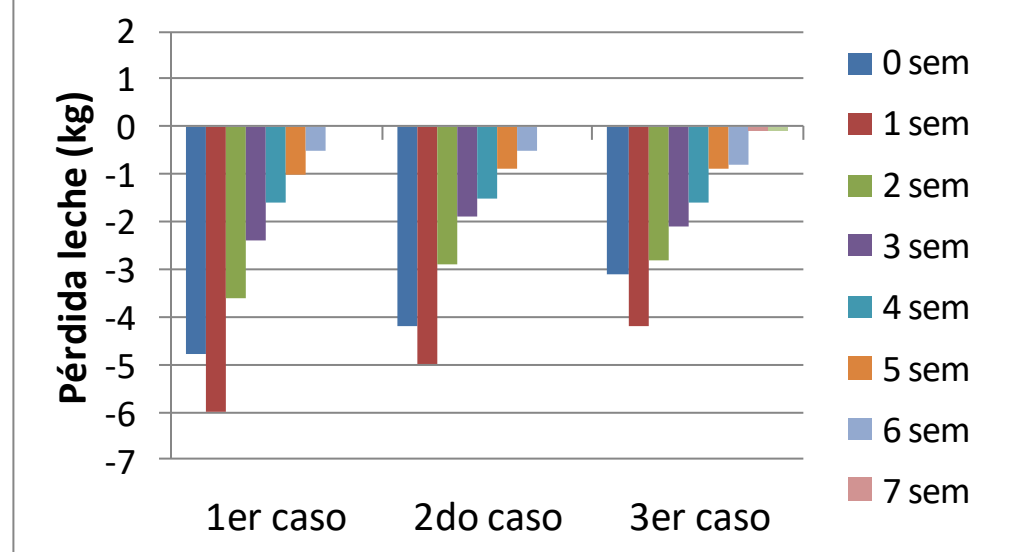
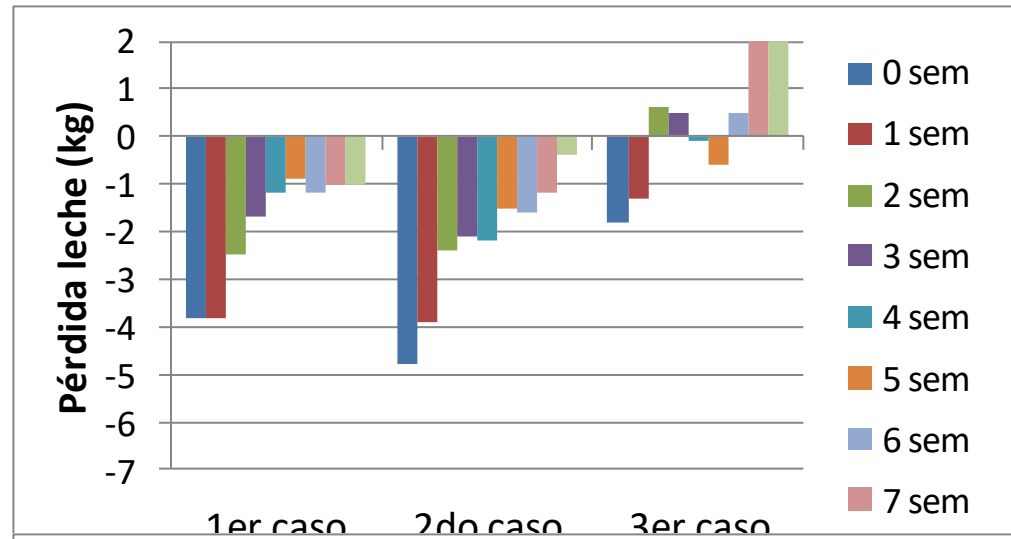
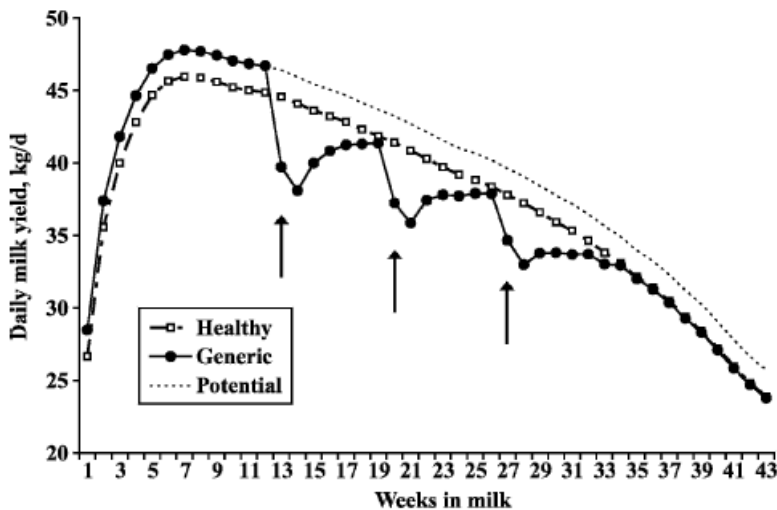
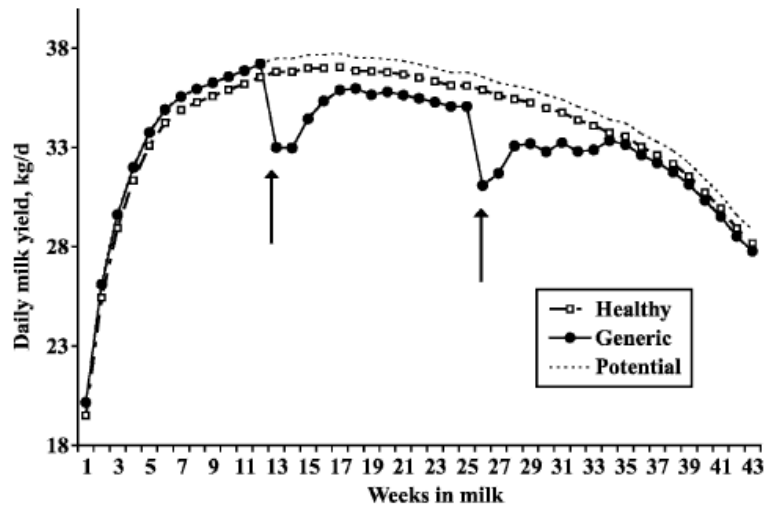
CCS más alto = menos leche

Diferencias en la producción de leche de lactancia asociadas con un aumento en la puntuación CCS

CCS Lineal	Promedio CCS (x10 ³ /ml)	Diferencia en producción de leche ¹	
		1a. lactancia	2a. lactancia
		(kg/305 d)	
0	12.5	---	---
1	25	---	---
2	50	---	---
3	100	-91	-181
4	200	-181	-363
5	400	-272	-544
6	800	-363	-726
7	1600	-454	-907

Raubertas and Shook (1982) JDS 65: 419

Efecto de la mastitis clínica en la producción de leche

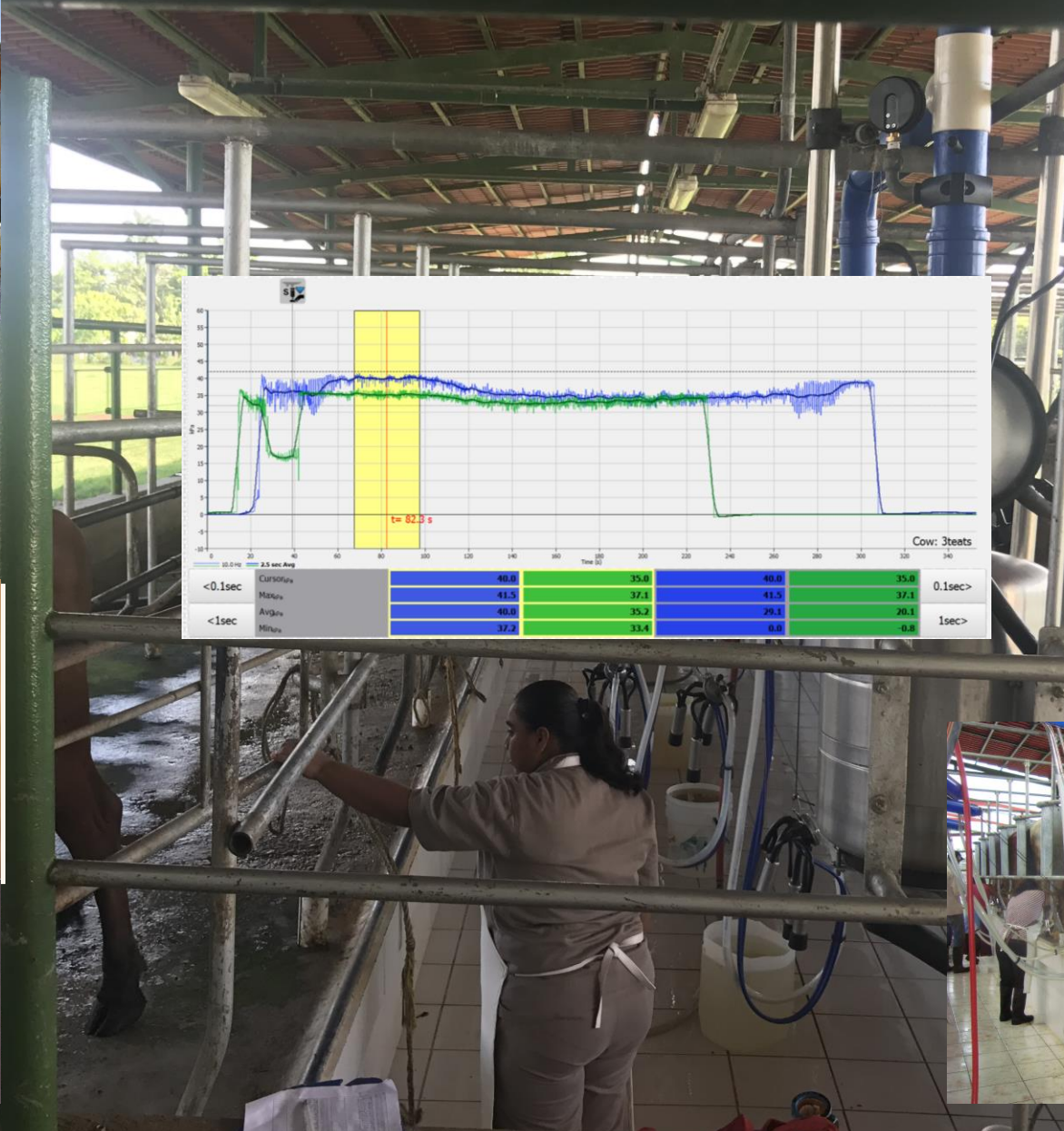
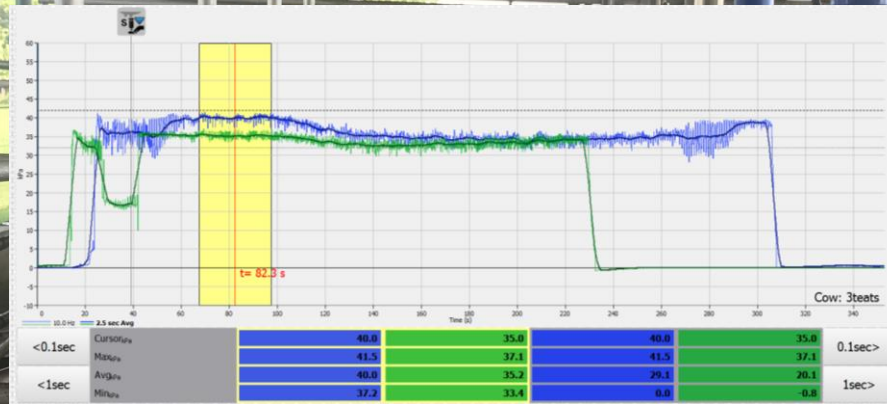


Bar et al. (2007)

Mastitis afecta la calidad de leche

- Aumento CCS → pago/bonificación.
- Afecta propiedades de procesamiento
 - ✓ ↓ caseína (reduce prod queso)
 - ✓ ↓ lactosa (regulador osmótico volumen leche).
- Costo más grande de salud en el hato.
 - ✓ Mastitis, fertilidad, cojera
 - ✓ Mastitis clínica = USD \$179 (MXN 2,685.00) (TC 15.00)
 - \$115 pérdida leche, \$50 tratamiento, \$14 aumento mortalidad.
- Problema de bienestar animal







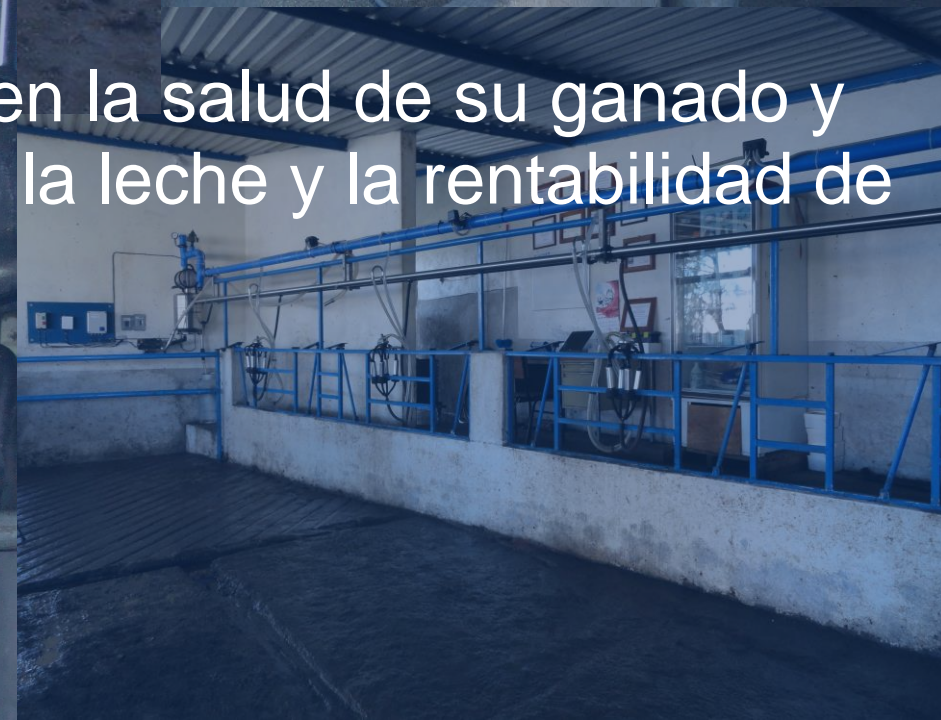
Equipo de ordeño

Es el más importante en el establo.

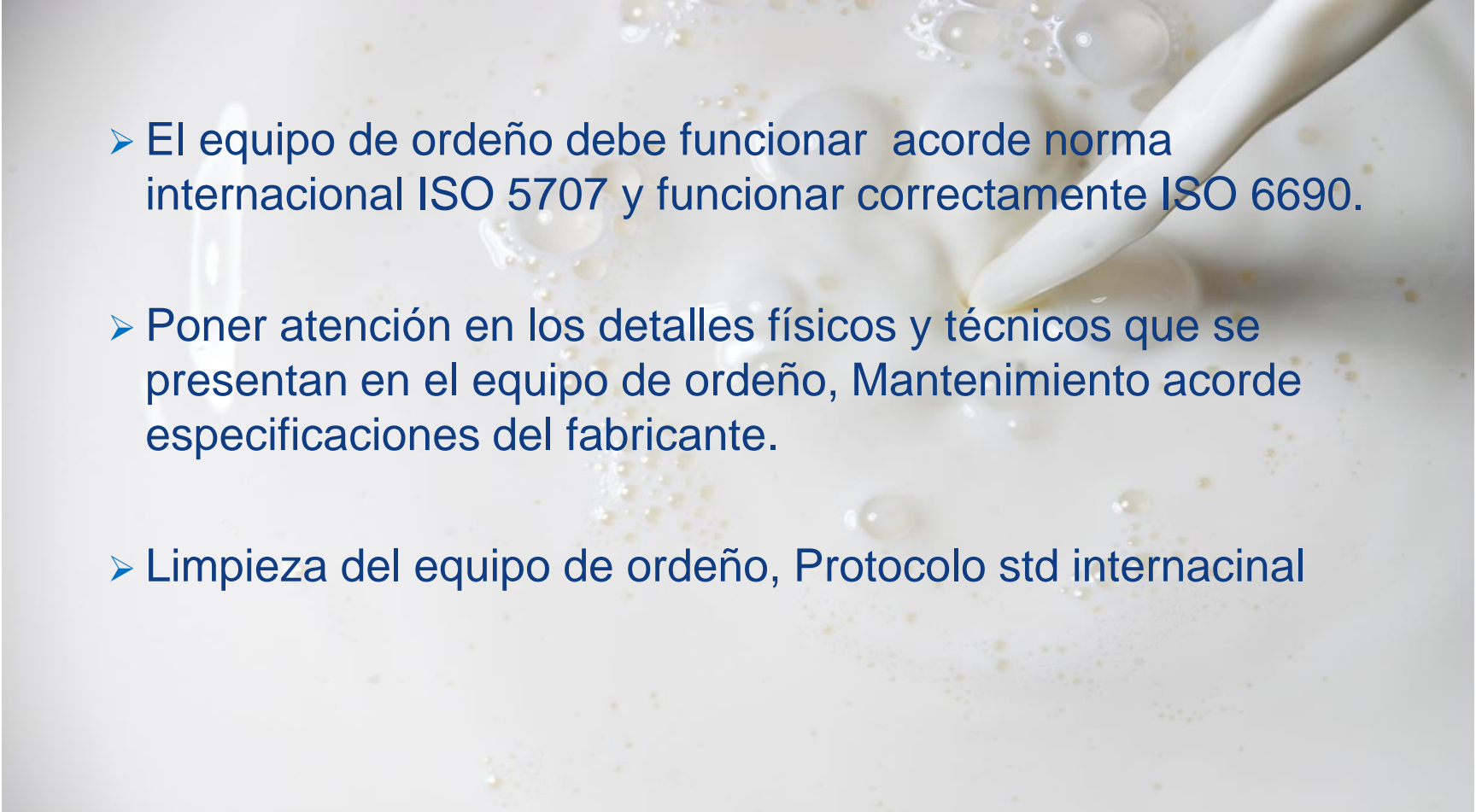
Es el que trabaja más horas que otros equipos juntos.

Se debe mantener en perfectas condiciones mecánicas.

Si no, puede ser un peligro en la salud de su ganado y verse afectada la calidad de la leche y la rentabilidad de la explotación lechera.



Equipo de ordeño

- 
- El equipo de ordeño debe funcionar acorde norma internacional ISO 5707 y funcionar correctamente ISO 6690.
 - Poner atención en los detalles físicos y técnicos que se presentan en el equipo de ordeño, Mantenimiento acorde especificaciones del fabricante.
 - Limpieza del equipo de ordeño, Protocolo std internacinal

Rutina y Procedimiento de Ordeño



Procedimiento de Ordeño

- ✓ Presello.
- ✓ Despunte (3 – 5 chorros de leche por pezón)
- ✓ Presello (20 – 30 seg).
- ✓ Secado.
- ✓ Colocado de unidad (80 seg después del despunte).
- ✓ Atención siniestros.
 - Deslizamientos de pezonera
 - Caída de unidad de ordeño
- ✓ Sellado.
- ✓ Enjuague de Unidad ordeño.
- ✓ Desinfección de unidad de ordeño

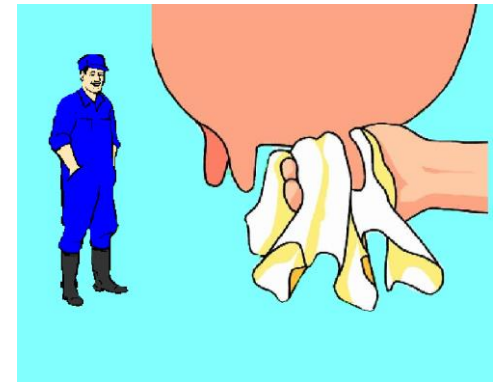
Rutina de ordeño

Use procedimientos sencillos

- **Métodos fáciles de ejecutar**
 - ✓ Métodos cómodos son más eficientes
 - ✓ Se pueden ejecutar con cuidado
 - ✓ Ayuda a concentrarse en el ordeño

- **La menor cantidad de pasos posibles**
 - ✓ Rutinas aburridas = posibles errores
 - ✓ Dificultosa = posibles errores
 - ✓ Demasiados pasos = posibles errores

- **Tan delicada como sea posible (para la piel)**
 - ✓ Piel de los pezones
 - ✓ Piel de las manos de los ordeñadores



Higiene antes del ordeño

Rutina de ordeño

➤ Lavarse las manos

- Grupo de ordeñadores lavándose con solución desinfectante
 - 30% de las manos permanecieron contaminadas
- Grupo de ordeñadores lavándose solo con agua
 - 95% de las manos permanecieron contaminadas
- *Streptococcus agalactiae* se encontraron en manos de ordeñadores 10 días después de haber estado en contacto con animales contaminados



➤ Uso de guantes de nitrilo para ordeño limpios

- Para ser eficaces los guantes deben ser enjuagados frecuentemente en solución desinfectante durante el ordeño (yodo a 50 ppm)

➤ Sala de ordeño limpia

- Un estudio sobre suciedad de salas de ordeño muestra (Barkema, et al. 1998)
 - 15% del hato tiene $RCS < 150\ 000$
 - 31% del hato tiene $RCS > 250\ 000$



Procedimiento de ordeño

Siembra con Isotopo

de ordeñador con manos sin lavar



de ordeñador con manos lavadas con agua



Procedimiento de ordeño



- ✓ Medida de control de mastitis.
- ✓ Mantener las manos más limpias.
- ✓ Evitar diseminación de bacterias
- ✓ Proteger las manos
- ✓ Indispensables cuando hay lesión en manos del ordeñador y/o pezones. (problemas virales)

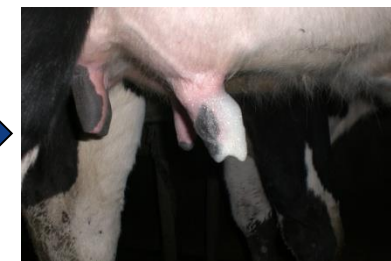
Procedimiento de ordeño



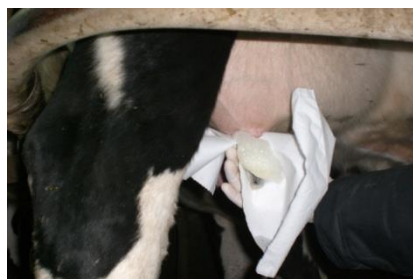
A- Despunte



B- Limpieza y Desinfección



C- 15 a 20 segundos



D- Secado con toalla



E- Colocación de pezoneras

Control de la calidad de la leche

Antes del ordeño comprobar el estado de la ubre y de la leche



Compruebe si la ubre se ve normal

La ubre **NO** debe estar:

- dura
- caliente
- inflamada
- roja

Mastitis???

Recuento de Células Somáticas - CMT

CMT – sobre placa blanca

Interpretación:

- Sin consolidación de la solución 0-200 *1000/ml
- /+ Rebaños delicados sin consolidación 150-550 *1000/ml
- + Consolidation visible en la placa
550-1500 *1000/ml
- ++ Densidad alta, gel visible 850-5000 *1000/ml
- +++ Gel que aparece de inmediato >5000 *1000/ml



Antes del ordeño comprobar el estado de la ubre y de la leche



Despunte



Compruebe si la leche parece normal

- Sin sangre
- No hay grumos, coágulos, secreción acuosa...

Ordeñar en un balde separando la leche potencialmente contaminada

"El despunte antes de lavar-desinfectar y secar los pezones redujo la incidencia de nuevas infecciones del 18 al 7%", estudios de USDA (Beltsville)

"Se ha demostrado que el despunte reduce significativamente (2,5 veces menos) el riesgo de contaminación de las bacterias L. Monocytogenes (Hassan et al., 2001)

Despunte

Extracción de los primeros chorros de leche de cada cuarto (3 - 5)

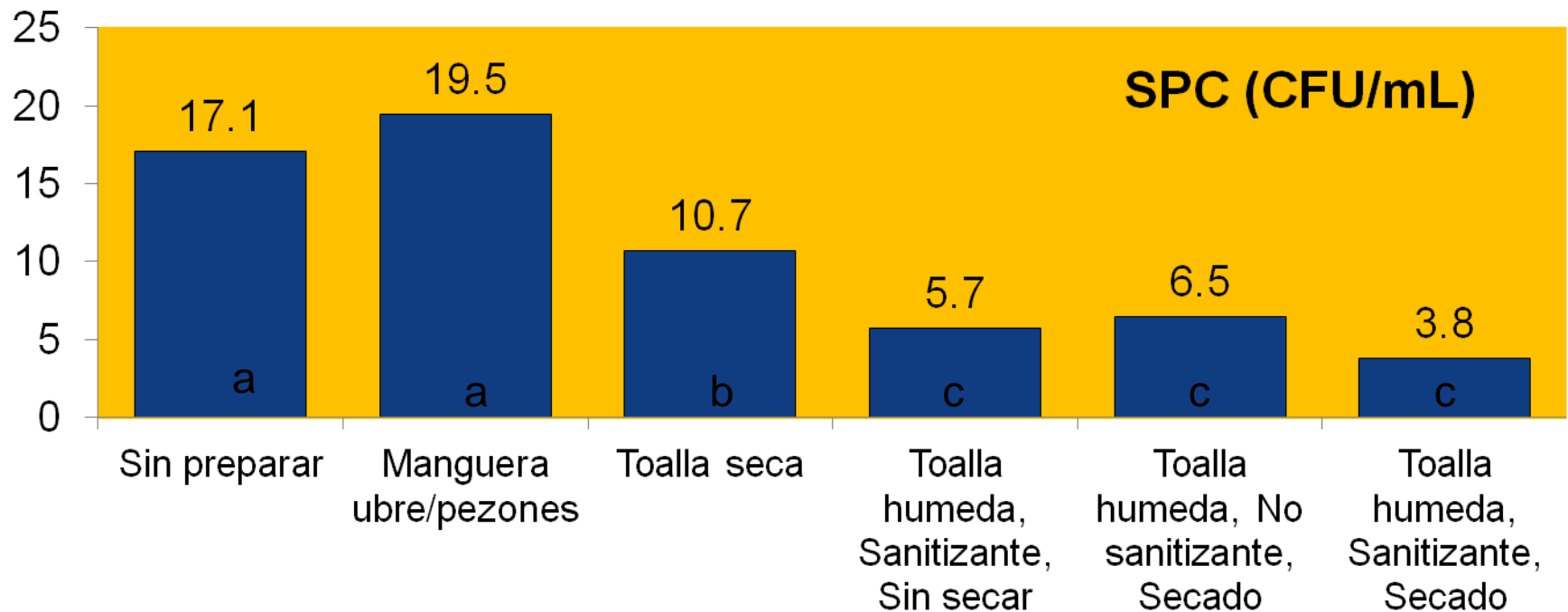
- Presencia de mastitis
- Estimula la bajada de leche
- Se extraen los primeros chorros de leche (alto ccs. y bacterias)



Limpieza de pezones antes del ordeño

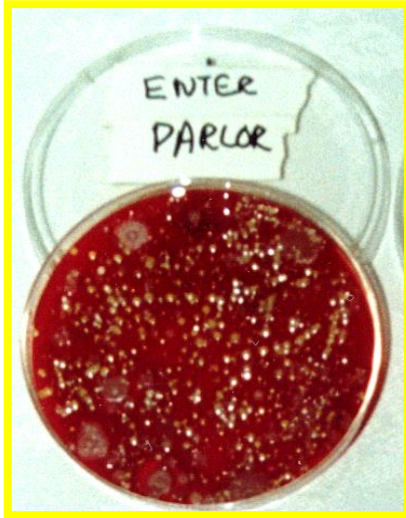
- Nada
- Secado de la ubre con papel o toalla de tela
- Limpieza con papel de un solo uso
- Usando solución de jabón en balde + toallas textiles
- Rociado con agua + secado con papel
- Uso de toallas húmedas
- Espuma + secado con papel de un solo uso
- Pre inmersión + secado con papel

Preparación de ubres y recuentos bacterianos



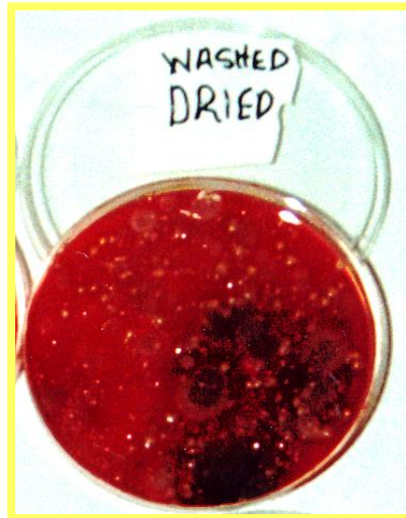
Source: Galton *et al*, 1984

Procedimiento de ordeño



Siembra con Isotopo

de pezones de vacas al entrar a la sala de ordeño



de pezones de vacas después de ser lavados con agua y secados

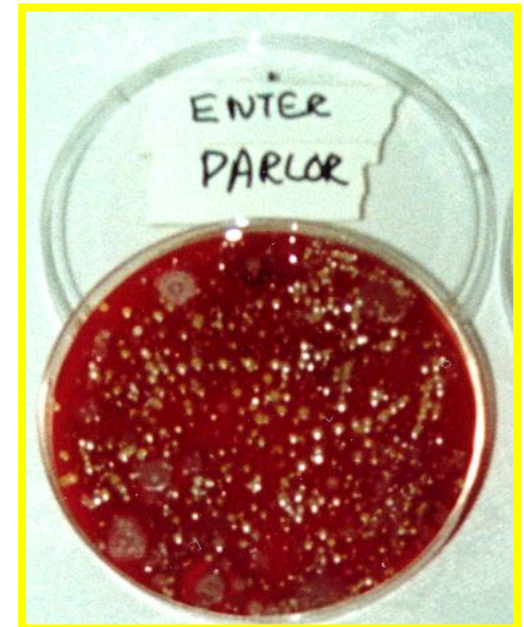
De buen uso al pre-sellador

- Cual es el objetivo del pre-sellador?
- Que tan rápido elimina las bacterias causantes de la mastitis?
- Que otras propiedades son importantes?
 - Detergencia
 - Emolientes?



Public

Siembra con Isotopo



Presello

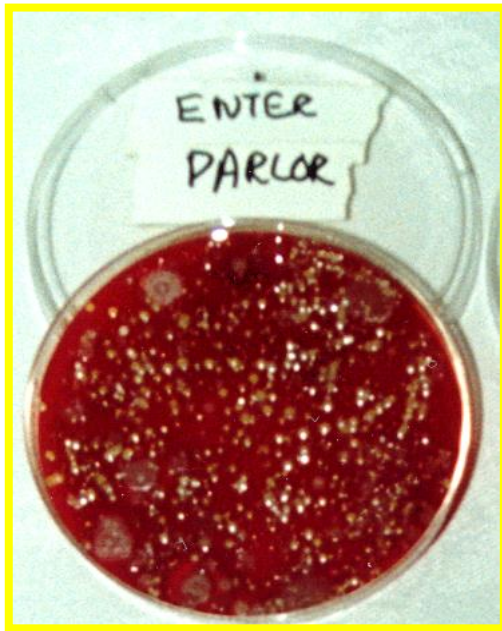
Considerar Presellar dos veces

- Control de mastitis por patógenos medioambientales
- Control de mastitis por patógenos contagiosos
- Reduce la tasa de estas infecciones hasta un 50%
- Se requiere de 20 a 30 segundos de contacto

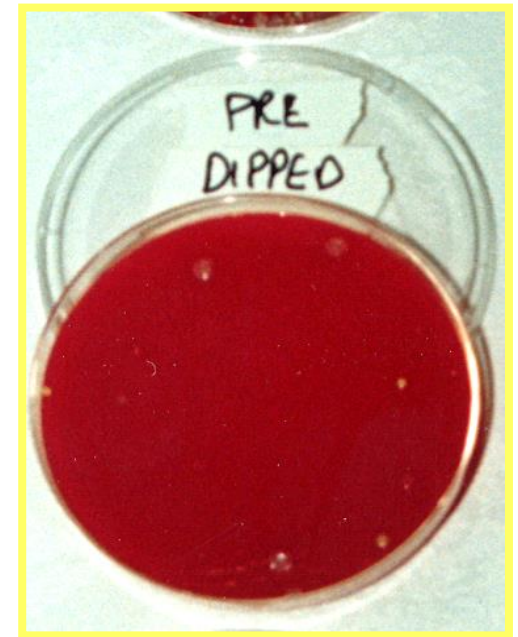


De buen uso al pre-sellador

Siembra con Isotopo



Siembra con Isotopo



Uso de toalla individual

Limpie los pezones con cuidado

- Una ves desinfectados, limpie y seque los pezones antes del ordeño.
- Use solo Preselladores y desinfectantes apropiados y aprobados.
- Utilice toallas desechables.
 - Papel.
 - Impregnadas con desinfectante.
 - Microfibra limpias y desinfectadas.
- Nunca utilice la misma toalla para mas de una vaca.
- A los pezones muy sucios, límpielos primeramente con agua. Séquelos perfectamente y continúe con el procedimiento de ordeño.



Secado y limpieza de pezones



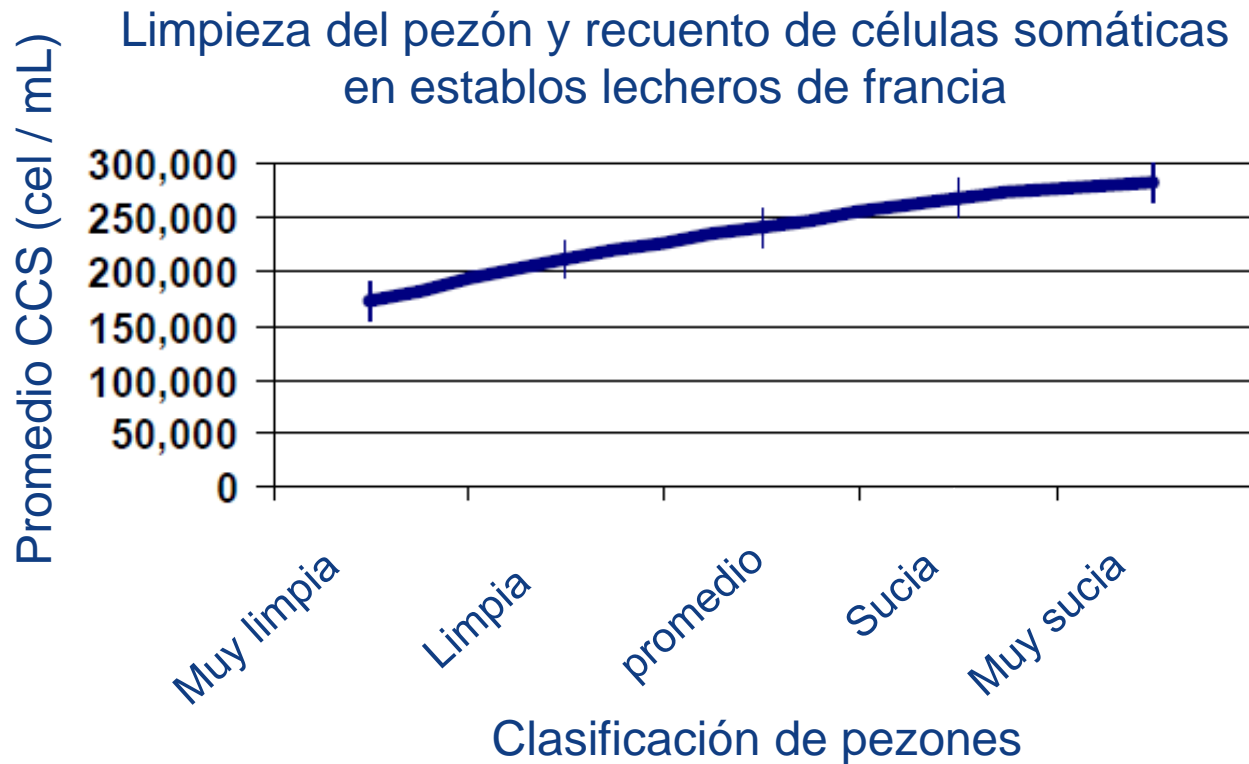
Limpieza correcta



Preparación deficiente

- Causa de mastitis.
 - Sublínica
 - Clínica
- Problemas de calidad de leche

Limpeza del pezón y CCS

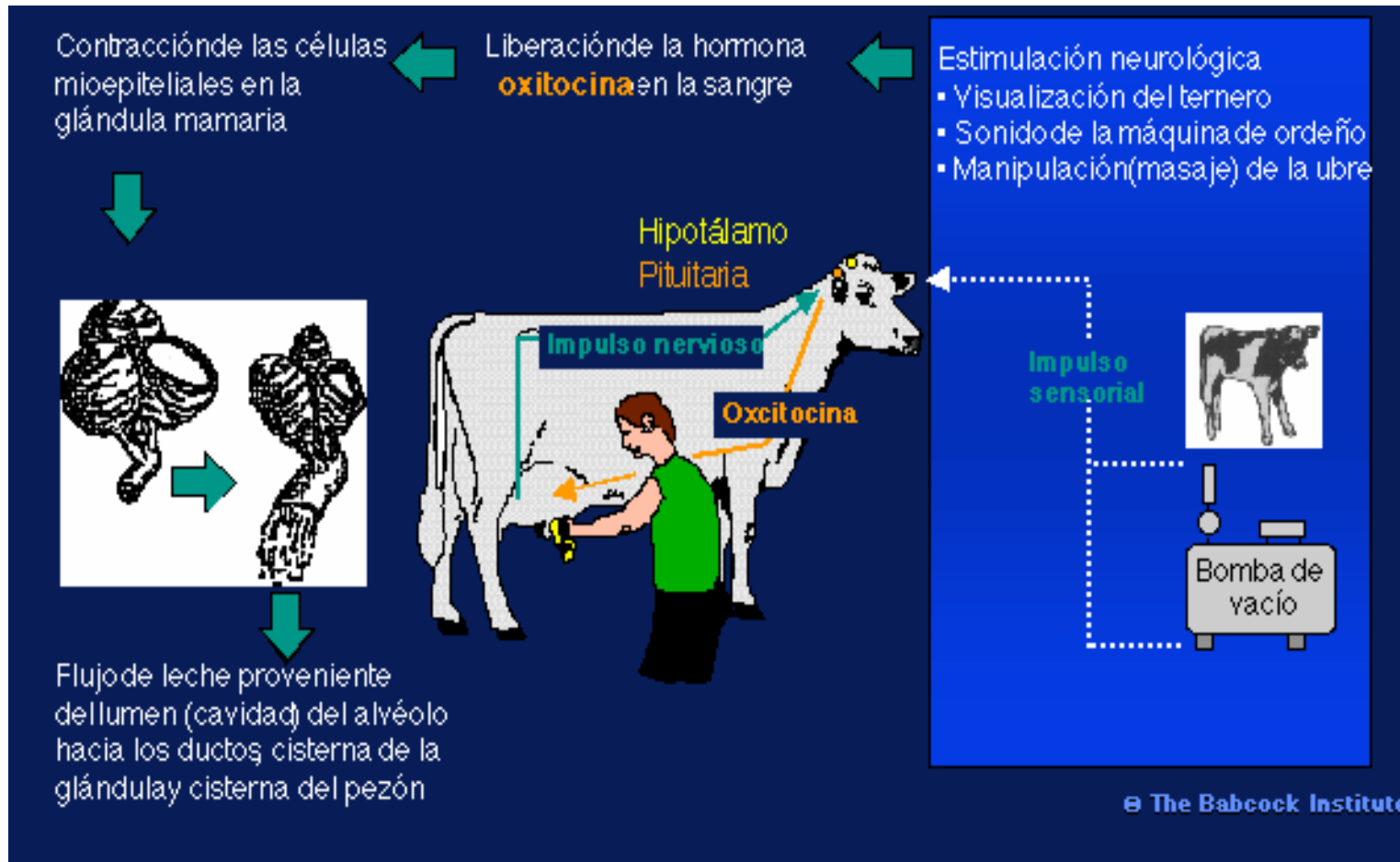


Colocación de la unidad de ordeño

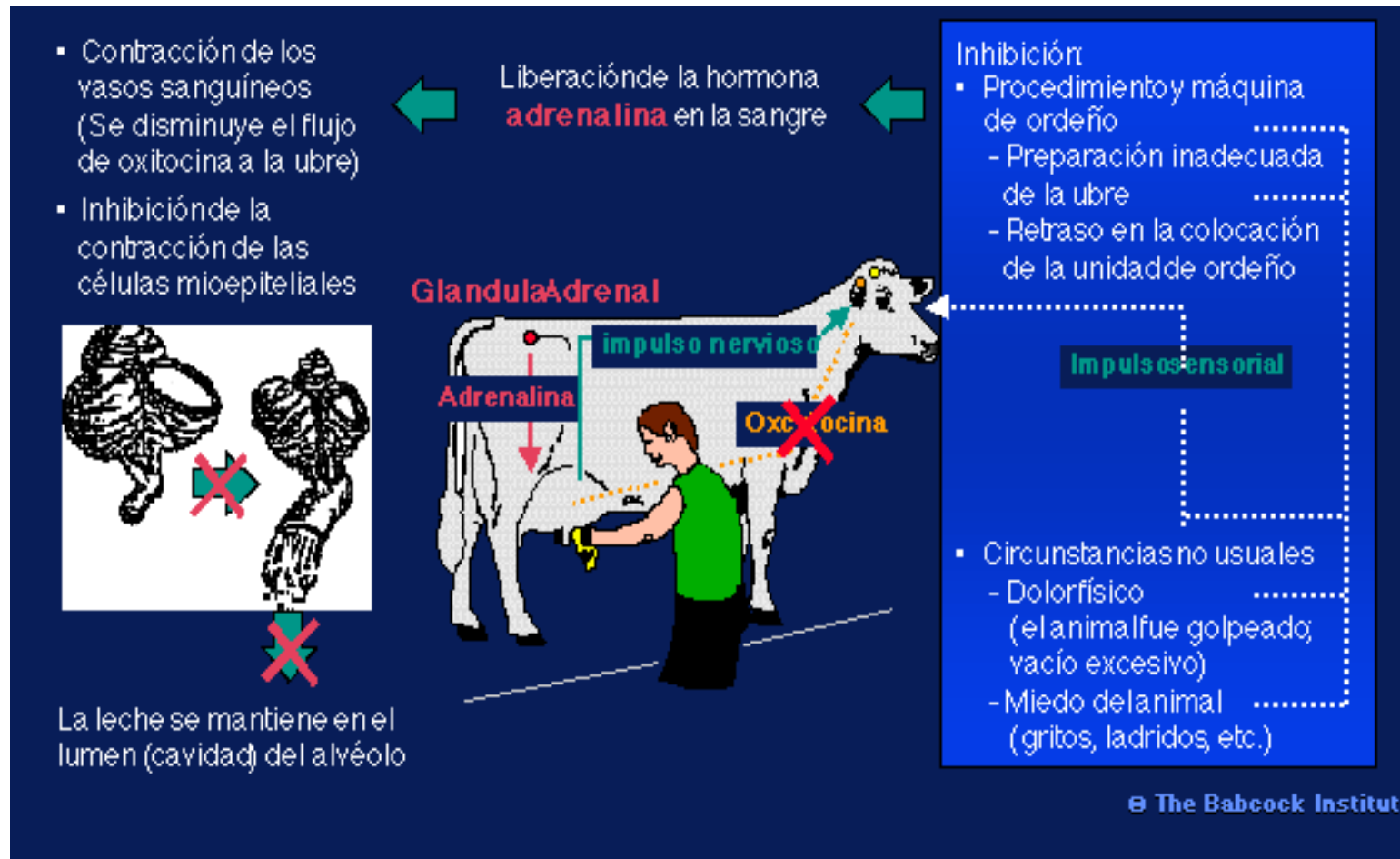


Acoplar la unidad de ordeño en ubres limpias, secas y bien estimuladas

Preparación de la vaca para el ordeño

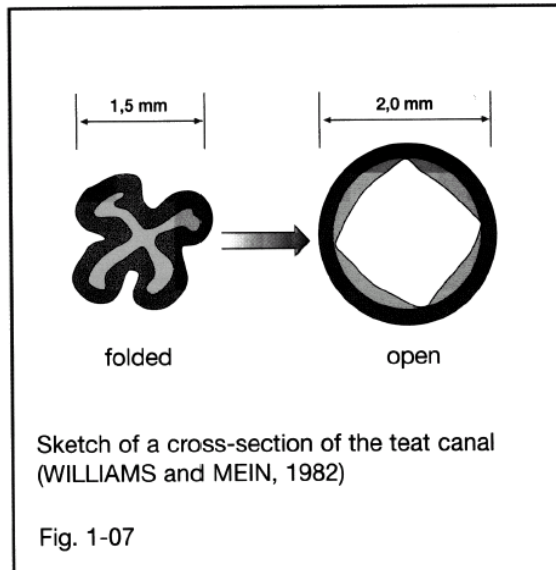


Preparación de la vaca para el ordeño

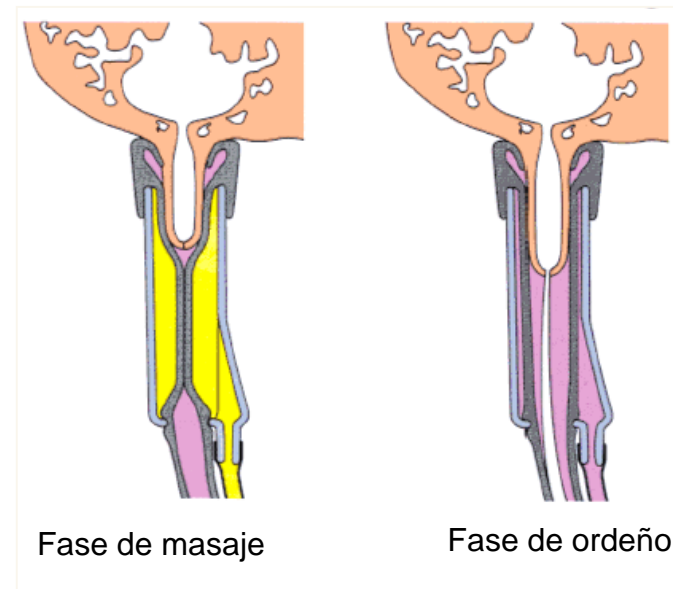


Preparación de la vaca para el ordeño

La oxitocina



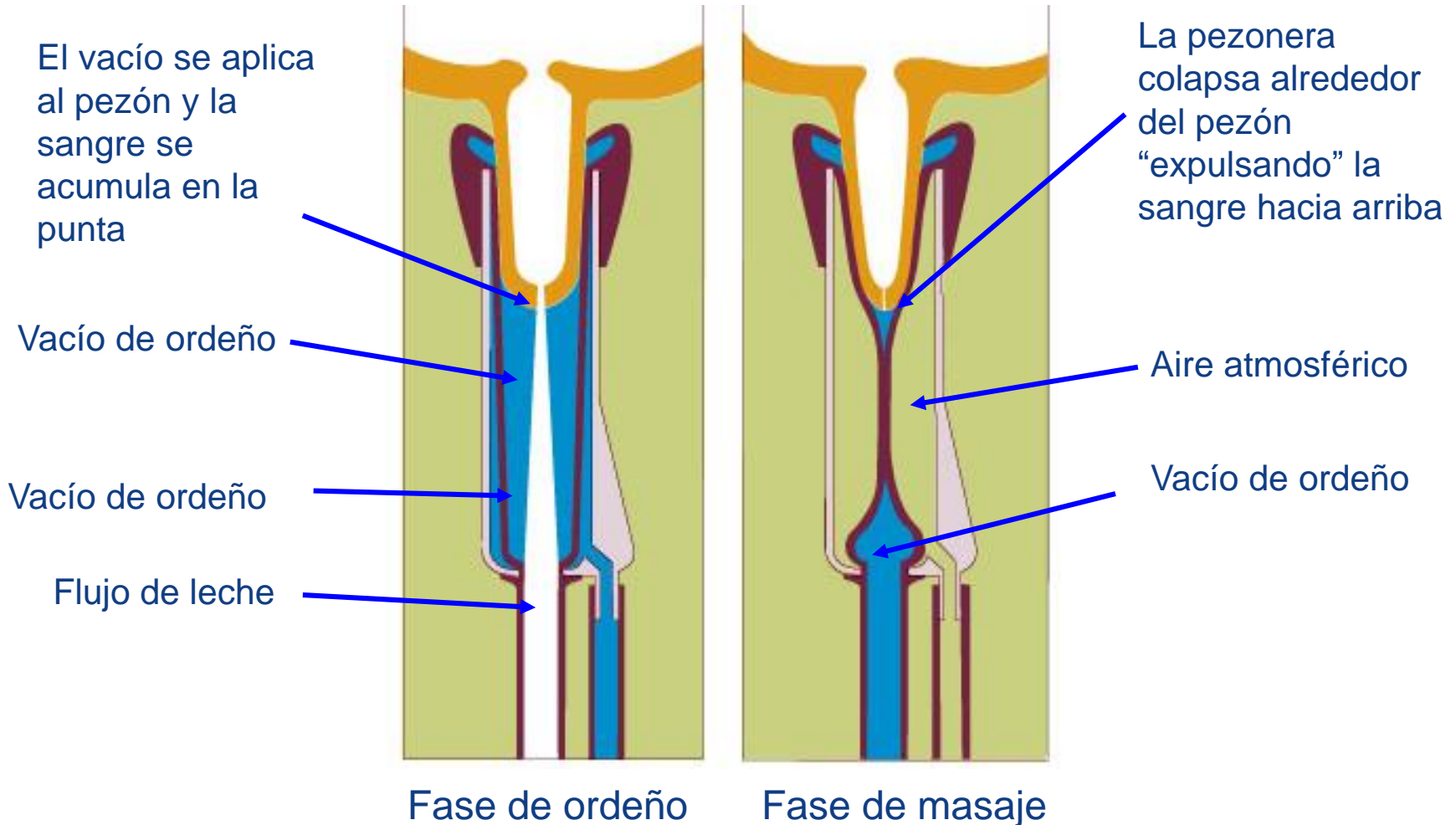
Acción del ternero sobre
los pezones



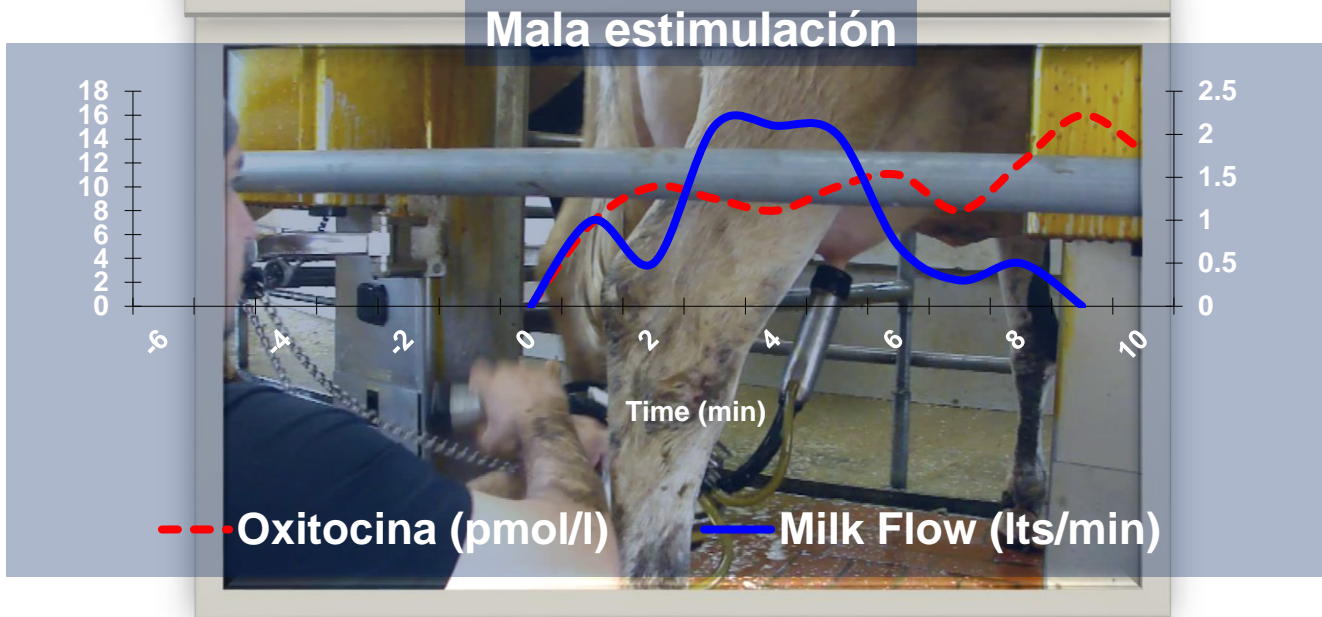
La máquina de ordeño imita
la succión y el masaje del
ternero sobre los pezones

Preparación de la vaca para el ordeño

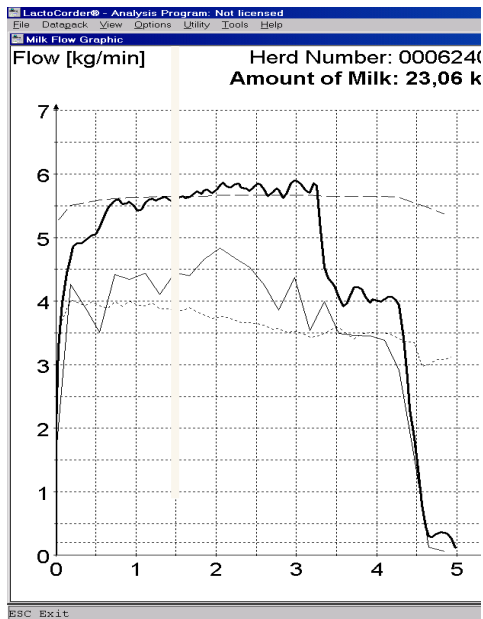
El correcto trabajo de la pezoneras asegura buena circulación de sangre y punta de pezones mas saludables



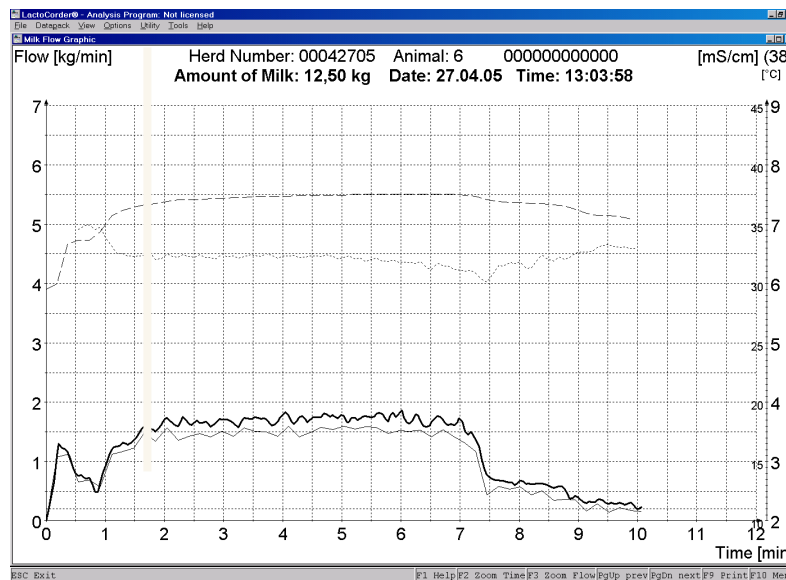
Flujo de leche



Comparativo buen – mal estímulo - calibración



90 s



90 s

Colocación y alineación de unidad de ordeño



Asegure una correcta alineación



Alinea la unidad aún con cuartos ciegos

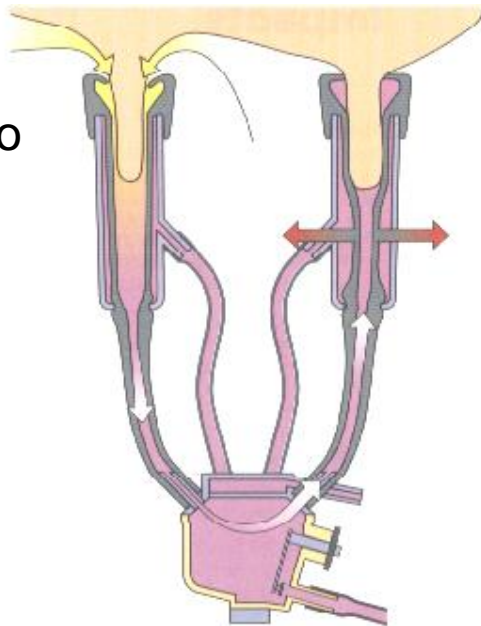


Deslizamiento de mamilas

- Se evita con el correcto ajuste de la unidad
- Contribuye a nuevas infecciones
- Contribuye a contaminación de la leche.
- Contribuye a Lipolisis
- Se predisponen fluctuaciones de vació



Deslizamiento



- Transmisión de microorganismos de mastitis de vaca a vaca.
- Las infecciones cruzadas representan del 40 al 50 % de nuevas infecciones

Ordeño



Internal

Evite el sobre ordeño

- Observe el proceso del ordeño.
- Los indicadores de flujo son útiles.
- Los controladores de flujo de los retiradores automáticos de pezoneras reducen el efecto negativo del sobre ordeño.

