

BACTERIAS ASOCIADAS A MASTITIS CAPRINA EN LA CIÉNEGA DE CHAPALA, MICHOACÁN Y SUS REPERCUSIONES EN LA CALIDAD DE LA LECHE

José Antonio Aguilar-López^{1-a} y Ricardo Ivan Medina-Estrada¹

¹Licenciatura en Genómica Alimentaria, Universidad de La Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo. Avenida Universidad No. 3000, Colonia Lomas de la Universidad, 58103, Sahuayo, Michoacán, México.

^aAutor responsable y de correspondencia: jaguilar@ucienegam.edu.mx

Proyecto desarrollado de noviembre 2019 a febrero 2020

1.- Objetivos Planteados en el proyecto.

OBJETIVO GENERAL

Realizar una correlación entre la sanidad animal y la calidad de la leche de cabra en la región Ciénega de Chapala, Michoacán.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar la prevalencia e incidencia de mastitis en hatos lecheros caprinos de la Ciénega de Chapala, Michoacán.
2. Aislar e identificar las bacterias asociadas a mastitis mediante secuenciación del gen 16s.
3. Evaluar el perfil de resistencia a antibióticos de las bacterias asociadas a mastitis caprina.
4. Analizar la calidad de la leche de cabras sanas e infectadas.
5. Correlacionar el estado de salud del animal (Mastitis) con la calidad de la leche.
6. Establecer estrategias de buenas prácticas pecuarias con los productores de la región.

2.- Objetivos logrados del proyecto.

1. Determinar la prevalencia e incidencia de mastitis en hatos lecheros caprinos de la Ciénega de Chapala, Michoacán:

Se realizaron muestreos en campo para realizar la prueba de california (Diagmastin®), para identificar cabras con mastitis. Dichos muestreos se llevaron a cabo en 3 hatos lecheros de 3 diferentes municipios (Villamar, Pajacuarán y Venustiano Carranza). En conjunto se muestrearon 150 cabras en línea de producción, y de los animales que resultaron positivos a la prueba de california (56 cabras), se procedió a coleccionar muestras de leche para posteriormente ser procesadas en el laboratorio de biología molecular de la LGA-UCEMICH. En la tabla 1 se muestra el porcentaje de prevalencia (casos) del universo de la muestra. Sólo se pudo repetir el muestreo e 1 hato lechero, para evaluar la incidencia (nuevos casos) de mastitis (Tabla 1).

Tabla 1. Prevalencia e Incidencia de mastitis caprina.

Hato lechero	Animales muestreados	Prevalencia (%)	Incidencia (%)
Venustiano Carranza	50	42	15
Villamar	50	28	-
Pajacuarán	50	42	-
Total	150	37%	-

2. Aislar e identificar las bacterias asociadas a mastitis mediante secuenciación del gen 16S:

Para realizar la caracterización molecular de los aislados asociados a mastitis caprina, fue necesario, primeramente, cultivar y sub-cultivar los diferentes aislados obtenidos de cada muestra que resultó positiva a mastitis. Para ello se inoculó leche en medios de cultivo nutritivos (Agar y caldo LB), para permitir el crecimiento adecuado de los distintos aislados bacterianos (incubaciones de 18-24 h durante 37°C). Hasta el momento se tienen 50 aislados puros. Posteriormente se agruparon en grupos en función de sus características macroscópicas y en función del resultado de la tinción Gram. Donde se obtuvieron 27 aislados Gram positivos y 23 aislados Gram negativos.

La extracción de ADN genómico bacteriano se llevó a cabo bajo el método de Trizol (Sigma) y se revisó la integridad del ADNg con ayuda de una electroforesis en gel de agarosa al 1 %. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó con el kit de PROMEGA, según las instrucciones del proveedor, utilizando oligos específicos para amplificar el gen ribosomal 16s (Directo UBF 5'AGAGTTTGATCCTGGCTGAG 3') (León-Galván, 2015) y Reverso 1492 5'GGTTACCTTGTTACGACCTT 3') (León-Galván, 2015) con Tm 55°C). De igual manera se verificó la integridad del amplicón mediante electroforesis en geles de agarosa al 1%.

Queda pendiente enviar a secuenciar los productos de amplificación para culminar la caracterización molecular.

3. Evaluar el perfil de resistencia a antibióticos de las bacterias asociadas a mastitis caprina:

En la tabla 2 y 3 se muestran los perfiles de resistencia a antibióticos de los diferentes aislados obtenidos hasta el momento. Cabe destacar que cada muestra de leche positiva a mastitis, arroja en promedio 5 aislados (bacterias) diferentes, lo cual se ve reflejado en una gran diversidad microbiológica en cada animal y por consecuencia en cada hatillo lechero.

Tabla 2. Perfiles de resistencia a antibióticos de aislados Gram negativos.

AISLADO	Antibiótico											
	AK	AM	CB	CF	CFX	CPF	CL	GE	NET	NF	NOF	SXT
CCGN1	I	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S
CCGN2	S	S	R	S	R	I	S	S	S	S	R	S
CCGN3	R	S	R	S	R	I	I	R	R	R	I	R
CCGN4	S	S	S	S	I	I	S	S	S	S	I	S
CCGN5	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	I	R
CCGN6	R	R	R	R	R	I	S	R	R	I	I	I
CCGN7	S	S	R	S	S	I	S	S	S	S	I	S
CCGN8	R	S	R	S	R	S	R	R	I	S	S	S
CCGN9	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CCGN10	R	R	R	S	R	R	S	R	I	S	I	I
CCGN11	I	R	R	R	R	I	S	I	R	S	I	R
CCGN12	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	I	S
CCGN13	R	I	R	R	R	I	R	S	I	S	I	R
CCGN14	R	S	R	S	I	S	S	S	S	S	R	S
CCGN15	R	S	S	S	R	S	I	R	R	S	I	S
CCGN16	R	S	S	S	R	I	I	R	I	S	R	S
CCGN17	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	R	R
CCGN18	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
CCGN19	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	I
CCGN20	S	I	R	R	R	R	R	S	I	S	R	S
CCGN21	R	R	R	R	I	R	I	R	S	R	R	I
CCGN22	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
CCGN23	I	R	R	R	R	S	I	S	R	S	S	S

Tabla 3. Perfiles de resistencia a antibióticos de aislados Gram positivos.

AISLADO	Antibiótico											
	AM	CF	CFX	CPF	CLM	DC	E	GE	PE	TE	SXT	VA
9940 D	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
9948 D3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
9948 D2	S	I	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R
9980 I	S	I	S	I	I	R	R	R	R	R	R	R
001 I1	S	I	R	I	I	R	R	I	R	R	R	R
9948 I2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
1224 D1	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R
9940 I1	R	R	R	R	I	R	R	R	R	S	R	R
9983 D	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R
001 D	I	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
4832 D1	S	R	I	R	S	R	R	R	R	R	R	R
9984 I2	S	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
4840 I2	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
4810 I1	R	I	I	R	R	R	R	R	R	I	R	R
9980 D	R	I	R	R	R	R	S	R	R	S	R	I
9959 I2	S	I	R	R	I	I	R	R	R	I	R	R
4840 I1	R	S	S	S	S	S	R	S	R	I	S	S
9987 I1	R	I	R	R	R	R	R	S	S	R	I	S
9948 I1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
9948 D1	R	I	R	I	S	R	R	R	R	R	R	R
4832 D2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
9949 I	I	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R
9989 I1	S	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
1224 D2	I	S	R	I	R	S	R	S	R	R	S	S
4825 I	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
9981 I	I	I	I	S	S	I	R	R	R	I	R	R
9987 I2	S	I	I	I	I	R	R	R	R	I	R	R

4. Analizar la calidad de la leche de cabras sanas e infectadas:

Se evaluó el pH de las muestras que resultaron positivas a mastitis y se encontró una correlación directa entre la infección y el incremento en la acidez de la leche (decremento del pH), lo cual se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Promedios del pH en leche.

pH en leche	VENUSTIANO CARRANZA	VILLAMAR	PAJACUARÁN	TOTAL
Cabras sanas	6.71	6.79	6.56	6.686666667
Cabras con mastitis	6.32	6.51	6.4	6.41

5. Correlacionar el estado de salud del animal (Mastitis) con la calidad de la leche:

Si bien hacen falta evaluar otros parámetros asociados a la calidad de la leche (proteína, grasa, etc.), este primer acertamiento nos da la pauta para comenzar a tomar estrategias que nos permitan mejorar el estado sanitario de las cabras lecheras, mejorando su bienestar animal y por consecuencia mejorar la calidad del producto. Con el objetivo de tener elementos para que el productor posicione su producto en un mejor mercado y a mejores precios.

6. Establecer estrategias de buenas prácticas pecuarias con los productores de la región:

Se ha estado trabajando con los productores para ofrecerles propuestas de mejora en sus hatos lecheros. A 2 productores (Pajacuarán y Venustiano Carranza) se les ha hecho llegar un informe del estatus sanitario de su hato lechero (con respecto a la mastitis), donde se plasman observaciones y sugerencias de mejora (Anexo 1)

3.- Gastos programados

Etapa 1.- Muestreo, determinación de la prevalencia de mastitis, aislamiento de bacterias asociadas a mastitis y evaluación de la calidad de la leche.			
<i>Rubro</i>	<i>Concepto</i>	<i>Costo</i>	<i>Justificación</i>
Apoyo a la formación de recursos humanos	Beca tesista de licenciatura	\$4,000.00	Ver 1
Materiales y consumibles de uso directo	Reactivos y material de laboratorio	\$19,000.00	Ver 2
Trabajo de campo	Viáticos	\$4,000.00	Ver 3
Sub-total		\$15,000.00	
Etapa 2.- Caracterización de bacterias asociadas a mastitis y perfiles de resistencia a antibióticos.			
<i>Rubro</i>	<i>Concepto</i>	<i>Costo</i>	<i>Justificación</i>
Apoyo a la formación de recursos humanos	Beca tesista de licenciatura	\$4,000.00	Ver 1
Materiales y consumibles de uso directo	Reactivos y material de laboratorio	\$17,000.00	Ver 2
Sub-total		\$21,000.00	
Etapa 3.- Buenas prácticas pecuarias			
<i>Rubro</i>	<i>Concepto</i>	<i>Costo</i>	<i>Justificación</i>
Difusión de resultados	Vinculación	\$4,000.00	Ver 4
Sub-total		\$4,000.00	
Total		\$52,000.00	

4.- Monto Erogado

FOLIO	PROVEEDOR	MONTO
D-1145	INCISE	10,090.84
D-1176	INCISE	7,535.36
D-1302	INCISE	12,000
C-6834	SERVICIOS COMERCIALES FGS DE RL DE CV	9,795.39
K-8069	UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA	2,500.00
TMKA/2285075	OFFICE DEPOT	3,795.25
10707	ISCO	750.00
43553588	ELECTRONICA CHITO	650.00
A 594	GRUPO ESPECIALIZADO CASTELLANOS S.A. DE C. V.	1120.04
C-3856	LA CASONA	180.00
265498601	CADENA COMERCIAL OXXO, SA DE CV	164.50
A 552	GRUPO ESPECIALIZADO CASTELLANOS S.A. DE C. V.	850.18
AAA1AE16	CLAUDIA AMAYA MENDOZA	545.20
264956637	CADENA COMERCIAL OXXO, SA DE CV	102.00
2AB716BA	DARIO ALEJANDRO FLORES BUENROSTRO	660.01
612F19C2-6B75-49D6-A371-DAD947206720	ESTAFETA	250.06
A 605	GRUPO ESPECIALIZADO CASTELLANOS S.A. DE C. V.	800.34
GUD 265818411	CADENA COMERCIAL OXXO, SA DE CV	220.50
TOTAL		52,009.67

5.- Gasto ejercido

FOLIO	PROVEEDOR	MONTO
D-1145	INCISE	10,090.84
D-1176	INCISE	7,535.36
D-1302	INCISE	12,000
C-6834	SERVICIOS COMERCIALES FGS DE RL DE CV	9,795.39
K-8069	UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA	2,500.00
TMKA/2285075	OFFICE DEPOT	3,795.25
10707	ISCO	750.00
43553588	ELECTRONICA CHITO	650.00
A 594	GRUPO ESPECIALIZADO CASTELLANOS S.A. DE C. V.	1120.04
C-3856	LA CASONA	180.00
265498601	CADENA COMERCIAL OXXO, SA DE CV	164.50
A 552	GRUPO ESPECIALIZADO CASTELLANOS S.A. DE C. V.	850.18
AAA1AE16	CLAUDIA AMAYA MENDOZA	545.20
264956637	CADENA COMERCIAL OXXO, SA DE CV	102.00
2AB716BA	DARIO ALEJANDRO FLORES BUENROSTRO	660.01
612F19C2-6B75-49D6-A371-DAD947206720	ESTAFETA	250.06
A 605	GRUPO ESPECIALIZADO CASTELLANOS S.A. DE C. V.	800.34
GUD 265818411	CADENA COMERCIAL OXXO, SA DE CV	220.50
TOTAL		52,009.67

6.- Autoevaluación de los colaboradores en el proyecto.

El proyecto ha resultado muy interesante, ya que los productores de leche caprina, en la región, le venden la misma a la empresa “Coronado”, para su procesamiento, sin embargo, la baja calidad microbiológica con la que es producida provoca el bajo costo que le pagan al productor, quien no alcanza a cubrir los costos de producción, por lo que en este proyecto se tratará de ayudar a los ganaderos, productores de leche de cabra a mejorar su producto o a que aprendan a darle valor agregado da su producto.



7.- Observaciones que considere podrían mejorar futuras convocatorias de apoyo a proyectos de investigación.

Considero que la convocatoria debería de salir a comienzos del año, si bien es cierto que los recursos tardan en llegar, el tener la certeza de que un proyecto va a ser o no financiado, permite tomar decisiones adecuadas en torno al desarrollo del proyecto. Solicitaría las gestiones pertinentes para intentar incrementar el apoyo económico para la parte de investigación.



