



Avaliación da qPCR para a detección de *Prototheca spp.* en leite de tanque (I)

Neste artigo presento a primeira parte do meu traballo Fin de Grao. Nela abordo a etiología deste axente causante da mamite, a súa epidemioloxía e patoxenia, así coma os distintos métodos de diagnóstico da doenza.

Manuel Otero Coto

Grao de Veterinaria

Investigación en Sanidade Animal de Galicia (Invesaga)

Tutor: Alberto Prieto Lago (Universidade de Santiago de Compostela)

INTRODUCCIÓN

A mamite é a inflamación da glándula mamaria, producida maioritariamente por infección. Implicáronse diversos grupos de bacterias, micoplasmas, fermentos e algas como causa da mamite

bovina (Watts *et al.*, 1988), aínda que tamén se sinalaron factores etiolóxicos non infecciosos.

A infección causa cambios patolóxicos na secreción de leite das células epiteliais, o que diminúe a capacidade funcional da glándula.

Ademais, dependendo do tipo de patóxeno, as perdas poden continuar en seguintes lactacións. A maioría das infeccións resultan nunha inflamación local ou leves casos clínicos (Ruegg, 2017); con todo, as infeccións crónicas poden derivar en agalactia no cuarteirón afectado ou, en casos clínicos severos, nunha profunda afectación sistémica que de maneira ocasional pode levar á morte.

A mamite bovina provoca as perdas económicas máis importantes nas explotacións leiteiras de gando bovino (Halasa *et al.*, 2007). Ao afectar á glándula mamaria, a primeira perda económica que se deriva da mamite é a drástica diminución na produción e calidade do leite. Con todo, existen outras perdas importantes coma os custos derivados do veterinario, os tratamentos, repórter as vacas que se acaban sacrificando etc. (Beck *et al.*, 1992). Actualmente, a mamite bovina continúa sendo o principal problema sanitario para a industria láctea, a pesar dos grandes avances no diagnóstico e tratamento.

Dentro das mamites infecciosas, podemos sinalar a mamite causada por *Prototheca spp.* como unha das máis problemáticas e insidiosas.



► AO AFECTAR Á GLÁNDULA MAMARIA, A PRIMEIRA PERDA ECONÓMICA QUE SE DERIVA DA MAMITE É A DRÁSTICA DIMINUCCIÓN NA PRODUCCIÓN E CALIDADE DO LEITE

Este patóxeno afecta principalmente a vacas leiteiras de alta produción, muxidas mecanicamente e en moitos casos mantidas en condicións hixiénicas deficientes (Jánosi *et al.*, 2001a). A enfermidade adoita asociarse a unha redución significa-

tiva da produción de leite e a un forte aumento do RCS (reconto de células somáticas) por riba de 1.000.000 por mL (Lassa *et al.*, 2011).

A incidencia real desta mamite segue a ser unha incógnita, malia que cada vez é máis endémica en todo o mundo; con todo, crese que é moito maior que a rexistrada, dado que en ocasións o axente causal pode clasificarse erroneamente como fermento ou non crecer en condicións microbiolóxicas rutinarias (Jánosi *et al.*, 2001b). Doutra banda, algunhas especies de *Prototheca spp.* poden chegar a ser un risco para a saúde pública (Melville *et al.*, 1999), tendo en conta que este axente pode chegar a eliminarse en grandes cantidades a través do leite (Milanov *et al.*, 2016) e, ademais, é capaz de resistir procesos térmicos como a pasteurización (Melville *et al.*, 1999; Bozzo *et al.*, 2014). Por estes motivos, a prevención e control da presenza de *Prototheca spp.* Son de suma importancia para a industria láctea (Costa *et al.*, 1997).

ETIOLOXÍA

O xénero *Prototheca* inclúe varias especies diferenciadas de algas unicelulares e aerobias que viven predominantemente como saprófitas en ambientes acuosos con contido de material vexetal en descomposición; con todo, algunhas especies poden causar infección en humanos e tamén en animais, como é o caso da prototecose bovina. Este xénero foi descrito por primeira vez por Wilhelm Krüger en 1894 (Pore, 2011), e foi reclasificado como alga en 1913 dado que as súas esporas se producen internamente de maneira idéntica ás algas verdes do xénero *Chlorella* (Chodat, 1913). Segundo distintos autores, ao perder a súa capacidade fotosintética debido a que carece de clorofila (Pore *et al.*, 1983), as algas deste xénero convertéronse en heterótrofas debido á necesidade de obter enerxía por outra vía, un feito que lle confire o seu potencial patoxénico. A primeira descrición dunha mamite bovina ocasionada por unha alga do xénero *Prototheca* data de 1952 (Lerche, 1952). ►

DOS POSIBILIDADES EN HIGIENE DE PEZONES, UN MISMO PRINCIPIO ACTIVO:

DIÓXIDO DE CLORO

- Calidad cosmética asegurada por sus altas concentraciones de dermoprotectores sumados a la acción del ALOE VERA
- Alto rendimiento, menor consumo
- Acción ahuyentadora de moscas
- Disponible en envases fáciles de mezclar y manejar (16+4, 8+2, 4+1 kg)
- La mezcla permanece activa como mínimo 3 semanas

Lactox

Alta eficacia
a un coste óptimo



ProquiDeza

Higiene integral
respetuosa con el medio ambiente

Oxilact

Máxima eficacia debido a la más alta
concentración de principios activos

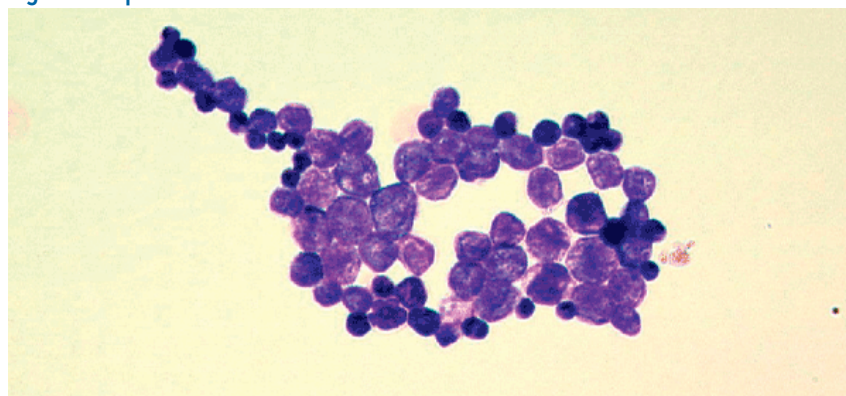


www.proquideza.com

Pol. Ind. Latín 2000 Parcela C42/43
36500 Latín (Pontevedra) España
Telf. (+34) 986 787 537 - info@proquideza.com

► ESTE PATÓXENO AFECTA PRINCIPALMENTE A VACAS LEITEIRAS DE ALTA PRODUCCIÓN, MUXIDAS MECANICAMENTE E EN MOITOS CASOS MANTIDAS EN CONDICIÓNS HIXIÉNICAS DEFICIENTES

Figura 1. Aspecto de *Prototheca wickerhamii* en tinción de Gram



Extraído de https://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Prototheca_wickerhamii.gif, con licenza de dominio público

Desde un punto de vista taxonómico, *Prototheca spp.* clasifícase dentro do Dominio Eukaryota, Reino Viridiplante, Filo Chlorophyta, Clase Chlorophyceae, Orde Chlorellales, Familia Chlorellaceae e Xénero *Prototheca* (Rapuntan *et al.*, 2009). Dentro do xénero recoñécense as seguintes especies: *P. wickerhamii*, *P. blaschkeae*, *P. cute*, *P. ulmea*, *P. stagnora*, *P. mirajii* e *P. zopfii*, considerándose esta última a especie maioritaria que causa mamite bovina (Möller *et al.* 2007). Outras especies, como *P. wickerhamii*, tamén se observaron nalgún caso como causantes de mamite bovina, aínda que afecta principalmente a humanos (Marques *et al.*, 2006; Bakula *et al.*, 2021).

Dentro da especie *P. zopfii* describíronse inicialmente tres biotipos, que foron reclasificados posteriormente en 2 xenotipos (1 e 2) e unha nova especie rebautizada como *P. blaschkeae* (antigo xenotipo 3) (Roesler *et al.*, 2006). O xenotipo 2 ten maior capacidade de adhesión ao epitelio mamario e considérase a principal causa de mamites nas vacas (Möller *et al.*, 2007; Ahrholdt *et al.*, 2012). Recentemente, novos estudos moleculares propuxeron que *P. zopfii* xenotipo 1 e 2 pasen a denominarse como dúas novas especies: *P. ciferrii* e *P. bovis*, respectivamente (Jagielski *et al.*, 2019a; Jagielski *et al.*, 2022). *P. zopfii* é unha alga unicelular inmóbil e aerobia que presenta unha morfoloxía esférica ou oval, cun diámetro entre 7-30 µm. A súa principal fonte de carbono é a glicosa (Pore, 1985). Reprodúcese de maneira asexual: a célula nai, denominada esporanxio,

forma entre 2 e 16 células fillas mediante divisións internas, que reciben o nome de esporanxiosporos ou endosporos. Estes permanecen dentro do esporanxio, envoltos nunha cápsula trilaminar de esporopolenina, ata a súa liberación ao medio ambiente (Jànosi *et al.*, 2001b). Na figura 1 podemos observar a morfoloxía de *Prototheca wickerhamii*.

Considérase que *P. zopfii* xenotipo 1 é máis predominante no medio ambiente que o xenotipo 2, pero non se cre que cause mamite; de feito, especulouse con que o xenotipo 1 é en realidade unha forma adaptada ao medio ambiente do xenotipo 2. Con todo, a infección experimental do gando con *P. zopfii* xenotipo 1 asociouse coa aparición de lesións granulomatosas na glándula mamaria (Ito *et al.*, 2011), e algún traballo menciona o illamento a partir de mostras de leite recollidas nunha mesma granxa tanto de *P. zopfii* xenotipo 2 (predominante) coma do xenotipo 1 (pouco común), así como de *P. blaschkeae* (Bozzo *et al.*, 2014).

EPIDEMIOLOXÍA

As diferentes especies ou cepas de *Prototheca* están estendidas por todo o mundo, polo que este tipo de mamite foi descrito en distintas zonas, documentándose en moitos países como Italia (Cammi *et al.*, 2008), Polonia (Jagielski *et al.*, 2019b), Brasil (Bueno *et al.*, 2006), Alemaña (Roesler *et al.*, 2006), Estados Unidos (Kano, 2020), China (Gao *et al.*, 2012), Xapón (Toyotome *et al.*, 2022) e España, entre outros (Jánosi *et al.*, 2001a; Abarca *et al.*, 2001).

O incremento na incidencia da infección causada por estes microorganismos pode chegar a ser un problema de saúde pública en países subdesenvolvidos, xa que pode chegar a afectar a adultos ou nenos inmunodeprimidos, por exemplo con cancro ou a sida (síndrome da inmunodeficiencia adquirida) (Heney *et al.*, 1991; Kaminski *et al.*, 1992; Laeng *et al.*, 1994; Gómez-Hernando *et al.*, 1996). Ademais, débese ter en conta que sobrevive ao someterse a temperaturas de pasteurización do leite (Melville *et al.*, 1999).

Aínda que *Prototheca spp.* pode estar presente en diferentes ambientes, atópase de maneira endémica naqueles con alta humidade, materia orgánica e temperatura relativamente elevada, actores que favorecen o crecemento da alga no ambiente (Costa *et al.*, 1998).

Tras a observación da súa presenza en feces (Pore e Shahan, 1988), algúns autores defenden que *Prototheca spp.* pode pasar a formar parte da flora do tracto gastrointestinal de humanos e animais, sobre todo cando se expoñen a espazos contaminados por este patóxeno. Un compoñente na parede celular, chamado esporopolenina, parece ser o que lle proporciona protección para resistir a degradación polo tracto gastrointestinal e ser eliminada en feces volvendo contaminar o medio ambiente (Pore *et al.*, 1983; Costa *et al.*, 1997). Por estes motivos, é común a súa aparición en explotacións leiteiras, sobre todo en zonas húmidas contaminadas con esterco (Pore *et al.*, 1983). ►►

INABLOCK

PIENSO MINERAL PARA RUMIANTES

VERMICONTROL PLUS

Control natural de parásitos e insectos

CON
ACEITES
ESENCIALES



Reduce el riesgo de
Miasis, Lengua azul
y *E.H.E

*Enfermedad Hemorrágica Epizoótica

www.inatega.com

VERMICONTROL PLUS

INDUSTRIAS DE NUTRICIÓN ANIMAL, S.L
Ctra. Valdefresno, 2. 24228. Corbillos de la Sobarriba, León.
T. +34 987 213 172 N° Registro: aESP24000088



INATEGA

Os animais sans poden, por tanto, eliminar a alga a través das feces, polo cal é normal que se atope en toda a contorna das explotacións leiteiras, especialmente no barro que rodea os cortellos (Enders e Weber, 1993a; Costa *et al.*, 1997). Os pastos nos que aparecen estas algas, tanto no chan coma no lodo próximo aos cortellos, son un risco potencial para as vacas, sobre todo durante o período seco, xa que é o momento no que o ubre está a recuperarse da última lactación; daquela, este é un período crítico para as novas infeccións por este patóxeno (Costa *et al.*, 1997).

Cabe sinalar que os animais salvaxes tamén poden estar involucrados na transmisión de *Prototheca spp.* ao gando bovino, expulsando o axente a través das súas feces (Rakesh *et al.*, 2006). Tamén se atopou a alga en feces doutras especies como porcos, cabalos e ratas (Enders e Weber, 1993b; Weber e Enders, 1993).

Esta alga posúe a capacidade para crear un biofilme, dificultando a actuación dos produtos desinfectantes de uso común (Gonçalves *et al.*, 2015). Trátase dun microorganismo moi resistente, que pode atoparse en ambientes con gran variedade de pH (1 a 12), crecendo de maneira óptima entre 5 e 9. Ademais, pode medrar en concentracións altas de sal, augas tratadas con cloro e en leite pasteurizado (Marques *et al.*, 2010a; Ryohei *et al.*, 2002; Melville *et al.*, 1999; Lassa *et al.*, 2011). En relación a isto último, hai que mencionar que se trata dun axente cuxo crecemento só se inhibiu con tratamentos térmicos de 100 °C durante 1 s, o que suxire que o único procedemento industrial que asegura que o leite das rexións endémicas é libre deste axente é a ultrapasteurización. No entanto, este mesmo estudo sinala que parecen existir diferenzas entre especies en canto á resistencia aos tratamentos térmicos, suxerindo que *P. blaschkeae* é máis resistente que *L.* (Marqués *et al.*, 2010b).

Segundo algúns autores, *P. zopfii* pode infectar o gando bovino en calquera fase de produción (McDonald *et al.*, 1984; Furuoka *et al.*, 1989) e illouse tanto de casos de mamites clínicas coma subclínicas; normalmente, a casuística

ocorre de forma esporádica e epidémica, principalmente en explotacións onde as condicións de manexo e hixiene son inadecuadas (Costa *et al.*, 1996a; 1996b). O feito de que o cuarteirón permaneza aberto durante 1-2 horas despois do muxido (a relaxación do esfínter ocorre durante o proceso de muxido para permitir o fluxo do leite) (Jones e Bailey, 2009) permite que exista unha vía libre de entrada aos patóxenos ambientais, o que facilita así a infección da glándula mamaria (Cheville *et al.*, 1984; McDonald *et al.*, 1984; Furuoka *et al.*, 1989).

Normalmente, a infección mantense no rabaño grazas á presenza de animais clinicamente sans portadores da alga a nivel intramamario. En condicións naturais, durante a progresión da enfermidade, as algas son eliminadas intermitentemente a través do leite por un número significativo de vacas infectadas, mesmo durante períodos de 18 meses (Jánosi *et al.*, 2001a; Roesler e Hensel, 2003). Nestes animais con infección subclínica, as algas poden sobrevivir durante o período seco e reaparecer de novo no costro no seguinte parto (Dion, 1982). Unha mala actuación durante a desinfección dos cuarteiróns antes do muxido (*predipping*) e durante a inmersión destes en solucións desinfectantes despois do muxido (*posdipping*) están relacionados cunha maior incidencia de mamite por *P. zopfii* a nivel de rabaño (Costa *et al.*, 1996a).

Sobre as posibles fontes de contaxio, cabe sinalar que se conseguiu illar *Prototheca spp.* tanto de leite de vacas en lactación coma de secrecións de vacas secas, así como de máquinas de muxido, dos comederos e bebedeiros, de mostras de forraxe verde, do chan, das feces bovinas, das canles de esterco e das augas residuais comunitarias (Costa *et al.*, 1996a; Costa *et al.*, 1997; Anderson e Walker, 1988). O iodo é un bo antiséptico, pero é inefectivo en presenza de materia orgánica como as feces, polo que unha limpeza escasa e deficiente dos tetos pode contribuír á infección por organismos ambientais como *Prototheca spp.* (Costa *et al.*, 1996a).

En canto aos factores predispoñentes, a idade do animal e tratamentos antibióticos previos inflúen na aparición da mamite por *Prototheca spp.*



A *Prototheca spp.* atópase de maneira endémica naqueles con alta humidade, materia orgánica e temperatura relativamente elevada

Tamén se viu que se os cuarteiróns teñen un historial de mamite clínica nalgún momento da lactación son máis vulnerables a seren reinfectados (Tenhagen *et al.*, 1999). Así, observouse que as maiores incidencias se producen nas primeiras semanas da lactación (incidencia máxima no segundo mes) e durante os meses de verán (Costa *et al.*, 1996b; Costa *et al.*, 1997; Jánosi *et al.*, 2001a).

PATOXENIA/SIGNOS CLÍNICOS E LESIÓNS

A prototecose pode cursar de forma clínica ou subclínica (Roesler *et al.*, 2001), e pode causar unha mamite de tipo inflamatoria aguda ou granulomatosa crónica (Lopes *et al.*, 2008; Roesler *et al.*, 2001; Roesler e Hensel, 2003).

No gando vacún, crese que *Prototheca spp.* penetra polo canal estriado do teto e chega á glándula mamaria, tipicamente despois do muxido cando este permanece parcialmente aberto e o ubre contacta co ambiente altamente contaminado (Salerno *et al.*, 2010). A alga adoita invadir o tecido conectivo e tamén os linfonodos, e en moitos casos pode permanecer na glándula mamaria e nos linfonodos rexionais, provocando granulomas inflamatorios que lle dan unha consistencia firme ao ubre (Jensen *et al.*, 1998). A nivel microscópico, viuse que *P. zopfii* xenotipo 2 induce estrés oxidativo a nivel do tecido mamario e cambios ultraestruturais asociados con apoptose das ►

KESSENT® y LysiGEM™
LIDERANDO UNA
GANADERÍA MÁS SOSTENIBLE

KEMIN®
RUMINANT
ESSENTIALITIES

La metionina y la lisina son los dos aminoácidos esenciales más limitantes para la producción lechera en los rumiantes.

Los beneficios de la metionina y la lisina son bien conocidos pero, cuando se utilizan de forma concertada, proporcionan beneficios adicionales más allá de la suplementación con el aminoácido individual. Sin su inclusión nunca podremos llegar a maximizar ni optimizar nuestra producción.

KEMIN, como único proveedor de metionina y lisina ampliamente contrastadas, pone a su disposición KESSENT y LYSIGEM.

[kemin.com/
ruminant-essentialities](https://kemin.com/ruminant-essentialities)



► CRESE QUE *PROTOTHECA* *SPP.* PENETRA POLO CANAL ESTRIADO DO TETO E CHEGA Á GLÁNDULA MAMARIA, TÍPICAMENTE DESPOIS DO MUXIDO CANDO ESTE PERMANECE PARCIALMENTE ABERTO E O UBRE CONTACTA CO AMBIENTE ALTAMENTE CONTAMINADO

células epiteliais bovinas (Shahid *et al.*, 2017a; 2017b). Os mecanismos de defensa do ubre non poden eliminar este patóxeno, polo que pode sobrevivir por un longo tempo no ubre mesmo durante o período seco (Dion, 1982; Möller *et al.*, 2007; Thompson *et al.*, 2009).

A infección adoita limitarse á glándula mamaria, poden estar afectados un ou máis cuarteiróns mamarios, e non necesariamente ten por que mostrar síntomas clínicos (Melville *et al.*, 2003; Jagielski *et al.*, 2019a; Libisch *et al.*, 2022). Nas formas clínicas, entre os síntomas descritos pola literatura menciónase fundamentalmente a inchazón e dureza das glándulas mamarias á palpación, como resultado da inflamación granulomatosa que se desenvolve no tecido do ubre. O leite das vacas infectadas adoita ser de consistencia acuosa e contén escamas, coágulos e grumos (Anderson e Walker, 1988; Jánosi *et al.*, 2001a, 2001b). No estudo dun brote de mamite por *Prototheca spp.* en Polonia (Costa *et al.*, 1996b), observáronse dúas formas de mamite segundo os resultados bacteriolóxicos, síntomas clínicos e reconto de células somáticas.

Na forma aguda detectouse que a temperatura corporal era elevada, presentaban dor e edema no ubre,

perda de apetito e resistíanse a moverse; tamén a produción de leite se viu diminuída ata deterse completamente. A forma crónica caracterizábase por unha edema pastoso no ubre cunha lixeira dor e unha consistencia do ubre firme, así como unha marcada diminución da produción de leite; a secreción inflamatoria era acuosa e gris con escamas.

Desde un punto de vista histopatolóxico, *P. zopfii* causa lesións graves e pode observarse a presenza da alga tanto no lume dos alvéolos como no intersticio do ubre, o que leva a unha atrofia alveolar (Corbellini *et al.*, 2001). Nos casos crónicos pódese chegar a ver necrose, atrofia alveolar e proliferación fibroblástica no tecido conectivo intersticial (Corbellini *et al.*, 2001; Jánosi *et al.*, 2001b; Bueno *et al.*, 2006).

DIAGNÓSTICO

Os métodos de diagnóstico para a mamite causada por *Prototheca spp.* poden clasificarse en métodos de **diagnóstico directos e indirectos**. Os métodos directos máis empregados inclúen o illamento, a histopatoloxía e a reacción en cadea da polimerasa (PCR), mentres que os indirectos buscan identificar signos clínicos ou detectar anticorpos específicos.

Historicamente, a identificación de *Prototheca spp.* realizábase a través de criterios fenotípicos como a morfoloxía da colonia, micromorfoloxía do microorganismo en cortes histopatolóxicos ou cultivos e tamén a súa actividade bioquímica. Con todo, estes métodos convencionais fenotípicos son laboriosos e consomen demasiado tempo, dando resultados ás veces ambiguos e de baixa reproducibilidade. Hoxe en día utilízanse métodos moleculares, baseados no ADN (ácido desoxirribonucleico), que se han ir desenvolvendo ao longo das dúas últimas décadas, permitindo que a identificación de *Prototheca spp.* sexa máis rápida e precisa (Roesler *et al.*, 2006; Gao *et al.*, 2011; Ricchi *et al.*, 2011; Sobukawa *et al.*, 2013; Capra *et al.*, 2014).

O illamento de *Prototheca spp.* a partir de mostras de leite adóitase levar a cabo mediante o cultivo da mostra en diferentes medios e posteriormente tinxindo as células con azul de algodón ou lactofenol e observando a súa morfoloxía ao mi-

croscopio óptico (Pore, 1987; Costa *et al.*, 1996b). Con todo, debido ao lento crecemento da maioría das cepas de *Prototheca spp.* e á excreción intermitente dos organismos, estes métodos non poden utilizarse para adoptar medidas de control estritas (Roesler e Hensel, 2003). Entre os medios de cultivo máis empregados podemos mencionar o agar Columbia suplementado con 5 % de sangue de año (denominado comunmente agar sangue), agar Sabouraud-dextrosa ou a infusión de cerebro e corazón (BHI polas súas siglas en inglés), entre outros. As bacterias, fungos e fermentos poden actuar como microorganismos contaminantes crecendo por riba das algas, polo que se pode engadir cloranfenicol ao medio para evitar o seu crecemento. Hai que ter en conta que o crecemento de *Prototheca spp.* pode ser inhibido en presenza de ciclohexamida, polo que os medios con este inhibidor débense evitar para identificar de maneira correcta estes microorganismos (Casal *et al.*, 1997; Jánosi *et al.*, 2001b; Stenner *et al.*, 2007).

Antes do desenvolvemento de taxonomía molecular, a identificación de *Prototheca spp.* a nivel de especie levábase a cabo mediante métodos auxanográficos e bioquímicos como atopar patróns diferenciais nos ácidos graxos (Padhye *et al.*, 1979; Roesler *et al.*, 2006). Ambos os métodos consumían moito tempo e tiñan limitacións, como baixa reproducibilidade e dificultades na interpretación dos resultados debido á alta interespecificidade variable dalgúns aspectos bioquímicos, como recentemente confirmouse (Marques *et al.* 2010c). A medida que as técnicas de bioloxía molecular ían desenvolvéndose e perfeccionándose, foron aparecendo diferentes métodos que permitían a identificación dos membros deste xénero. As primeiras técnicas moleculares que diferenciaban as principais especies causantes da mamite, *P. zopfii* xenotipos 1 e 2 e *P. blaschkeae*, foron técnicas de análises do xenotipo específico mediante combinación dunha PCR e unha técnica de RFLP (polimorfismo de lonxitude de fragmentos de restrición) dirixidas a unha rexión específica do xene 18S rRNA (ácido ribonucleico ribosomal 18 S) de ►



MASTIVAC

EL PODER ESTÁ EN TU MANO

La protección efectiva
para el control de la mastitis

¿Quieres calcular
el retorno de tu
inversión?



Escanea el QR
y utiliza la calculadora
Mastivac

7 ANTÍGENOS
EN UNA DOSIS

EL MANEJO
MÁS SENCILLO

LA PROTECCIÓN
MÁS DURADERA

MASTIVAC suspensión inyectable para bovino. Vacuna inactivada polivalente frente a la mastitis.

Composición por dosis (5 ml): Antígenos inactivados de *S. agalactiae* cepa L01 ≥ 1 PR; *S. dysgalactiae* cepa ATCC 43078 ≥ 1 PR; *S. uberis* cepa L01 ≥ 1 PR; *S. pyogenes* cepa L01 ≥ 1 PR; *S. aureus* cepa L01 ≥ 1 PR; *A. pyogenes* cepa ATCC 9730 ≥ 1 PR; *E. coli* cepa Bov-10 ≥ 1 PR; *E. coli* cepa Bov-14 ≥ 1 PR; *E. coli* cepa Bov-15 ≥ 1 PR; *E. coli* cepa Suis-21 ≥ 1 PR; *E. coli* cepa J5 ATCC 43745 ≥ 1 PR. **Indicaciones y especies de destino:** Bovino (novillas y vacas). Para la inmunización activa frente a las mastitis clínicas y/o subclínicas producidas por *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, *A. pyogenes* y *E. coli*. Reducción de los signos clínicos de las mastitis clínicas producidas por *S. dysgalactiae*, *S. pyogenes*, *A. pyogenes* y *E. coli*. Reducción del recuento de células somáticas en las mastitis subclínicas producidas por *S. agalactiae*, *S. uberis* y *S. aureus*. **Vía de administración:** Subcutánea. **Posología:** 5 ml. **Pauta de vacunación:** Primovacunación: Administrar 2 dosis separadas 15 días. Novillas: Administrar 2 meses antes del primer parto. Vacas: Administrar en cualquier momento independientemente del estado fisiológico del animal. Revacunación: cada 6 meses. **Contraindicaciones:** Ninguna. **Tiempo de espera:** Cero días. **Presentación:** 20 ml y 100 ml. Con prescripción veterinaria. **Titular:** CZ Veterinaria S.A. **Reg. N°:** 2990 ESP

En caso de duda consulte a su veterinario

vétia[®]

A COMPANY OF ZENDAL GROUP

VETIA ANIMAL HEALTH, S.A.U. C/ Teide, n° 4. 28703 San Sebastián de los Reyes - Madrid

✉ info@vetia.es
☎ (+34) 910 901 526
🏠 www.vetia.es



Na forma aguda detectouse que a temperatura corporal era elevada, presentaban dor e edema no ubre, perda de apetito e resistíanse a moverse; tamén a produción de leite se viu diminuída ata deterse completamente

450 pares de bases (Roesler *et al.*, 2006; Möller *et al.*, 2007). A partir desta, fóronse desenvolvendo distintos métodos baseados en análises mediante PCR para mellorar o diagnóstico e ampliar o espectro de cepas detectadas, a maioría deles dirixidos cara ao xene 18S rRNA. Algúns dos máis destacados serían o deseño de Gao *et al.* (2011), que puxeron a punto unha PCR dúplex que permitía diferenciar o xenotipo 2 do resto das variantes xenéticas de *P. zopffii*. Outro traballo interesante sería o realizado por Sobukawa *et al.* (2013), que combinaron o emprego dunha PCR coa análise de fusión de alta resolución (HRM, High Resolution Melting), permitindo desta forma diferenciar as distintas especies de *Prototheca spp.* mediante a análise da temperatura de fusión dos amplicóns xerados durante a PCR. De maneira similar a este último, o estudo de Onozaki *et al.* (2013) desenvolveu unha PCR cuantitativa específica de *P. zopffii* que, ademais, permitía diferenciar entre os xenotipos 1 e 2 mediante a análise do punto de fusión. Máis recentemente, desenvolveuse un ensaio rápido e sinxelo de RFLP que permite identificar e diferenciar todas as especies de *Prototheca spp.* baseándose no polimorfismo existente a nivel do xene mitocondrial *cytb*, que foi empregado tanto como marcador para diagnósticos como para estudos filoxenéticos (Jagielski *et al.*, 2018). No entanto, e malia a elevada sensibilidade das técnicas moleculares para o diagnóstico, hai que ter en conta

que o leite presenta algúns compoñentes como o calcio, graxas e proteínas, que poden ocasionar que a polimerasa usada para as análises moleculares non funcione correctamente. Por este motivo, a extracción e purificación do ADN da mostra debe realizarse con métodos que permitan eliminar de maneira fiable todos os inhibidores presentes, posto que, pola contra, estaríamos a diminuír notablemente a sensibilidade analítica da técnica (Wilson, 1997).

Outra ferramenta que permite diferenciar de maneira eficaz entre as diferentes especies de *Prototheca spp.* é a espectrometría de masas denominada MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization–Estafe-of-Flight) (Murugaiyan *et al.*, 2012; Ahrholdt *et al.*, 2012). No caso de *Prototheca spp.*, esta tecnoloxía comezou a utilizarse en 2012, permitindo a especificación rápida e eficaz a partir de illados obtidos de casos de mamite (Fidelis *et al.*, 2021). Con todo, o principal inconveniente deste método é que require dun grao elevado de coñecementos técnicos e un equipamento adecuado e custoso, o que dificulta que estea dispoñible na maioría dos laboratorios que realizan diagnóstico de mamite de maneira rutineira.

En canto ao diagnóstico indirecto mediante procura de anticorpos IgG (inmunoglobulina G) anti-*Prototheca*, Jensen *et al.* (1998) observaron que, a pesar de que poida existir unha forte resposta serolóxica tras unha infección por *Prototheca spp.*, un reconto do título de anticorpos nunha soa mostra non é válido

para o diagnóstico dunha mamite causada por *Prototheca spp.*, xa que non existían diferenzas significativas entre o título de anticorpos de animais con infección activa e animais non infectados. Con todo, un estudo posterior de Roesler *et al.* (2001) desenvolveu un ELISA para a detección de anticorpos IgA (inmunoglobulina A) anti-*Prototheca* que obtivo unha porcentaxe de sensibilidade do 96 % e unha especificidade do 94 % en relación co cultivo microbiolóxico. Deste xeito, o exame serolóxico podería usarse para identificar os animais infectados de forma aguda e crónica, así como os excretores intermitentes (Roesler *et al.*, 2001, 2003). ■

Este artigo forma parte do traballo de investigación Fin de Grao do autor, cuxos obxectivos foron avaliar a capacidade da técnica de qPCR para detectar *Prototheca spp.* en mostras de leite de tanque, un dos axentes causantes da mamite, e comparar os resultados obtidos mediante esta técnica cos obtidos mediante o cultivo microbiolóxico tradicional.

O estudo realizouse grazas á colaboración entre o grupo Invesaga e o Laboratorio Interprofesional Galego do Leite (Ligal), equipos que recolleron as mostras empregadas e realizaron os cultivos microbiolóxicos desta.

AGRADECEMENTOS

A Gonzalo López Lorenzo (Invesaga), quen me axudou con todo o procesado de mostras para a PCR), e a María Belén Pombo Río (Ligal), que se encargou de identificar as granxas positivas e recoller as mostras.

GRUPO AGROAMB

SENTIDO DA RECICLAXE

VANTAXES

- ✓ Melloran a estrutura do solo, drenaxe, retención de auga e aireación, proporcionando un mellor ambiente de enraizamento das plantas.
- ✓ Posúen calidades de liberación de nutrientes lenta. O material continúa a súa descomposición dentro do solo, reducindo a cantidade de nitróxeno e fosfato que pode orixinarse cos fertilizantes químicos.
- ✓ Melloran a capacidade de traballo dos chans, especialmente arxilosos pesados.
- ✓ Melloran a retención de auga nos solos lixeiros.
- ✓ Melloran a resistencia á compactación do solo e á erosión.
- ✓ Reducen a necesidade de fertilizantes artificiais.
- ✓ Regulan o pH do solo, ao achegar cal.

PRODUTOS FERTILIZANTES

O seu contido en materia orgánica, nitróxeno e fósforo fanos especialmente atractivos para a elaboración de fertilizante no sector agroforestal. Entre as súas variadas vantaxes hai que destacar que melloran a estrutura do solo, o seu grao de porosidade e a capacidade de retención de auga debido fundamentalmente á achega de materia orgánica. Ademais, proporcionalle ao solo nitróxeno, fósforo e potasio de liberación lenta, e, ao achegar cal, permite regular o pH do solo. AGROAMB ten inscritos os diferentes produtos fertilizantes que elabora no Rexistro de Produtos Fertilizantes do Ministerio de Agricultura, Alimentación e Medio Ambiente.

FERTILIZANTES AUTORIZADOS

CÓDIGO	TIPO	NOME COMERCIAL
F0001757/2022	Fertilizante orgánico NPK de orixe animal e vexetal	AGROTHAME ORGANITE START
F0001894/2022	Emenda orgánica compost	AGROTHAME ORGANITE COMPOST
F0001895/2022	Emenda orgánica compost	AGROTHAME ORGANITE COMPOST START
F0001896/2022	Emenda orgánica húmica	AGROTHAME ORGANITE HUMICO START
F0001897/2022	Emenda orgánica húmica	AGROTHAME ORGANITE HUMICO
F0001919/2023	Fertilizante órgano-mineral nitroxenado líquido	AGROTHAME ORGANITE N-LIQ
F0001925/2023	Fertilizante órgano-mineral NK líquido	AGROTHAME ORGANITE PURINE
F0001926/2023	Fertilizante órgano-mineral NP líquido	AGROTHAME ORGANITE LIQUID
F0001980/2023	Emenda orgánica húmica	AGROTHAME ORGANITE HUMICO ZEN
F0002420/2025	Fertilizante órgano-mineral NPK	AGROTHAME ORGANITE AGRO
F0002421/2025	Fertilizante órgano-mineral NPK	AGROTHAME ORGANITE SULFAGRO
F0002422/2025	Emenda orgánica húmica	AGROTHAME ORGANITE HUMOST



AGROAMB

Ponte de Outeiro, 10 | 27256 Castro de Rei (Lugo)

Teléfono (+34) 982 231 365 | Fax (+34) 982 240 534

E-mail agroamb@agroamb.com | Web www.agroamb.com