

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



“Identificación de *Staphylococcus aureus* en leche de cabras con mastitis clínica en la Laguna de Coahuila”

T E S I S

P O R:

ARTURO FLORES GUADARRAMA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA MÉXICO

NOVIEMBRE DE 2012

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



“Identificación de *Staphylococcus aureus* en leche de cabras con mastitis clínica en la Laguna de Coahuila”

T E S I S

P O R:

ARTURO FLORES GUADARRAMA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA

OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR PRINCIPAL:

M.V.Z. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO

TORREÓN, COAHUILA MÉXICO

NOVIEMBRE DE 2012

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

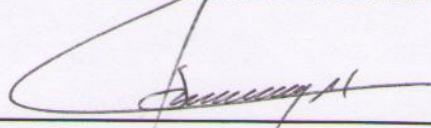
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

“Identificación de *Staphylococcus aureus* en leche de cabras con mastitis clínica en la Laguna de Coahuila”

TESIS

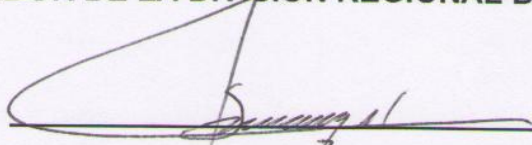
APROBADA POR EL COMITÉ DE TESIS

PRESIDENTE DEL JURADO

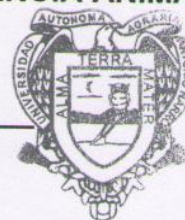


M.V.Z. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



M.V.Z. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO



**Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal**

TORREÓN, COAHUILA MÉXICO

NOVIEMBRE DE 2012

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

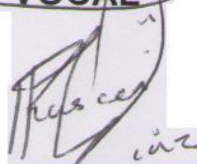
"Identificación de *Staphylococcus aureus* en leche de cabras con mastitis clínica en la Laguna de Coahuila"



**M.V.Z. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO
PRESIDENTE**



**MC. JORGE ITURBIDE RAMÍREZ
VOCAL**



**M.V.Z. CARLOS RAÚL RASCÓN DÍAZ
VOCAL**



**MC. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE
VOCAL SUPLENTE**

TORREÓN, COAHUILA MÉXICO

NOVIEMBRE DE 2012

AGRADECIMIENTOS

A Dios: Por haberme colocado en tan bella familia, por dejarme culminar mis estudios de licenciatura, por ponerme cosas buenas y malas en mi camino y así tomar las decisiones que me han llevado a ser la persona que actualmente soy, por llenarme de salud y darle salud a mis padres que siempre han sido mi soporte económico pero sobre todo moral en este logro y por llevarme de tu mano y cuidarme siempre en estos tiempos tan difíciles.

A mi Alma Terra Mater: mi querida UAAAN – UL por haberme dado la dicha de cultivarme en la gran institución que eres y ser parte de las generaciones de Médicos Veterinarios capaces que egresan de tus aulas.

A mi madre: Martha Guadarrama por ser la gran señora que eres, llenarme de consejos y motivos para salir siempre adelante, ser paciente en los ratos difíciles y nunca darme por vencido, pero sobre todo por darme la vida, cuidarme y guiarme en todo momento. “No hay amor más grande que el amor de mamá, y no hay mamá más grande que ésta que tengo yo” Te amo mamá.

A mi padre: Raúl Flores por enseñarme a ser responsable y enseñarme que en la vida hay ocasiones que se tienen que hacer sacrificios para alcanzar nuestras metas, por ser ese padre responsable para mi hermana y para mí, por ser mi ejemplo de vida, por eso y muchas cosas más es un gran orgullo ser tu hijo. “Te quiero mucho mi viejo”.

A mi hermana: Carolina Flores por siempre tenerme paciencia y aguantarme a mi y a mis groserías, por apoyarme moral y en ocasiones hasta económicamente, por más que mi hermana, ser mi amiga “Te amo hermana y es un honor ser tu Bro”.

A mi pareja, amiga y futura esposa: Lucerito Tablas por estar conmigo siempre, las buenas, las malas, las regulares y las peores, por ser ese apoyo que siempre se necesita, algo bueno tuve que haber hecho en esta vida y en las anteriores para tener tan buena persona a mi lado “Te amo Lucí”.

A mi abuelo: Filomeno Flores por ser mi figura paterna, por enseñarme todo lo que una persona de bien debe saber, ser respetuoso, trabajador, honesto y agradecido “Eres grande Filo, no te me acabes nunca abuelo y que Dios te conserve con nosotros muchos años más”.

A mis abuelas: Carolina Campos y Alberta Sánchez por haberme cuidado y llenado de cariño, por aguantar los destrozos que hice en sus casas y cumplirme caprichos con todo y eso “Las quiero mis viejitas, son mi segunda madre”.

A mi familia: A cada uno de los miembros de mi familia, tíos, primos, sobrinos todos son parte importante de este logro, sobre todo mi tío Arturo que aunque nunca se lo he dicho sabe que tiene mi cariño y admiración y es pieza fundamental en mi formación como médico.

A mis asesores: MVZ Rodrigo Simón, MVZ Carlos Rascón, MC Jorge Iturbide y MC Jesús Quezada por apoyarme en este proyecto, creer en mi y ser parte de este logro personal, gracias infinitamente.

A mí familia lagunera: Profesores Sérbulo Arredondo y Ma. Eugenia Bustamante y al buen Miguel A. Garza gracias por apoyarme tanto como a uno más de su familia, sin su gran apoyo todo hubiera sido mucho más difícil, de corazón mi más sincero agradecimiento.

A mis grandes amigos: José Inés Duarte, Mario A. Hernández, Gerardo Rivera, Omar Díaz, Alan Nevarez, Gerson Arredondo, David Soto, por ser más que mis amigos, unos verdaderos hermanos.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a Dios y todas las personas que estuvieron conmigo en estos años de carrera, a todos los que me brindaron su apoyo y creyeron en mí, en mi capacidad y convicción para alcanzar una de mis más grandes metas, mis padres, mi hermana, mi pareja, mis abuelos, mi familia y amigos, todos son una parte importante en la realización de este trabajo, pero sobre todo en mi realización como profesionalista.

A mis profesores y asesores, debido a que sin ellos este proyecto de titulación no se hubiera podido realizar.

A toda aquella persona que de alguna u otra forma me brindo su apoyo muchas, muchas gracias, este trabajo es para ustedes.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo de investigación fue el de identificar la bacteria *Staphylococcus aureus* como el agente etiológico más común en cabras con mastitis clínica o subclínica. Se trabajó con 87 cabras provenientes de los municipios de Torreón y Matamoros, Coahuila de Zaragoza. De cada cabra se obtuvieron muestras de leche. Se realizó cultivo bacteriológico, y los aislamientos fueron identificados mediante pruebas bioquímicas y tinción de Gram.

Para lograr la identificación del género bacteriano causante de mastitis en cabras se sembraron las muestras de leche en agar sangre y agar Mc Conkey, se realizó tinción de Gram, y se utilizaron pruebas bioquímicas de coagulasa, catalasa y oxidasa. Los géneros bacterianos aislados con mayor frecuencia en las muestras de leche fueron *Staphylococcus* spp. 32/87 (36.78%), *Staphylococcus intermedius* 15/87 (17.24%) y *Staphylococcus aureus* 12/87 (13.79%), *Streptococcus* spp. 12/87 (13.79%), *Manheimia haemolytica* 10/87 (11.49%), *Pasteurella multocida* 1/87 (1.15%), *Bacillus* spp. 5/87 (5.75%).

Palabras clave: mastitis, cabras, tinción de Gram, pruebas bioquímicas, *Staphylococcus aureus*.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIA	III
RESUMEN	IV
ÍNDICE	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1. FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PRESENTACIÓN DE LA MASTITIS	2
2.1.1. Higiene en la ordeña	2
2.1.1.1. Ordeña mecánica	2
2.1.1.2. Ordeña manual	3
2.1.2. Fase de lactancia	3
2.1.3. Ubicación geográfica	3
2.1.4. Microorganismos ambientales y contagiosos	3
2.1.5. Manejo	4
2.2. TIPOS DE MASTITIS	4
2.2.1. Mastitis clínica	5
2.2.2. Mastitis subclínica	5
2.3. ETIOLOGÍA	6
2.3.1. Principales agentes etiológicos causantes de mastitis	6
2.3.1.1. <i>Staphylococcus</i> spp.	6
2.3.1.2. <i>Streptococcus</i> spp.	7
2.3.1.3. Otros agentes bacterianos	7
2.4. INCIDENCIA Y PREVALENCIA	7
2.5. TRANSMISIÓN	7
2.6. DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD	8
2.6.1. Revisión anatómica, histológica y mecanismos de defensa de la glándula mamaria (pezón)	8
2.6.2. Establecimiento de la infección e inflamación del área dañada	8
2.7. DIAGNÓSTICO	9
2.7.1. Conteo de células somáticas	9
2.7.2. Análisis bacteriológico de la leche	10
2.8. TRATAMIENTO	11
2.9. CONTROL Y PROFILAXIS	11
3. JUSTIFICACIÓN	12

4. HIPÓTESIS	12
5. OBJETIVO GENERAL	13
6. OBJETIVO ESPECIFICO	13
7. MATERIALES Y MÉTODOS	13
I. Origen de las muestras	13
II. Criterios de inclusión de las cabras seleccionadas	14
III. Colección y transporte de las muestras	14
IV. Diagnóstico bacteriológico	15
8. RESULTADOS	19
9. DISCUSIÓN	20
10. CONCLUSIÓN	20
11. REFERENCIAS	21

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: Ubicación geográfica de Estado de Coahuila	14
FIGURA 2: Crecimiento bacteriano en Agar Sangre	16
FIGURA 3: Crecimiento bacteriano en Agar Mc Conkey	16
FIGURA 4: Tinción de Gram: cocos Gram positivos	16
FIGURA 5: Prueba de catalasa positiva (presencia de burbujas)	17
FIGURA 6: Prueba de coagulasa (izquierda negativa – derecha positiva) ...	18

1. INTRODUCCIÓN.

México es el primer productor caprino de América Latina con más de 9 millones de cabezas de ganado, seguido de Brasil. Se estima que aproximadamente 150,000 productores a nivel nacional dependen total o parcialmente de esta especie. El fenotipo predominante en la zona es el criollo que proviene del cruzamiento de los animales criollos con las razas Anglo-Nubia y Alpina (Medrano, 2000).

La producción de leche de cabras es una actividad rezagada tecnológicamente en comparación con otras especies ganaderas, ya que falta información acerca de los niveles de producción y estado sanitario de esta especie (Bazán *et al.*, 2009).

La producción de leche caprina no es fácil medir, ya que en muchas regiones productoras gran parte de ella se usa directamente en los hogares. Se estima la producción mundial en 11 millones de toneladas anuales, con una amplia distribución en el mundo, alcanzando los efectivos al 30% en África, 3% en América del Norte y Central, 4% en América del Sur, 59% en Asia, 3% en Europa, menos del 1% en Oceanía y al 1% en la ex URSS (Guerra, 2006; Garcés *et al.*, 2005).

La mastitis causa un gran impacto económico negativo en la industria láctea (Shearer *et al.*, 2003; Guerra, 2006; Figueroa *et al.*, 2002; Bergonier *et al.*, 2003; Bazán *et al.*, 2009); además de que la población pudiera estar expuesta al consumo de leche contaminada, cargada de agentes patógenos o sus toxinas si las normas higiénicas no se cumplieren (Guerra, 2006; Figueroa *et al.*, 2005). La primera consecuencia de la mastitis es una disminución de la producción de leche (Ndegwa *et al.*, 2000).

La incidencia de la mastitis aumenta cuando los mecanismos de defensa de la glándula mamaria se deterioran (Sordillo *et al.*, 2002).

En México existe poca información concerniente a la mastitis caprina, por este motivo, el propósito del presente trabajo de investigación es ver si la bacteria *Staphylococcus aureus* es el principal agente etiológico en la mastitis caprina.

2. ANTECEDENTES.

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria en cabras lactantes que puede ser crónica y severa, producida por diversas causas y caracterizada por cambios físicos, químicos y patológicos (Shearer *et al.*, 2003; Guerra, 2006; Figueroa *et al.*, 2002; Tardáguila, 1999; Bazán *et al.*, 2009).

2.1 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PRESENTACIÓN DE LA MASTITIS.

Existen varios factores que influyen en el tipo y frecuencia de los microorganismos causantes de mastitis como son: higiene en el ordeño, etapa de lactación, ubicación geográfica, manejo, número de lactación (Bergonier *et al.*, 2003; Ndegwa *et al.*, 2000).

2.1.1. Higiene en la ordeña.

2.1.1.1. Ordeña mecánica.

La persistencia bacteriana extramamaria se debe principalmente a fallas en las técnicas de higiene que se aplican durante el ordeño, una mala desinfección de máquinas, un mal uso de selladores o bien, falta de la rutina de sellado (Ruiz, 1989; Ruiz, 2010; Bergonier *et al.*, 2003). La máquina ordeñadora puede actuar como una bomba que impulsa a los microorganismos hacia adentro del pezón de las cabras (Ruiz, 1989; Ruiz, 2010).

La maquina de ordeño favorece la transferencia de microorganismos de una ubre infectada a una ubre sana y la implantación de microorganismos en las lesiones cutáneas o del epitelio del conducto del pezón, resultado de un vacío excesivo y/o de un sobreordeño (Ruiz, 1989; Ruiz, 2010).

2.1.1.2. Ordeña manual.

Cuando el ordeñador no realiza bien la desinfección de los pezones de las cabras, cuando ordeña cabras de mastitis primero y después ordeña a las sanas, o si usa perolas, cubetas mal lavadas o instrumental en malas condiciones es causa de contaminación.

2.1.2. Fase de lactancia.

En la lactancia temprana puede aumentar el riesgo de infecciones intramamarias, posiblemente debido a que la enfermedad se inicio en el periodo seco y al final la lactancia por el sobre ordeño al que están sometidos los animales (Owens *et al.*, 2001).

Se ha observado que el mayor número de casos de mastitis se presenta al iniciar el ordeño durante el primer tercio de lactancia (Bergonier *et al.*, 2003).

2.1.3. Ubicación geográfica.

El espectro de bacterias causantes de mastitis en diferentes países varía dependiendo de factores como el sistema de producción y el fin zootécnico (Ruiz, 2010; Sherrer *et al.*, 2003).

2.1.4. Microorganismos ambientales y contagiosos.

Las bacterias que causan las mastitis son numerosas, con diferentes factores de patogenicidad, pudiéndose distinguir entre patógenos saprófitos oportunistas que viven habitualmente en camas, agua, estiércol y patógenos mamarios que son los que viven en el interior de ubres infectadas y tienen poca resistencia en el medio externo. Los patógenos ambientales como enterobacterias y enterococos que

están generalmente en el suelo, suelen penetrar a la ubre en los periodos entre ordeños, cuando el animal reposa y entra en contacto con las heces o la cama contaminada (Ruiz, 2010; Tardáguila, 1999; Guerra, 2006).

Pseudomona spp. esta presente en el agua y en ambientes húmedos. También están presentes hongos filamentosos como *Aspergillus fumigatus*, el cual se ha aislado del forraje y el aire (Bergonier *et al.*, 2003).

Infecciones crónicas en el rebaño por el *Lentivirus* que produce la Artritis Encefalitis Caprina (CAEV) o por Agalactia Contagiosa causada por *Mycoplasma* spp. son enfermedades que pueden elevar los Recuentos Celulares Somáticos (RCS) (Contreras *et al.*, 2006; Garcés *et al.*, 2005).

2.1.5. Manejo

La contaminación del rebaño al momento de la ordeña: por ejemplo la presencia de muchas cabras con crías al píe o primíparas y adultas con lactancias prolongadas (Garcés *et al.*, 2005).

La persistencia en las infecciones de la ubre se debe a la carencia de una detección precoz de infecciones intramamarias (IIM) y falta de una aplicación sistemática de programas de control como la desinfección del pezón, tratamiento o sacrificio (Ruiz, 2010).

2.2. TIPOS DE MASTITIS.

Se reconocen dos tipos de mastitis: mastitis clínica, la cual se caracteriza por anomalías visibles en la ubre o leche, la cual se puede definir como subaguda cuando los signos incluyen solo alteraciones menores en la leche tales como coágulos, hojuelas o secreción rojiza (Shearer *et al.*, 2003; Figueroa *et al.*, 2002).

2.2.1. Mastitis clínica.

Los casos agudos son caracterizados por el inicio repentino de dolor, calor, inflamación, enrojecimiento y alteración de la secreción láctea de las glándulas afectadas (Shearer *et al.*, 2003; Ruiz, 1989; Bazán *et al.*, 2009). La secreción de coágulos, grumos y leche con aspecto de agua son los signos clínicos más comunes y en algunos casos pueden ser fatales. La inflamación aguda de la ubre puede producir claudicaciones, por que el miembro posterior roza con la glándula afectada. Si la mastitis es unilateral, la glándula afectada puede estar más grande que la sana (Shearer *et al.*, 2003; Ruiz, 1989).

2.2.2. Mastitis subclínica.

La presentación más importante de la mastitis es la forma subclínica (Gerra, 2006). En la mastitis subclínica, no se observan signos visibles de enfermedad y la leche es aparentemente normal. Este tipo de mastitis solo puede ser detectada midiendo el conteo celular de la leche (Shearer *et al.*, 2003; Ruiz, 1989; Figueroa *et al.*, 2002; Bazán *et al.*, 2009).

La presentación subclínica es importante debido a que:

- Es de 15 a 40 veces más prevalente que la forma clínica.
- Usualmente precede a la forma clínica.
- Es de larga duración.
- Es difícil de detectar.
- Reduce la producción láctea.
- Afecta la calidad de la leche.
- Constituye un reservorio de microorganismos que pueden llevar a la infección de otros animales del rebaño (Shearer *et al.*, 2003).

2.3. ETIOLOGÍA.

La mastitis puede ser causada agentes infecciosos como bacterias, hongos, virus, mycoplasmas y rickettsias (Ndegwa *et al.*, 2000).

2.3.1. Principales agentes etiológicos causantes de mastitis.

2.3.1.1. *Staphylococcus* spp.

Son cocos Gram positivos de 0.5 a 1.5µm de diámetro que pueden estar solos, en pares, tétradas, cadenas cortas (3 a 4 células) o estar agrupados en forma de racimos irregulares. Estas bacterias son catalasa positivas y anaerobios facultativos con excepción de *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* y *Staphylococcus saccharolyticus* que son anaerobios estrictos (Hermans *et al.*, 2010). Hasta la fecha se han caracterizado más de 50 especies y sbespecies del género *Staphylococcus*, este se divide en *S. coagulasa* positivos (SCP) y *S. coagulasa* negativos (SCN) basados en su habilidad para coagular el plasma sanguíneo (Ruiz, 2010; Watanabe *et al.*, 2009).

El *Staphylococcus aureus* es el patógeno más aislado de la leche de cabras, puede producir casos agudos (gangrenosos), crónicos y subclínicos. Este patógeno causa mastitis en cabras (Garcés *et al.*, 2005; Figueroa *et al.*, 2002; Mørk *et al.*, 2005; Shearer *et al.*, 2003; Bergonier *et al.*, 2003; Contreras *et al.*, 2007).

Además de *S. aureus*, se han reportado otras 6 especies de SCP las cuales son: *S. intermedius*, *S. pseudointermedius*, *S. delphini*, *S. scheleiferi* subsp. *coagulans*, *S. hyicus* y *S. lutrae*. Tales especies igual que *S. aureus* colonizan la piel y mucosas de los mamíferos (Ruiz, 2010; Watanabe *et al.*, 2009).

2.3.1.2. *Streptococcus* spp.

Este género bacteriano está compuesto por cocos Gram positivos, con un diámetro menor a 2µm, la división celular ocurre en un solo plano, por lo tanto las células nacientes forman cadenas, son bacterias facultativas, catalasa negativo, inmóviles (Ruiz, 2010; Hermans *et al.*, 2004). *Streptococcus* spp. y *Streptococcus zooepidermicus* (Contreras *et al.*, 2007; Figueroa *et al.*, 2002).

2.3.1.3. Otros agentes bacterianos.

Arcanobacterium pyogenes, *Mannheimia haemolytica* (Contreras *et al.*, 2007), *Klebsiella* (Figueroa *et al.*, 2002), *Listeria monocytogenes*, *Nocardia farcinica* (Garcés *et al.*, 2005). *Mycoplasma mycoides*, estas bacterias también se han asociado con severas infecciones sistémicas y disminución de la producción de leche (Figueroa *et al.*, 2002, Shearer *et al.*, 2003).

2.4. INCIDENCIA Y PREVALENCIA.

En México existe poca información concerniente a la mastitis en cabras (Ruiz, 2010).

La incidencia de la mastitis aumenta cuando los mecanismos de defensa de la glándula mamaria se deterioran (Sordillo *et al.*, 2002).

2.5. TRANSMISIÓN.

La mastitis casi siempre es contagiosa y se puede transmitir de cabra a cabra, a través de las manos del ordeñador y maquinas de ordeño, toallas, pezoneras, cama, pisos y también por medio de los cabritos vía oral (Ruiz, 2010; Tardáguila *et al.*, 1999; Bergonier *et al.*, 2003).

2.6. DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD.

Las infecciones comienzan cuando los microorganismos penetran el canal del pezón y se multiplican en la glándula mamaria (Guerra, 2006).

2.6.1. Revisión anatómica, histológica y mecanismos de defensa de la glándula mamaria (pezón).

El pezón es la primera línea de defensa contra la penetración de bacterias dentro de la ubre. Normalmente, el orificio del canal del pezón cierra fuertemente cuando la cabra no es ordeñada. (Guerra, 2006; Sordillo *et al.*, 2002; Paape *et al.*, 1997).

La invasión del pezón se presenta generalmente durante el ordeño. Los organismos presentes en la leche o en la punta del pezón son impulsados dentro del canal del pezón y de la cisterna cuando existe la entrada indeseable de aire por desprendimiento o pérdida de la unidad de ordeño, o remoción de la pezonera sin haber antes cerrado el vacío (Guerra, 2006; Sordillo *et al.*, 2002).

Después del ordeño, el canal del pezón permanece dilatado por una o dos horas e inclusive, el canal del pezón dañado puede permanecer parcialmente o permanentemente abierto. Los organismos del ambiente o aquellos que se encuentran en lesiones de la piel en la punta del pezón, pueden invadir fácilmente y abrir total o parcialmente el canal (Guerra, 2006).

2.6.2. Establecimiento de la infección e inflamación del área dañada.

Algunas bacterias pueden avanzar dentro de la ubre atacando y colonizando nuevos tejidos. Las bacterias dañan primero los tejidos que recubren los grandes tubos colectores de leche (Guerra, 2006).

Las bacterias pueden enfrentarse con leucocitos (neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos) de la leche presentes naturalmente en bajas cantidades en la leche. Estas células son la segunda barrera de defensa debido a que pueden englobar y destruir a las bacterias. Aun así, durante este proceso, los leucocitos liberan sustancias que atraen a más leucocitos desde el torrente circulatorio hacia la leche (Hernández *et al.*, 2008; Paape *et al.*, 1997; Sordillo *et al.*, 2002).

La mastitis puede alterar la duración del ciclo estral. La multiplicación bacteriana y la liberación de endotoxinas, que puede estar asociadas con mastitis clínicas con Gram – negativos, pueden causar liberación de mediadores inflamatorios. Los niveles aumentados de estos mediadores de la inflamación como prostaglandinas, leucotrinas, histamina y serotonina se incrementan casos de mastitis experimentales inducidas por infusiones intravenosas de endotoxinas de lipopolisacáridos (LPS) de Gram – negativos o por infusiones intramamarias de endotoxina de *Escherichia coli* o de *Salmonella typhimurium* o de bacteria Gram – negativas vivas. Por lo tanto, la mastitis podría influir en los índices de concepción y en los índices de mortalidad embrionaria temprana (Guerra, 2006).

2.7. DIAGNÓSTICO.

2.7.1. Conteo de las células somáticas en la leche.

La mastitis puede ser detectada mediante el conteo celular de la leche (células somáticas) (Shearer *et al.*, 2003).

Es muy importante el conteo de las células somáticas en la leche, ya que podemos conocer si la leche que obtenemos de la glándula mamaria es de buena calidad, también nos sirve ya que conoceremos el estado de salud de la misma (Hernández *et al.*, 2008).

El conteo de células somáticas de la leche es uno de los procedimientos más empleados por su utilidad y sencillez para el estudio de la leche, es la determinación directa indirecta del número de células somáticas (Hernández *et al.*,

2008). Los leucocitos (neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos), junto con un número relativamente pequeño de células epiteliales de los tejidos secretores de la leche, son conocidas como células somáticas (Hernández *et al.*, 2008). Cuando el tejido de la ubre se daña o se infecta, un número significativo de células sanguíneas se acumulan en la leche (Bazán *et al.*, 2009). El conteo de las células somáticas en muestras de leche de cada cabra puede ser practicado con razonable exactitud mediante prueba de California para mastitis (CMT) (Shearer *et al.*, 2003; Ruiz, 2010) y la prueba de Wisconsin (Figuroa *et al.*, 2002).

2.7.2. Análisis bacteriológico de la leche.

El aislamiento de bacterias en leche de cabras con mastitis es considerada como el diagnóstico definitivo para esta entidad, además de proporcionar información importante para la prevención y control de la enfermedad (Ruiz, 2010).

Las ventajas del cultivo microbiológico son que las bacterias causantes pueden ser identificadas y realizar pruebas de susceptibilidad a antibióticos para orientar a los productores acerca del tratamiento que pueden llevar a cabo para controlar la enfermedad en el rebaño (Ruiz, 2010).

También hay desventajas asociadas al cultivo microbiológico ya que los animales con mastitis subclínica pueden eliminar al microorganismo causante de manera intermitente durante la lactancia (Guerra, 2006), por lo que el cultivo microbiológico de la leche no garantiza el aislamiento del agente causal de los medios afectados con mastitis subclínica debido a que el número de microorganismos es muy bajo al momento de colecta de la muestra (Ruiz, 2010).

Una muestra de leche puede ser contaminada debido a una técnica inadecuada de recolección o puede ser negativa a pesar de los signos clínicos de mastitis (Guerra, 2006).

2.8. TRATAMIENTO.

Se debe evaluar el costo del tratamiento y si es recomendable aplicarlo o es más conveniente el desecho del animal; sin embargo el primer paso es salvar la glándula afectada, así como la vida del animal (Shearer *et al.*, 2003; Ruiz 2010). En algunos países la antibioterapia es altamente utilizada en el periodo seco para mantener el control en el conteo celular de la leche (Tardáguila, 1999; Poutrel *et al.*, Bergonier *et al.*, 2003; Ruiz, 2010).

El tratamiento se basa en la aplicación de antibióticos de acuerdo a la sensibilidad antibiótica del patógeno que este causando la infección. Los antibióticos pueden ser administrados en forma local y/o parenteral cuando se sospecha de un compromiso del estado general (Tadich *et al.*, 1987). También es recomendable la administración de antihistamínicos y corticoides, estas últimos solo en hembras no gestantes (Kerr *et al.*, 2003).

2.9. CONTROL Y PROFILAXIS.

En la profilaxis de la enfermedad se recomienda la higiene de las instalaciones (Figueroa *et al.*, 2002; Ruiz *et al.*, 2010) e higiene en el equipo de ordeño y del ordeñador (Ruiz, 2010), adoptar un turno de ordeña dejando las cabras infectadas al final (Garcés *et al.*, 2005). Usar el CMT frecuentemente para detectar las mastitis subclínicas, lavar los pezones de las cabras antes del ordeño y secar con toallas de papel absorbente, sellado de pezones después del ordeño, mantener maquinas de ordeño con un número de pulsaciones y nivel de vacío adecuados, pezoneras en buen estado (Figueroa *et al.*, 2002; Garcés *et al.*, 2005; Ruiz, 2010).

Todas las cabras deben estar descornadas para reducir el riesgo de lesiones en la glándula mamaria y pezones. Las cabras con abscesos abiertos deben de aislarse del resto o de preferencia ser eliminadas del rebaño (Ruiz, 1989; Shearer *et al.*, 2003; Ruiz, 2010).

La amputación quirúrgica del pezón es beneficiosa para el mejor drenaje del medió afectado y se recomienda su utilización en aquellos casos en los cuales el tejido secretorio ha perdido totalmente su funcionalidad (Tadich *et al.*, 1987).

La terapia de secado ha permitido no solo disminuir la cuanta de células somáticas, si no que, además, se ha comprobado una reducción significativa de mastitis agudas posparto y aumento variable pero importante de la producción láctea (Maier *et al.*, 2000).

Implementar un plan de capacitación de personal sobre la identificación, manejo, cuidado, tratamiento de cabras infectadas con mastitis (Figuroa *et al.*, 2002).

Vacunar contra coliformes de la mastitis para reducir la severidad de la mastitis clínica (Figuroa *et al.*, 2002).

Asegurar que la ración alimenticia contenga cantidades adecuadas de vitamina A y E, beta carotenos, selenio, cobre y zinc para proporcionar a las cabras resistencia contra la mastitis.

3. JUSTIFICACIÓN.

La mastitis caprina es una enfermedad multifactorial de la cual existe escasa literatura a nivel mundial, en México no hay informes sobre la etiología que afectan a las cabras, por tal motivo la finalidad de este trabajo es dar a conocer los diferentes géneros bacterianos que están presentes en la leche de cabras lecheras con mastitis.

4. HIPÓTESIS.

El agente etiológico más común en cabras con mastitis es *Staphylococcus aureus*.

5. OBJETIVO GENERAL.

Identificar los principales microorganismos presentes en leche de cabras con mastitis clínica o subclínica.

6. OBJETIVO ESPECIFICO.

Identificar la bacteria *Staphylococcus aureus* como el agente patógeno más común en la mastitis caprina.

7. MATERIALES Y MÉTODOS.

I. Origen de las muestras.

Se trabajaron muestras de leche de cabras con mastitis clínica o subclínica directamente de la ordeña, en los municipios de Torreón y Matamoros, Coahuila de Zaragoza.

Se trabajó con leche de cabras criollas, de un sistema extensivo orientado a la producción de leche, la alimentación estaba basada en el pastoreo y suplementadas con alimento concentrado.

Marco de referencia: El estado de Coahuila de Zaragoza limita al norte con los Estados Unidos de América; al oriente, con el estado de Nuevo León; al sur con los estados de San Luis Potosí, Zacatecas y Durango, y al poniente con los estados de Durango y Chihuahua. Está situado entre los 24° 32' – 29° 51' de latitud norte y entre los 99° 58' – 103° 57' de longitud oeste respecto al Meridiano de Greenwich. Se localiza a una distancia aproximada de 872Km. de la capital del País (Figura 1).



Figura 1: Ubicación geográfica del estado de Coahuila.

II. Criterios de inclusión de las cabras seleccionadas.

Se seleccionaron 87 cabras, a las cuales se les tomó muestras de leche de la glándula mamaria, se realizó muestreo en cabras que se encontraban enfermas de mastitis en forma clínica o subclínica. El muestreo se realizó en forma aleatoria.

III. Colección y transporte de las muestras.

Se obtuvieron dos muestras de leche de cada cabra, se desinfectaron los pezones con una torunda de algodón y alcohol al 70%, se desecharon los tres primeros chorros de leche de cada glándula. Posteriormente, se obtuvieron 10mL. de leche en tubos estériles con cierre hermético. Las muestras fueron refrigeradas y transportadas al departamento de bacteriología, del laboratorio de diagnóstico de la UAAAN, para su aislamiento e identificación bacteriana.

IV. Diagnóstico bacteriológico.

Las muestras de leche se sembraron en Agar Sangre y Agar Mc. Conkey, se incubaron a 37°C durante 24 horas. Se observaron colonias con hemolisis beta, alfa y gama (Figuras 2 y 3).

Se realizó tinción de Gram donde hubo crecimiento de colonias bacterianas para identificar morfología (Figura 4), de acuerdo al siguiente procedimiento:

- **Tinción de Gram:**

- a) Se colocó en un portaobjetos una gota de agua destilada estéril.
- b) Se expandió un poco de muestra en la gota de agua destilada.
- c) Se fijó al calor (10 veces).
- d) Se dejó enfriar.
- e) Se colocó Cristal Violeta a la muestra por 1 minuto.
- f) Se enjuagó con agua destilada.
- g) Se puso yodo por 1 minuto.
- h) Se enjuagó con agua destilada.
- i) Se puso yodo por 1 minuto.
- j) Se enjuagó con alcohol cetona.
- k) Por último se le aplicó Safranina por 1 minuto.
- l) Se dejó secar.

Interpretación: Se clasificaron en Gram positivos – color azul / violeta ó Gram negativos – color rojo / rosa.



Figura 2: Crecimiento bacteriano en Agar Sangre.



Figura 3: Crecimiento bacteriano en Agar Mc Conkey.

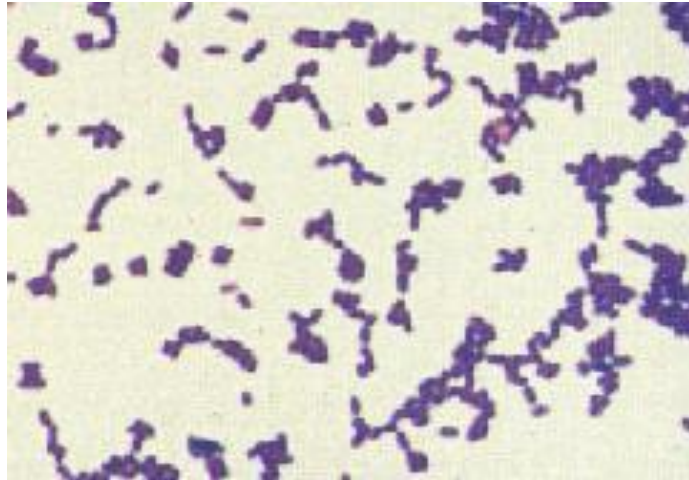


Figura 4: Tinción de Gram: cocos Gram positivos.

- **Procedimiento de la prueba de Catalasa:**

- a) Se cogió con cuidado una colonia con el asa de siembra, evitando coger agar.
- b) Se colocó la colonia directamente sobre un portaobjetos sin añadir agua.
- c) Se echó sobre la colonia una gota de agua oxigenada pura, o al 30%.
- d) Se observó si se forman burbujas de oxígeno.

Interpretación: La aparición de burbujas indica que el microorganismo es catalasa positiva (Figura 5).

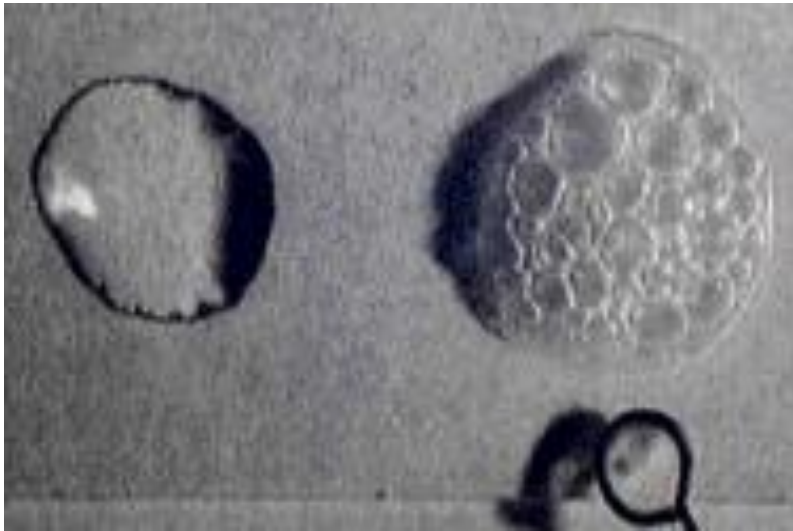


Figura 5: Prueba de Catalasa positiva (presencia de burbujas).

- **Procedimiento prueba de Coagulasa:**

- a) Se cogió con cuidado una colonia con el asa de la siembra, evitando coger agar.
- b) Se colocó la colonia directamente dentro de un tubo con 2mL de plasma sanguíneo de ovino.
- c) Se incubaron los tubos a 37°C durante 24 horas.
- d) Se observaron los tubos para ver si había coagulación plasmática.

Interpretación: Si se encuentra coagulación del plasma indica que el agente es coagulasa positivo.



Figura 6: Prueba de coagulasa (izquierda negativa – derecha positiva).

- **Procedimiento prueba de oxidasa:**

- a) Se tomo con el asa de siembre una colonia de la placa de agar Sangre.
- b) Se coloco la colonia sobre papel filtro y se añadió una gota de sustrato cromógeno fresco (10mg/mL).
- c) Se esperó 20 – 60 segundos y se observó si existía algún cambio en la coloración.

Interpretación: Si la tira se pone de color azul oscuro, el microorganismo es oxidasa positiva.

8. RESULTADOS.

Se obtuvieron un total de 87 muestras de leche para realizar análisis bacteriológico.

Del total de aislamientos bacterianos obtenidos, los géneros y especies que se encontraron fueron:

- **Estafilococos coagulasa positivos:** *Staphylococcus intermedius* 15/87 (17.24%) y *Staphylococcus aureus* 12/87 (13.79%).
- **Estafilococos catalasa positivos / coagulasa negativos:** *Staphylococcus* spp 32/87 (36.78%).
- **Estreptococos:** *Streptococcus* spp. 12/87 (13.79%).
- **Gram negativas:** *Manheimia haemolytica* 10/87 (11.49%), *Pasteurella multocida* 1/87 (1.15%), *Bacillus* spp. 5/87 (5.75%).

9. DISCUSIÓN.

Este trabajo de investigación se hizo con el objetivo de identificar las diferentes bacterias que se pueden aislar de la leche de cabra con mastitis clínica o subclínica, se realizó el análisis bacteriológico de las muestras en donde los agentes bacterianos aislados con mayor frecuencia fueron estafilococos coagulasa negativos (*Staphylococcus* spp.) 32/87 (36.78%).

A pesar de que numerosos estudios muestran que el *S. aureus* es el patógeno que con mayor frecuencia es aislado en leche de cabras (Owens *et al.*, 2001; Figueroa *et al.*, 2002; Shearer *et al.*, 2003; Bergonier *et al.*, 2003), nuestro estudio nos mostro una gran diferencia, pues el aislamiento de este patógeno sólo se realizó en el 13.79% de los casos (12/87). Como nuestros resultados lo demuestran, la mastitis causada por *S. aureus* fue mínima, encontrando con mayor frecuencia aislamientos de estafilococos coagulasa negativos coincidiendo con los resultados de otro estudio (Pengov, 2001).

10. CONCLUSIÓN.

Los géneros bacterianos aislados con mayor frecuencia en leche de cabras obtenidas bajo condiciones de estudio fueron los *Staphylococcus* coagulasa negativos 32/87 (36.78%).

Debe señalarse que la información sobre mastitis en cabras en México es escasa. Por lo tanto, los resultados proporcionados en este estudio son una pequeña parte de la información que se necesita para saber que agentes bacterianos están presentes en la leche de cabras con mastitis clínica o subclínica, por lo que son necesarios más estudios de investigación en esta área.

11. REFERENCIAS

1. Rarrow, G.I. y Feltham, R.K. Cowan y Steel's. 2003. Characters of Gram positive bacteria and carácter of Gram negative bacteria. Manual for the identification of medical bacteria. Third edition; 50-164.
2. Bazan, R.; Cervantes, E.; Slas, G.; Segura C., 2009. Prevalencia de mastitis subclínica en cabras lecheras en Michoacan, Mexico. *Reviata Cientifica*; XIX (4): 334-338. Universidad del Zulia.
3. Bergonier, D.; De Cremoux, R.; Rupp, R.; Lagariffoul, G. y Berthelot, X. 2003. Mastitis of dairy small ruminants. *Vet Res*; 34:689-716.
4. Blaiotta, G.; Fusco, V.; Ercolini, D.; Pepe, O. y Coppola, S. 2010. Diversity of staphylococcus species partial strains base on partial kat (catalase) gene sequences and design of a pcr—restriction fregment length polymorphism assay for identification and diferentiation of cuagulase-positive species (*S. Aureus*, *S. delphini*, *S. hycus*, *S. intermedius*, *S. pseudointermedius* and *S. schlerferi* subsp *coagulans*) *J Clin Microbiol*; 48:192-201.
5. Ciftci, A.; Emek O.; E.; Findik, A.; Yildirim, T. y Unlu S., M 2009. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* strains from ovine mastitis by pulsed- field gel electrophoresis and polymerase chain reaction base don cuagulase and protein A gene polymorphisms. *J Vet Diagn Invest* 21:849-853.
6. Contreras, A.; Sierra, D.; Sanchez, A. y Corrales, J.C 2007. Mastitis in small ruminants. *Science Direct*; 68: 145-153.
7. Diaz S., J.R.; Peris R., C.; Fernandez M., N.; Rodriguez M., M.; Molina P., M.P y Mari de O., A. 1999. Efecto de la velocidad de pulsación sobre la seceptibilidad del ganado ovino a la infección mamaria y el recuento de células somaticas en la leche. *Patología*. XXIV: 319-123.
8. Fernandez, E.; Blume, V.; Garrido, P.; Collins, M. D.; Mateos, A.; Dominguez, L. y Fernandez G., J. F. 2004 *Streptococcus equi* subsp. *Ruminatorum* subsp. Nov., isolated from mastitis in small ruminants. *International Jornal of Systemic and Evolutionary Microbiology*, 54: 2291-2296.

9. Figueroa V., C.; Meda G., F. y Janacua V., 2002. SAGARPA. Manual de buenas practicas en producción de leche caprina.
10. Garces A., R y Concha B., C. 2005. La mastitis caprina. Seminario internacional. Produccion de leche caprina: "del establo a la mesa". Chillan.CHILE. [http://es.scribd.com/doc/2222100/Leche- Cabra-](http://es.scribd.com/doc/2222100/Leche-Cabra-)
11. Gonzalo, C.; Ariznabarreta, A.; Carredo, J. A. y San Primitivo, F. 2002. Mammary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. J. Dairy Sci. 85:1460-1467
12. Guerra R., V. 2006. La mastitis y sus pruebas diagnosticas en campo. <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-leche/sanidad/articulos/mastitis-sus-pruebas-diagnosticas-t935/165-p0.htm>
13. Hermans, K.; Devriese, L.A. y Haesebrouck F. 2004. Staphylococcus. Pathogenesis of bacterial infections in animals. 3rd Ed.USA: Blackwell Publishing.
14. Hernandez R., J. M. y Bedolla C., J.L. C. 2008 importancia del conteo de células somaticas en la calidad de la leche (importance of the somatic cells count in the quality of milk). Revista electrónica de Veterinaria. IX (9): 1695-7504.
15. Jimenez M., J.; Luengo R., C.; Garcia M., D. y Contreras de V., A. 2000. Diagnostico de mastitis subclínica estafilocócicas caprinas con muestras de leche congeladas. Patología Animal; XXV: 365-368.
16. Kerr, D.E. y Wellnitz, O. 2003 Mammary expression of new genes to combat mastitis. Journal of animal science. J Anim Sci; 81:38-47.
17. Luengo R., C.; Sanchez L., A.; Corrales R., J. C; Fernandez M., C. y Contreras de V., A. 2002. Estudio lactacional de los factores de variación del recuento de células somaticas en leche de cabra. SEOC; 700-706.
18. Maier N., L.; Zurich Z., L. 2000. Mastitis subclínica caprina: Aspectos microbiológicos y terapéuticos. Monografias de Medicina Veterinaria: 20 (2). http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/CDA/mon_vet_seccion/0,1419,S CID%253D18356%2526ISID%253D452,00.html

19. Martinez, B. y Peris, C. 1998. Utilizacion de California Mastitis Test en el diagnostico de mastitis caprina y su relación con el recuento de células somaticas. *Produccion Ovina y Caprina XXIII*:375-379
20. Mork, T.; Tollerrud, T.; Kvitle, B.; Jorgensen, H.J y Waage, S. 2005. Genetic diversity of *Staphylococcus aureus* isolated from ovine intramammary infections in Norway. *Vet Microbiol* 106:265-273
- Medrano, J.A 2000. Recursos animales locales del centro de Mexico. *Arch. Zootec.* 49:385-390
21. Ndegwa, E.N. 2001. Risk factors associated with subclinical subacute mastitis in Kenyan dairy goats. *Isr.J. Vet. Med.*; 56: 4-8
22. Owens, W. E.; Nickerson, S.C.; Boddie, R. L.; Tomita, G. M. Y Ray, C. H. 2001. Prevalence of Mastitis in dairy heifers and effectiveness of antibiotic therapy. *J. Dairy Sci.* 84:814-817
23. Paape, M.J. y Capuco, A. V. 1997. Cellular defense mechanisms in the udder and lactation of goats. *J AnimSci*; 75:556-565.
24. Pengov, A. 2001. The Role of Coagulase-Negative *Staphylococcus* spp. And Associated Somatic Cell Counts in the Ovine Mammary Gland. *J. Dairy Sci.* 84:572-574
25. Pinzon G., J.I. 1989. Mastitis Bovina. *Fonaiap*, (31).
26. Poutrel B., de Cremoux R., Ducelliez M., Verneau D. 1997. Control of intramammary infections in goats: impact on somatic cell counts, *J. Anim.Sci.* 75:566-570.
27. Rainard, P.; Corrales, J. C.; Barrio, M. B.; Cochard, T. y Poutrel, B. 2003. Leucotoxic activities of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows, ewes and goats with mastitis: importance of LukM/LukF_{PV} Leukotoxin. *Clinical And Diagnostic Laboratory Immunology*; 10 (2): 272-277.
28. Salama, A. A. K.; Such, X.; Caja, G.; Rovai, M.; Albanell, E y Marti, A. 2002. Efecto del numero de ordeños diarios sobre la producción de leche, composición y el recuento de células somaticas en ganado caprino. *SEOC* 919-925.

29. Serrano M., B.; Garzin S., A. I.; Gonzalez A. DE L., M.e.; Oliver A., F.; Figeroa., A.; Martinez H., J. 1998. Efectos del ph y el recuento de células somáticas sobre las características químicas y de producción de leche de oveja merina. *Produccion Ovina y Caprina*; XXIII: 419-423
30. Shearer, J.K.; Harris, J.B. Mastitis of dairy goats. 2003. university of Florida, institute of Food and Agricultural Sciences. <http://edis.ifas.ufl.edu/DS120>.
31. Sordillo, L y Streicher, K. 2002. Mammary gland immunity and mastitis suceptibility. *J Mammary Gland BiolNeoplasia*; 7:135-144.
32. Tadich, N.a.; Gonzalez, S. y Ramirez G. R. 1987. Mastitis clínica por *Staphylococcus aureus* en una hembra caprina. *Monografías de Medicina Veterinaria. Instituto de iencias Clinicas Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. 9 (1)*.
33. Tardaguila M., J. Ay Gonzalo A., C. 1999. Control de mastitis y producción de lche de alta calidad higio-sanitaria en el ganado ovino lechero de raza churra. *Dpto. de Produccion Animal I. Facultad de Veterinaria. Universidad de Leon*.
34. Watanabe, S.; Ito, T.; Sasaki, T.; Li, S.; Uchiyama, I.; Kishii, K.; Kikuchi, K.; Leo S., R y Hiramatsu, K. 2009. Genetic diversity of *Staphylococcus coagulase* gene (coa): insight into the evolution of variable chromosomal virulence factor in *Staphylococcus aureus*. *PLOS ONE*; 4:e5714.
35. Zhang, S y Maddox, C cytotoxic activity of coagulase- negative *Staphylococci* in bovine mastitis. *Infect immune* 2000; 68: 1102-1108. <http://iai.asm.org/cgi/content/full/68/3/1102>
36. Zuluaga E., J. J.; Jaramillo, M.G. y Restrepo B., L.F 2010. Evaluacion comparativa de dos metodologías de diagnostico de mastitis en un hato lechero del Departamento de Antioquia. *Revista Lasallista de Investigacion*, 7(1):49-57.