

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

UNIDAD LAGUNA

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**TEMA;
MICROORGANISMOS AISLADOS DE LECHE DE CABRAS
SANAS Y CON MASTITIS**

**POR:
SELENE MARÍA ZAVALA MUÑÍZ**

**TESIS
PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Torreón Coahuila, México

Octubre 2011

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

UNIDAD LAGUNA

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**TEMA:
MICROORGANISMOS AISLADOS DE LECHE DE CABRAS
SANAS Y CON MASTITIS**

**Por:
Selene María Zavaleta Muñíz**

**TESIS
PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Torreón Coahuila, México

Octubre 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**“Microorganismos aislados de leche de cabras
sanas y con mastitis”**

TESIS

Selene María Zavaleta Muñiz

ASESOR PRINCIPAL

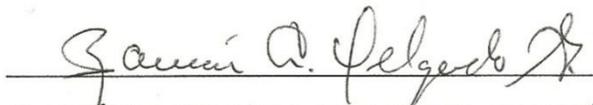
MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLES

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

**“Microorganismos aislados de leche de cabras
sanas y con mastitis”**

APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE REVISIÓN

ASESOR PRINCIPAL



MC. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



MVZ. RODRIGO I. SIMON ALONSO

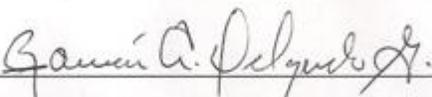


**Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal**

TESIS ELABORADA BAJO LA SUPERVISIÓN DEL COMITÉ PARTICULAR
DE ASESORIA Y APROBADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESIDENTE:



MC. RAMON ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

VOCAL



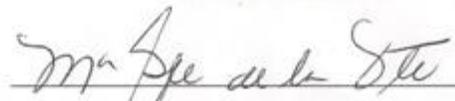
DR. GERARDO FRANCISCO VELIZ DERAS

VOCAL



MVZ. EZEQUIEL CASTILLO ROMERO

VOCAL SUPLENTE



DR. Ma. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO

DEDICATORIA

A Dios

Por haberme permitido tener la oportunidad de haber estudiado una carrera, por guiarme y brindarme salud para poder cumplir con todos mis objetivos, además de tu infinita bondad y amor. Por darme a los mejores Padres que cualquier persona pudiera haber querido tener así como mis hermanos, gracias.

A mi padre Elías

Que cuando estuvo con vida me dio el ejemplo de lo que es luchar por lo que uno quiere, que aunque haya muchos obstáculos hay que tener perseverancia y constancia, por todo el amor que me brindaste, no lo olvidaré. Gracias papá, gracias por todo, aún sin estar conmigo sentí tu apoyo desde el cielo y eso me ayudó para seguir adelante.

A mi madre Amalí

Por haberme apoyado en todas mis decisiones aún si era estando lejos de ti, nunca darme un No como respuesta y siempre darme lo mejor sin pedirme nada a cambio, por tus consejos, por la motivación que me das para seguir mis sueños y por el gran amor que me das.

Sin ustedes no hubiera llegado ni a la mitad del camino que llevo recorrido, GRACIAS, los quiero con todas mis fuerzas y mi corazón.

A mis hermanos Soraya y Elías

Por haberme dado el ejemplo de lo que es ser un buen estudiante, a pesar de los obstáculos que tenían presentes.

Por ser mis hermanos mayores que siempre están ahí para lo que necesite, por seguir por el buen camino aún sin tener a nuestro Padre con nosotros, por aconsejarme, ayudarme y apoyarme; de ustedes eh aprendido mucho, a seguir adelante siempre, aún en los momentos más difíciles. Gracias por eso y más, los adoro y los quiero mucho.

A toda la familia

Por apoyarme en todo momento y darme sus mejores consejos así como también por acompañarme a lo largo de mi vida.

A mi mejor amiga casi hermana Ana Isabel

Gracias por estar conmigo siempre, en las buenas como en las malas, por ayudarme a superar la tristeza que a veces me invadía, por darme tus consejos y brindarme tú apoyo constante, te quiero con todo mi corazón hermanita.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Mi hermosa “Alma Mater” por darme la mejor educación que podría haber recibido y por haberme permitido ser parte de su generación de triunfadores y gente productiva para el país.

Al Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuario (INIFAP)

Por haberme dado la oportunidad de realizar mi estancia, así como ayudarme a efectuar mi tesis.

A mí querido tutor y padre académico el M.C. Ramón Delgado González

Por creer ciegamente en mí, por todo su apoyo, su motivación para la culminación de nuestros estudios profesionales y para la elaboración de la tesis, por sus consejos, regaños, confianza y cariño que me ha dado en todos estos años, créame que lo quiero mucho, gracias por todo.

A la Dra. Laura Hernández Andrade

Porque sin su ayuda no sabría que hubiera hecho para realizar mi tesis, por su gran apoyo, por sus consejos y el tiempo que me brindo para sacar adelante este trabajo de investigación, le agradezco con todo mi corazón, Dios la bendiga siempre y le conceda cumplir con todas sus metas. Gracias.

Al Dr. Efrén Díaz Aparicio y a la Dra. Gabriela Palomares

Mil gracias por recibirme con las puertas abiertas, por haberme aceptado a trabajar con ustedes, por todos sus consejos, la confianza que me brindaron, su ayuda para lo que necesitaré, por el cariño que me dieron y por regalarme su valioso tiempo. Mil gracias!!!

A Isabel Tuxpan

Por enseñarme todo lo necesario en el área de bacteriología, por ser una excelente maestra, darme tu apoyo, ayuda, cariño y facilidades para realizar mi trabajo de investigación, no olvides que te quiero mucho y siempre los tendré presentes en mi corazón.

A todos los que participaron y que estuvieron conmigo a lo largo de este camino, GRACIAS.

CONTENIDO

	Página
Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
Antecedentes	4
• Factores que influyen en la presentación de mastitis	4
• Tipos de mastitis	6
• Etiología	7
• Incidencia y prevalencia	8
• Transmisión	8
• Establecimiento de la infección e inflamación del área dañada	9
• Métodos de diagnóstico	9
• Tratamiento, control y profilaxis	10
Justificación	12
Objetivo General	12
Objetivos específicos	12
Material y Métodos	13
• I.- Origen de las muestras	13
• II.- Marco de referencia	13
• III.-Criterios de inclusión de las cabras seleccionadas	14
• IV.- Colección y Transporte de las muestras	14
• V.- Diagnóstico Bacteriológico	15
• V.-Análisis Descriptivo	26
Resultados	26
I. Número de muestras	26
II. Diagnóstico Bacteriológico	26
III. Estadística Descriptiva	32

Discusión	33
Conclusiones	35
Referencias	36

INDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.- Ubicación geográfica de Coahuila	14
Figura 2.- Ubicación geográfica de Sal Luis Potosí	14
Figura 3.- Crecimiento bacteriano en Agar Sangre	16
Figura 4.- Crecimiento bacteriano em Mc Conckey.	16
Figura 5.- Tinción de Gram: Cocos Gram negativos	17
Figura 6.- Prueba de catalasa	17
Figura 7.- Prueba de oxidasa	18
Figura 8.- Prueba de OF	19
Figura 9.- Pruebas bioquímicas	19
Figura 10.- Prueba de coagulasa	22
Figura 11.- Prueba de susceptibilidad a los quimioterapéuticos	23
Figura 12.- Sistema API Staphylococcus y API Streptococcus del laboratorio Biomérieux	24
Figura 13.- Prueba en el medio de CAMP	25
Figura 14.- Prueba de Noboviocina	25

Figura 15.- Tinción de Gram de muestras de leche de cabras de los Estados de Coahuila y San Luis Potosí -----	30
Figura 16.- Número de muestras con y sin crecimiento bacteriano de los Estados de Coahuila y San Luis Potosí -----	30
Figura 17.- Porcentaje de muestras positivas sin contaminar y contaminadas de los Estados de Coahuila y San Luis Potosí -----	30
Figura 18.- Número de muestras con y sin crecimiento bacteriano del Estado de Coahuila -----	31
Figura 19.- Porcentaje de muestras de leche de cabra positivas a aislamientos bacterianos, sin contaminar y contaminadas, del Estado de Coahuila -----	31
Figura 20.- Número de muestras de leche con y sin crecimiento bacteriano del Estado de San Luis Potosí -----	31
Figura 21.- Porcentaje de muestras de leche positivas sin contaminar y contaminadas del Estado de San Luis Potosí -----	32
Figura 22.- <i>Staphylococcus</i> coagulasa negativos en muestras de leche de cabras de los Estados de Coahuila y San Luis Potosí -----	32
Figura 23.- <i>Staphylococcus</i> coagulasa positivos y <i>Bacillus</i> spp en muestras de leche de cabras de los Estados de Coahuila y San Luis Potosí -----	33
Figura 24.- Otras bacterias aisladas en muestras de leche de cabra de rebaños del Estado de Coahuila y San Luis Potosí -----	34
Figura 25.- <i>Streptococcus</i> en muestras de leche de cabras de los Estados de Coahuila y San Luis Potosí -----	34

INDICE DE CUADROS

Página

Cuadro 1.- Pruebas bioquímicas de aislamientos de bacilos de leches de cabras del Estado de Coahuila ----- 27

Cuadro 2.- Pruebas bioquímicas de aislamientos de cocobacilos de leches de cabras del Estado de Coahuila ----- 28

Cuadro 3. Pruebas bioquímicas de aislamientos de bacilos de leches de cabras del Estado de San Luis Potosí ----- 28

Cuadro 4. Pruebas bioquímicas de aislamientos de cocobacilos de leches de cabras del Estado de San Luis Potosí ----- 28

Cuadro 5. Prueba de susceptibilidad a los quimioterapéuticos ----- 29

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue identificar las bacterias presentes en leche de cabras sanas y con mastitis clínica o subclínica. Se trabajaron con 56 animales de rebaños del Estado de San Luis Potosí y con 55 animales de rebaños del Estado de Coahuila. De cada cabra se obtuvieron muestras de leche. Se realizó cultivo bacteriológico, y los aislamientos fueron identificados mediante pruebas bioquímicas. Se utilizó la técnica de Kirby Bauer para conocer la susceptibilidad a los quimioterapéuticos. Un total de 95/111 muestras (85.58%) presentaron crecimiento bacteriano y en ocho hubo contaminación, dando un total de 87 muestras. De Coahuila, 55/55 (100%) muestras presentaron crecimiento y de San Luis Potosí las muestras con crecimiento fueron 40/56 (71.42%). Los géneros bacterianos aislados con mayor frecuencia en los dos estados fueron *Staphylococcus chromogenes* 12/87 (13.79%), *Staphylococcus simulans* 9/87 (10.34%), *Staphylococcus xylosum* 9/87 (10.34%), *Staphylococcus lentus* 8/87 (9.19%), *Staphylococcus hominis* 5/87 (5.74%), *Pasteurella haemolytica* 10/87 (11.49%), entre otros. Para lograr la identificación del género bacteriano causante de mastitis se utilizaron pruebas bioquímicas y el sistema API *Staphylococcus* y API *Streptococcus*.

Palabras clave: Mastitis, cabras, *Staphylococcus coagulans* negativa, *Streptococcus*, Susceptibilidad a los quimioterapéuticos.

ABSTRACT

The objective of this work of investigation was to identify the present milk bacteria of healthy goats with clinical or subclinical mastitis. 56 animals from San Luis Potosí and 55 animals from Coahuila. From each goat milk samples were obtained, bacteriological culture was realised, and the isolations were identified by means of biochemical tests. The technique of Kirby Bauer was used to know the susceptibility the antibiotics . A total of 95/111 samples (85.58%) presented bacterial growth and in eight they only grew contaminated. Reason why only 87 samples worked. In Coahuila the samples that presented growth were 55/55 samples (100%) and in Potosí San Luis the samples with growth were 40/56 samples (71.42%). The isolated bacterial sorts most frequently in both states were: *Staphylococcus chromogenes* 12/87 (13.79%), *Staphylococcus simulans* 9/87 (10.34%), *Staphylococcus xylosus* 9/87 (10.34%), *Staphylococcus lentus* 8/87 (9.19%), *Staphylococcus hominis* 5/87 (5.74%), *Pasteurella haemolytica* 10/87 (11.49%), among others. In order to obtain the identification of the bacterial sort mastitis cause biochemical tests were used and the system API *Staphylococcus* y API *Streptococcus*. Test of susceptibility to the quimioterapéuticos was realized, to each one of the isolations.

Key words: Mastitis, goats, *Staphylococcus* coagulase negative, *Streptococcus*, Susceptibility to the antibiotics.

INTRODUCCIÓN

México es el primer productor de ganado caprino (*Capra hircus*) en América Latina con más de 9 millones de cabezas, 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 (Bazan *et al.*, 2009).

La producción de leche caprina no es fácil de medir, ya que en muchas regiones productoras gran parte de ella se usa directamente en los hogares. Se estima que la producción mundial es de 11 millones de toneladas anuales, con una amplia distribución, alcanzando el 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 el 1% en Rusia (Garces y Concha, 2005).

La mastitis causa un gran impacto económico en el bienestar animal así como también en la producción (Ciftci *et al.*, 2009); además de que la leche mastítica contiene algunos agentes causales que son patógenos para humanos (Zuluaga *et al.*, 2010). La primera consecuencia de la mastitis es una disminución de la producción de leche (Serrano *et al.*, 1998).

En México hay escasa información sobre la etiología que afecta la leche de cabra, por tal motivo el propósito de este trabajo de investigación es dar a conocer los diferentes microorganismos que se encuentran en la leche de cabras lecheras con y sin mastitis, así como también, a que antibióticos son sensibles.

ANTECEDENTES

Factores que influyen en la presentación de mastitis

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria en cabras lactantes que puede ser aguda o crónica, producida por diversas causas y caracterizada por cambios físicos, químicos y patológicos (Tardáguila y Gonzalo, 1999).

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 (Ndegwa *et al.*, 2001).

1. Higiene en la ordeña

Equipo. 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 (Bergonier *et al.*, 2003).

Durante el ordeño si la pulsación causa excesivas fluctuaciones de vacío, principalmente a través de deslizamientos o caídas de pezoneras, podría favorecer el fenómeno de “impacto” o “flujo inverso” por el cual los gérmenes pueden ser introducidos directamente en la cisterna del pezón (Díaz *et al.*, 1999).

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 (materia fecal, cama, etc.) 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).

Manualmente. Cuando el ordeñador no realiza bien la desinfección de los pezones de las cabras, cuando ordeña cabras con mastitis primero y después a las sanas, o si usa perolas, cubetas mal lavadas o instrumental en malas condiciones es causa de contaminación (Figuroa *et al.*, 2002).

2. Fase de lactación

En la lactación temprana puede aumentar el riesgo de infecciones intramamarias, posiblemente debido a que la enfermedad se inicia en el período seco y al final de la lactación 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 lactación (Bergonier *et al.*, 2003).

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 (Shearer y Harris, 2003).

4. Microorganismos ambientales y contagiosos

Las bacterias que causan las mastitis son numerosas, con diferentes factores de patogenicidad. Los patógenos ambientales, como enterobacterias y enterococos (están principalmente en el suelo), suelen penetrar a la ubre en los períodos entre ordeños, cuando el animal reposa y entra en contacto con las heces o la cama contaminada (Tardáguila y Gonzalo, 1999).

Algunas *Pseudomonas* están presentes en el agua y en ambientes húmedos. También están presentes hongos filamentosos como *Aspergillus fumigatus*, los cuales se han aislado del forraje y el aire (Bergonier *et al.*, 2003).

Infecciones crónicas en el rebaño por el Lentivirus que producen la Artritis Encefalitis Caprina” (CAEV) o por Agalactia Contagiosa causada por *Mycoplasma agalactiae*, son enfermedades que pueden elevar los recuentos celulares somáticos (RCS) (Contreras *et al.*, 2007).

5. Manejo

La contaminación del rebaño al momento del ordeño: por ejemplo la presencia de muchas cabras con crías al pie o primíparas y adultas con lactancias prolongadas (Garces y Concha., 2005).

Tipos de mastitis

Se reconocen dos tipos de mastitis: La mastitis subclínica, la cual no se manifiesta ni se diagnostica fácilmente ya que para ello se necesitan técnicas de detección de mastitis; y la mastitis clínica, la cual se caracteriza por anomalías visibles en la ubre o leche, y que además puede ser aguda o subaguda cuando los signos incluyen sólo alteraciones menores en la leche tales como coágulos, hojuelas o secreción de leche teñida con sangre (Shearer y Harris, 2003).

Los casos agudos son caracterizados por el inicio repentino de dolor, calor, inflamación, enrojecimiento y alteración en la secreción láctea de las glándulas afectadas (Bazan *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, porque el miembro posterior roza con la glándula afectada. Si la mastitis es unilateral, la glándula afectada puede estar más grande que la sana (Shearer y Harris, 2003).

La presentación más importante es la forma subclínica (Guerra, 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 contenido celular de la leche (Bazan *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 y Harris, 2003)

Etiología

La mastitis puede ser causada por agentes infecciosos como bacterias, hongos, virus, mycoplasmas y rickettsias (Ndegwa *et al.*, 2001), siendo los principales géneros y especies bacterianas causantes de mastitis, los siguientes:

1. *Staphylococcus* spp (Contreras *et al.*, 2007)

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

El *Staphylococcus aureus* es el patógeno más aislado de la leche de cabras, y puede producir casos agudos de mastitis gangrenosa, mastitis crónicas y subclínicas (Mørk *et al.*, 2005).

S. aureus puede secretar diversas toxinas que contribuyen en la patogénesis de la mastitis. Entre estas exotoxinas, algunas tienen la capacidad de matar células fagocíticas tales como los polimorfonucleares (PMN) y monocitos (Rainard *et al.*, 2003).

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

Un grupo importante de *Saphylococcus* spp son los SCN, que son los microorganismos más prevalentes en los casos subclínicos: *Staphylococcus epidermidis*, *S. xylosus*, *S. simulans*, *S. chromogenes*, *S. caprae* (Gonzalo *et al.*, 2002), *S. lentus* y *S. warneri*, en un diagnóstico rutinario de mastitis normalmente los SCN no son identificados a nivel de especie y son tratados como un grupo uniforme (Blaiotta *et al.*, 2010). *S. chromogenes* es causante de un mayor número de infecciones que otros SCN (Zhang y Maddox, 2000).

2. Streptococcus spp

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

3. Otros agentes bacterianos

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

Transmisión

La incidencia de la mastitis aumenta cuando los mecanismos de defensa de la glándula mamaria se deterioran (Sordillo y Streicher, 2002) y casi siempre es contagiosa ya que se puede transmitir de cabra a cabra, a través de las manos del

ordeñador, toallas, pezoneras, cama, pisos y también por vía oral, por medio de los cabritos (Tardáguila y Gonzalo, 1999).

Establecimiento de la infección e inflamación del área dañada

El pezón en sí es la primera línea de defensa contra la penetración de bacteria dentro de la ubre. Normalmente, el orificio del canal de pezón cierra fuertemente cuando la cabra no es ordeñada (Paape y Capuco, 1997).

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. Estas células son la segunda barrera de defensa debido a que pueden englobar y destruir a las bacterias, y junto con un número relativamente pequeño de células epiteliales de los tejidos secretores de la leche, son conocidas como células somáticas (Hernández y Bedolla, 2008). Cuando el tejido de la ubre se daña o se infecta, un número significativo de células sanguíneas se acumulan en la leche (Bazan *et al.*, 2009). Aun así, durante este proceso, los leucocitos liberan sustancias que atraen a más leucocitos desde el torrente circulatorio hacia la leche (Hernández y Bedolla, 2008).

Métodos de diagnóstico

Es muy importante el conteo de células somáticas en la leche, ya que se puede conocer si la leche que se obtiene de la glándula mamaria es de buena calidad, también sirve para conocer el estado de salud de la misma (Martínez y Peris, 1998; Salama *et al.*, 2002).

La mastitis puede ser detectada entonces mediante el conteo celular de células somáticas (Luengo *et al.*, 2002), ya que es uno de los procedimientos más

empleados por su utilidad y sencillez para el estudio de la leche, determinando directa o indirecta del número de células somáticas (Figuroa *et al.*, 2002). Mediante la prueba de California para mastitis (CMT) se estima el grado de inflamación de la glándula mamaria detectando grados de mastitis y con la prueba de Wisconsin se determinan números crecientes de leucocitos en la leche (Figuroa *et al.*, 2002; Fernández *et al.*, 2004).

Análisis bacteriológico de la leche

La realización del diagnóstico microbiológico es de gran utilidad, ya que aporta información sobre la etiología y, en consecuencia, valiosa información epidemiológica que permitirá encauzar el control del problema particular en cada explotación (Martínez y Peris, 1998).

Los cultivos en el laboratorio son necesarios para identificar los organismos específicos que se encuentran comprendidos en un caso clínico de mastitis y para distinguir los animales sanos de aquellos que presentan un caso subclínico. La fidelidad de los resultados de laboratorio depende de los cuidados sanitarios que se tengan durante la toma de muestras y su manipulación posterior (Pinzón, 1989).

Tratamiento, control y profilaxis.

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 vida del animal así como la glándula afectada (Shearer y Harris, 2003). En algunos países la antibioterapia es ampliamente utilizada en el período seco para mantener el control en el conteo celular de la leche (Poutrel *et al.*, 1997).

El tratamiento se basa en la aplicación de antibióticos de acuerdo a la sensibilidad antibiótica del patógeno que esté causando la infección. Los antibióticos pueden ser administrados en forma local (intramamaria) y/o parenteral cuando se sospecha de un compromiso del estado general (Tadich *et al.*, 1987). Las

terapias actuales para la mastitis confían pesadamente en el uso de los antibióticos de los β -lactámicos tales como penicilinas y cefalosporinas.

También es recomendable la administración de antihistamínicos y corticoides, estos últimos solamente en hembras no gestantes (Kerr y Wellnitz, 2003).

En la profilaxis de la enfermedad se recomienda la higiene de las instalaciones, cama limpia y seca, buena ventilación, e higiene del equipo de ordeño, adoptar un turno de ordeña dejando las cabras infectadas al final. Usar la CMT frecuentemente para detectar las mastitis subclínicas, lavar las manos de los operarios y los pezones antes del ordeño secando con toallas de papel, sellado de pezones después del ordeño y mantener las máquinas ordeñadoras limpias y con número de pulsaciones y nivel de vacío adecuados, pezoneras en buen estado (Garces y Concha, 2005).

Todas las cabras deben estar descornadas, para reducir riesgo de lesiones en la glándula y pezones. Las cabras con abscesos abiertos deben de aislarse del resto o de preferencia ser eliminadas del rebaño (Shearer y Harris, 2003).

La amputación quirúrgica del pezón es beneficiosa para el mejor drenaje del medio 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 permite no solo disminuir la cuenta de células somáticas, sino que, además, se ha comprobado una reducción significativa de mastitis agudas postparto y un aumento variable pero importante de la producción láctea (Maier y Zurich, 2000).

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 (Figueroa *et al.*, 2002).

JUSTIFICACIÓN

De acuerdo a los antecedentes descritos y debido a que en México existen escasas investigaciones sobre mastitis en cabras, la finalidad del presente trabajo de investigación es dar a conocer los diferentes géneros bacterianos que están presentes en la leche de cabras lecheras con y sin mastitis, así como también, manifestar la susceptibilidad que tienen a los antibióticos. Es de gran importancia tener conocimiento sobre este tema para poder establecer medidas de prevención y control.

OBJETIVO GENERAL

Identificar las bacterias presentes en leche de cabras sanas y con mastitis clínica o subclínica

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar los principales microorganismos presentes en la leche de cabras con mastitis y sin mastitis.
2. Determinar la resistencia de los diferentes géneros bacterianos aislados a los quimioterapéuticos.
3. Determinar la sensibilidad de los diferentes géneros bacterianos aislados a los quimioterapéuticos.

MATERIAL Y MÉTODOS

I. Origen de las muestras

Se trabajaron muestras de leche de cabras tomada directamente de la ordeña, en los Estados de Coahuila y de San Luis Potosí.

En el Estado de Coahuila se trabajó con hatos que tenían un sistema extensivo orientado a la producción de leche, con las razas Nubia, Saanen y Alpina, la alimentación en estos animales estaba basada en el pastoreo y concentrado.

En el Estado de San Luis Potosí Se trabajó con hatos que tenían un sistema extensivo orientado a la producción de leche, con cabras criollas, cruzadas principalmente con Nubia, la alimentación estaba basada en el pastoreo y fueron suplementadas con rastrojos de maíz y frijol.

II. Marco de referencia

Estado de Coahuila. El Estado de Coahuila 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 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 del Meridiano de Greenwich. Se localiza a una distancia aproximada de 872 km. de la capital del País (Figura 1).

Estado de San Luis Potosí. El Estado de San Luis Potosí está ubicado entre los 24°22' y 21°07' de latitud norte y 98°20' y 102°17' de longitud oeste. Colinda al norte con los estados de Coahuila y Nuevo León, al noreste con Tamaulipas, al este con Veracruz, al sureste con Hidalgo, al sur con Querétaro y Guanajuato, al oeste con Zacatecas y al suroeste con Jalisco (Figura 2).



Figura 1. Ubicación Geográfica del Estado de Coahuila



Figura 2. Ubicación Geográfica del Estado de San Luis Potosí

III. Criterios de inclusión de las cabras seleccionadas

Se seleccionaron 55 cabras del Estado de Coahuila y 61 del Estado de San Luis Potosí, a las cuales se les tomó muestras de leche de la glándula mamaria. Se realizó muestreo en cabras que se encontraban clínicamente sanas así como enfermas con mastitis clínica o subclínica. El muestreo se realizó de forma aleatoria.

IV. Colección y transporte de las muestras

Se obtuvieron 2 muestras de leche de cada cabra, se desinfectaron los pezones con torunda y alcohol al 70%, se desecharon los tres primeros chorros de leche de cada glándula. Posteriormente, se obtuvieron 10 mL de leche en frascos estériles

con cierre hermético. Las muestras fueron refrigeradas y transportadas al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias para realizar el cultivo, aislamiento e identificación bacteriana.

V. Diagnóstico Bacteriológico

Las muestras de leche se sembraron en Agar Sangre y Mc Conkey y se incubaron a 37 °C durante 24 horas (Figuras 3 y 4). Se realizó tinción de Gram de las muestras donde hubo crecimiento bacteriano para identificar la morfología (Figura 5), de acuerdo al siguiente procedimiento:

Tinción de Gram

1. Se colocó en un portaobjetos una gota de agua destilada estéril.
2. Se expandió un poco de la muestra en la gota de agua destilada.
3. Se fijó al calor (10 veces).
4. Se dejó enfriar.
5. Se colocó Cristal Violeta a la muestra por 1 minuto.
6. Se enjuagó con agua destilada.
7. Se puso Iodo por 1 minuto.
8. Se enjuagó con alcohol cetona.
9. Por último se le puso Safranina por 1 minuto.
10. Se dejó secar.

Interpretación.

Las bacterias se clasificaron como Gram positivos cuando tiñeron de color azul-violeta y Gram negativos de color rosa o rojos (Figura 5).



Figura 3. Crecimiento bacteriano en Agar Sangre



Figura 4. Crecimiento bacteriano en Mc Conkey. Colonias rosa; positivo a lactosa y Colonias amarillas; negativo a lactosa

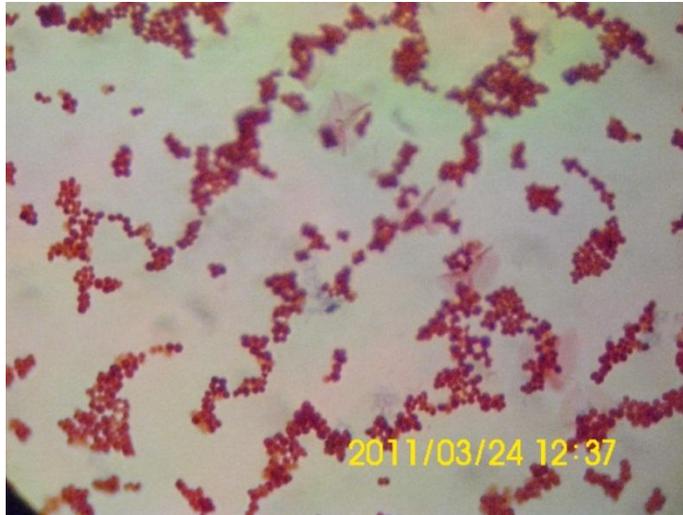


Figura 5. Tinción de Gram: Cocos Gram negativos

Prueba de catalasa

1. Se cogió con cuidado una colonia con el asa de siembra (se evitó tomar agar).
2. Se puso la colonia directamente sobre un portaobjetos sin añadir agua.
3. Se echó sobre la colonia una gota de agua oxigenada pura o al 30 %.
4. Se observó si se formaba burbujas de oxígeno.

Interpretación. La aparición de burbujas indica que el microorganismo es catalasa positivo (Figura 6).



Figura 6. Prueba de catalasa positiva con presencia de burbujas

Prueba de oxidasa

1. Se tomó con el asa de siembra una colonia de la placa Agar Sangre.
2. Se Puso la colonia sobre un papel filtro y se añadió una gota de sustrato cromógeno fresco (10 mg/ml).
3. Se esperaron 20 a 60 segundos y se observó si existió algún cambio en la coloración.

Interpretación. Si la tira se pone de color azul oscuro, el microorganismo es oxidasa positiva (Figura 7).



Figura 7. Prueba de oxidasa negativa de color amarillo

Oxido-fermentación (OF)

Se inocularon tubos de medio con asas de punta recta, por picadura. Uno de los tubos se recubrió con aceite de parafina para aislarlo del oxígeno (tubo de fermentación) y otro no (tubo de oxidación),

Interpretación.

Para checar si la bacteria fermenta, oxida o ninguna de las 2 y si la bacteria es aerobia o anaerobia (Figura 8).



Figura 8. Prueba de OF. OF oxidó (izquierda): OF fermentó (derecha)

A todos los bacilos y cocobacilos se les realizaron pruebas bioquímicas (Figura 9).



Figura 9. Pruebas bioquímicas. A) Urea – crema = negativo y rosa mexicano = positivo, B) Citrato – verde = negativo y azul = positivo, C) TSI – amarillo = ácido/ácido, amarillo/rojo = ácido/alcalino y rojo = alcalino/alcalino.

Citrato Simmons

Utilización del citrato como única fuente de carbono. Se llevó a cabo por estría.

Interpretación.

Positivo: Azul

Negativo: Verde

Rojo de Metilo (MR) y Voges Proskauer (VP)

El Caldo MR determina la habilidad de las bacterias para producir ácidos estables por fermentación de la glucosa y VP la capacidad de producir acetoína por fermentación de la glucosa, se inoculó el caldo.

Interpretación.

Positivo: Rojo, presencia de ácidos, pH 4 y color rosa, presencia de acetoína

Negativo: Amarillo, no producción de ácidos estables y no desarrollo de color rosa, ausencia de acetoína

Urea

Determina si la bacteria degrada la Urea. Se llevó a cabo por estría.

Interpretación.

Positivo: Rosa intenso

Negativo: El medio permanece igual

Indol SIM

Determina si la bacteria a través de Triptofanasas puede degradar el Triptófano a indol, si hay producción de H₂S a partir de aminoácidos azufrado y si la bacteria es móvil. Se llevó a cabo por picadura.

Interpretación

Positivo: Rojo (anillo) – presencia de indol (triptófano fue degradado) y negro (precipitado), producción de H₂S

Negativo: Amarillo, la bacteria no puede degradar el triptófano, el medio de cultivo se queda igual y la bacteria sólo crece en la línea de inoculación.

Triple Azúcar Hierro (Triple Sugar Iron - TSI)

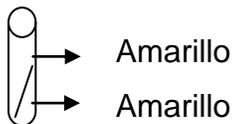
Medio de cultivo usado frecuentemente para la diferenciación de Enterobacterias, en base a la fermentación de glucosa y lactosa, y a la producción de ácido sulfhídrico. Esta prueba se inocula por picadura y posteriormente por estría.

Interpretación.

Positivo: Utilización de glucosa,

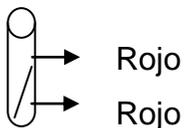


utilización de Lactosa y/o sucrosa



y en ambos puede haber producción de gas y H₂S (negro)

Negativo: Utilización de peptonas



Motilidad-Indol-Ornitina (Motility-Indole-Ornitine - MIO)

Permite identificar bacterias de acuerdo a su motilidad, a la reacción de Indol y a la descarboxilación de la ornitina. Se llevó a cabo por picadura.

Interpretación.

Negativo a ornitina: Morado o lila

Positivo a ornitina: amarillo

Agar Lisina Hierro (Lysine Iron Agar - LIA)

Esta prueba permite diferenciar los microorganismos que producen descarboxilación o desaminación de la lisina. Se puede detectar además la producción de ácido sulfhídrico. Se inocula por estría.

Interpretación.

Positivo: Café-amarillo

Negativo: morado oscuro y café oscuro

Agar de Nitrato

Determina si la bacteria tiene la capacidad de reducir nitratos a nitritos. Se inoculó con estría.

Interpretación.

Positivo: Rojo (sin echar el polvo de zinc)

Negativo: Medio permanece igual (con el polvo de zinc cambia a rojo), todas las pruebas bioquímicas se incubaron por 24 horas a 37°.



Figura 10. Prueba de coagulasa. Muestras negativas a la prueba

A los cocos se les realizó la prueba de coagulasa (Figura 10). Se preparó una mezcla de 80 µl de solución salina y 20 µl de plasma de conejo en un tubo de ensayo previamente esterilizado, se le inoculó la muestra (contiene cepas de *S. aureus*). Se Tapó el tubo de ensayo con algodón hidrofílico y se dejó incubando a 37° C por un día.

Interpretación. Se estratificaron los resultados en 4 niveles:

1. Pequeños coágulos no organizados
2. Pequeños coágulos organizados
3. Gran coágulo organizado
4. Todo el contenido aparece coagulado y se mantiene cuando invierte el tubo.

Se consideran positivos los niveles 3 y 4.

Los bacilos y los cocobacilos, se identificaron de acuerdo a sus características de colonias y a sus características morfológicas y a la tinción de Gram (Barrow et al., 2003).



Figura 11. Prueba de susceptibilidad a los antibióticos. La sensibilidad se observa de acuerdo al tamaño de los halos

Pruebas de susceptibilidad a los antibióticos

A todos los aislamientos se les realizó la técnica de Kirby Bauer, para identificar su sensibilidad (Figura 11).

1. Primero se estandarizó la muestra a 0.5 Mc Farland.
2. Se flameó un hisopo estéril y se sembró en una caja con Agar Mueller Hinton de manera masiva.
3. Se colocó el disco para Gram positivos o Gram negativos.
4. Se dejó incubando a 37° por 24 horas.

Identificación de género y especie

Los cocos se trabajaron para identificar el género y especie bacteriano utilizando el sistema API *Staphylococcus* y API *Streptococcus* (Biomérieux) siguiendo las instrucciones del fabricante. En el sistema, a cada pocillo con su respectivo azúcar, se le agregó muestra, cada galería se incubó a 24 horas o más a 37 °C y mediante la clave numérica (Figura 12).



Figura 12. Sistema API *Staphylococcus* y API *Streptococcus* (Biomérieux)

Se llevaron a cabo pruebas complementarias en el medio de Christie–Atkins–Munch-Petersen (CAMP) (Figura 13). Se sembró en un medio de *S. aureus* y alrededor se sembraron las muestras correspondientes. Se dejó incubando a 37 °C durante 24 horas.

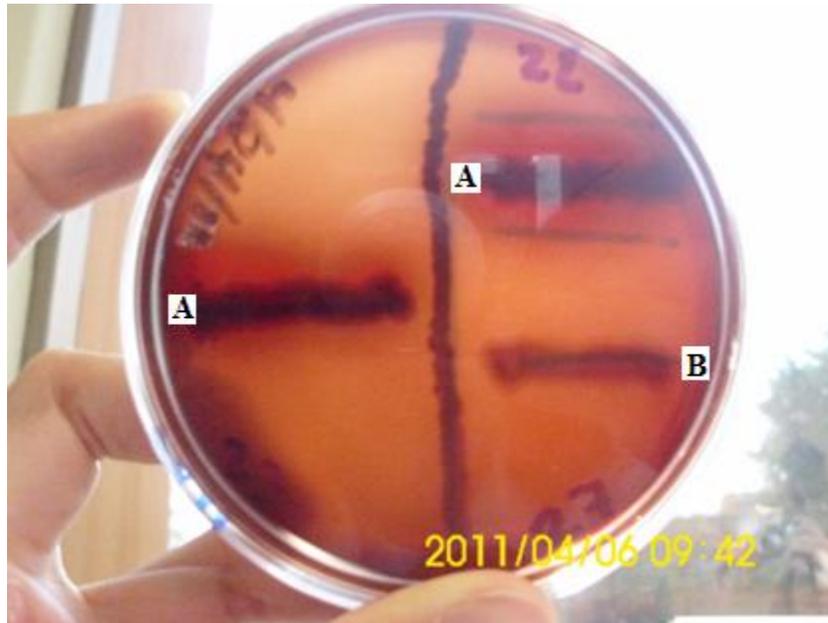


Figura 13. Prueba en el medio de CAMP. A) positivas a esculina B) negativa

Se realizó la prueba de Noboviocina, igual que un antibiograma (Figura 14).

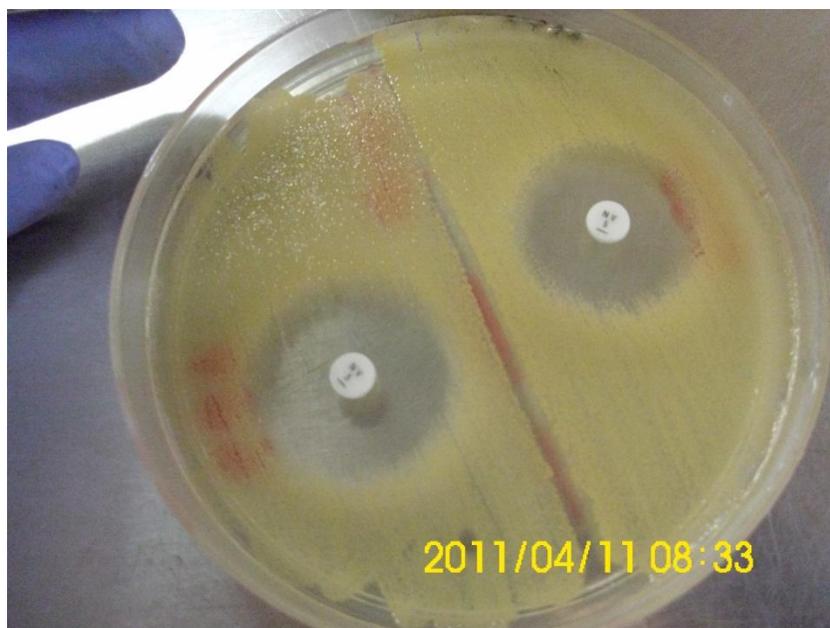


Figura 14. Prueba de Noboviocina. Ambas muestras son sensibles a Noboviocina

VI. Análisis Descriptivo

Los resultados de las pruebas bioquímicas de los bacilos se agruparon en cuadros para una mejor interpretación (Barrow y Feltham, 2003). Los cocos se analizaron con el sistema API *Staphylococcus* y API *Streptococcus*.

RESULTADOS

Número de muestras

Se obtuvieron un total de 111 muestras de leche para realizar estudios bacteriológicos. En Coahuila se obtuvieron 55 (49.54%) (Cuadros 1 y 2) y en San Luis Potosí 56 muestras (50.45%) (Cuadros 3 y 4).

Diagnóstico Bacteriológico

De las 111 muestras, 95 (85.58%) presentaron crecimiento bacteriano y ocho crecieron contaminadas por lo que se trabajaron solamente 87 (78.37%) muestras. En Coahuila las muestras que presentaron crecimiento fueron 55/55 muestras (100%) y en San Luis Potosí las muestras con crecimiento fueron 40/56 muestras (71.42%) (Figuras 15-21).

Del total de aislados bacterianos obtenidos en los dos estados, los que se encontraron fueron: Estafilococos coagulasa negativos: *Staphylococcus chromogenes* 12/87 (13.79%), *Staphylococcus simulans* 9/87 (10.34%), *Staphylococcus xylosus* 9/87 (10.34%), *Staphylococcus lentus* 8/87 (9.19%), *Staphylococcus hominis* 5/87 (5.74%), *Staphylococcus haemolyticus* 3/87 (3.44%), *Staphylococcus auricularis* 3/87 (3.44%), *Staphylococcus sciuri* 1/87 (1.14 %), *Staphylococcus warneri* 1/87 (1.14%), *Staphylococcus epidermidis* 1/87 (1.14%), *S. saprophyticus* 1/87 (1.14%) (Figura 22).

Estafilococos coagulasa positivos: *Staphylococcus intermedius* 2/87 (2.29%) (Figura 23)

Cuadro 1. Pruebas bioquímicas de aislamientos de bacilos de leches de cabras del Estado de Coahuila

Muestra	Gram	Cat.	Ox.	OF	Cit.	Urea	INDOL SIM	RM	TSI	VP	MIO	LIA	Nit.
49	-	+	+	F	+	-	-	-	Ác./Al.	+	-	-	+
11P	-	+	+	F	+	-	-	-	Ác./Ác.	+	-	-	+
30P	-	+	+	-	-	-	-	+	Al./Al.	+	-	-	-
16	-	+	+	F	-	-	+	+	Ác./Ác.	+	-	-	+
67	-	+	+	F	+	-	-	+	Ác./Ác. (G)	+	-	+	+
11	+	+	+	F	+	-	-	+	Ác./Ác.	+	-	-	+
69	-	+	+	F	+	-	-	-	Al./Al.	+	-	-	+
6	-	+	+	-	-	-	-	+	Al./Al.	-	-	-	+
2	+	+	+	-	-	-	-	+	Ác./Ác.	+	+	+	-
1P	-	+	+	-	+	-	-	+	Ác./Al.	+	-	-	-
22	-	+	+	F	-	-	-	+	Ác./Ác.	-	-	-	+
23	-	+	+	F	-	-	-	+	Ác./Ác.	+	-	-	+
27	-	+	+	F	-	-	+	+	Ác./Ác.	+	-	-	+
8	+	+	+	-(B)	+	-	-	+	Ác./Al.	+	-	+	-
89	-	+	+	F	+	-	-	-	Al./Al.	+	-	+	+
26	-	+	+	F	+	-	-	-	Al./Al.	+	-	-	+
57	+	+	+	F	+	-	-	+	Ác./Ác.	+	+	-	-
85	+	+	+	-(B)	-	-	-	+	Ác./Al.	+	+	-	-

Cuadro 2. Pruebas bioquímicas de aislamientos de cocobacilos de leches de cabras del Estado de Coahuila

Muestra	Gram	Cat.	Oxi.	OF	Cit.	Urea	Indol SIM	RM	TSI	VP	MIO	LIA	Nit.
71	-	+	+	-	-	-	-	-	Al./Al.	-	-	-	-
6P	-	+	+	F	+	-	-	-	Ác./Ác.	+	-	-	+
36P	-	+	+	F	+	-	-	-	Ác./Ác. (G)	+	-	-	+
8P	-	+	+	F	+	-	-	-	Ác./Ác.	+	-	-	+
68g	+	-	+	F	-	-	-	-	Ác./Ác.	-	-	+	-
40	+	+	+	F	+	-	-	-	Ác./Ác. (G)	+	-	-	+

Cuadro 3. Pruebas bioquímicas de aislamientos de bacilos de leches de cabras del Estado de San Luis Potosí

Muestra	Gram	Cat.	Oxi.	OF	Cit.	VP	Urea	Indol SIM	RM	TSI	MIO	LIA	Nit.
399	-	+	+	F	-	+	-	-	-	Ác./Al.	-	-	+
404	-	+	-	F	-	+	-	-	+	Ác./Ác.	-	+	+
411	-	+	+	F	-	+	-	-	+	Ác./Ác.	-	-	+
568	-	+	+	-	-	+	-	-	+	Ác./Al	-	-	+

Cuadro 4. Pruebas bioquímicas de aislamientos de cocobacilos de leches de cabras del Estado de San Luis Potosí

Muestra	Gram	Cat.	Oxi.	OF	Cit.	VP	Urea	Indol SIM	RM	TSI	MIO	LIA	Nit.
166	-	+	-	F	-	+	-	-	-	Ác./Ác.	-	-	+

Bacillus panthotenticus 3/87 (3.44%), *Bacillus cereus* 1/87 (1.14%) y *Bacillus coagulans* 1/87 (1.14%) (Figura 23).

Gram negativas: *Micrococcus kristinae* 1/87 (1.14%), *Mannheimia haemolytica* 10/87 (11.49%), *Aeromona* spp 4/87 (4.59%), *Arcobacter* spp 4/87 (4.59%), *Pasteurella multocida* 1/87 (1.14%), *Klebsiella pneumoniae* 1/87 (1.14%), *Alcaligenes fecalis* 1/87 (1.14%) (Figura 24).

Estreptococos: *Streptococcus agalactiae* 1/87 (1.14%), *Streptococcus arginosus* 1/87 (1.14%) y *Streptococcus equisimilis* 1/87 (1.14%) (Figura 25).

El 100% de las bacterias fueron sensibles a los antibióticos Levofloxacina y Trimetroprim Sulfametoxazol, y un 14.28% resistentes a Cefotaxima, Cefuroxima y Cefepine, utilizando la técnica de Kirby Bauer (Cuadro 5).

Cuadro 5. Prueba de susceptibilidad a los quimioterapéuticos

Antibióticos	Sensibles	Intermedio	Resistente
Ampicilina	92.85	7.14	0
Cefalotina	92.85	0	7.14
Cefotaxima	85.71	0	14.28
Levofloxacina	100	0	0
Cefuroxima	85.71	0	14.28
Dicloxacilina	92.85	0	7.14
Eritromicina	85.71	14.28	0
Gentamicina	92.85	0	7.14
Cefepine	85.71	0	14.28
Penicilina	92.85	0	7.14
Tetraciclina	92.85	7.14	0
Trimetroprim Sulfametoxazol	100	0	0

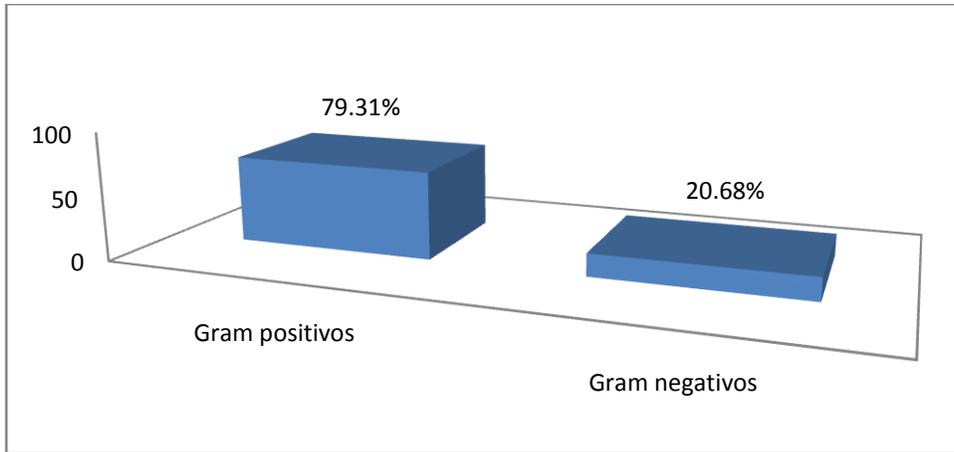


Figura 15. Tinción de Gram de muestras de leche de cabras de los Estados de Coahuila y San Luis Potosí

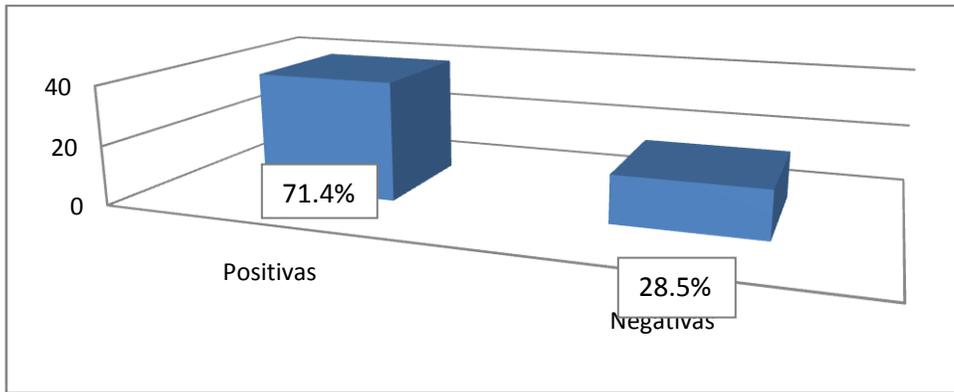


Figura 16. Número de muestras con y sin crecimiento bacteriano de los Estados de Coahuila y San Luis Potosí



Figura 17. Porcentaje de muestras positivas sin contaminar y contaminadas de los Estados de Coahuila y San Luis Potosí

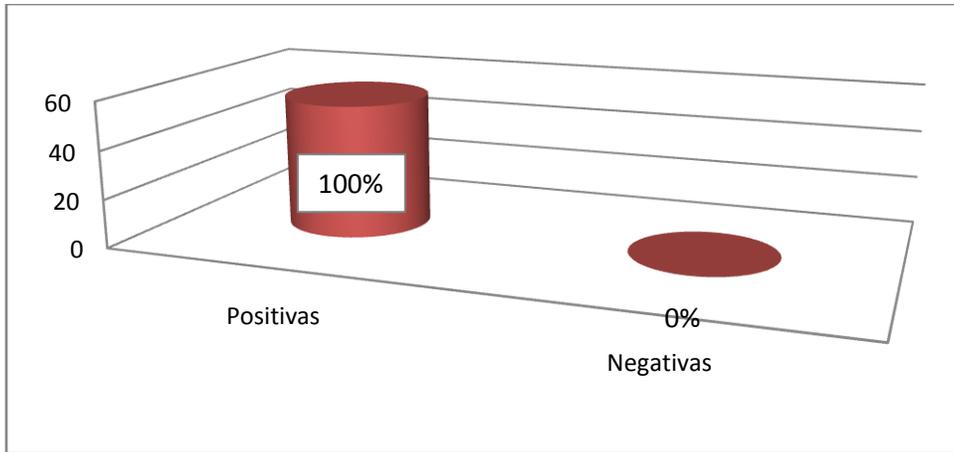


Figura 18. Número de muestras de leche de cabra con y sin crecimiento bacteriano del Estado de Coahuila



Figura 19. Porcentaje de muestras de leche de cabra positivas a aislamientos bacterianos, sin contaminar y contaminadas, del Estado de Coahuila

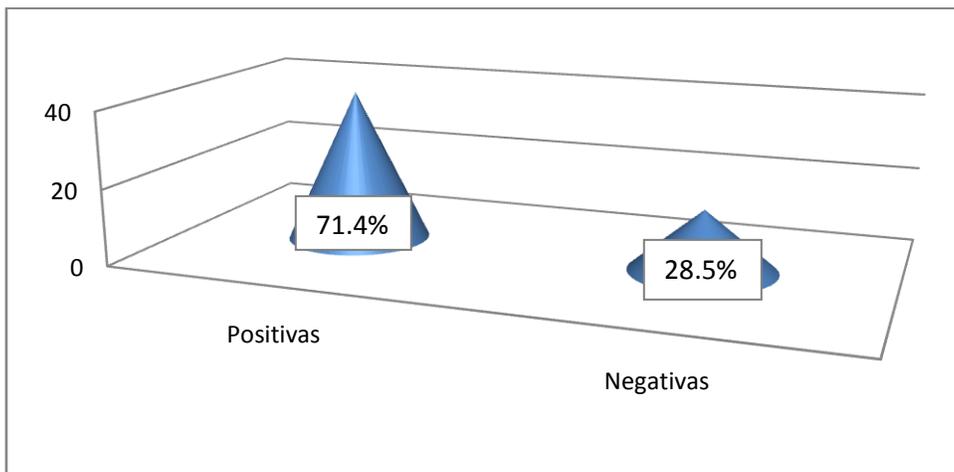


Figura 20. Número de muestras de leche con y sin crecimiento bacteriano del Estado de San Luis Potosí

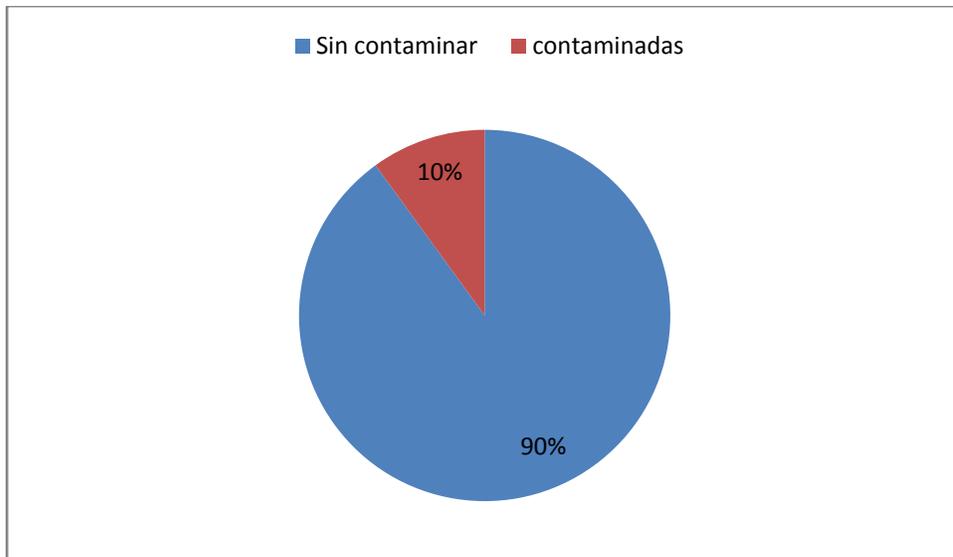


Figura 21. Porcentaje de muestras de leche positivas sin contaminar y contaminadas del Estado de San Luis Potosí

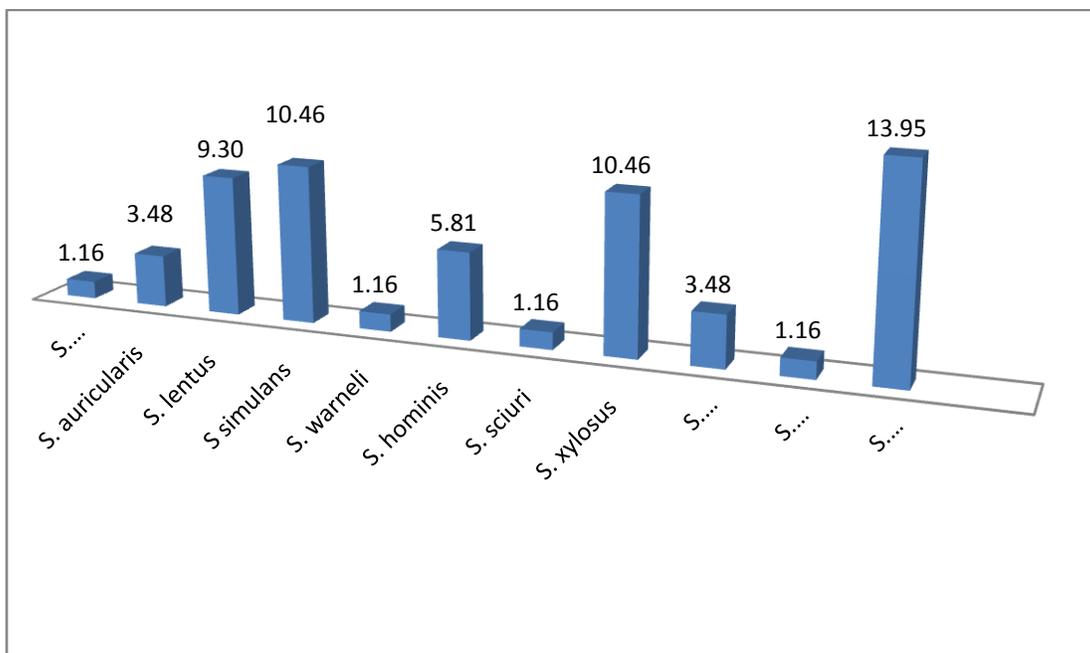


Figura 22. *Staphylococcus coagulans* negativos en muestras de leche de cabras de los Estados de Coahuila y San Luis Potosí

Estadística Descriptiva

En cuanto a los resultados obtenidos en las muestras de leche se observó que en Coahuila hubo mayor cantidad de aislamientos bacterianos que en San Luis Potosí.

En Coahuila se identificaron con mayor frecuencia: *Staphylococcus lentus* 8/52 (15.38%), *Staphylococcus xylosus* 8/52 (15.38%), *Staphylococcus simulans* 4/52 (7.69%), *Mannheimia haemolytica* 8/52 (15.38%), *Aeromona* spp 4/52 (7.69%) y *Arcobacter* spp 4/52 (7.69%).

En San Luis Potosí se identificaron con mayor frecuencia: *Staphylococcus chromogenes* 12/35 (34.28%) y *Staphylococcus simulans* 5/35 (14.28%)

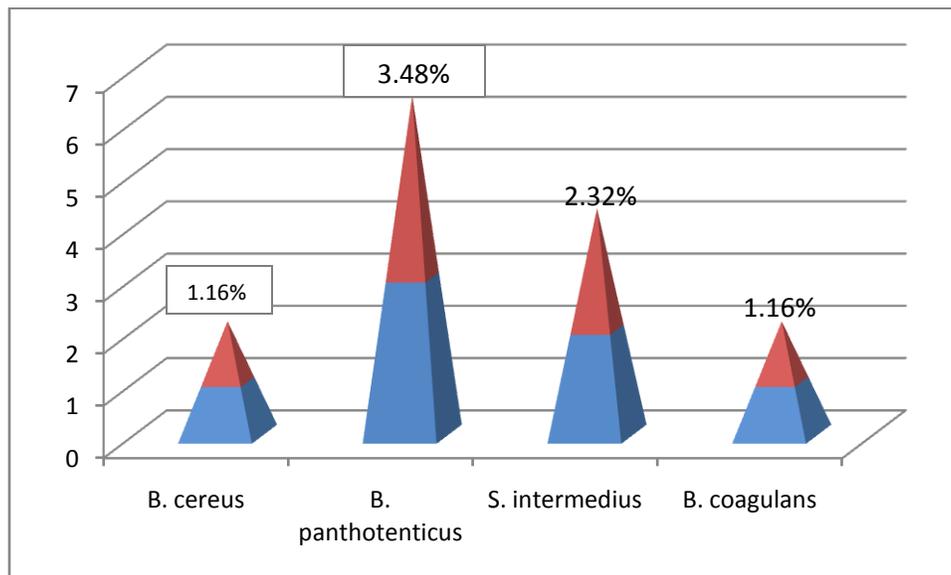


Figura 23. *Staphylococcus coagulans* positivos y *Bacillus* spp en muestras de leche de cabras de los Estados de Coahuila y San Luis Potosí

DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de identificar las diferentes bacterias aisladas de leche de cabras con o sin mastitis clínica o subclínica.

A pesar de que numerosos estudios muestran que el *S. aureus* es el patógeno que con mayor frecuencia es aislado en la leche de cabras (Owens *et al.*, 2001; Figueroa *et al.*, 2002; Shearer y Harris, 2003; Bergonier *et al.*, 2003), éste estudio no mostró aislamientos de éste patógeno en ningún caso, por lo tanto la mastitis

no fue causada por *S. aureus*. Sin embargo, los aislamientos de SCN fueron más frecuentes coincidiendo con los resultados de otros estudios (Pengov, 2001; Luengo *et al.*, 2002; Bergonier *et al.*, 2003).

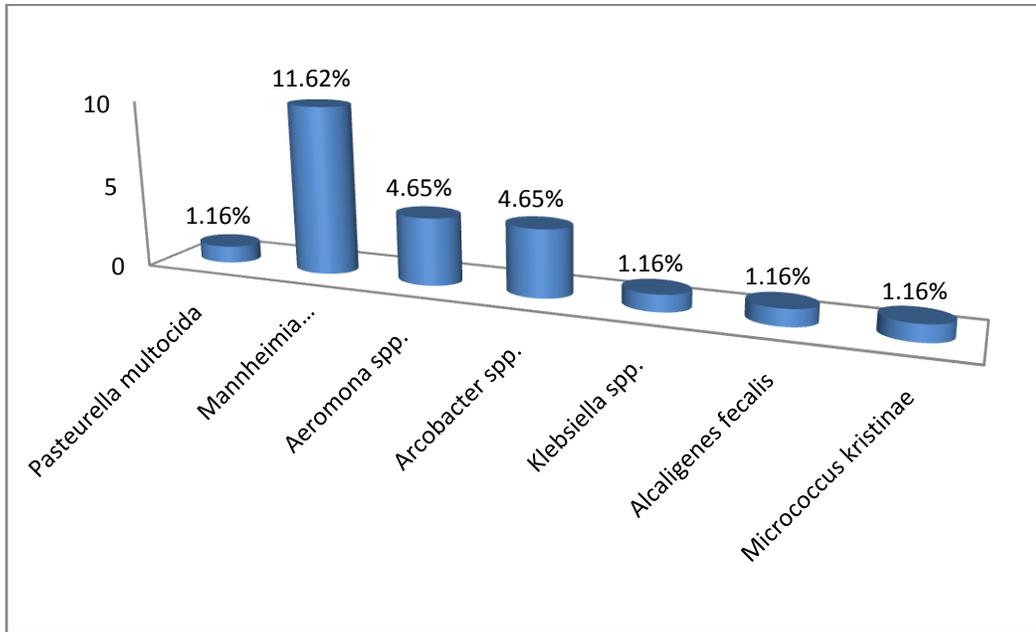


Figura 24. Otras bacterias aisladas en muestras de leche de cabra de rebaños del Estado de Coahuila y San Luis Potosí

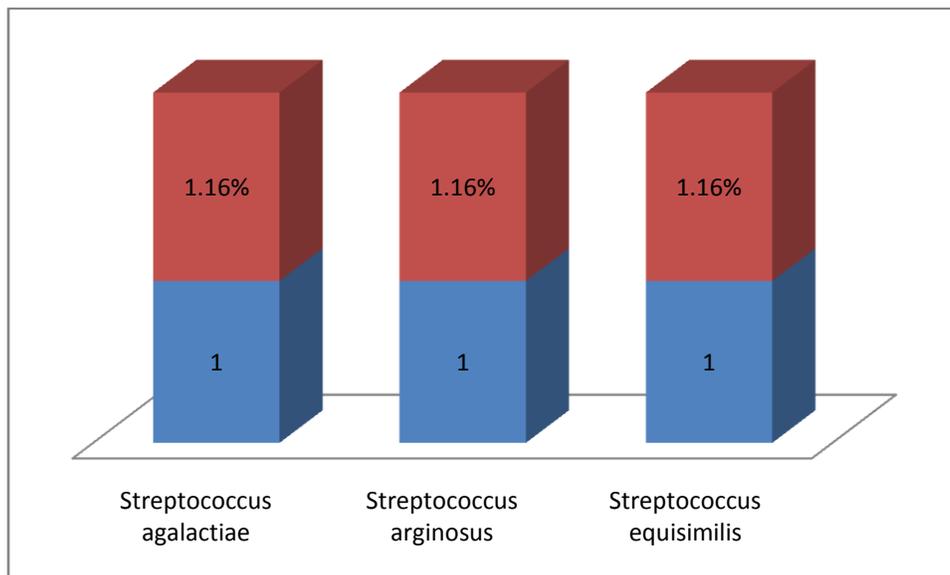


Figura 25. *Streptococcus* en muestras de leche de cabras de los Estados de Coahuila y San Luis Potosí

El trabajo de investigación de Jiménez *et al.* (2000), coincidió con éste trabajo ya que se encontraron mayormente aislamientos de *S. chromogenes* en muestras de leche de cabras, mientras que en el trabajo de Bergonier *et al.*, 2003 muestra que el microorganismo que más aislaron de los SCN fue el *S. caprae* lo cual contrasta con estos resultados.

CONCLUSIONES

Los géneros bacterianos aislados con mayor frecuencia en leche de cabras obtenidas bajo las condiciones del estudio fueron los *Staphylococcus* coagulasa negativos, en especial *Staphylococcus chromogenes*.

De acuerdo a la estadística descriptiva en Coahuila hubo mayor cantidad de aislamientos bacterianos que en San Luis Potosí.

El uso de la técnica de Kirby Bauer ayudó para conocer la susceptibilidad a los quimioterapéuticos, las bacterias fueron sensibles a Levofloxacina y al Trimetoprim Sulfametoxazol y resistentes a Cefotaxima, Cefuroxima y Cefepine con el 14.28%.

Los sistemas API *Staphylococcus* y API *Streptococcus* son de gran utilidad para identificar a las bacterias presentes en la leche de cabra.

Debe señalarse que la información sobre mastitis en cabras en México es escasa. Por 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 leche de cabras con o sin mastitis clínica o subclínica, por lo que es necesaria más investigación en esta área.

REFERENCIAS

1. Barrow, G.I. y Feltham, R.K. Cowan y Steel's. 2003. Characters of Gram positive bacteria and characters of Gram negative bacteria. Manual for the identification of medical bacteria. Third edition; 50-164.
2. Bazan, R.; Cervantes, E.; Salas, G.; Segura C., 2009. Prevalencia de mastitis subclínica en cabras lecheras en Michoacán, México. Revista Científica; XIX (4): 334-338. Universidad del Zulia.
3. Bergonier, D.; De Cremoux, R.; Rupp, R.; Lagriffoul, 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 fragment length polymorphism assay for identification and differentiation of coagulase-positive species (*S. aureus*, *S. delphini*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. pseudointermedius* and *S. schleiferi 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 based on coagulase and protein A gene polymorphisms. J Vet Diagn Invest 21:849–853.
6. Contreras, A.; Sierra, D.; Sánchez, A. y Corrales, J.C. 2007. Mastitis in small ruminants. Science Direct; 68: 145–153.
7. Díaz S., J.R.; Peris R., C.; Fernández M., N.; Rodríguez M., M.; Molina P., M.P. y Martí de O., A. 1999. Efecto de la velocidad de pulsación sobre la susceptibilidad del ganado ovino a la infección mamaria y el recuento de células somáticas en la leche. Patología. XXIV: 319-323.
8. Fernández, E.; Blume, V.; Garrido, P.; Collins, M. D.; Mateos, A.; Domínguez, L. y Fernández G., J. F. 2004. *Streptococcus equi* subsp. *ruminatorum* subsp. nov., isolated from mastitis in small ruminants.

- International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 54: 2291–2296.
9. Figueroa V., C.; Meda G., F. y Janacua V., H. 2002. SAGARPA. Manual de buenas prácticas en producción de leche caprina.
 10. Garces A., R. y Concha B., C. 2005. La mastitis caprina. Seminario Internacional. Producción de Leche Caprina: “del establo a la mesa”. Chillán. CHILE. <http://es.scribd.com/doc/2222100/Leche-Cabra->
 11. Gonzalo, C.; Ariznabarreta, A.; Carriedo, 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 diagnósticas 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. Hernández R., J. M. y Bedolla C., J.L. C. 2008. Importancia del conteo de células somáticas 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. Jiménez M., J.; Luengo R., C.; García M., D. y Contreras de V., A. 2000. Diagnóstico de mamitis subclínicas 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.; Sánchez L., A.; Corrales R., J.C.; Fernández M., C. y Contreras de V., A. 2002. Estudio lactacional de los factores de variación del recuento de células somáticas en leche de cabra. *SEOC*; 700-706.
 18. Maier N., L.; Zurich Z., L. 2000. Mastitis subclínica caprina: Aspectos microbiológicos y terapéuticos. *Monografías de Medicina Veterinaria*; 20(2).

http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/CDA/mon_vet_seccion/0,1419,S CID%253D18356%2526ISID%253D452,00.html

19. Martínez, B. y Peris, C. 1998. Utilización de California Mastitis Test en el diagnóstico de mastitis caprinas y su relación con el recuento de células somáticas. *Producción Ovina y Caprina XXIII*: 375-379
20. Mørk, T.; Tollersrud, 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
21. Medrano, J.A. 2000. Recursos animales locales del centro de México. *Arch. Zootec.* 49: 385-390
22. Ndegwa, E.N. 2001. Risk factors associated with subclinical subacute mastitis in Kenyan dairy goats. *Isr. J. Vet. Med.*; 56: 4-8
23. 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
24. Paape, M.J. y Capuco, A.V. 1997. Cellular defense mechanisms in the udder and lactation of goats. *J AnimSci*; 75:556-565.
25. 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
26. Pinzón G., J.L. 1989. Mastitis Bovina. *Fonaiap*, (31).
27. 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.
28. 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.
29. Salama, A. A. K.; Such, X.; Caja, G.; Rovai, M.; Albanell, E. y Martí, A. 2002. Efecto del número de ordeños diarios sobre la producción de leche,

- composición y el recuento de células somáticas en ganado caprino. SEOC; 919-925.
30. Serrano M., B.; Garzón S., A.I.; González Á. DE L., M.E.; Oliver A., F.; Figueroa., A.; Martínez H., J. 1998. Efectos del pH y el recuento de células somáticas sobre las características químicas y de producción de leche de oveja merina. *Producción Ovina y Caprina*; XXIII: 419-423
 31. 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>.
 32. Sordillo, L. y Streicher, K. 2002. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *J Mammary Gland BiolNeoplasia*; 7: 135-144.
 33. Tadich, N. A.; González, S. y Ramírez G. R. 1987. Mastitis clínica por *Staphylococcus aureus* en una hembra caprina. *Monografías de Medicina Veterinaria*. Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile. 9(1).
 34. Tardáguila M., J. A. y Gonzalo A., C. 1999. Control de mastitis y producción de leche de alta calidad higio-sanitaria en el ganado ovino lechero de raza churra. Dpto. de Producción Animal I. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
 35. 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 factors in *Staphylococcus aureus*. *PLOS ONE*; 4: e5714.
 36. 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>
 37. Zuluaga E., J. J.; Jaramillo, M.G. y Restrepo B., L.F. 2010. Evaluación comparativa de dos metodologías de diagnóstico de mastitis en un hatillo lechero del Departamento de Antioquia. *Revista Lasallista de Investigación*, 7 (1): 49-57.