



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ADHERENCIA *in vitro* DE *Staphylococcus aureus* A  
CÉLULAS EPITELIALES DEL SENO LACTÍFERO Y SE  
NO DE LA TETA DE LA GLÁNDULA MAMARIA CAPRINA.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

BERTHA RUBIO VÁZQUEZ

ASESOR: GUSTAVO ADOLFO GARCÍA DELGADO

1985.

UNAM 1985/R893  
9558





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ADHERENCIA *in vitro* DE Staphylococcus aureus A CÉLULAS  
EPITELIALES DEL SENO LACTÍFERO Y SENO DE LA TETA DE LA  
GLÁNDULA MAMARIA CAPRINA.

Tesis presentada ante la  
División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
de la  
Universidad Nacional Autónoma de México  
para la obtención del título de  
Médica Veterinaria Zootecnista  
por  
Bertha Rubio Vázquez  
Asesor: Gustavo A. García Delgado  
México, D. F.  
1985.

## RESUMEN

RUBIO VÁZQUEZ BERTHA. "Adherencia in vitro de Staphylococcus aureus a células epiteliales del seno lactífero y seno de la teta de la glándula mamaria caprina". (bajo la dirección de: Gustavo A. García Delgado).

Con el fin de detectar si existe adherencia de Staphylococcus aureus a células epiteliales del conducto de la glándula mamaria caprina se utilizó una prueba in vitro, en donde se utilizaron las células epiteliales y dos cepas bacterianas de Staphylococcus aureus patógenas (una aislada de mastitis caprina y otra de mastitis bovina) y otra cepa de Escherichia coli como testigo negativo; encontrándose que existe diferencia en la adherencia a células de tres diferentes cepas bacterianas. De esto se desprende que la adherencia selectiva de bacterias al epitelio del conducto podría ser un factor que contribuye a la habilidad de los microorganismos para infectar la glándula mamaria caprina y podría, por lo tanto, ser un estadio importante en la patogénesis de la mastitis estafilocócica caprina.

A mis adorados padres.

A mis queridos hermanos.

A David con todo mi amor.

"iii"

## AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi profundo agradecimiento a todas las personas que colaboraron para la realización de este trabajo.

Con la amistad y cariño de siempre al M.V.Z. Gustavo A. García Delgado, director de esta tesis por su valiosa ayuda.

A los M.V.Z. José López Alvarez, Pedro Ochoa y Yolanda Almanza por sus valiosos comentarios.

Al M.V.Z. Juan José Enríquez por todas sus atenciones.

A Irasema Yela y Antonio Aranda por todas sus atenciones.

Al personal del Rastro de Ferrería por su valiosa colaboración.

Al Departamento de Bacteriología de la Fac. de Med. Vet. y Zoot. de la U.N.A.M. por todas las facilidades que me otorgaron para la realización de este trabajo.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN . . . . .	"ii"
INTRODUCCIÓN . . . . .	5
Importancia de la mastitis . . . . .	5
Descripción de la mastitis . . . . .	5
Mecanismos de defensa de la glándula mamaria . . . . .	6
Factores de susceptibilidad a infecciones . . . . .	7
Características patogénicas de <u>Staphylococcus aureus</u> . . . . .	8
Respuesta celular a la infección . . . . .	9
Adherencia bacteriana . . . . .	9
Hipótesis y objetivos . . . . .	11
MATERIAL Y MÉTODOS . . . . .	12
RESULTADOS . . . . .	15
DISCUSIÓN . . . . .	16
CONCLUSIONES . . . . .	17
LITERATURA CITADA . . . . .	18
GRAF. 1 Curva de crecimiento de <u>S. aureus</u> B82-195 ais_ lado de mastitis caprina. . . . .	22
GRAF. 2 Curva de crecimiento de <u>S. aureus</u> B84-62 ais_ lado de mastitis bovina. . . . .	23
GRAF. 3 Curva de crecimiento de <u>E. coli</u> B83-132 (tes_ tigo negativo). . . . .	24
FIG. 1 <u>Staphylococcus aureus</u> adhiriéndose a las células epiteliales de la glándula mamaria caprina . . . . .	25
CUADRO 1. Adherencia de <u>Staphylococcus aureus</u> B82-195 a células epiteliales de los senos lactífe_ ros y senos de la teta, en 27 cabras . . . . .	26
CUADRO 2. Adherencia de <u>S. aureus</u> B84-62 a células epite_ liales de los senos lactíferos y senos de la teta, en 28 cabras . . . . .	27
CUADRO 3. Adherencia de <u>E. coli</u> a células epiteliales de los senos lactíferos y senos de la teta en 6 cabras . . . . .	28
CUADRO 4. Porcentaje de adherencia de <u>S. aureus</u> B82- 195 a células epiteliales de los senos lac_ tíferos y senos de la teta en 27 cabras . . . . .	29

CUADRO 5.	Porcentaje de adherencia de <u>S. aureus</u> B84-62 a células epiteliales de los senos lactíferos y senos de la teta en 28 cabras.	. 29
GRAF. 4	Promedios de adherencia de <u>S. aureus</u> y <u>E. coli</u> a células epiteliales del conducto de la glándula mamaria caprina.	. . . 30

## INTRODUCCIÓN.

En todos los tiempos las cabras han sido particularmente útiles para el hombre, principalmente por su adaptabilidad a las condiciones ambientales variables, por su capacidad para sobrevivir, y a menudo prosperar en localidades de escasa vegetación inadecuadas para la alimentación satisfactoria de otros animales domésticos (7).

La caprinocultura adquiere un relevante interés, especialmente si se toma en cuenta que en México por lo general, se cuenta con pequeños rebaños que utilizan mano de obra familiar y sus productos sirven para el autoconsumo y complemento del ingreso familiar (1).

Las cabras son un bien valioso para el hombre por sus altos rendimientos de leche. La leche es un alimento que por sí solo aporta todos los nutrientes que son indispensables para la dieta humana (carbohidratos, proteínas, lípidos, vitaminas y minerales mezclados con otros componentes como pigmentos, enzimas, gases y leucocitos) (4,7,15).

La mastitis es la enfermedad más importante desde el punto de vista económico por la disminución en la producción de leche en las glándulas afectadas, degradación de leche debido a calidad pobre, servicio veterinario para la atención y tratamiento de animales mastíticos, merma de cabras resultando en una vida productiva corta, y en menor grado por la mortalidad. La contaminación bacteriana de leche de animales infectados puede hacerla inadecuada para el consumo humano y obstaculiza los procesos de elaboración industrial, y en algunas ocasiones difunde enfermedades al hombre (9,35).

El término mastitis se derivó de la palabra griega *mas*tos que significa *mama*, y del sufijo *itis* que significa *inflamación* (35). Los cambios en la leche se caracterizan por alteraciones físicas (cambios de color, presencia de coágulos y de gran número de leucocitos), cambios químicos (disminución de la grasa, caseína, lactosa, aumento del glucógeno, suero, proteínas, pH y cloruros), y bacteriológicos (9,35,36). En el

tejido glandular se observan modificaciones morfológicas: leucocitosis, coágulos de fibrina, suero, sangre y exudado purulento, atrofia de los acines (23).

Al estudiar la mastitis es importante evaluar los mecanismos de resistencia y los factores de susceptibilidad, los cuales han sido estudiados en bovinos principalmente, pero pueden ser aplicados a otras especies.

Como mecanismos de resistencia de la glándula mamaria tenemos:

a) Físicos: la barrera del conducto del pezón, epitelio íntegro, descamación, flujo de la leche, ácidos grasos, queratina y roseta de Furstenberg (5,38).

b) Químicos: sustancias antimicrobianas de la leche: complemento, lisozima, lactoferrina y ciertas peroxidasas. La lactoferrina es una proteína que compete con la bacteria por el hierro. Las peroxidasas generadas en la leche por la presencia de neutrófilos actúan en conjunción con lactoperoxidasas como son la xantina oxidasa sobre tiocianatos para producir hierro tiocianato oxidado, los cuales son altamente inhibidores del crecimiento bacteriano. Las células fagocíticas liberadas en la ubre en respuesta a la irritación contribuyen a la resistencia antimicrobiana no solamente por medio de sus esfuerzos fagocíticos sino también proporcionando lactoferri<sub>n</sub> adicional y peroxidasas lisosomales (29,39).

c) Fagocíticos: los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos son esenciales en la defensa del organismo contra las enfermedades, aunque hay estudios que indican que los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos en la ubre son menos efectivos como fagocitos y destructores de bacterias que en la sangre (31,32). Los neutrófilos en la leche protegen la glándula mamaria contra la alfatoxina de Staphylococcus aureus, la cual es responsable de la mastitis gangrenosa (37). Los linfocitos, células plasmáticas, monocitos, macrófagos y neutrófilos son más numerosos en cuartos infectados (30).

d) Inmunológicos: proteínas con actividad de anticuerpos llamadas inmunoglobulinas (Ig), que se derivan del suero sanguíneo (IgG, IgM), o se elaboran localmente por células plas<sub>m</sub>

máticas situadas cerca del epitelio glandular (IgA) (26,35). Las clases de IgA ó IgM actúan directamente en contra de los antígenos de la pared celular estafilocócica inhibiendo la adhesión de estafilococos al epitelio de la glándula mamaria y también interfieren con el establecimiento de la infección estafilocócica en la glándula, pudiendo ser arrojados de la glándula en el ordeño (26). Hay actividad aglutinante específica por IgA e IgG, transporte activo por IgA, IgG<sub>1</sub> e IgM y actividad opsonizante por IgA e IgG<sub>1</sub> (22). El sistema IgA en la glándula mamaria se desarrolla pobremente (26).

Entre los factores de susceptibilidad de la glándula mamaria a infecciones se encuentran:

a) Los anatómicos: ubres pendulosas, tetas largas, falta de tono en el meato, falta de capa de queratina al inicio de la lactación, gran diámetro en el canal de la teta, hipermastia, malformación del esfínter del conducto galactóforo, malformación de la teta, defectos de pigmentación (donde es dable encontrar diversas lesiones: grietas, engrosamiento de la piel, verrugas, erupciones y reacciones alérgicas), malformación del aparato locomotor (defectos de aplomo y correlativamente un deficiente apoyo que provocan una posición forzada durante el ordeño) (8,12,29,40).

b) Los fisiológicos: las que se ordeñan en forma incompleta o no se ordeñan, después del estro la incidencia de mastitis puede aumentar, las vacas viejas son más susceptibles como resultado de exposiciones continuas, cuando la actividad solar decrece aumenta la incidencia de mastitis, el incremento de proteína en la ración aumenta la producción de leche y esto acarrea una dilución de los factores de defensa y se pierde el equilibrio entre flora y resistencia, acumulación de productos tóxicos que producen disturbios del metabolismo, la variación en el mecanismo de defensa fagocítica de la glándula mamaria podría contribuir a la diferencia en susceptibilidad a la mastitis (5,6,8,12,33).

c) Los mecánicos: en los cuales los procedimientos de higiene deficiente durante el ordeño favorece la transmisión de

microorganismos entre vacas, el grado de eficiencia con que trabajan los equipos de ordeño (5).

Características patogénicas del microorganismo seleccionado:

El organismo más frecuentemente asociado con la mastitis bovina y caprina en México es entre otros Staphylococcus aureus (28, \*).

Los estafilococos son células esféricas de 1  $\mu$ m de diámetro, dispuestas en racimos irregulares. En cultivos líquidos se observan además cocos aislados, en pares y formando cadenas.

Las colonias en medios sólidos son redondas, lisas, elevadas, brillantes y forman un pigmento amarillo dorado intenso. Los estafilococos jóvenes son Gram positivos; sin embargo, al envejecer muchas células se vuelven Gram negativas. Los estafilococos son inmóviles y no forman esporas, son catalasa y coagulasa positivos (25).

Toxinas y enzimas producidas por Staphylococcus aureus (11, 19, 21).

Toxinas:	Acción:
$\alpha$ hemolisina	Hemólisis (ovino, conejo). Vasoconstricción y dermonecrosis.
$\beta$ hemolisina	Hemólisis caliente-fría (ovino).
$\gamma$ hemolisina	Hemólisis débil.
$\delta$ hemolisina	Dermonecrosis, destrucción de leucocitos.
Enzimas:	
Hialurodinasa (factor de difusión)	Hidroliza el ác. hialurónico en la sustancia basal intercelular.
DNAsa	Hidroliza el DNA.
Estafiloquinasa (fibrinolisisina)	Disuelve coágulos por activación del plasminógeno.
Lipasa	Hidroliza los lípidos bactericidas de la piel.
Proteasa	Hidroliza proteínas.

\* M.V.Z. Emilio Suberbie. Comunicación personal (1982).

Las infecciones causadas por Staphylococcus aureus en el co\_mienzo de la lactancia evolucionan en forma muy aguda, con gangrena por la acción necrozante de la alfatoxina. En la mastitis aguda los pequeños conductos son bloqueados rápida\_mente por coágulos de fibrina dando lugar a extensas áreas de obstrucción. En la mastitis crónica la inflamación involu\_cra al epitelio de los conductos y hay proliferación de teji\_do conectivo alrededor de los conductos y bloqueo y atrofia del parénquima glandular (9).

#### Respuesta celular a la infección:

Cuando se presenta la inflamación la secreción de leche disminuye y hasta puede cesar, presentándose leucocitosis en sangre, sobre todo neutrofilia. Aparecen en la leche cloru\_ros de la sangre, pueden presentarse eritrocitos en la leche, lesiones en el citoplasma de las células epiteliales de los alveolos afectados, se presenta tumefacción y gotitas de gra\_sa, moco o líquido hidrópico en el tejido, las células epite\_liales descamadas se vuelven más abundantes; infiltración de neutrófilos en el área, degeneración y necrosis, dependiendo de la virulencia del microorganismo y la resistencia del hos\_pederero. Después de unos días los macrófagos y los linfocitos predominan dentro de la luz de los alveolos y en el tejido intersticial circundante. En mastitis crónica hay hiperpla\_sia de tejido conectivo intersticial del cuarto en que se presenta (34).

#### Adherencia bacteriana:

El fenómeno de "Adherencia" o contacto entre dos célu\_las, involucra una serie de mecanismos fisicoquímicos comple\_jos que dependen en su mayoría de la estereoquímica de la su\_perficie de las células en contacto (22).

#### Tipos de adhesinas bacterianas (22):

##### I. De naturaleza proteica:

- a) Pili o fimbrias { pili sexuales  
pili somáticos (enterobacterias)
- b) Proteínas de membrana externa ( Neisseria )

II. De naturaleza no proteica:

- a) Polisacáridos (lactobacilos).
- b) Acidos lipoteicoicos (estreptococos).

La adhesión selectiva de microorganismos a células epiteliales parece ser crítica en la patogénesis de algunas infecciones de la boca, tráquea, intestino delgado, uretra y vagina (2,20,14,20,22,27).

Recientemente ha cobrado importancia la patogenicidad de microorganismos involucrados con los procesos de mastitis, relacionada a su habilidad para adherirse a las células epiteliales de la glándula mamaria (2,2,10,13,16,17,18,19,24,41,42,43).

En particular se han realizado estudios sobre adhesión selectiva de microorganismos a células epiteliales de la glándula mamaria bovina, sobre los factores que la afectan, y el papel que juega la fimbria de E. coli en la adhesión, en la variación de adherencia bacteriana en diferentes vacas, entre cepas y especies bacterianas y sobre los efectos del tratamiento con agentes físicos, químicos y biológicos en relación con la adhesividad (10,16,18,24,42,43).

Todos estos estudios parecen indicar que la adherencia selectiva bacteriana a las células epiteliales es un factor que contribuye a la habilidad de los organismos para infectar la glándula mamaria y puede por lo tanto considerarse un estado importante en la patogénesis de la mastitis bovina. Sin embargo, no se han llevado a cabo estudios de adhesividad en relación a mastitis caprina.

Se ha planteado la posibilidad de que utilizando enzimas que destruyan al factor localizado sobre la superficie celular del tejido del hospedero, se evita la unión de la bacteria a la célula (22).

Staphylococcus aureus es un microorganismo patógeno de gran importancia, sin embargo, debe investigarse sobre las adhesinas involucradas en la unión de la bacteria a las células del hospedero (22).

Este trabajo se inició con la hipótesis de que existe un

mecanismo de adherencia bacteriana de Staphylococcus aureus B82-195 y B84-62 a las células epiteliales del seno lactífero y seno de la teta en glándula mamaria caprina; y tiene por objetivos:

- 1) Detectar adherencia in vitro de Staphylococcus aureus a células epiteliales de la glándula mamaria caprina.
- 2) Detectar posibles variaciones individuales en cabras a la prueba de adhesividad.
- 3) Detectar si existe diferencia entre cepas bacterianas aisladas de diferentes especies animales a la prueba de adherencia con células epiteliales de glándula mamaria caprina.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

El siguiente método es un resumen de las técnicas descritas por Frost, Frost y col., Harper y col., Wanasinghe y Bramley y col., sobre adherencia bacteriana a células epiteliales del conducto de la glándula mamaria bovina, y aplicado al presente trabajo mediante un estudio piloto (10, 16, 18, 24, 42, 43).

### PROCESAMIENTO DE CÉLULAS EPITELIALES DE GLÁNDULA MAMARIA CAPRINA PARA LA PRUEBA DE ADHERENCIA.

61 glándulas mamarias caprinas de 61 animales clínicamente sanos, recién sacrificados en el rastro de ferrería; 27 glándulas para S. aureus B82-195 aislado de mastitis caprina, 28 para S. aureus B84-62 aislado de mastitis bovina y 6 para E. coli B83-132 aislado de un contaminante posoperatorio.

dentro de 4 hrs después del sacrificio se disecan las glándulas para exponer los senos de la teta (ST) y senos lactíferos (SL), lavándolos con 50 ml de sol fosfatobuferada (SFB) pH 7.4 a 7.6 al 0.1 M, para remover el exceso de leche.

cepillado enérgico con un cepillo de dientes fino ( 8 a 10 veces en forma unidireccional) de los senos para obtener las células epiteliales.

suspensión de las células en 10 ml de SFB, lavándolas 3 veces por centrifugación a 551 x g durante 10' a 4 C.

resuspensión de las células en 1 ml de SFB a una concentración de  $10^2$  células/ml (utilizando un hemocitómetro para la cuenta de células).

PRUEBA DE ADHERENCIA.

OBTENCION DE Staphylococcus aureus y Escherichia coli PARA LA PRUEBA DE ADHERENCIA.

Desliofilizado de los microorganismos (se suspenden las bacterias liofilizadas en 1 ml de caldo nutritivo estéril a temperatura ambiente y se agita suavemente), aislados a partir de mastitis bovina S. aureus B84-62, mastitis caprina S. aureus B82-195 y de un exudado posoperatorio E. coli B83-132.

↓  
Siembra en TSB (caldo tripticasa soya) por 24 hrs a 37 C.

↓  
0.1 ml de estos cultivos se depositan en 100 ml de TSB con agitación constante a 37 C, tomándose muestras cada 30' y midiéndose en el espectrofotómetro hasta obtener su fase logarítmica (se hace por triplicado para cada cepa).

↓  
Con el valor de la mitad de la fase logarítmica de cada bacteria, se hacen diluciones decimales (gráficas 1, 2 y 3).

↓  
4 gotas de cada dilución se depositan en gelosa sangre por 24 hrs a 37 C para determinar las unidades formadoras de colonias (ufc) de cada dilución.

↓  
Ajuste de las 3 bacterias para tener  $10^5$  ufc.

Staphylococcus aureus B82-195 12 colonias de la dilución  $10^{-5}$

Staphylococcus aureus B84-62 21 colonias de la dilución  $10^{-5}$

Escherichia coli B83-132 14 colonias de la dilución  $10^{-5}$  \*

ejemplo\* 14 colonias/20  $\mu$ l de la dilución  $10^{-5}$

$14 \times 50$  (factor para multiplicar 20  $\mu$ l y obtener 1 ml) = 700

$700 \text{ ufc} \times 10^5$  (factor de dilución) = 70,000,000 ( $7 \times 10^7$ )

∴ en 1 ml de la dilución  $10^{-5}$  hay 700 ufc y en 1 ml del cultivo sin diluir hay 70,000,000 ufc; necesitamos  $10^5$  ufc/0.1 ml

∴ si en 1 ml hay  $7 \times 10^7$  en cuántos ml hay  $10^5$ ? = 0.00142,

o sea, 1.42  $\mu$ l, como no podemos manejar 1.42  $\mu$ l adecuadamente,

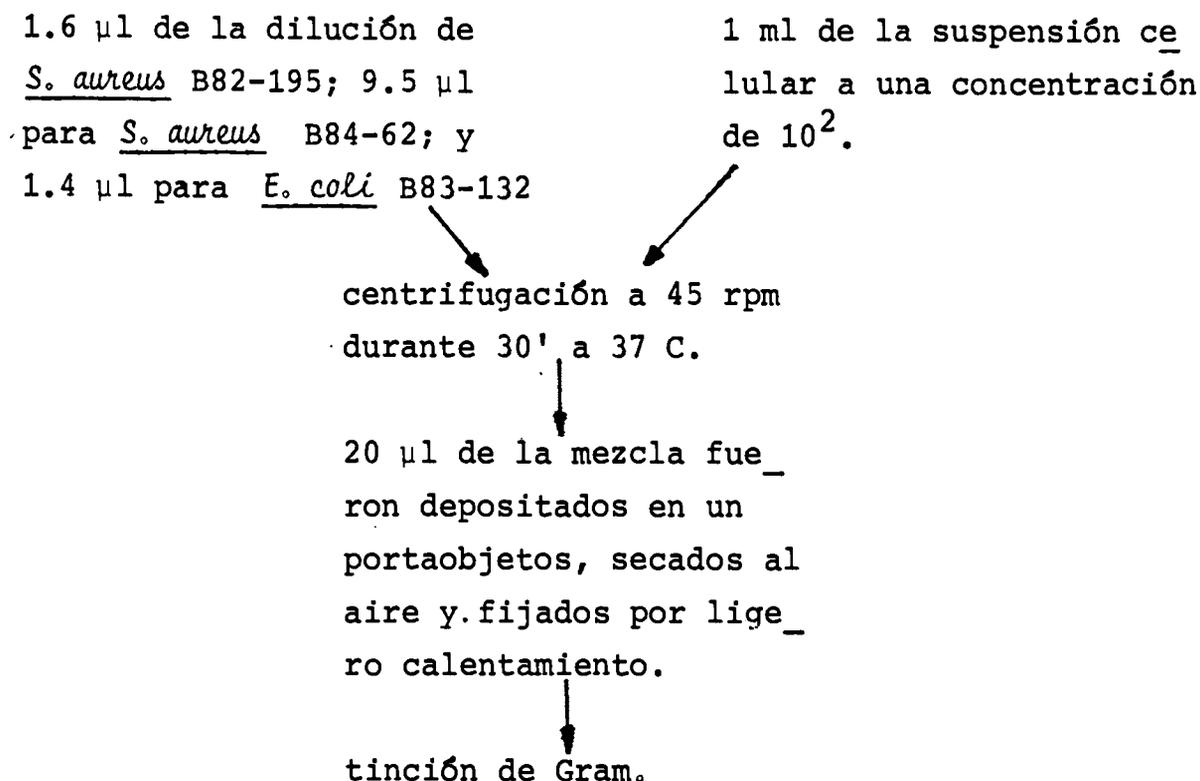
entonces tomamos 142  $\mu$ l y los diluimos en 10 ml para obtener

$10^5$  ufc/ 0.1 ml; entonces a 1 ml conteniendo 100 células epit.

agregar 0.1 ml conteniendo  $10^5$  ufc = relación 1:1000 c:b

↓  
PRUEBA DE ADHERENCIA

PRUEBA DE ADHERENCIA



Se contó el número de organismos que se adhirieron a 100 células y solamente las bacterias que estaban directamente relacionadas con las células ó sobre ellas; y células solas; un racimo se contó como una bacteria.

Se realizó una prueba t para ver las variaciones individuales en cabras a la prueba de adherencia.

Se realizó una prueba de hipótesis: la diferencia entre 2 proporciones de población, donde la  $H_0$  es  $P_1 = P_2$  y la  $H_A$  es  $P_1 \neq P_2$  ( $P_1 = \%$  de adherencia de S. aureus B82-195 y  $P_2 = \%$  de adherencia de S. aureus B84-62).

## RESULTADOS.

En la fig. 1 se observa la adherencia de S. aureus B82-195 a las células epiteliales del conducto de la glándula ma maria caprina.

En las gráficas 1, 2 y 3 se muestran las curvas de cre\_ cimiento de S. aureus B82-195 y B84-62 con una fase log. pro\_ medio de 4.5 hrs para ambas; y para E. coli B83-132 con una fase log. promedio de 3 hrs.

El cuadro 1 muestra el porcentaje de adherencia de S. aureus B82-195 y el total de bacterias adheridas en 100 célu\_ las de cada individuo, observándose que la cabra con mayor adherencia fué de 213 bacterias adheridas en 88 células, y la cabra con menor adherencia fué de 130 bacterias en 70 células.

El cuadro 2 muestra el % de adherencia de S. aureus B84-62 y el total de bacterias adheridas en 100 células de cada individuo, en donde se observa que la cabra que presentó ma\_ yor adherencia fué de 138 bacterias en 78 células y la de me\_ nor adherencia fué de 70 bacterias en 46 células.

El cuadro 3 muestra el % de adherencia de E. coli B83-132 y el total de bacterias adheridas en 100 células de cada indi\_ viduo; en donde se observa que la cabra que presentó mayor a\_ dherencia fué de 9 bacterias en 6 células y la de menor adhe\_ rencia fué de 2 bacterias en una célula.

Los cuadros 4 y 5 ilustran el porcentaje total de adhe\_ rencia bacteriana y el número total de bacterias adheridas a cada célula epitelial; en donde se observa que en S. aureus B 82-195 la mayor adherencia fué en células con dos bacterias adheridas/ célula y para S. aureus B84-62 la mayor adherencia fué en células con una bacteria adherida/ célula.

En la gráfica 4 se ilustra el promedio de adherencia de S. aureus y E. coli en donde se observa mayor adherencia con S. aureus B82-195 aislado de mastitis caprina.

La adherencia observada en las preparaciones de E. coli B83-132 como testigo negativo fué una ocasional adherencia de la bacteria a la célula (cuadro 3 y gráfica 4).

En la prueba t de Student los resultados fueron  $t.95$   
 $0.72 \pm 0.09074$  y en la prueba de hipótesis se aceptó la  $H_0$   
dado que el valor crítico de Z es de 1.645 y la Z calculada  
es menor: 1.6

## DISCUSIÓN

La adherencia bacteriana de S. aureus a células epiteliales de la glándula mamaria caprina hasta donde se sabe, no ha sido reportada.

Este estudio sugiere que existe adherencia de S. aureus a células epiteliales de la glándula mamaria caprina al igual que en bovinos como fué descrito por Frost, Frost y col., Wanasinghe y podría ser un paso importante para explicar la patogénesis de la mastitis caprina (16,18,42).

En el presente estudio se detectó que algunas células estaban muy cubiertas con bacterias y en otras no se encontró ninguna (cuadros 4 y 5); según Frost, esto puede ser por el grado de especificidad de las células epiteliales, aparentemente asociado a la actividad secretora de las células epiteliales (18).

Además, se aprecia que en algunas cabras es mayor la adhesividad que en otras (cuadros 1,2 y 3), esto puede estar relacionado a los mecanismos de defensa de cada animal.

Las variaciones individuales en cabras a la prueba de adherencia parece ser estadísticamente significativa ( $t = 0.95 \pm 0.09074$ ) al igual que en bovinos como lo demostró Frost en cinco vacas con S. aureus (16).

En la prueba de hipótesis no se detectó diferencia significativa a la prueba de adherencia entre las dos cepas de S. aureus aislados de diferentes orígenes (mastitis caprina y bovina); sin embargo, deben realizarse mas estudios al respecto, ya que como se observa en la gráfica 4 se encuentra mayor adherencia S. aureus B82-195 posiblemente por haber sido aislado de mastitis caprina.

No fué posible conocer la historia clínica de las cabras, ya que las muestras se colectaron en el rastro de ferrería y no se tienen datos de los animales que se sacrifican.

Además sería conveniente hacer en futuros estudios un último lavado posterior a la prueba de adherencia para eliminar las bacterias que no se adhirieron a las células epiteliales, ya que podrían quedar sobre éstas sin estar adheridas.

La hipótesis y los objetivos planteados en el presente trabajo fueron comprobados.

CONCLUSIONES.

1. Existe adherencia de Staphylococcus aureus cepas B82-195 y B84-62 a las células epiteliales de los senos lactíferos y senos de la teta de la glándula mamaria caprina.
2. Se observó cierta diferencia individual entre cabras a la prueba de adherencia con S. aureus.
3. No se detectó diferencia estadísticamente significativa entre cepas a la prueba de adherencia con dos S. aureus , uno aislado de cabra y otro de vaca.
4. La adherencia observada con Escherichia coli B83-132 como testigo fué mínima.

LITERATURA CITADA

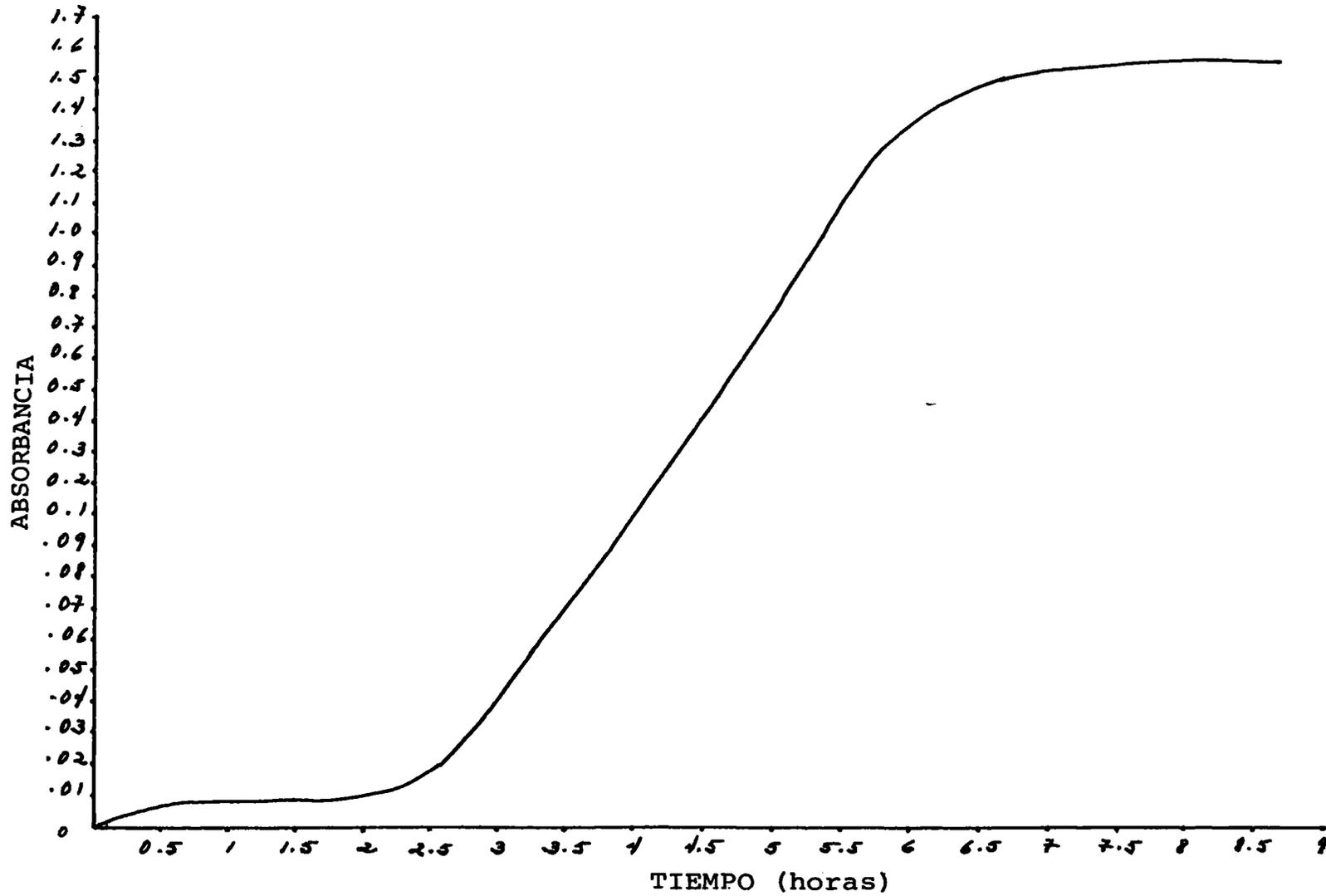
- (1) Amezcua Muñoz, A. J.: Prevalencia de mastitis subclínica en hatos caprinos en la zona central del Bajío. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. México, D. F. (1981).
- (2) Anderson, J. C.; Burrows, M. R. and Bramley, A. J.: Bacterial adherence in mastitis caused by *E. coli*. Vet. Pathol., 14: 618 - 628 (1977).
- (3) Anderson, J. C.: Absence of bacterial adherence in the establishment of experimental mastitis in mice. Vet. Pathol., 15: 770-775 (1978).
- (4) Asúnsolo, R. O.: Grasa butírica. Nueva Lactología Mexicana., No. 5: 4-13
- (5) Avila, T. S.: Mastitis bovina. Apuntes. Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. Depto. de Zootecnia Rumiantes.
- (6) Balkovoi, I. I. and Dorofeev, A. A.: Solar activity and mastitis in cows. Abstract. Institut Veterinarnoi Sanitarii., 63: 67-72 (1979).
- (7) Belanger, L.: Cría moderna de cabras lecheras. Cía. Editorial Continental., S. A. México, 1981.
- (8) Berenguer, I. F.: Características anatómicas, fisiológicas y hereditarias que incrementan la susceptibilidad de los bovinos a la mastitis. Memorias del curso de actualización sobre mastitis bovina. P. 32-36. Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. 1982.
- (9) Blood, D. C. and Henderson, J. A.: Medicina Veterinaria. 5a. ed. Interamericana. México, D. F. 1982.
- (10) Bramley, A. J. and Hogben, E. M.: The adhesion of human and bovine isolates of *Streptococcus agalactiae* (group B) to bovine mammary gland epithelial cells. J. Comp. Pathol., 92: 131-137 (1982).

- (11) Buxton, A. and Fraser. G.: Animal Microbiology. Blackwell Scientific, Oxford, 1977.
- (12) Caselli, R.: Nutritional causes of bovine mastitis. Abstract. Técnica Moliçoria., 28: 91-94 (1977).
- (13) Davies, B. D.; Dulbecco, R.; Eisen, H. N.; Ginsberg, H. S.; Wood, W. B. and Mc Carty, M.: Microbiology. 2th. ed. Harper & Row. Maryland. 1973.
- (14) Ellen, R. P. and Gibbon, R. J.: M Protein-Associated adherence of Streptococcus pyogenes to epithelial surfaces: prerequisite for virulence. Infect. Immun., 5: 826-830 (1972).
- (15) French, M. H.: Observaciones sobre las cabras. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, 1970
- (16) Frost, A. J.: Selective adhesion pf microorganisms to the ductular epithelium of the bovine mammary gland. Infect. Immun., 13: 1154-1156 (1975).
- (17) Frost, A. J.: Bacterial adherence and bovine mastitis. Abstract. Vet. Proc., 35: 7-10 (1977).
- (18) Frost, A. J.; Wanasinghe, D. D. and Woolcock, J. B.: Some factors affecting selective adherence of microorganisms in the bovine mammary gland. Infect. Immun., 15: 245-253 (1977).
- (19) García-Delgado, G. A.: Microorganismos causantes de mastitis. Mastitis bovina. Memorias del curso de actualización sobre mastitis bovina. p. 3-17. Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. 1982.
- (20) Gibbons, R. J. and J. van Houte.: Selective bacterial adherence to oral epithelial surfaces and its role as an ecological determinant. Infect. Immun., 9: 567-573 (1971).
- (21) Gillespie, J. H. and Timoney, J. F.: Infections diseases of domestics animals. 7th. ed. Cornell University Press. Ithaca: 1981.

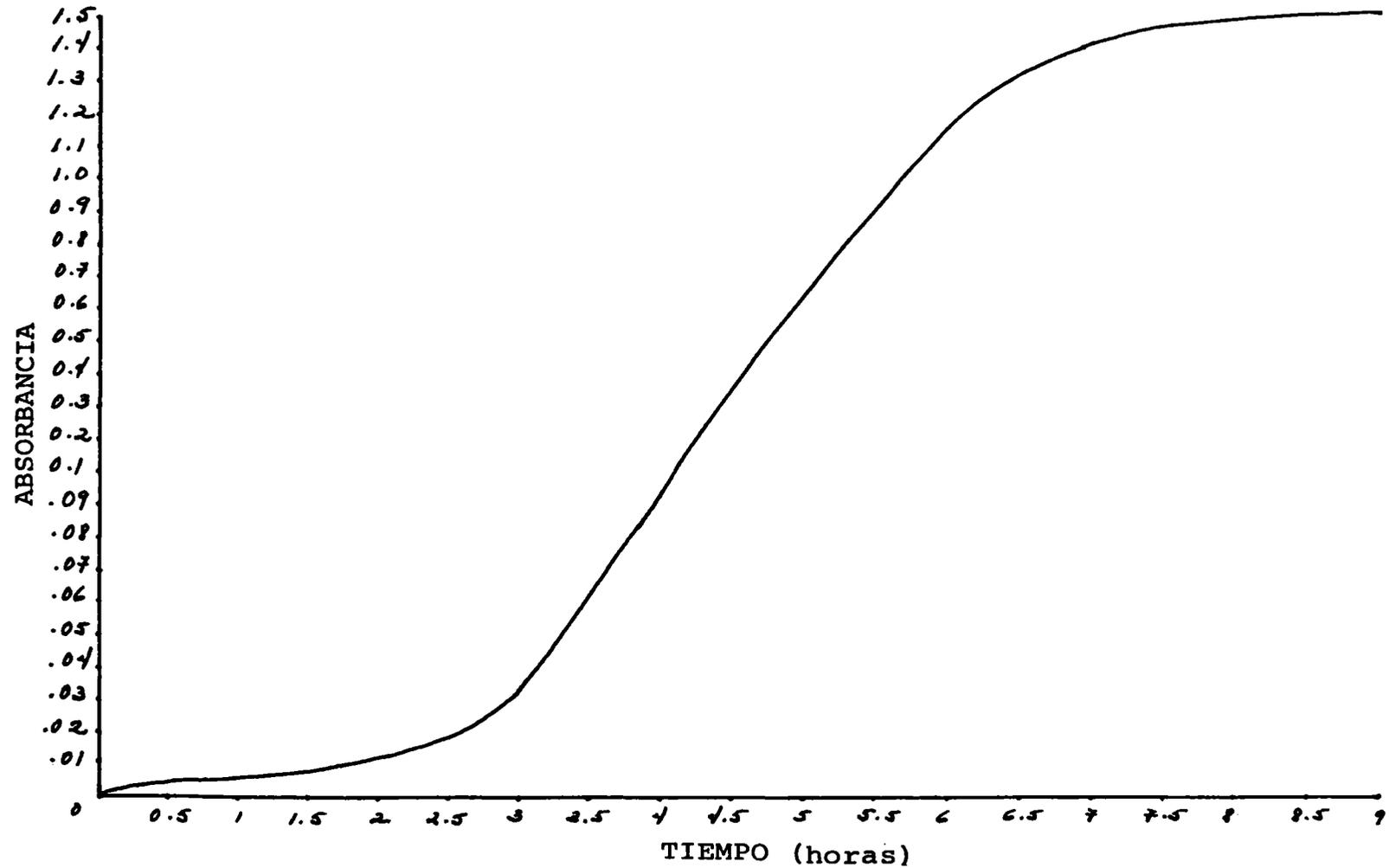
- (22) Girón, O. J.: Mecanismos e importancia de la adherencia bacteriana en colonización y patogénesis. Tesis de licenciatura. Fac. de Est. Sup. Cuautitlán. U.N.A.M. 1983.
- (23) Guidry, A. J.; Person, R. E.; Paape, M. J. and Williams, W. F.: Relationship among leucocyte phagocytosis milk immunoglobulins, and susceptibility to intramammary infection. Am. J. Vet. Res., 41: 997-1001 (1980).
- (24) Harper, M; Turvey, A. and Bramley, A. J.: Adhesion of fimbriate E. coli to bovine mammary gland epithelial cells in vitro. J. Med. Microbiol., 4: 117-123 (1978).
- (25) Jawetz, E.; Melnick, J. L. y Adelberg, E. A.: Manual de Microbiología Médica. 7a. ed. El Manual Moderno, S. A. México, D. F. 1977.
- (26) Lasceller, A. K.: The immune system of the ruminant mammary gland and its role in the control of mastitis. J. Dairy Sci., 62: 154-160 (1979).
- (27) Cedric, A. M.: The pathogenesis of infections diseases. Academic Press. London. 1977.
- (28) Madariaga, A.O. E. y López. A. J.: Bacterias asociadas con la mastitis bovina en México, y su susceptibilidad a agentes quimioterapéuticos. Vet. México., 10: 213-219 (1979).
- (29) Natzke, R. P.: Elements of mastitis control. J. Dairy Sci., 64: 1431- 1442 (1981).
- (30) Nickerson, S. C. and Heald, C. W.: Cells in local reaction to experimental S. aureus infection in bovine mammary gland. J. Dairy Sci., 65: 105-116 (1982).
- (31) Paape, M. J. and Wergin, W. P.: The leukocyte as a defense mechanism. J. Am. Vet. Med. Ass., 170: 1214-1223 (1977).
- (32) Paape. M. J.; Wergin, W. P. and Guidry, A. J.: Leukocytes-second line of defense against invading mastitis pathogens. J. Dairy Sci., 62: 135-153 (1979).

- (33) Paape, M. J.; Pearson, R. E. and Schultze, W. D.: Variation among cows in the ability of milk to support phagocytosis and in the ability of polymorphonuclear leukocytes to phagocytose. S. aureus. Am. J. Vet. Res., 39: 1907-1910 (1978).
- (34) Runnells, R. A.; Monlux, W. S. and Monlux, A. W.: Principios de Patología Veterinaria. 7a. ed. Continental. México, D. F. 1979.
- (35) Schalm, O. W.; Carroll, E. J. and Jain, N. C.: Bovine Mastitis. Lea & Febiger. Philadelphia, 1971.
- (36) Schalm, O. W.: Pathologic changes in the milk and udder of cows with mastitis. J. Am. Vet. Med. Ass., 170: 1137-1140 (1977).
- (37) Schalm, O. W.: The bovine leukocytes III.: Neutropenia and gangrenous mastitis. Bovine Practice., 2: 32-35 (1981).
- (38) Staniková, M.; Ingr, I. and Lodja, L.: The genetic contribution to the composition of the lactosebum lipids of the bovine teat canal. Abstract. Veterinarnii Medicina., 20: 679-687 (1975).
- (39) Tizard, I. R.: Veterinary Immunology. W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1977.
- (40) Vallejo, L. C.: Factores predisponentes de mastitis bovina. Gaceta Veterinaria., 37: 67-84 (1975).
- (41) Wanasinghe, D. D.: Role of bacterial adherence in the pathogenesis of bovine mastitis. Abstract. Ceylon Vet. J., 26: 55-56 (1978)
- (42) Wanasinghe, D. D.: In vitro adherence of S. aureus to bovine mammary gland epithelial cells. Acta Vet. Scand., 22: 99-108 (1981).
- (43) Wanasinghe, D. D.: Adherence as a prerequisite for infection of the bovine mammary gland by bacteria. Acta Vet. Scand., 22: 109-117 (1981).

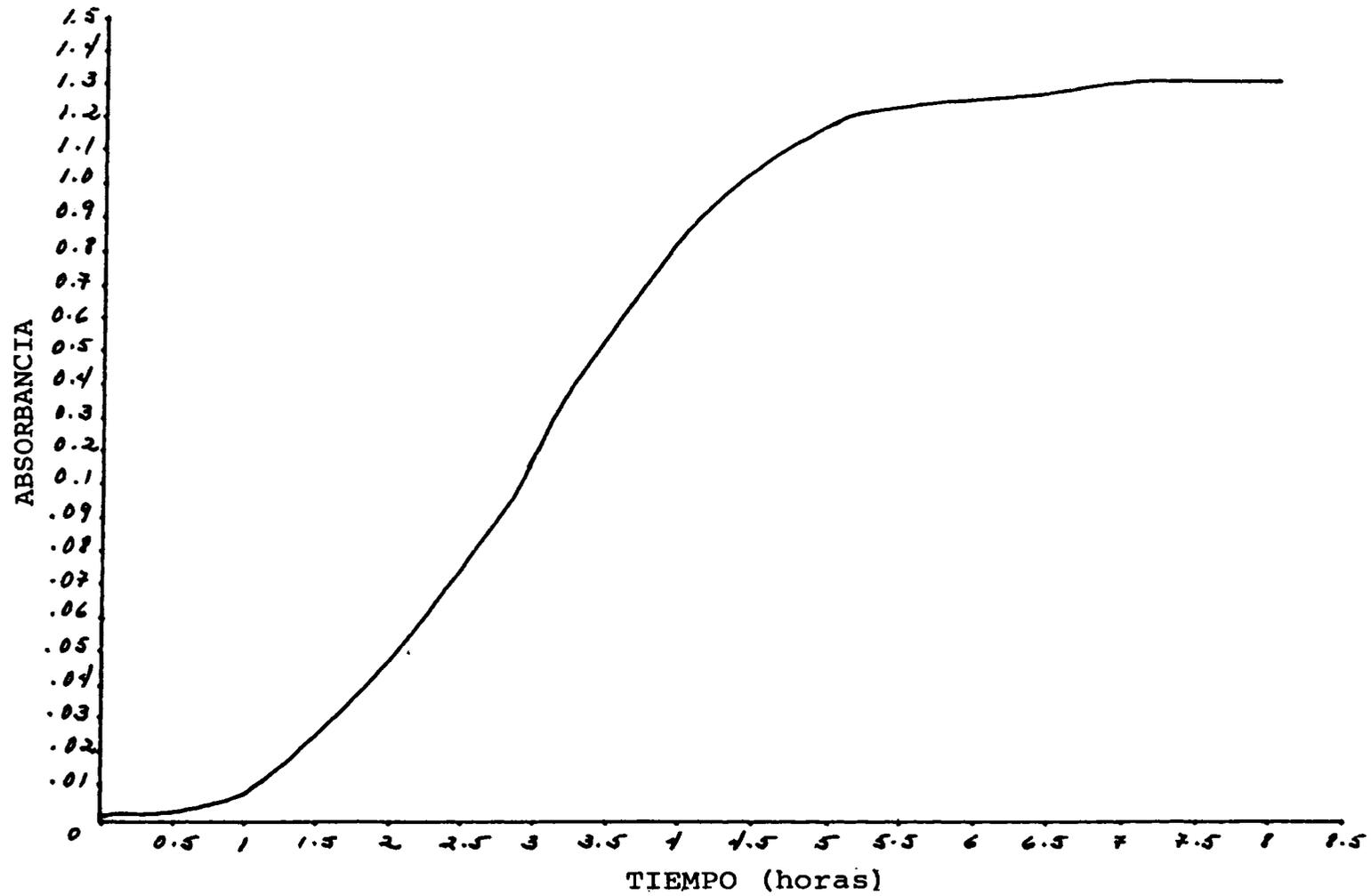
Gráfica 1. Curva de crecimiento de Staphylococcus aureus B82-195 aislado de mastitis caprina.



Gráfica 2. Curva de crecimiento de Staphylococcus aureus B84-62 aislado de mastitis bovina.



Gráfica 3. Curva de crecimiento de *Escherichia coli* B83-132  
(testigo negativo).



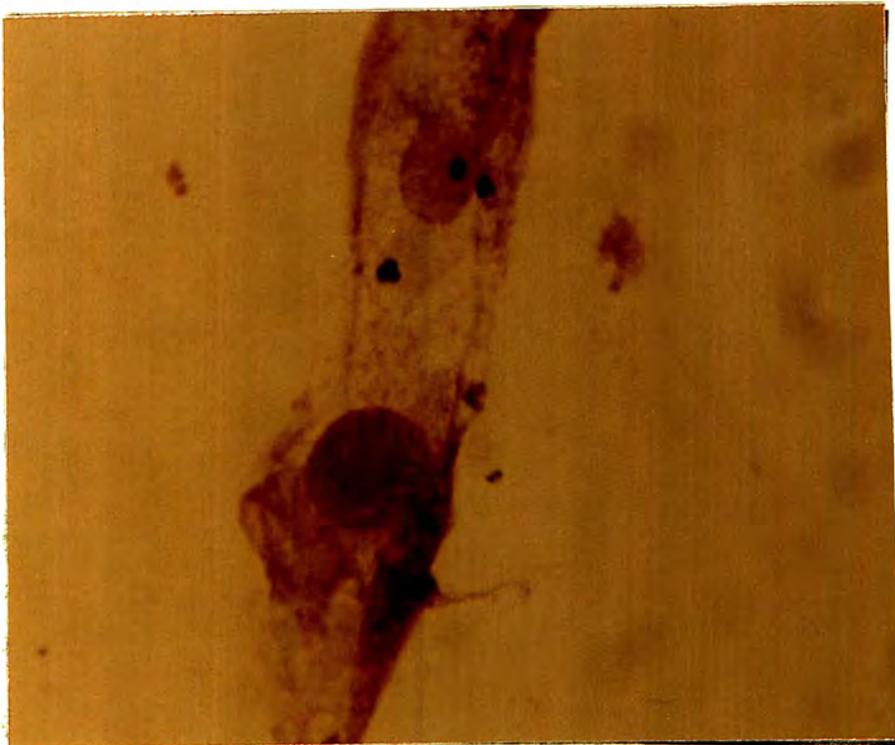


Figura 1. Staphylococcus aureus adhiriéndose a las células epiteliales de la glándula mamaria caprina. Cristal violeta. 100 x.

Cuadro 1. Adherencia de S. aureus B82-195 (aislado de mastitis caprina), a células epiteliales de los senos lactíferos y senos de la teta, en 27 cabras.

Cabra	% de células mostran <u>do</u> adherencia bact.	Total de bacterias adheridas en 100 células de cada animal.
1	70	130
2	70	137
3	70	152
4	70	180
5	71	100
6	73	144
7	73	165
8	74	126
9	74	147
10	74	160
11	74	160
12	75	101
13	75	145
14	75	182
15	76	144
16	76	149
17	76	193
18	77	171
19	78	162
20	78	176
21	79	119
22	79	125
23	80	182
24	82	133
25	82	171
26	84	117
27	88	213

Cuadro 2. Adherencia de S. aureus B84-62 (aislado de mastitis bovina), a células epiteliales de los senos lactíferos y senos de la teta, en 28 cabras.

Cabra	% de células mostrando adherencia bact.	Total de bacterias adheridas a 100 células de cada animal.
1	46	70
2	47	75
3	47	75
4	48	104
5	49	60
6	49	64
7	50	64
8	50	73
9	50	74
10	51	68
11	53	68
12	54	88
13	55	74
14	56	63
15	56	73
16	57	71
17	58	70
18	58	85
19	58	86
20	59	81
21	60	76
22	60	78
23	64	82
24	66	67
25	66	102
26	68	104
27	77	86
28	78	138

Cuadro 3. Adherencia de E. coli B83-132, testigo negativo (aislado de un exudado posoperatorio), a células epiteliales de los senos lactíferos y senos de la teta, en 6 cabras.

Cabras	% de células mostran do adherencia bact.	Total de bacterias adheridas a 100 células de cada animal.
1	1	2
2	3	4
3	3	4
4	4	5
5	5	8
6	6	9

Cuadro 4. Porcentaje de adherencia de S. aureus B82-195 a células epiteliales de los senos lactíferos y senos de la teta de 27 glándulas mamarias caprinas.

No. total de células adheridas de un to <u>tal</u> de 2700.	No. de bacterias/célula	% total de bacte <u>rias</u> adheridas.
650	0	24.07
702	1	26.00
861	2	31.88
351	3	13.00
104	4	3.85
19	5	0.70
6	6	0.22
7	7	0.25

Cuadro 5. Porcentaje de adherencia de S. aureus B84-62 a células epiteliales de los senos lactíferos y senos de la teta de 28 glándulas mamarias caprinas.

No. total de células adheridas de un to <u>tal</u> de 2800	No. de bacterias/célula.	% total de bacte <u>rias</u> adheridas.
1233	0	44.03
1103	1	39.39
329	2	11.75
97	3	3.46
26	4	0.92
8	5	0.28
4	6	0.14

Gráfica 4. Promedios de adherencia de S. aureus y E. coli a células epiteliales del conducto de la glándula ma maria caprina.

