

11621  
69



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

PRESENCIA DE BACTERIAS EN LA LECHE DE CABRA  
CON RELACION A LA PRUEBA DE WISCONSIN

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**  
P R E S E N T A :  
**MARIA DEL CARMEN LILI MUÑOZ RIVERA**

ASESOR: M.C. MIGUEL ANGEL PEREZ RAZO  
COASESORES: M.V.Z. SILVIANO TREJO NUÑEZ  
M.V.Z. GILBERTO OCHOA URIBE

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

2003



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.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

**DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO**  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

" Presencia de bacterias en la leche de cabra con relación a la Prueba de Wisconsin".

---

que presenta la pasante: María del Carmen Lili Muñoz Rivera.  
con número de cuenta: 9755008-0 para obtener el título de :  
Médico Veterinaria Zootecnista.

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

**A T E N T A M E N T E**

**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 8 de Abril de 2003

PRESIDENTE	<u>MVZ. José Margarito Rojo López</u>	
VOCAL	<u>M.C. Miguel Angel Pérez Razo</u>	
SECRETARIO	<u>M.C. José Francisco Morales Alvarez</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>M.C. Juan Barrientos Padilla</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>M.C. Oscar Chávez Rivera.</u>	

B

## DEDICATORIAS

*A quien desde el cielo a guiado y cuidado cada uno de mis pasos:*

**Dios**

*A quienes con su amor me lo han dado todo:*

**Mis Padres**

*A quien ha dejado una huella de amor imborrable en mi corazón:*

**Papa Yoyis**

*A quienes con su cariño me han dado un motivo de aliento:*

**Mi familia**

*A quienes me han legado parte de sus conocimientos:*

**Mis profesores**

*A quienes con su experiencia y consejos me han asistido en esta tesis:*

**Mis asesores**

*A quienes han compartido conmigo los buenos y malos momentos:*

**Mis amigos**

*A quienes sirvieron de modelo experimental para mi formación profesional:*

**Los animales de práctica**

## ÍNDICE

	Pág.
Resumen.	
I. Introducción.	1
II. Revisión de la literatura.	3
2.1 Factores asociados a la infección intramamaria.	3
2.1.1 Ordeño.	3
2.1.2 Edad.	6
2.1.3 Lactancia.	6
2.1.4 Factores anatómicos y genéticos.	7
2.2 Clasificación de la mastitis.	8
2.3 Microorganismos relacionados con la mastitis en cabras.	10
2.4 Métodos de diagnóstico para mastitis.	15
2.4.1 Examen físico de la ubre.	15
2.4.2 Examen bacteriológico de la leche.	15
2.4.3 Pruebas de conteo celular.	16
2.5 Factores que afectan el conteo de células somáticas (CCS).	22
2.5.1 Infección intramamaria.	22
2.5.2 Parto y estado de lactación.	23
2.5.3 Estro.	23
2.5.4 Raza.	24

2.5.5 Otros factores (estación del año, vacuna contra enterotoxemia).	24
III. Objetivos.	26
IV. Material y Métodos.	27
V. Resultados.	33
VI. Discusión.	39
VII. Conclusiones.	43
VIII. Sugerencias.	44
IX. Referencias.	45

## RESUMEN

Se estudió la relación de bacterias presentes en leche de cabra de las razas Alpina y Toggenburg con la prueba de Wisconsin para lo cual se colectaron un total de 356 muestras de leche. En el primoaislamiento en 28.6 % de las muestras no se aislaron agentes bacterianos en tanto que en la resiembra no hubo crecimiento en un 20.7 %. *Staphylococcus* coagulasa-positivo fueron aislados en 23.8 %, enterobacterias en 11.6 %, *Klebsiella spp* en 6.6 %. Otros microorganismos aislados en menor porcentaje fueron *Staphylococcus* coagulasa-negativo (2.5 %), *Micrococcus spp* (1.4 %), *Streptococcus spp* (0.3 %) y con características bioquímicas del género *Tatumella spp* y *Edwardsiella spp* (4.5 %). Se encontró una asociación entre las bacterias aisladas con la lectura de la prueba de Wisconsin ( $P < 0.001$ ). *Staphylococcus* coagulasa-positivo y *Klebsiella spp* fueron los microorganismos que estuvieron asociados con una lectura de Wisconsin mayor. También se encontró una relación entre la raza y la lectura de Wisconsin ( $P < 0.001$ ), observándose una media de mínimos cuadrados más alta en la raza Alpina (2.92) que en la Toggenburg (1.85). Esto sugiere que algunos microorganismos pueden estar asociados con lecturas de Wisconsin altas y que la raza es otro factor que debe ser considerado al evaluar este tipo de prueba.

## I. INTRODUCCIÓN

Existen varios factores que originan la presencia de bacterias en la leche, como son el medio ambiente, infecciones intramamarias y la microbiota normal de la ubre, por lo que la higiene de la ubre antes del ordeño es un componente vital en el programa de calidad de la leche (Pankey, 1989).

La mastitis es una enfermedad de la ubre, definida como la inflamación de la glándula mamaria y a menudo es el resultado de la infección por agentes patógenos. Las muestras de leche provenientes de hembras con este padecimiento se caracterizan por tener altos conteos de células somáticas (CCS) (White y Hinckley, 1999).

En cabras, la mastitis es de gran importancia ya que se involucran varios aspectos socioeconómicos en los que repercute. Los trastornos que se generan por esta enfermedad a nivel de la ubre, dependen del grado de mastitis que la esté afectando, estos pueden verse reflejados en el estado de salud de la hembra, la disminución de la producción láctea, así como en la calidad de la leche, trayendo consigo pérdidas económicas para el productor, que van desde gastos en el tratamiento, baja en los ingresos por venta de leche, hasta el

desecho o muerte del animal con dicha enfermedad como lo han documentado en vacas Lightner *et al.*, (1988) y Miller *et al.*, (1993).

Esta enfermedad también es de importancia en salud pública, ya que parte de la leche caprina que se destina para el consumo humano, en la mayoría de los casos no se pasteuriza, por lo que es necesario conocer el tipo de bacterias presentes en la leche para prevenir enfermedades en el hombre causadas por la presencia de agentes patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella spp* y coliformes; por lo tanto el producir una leche de calidad, depende de excluir bacterias y contaminantes químicos de la misma (Jensen y Hughes, 1980 citado por Hunter, 1984).

Dada la importancia de la mastitis, se han desarrollado varios métodos con el objeto de poder diagnosticar la mastitis subclínica y por lo tanto evitar subsecuentes repercusiones, tales como la prueba de California, el método Fossomatic, Contador Coulter y microscopia directa (Poutrel y Lerondelle, 1983; Manser, 1986; Zeng *et al.*, 1999).

## II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

### 2.1 FACTORES ASOCIADOS A LA INFECCIÓN INTRAMAMARIA.

La incidencia de la infección intramamaria está altamente relacionada con el número de agentes patógenos presentes en la ubre y en algunos estudios, se ha relacionado mucho la existencia de mastitis subclínica con la edad, raza, período de lactación, período seco, producción láctea, factores anatómicos y genéticos de la hembra (Harmon, 1994). Sin embargo, pocos han sido los trabajos que se han encaminado al estudio de la mastitis caprina (East *et al.*, 1987).

#### 2.1.1 ORDEÑO.

El objetivo del ordeño, es el extraer diariamente la leche que se encuentra en la ubre en forma higiénica de tal manera que resulte económica, ésta operación puede hacerse de forma manual o mecánica. Los principios de un ordeño adecuado comprenden: higiene de la ubre antes del ordeño y desinfección de los pezones después del mismo, éstos principios son básicos para controlar la diseminación de los microorganismos patógenos presentes en la ubre y para prevenir la infección intramamaria causada por microorganismos ambientales (Pankey, 1989; Arbiza y De Lucas, 2001; Radostits *et al.*, 2002).

Se ha reconocido que la máquina de ordeño influye en la incidencia de mastitis en las siguientes formas: puede ser un vehículo de patógenos de una hembra a otra, el mal funcionamiento o desgaste de la máquina puede predisponer a mastitis causada por un traumatismo en el esfínter del pezón y una pérdida abrupta del vacío, puede crear una fuerza de potencia suficiente para mover patógenos más allá del canal de defensa (Spencer, 1989).

Es sabido que en el ordeño mecánico intervienen de forma importante parámetros de funcionamiento tales como el nivel de vacío, la frecuencia y la relación de pulsaciones y que una alteración de éstos, puede dar paso a la incidencia de infecciones intramamarias. Los dos movimientos básicos de la pezonera son el de masaje y succión, los que permiten el llenado y vaciado del pezón; en cabras es recomendado un nivel de vacío entre 30 y 35 cm<sup>3</sup> de mercurio, una frecuencia de 70 a 90 pulsaciones por minuto y una relación de ordeño (succión/masaje) de 50:50 (Lu *et al.*, 1991; Peris *et al.*, 1999; Arbiza y De Lucas, 2001).

Aunque la máquina de ordeño puede ser en algunas ocasiones la causa directa de infecciones intramamarias, la magnitud de la enfermedad a causa de la máquina de ordeño es a menudo muy baja. Sin embargo, la higiene al momento del ordeño es extremadamente importante debido a la interacción potencial entre

los dispositivos de la máquina y la microbiota de la piel del pezón (Pankey, 1989; Spencer, 1989).

Los métodos recomendados para la preparación de la ubre antes del ordeño, sugieren el lavado de los pezones ya sea con manguera, con una toalla de papel empapada en una solución desinfectante o el introducir los pezones en un germicida. Se recomienda secarlos con una toalla individual de papel, además la inmersión o nebulización de los pezones con una solución germicida inmediatamente después de cada ordeño y el desinfectar las mamilas de las pezoneras de la máquina de ordeño entre un animal y otro, todo esto como una práctica de manejo eficaz para reducir la tasa de infecciones intramamarias en el rebaño (Radostits *et al.*, 2002).

El establecer un orden en el ordeño (en primer lugar a las hembras de primer parto y hembras sanas), el hacer una selección de los animales crónicamente infectados, el mantener el equipo de ordeño en perfecto estado y el respetar el programa básico de higiene al momento del ordeño son otras medidas de manejo que contribuyen de forma importante en el control de la infección intramamaria, ya que el mal manejo de los animales y un diseño inadecuado de las instalaciones y de la sala de ordeño son otros factores que favorecen la incidencia de mastitis (Nickerson *et al.*, 1995; Contreras, 1996<sup>o</sup>; Arbiza y De Lucas, 2001).

### 2.1.2 EDAD.

Algunos estudios mencionan que las hembras caprinas son susceptibles a contraer mastitis en todas sus edades y que aquellas de seis o más partos tienen mayor predisposición a la infección intramamaria; pero también se ha observado que la edad no está asociada con la infección intramamaria como sucede en el ganado bovino lechero, en donde ésta se presenta en mayor proporción conforme avanza la edad (East *et al.*, 1987; Sánchez, 1999; Ameh y Tari, 2000).

### 2.1.3 LACTANCIA.

Se ha observado que cabras con alta producción láctea (arriba de 2 litros en promedio) tuvieron mayor porcentaje de *Staphylococcus aureus* aislados que las de menor producción, pero también se ha visto que la producción láctea ha sido significativamente baja en animales bacteriológicamente infectados en la leche con *Staphylococcus* coagulasa-negativo (Dulin *et al.*, 1983; Ryan y Greenwood, 1990).

Existe una asociación entre la infección intramamaria caprina y la fase de lactación, siendo el primer y el tercer tercio en una lactación estándar de 305 días los períodos de mayor riesgo que predisponen a una infección intramamaria, en

tanto que se ha observado que hembras con períodos secos mayores de 60 días, presentan mayor predisposición a la infección intramamaria (East *et al.*, 1987).

#### **2.1.4 FACTORES ANATÓMICOS Y GENÉTICOS.**

Algunos autores han mencionado que ciertos tipos de ubres y pezones son más propensos a adquirir la enfermedad. Al parecer las ubres pendulosas, partidas y largas son más susceptibles que las compactas y bien suspendidas. También son susceptibles los pezones largos y bulbosos, ya que tienen el inconveniente de tener un esfínter poco eficaz para cerrar. Las cabras que tienen los pezones puntiagudos o invertidos, tienen más casos de mastitis que las cabras con pezones normales. Sin embargo, otros autores no han encontrado ninguna relación entre la forma del pezón y la mastitis (Alawa *et al.*, 2000; Ameh y Tari, 2000; Arbiza y De Lucas, 2001).

Dentro de los factores hereditarios, se ha observado que la predisposición a la enfermedad, se hereda al igual que el tamaño y la forma de la ubre. La heredabilidad estimada para aspectos morfológicos oscila dentro del 30% para el diámetro y largo de las tetas y del 25% para la profundidad y fijación. Mientras que en los ganados bovino y ovino de leche se ha demostrado la predisposición genética a la mastitis, en el ganado caprino no existen referencias acerca de esta

predisposición (Alrawi *et al.*, 1979; Torres-Hernández y Hohenboken, 1979; Manfredi *et al.*, 2000).

## **2.2 CLASIFICACIÓN DE LA MASTITIS.**

La mastitis infecciosa en las cabras, se presenta como una afección de la ubre, la cual da lugar a grandes alteraciones en el tejido glandular mamario, que puede ir acompañada de trastornos generales graves, dependiendo del agente etiológico involucrado (Cuéllar *et al.*, 1986). Los tipos de mastitis pueden clasificarse de la siguiente manera:

### **a) Mastitis Subclínica.**

No hay cambios visibles en la glándula mamaria ni en la leche por lo que el CCS en la leche, es una prueba útil para detectar este tipo de mastitis en el rebaño (Smith y Roguinsky, 1977; Cuéllar *et al.*, 1986; Matthews, 1999).

### **b) Mastitis Clínica.**

Moderada: Existen cambios solamente en la leche, la que algunas veces es acuosa con presencia de grumos o coágulos amarillos (Smith y Roguinsky, 1977; Cuéllar *et al.*, 1986; Matthews, 1999).

Aguda: Se observa generalmente postparto, hay reducción de la producción láctea, la cual presenta cambios en su consistencia, ya que es acuosa y puede contener sangre, hay hinchazón de la ubre y a la palpación hay manifestación de calor y dolor; además existe pirexia, anorexia y letargia en el animal (Smith y Roguinsky, 1977; Cuéllar *et al.*, 1986; Matthews, 1999).

Crónica: La mastitis crónica es caracterizada por atrofia del tejido glandular, a la palpación hay lesiones nodulares y fibrosis de la glándula; la leche es acuosa y usualmente presenta grumos amarillos, hay decremento en la producción láctea, la que es casi nula y existe pérdida de peso en el animal (Smith y Roguinsky, 1977; Cuéllar *et al.*, 1986; Matthews, 1999).

Gangrenosa: En la mastitis gangrenosa, tanto el pezón como la base de la ubre se tornan de color azul, en el epitelio de la ubre se forman abscesos y hay descargas de fluido serosanguinolento y fétido. La mastitis gangrenosa puede causar la muerte del animal, a menos que se implemente rápidamente un tratamiento eficiente, ya que en el mejor de los casos el animal llega a perder el medio afectado (Smith y Roguinsky, 1977; Matthews, 1999).

### 2.3 MICROORGANISMOS RELACIONADOS CON LA MASTITIS EN CABRAS.

Los problemas de mastitis se han asociado a una serie de bacterias que varían dependiendo de la especie animal, país o zona de estudio y de las prácticas de manejo de cada granja. Se ha observado que el crecimiento bacteriano en la leche, es favorecido por tres principales causas: medio ambiente, infecciones intramamarias y la microbiota normal de la ubre (Pankey, 1989).

Las bacterias que tienen mayor importancia en la mastitis caprina, son los *Staphylococcus* coagulasa-positivo y *Streptococcus spp*; otras bacterias como los *Staphylococcus* coagulasa-negativo y *Escherichia coli* son menos importantes, pero los *Staphylococcus* coagulasa-negativo han sido aislados con mayor frecuencia y en altos índices (Hunter, 1984; White y Hinckley, 1999). En el Cuadro 1, se muestran los géneros bacterianos más frecuentemente aislados de la leche de cabra según diferentes autores.

Entre los *Staphylococcus spp* el de mayor importancia es *Staphylococcus aureus*, debido a que se le considera responsable de la mastitis clínica, siendo sus principales reservorios la piel de la ubre y pezón y la leche de glándulas infectadas (Kalogridou-Vassiliadou, 1991; Alawa *et al.*, 2000). En el Cuadro 2, se muestran las especies de *Staphylococcus spp* que han sido aislados de la leche de cabra en diferentes estudios.

Cuadro 1. Incidencia y etiología de infección intramamaria en cabras. (%)

Referencia	País	Estado clínico	SP	E	SR	C	MP	O
Hunter, 1984.	Inglaterra.	No referido.	95.9 <sup>a</sup>	0.8	3.3	-	-	-
Manser, 1986.	Inglaterra.	Sin evidencia clínica.	96 <sup>b</sup>	-	2	-	-	2 <sup>c</sup>
Ryan, 1990.	Australia.	Sin evidencia clínica.	84 <sup>d</sup>	-	3.4	-	-	12.6 <sup>e</sup>
Kalogridou-Vassiliadou, 1991.	Grecia.	No referido.	59.1	4.3	1.9	1.5	-	33.2
Contreras <i>et al.</i> , 1995.	España.	M. Suclínica.	71	3	1	12	9	4
Boscos <i>et al.</i> , 1996.	Grecia.	No referido.	79.6 <sup>f</sup>	-	9.3	-	-	11.1
Contreras <i>et al.</i> , 1999.	España.	M. Subclínica.	95.7	0.9	1.4	1.4	-	0.5

SP: *Staphylococcus spp*; E: Enterobacterias; SR: *Streptococcus spp*; C: *Corynebacterium spp*; MP: *Mycoplasma spp*; O: Otras tales como: *Levadura spp*, *Bacillus spp*, *Micrococcus spp*, *Pseudomona spp*, *Mannheimia* (haemolytica biotipo A).

a 83.5% Corresponde a *Staphylococcus coagulasa-negativo* y 12.4% a *Staphylococcus coagulasa-positivo*.

b 80% Corresponde a *Staphylococcus coagulasa-negativo* y 16% a *Staphylococcus coagulasa-positivo*.

c *Mannheimia* (haemolytica biotipo A).

d 79.3% Corresponde a *Staphylococcus coagulasa-negativo* y 4.6% a *Staphylococcus aureus*.

e 12% Corresponde a coliformes y 0.6% a *Mannheimia* (haemolytica biotipo A).

f 61.1% Corresponde a *Staphylococcus coagulasa-negativo* y 18.5% a *Staphylococcus coagulasa-positivo*.

Cuadro 2. Especies de *Staphylococcus* aisladas de mastitis subclínica caprina. (%)

Referencias. Especies.	Kalogridou- Vassiliadou, 1991.	Lerondelle <i>et</i> <i>al.</i> , 1992.	Contreras <i>et</i> <i>al.</i> , 1995.	Contreras <i>et</i> <i>al.</i> , 1999.
<i>S. aureus</i> .	17.3	2	6.1	-
<i>S. auriculari</i> .	-	-	-	1.1
<i>S. capitis</i> .	12.8	-	8.2	-
<i>S. caprae</i> .	-	-	22.5	4.5
<i>S. chromogenes</i> .	-	-	12.3	-
<i>S. epidermidis</i> .	14.2	-	20.4	66.7
<i>S. haemolyticus</i> .	-	-	4.1	-
<i>S. hominis</i> .	11.6	-	2	1.1
<i>S. intermedius</i> .	9.6	-	-	-
<i>S. lugdunensis</i> .	-	-	-	1.1
<i>S. simulans</i> .	-	-	-	5.5
<i>S. warneri</i> .	-	-	2	-
<i>S. arletta</i> .	-	-	2	-
<i>S. cohnii</i> .	-	-	2	-
<i>S. equorum</i> .	-	-	-	-
<i>S. kloosii</i> .	-	-	-	-
<i>S. lentus</i> .	-	-	-	-
<i>S. saprophyticus</i> .	-	-	-	-
<i>S. sciuri</i> .	-	-	-	-
<i>S. xylosus</i> .	-	-	6.1	6.7
<b><i>Staphylococcus</i> <i>spp.</i></b>	<b>34.5</b>	<b>23*</b>	<b>4.1</b>	<b>10</b>

\*Este porcentaje pertenece a *Staphylococcus* coagulasa negativo. En el 75% de este estudio no hubo infección.

El *Streptococcus spp* es otro patógeno involucrado en la mastitis clínica, pero su aislamiento ha sido en menor porcentaje, ya que su aislamiento ha sido raro en cabras lecheras (Ryan y Greenwood, 1990; Contreras *et al.*, 1995; White y Hinckley, 1999).

En algunas áreas la manifestación clínica de la enfermedad causada por *Mycoplasmas spp* es de alta incidencia y causa pérdidas económicas que no se comparan con aquellas ocasionadas por otros agentes patógenos mamarios en la cabra. La agalactia contagiosa de pequeños rumiantes es endémica en la cuenca del Mediterráneo, aunque también ocurre en otras partes del mundo (East *et al.*, 1987; Damassa *et al.*, 1992 citado por Contreras *et al.*, 2003; Real *et al.*, 1994).

Algunos autores consideran que la importancia de los *Staphylococcus* coagulasa negativo debe ser discutida, debido a que estos microorganismos son aislados en mayor porcentaje que otros de la leche caprina y se ha visto que son capaces de producir mastitis subclínica persistente e incluso clínica. Estos son considerados como agentes oportunistas y se ha observado que su prevalencia aumenta con la falta de higiene en el ordeño (Dulin *et al.*, 1983; Hunter, 1984; Manser, 1986; Ryan y Greenwood, 1990; Contreras *et al.*, 1995).

La incidencia de la infección intramamaria por *Pseudomona spp.*, *Corynebacterium spp* y coliformes (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*

*Enterobacter spp* y *Citrobacter spp*) es baja, aunque el brote por estos microorganismos puede ocurrir cuando las condiciones favorecen su desarrollo, por ejemplo, la infección por coliformes ocurre por las heces y la cama, en tanto que la mastitis por *Pseudomona spp* puede originarse por un suministro de agua contaminada, el suelo o por la falta de higiene de las máquinas de ordeño. Algunas especies de *Corynebacterium spp* son probablemente comensales en la ubre, algunos han sido aislados de heridas, tonsilas, mucosas y tracto genital. Otros bacilos, tales como el *Clostridium perfringens* y *Bacillus spp* son raros en la mastitis de pequeños rumiantes. (East *et al.*, 1987; Kalogridou-Vassiliadou, 1991; Egwu *et al.*, 1994; Alawa *et al.*, 2000; Ameh y Tari, 2000).

La mastitis caprina causada por *Nocardia asteroides* se ha visto en lugares tropicales, su presencia es de gran importancia ya que se trata de un patógeno zoonótico que puede resistir la pasteurización (Bassam y Hasso, 1997).

La *Mannheimia* (haemolytica biotipo A), ha sido aislada en la leche caprina en casos esporádicos; esta bacteria es huésped común en la nasofaringe de las cabras y la infección probablemente sea causada por los cabritos lactantes (Cuéllar *et al.*, 1986; Manser, 1986; Egwu *et al.*, 1994; Contreras *et al.*, 1995).

Se sabe que el virus de la artritis-encefalitis caprina manifiesta tropismo a la glándula mamaria y que puede causar mastitis de tipo parenquimatosa (Post *et al.*, 1986 citado por Contreras *et al.*, 2003; Lerondelle *et al.*, 1992).

## **2.4 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA MASTITIS.**

La observación física de los signos de inflamación aunado a los métodos de conteo celular en la leche, han sido las técnicas comúnmente usadas para identificar la mastitis clínica o subclínica respectivamente (Smith y Sherman, 1994).

### **2.4.1 EXAMEN FÍSICO DE LA UBRE.**

Se basa en la observación de una ubre aumentada de tamaño con manifestación de dolor y calor al tacto, lo cual es indicativo de mastitis clínica (Cuéllar *et al.*, 1986; Matthews, 1999).

### **2.4.2 EXAMEN BACTERIOLÓGICO DE LA LECHE.**

Para el realizar el diagnóstico de mastitis subclínica caprina, se puede recurrir al aislamiento de microorganismos de la leche, sin embargo, éste tipo de

diagnóstico es tardado y requiere de personal calificado (Hunter, 1984; Egwu *et al.*, 1994).

#### 2.4.3 PRUEBAS DE CONTEO CELULAR.

Varias pruebas de laboratorio, especialmente aquellas relacionadas con el conteo celular, han sido desarrolladas como posibles indicadores de mastitis, tales como el CCS a través de la microscopía directa, método Fossomatic, Contador Coulter y la prueba de California (Poutrel y Lerondelle, 1983; Manser, 1986; Smith y Sherman, 1994; Zeng *et al.*, 1999).

El CCS es el número de leucocitos o glóbulos blancos presentes por mililitro de leche, representa un índice cuantitativo sobre la condición de mastitis en la vaca y sirve para establecer el grado de irritación glandular en la glándula mamaria bovina. Sin embargo, en cabras la relación entre el CCS y la infección intramamaria ha generado controversia debido a que en esta especie el CCS alto en la leche, no indica necesariamente mastitis (Dulin, *et al.*, 1983; Poutrel y Lerondelle, 1983; Paape y Capuco, 1997).

Se han encontrado rangos de 0.207 a  $1.113 \times 10^6$  células/ml x  $10^6$  células/ml en leche de cabra bacteriológicamente negativa. Mientras que para vacas el límite legalmente establecido del CCS en los Estados Unidos es menor a  $750 \times$

$10^3$  células/ml, en cabras es de  $1 \times 10^6$  células/ml (Manser, 1986; Droke *et al.*, 1993).

En el caso particular de la glándula mamaria caprina, la leche se produce por un proceso de secreción apócrino, a diferencia de la vaca en donde se origina por un proceso merócrino. El proceso de secreción apócrino en la leche de cabra, da como resultado la presencia de fragmentos celulares en la leche, a los que se conoce como partículas citoplasmáticas, que son porciones del citoplasma de células epiteliales y que aparecen como partículas de DNA libre, similares en tamaño a los leucocitos (Paape y Capuco, 1997). Las partículas citoplasmáticas son excluidas del total del CCS cuando se usan procedimientos apropiados para el conteo (DNA específico) de leche de cabra, ya que éstas pueden conducir a CCS erróneos. Las partículas citoplasmáticas no son células y su presencia en la leche no indica una condición patológica, sino más bien son el proceso de secreción normal en la leche. La leche caprina puede contener grandes cantidades de células epiteliales a diferencia de la leche de vaca y en cuanto al número de leucocitos, éste puede ser bajo (Kapture, 1980 citado por Park, 1991; Paape y Capuco, 1997).

#### **a) Microscopia Directa.**

Es una prueba confirmatoria para el CCS en la leche bovina y sirve para la calibración de otros métodos. Se basa en el examen de 0.01 ml de leche dentro de un área de 1 cm<sup>2</sup>. Actualmente la tinción que se prefiere para determinar el CCS en la leche de la cabra, es el verde de pironina Y-metil en donde las partículas citoplasmáticas y el citoplasma de las células epiteliales se tiñen de rojo, pero los neutrófilos no contienen material pironina Y-positivo. Desafortunadamente, ésta tinción es difícil de hacer y los reactivos son potencialmente tóxicos para los laboratoristas (Zeng *et al.*, 1999).

#### **b) Prueba de California (CMT).**

Esta prueba es muy sencilla, es una prueba semicuantitativa que sirve para determinar el número de células nucleadas (entre neutrófilos y células epiteliales) en la leche. En las copas de una paleta blanca, son mezcladas cantidades iguales de leche y de reactivo comercial, el cual contiene 3% de alquil-aril-sulfonato y púrpura de bromocresol como indicador de pH, evaluándose el resultado de acuerdo a la consistencia que resulte de dicha mezcla (Smith y Sherman, 1994; Boscos *et al.*, 1996; Contreras *et al.*; 1996<sup>b</sup>).

Los métodos de conteo electrónico celular son ampliamente usados en los laboratorios, pero la CMT es la que más frecuentemente se utiliza a nivel de campo. Poutrel y Lerondelle (1983), hicieron una comparación entre la CMT, el Contador Coulter y el método Fossomatic, obteniendo los resultados que se muestran en el Cuadro 3.

**c) Prueba de Wisconsin (WMT).**

La prueba de Wisconsin, utiliza el reactivo diluido de CMT, ya que se dice que la WMT es una modificación de la CMT, pero que la WMT es más objetiva que la CMT. La viscosidad de la mezcla leche-reactivo, se estima en base al volumen sobrante en tubos especiales después de drenarlos a través de un agujero de tamaño estándar por 15 segundos. La WMT es considerada específicamente para DNA. Los resultados obtenidos utilizan factores de conversión estándar para vacas lecheras y son similares a los conteos obtenidos por el método Fossomático (Smith y Sherman, 1994).

**d) Método Fossomatic.**

El método Fossomatic (Foss-O-Matic, Foss Electric, Hillerod, Denmark) es una técnica fluorescente automática que sirve para determinar células somáticas. Utiliza un colorante que aglutina específicamente el DNA del núcleo celular. Con

el aparato Fossomatic se cuentan tanto células epiteliales como leucocitos, pero no se cuentan partículas citoplasmáticas, es uno de los métodos más confiables para realizar el CCS en cabras (Poutrel y Lerondelle, 1983; Zeng *et al.*, 1999).

**e) Contador Coulter.**

El Contador Coulter enumera partículas de un chorro de leche que pasa a través de un ojo electrónico; éste método tiende a ser aproximadamente el doble del conteo que se obtiene por el método Fossomatic, debido a que el Contador Coulter no distingue partículas citoplasmáticas de leucocitos (Poutrel y Lerondelle, 1983; Smith y Sherman, 1994; Boscos *et al.*, 1996).

**f) Otras Pruebas.**

Otras pruebas relacionadas con el diagnóstico de mastitis, son la conductividad eléctrica y la N-Acetyl-B-D-Glucosamidasa (NAGase). Esta última, es una enzima que está presente en el citoplasma de células epiteliales de la glándula mamaria y en partículas citoplasmáticas (Park, 1991; Smith y Sherman, 1994).

Cuadro 3. Comparación de la prueba de California (CMT), Contador Coulter (CC), y método Fossomátic (MF) en medios infectados por microorganismos patógenos.

Método y Valor de CCS.	Medios (%)	
	Infectados por microorganismos patógenos.	Sanos o infectados por SCN*
<b>CMT</b>		
≥ 1	85	52
≥ 2	63	18
<b>CC</b>		
≥ 1 x 10 <sup>6</sup> cel/ml	76	35
≥ 3 x 10 <sup>6</sup> cel/ml	46	8
<b>FCC</b>		
≥ 1 x 10 <sup>6</sup> cel/ml	85	25
≥ 3 x 10 <sup>6</sup> cel/ml	54	7

\*SCN: *Staphylococcus coagulasa* negativo.

Fuente: Adaptado de Poutrel y Lerondelle (1983).

## 2.5 FACTORES QUE AFECTAN EL CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS.

Se ha estudiado la influencia de ciertos factores en el CCS, como son la infección intramamaria, el estado de lactación y el parto (Dulin *et al.*, 1983; Paape y Capuco, 1997).

### 2.5.1 INFECCIÓN INTRAMAMARIA.

Se ha visto que muestras de leche provenientes de medios infectados con microorganismos patógenos tuvieron un mayor CCS (hasta siete veces mayor) que las muestras de medios no infectados o infectados por *Staphylococcus coagulasa negativo* y que el CCS en medios infectados por *Staphylococcus coagulasa negativo* fue aproximadamente dos veces más alto que en los medios libres de infección. Otros estudios mencionan que en algunos rebaños, más que una infección intramamaria, otros factores son los que influyen en el CCS (Poutrel y Lerondelle 1983; Manser 1986; Wilson *et al.*, 1995; Boscos *et al.*, 1996).

La infección por el virus de la artritis encefalitis caprina en la ubre tal vez contribuya a un incremento del CCS en la leche (Lerondelle *et al.*, 1992). En el Cuadro 4 se muestra la influencia de ciertos microorganismos sobre el CCS.

## **2.5.2 PARTO Y ESTADO DE LACTACIÓN.**

Para algunos autores el parto no tiene un efecto significativo en el CCS, pero otros consideran que en cabras el incremento del CCS sí está asociado al número de partos. En un estudio se encontró que la tendencia del CCS durante los diferentes periodos de lactación permaneció alta al principio de ésta y con el transcurso de la lactación el CCS disminuyó pero contrariamente en otros estudios se ha observado que el CCS incrementa significativamente conforme el transcurso de la lactación, tanto en animales libres de infección intramamaria como en infectados (Dulin *et al.*, 1983; Wilson *et al.*, 1995; Zeng y Escobar, 1995; Zeng *et al.*, 1997; Das y Sing, 2000).

## **2.5.3 ESTRO.**

Se ha observado que el CCS incrementa después de un estro inducido, independientemente de la disminución del volumen lácteo que se da en esta etapa y del estado de infección de la glándula mamaria caprina (McDougall y Voermans, 2002).

#### **2.5.4 RAZA.**

Al parecer la raza es otro factor que puede influir en el CCS, ya que en un estudio se observó que el CCS y los títulos de la CMT fueron significativamente diferentes entre las razas Alpina, Nubia, Saanen y Toggenburg ( $p < 0.05$ ); la distribución de frecuencia acumulada del CCS que estuvo por debajo de un millón, fue de 79.8% (Alpina), 73.0% (Saanen), 49.0% (Nubia) y 40.5% (Toggenburg), en cuanto a la CMT, el mejor título lo obtuvo la Alpina y el peor la Toggenburg (Sung *et al.*, 1999).

#### **2.5.5 OTROS FACTORES (estación del año, vacuna contra enterotoxemia).**

En un estudio se observó que los CCS más altos fueron en los meses de octubre, diciembre y enero (últimos meses de lactancia de las cabras de este estudio). También se ha encontrado que en hembras caprinas vacunadas contra enterotoxemia, el valor del CCS se incrementó siete días después de la vacunación y que animales sobrealimentados con granos, manifestaron signos leves de acidosis, teniendo un incremento significativo en el valor de CCS (Lerondelle *et al.*, 1992; Wilson *et al.*, 1995).

Cuadro 4. Influencia de algunos factores en el CCS en la leche caprina ( $\times 10^5$  células/ml)

Parto o Número de Lactación.	Contreras <i>et al.</i> , 1999.		Lerondelle <i>et al.</i> , 1992.		Dulin <i>et al.</i> , 1983.	
	Medios		Medios		Medios	
1	Derechos. 0.994	Izquierdos. 0.891	VAEC* Pos. 0.34	VAEC Neg. 0.18	Sanos. 0.150	Infectados. 0.568
2	1.706	1.397	0.90	0.46	0.116	1.140
≥3	2.281	2.213	-	-	0.229	0.804

Período de Lactación.	Dulin <i>et al.</i> , 1983.	
	Medios Sanos.	Medios Infectados.
2 y 4 semanas.	0.056	0.385
14 y 16 semanas.	0.267	0.865
36 semanas.	0.414	2.667

Método de CCS.	Poutrel y Lerondelle, 1983.		
	Medios Sanos.	Medios infectados por SCN.	Medios infectados por MP.
Contador Coulter.	1.404	2.858	8.946
Fossomatic.	0.614	1.293	4.804

Microorganismo.	Contreras <i>et al.</i> , 1999.	Lerondelle <i>et al.</i> , 1992.	Park, 1991.
<i>Staphylococcus aureus</i> .	-	7.89	-
SCN	-	1.04	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> .	1.8	-	-
Coliformes.	-	-	0.065

\*VAEC: Virus de la artritis-encefalitis caprina; SCN: *Staphylococcus coagulasa* negativo; PM: Microorganismos patógenos.

### **III. OBJETIVOS**

- 1. Aislar e identificar microorganismos presentes en la leche caprina.**
- 2. Establecer la relación existente entre la presencia de microorganismos en la leche caprina con la prueba de Wisconsin.**
- 3. Establecer el efecto de la raza sobre la prueba de Wisconsin.**

## **IV. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **4.1 LOCALIZACIÓN.**

La colección de las muestras de leche se llevó a cabo en las instalaciones del CEIEPB Rancho Cuatro Milpas, ubicado en el municipio de Tepetzotlán, Estado de México, localizado entre las coordenadas 19°43' latitud norte y 99°13' latitud oeste, a una altitud de 2300 m.s.n.m. (Anuario Estadístico del Estado de México Edición 2000 del INEGI). El proceso de las muestras se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la FES-Cuautitlán de la UNAM, ubicada en el km 2.5 de la carretera Cuautitlán-Teoloyucan en el municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México, localizado entre las coordenadas 19°39' latitud norte y 99°13' latitud oeste a una altitud de 2280 m.s.n.m. (Anuario Estadístico del Estado de México Edición 2000 del INEGI).

### **4.2 COLECCIÓN Y PROCESO DE LAS MUESTRAS DE LECHE.**

Se trabajó con 13 cabras de la raza Toggenburg y 27 de la raza Alpina distribuidas entre los 60 y 305 días de lactación. Los animales se mantuvieron estabulados y su alimentación consistió en una ración a base de alfalfa suministrada en forma de pellet, más una suplementación de alimento comercial

con 17 % de proteína. En este rancho, se ordeña a los animales dos veces al día, por la mañana y por la tarde, de forma manual. Para efecto del presente estudio, sólo se trabajó con la ordeña de la tarde.

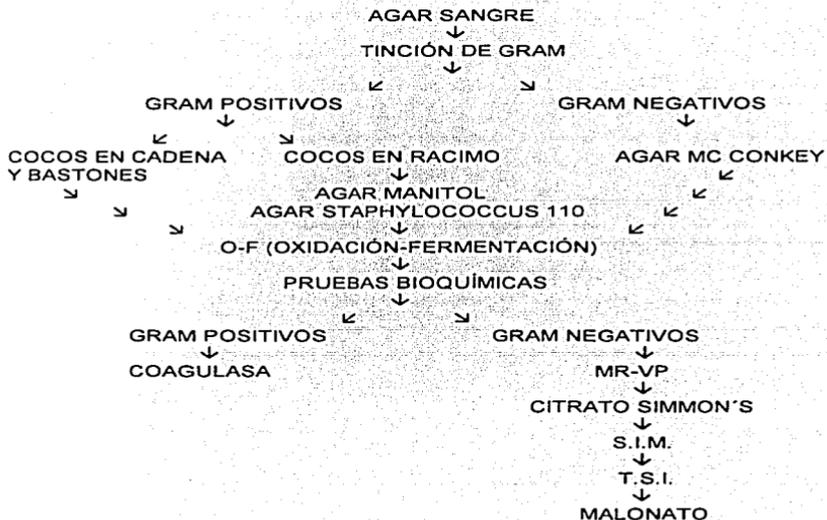
Se colectaron de manera aleatoria alrededor de 30 muestras de leche de 40 animales por semana durante 3 meses, efectuándose 12 muestreos para un total de 356 muestras. Los pezones de los animales en estudio fueron previamente desinfectados con una solución de yodo, se desecharon los primeros chorros de leche y se colectaron los siguientes 10 ml de uno de los medios en un tubo de ensaye estéril. Las muestras fueron trasladadas ese mismo día al Laboratorio de Microbiología de la FES-Cuautitlán de la UNAM, para realizar el cultivo bacteriano y la prueba de Wisconsin.

Una vez en el Laboratorio de Microbiología, las muestras de leche fueron sembradas en placas de agar sangre, mismas que se incubaron en la estufa bacteriológica a 37 °C durante 24 horas para el crecimiento de microorganismos, identificándose cada muestra con el número del animal, la ubre y el número de muestreo.

Transcurrido el tiempo de incubación, las placas fueron observadas para revisar en ellas el crecimiento de colonias bacterianas, así como la morfología,

color y hemólisis de éstas. Cada colonia fue procesada de acuerdo al Esquema 1 (Cowan y Steel, 1979; Mac Faddin, 1990).

Esquema 1. Secuencia del proceso de las muestras.



#### **4.3 PROCESO DE LA PRUEBA DE WISCONSIN.**

Los pasos para realizar la prueba de Wisconsin fueron:

1. Depositar 3 ml de leche a un tubo graduado.
2. Agregar 3 ml del reactivo de la prueba de Wisconsin.
3. Agitar el tubo, reposarlo y decantarlo (cada fase durante 15 segundos).
4. Tomar la lectura del contenido sobrante en el tubo.

La interpretación de la lectura de Wisconsin se llevó a cabo de dos maneras para lo cual se utilizaron los siguientes dos análisis:

##### **1. Análisis por Medio.**

En este primer estudio, se analizaron la influencia de la raza (Alpina y Toggenburg) y de la bacteria sobre la lectura de la prueba de Wisconsin obtenida del medio estudiado, utilizando el PROC GLM del Paquete Estadístico SAS (1996).

##### **2. Análisis de Ambos Medios.**

Para este estudio se crearon de forma arbitraria las siguientes dos escalas:

**a) Primera Escala:**

Se utilizaron los siguientes criterios:

Lecturas en tubo de 0 a 2.5 se tomaron como grado 1.

Lecturas en tubo de 2.6 a 4.5 se tomaron como grado 2.

Lecturas en tubo de 4.6 a 6 se tomaron como grado 3.

**b) Segunda Escala:**

Generada en base a la modificación de los resultados de la Primera Escala:

Dependiendo el grado obtenido de cada medio en la primera escala, se realizó una lectura de la prueba Wisconsin modificada para ambos medios de acuerdo a los criterios del Cuadro 5.

A manera de ejemplo si la cabra tuvo en uno de sus medios una lectura de Wisconsin de grado 1 y en el otro de grado 3 en la escala modificada quedaría como 4, o bien si tuviera en ambos medios una lectura de grado 2 quedaría como 3 en la segunda escala, como puede comprobarse en el Cuadro 5.

**Cuadro 5. Criterios utilizados para generar la lectura modificada de la prueba de Wisconsin.**

Medio Izquierdo.	Medio Derecho.	Lectura modificada de la prueba de Wisconsin.
1	1	1
1	2	2
2	1	2
2	2	3
3	1 o 2	4
1 o 2	3	4
3	3	5

#### **4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

Los efectos de la raza (Alpina y Toggenburg) y de la bacteria sobre la prueba de Wisconsin fueron analizados con la metodología de mínimos cuadrados mediante el PROC GLM del Paquete Estadístico SAS (1996).

## V. RESULTADOS

En la Figura 1, se observa en porcentaje las principales bacterias aisladas. Como se puede ver en el primoaislamiento en un 28.6 % de las muestras no se observó crecimiento bacteriano y al seleccionar colonias y resembrarlas no crecieron 20.7 %. En relación a las bacterias aisladas, las de mayor porcentaje fueron *Staphylococcus* coagulasa-positivo (23.8 %), seguida de enterobacterias (11.6 %), *Klebsiella spp* (6.6 %), *Staphylococcus* coagulasa-negativo (2.5 %), *Micrococcus spp* (1.4 %) y *Streptococcus spp* (0.3 %) y otras con características bioquímicas del género *Tatumella spp* y *Edwardsiella spp* (4.5 %).

En el Cuadro 6, se muestran los resultados del análisis de varianza en valores de F de los efectos de la raza y de las bacterias, sobre la lectura de la prueba de Wisconsin (primer análisis), como se puede apreciar los dos efectos, tuvieron influencia altamente significativa sobre la variable estudiada ( $P < 0.001$ ).

La Figura 2, muestra los resultados del primer análisis (análisis por medio), de la influencia de cada una de las bacterias aisladas sobre la lectura de la prueba de Wisconsin. Como se puede apreciar las bacterias que más influyeron en esta respuesta fueron los *Staphylococcus* coagulasa-positivo y *Klebsiella spp*, en

comparación a cuando no hubo crecimiento o no se aislaron microorganismos en el cultivo, o bien se aislaron enterobacterias. Los *Staphylococcus* coagulasa-negativo no obstante el alto valor de su media, debido también a su alto valor en su error estándar no mostró diferencias con los otros grupos.

Cuadro 6. Análisis de varianza (en valores de F), de los efectos de la raza y de la bacterias sobre la lectura de la prueba de Wisconsin.

Variable.	g.l.	Valor de F.
Raza.	1	15.76***
Bacterias.	8	5.42***
Cuadrado medio del error.	206	3.60

\*\*\*P < 0.001

En la Figura 3, se muestran los resultados del segundo estudio (ambos medios), la influencia de cada una de las bacterias aisladas sobre la lectura modificada de la prueba de Wisconsin, observándose resultados similares a los encontrados en el primer estudio, en donde los *Staphylococcus* coagulasa-positivo y *Klebsiella spp.* fueron los microorganismos con mayor influencia sobre los valores modificados de la prueba de Wisconsin.

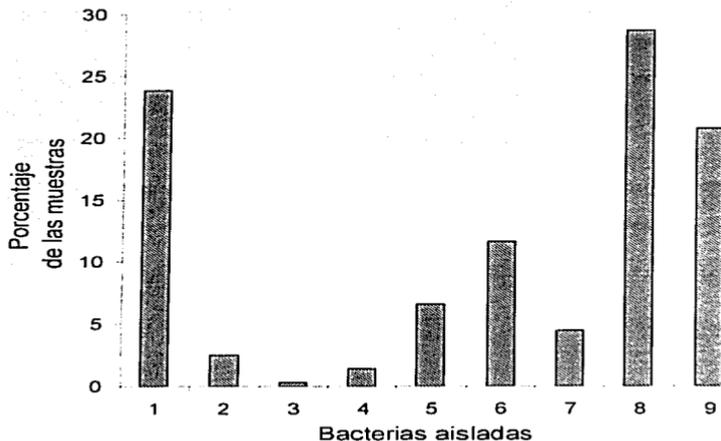


Figura 1. Géneros y especies bacterianas aislados (%). 1. *Staphylococcus* coagulasa-positivo. 2. *Staphylococcus* coagulasa-negativo. 3. *Streptococcus* spp. 4. *Micrococcus* spp. 5. *Klebsiella* spp. 6. Enterobacterias. 7. Otras (bacterias con características bioquímicas del género *Tatumella* spp y *Edwardsiella* spp). 8. Muestras en las que no se observó crecimiento bacteriano en el primoaislamiento. 9. Muestras que no crecieron en la resiembra.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

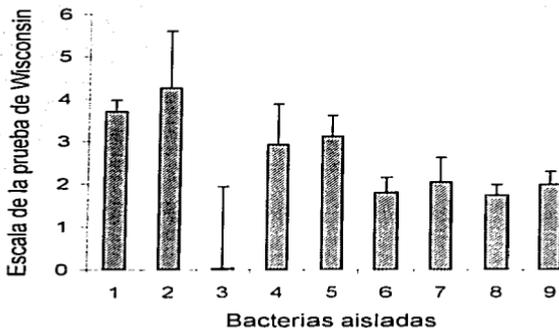


Figura 2. Resultados del primer estudio (análisis por medio). Influencia de cada una de las bacterias aisladas sobre la lectura de la prueba de Wisconsin. 1. *Staphylococcus* coagulasa-positivo. 2. *Staphylococcus* coagulasa-negativo. 3. *Streptococcus* spp. 4. *Micrococcus* spp. 5. *Klebsiella* spp. 6. Enterobacterias. 7. Otras (bacterias con características bioquímicas del género *Tatumella* spp y *Edwardsiella* spp). 8. Muestras en las que no se observó crecimiento bacteriano en el primoaislamiento. 9. Muestras que no crecieron en la resiembra.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

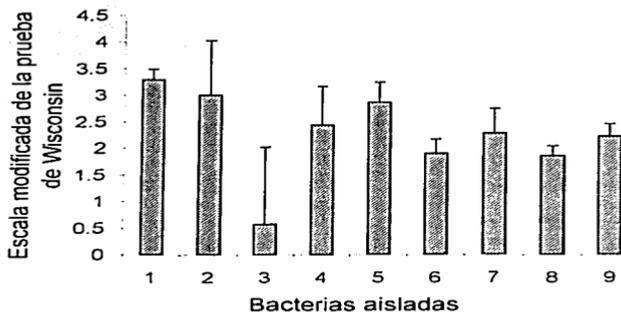


Figura 3. Resultados del segundo análisis (ambos medios). Influencia de cada una de las bacterias aisladas sobre la lectura modificada de la prueba de Wisconsin. 1. *Staphylococcus* coagulasa-positivo. 2. *Staphylococcus* coagulasa-negativo. 3. *Streptococcus spp.* 4. *Micrococcus spp.* 5. *Klebsiella spp.* 6. Enterobacterias. 7. Otras (bacterias con características bioquímicas del género *Tatumella spp.* y *Edwardsiella spp.*) 8. Muestras en las que no se observó crecimiento bacteriano en el primoaislamiento. 9. Muestras que no crecieron en la resiembra.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

En la Figura 4, se observa un mayor efecto de la raza Alpina que la Toggenburg sobre la prueba de Wisconsin teniendo una media de mínimos cuadrados más alta (2.92) que la Toggenburg (1.85).

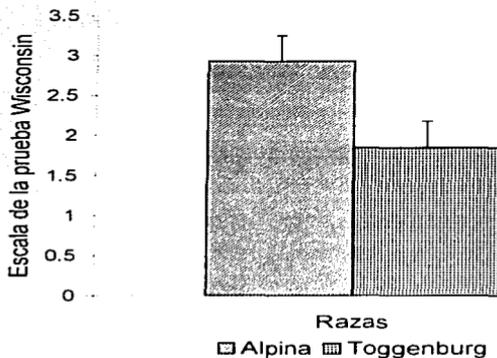


Figura 4. Efecto de la raza sobre la lectura de la prueba de Wisconsin.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## VI. DISCUSIÓN

El porcentaje de muestras en las que no se observó crecimiento bacteriano fue mayor (28.6 %) con respecto a los demás porcentajes, ya que en el rebaño en estudio no se observó mas que un sólo caso de mastitis clínica, en tanto que los demás animales no mostraron signos clínicos de mastitis (en apariencia una ubre saludable). Es posible que debido a que se halla dado un mal manejo de las muestras de leche o de las colonias bacterianas se haya propiciado el que se obtuviera un gran porcentaje de muestras en las que no se observó crecimiento bacteriano en el primoaislamiento y en la resiembra.

Por otro lado, el alto porcentaje de *Staphylococcus* coagulasa-positivo aislados en el presente estudio (23.8%), coincide parcialmente con los resultados de Hunter (1984) y Boscos *et al.* (1996), en que ellos aunque aislaron en segundo término este tipo de bacterias, obtuvieron un porcentaje alto en comparación con las demás especies bacterianas que aislaron, siendo de 12.4% (*Staphylococcus* coagulasa-positivo) y 18.5% (*Staphylococcus aureus*) respectivamente y difiere con los mismos autores en relación a *Staphylococcus* coagulasa negativo en donde ellos aislaron en un 83.5% y 61.1% respectivamente, en tanto que en el presente estudio ésta se aisló en un 2.5%.

Un aspecto importante a considerar fue el de no poder identificar las especies de *Staphylococcus* coagulasa-positivo aislados en este trabajo, ya que hizo falta la realización de más pruebas bioquímicas tales como la de agar P suplementado con acriflavina, la beta-galactosidasa y la hemólisis en agar chocolate, pruebas importantes con las que se hubiese podido diferenciar entre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus* y *Staphylococcus intermedius* (Capurro *et al.*, 1999).

No obstante no haber realizado las pruebas mencionadas, se ha observado que *Staphylococcus hyicus* es capaz de producir en ganado bovino mastitis crónica y que *Staphylococcus intermedius* no parece ser un microorganismo importante en la mastitis bovina (Roberson *et al.*, 1996). Sin embargo, dadas las pocas referencias que hay en cabras con respecto a estos microorganismos, se sugiere la realización de más estudios para poder esclarecer el papel de estas bacterias en la infección intramamaria caprina.

Con lo que respecta al grupo de las enterobacterias, el resultado de este trabajo coincide con lo publicado por Ryan y Greenwood (1990) y Kalogridou-Vassiliadou (1991) quienes aislaron en segundo término bacterias de tipo coliformes, sin embargo sus porcentajes fueron menores a los obtenidos en el presente estudio, siendo éstos del 2% y 4.3% para estos autores respectivamente.

La alta prevalencia (22.7 %) de enterobacterias (enterobacterias, *Klebsiella spp.*, y bacterias con características bioquímicas del género *Tatumella spp* y *Edwardsiella spp*), podría explicarse a que este tipo de bacterias son agentes que normalmente se encuentran en el medio ambiente (Contreras *et al.*, 2003).

Los bajos porcentajes en que se aislaron *Micrococcus spp* y *Streptococcus spp* coincide con varias publicaciones, en donde también fueron aisladas en menor porcentaje (Ryan y Greenwood, 1990; Kalogridou-Vassiliadou, 1991) y mencionan que la presencia de estas bacterias en los rebaños caprinos lecheros es poco común.

La influencia de las bacterias aisladas sobre la lectura de la prueba de Wisconsin, coincide con Dulin *et al.* (1983) y Boscos *et al.* (1996) quienes encontraron una asociación positiva en las muestras de leche analizadas entre el estado bacteriológico y los títulos de la prueba de California.

La alta influencia de *Staphylococcus* coagulasa-positivo sobre la lectura de la prueba de Wisconsin modificada de ambos medios y en la lectura de la prueba de Wisconsin del medio estudiado, coincide con los hallazgos de Hunter (1984), Lerondelle *et al.* (1992), Harmon (1994) y Boscos *et al.* (1996) quienes adjudican un alto CCS a la presencia de estas bacterias.

En tanto que en este trabajo la presencia del grupo *Klebsiella spp.*, también tuvo una mayor influencia sobre la lectura de la prueba de Wisconsin, en otros estudios no se ha logrado esclarecer la importancia que tienen estos microorganismos en el CCS, ya que Lerondelle *et al.* (1992) y Contreras *et al.* (2003), mencionan que los *Staphylococcus* coagulasa negativo y *Staphylococcus aureus* son las bacterias con las que se ha visto que el CCS aumenta.

La influencia del efecto de la raza sobre la lectura de la prueba de Wisconsin, difiere con el trabajo en cabras de Boscos *et al.* (1996) quienes no observaron influencia de la raza sobre los resultados de la prueba de California en leche bacteriológicamente negativa. Sin embargo, en el estudio de Sung *et al.* (1999), se observaron diferencias raciales, aunque contrarias al presente trabajo ya que ellos observaron que la raza Alpina tuvo un título menor en la prueba de California con respecto a la Toggenburg, mientras que en el presente estudio la Toggenburg tuvo menores valores en la lectura de Wisconsin y la Alpina los más altos, en cuanto al porqué de esta diferencia racial no tenemos una explicación.

## VII. CONCLUSIONES

Las especies bacterianas más predominantes en muestras de leche caprina sin mastitis clínica fueron *Staphylococcus* coagulasa-positivo y enterobacterias.

La raza y las bacterias aisladas tuvieron un efecto significativo sobre la prueba de Wisconsin.

Los *Staphylococcus* coagulasa-positivo y *Klebsiella spp.* influyeron significativamente sobre la prueba de Wisconsin.

La raza Alpina tuvo un mayor efecto que la raza Toggenburg sobre la prueba de Wisconsin.

## VIII. SUGERENCIAS

Son muchas las dudas que quedan aún por aclarar en cuanto al papel que juegan los microorganismos y la raza, así como otros factores en la cantidad de células somáticas presentes en la leche caprina, es por eso que se necesita de mayor investigación para poder establecer un estándar en el conteo celular y de esta forma determinar en leche si un animal es libre o no de mastitis subclínica.

## IX. REFERENCIAS

1. Alawa, J. P., Ngele, M. B. and Ogwu, D. 2000. Chronic caprine mastitis in Nigerian goat breeds: microbiological flora and histopathological findings. *Small Rumin. Res.* 35:203-207.
2. Alrawi, A. A., Pollak, E. J. and Laben, R. C. 1979. Genetic analysis of California mastitis test records. I. Coded tests. *J. Dairy Sci.* 62:1115-1124.
3. Ameh, J. A. and Tari, I. S. 2000. Observations on the prevalence of caprine mastitis in relation to predisposing factors in Maiduguri. *Small Rumin. Res.* 35:1-5.
4. Anuario Estadístico del Estado de México Edición 2000 del INEGI.
5. Arbiza, S. I. y De Lucas, T. J. 2001. La leche caprina y su producción. Capítulos VI. Producción de leche y ordeño y IX Mejoramiento genético de la cabra lechera. Editores Mexicanos Unidos, S.A. México, D.F. pp.211.
6. Bassam, L. S. and Hasso, S. A. 1997. Mastitis in goats caused by *Nocardia asteroides*. *Small Rumin. Res.* 26:287-290.
7. Boscos, C., Stefanakis, A., Alexopoulos, C. and Samartzi, F. 1996. Prevalence of subclinical mastitis and influence of breed, parity, stage of lactation and mammary bacteriological status on Coulter Counter Counts and California Mastitis Test in the milk of Saanen and autochthonous Greek goats. *Small Rumin. Res.* 21:139-147.

8. Capurro, A., Concha, C., Nilsson, L. and Östensson, K. 1999. Identification of coagulase-positive **staphylococci** isolated from bovine milk. *Acta Vet. Scand.* 40:315-321.
9. Contreras, A., Corrales, J. C., Sierra, D. and Marco., J. 1995. Prevalence and aetiology of non-clinical intramammary infection in Murciano-Granadina goats. *Small Rumin. Res.* 17:71-78.
10. Contreras, A. 1996<sup>a</sup>. Tomo IX. Producción caprina. Capítulo XII. Aspectos sanitarios del ordeño en el ganado caprino. Buxadé, C. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid España. pp.336 .
11. Contreras, A., Sierra, D., Corrales, J. C., Sánchez, A. and Marco, J. 1996<sup>b</sup>. Physiological threshold of somatic cell count and California mastitis test for diagnosis of caprine subclinical mastitis. *Small Rumin. Res.* 21:259:264.
12. Contreras, A., Paape, M. J. and Miller, R. H. 1999. Prevalence of subclinical intramammary infection caused by ***Staphylococcus epidermidis*** in a commercial dairy goat herd. *Small Rumin. Res.* 31:203-208.
13. Contreras, A., Luengo, C., Sánchez, A. and Corrales, J. C. 2003. The role of intramammary pathogens in dairy goats. *Livestock Production Science*. Article in Press.
14. Cowan, S. T., and Steel, J. K. 1979. Manual para la identificación de bacterias de importancia médica. 2<sup>a</sup> Edición. C.E.C.S.A. México, D.F. pp.320.

15. Cuéllar, O. A., Hernández, V. C. y Oviedo, F. G. 1986. Producción de caprinos. Capítulo 9: Sanidad. Arbiza; A. S. I. 1ª Edición. AGT Editor, S.A. México, D.F. pp.664.
16. Das, M. and Singh, M. 2000. Variation in blood leucocytes, somatic cell count, yield and composition of crossbred goats. *Small Rumin. Res.* 35:169-174.
17. Droke, E. A., Paape, M. J. and Di Carlo, A. L. 1993. Prevalence of high somatic cell counts in bulk tank goat milk. *J. Dairy Sci.* 76:1035-1039.
18. Dulin, A. M., Paape, M. J., Schultze, W. D. and Weinland, B. T. 1983. Effect of parity, stage of lactation, and intramammary infection on concentration of somatic cell and cytoplasmic particles in goat milk. *J. Dairy Sci.* 66:2426-2433.
19. East, N. E., Birnie, E. F. and Farver, T. B. 1987. Risk factors associated with mastitis in dairy goats. *Am. J. Vet. Res.* 48:776-779.
20. Egwu, G. O., Zaria, L. T., Onyeyili, P. A., Ambali, A. G., Adamu, S. S. and Birdling, M. 1994. Studies on the microbiological flora of caprine mastitis and antibiotic inhibitory concentrations in Nigeria. *Small Rumin. Res.* 14:233-239.
21. Harmon, R. J. 1994. Symposium: Mastitis and genetic evaluation for somatic cell count. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 77:2103-2112.
22. Hunter, A. C. 1984. Microflora and somatic cell content of goat milk. *Vet. Rec.* 114:318-320.
23. Kalogridou-Vassiliadou, D. 1991. Mastitis-related pathogens in goat milk. *Small Rumin. Res.* 4:203-212.

24. Lerondelle, C., Richard, Y. and Issartial, J. 1992. Factors affecting somatic cell counts in goat milk. *Small Rumin. Res.* 8:129-139.
25. Lightner, J. K., Miller, G. Y., Hueston, W. D. y Dorn, C. R. 1988. Estimation of the costs of mastitis, using National Animal Health Monitoring System and milk somatic cell count data. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 192:1410-1412.
26. Lu, C. D., Potchoiba, M. J. and Loetz, E. R. 1991. Influence of vacuum level, pulsation ratio and rate milking performance and udder health in dairy goats. *Small Rumin. Res.* 5:1-8.
27. Mac Faddin. 1990. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Editorial Médica Panamericana. México, D.F. pp.301.
28. Manfredi, E., Serradilla, S. M., Leroux, C., Martín, P. y Sánchez, A. 2000. Genetics for milk production. VII Int. Conf. On goat. Tours, France.
29. Manser, P. A. 1986. Prevalence, causes and laboratory diagnosis of subclinical mastitis in the goat. *Vet. Rec.* 118:552-554.
30. Matthews, J. G. 1999. Enfermedades de la cabra. Capítulo 12. Enfermedades de la glándula mamaria. 2ª edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. pp.397.
31. McDougall, S. and Voermans, M. 2002. Influence of estrus on somatic cell count in dairy goats. *J. Dairy Sci.* 85:378-383.
32. Miller, G. Y., Barlett, P. C., Lance, S. E., Anderson, J. y Heider, L. E. 1993. Costs of clinical mastitis and mastitis prevention in dairy herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 202:1230-1236.

33. Nickerson, S. C., Owens, W. E. and Boddie, R. L. 1995. Symposium: Mastitis in dairy heifers. Mastitis in dairy heifers: Initial studies on prevalence and control. *J. Dairy Sci.* 78:1607-1618.
34. Paape, M. J. and Capuco, A. V. 1997. Cellular defense mechanisms in the udder and lactation of goats. *J. Anim. Sci.* 75:556-565.
35. Pankey, J. W. 1989. Our industry today. Premilking udder hygiene. *J. Dairy Sci.* 72:1308-1312.
36. Park, Y. W. 1991. Interrelationships between somatic cell counts, electrical conductivity, bacteria counts, percent fat and protein in goat milk. *Small Rumin. Res.* 5:367-375.
37. Peris, S., Caja, G. and Such, X. 1999. Relationships between udder and milking traits in Murciano-Granadina dairy goats. *Small Rumin. Res.* 33:171-179.
38. Poutrel, B. and Lerondelle, C. 1983. Cell content of goat milk: California mastitis test, coulter counter and fossalomatic for predicting half infection. *J. Dairy Sci.* 66:2575-2579.
39. Radostits, O. M., Gay, C. C., Blood, D. C. and Hinchcliff, K. 2002. Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. Vol. 1. Capitulo 15. Mastitits. 9ª edición. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid España. pp.1206.

40. Real, F., Déniz, S., Acosta, B., Ferrer, O. and Poveda, J. B. 1994. Caprine contagious agalactia caused by *Mycoplasma agalactiae* in the Canary Islands. *Vet. Rec.* 135:15-16.
41. Roberson, J. R., Fox, L. K., Hancock, D. D., Gay, J. M. and Besser, T. E. 1996. Prevalence of coagulase-positive staphylococci, other than *Staphylococcus aureus*, in bovine mastitis. *Am. J. Vet. Res.* 57:54-58.
42. Ryan, D. P. and Greenwood, P. L. 1990. Prevalence of udder bacteria in milk samples from four dairy goat herds. *Aust. Vet. J.* 67:362-363.
43. Sánchez, A. 1999. Parity as a risk factor for caprine subclinical intramammary infection. *Small Rumin. Res.* 31:197-201.
44. SAS (1996). SAS/STAT User's guide. Edition SAS Institute. Cary, N.C.
45. Smith, M. C. and Sherman, D. M. 1994. Production. Goat Medicine. Capítulo 14 Mammary Gland and Milk U.S.A. Lea y Febiger. pp.620.
46. Smith, M. C. and Roguinsky, M. 1977. Mastitis and other diseases of the goat's udder. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 117:1241-1248.
47. Spencer, S. B. 1989. Recent research and developments in machine milking- A review. *J. Dairy Sci.* 72:1907-1917.
48. Sung, Y. Y., Wu, T. I. and Wang, P. H. 1999. Evaluation of milk quality of Alpine, Nubian, Saanen and Toggenburg breeds in Taiwan. *Small Rumin. Res.* 33:17-23.

49. Torres-Hernández, G. and Hohenboken, W. 1979. Genetic and environmental effects on milk production, milk composition and mastitis incidence in crossbred ewes. *J. Anim. Sci.* 49:410-417.
50. White, E. C. and Hinckley, L. S. 1999. Prevalence of mastitis pathogens in goat milk. *Small Rumin. Res.* 33: 117-121.
51. Wilson, D. J., Stewart, K. N. and Sears, M. P. 1995. Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats. *Small Rumin. Res.* 16:165-169.
52. Zeng, S. S. and Escobar, E. N. 1995. Effect of parity and milk production on somatic cell count, standard plate count and composition of goat milk. *Small Rumin. Res.* 17:269-274.
53. Zeng, S. S., Escobar, E. N. and Popham, T. 1997. Daily variations in somatic cell count, composition, and production of alpine goat milk. *Small Rumin. Res.* 26:253-260.
54. Zeng, S. S., Escobar, E. N., Hart, S. P., Hinckley, L., Baulthaus, M., Robinson, G. T. and Jahnke, G. 1999. Comparative study of effects of testing laboratory, counting method, storage and shipment on somatic cell counts in goat milk. *Small Rumin. Res.* 31:103-107.