

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**RELACION ENTRE LA REACCION DE LA PRUEBA
DE CALIFORNIA Y LOS TIPOS DE BACTERIAS,
AISLADAS DE VACAS HOLSTEIN FRIESIAN, DEL
VALLE DE MEXICO.**

T B S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A**

EDITH JUAREZ CRUZ

**ASESORES M. V. Z. SALVADOR AVILA TELLEZ
M. V. Z. HEDBERTO RUIZ SKEWES**

México, D. F.

1980



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

I N D I C E

	PAGINA
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCION.....	3
III. MATERIAL Y METODOS.....	5
IV. RESULTADOS.....	8
V. DISCUSION.....	10
VI. CONCLUSIONES.....	12
VII. BIBLIOGRAFIA.....	13

RELACION ENTRE LA REACCION DE LA PRUEBA DE CALIFORNIA Y LOS TIPOS DE BACTERIAS AISLADAS DE VACAS HOLSTEIN-FRIESIAN DEL VALLE DE MEXICO.

EDITH JUAREZ CRUZ

Asesoras: M.V.Z. SALVADOR AVILA TELLEZ

M.V.Z. HEDRERTO RUIZ SKENES.

R E S U M E N:

Se colectaron 500 muestras de leche, después de desechar los primeros chorros al ordeño de 125 vacas Holstein-Friesian, localizadas en once establos del Valle de México que se encuentran principalmente en Texcoco y zonas aledañas, se correlacionaron los hallazgos de la reacción de la prueba de California (C.M.T.) con el tipo de bacteria aislada.

Se encontraron en una frecuencia descendente *Staphylococcus aureus* en 204 (41%) muestras, siendo el patógeno más común, *Staphylococcus epidermidis* 142 (28 %) muestras *Streptococcus agalactiae* 52 (10%), *Streptococcus uberis* 28 (6%), *Streptococcus Dysgalactias* 8 (2%), *Corynebacterium* 6 (1%), *Escherichia coli* 5 (1%), *Pseudomonas* 4 (1%), *Nocardia* 4 (1%) Levaduras 4 (1%).

De los microorganismos aislados *Staphylococcus epidermidis* con 142 (28%) muestras y *Streptococcus dysgalactiae* con 8 (2%) muestras se relacionaron con mayor frecuencia a reacciones de CMT negativas, *Streptococcus uberis* con 28 (6%) muestras a reacciones uno, *Streptococcus agalactiae* con 52 (10%) -

muestras a reacciones 2 y 3 y *Staphilococcus aureus* con 204 -- (41%) muestras así como *Mocardia asteroides* con 4 (2%) muestras a reacción tres.

En 109 (22%) muestras de reacciones CMF negativas se aislaron 93 microorganismos ubre patógenos. Esto se atribuyó a que sólo se realizó un muestreo al inicio del ordeño, perdiéndose posiblemente la oportunidad de aislar estas bacterias en otras porciones de leche u otros ordeños. De las 68 (13%) -- muestras con reacciones traza se aislaron 55 ubre patógenos. - De las 80 (16%) muestras con reacción uno se aislaron 67 mi - croorganismos ubre patógenos, de las 110 (22%) muestras con -- reacción 2 se aislaron 103 ubre patógenos, finalmente de las - 133 (27%) muestras con reacción tres se aislaron 127 microorga nismo s ubre patógenos.

I N T R O D U C C I O N

La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria, provocada por distintas causas con diferentes grados de intensidad, duración y efectos residuales, tales como son baja producción láctea y sustitución de tejido glandular por tejido conectivo. Este padecimiento puede manifestarse clínicamente con -- hinchazón, calor, rubor, dolor y función alterada (mastitis clínica), o sin signos notables (mastitis subclínica). Esta última forma se detecta principalmente con pruebas que revelan productos de la inflamación en la leche (leucocitos y sustancias - humorales) o cambios químicos debidos a la supresión láctea - - (cloruros, bicarbonatos, etc.) (9).

En las infecciones bacterianas, de los vasos del área lesionada escapan leucocitos; en inflamaciones agudas el grado y naturaleza de la respuesta celular es generalmente proporcional a la severidad de la infección, sin embargo las infecciones latentes o subclínicas puedan existir sin que aparezcan leucocitos en la leche. Shcalm (8) (9) comprobó que en esos casos es más útil la cuenta diferencial de leucocitos; Cullen (5) menciona que las cuentas de células somáticas mayores de 500,000/ml. indican mastitis subclínica.

La prueba de California (CMT) detecta el ácido desoxirribonucleico (DNA) de las células somáticas en leche. El contenido de células somáticas es afectado por factores fisiológicos

tales como la fase de lactación (2) o patológicos como la mastitis (9). El número también varía en las diferentes fracciones de la leche o dependiendo del momento de colectar la muestra de leche. (3).

Schalm and Silberman (10) hallaron que existe una correlación entre la prueba de California y el tipo de bacteria causante de mastitis. La asociación más alta entre bacterias patógenas y grados de reacción de CMT fue encontrada en leche residual.

En los establos existentes en el Valle de México, generalmente se usa para examen bacteriológico y prueba de CMT la muestra obtenida después de haber desechado los primeros chorros de leche. El presente trabajo tiene como finalidad relacionar la reacción de la prueba de California (CMT) con el tipo de bacteria aislada en muestras obtenidas al inicio del ordeño, -- después de desechar los tres primeros chorros de leche.

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se realizó con la leche extraída de 500 -- cuartos correspondientes a 125 vacas en diferentes fases de pro-- ducción, localizadas en 11 establos del Valle de México, situa-- das principalmente en Texcoco y zonas aledañas.

Se lavaron los pezones con agua potable y después fue-- ron secados con tallas de papel desechable y desinfectados con alcohol etílico al 70% (4).

Se colectaron aproximadamente 10 ml. de leche en tu-- bos de vidrio, estériles, con tapón de baquelita; los tubos se colocaron entre trozos de hielo y se transportaron al laborato-- rio para el aislamiento e indentificación de los microorganismos, de acuerdo a las técnicas descritas por Brown et al. (4).

Después de colectar las muestras para los estudios -- bacteriológicos, con los siguientes chorros se realizó e inter-- pretó la prueba de California (California Mastitis Test) según-- instrucciones de Schalm et al (9), misma que a continuación se describe brevemente.

En una charola o paleta de plástico que tiene 4 com-- partimentos circulares para cada uno de los cuartos de la glán-- dula mamaria se depositan 2 ml. de leche, procedentes de cada -- uno de los pezones, a los cuales se les agregan 2 ml. del reac-- tivo de California realizando después un movimiento rotatorio -- muy leve para mezclar ambos compuestos, obteniéndose el pico de

la reacción a los 10 segundos, momento en el cual se lleva a cabo la lectura. Para que esta se realice, la proporción de reactivo a leche debe ser de 1:1.

La prueba de California está relacionada con el número de leucocitos presentes en la leche. El reactivo de esta prueba está hecho con los siguientes elementos.

A) Un detergente (3% alkyl arilsulfonato) que reacciona con el ácido ribonucleico de las células, de tal manera que pueda ser relacionado con el número de células somáticas, esta reacción varía de una ligera película hasta un gel viscoso. La solución de alkyl arilsulfonato presenta mayor sensibilidad -- cuando la reacción tiene un pH de 7 o más elevado.

B) Un indicador que es el púrpura de bromocresol en -- concentración de 1:10,000, permitiendo el cambio de color de -- tal manera que la reacción será más fuerte a medida que el pH -- de la leche se incrementa.

Esta prueba se interpreta de la siguiente manera:

SIMBOLO	INTERPRETACION	REACCION	No. CELULAS
N	Negativo	No hay evidencia o precipitación	0-200,000
<u>T</u>	<u>TRAZA</u>	Precipitación	<u>150,000-500,000</u>
1	Positivo leve	leve, no formación del gel.	400,000-1,500,000
2	Positivo	Mezcla espesa - cierta formación del gel.	800,000-5,000,000
3	Positivo fuerte.	El gel causa la formación de una superficie convexa.	5,000,000 en adelante.

RESULTADOS.

Los microorganismos aislados de 500 muestras de leche fueron: *Staphilococcus aureus* 204 (41%), *Staphilococcus epidermidis* 142 (28%), *Streptococcus agalactiae* 52 (10%), *Streptococcus uberis* 28 (6%), *Streptococcus dysgalactias* 8 (2%), *Corynebacterium* spp. 6 (1%), *Escherichia coli* 5 (1%), *Pseudomonas aeruginosa* 4 (1%), *Nocardia asteroides* 4 (1%), levaduras 4 (1%). En algunas de las muestras se aisló más de un microorganismo.

Las reacciones a CMT fueron: Negativas 109 (22%), trazas 68 (13%), Uno 80 (16%), Dos 110 (22%), Tres 133 (27%).

La bacteria *Staphilococcus aureus* se asoció principalmente a reacciones Dos (64) y Tres (95), *Staphilococcus epidermidis* a reacciones negativas (30) y Trazas (31), *Streptococcus agalactias* a reacciones Dos (19), *Streptococcus uberis* a reacción Uno (12). Los microorganismos restantes fueron escasos.

No se encontraron microorganismos en las siguientes reacciones a California: Negativas 14, Trazas 8, Uno 8, Dos, 5, Tres 4.

Reacción de la prueba de California y microorganismo aislados en leche de despunte en 123 vacas Holstein-Friesian de once establos del Valle de México.

BACTERIA	No. CUARTOS	N	T	1	2	3	%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	52	6	6	14	19	7	10%
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	8	4	0	1	1	2	2%
<i>Streptococcus uberis</i>	28	2	5	12	3	6	6%
<i>Staphylococcus aureus</i>	204	17	16	12	64	95	41%
<i>Staphylococcus Epidermidis</i>	142	58	30	31	12	11	28%
<i>Escherichia Coli</i>	5	1	1	2	1	0	1%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	2	0	0	0	2	1%
<i>Mocardia asteriodes</i>	4	0	0	0	1	3	1%
<i>Corynebacterium</i>	6	1	0	0	3	2	1%
Levaduras	4	4	0	0	0	0	1%
VARIOS <i>Enterobacter</i>	4	0	2	0	1	1	1%
NO SE AISLARON	39	14	8	8	5	4	8%
		100	48	80	110	133	100%

DISCUSION.

El porcentaje de microorganismos ubre-patógenos aislados fue de 62%, lo que corresponde a 461 muestras, que es semejante a lo comunicado por Wasen et al (11) y Rude (7).

Staphilococcus aureus fue aislado más frecuentemente que otras bacterias. Avila et al (1) encontraron que *Staphilococcus* es el microorganismo ubre-patógeno más comunmente aislado en casos de mastitis en vacas del Valle de México. Esto probablemente es debido a que con los antibióticos se disminuye notablemente a bacterias del género *Streptococcus*, no sucediendo -- así con los *Staphilococcus*, hallazgo que es semejante al comunicado por Marshall et al. (6)

La mayoría de cuartos con infección causada por *Staphilococcus aureus* tenía reacciones de CNT 2 y 3, que tiene semejanza con lo comunicado por Schalm and Ziv-Silberman (10). Los *Streptococcus* también causaron reacciones altas 2 y 3. *Staphilococcus epidermidis* produjo principalmente reacciones negativas o bajas semejante a lo comunicado por Schalm and Ziv-Silberman (10).

En el presente estudio se confirmaron los hallazgos de otros investigadores; Marshall and Edmondson (6), Rude (7); quienes mencionan que existe una relación entre los resultados de la prueba de California y el tipo de patógenos. No siempre se aislaron patógenos de pruebas positivas a California. Esto podría deberse entre otras causas, a que la inflamación no es -

de origen bacteriano o a que solamente se obtuvo leche al inicio del ordeño y que los microorganismos ubre-patógenos son aislados con más frecuencia si se toman muestras de diferentes fases del ordeño o de diferentes ordeños (11).

De 109 muestras que reaccionaron negativas a la prueba de California 95 tenían microorganismo ubre-patógenos. Marshall et al (6) mencionan que el número de colonias por mililitro con un rango de 100 a 1000 indican pezonitis y un número mayor, mastitis subclínica. En este estudio no se realizó cuenta de colonias.

CONCLUSIONES:

De las 500 muestras de leche estudiadas para correlacionar la reacción de la prueba de California con el tipo de microorganismos aislados después de desechar los primeros chorros, se encontró que en 39 (8%) no se aislaron bacterias ubre-patógenas; 109 fueron negativas a CMT aislándose 93 bacterias ubre-patógenas; 68 dieron reacciones traza y contenían 55 bacterias ubre-patógenas; 83 tuvieron reacción uno aislándose 67 ubre-patógenos; de 110 con reacción dos, se aislaron 103 ubre-patógenos; 133 presentaron reacción 3, aislándose 127 ubre-patógenos.

Las bacterias aisladas en orden de frecuencia descendente fueron: *Staphylococcus aureus* 204 (41%), *Staphylococcus epidermidis* 142 (28%), *Streptococcus agalactiae* 52 (10%), *Streptococcus uberis* 28 (6%), *Streptococcus dysgalactiae* 8 (2%), - - *Corynebacterium* 6 (1%), *Escherichia coli* 5 (1%), *Pseudomonas aeruginosa* 4 (1%), *Mocardia asteroides* 4 (1%), y Levaduras 4 (1%).

Los *Staphylococcus* y *Streptococcus* dieron pruebas de California dos y tres.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Avila, T.S. et al. "Frecuencia de bacterias resistentes a - antibióticos empleados durante el secado en vacas Holstein-Friesian del Valle de México". Reunión anual de investigación en Medicina Veterinaria. México, D.F. Diciembre de --- 1978.
- 2.- Blackburn, P.S. J. Dairy Res. 33:193 (1966).
- 3.- Braund, D.G. and Schultz, L.H. Physiological and environmental factors affecting the California mastitis test under -- field conditions. J. Dairy Sci. 46: 197 (1963).
- 4.- Brown, R.W. Morse, G.F. Newbould, F.H.S. and Slanetz, L.W.- Microbiological procedures for the diagnosis of bovine mastitis. Washington Natl Mastitis council. I.M.C. 1969.
- 5.- Cullen, G.A. Cells in milk. Vet Bull. 36:337 (1966).
- 6.- Marshall, R.T. and Edmondson, J.E. Value of California mastitis test records to the practitioner. J.Amer. Vet. Med. - Ass. 140:45 (1962).
- 7.- Rude, T.A. Comparison of California mastitis test reading - and bacteriological culture results. Vet. Med. 58: 322(1963)
- 8.- Schalm, O.W. The leucocytes: origen and function in mastitis. J.A.V.M.A. 153: 168 (1968).
- 9.- Schalm, O.W. Carrol, E.J. And Jain, N.C. Bovine mastitis. - Philadelphia. Lea and fabiger.. (1971).
- 10.- Schalm, O.W. and Ziv. Silberman. G.T. The incidence of mastitis comparison as indicated by the California mastitis -- test applied to three different fractions of the same quarter milk samples. Vet. Rec. 82:184 (1968).

- 11.- Wqsen, D.P. Luedecke, L.O. and Forster, T.L. Relationship-between California mastitis test reaction and bacteriological analyses of stripping samples. J. Dairy Sci 51: 679 -- (1968).